

발간등록번호

11-1543000-001426-01

친환경 젖소 사양기술을 통한 건강기능성 젖소고기 및 유제품의 상품화 연구

(Study on commercialization of functional healthy meat and milk
products from dairy cattle by environmental feeding methods)

삼양식품 주식회사

농림축산식품부

제 출 문

농림축산식품부 장관 귀하

본 보고서를 “친환경 젓소 사양기술을 통한 건강기능성 젓소고기 및 유제품의 상품화 연구”(개발기간 : 2014.08.01 ~ 2016.07.31)과제의 최종보고서로 제출합니다.

2016. 09. 08.

주관연구기관명 : 삼양식품 (대표자) 전 인 장 (인)
협동연구기관명 : 강원대학교 산학협력단 (대표자) 정 성 훈 (인)



주관연구책임자 : 정 운 시
세부연구책임자 : 정 운 시
연 구 원 : 정 인 애
연 구 원 : 김 경 동
연 구 원 : 김 갑 훈
연 구 원 : 심 재 훈
협동연구책임자 : 이 성 기
협동연구책임자 : 주 진 우

국가연구개발사업의 관리 등에 관한 규정 제18조에 따라 보고서 열람에 동의합니다.

보고서 요약서

과제고유번호	114028-2	해당 단계 연구 기간	2차년도	단계 구분	2차년도/ 2차년도
연구사업명	중사업명	고부가가치식품기술개발사업			
	세부사업명				
연구과제명	대과제명	친환경 젖소 사양기술을 통한 건강기능성 젖소고기 및 유제품의 상품화 연구			
	세부과제명	-친환경 젖소 및 육우 사양기술을 통한 건강기능성 육우고기 및 유제품의 상품화 연구 -자연친화적 건강기능성 젖소고기 제품에 관한 연구 -자연친화적 건강기능성 우유 제품 연구			
연구책임자	정운시	해당단계 참여 연구원 수	총: 19명 내부: 19명 외부: 0명	해당단계 연구개발비	정부: 130,000천원 민간: 130,000천원 계: 260,000천원
		총연구기간 참여 연구원 수	총: 19명 내부: 19명 외부: 0명	총연구개발비	정부: 260,000천원 민간: 260,000천원 계: 520,000천원
연구기관명 및 소속부서명	삼양식품(주) 유)통합R&D팀 강원대학교 산학협력단			참여기업명	삼양식품(주)
위탁연구	연구기관명: 한국F&B			연구책임자:	박철범
요약				보고서 면수	
<u>친환경 젖소 및 육우 사양기술을 통한 건강기능성 젖소고기 및 유제품의 상품화</u> 국내외 친환경 및 산지생태 축산 모델의 운영사례, 법령, 산업화 연구 Grass fed 위주 사료의 영양적 품질 특성 및 사양기술에 대한 연구 건강기능성 육우고기 생산 및 육가공 제품, 우유 및 발효유, 치즈 제조 생산 <u>자연친화적 건강기능성 육우고기 제품에 관한 연구</u> 자연친화적 건강기능성 육우고기의 영양적 품질특성 구명 Grass fed beef의 건강기능성 인자 탐색 혈액의 건강인자와 지방산 조성이 육질 미치는 영향 구명 비열초고압처리에 따른 육우고기의 품질특성 분석 <u>자연친화적 건강기능성 우유 제품 연구</u> Grass-fed 젖소유래 자연친화적 우유의 영양학적 품질특성 연구 Grass-fed 젖소유래 우유의 지질대사 및 간 기능 개선효능 구명 비가열 초고압처리기술을 이용하여 제조한 우유의 품질특성 연구 비가열 초고압처리 우유의 항알레르기 효과 연구				410	

<국문 요약문>

<p>연구의 목적 및 내용</p>	<p>◆ <u>초지사료를 급여한 친환경 육우고기와 우유에 대한 건강기능성 인지를 탐색하고 비가열 살균방법(HPP)을 통한 고부가가치 유·육가공제품을 개발하여 상품화하고자 함</u></p> <ul style="list-style-type: none"> - 비가열살균방법으로 유·육제품을 개발하여 상품화 - 새로운 숙성 방법을 개발하여 육우고기의 품질향상 - 인체 건강에 유익한 고부가가치 유·육가공제품의 산업화 <p>◆ 제1세부과제 (주관기관: 삼양식품(주)) 친환경 젖소 및 육우 사양기술을 통한 건강기능성 젖소고기 및 유제품의 상품화</p> <ul style="list-style-type: none"> - 국내외 친환경 및 산지생태 축산 모델의 운영사례, 법령, 산업화 연구 - Grass fed 위주 사료의 영양적 품질 특성 및 사양기술에 대한 연구 - 대관령 EGC목장(grass fed 위주)과 일반목장의 사료급여 차이에 의한 동물복지 상관관계 분석 - 건강기능성 육우고기 생산 및 육가공제품(원너, 악드부어스트, 소떡갈비) 상품화 연구 - 건강기능성 원유 생산 및 우유, 발효유, 치즈 상품화 연구 - 비열처리 살균을 위한 최적화된 포장 기술 개발 <p>◆ 위탁과제 (참여기관: 흥국F&B) 비가열살균 방법(HPP)의 가공적성 연구</p> <ul style="list-style-type: none"> - 국내외 관련 기술, 시장조사, 개발상황, 산업화 사례, 법령 검토 - 우유제품 및 육가공제품의 비가열살균법(HPP)의 현황 및 기술 검토 - 우유 및 육가공제품의 미생물 제어 효과 연구 - 목적 제품의 관리 규격기준 및 규격 표준화 연구 <p>◆ 제1협동과제 (참여기관: 강원대학교) 자연친화적 건강기능성 젖소고기 제품 연구</p> <ul style="list-style-type: none"> - 자연친화적 건강기능성 육우고기의 영양성분 및 육질분석 - Grass fed beef의 건강기능성 지방산분석 및 항산화성 구명 - 비열초고압 및 숙성방법에 따른 육우고기의 육질개선 - 스트레스 민감성 평가에 의한 육질 예측 <p>◆ 제2협동과제 (참여기관: 강원대학교)</p>
------------------------	----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

	<p>자연친화적 건강기능성 우유제품 연구</p> <ul style="list-style-type: none"> - Grass-fed 젖소유래 자연친화적 우유의 영양학적 품질특성 연구 - Grass-fed 젖소유래 우유의 동물모델을 이용한 지질대사 및 간 기능 개선 효능 구명 - 비가열 초고압처리기술을 이용하여 제조한 우유의 품질특성 연구
<p>연구개발성과</p>	<p>◆ 제1세부과제 (주관기관: 삼양식품(주))</p> <p>1. Grass fed 위주 사료의 영양적 품질 특성 및 사양기술에 대한 연구</p> <p>조사료 중심 사료의 제조는 효모균을 이용하여 30℃에서 7일간 발효시킨 배양물을 여러 가지 조사료와 혼합하여 TMR 배합기를 이용하여 혼합 후 20kg 비닐 팩에 밀봉하여 제조하였으며 1차 적용 실험(문경) 시 최종 TMR 지방산 분석 시 오메가6지방산:오메가3지방산의 비율이 1:1.62로 나타났다. TMR내 조사료 비율을 약 20%에서 70%로 끌어올렸으며 조사료 중심의 TMR을 급여한 결과 원유 내 n3/n6 지방산 비율이 1:14에서 1:4이하로 목표를 달성하였다. 2차 적용 실험(제주)에서는 두당 유량이 증가하고 feed efficiency 즉, 두당 우유 생산량/ 사료섭취량의 효율성도 증가하는 것을 확인하였다. 또한 원유 내 n6/n3 비율이 1:15에서 19주 후 1:4 이하의 비율로 감소한 것을 확인하였다.</p> <p>2. 고압살균처리한 원유를 이용한 건강기능성 발효유 제조</p> <p>본 연구에서는 HPP 처리한 원유를 이용하여 발효유를 제조하고, 발효특성 및 저장기간 동안 물리화학적 특성의 변화를 살펴보았다. HPP 처리한 원유를 이용하여 발효유 제조시 발효 초반에 유산균이 급격히 증식됨을 확인하였으나, 발효완료 후 총 유산균 수는 대조군과 크게 차이가 나지 않았다. 저장기간 중 실험군과 대조군 모두 유산균 수가 서서히 감소하는 경향을 나타내었다. 또한 산도 및 pH는 각 군 모두 정상적인 발효유의 범위를 나타내었다. 각 군의 viscosity를 대조해 본 결과, 대조군이 실험군에 비해 viscosity가 높게 나타났으나, syneresis는 HPP 처리군이 대조군에 비해 유의적으로 적게 발생된 것으로 나타났다 ($p < 0.05$). 따라서,</p>

적절한 압력을 이용한 원유의 HPP 처리는 발효유의 물성을 개선하는데 효과가 있다고 할 수 있으며, 이 분야에 대한 연구가 좀 더 이루어져야 할 필요가 있다.

3. 고압살균방법을 활용한 건강기능성 퀘소프레스코 치즈 제조

본 연구에서는 HPP 처리한 원유를 이용하여 제조한 퀘소프레스코 치즈(HPP-milk cheese)와 HPP 처리한 치즈(HPP cheese), 저온장시간 열 처리한 치즈(LTLT cheese)의 이화학적 특성과 물성을 상호 비교 분석 결과를 살펴보았다. 치즈 내 수분은 열 처리한 치즈가 가장 높았고 HPP cheese, HPP-milk cheese 순으로 나타났으며 고형분을 고려한 보정수율에서는 HPP-milk cheese가 가장 높은 수율을 보였다. 치즈 내 대장균군, 효모 및 곰팡이는 대조군을 제외한 모든 실험군에서 음성으로 나타나 HPP 살균이 열 살균과 동등한 살균효과를 가짐을 확인하였다. 또한 HPP 처리는 치즈의 미세구조를 변화시켜 yellowness 값을 증가시켰으나 물성을 비교해본 결과 HPP 처리군과 대조군은 유의적인 차이가 나지 않았다. 다만 Springiness를 제외한 모든 특성에서 HPP-milk cheese의 값이 유의적으로 높았으며 LTLT cheese에 비해 HPP cheese의 경도가 높게 나타났다. 따라서, 우수한 잘림성이 퀘소프레스코 치즈의 중요한 품질 특성임을 고려했을 때 퀘소프레스코 치즈 제조공정에서 적절한 압력 처리는 치즈의 경도를 높여 자르기 쉽게 만드는 효과가 있다고 할 수 있다.

4. 조사료와 flaxseed oil 급여가 Friesian-Holstein 육우의 증체량과 분변 내 미생물 특성에 미치는 영향

본 연구는 grass와 flaxseed oil 급여가 Friesian-Holsteins 육우의 증체량과 분변 특성에 미치는 영향에 대해 조사하였다. 대조군은 비육용 TMR사료만을 급여하였고, 실험군1은 flaxseed oil이 첨가된 펠릿과 생초(40:60)를 급여하였고, 실험군2는 생초만을 급여하였다. 사료의 n6:n3의 비율은 대조군이 21.93으로 가장 유의적으로 높았고, 실험군1과 실험군2는 각각 0.92, 0.51이었다. 최종 체중, 총 증체량 및 평균일당증체량 모두 대조군과 실험군1이 실험군2보다 유의적으로 높았다($p < 0.05$). 시험 기간 중 분변의 pH는 시험 120일차 이후로 대조군이 실험군1과 실험

군2보다 항상 낮은 수준을 유지하였다($p < 0.05$). 분변 내 미생물 분석 결과, 총 혐기성 균은 대조군의 경우 120일 이후부터 다른 2개의 그룹보다 유의적으로 높았다($p < 0.05$). 대장균군은 시험기간 동안 그룹 간에 유의한 차이가 없어 사료의 종류가 대장균군의 수 변화에는 영향을 미치지 않음을 확인하였다. 효모 및 곰팡이는 60일에서 141일차까지 대조군의 결과가 실험군1, 2의 결과보다 유의적으로 높았고 이는 대조군의 사료 내 효모 성분에서 기인한 것이라 판단된다. 시험 141일차 분변을 대상으로 한 *E. coli*의 내산성 조사 실험의 경우 대조군 *E. coli*의 생존율이 실험군1, 2 *E. coli*의 생존율보다 유의적으로 높았다. 이러한 결과로부터 초지 및 flaxseed 사료 급여가 분변 *E. coli*의 산 예민성을 증가시키고, 가축의 건강유지에 도움을 줄 수 있다는 것을 확인할 수 있었다.

◆ 제1협동과제 (참여기관: 강원대학교)

1. 사료조성을 달리한 사료를 홀스타인 거세우에 급여하였을 때의 지방산 조성 및 혈액분석

홀스타인 거세우에 사료조성을 달리하여 사료를 급여하여도 모든 처리구에서 건강상 문제는 발견되지 않았다. TMR 처리구는 사료이용률이 높아 혈중 콜레스테롤, 저밀도 및 고밀도 지단백질에서 조사료를 급여하였을 때보다 더 높은 수치를 나타낸 것을 확인할 수 있었다. 이러한 결과는 조사료를 단독으로 섭취하였을 때 보다 사료이용률이 더 높기 때문으로 사료된다. 또한 조사료를 먹인 홀스타인 거세우는 오메가-6/오메가-3 지방산 비율이 Mix와 TMR을 급여한 처리구들보다 유의적으로 더 낮았다. 그러나 헤일리지를 급여한 소들은 다른 처리구들에 비해 낮은 성장률을 기록하였으며, 이는 뼈 성장에 영향을 미치는 ALP활성이 상대적으로 낮게 나타났기 때문으로 사료된다. 따라서 사람이 섭취하였을 때 건강기능적으로 도움이 되는 혈중 오메가-6/오메가-3 지방산 비율이 낮으며, 성장률과 도체성적 모두 높은 오메가3가 다량 함유된 곡물과 reed canary grass (*Phalaris arundinacea*)을 40:60 으로 혼합한 사료를 급여하는 것이 바람직할 것으로 판단된다.

2. 사료조성을 달리한 사료를 홀스타인 거세우에 급여하였을 때 육질특성

TMR사료를 급여한 홀스타인 거세우 등심육을 그릴로 구웠을 때, 다른 처리구들에 비해 종합기호도에서 좋은 점수를 받았으나, Mix사료를 급여한 쇠고기가 육질특성과 관능 점수에서 조사료를 급여한 쇠고기 보다는 우수하였다. 오메가-6/오메가-3 지방산 비율은 TMR사료를 먹인 소고기에서 가장 높았으며 아마씨유가 함유된 곡물과 reed canary grass (*Phalaris arundinacea*)을 40:60 으로 혼합한 사료를 먹인 쇠고기가 조사료를 급여한 쇠고기와 유사한 수준으로 낮게 나타났다. 따라서 Mix사료를 급여하는 것이 TMR사료와 조사료를 급여하였을 때 보다 인체 건강기능적인 측면과 육질에서 바람직한 것으로 판단된다.

3. 홀스타인 거세우 등심육과 유화형 육제품에서의 비열초고압처리 효과

식육을 진공포장상태로 400MPa와 600MPa로 HPP처리 후 냉장저장하였을 때, 비처리구에 비해 pH를 0.1-0.2 정도 증가시켰으나, 조직감에서는 유의적인 차이가 나타나지 않았다. pH 6.0이상 쇠고기에서는 HPP처리가 고기 연도를 증가시키는 효과를 보였다. 그러나 pH 6.0이하의 가열육은 압력처리를 높일수록 경도도 증가하는 경향이 나타났다. HPP는 저장 중 식육의 변색과 지방산패를 야기하였다. 또한 초고압력으로 처리한 고기는 압력에 의해 단백질이 분해되어 모양이 잘 잡힌 유화형 육제품을 만들기 위한 방법으로는 적합하지 않았다. 새로운 육제품 개발을 위한 이러한 허들 테크놀로지의 적절한 활용은 시제품 또는 생육의 숙성을 위한 곳 보다는 간단 조리 후 먹는(Ready-to-cook) 육제품의 유통기간을 연장시키는 곳에 연구하는 것이 적합할 것으로 판단된다.

◆ 제2협동과제 (참여기관: 강원대학교)

1. Grass-fed 젖소유래 자연친화적 우유의 영양학적 품질특성 연구

본 연구는 일반사료급여 원유(CM)와 목초사료를 급여 원유(GM)을 각각 LTLT 저온 장시간 살균 및 HPP 살균처리(550, 580, 600 MPa / 3, 5분 / 15℃)한 후 살균효과 연구 및 저장기간에 따른 품질변화 그리

고 영양학적 품질특성을 분석하였다. Grass-fed유의 불포화 지방산의 경우 n3 : n6 비율이 약 1 : 3.6으로 일반우유의 약 1: 11.7과 확실한 차이를 보였으나 HPP처리는 그 비율에 영향을 미치지 않았다. HPP 살균 처리 및 저장기간에 따른 비타민 B₂ 함량은 차이를 나타내지 않았고, 미네랄 7종(Ca, Na, Mg, K, P, Zn, Se)을 분석한 결과에서는 일반원유와 grass-fed원유는 HTST 처리구보다 550 MPa HPP 처리한 경우 미네랄 함량이 유의적으로 감소하는 것으로 분석되었다. 소비자 기호도 평가에서는 HPP(580 MPa, 5 min) 살균 처리한 grass-fed원유가 4 종류의 실험군 중에 2번째로 우수한 평가를 받았다. 14일 저장기간동안 대장균군은 저장온도에 관계없이 검출되지 않았고, 일반세균의 경우 원유를 600MPa 압력에서 5분 간 처리하는 것이 가장 미생물 제어효과가 우수한 것으로 나타났으며 유산균의 경우에는 일반우유와 grass-fed유를 600 MPa 조건에서 3분 또는 5분간 처리하였을 때 5℃에서 저장 시 14일 동안 유산균이 검출되지 않았지만, 10℃에서 저장 시 저장기간이 지남에 따라 유산균이 증가하는 경향을 나타내었다. 병원성미생물의 경우 550-600 MPa 압력으로 5분간 처리하였을 때 저장 14일 까지 모든 병원성미생물이 제어되었다.

2. Grass-fed 젖소유래 우유의 동물모델을 이용한 지질대사 및 간기능 개선효능 구명

본 연구는 Grass-fed 젖소유래 우유의 동물모델을 이용한 지질대사 및 간 기능 개선효능 구명하기 위해 C57BL/6 mice에 8주간 고지방 식이를 공급하며 각각의 우유를 섭취시키고 조직의 무게, 증체량, 혈액의 지질농도, 간의 지방대사 유전자 및 항산화 활성을 분석하였다. 실험 결과 HC는 고지방 식이로 인하여 체중이 증가하였으나, HCG는 최종 무게 및 부고환 지방에서 HC보다 유의적으로 감소하였다. 하지만 HCC에서는 HC와 유의적인 차이를 보이지 않았다. 총 콜레스테롤의 경우 HC, HCC 및 HCG와 유의적인 차이를 보이지 않았지만, 중성지방의 경우 HCG가 HC와 HCC에 비해 유의적으로 감소하는 결과를 얻었다. 간 지방조직의 병리학적 검사를 통해 지방구의 크기 또한 HCG는 NC와 비슷한 것을 확인하였다. 간 조직에서 항산화 활성의 경우 SOD 및 CAT에서 HCG는 NC와 유의적인 차

	<p>이 없이 높은 활성을 나타냈다. 또한 간 조직에서의 지질대사 관련 mRNA 발현량을 확인한 결과, 지방산 산화를 조절하는 CPT-1과 PPAR-α에서 HCC보다 HCG에서 높은 발현량을 나타냈으며, 합성을 조절하는 FAS와 ACS에서는 낮은 발현량을 확인 할 수 있었다. 이상의 실험 결과 고지방식이와 함께 급여한 grass-fed 젖소유래 우유는 체중 및 지방조직의 무게감소와 더불어 혈중 중성지방 감소와 간 조직의 항산화 활성 증대와 지질대사 개선할 수 있는 유용한 소재가 될 수 있을 것으로 사료된다.</p> <p>3. 비가열가공기술을 이용하여 제조한 우유의 품질특성 연구</p> <p>우유의 살균처리에 따른 항알레르기 활성을 조사하기 위해, 비만세포주인 RBL-2H3 세포를 이용하였으며, 우유를 처리한 후 BSA를 이용하여 세포를 활성화 시켜 분비되는 Histamine, β-Hexosaminidase 및 Cytokine (IL-6, TNF-α)의 양을 측정하였다. 그 결과 활성화된 비만세포에서 분비되는 Histamine, β-Hexosaminidase 및 Cytokine (IL-6, TNF-α)이 가열 살균한 우유보다 HPP 살균한 우유에서 억제하는 것을 확인 할 수 있었다. 따라서 HPP 살균 우유는 가열 살균한 우유보다 알레르기 반응을 억제시키는 것으로 판단된다.</p>
<p>연구개발성과의 활용계획 (기대효과)</p>	<p>◆ 홀스타인 거세우들은 일반적인 육용소들에 비해 사료요구량이 높다. 마찬가지로 근내지방도가 높은 쇠고기를 생산하기 위한 비용도 홀스타인 거세우가 다른 종에 비해 훨씬 더 높다. 그러나 최근 소비자들의 의식수준 향상으로 인해 건강식품에 대한 소비가 늘어나고 있으며, 특히 과도한 지방으로 인해 혈중 콜레스테롤, 고혈압 등을 야기시키는 쇠고기에서도 건강기능성을 갖춘 신선육 및 육제품을 요구하는 움직임이 나타나고 있다. 소비자들이 섭취하였을 때 기존의 고기보다 근내지방도는 상대적으로 적지만 건강성을 개선시킴으로써 고부가가치를 창출할 수 있을 것으로 판단되며 오메가3가 다량 함유된 곡물과 reed canary grass (<i>Phalaris arundinacea</i>) 을 40:60 으로 혼합한 사료를 급여하는 것이 일반 농후사료에 비해 오메가-6/오메가-3 지방산 비율을 낮춰 서구화된 식습관으로 오메가-6/오메가-3 지방산 비율이 높은 현대인들에게 바람직할 것으로 판단된다. 더욱이 HPP의 사용은 유통기한을 증가시킨</p>

	<p>ready-to-cook 제품들의 영양가를 유지시키기 위해 적용되어질 수 있을 것으로 사료된다.</p> <p>◆ 유기농 우유, 방목 목초급여 우유와 같이, 초지에 화학비료, 항생물질을 사용하지 않으며 살충제 및 산유 촉진제 등을 사용하지 않는 자연친화적이고 안전한 제품이 미래의 유가공업계에서 경쟁력과 파급력을 가질 것으로 예상된다. 이러한 시기에 방목, 유기농 사료제공 등 유기농 유제품의 가공을 이용하여 기반을 확립하고 현재 식품업계에서 유가공 제품이 경쟁력을 갖추어 우유 소비량을 늘리기 위한 비가열처리 목초급여 친환경 우유의 연구는 매우 중요한 자료가 될 것으로 예상된다.</p>				
<p>중심어 (5개 이내)</p>	<p>Milk</p>	<p>Grass-fed milk</p>	<p>Feed</p>	<p>HPP</p>	<p>Grass-fed beef</p>

< SUMMARY >

		코드번호	D-02
Purpose& Contents	<ul style="list-style-type: none"> ■ To investigate whether HHP treatment of cheese, yogurt and beef might be an alternative way to produce cheese, yogurt and beef with acceptable attributes and reduced microbial load. ■ Study on nutritional quality characteristics of feed that consists mostly of grass and field application test. 		
	<ul style="list-style-type: none"> ■ To find the alternative diet for producing omega-3 enriched beef with good animal performance and carcass yield. ■ To investigate whether high pressure processing gives any impact and benefits on the quality of meat and meat products. 		
	<ul style="list-style-type: none"> ■ Study on nutritional quality characteristics of grass-fed cow' s eco-friendly milk ■ Identifying effect of grass-fed cow' s milk on lipid metabolism and liver function improving using animal model ■ Study on quality characteristics of grass-Fed cow' s milk manufactured with high pressure processing (HPP) 		
Results	<p>1. Study on nutritional quality characteristics of feed that consists mostly of grass and field application test</p> <ul style="list-style-type: none"> - 1st field application test(Munhyung): n-6:n-3 ratio of TMR was 1:1.62 that contains 70% grass. It changed n-6:n-3 ratio of milk from 1:14 to under 1:4. - 2nd field application test(Jeju): after application of feed that consists mostly of grass, milk yield and feed efficiency increased. It changed n-6:n-3 ratio of milk from 1:15 to less than 1:4 in 19 weeks. <p>2. Changes of Lactic Acid Bacteria and Physicochemical Properties of Yogurt Made with High Pressure Processing Treated Milk</p> <p>This study was carried out to investigate physicochemical and fermentation properties of yogurt made from high pressure processing (HPP) treated milk. Raw milk and commercial yogurt starter were used to make yogurt. Raw milk was HPP treated at 350 or 450 MPa (HPP 350 or 450) for 15 min or heat treated at 80°C for 10 min. The numbers of lactic acid bacteria of HPP treated group (HPP yogurt) rapidly increased during 2~4 h,</p>		

however, there was not significant difference from control ($P < 0.05$). Titratable acidity of all samples were increased, and pH were decreased during storage from 0.99 to 1.24%, and from 4.59 to 4.20, respectively. It is confirmed that they were in general range of yogurt. Control showed higher viscosity than that of HPP yogurt, and HPP 450 showed higher than that of HPP 350. Syneresis was significantly lower than control ($P < 0.05$). Based on the data obtained from the present study, HPP treatment was effective to enhance the quality of yogurt.

3. The Use of High-pressure Processing in the Production of Queso Fresco Cheese

Three types of Queso Fresco cheese were made: raw cheese (control), cheese made from LTLT treated milk (LTLT cheese), cheese made from HHP treated milk (HPP-milk cheese) and High Hydrostatic Pressure (HHP) treated raw cheese (HPP cheese). LTLT cheese had the highest moisture, followed by HPP cheese and HPP-milk cheese. HPP-milk cheese had higher yield, due to incorporation of denatured whey proteins, than the others. No coliforms, yeast and molds in cheese were detected for all cheese samples except control. HPP treatments modified the texture (more firm) and color (more yellow) compared to LTLT cheese.

4. Effects of Grass and Flaxseed Oil on Weight Gain and Microbiological Characteristics of Feces of Friesian-Holsteins

This study was conducted to evaluate the effects of grass and flaxseed oil on weight gain, fecal pH, microflora and acid resistance of fecal *E. coli*. in Friesian-Holsteins. Fifteen Holsteins were fed either conventional diet (C, $n=5$), grass (40%)+concentrate supplemented with flaxseed oil (60%) (T1, $n=5$) or grass only (T2, $n=5$) for 141 days, and T1 and T2 group were grazed on pasture except feeding time. Grabbing fecal samples and measuring body weight were carried out at test day 1, 60, 120, 141. To evaluate acid sensitivity of fecal *E. coli*, feces were incubated in pH 2.0 anaerobic solution during 1 h at room temperature and measured survival rate. In terms of diets, C group had the highest $n-6:n-3$ ratio with 21.93, followed by T1 group (0.92) and T2 group (0.51). C and T1 group had higher final weight, total gain weight and average daily gain than T2 animals

($p < 0.05$). The fecal pH of C group was maintained much lower than T1 and T2 group since day 120 ($p < 0.05$). Total anaerobe in feces of C group were higher than the other groups since day 120 ($p < 0.05$), but coliform bacteria were not significantly different among groups. Yeast and mold in feces of C group were significantly higher than the other groups from day 60 to day 141 ($p < 0.05$), which is considered to be relevant to yeast in the diets. After feces were incubated at strong acid, more fecal *E. coli* of C group (34.09%) survived than those of T1 group (3.79%) and T2 group (1.02%) ($p < 0.05$). From those results, it was considered that feeding grass and flaxseed oil to Holsteins enables to change fecal microflora, increase acid sensitivity of fecal *E. coli* and contribute to stay healthy for animals.

1. Effects of different diets on blood profile and animal performance.

All experimental animals are clinically healthy. TMR group gained more energy from diet, utilized more carbohydrate than rumen degradable protein as shown by higher concentration of blood glucose and lower concentration of blood urea nitrogen than the others. Plasma cholesterol levels, including low-density and high-density lipoproteins, were higher in both TMR and n-3 mix diet groups, figuring out higher energy intake than in the haylage group. Grass-fed cattle had significantly lower plasma n6 to n3 ratio than mix-fed and TMR-fed cattle. However, haylage-fed cattle showed lower growth performance (lower ALP activity and body weight gain). Feeding n-3 mix diet is recommended to obtain both low plasma n6 to n3 ratio and good growth performance.

2. Effects of different diets on meat quality, sensory traits and fatty acid composition.

Although roast beef obtained from the TMR group was more preferred than the two others, the n-3 mix-fed beef provided better overall meat physicochemical properties and sensory scores than the haylage-fed beef. The n-6 to n-3 ratio was higher in TMR-fed beef than other diet groups. In contrast, the inclusion of flaxseed oil-supplemented pellets maintained the ratio at levels that were lower than those found in the TMR-fed beef and close to grass-fed beef. Finishing diet containing flaxseed oil-supplemented pellets and reed canary grass haylage at the as-fed ratio of 40:60 was more advantageous than the diets containing conventional

corn-based TMR and haylage only for the production of n-3-enriched beef.

3. Effects of high pressure processing (HPP) on the quality of meat and emulsion-type meat product

HPP at 400 and 600 MPa increased meat pH by 0.1–0.2 units with no significant effects on meat texture profile and the stability of meat pH was well maintained during refrigerated storage under vacuum. For high-pH beef (pH>6.0), HPP provided advantage by increasing meat tenderness. In contrast, cooked-meat toughness increased as the level of pressure increased in meat having pH lower than 6.0. HPP led to the discoloration of meat and oxidative deterioration during storage. HPP-treated meat could not be used as a source for manufacturing well-shaped emulsion-type meat product as the functionality of meat protein was degraded by pressurization. The proper utilization of this hurdle technology for developing a new meat product should be considered such as at post-production to extend shelf-life of ready-to-cook meat products (burger patties or marinated meat) rather than at pre-production or for aging of raw meat.

1. Grass-fed cow's milk and feed-fed cow's milk were treated in 550, 580 and 600MPa of HPP, treated for 3 minutes and 5 minutes, and treated at 63°C for 30 minutes, LTLT(low temperature, long time) method. All samples were subdivided and quality characteristics and sterilization effect were analyzed during storage 14 days at 5°C and 10°C. *E. coli* was not detected and general bacteria were detected at low level, 4–7 log CFU/mL. *Salmonella*, *E. coli*, *Staphylococcus aureus* and *Clostridium perfringens* were not detected at 14th storage day. These results show that HPP has equivalent sterilization effect in comparison with LTLT, and than fatty acid functions of milk from grass-fed cow are able to satisfy consumers' preference, so producing high quality dairy products from grass-fed cow is thought to be possible.

2. In this study, to prove effects of grass-fed cow's milk on lipid metabolism and liver function improving, each milk samples were supplied to high fat diet-fed C57BL/6 mouse during 8 weeks and then, lipid metabolism gene and antioxidant activity were analyzed. The treatment with grass-fed cow's milk gained less weight and significantly high antioxidant activity than

	<p>one with feed-fed cow's milk. Expression level on mRNA of gene controlling fatty acid oxidation in liver was significantly higher in treatment with grass-fed cow's milk than that in treatment with feed-fed cow's milk, and expression level on mRNA of gene controlling fatty acid synthesis was lower in grass-fed cow's milk. Therefore, dairy products from grass-fed cow are thought to be useful material on weight, fat and triglycerides level loss in blood, antioxidant activity in liver tissue, lipid metabolism improving.</p> <p>3. To analyze anti-allergic activity on sterilized samples(HPP, HTST, LTLT), contents of histamine, β-hexosaminidase and cytokine (IL-6, TNF-α) were measured using mast cell, RBL-2H3. As result of that, histamine, β-hexosaminidase and cytokine (IL-6, TNF-α) secreted from activated mast cell were decreased in HPP-milk more than in heat-sterilized milk which means that HPP-milk decrease allergic reaction more than heat-sterilized milk.</p>
<p>Expected Contribution</p>	<ul style="list-style-type: none"> ◆ Holstein-Friesian steers require more energy from feed for maintenance than beef cattle breeds; therefore, the cost to produce highly marbled beef is much higher. Due to the growing interest in healthy lifestyles among consumers, including the consumption of healthy foods, adding value is necessary for enhancing profit by improving meat quality and producing healthier, lean beef rather than high-marbled beef with its associated high cost. Mixing existing pasture feeding with flaxseed oil-supplemented pellets represents an alternative way to produce healthy lean meat with a balanced n-6 to n-3 fatty acids ratio from dairy steers and to improve carcass weight and meat quality. Furthermore, the use of high pressure processing (HPP) could be applied for maintaining the nutritive value of n-3 enriched beef patties and its ready-to-cook products with extended shelf life at post-packaging stage rather than for raw beef or at pre-processing stage. ◆ Suggesting new trend eco-friendly health-functional dairy products <ul style="list-style-type: none"> -Determination of different fatty acid composition between Grass-fed cow's milk and feed-fed cow's milk by analyzing saturated fatty acid and unsaturated fatty acid -Evaluation of effect on Lipid metabolism and hepatic functional improvement by supplying Grass-fed cow's milk to C57BL/6 mouse -Potential and vision of commercialization on Grass-fed cow's milk through

	<p>consumer' preference evaluation</p> <p>◆ New pasteurization method of dairy products on non-thermal process technology</p> <p>-Suggesting new trend of product development through evaluation on physicochemical and nutritional quality characteristics in storage experiment of non-thermal processing milk</p> <p>-Potential of sterilization method controlling allergic reaction from milk protein degeneration caused by existing thermal sterilization method (LTLT, HTST and UHT)</p>				
Keywords	Milk	Grass-fed milk	Feed	HPP	Grass-fed beef

CONTENTS

Chapter 1. Outline of research and development	20
Chapter 2. Current state of domestic and foreign technical development	26
Chapter 3. Procedures and results of research and development	30
Chapter 4. Achievement of purpose and condition of related field	361
Chapter 5. Application plan and results of research	366
Chapter 6. Information of scientific technology corrected from other countries	380
Chapter 7. Security level of research	384
Chapter 8. Current Status of Instrument and Facilities	385
Chapter 9. performance result of Facilities safety management	386
Chapter 10. Key achievements of research	388
Chapter 11. References	389

〈 목 차 〉

제 1장. 연구개발과제의 개요	20
제 1절. 연구개발 목적	20
제 2절. 연구개발의 필요성	20
제 3절. 연구개발 내용 및 범위	23
제 2장. 국내외 기술개발 현황	26
제 1절. 국내 제품생산 및 시장 현황	26
제 2절. 해외 제품생산 및 시장 현황	27
제 3절. 특허분석	28
제 4절. 논문분석	29
제 3장. 연구수행 내용 및 결과	30
제 1절. 세부 연구개발수행 내용 및 결과	30
제 2절. 위탁 연구개발수행 내용 및 결과	168
제 3절. 협동1 연구개발수행 내용 및 결과	199
제 4절. 협동2 연구개발수행 내용 및 결과	287
제 4장. 목표달성도 및 관련분야에의 기여도	361
제 1절. 목표달성도	361
제 2절. 관련분야 기여도	364
제 5장. 연구결과의 활용계획 등	366
제 1절. 논문 실적	366
제 2절. 학술대회 발표 실적	367
제 3절. 특허 실적	369
제 4절. 인력활용 및 양성효과	369
제 5절. 제품화	369

제 6절. 기타성과	371
제 7절. 성과 활용계획	372
제 6장. 연구과정에서 수집한 해외과학기술정보	380
제 7장. 연구개발성과의 보안등급	384
제 8장. 국가과학기술종합정보시스템에 등록된 연구시설·장비현황	385
제 9장. 연구개발과제 수행에 따른 연구실 등의 안전조치 이행실적 ..	386
제 10장. 연구개발과제의 대표적 연구실적	388
제 11장. 참고문헌	389

제 1장. 연구개발과제의 개요

제 1절. 연구개발 목적

- ◆ 초지사료를 급여한 친환경 육우고기와 우유에 대한 건강기능성 인자를 탐색하고 비가열 살균방법(HPP)을 통한 고부가가치 유·육가공제품을 개발하여 상품화하고자 함
 - 비가열살균방법으로 유·육제품을 개발하여 상품화
 - 새로운 숙성 방법을 개발하여 육우고기의 품질향상
 - 인체 건강에 유익한 고부가가치 유·육가공제품의 산업화

제 2절. 연구개발의 필요성

1. 유가공 산업 현황 및 전망

- 가. 2002년 이전까지 우리나라 낙농업은 비약적으로 발전하여 젖소 사육두수가 55만3천두까지 증가하였으나, 2002년 이후 시행된 원유감산정책과 낙농폐업 유도정책으로 사육두수와 사육 농가수는 지속적으로 감소
- 나. 사육두수와 농가수의 감소에도 불구하고 사육규모는 대형화되고 젖소 품종개량사업으로 두당 산유량은 증가하여, 2010년 원유 생산량은 207만3천 톤에 달함
- 다. 최근 사회의 고령화, 저출산, 모유수유의 중요성 증대와 대체음료 시장의 확대로 유가공시장은 정체됨
- 라. 우리나라 유가공제품의 유형과 표시기준에 따라 우유류, 발효유류, 치즈류, 버터류 등 20개 제품류의 67여 품목이 있으나, 실제로 국내에서 생산되는 유가공품은 30여개에 불과함
- 마. 저출산 등에 의한 우유 소비의 감소로 우유와 분유 재고량이 갈수록 늘어남에 따라 유가공업계는 생산을 줄여야만 하고 이에 따라 농업 채산성이 갈수록 악화되어 가고 있음
- 바. 우유 제품의 소비를 늘리기 위해 유제품의 소비대상 연령을 전 연령층으로 확대하여야 하

고, 이에 소비자의 욕구를 충족시킬 수 있는 기능성 유제품의 개발이 절실히 요구됨

사. 국제적으로 국내 원유의 경제성을 살펴보면 국내산 원유 가격이 국제가격보다 2~3배 높고, 분유 제조원가도 수입 분유 가격보다 매우 높아서 가격경쟁력이 취약한 구조를 가지고 있음

아. 현재 선진 낙농국가와 비교시 2~3배 높은 원유가격과 외식산업의 성장과 소비자 기호변화, FTA 진전에 따라 유제품 수입이 지속적으로 늘어날 전망으로, 국내 시유 소비가 줄고 있는 데도 불구하고 원유 가격은 인상하고 있는 문제로 유업체는 원유가격에 대한 부담감을 줄이기 위한 해결책을 모색해야 함

2. 육가공 산업의 현황과 전망

가. 국민 1인당 육류 소비량은 2012년 기준 44kg으로 지난 1970년 5.2kg에 비해 10배 가까이 증가했고, 향후 완만하게 지속적으로 증가되리라 예측. 그러나 이러한 국내 육류 소비량은 미국이나 덴마크의 약 3분의 1, 독일이나 브라질, 대만의 약 2분의 1 수준

나. 국내 육가공시장

(1) 1970년까지 국내 육가공시장은 어육소시지중심의 제한된 시장이었음.

(2) 1980년대 이후 국민 식생활개선 및 소득향상에 따른 고급화의 소비추세에 따라 축육을 주원료로 하는 햄, 베이컨, 소시지 등이 제일제당과 롯데햄 두 대기업에 의해 양산되면서부터 새로운 전기를 맞게 되었음.

다. 국내 육가공품 생산 및 판매 동향

(1) 1990년 육가공품 국내 전체 총 생산량은 96,808톤으로서 혼합소시지가 37,589톤을 점유하여 39.1%를 차지하였음. 2000년에는 15.4%로 줄어들었고, 2006년에는 19.6%로 저하되었음.

(2) 반면에 축육을 주원료로 생산한 식육가공품은 1990년 60.9%에서 2006년까지 80.4, 2013년에 87.3%로 비중이 증가하고 있음.

(3) 2013년도에 햄은 61,306톤, 소시지는 64,971톤, 베이컨은 6,831톤이 생산되어 2006년도의 햄은 58,520톤, 소시지 44,156톤, 베이컨, 2,765톤에 비해 각각 4.8%, 47.2%,

147%, 만큼 성장세를 보였음

라. 육가공제품 수입동향

- (1) '05년 소시지 및 캔류 수입은 19,930톤으로 '90년대 초반 11,000톤 안팎에 비해 크게 증가
- (2) UR 타결이후 완만히 증가하던 수입품의 국내시장 점유율은 '97년 외환위기 이후 큰 폭 하락하였으나 '00년 이후 다시회복 '06년에는 12%대까지 상승

마. 육가공품의 소비현황

- (1) 식품소비패턴의 고급화·다양화·간소화를 배경으로 육가공품 소비가 1990년대 후반 빠르게 증가함. 2000년대 이후에 소비 폭은 줄었지만 지속적으로 증가하는 추세임

바. 향후 전망: EU와 미국 등 선진국의 소비자들은 기존의 양적 위주의 식육생산과 소비방식에서 유기축산이나 동물복지를 고려한 친환경적인 축산으로 전환하고 있음

사. 우리나라의 향후 식육 및 육가공 산업은 기존의 고급화, 다양화뿐 아니라 환경 친화적이면서도 건강에 유익한 제품들이 많이 출시되리라 예상

3. 본 연구의 필요성

가. 대관령목장을 이용한 자연친화적인 친환경 축산모델 확립으로 국내 육가공사업 및 낙농발전에 기여

- 밀집사육의 악성가축질병으로 농가손실 및 피해발생 예방(가축질병, 구제역 등)
- 산지축산 및 산림정책 방향성 제시(농림축산식품부)
- 대관령목장을 이용한 산지생태축산의 모델 확립으로 국내축산 및 육가공발전에 기여

나. 비가열살균(HPP)법에 의한 유·육가공제품 출시

- 열에 민감한 IgG, IgA, IgM, lactoglobulin, lactalbumin, lactoferrin, TGF (면역 및 성장 기능성분) 등의 열손실율을 높여 고기능성 유제품 출시
- 국내 유·육가공 전문인력 양성 및 고용 창출과 산업발전에 기여

- (다) 친환경 방목 및 사료와 비선호 육우의 결합으로 다양한 상품화에 기여
 - 비선호 육우의 숙성 방법을 달리하여 품질 및 관능을 개선시켜 상품성 증가
 - 이화학 및 영양적 품질특성 구명으로 육우산업 활성화에 기여

- (라) 우유의 알레르기성 저감화 구현
 - 동물실험을 통한 비가열초고압처리 우유의 항알레르기 연구
 - HPP 우유의 미생물 및 품질특성, 제품화의 기초자료로 활용

제 3절. 연구개발 내용 및 범위

◆ 제1세부과제 [주관기관: 삼양식품(주)]

친환경 젖소 및 육우 사양기술을 통한 건강기능성 육우고기 및 유제품의 상품화

- (1) 국내외 친환경 및 산지생태 축산 모델의 운영사례, 법령, 산업화 연구
 - ① 국내 산지초지 축산 운영사례 조사
 - ② 국외 산지초지 축산 운영사례 조사
 - ③ 초지법 등의 관련 제도 현황 파악
 - ④ 산지생태 축산 모델 전략안 도출

- (2) Grass fed 위주 사료의 영양적 품질 특성 및 사양기술에 대한 연구
 - ① 사료의 영양성분 및 에너지 분석
 - 탄수화물, 지방, 단백질, 섬유질 최적화
 - ② Grass fed 위주 사료의 지방산 profile 분석(n3:n6 ratio)
 - 지방산 n3:n6 비율 최적화
 - ③ 사료급여 목장의 사양 기술 최적화
 - 사육두수, 섭취량, 증체량, 유량 등
 - ④ Grass fed 위주 사료 조성에 따른 육우 및 젖소의 이행 특성 분석
 - 사료의 n3:n6 비율에 따른 육우 및 젖소 혈액의 n3:n6 비율 이행 관계 분석

- (3) 대관령 EGC목장(grass fed 위주)과 일반목장 사료급여에 의한 동물복지 상관관계 분석
 - ① Stress 측정 지표 선정 및 분석

- lactic acid, glucose 등 분석

◆ 제1협동 과제 [강원대학교 이성기 교수]

자연친화적 건강기능성 육우고기 제품에 관한 연구

(1) 자연친화적 건강기능성 육우고기의 영양적 품질특성 구명

① 영양성분의 분석

- 기능적 영양성분 분석: 비타민, 미네랄 등의 함량 분석
- 일반 영양성분 분석 : 단백질, 탄수화물, 지방 등의 함량 분석

② 품질특성 비교

- 고기의 색깔(L,a,b), 색소산화(Mb, OxyMb, MetMb), WHC, Puncture test 측정
- 친환경 사료 급여군과 일반 사료 급여군의 관능적 기호도 분석

(2) Grass fed beef의 건강기능성 인자 탐색

① 건강 기능성 지방산 profile 비교분석

- 친환경 급여육과 일반 사료 급여육의 지방산 조성 비교
- 급여방식 및 부위(살코기와 축적지방)의 n6/n3 비율 분석

② 저장 중 지방산화 억제와 항산화 효소역가 비교

- 냉장 및 냉동 저장 중 TBARS, POV 변화 측정
- 친환경 급여육과 일반 사료 급여육의 tocopherol 및 cholesterol 함량 비교
- CAT, GSH-Px, SOD activity를 측정하여 지방산화 연관성 분석

◆ 제2협동 과제 [강원대학교 주진우 교수]

자연친화적 건강기능성 우유 제품 연구

(1) Grass-fed 젖소유래 자연친화적 우유의 영양학적 품질특성 연구

① Grass-fed 젖소유의 지방산 profile 분석

- GC/FID를 이용한 지방산 조성 분석(포화지방산(SFA)과 불포화지방산(USFA) 분석)
- 불포화지방산 n-6 : n-3 비율 분석
- GC/FID를 이용한 conjugated linoleic acid(CLA) 분석

② Grass-fed 젖소유의 이화학적 특성 및 품질 특성 차이 규명

- 원유의 기능적 영양성분 분석
 - 비타민: 비타민 A, 비타민 D, thiamin, riboflavin 등
 - 미네랄: calcium, magnesium, phosphorus, potassium, selenium, zinc 등

- 관능적 특성 검사
 - Grass-fed 젓소유의 소비자 기호도 분석

- (2) Grass-fed 젓소유래 우유의 지질대사 및 간 기능 개선효능 구명
 - ① 동물모델을 이용한 지질대사 개선효능 분석
 - 혈청 total cholesterol, HDL 및 LDL cholesterol 분석
 - 혈청 triglyceride 함량
 - 증체량 분석
 - ② 간 기능 개선효능 구명
 - 간 기능지표 분석: 혈청 ALT, AST, ALP 등
 - SOD 활성 측정
 - ③ 항고지혈 효능 시험
 - 간 세포내 지방합성관련 유전자(Fatty acid synthase (FAS), Acyl CoA synthase (ACS) 등)의 real-time PCR을 이용한 발현정도 분석

- (3) 비가열 초고압처리기술을 이용하여 제조한 우유의 품질특성 연구
 - ① 비가열 초고압처리 공정변수 및 환경변수에 따른 살균효과 연구
 - 온도 및 시간에 따른 살균효과 분석
 - 원유의 미생물이 제어되는 가열온도 및 시간연구
 - ② 비가열 초고압처리에 따른 우유의 품질특성 변화 연구
 - 비타민 분석: 비타민 A, 비타민 D, thiamin, riboflavin 등
 - 미네랄 분석: calcium, magnesium, phosphorus, potassium, selenium, zinc 등
 - ③ 비가열 초고압처리 우유의 항알레르기 효과 연구
 - RBL-2H3 세포주를 이용한 항알레르기 효과 분석
 - β -hexosaminidase 저해효과 분석
 - histamine release 억제효과 분석
 - 사이토카인(TNF- α , IL-6 등) 분석

제 2장. 국내외 기술개발 현황

제 1절. 국내 제품생산 및 시장 현황

국내 백색시유는 우유제품 군에서 국민 소득수준 향상에 따른 식생활 개선에 발맞추어 그 종류도 다양화, 세분화 되는 추세이다. 소비자의 다양한 욕구에 힘입어 제조회사들은 세분화된 우유제품을 출시하고 있다. 우유의 생산, 관리, 유통에 있어 기술의 발전과 소비자 생활패턴의 변화함에 따라 소비유형도 변하고 있다. 생산에서 유통까지 모든 과정에 기술이 도입과 발전으로 인해 신속히 이루어지고 있다. 그로인해 신선함과 청결함을 오래 유지하여 보관이 용이해 졌다. 국민의 소득 수준 상승, 서구 식생활의 유입, 웰빙 트렌드 확산에 따라 저지방/ 무지방, 프리미엄, 유기농 제품군의 성장세가 일반 백색우유 대비 높은 것으로 나타났다.

현재 가장 많이 사용되는 우유의 살균 방법은 열처리법이며 63도에서 30분간 가열하는 방식인 Low Temperature Long Time(LTLT), 72~75도에서 15초간 열처리하는 High Temperature Short Time(HTST), 135도에서 2초간 살균하는 Ultra-High Temperature(UHT) 방식이 가장 많이 사용되고 있다. 하지만 이러한 가열살균 방법은 우유의 단백질 및 비타민C와 같은 성분을 변성시키는 단점이 있고 특히, 고온살균 과정 중 변성된 유단백은 신생아에게 항원으로 작용하여 심각한 알레르기를 유발하는 연구가 있다(Isolauri 및 Turjanaa, 1996)

알레르기 저감을 위한 우유의 비가열 살균 기술로 초고압 처리법이 적용되고 있으며 최근 연구에 의하면 초고압 처리법(hpp)후에 IgE와 결합하는 능력이 상실된다고 보고되었다(Lopez-Exposito 등, 2012)

기능성 강화우유가 시판에 출시되어 있으나 우유 자체가 가진 질적인 부분에 초점을 맞추고 개발하기 위해 우유의 살균방식을 기존 가열방식에서 비가열 방식으로 전환한 연구를 하고 있다. 그러나 이러한 비가열 방식 살균방법은 우리나라에서 과채류 및 수산제품의 살균에 집중되어 있고 제품의 실적은 없는 상황이다.

프리미엄 우유 시장이 성장세를 나타내며 다양한 제품이 출시가 되고 있음 특히 국내 유기농 우유 시장은 2008년 약 50억 원 규모였으나 2012년에는 약 300억 원대 시장으로 성

장한 것으로 추정하고 있음. 업계에서는 자연 친화적이면서도 더 안전하고 기능적인 제품을 원하는 소비자들의 니즈가 증폭되는 만큼 유기농 제품 외에도 새로운 프리미엄 제품군이 확대되는 추세가 나타날 것이라고 전망함. 서울우유, 매일유업, 남양유업의 프리미엄 우유 외에도 한국야쿠르트의 내추럴 플랜, 삼양식품의 에코그린캠퍼스 대관령 유기농 우유, SPC 그룹의 밀크플러스 등 유가공업체 뿐만 아니라 비유가공업체에서도 프리미엄 우유에 관심을 보이며 시장에 참여하기 시작함(출처: 매일유업 2012년도 사업보고서, 프리미엄 우유 성장세 눈에 띄네, 축산신문, 2013.04.18)



(국내 비가열 처리 제품)

국내 시장1위는 2007년 아임리얼을 선보인 풀무원이다. 이제품은 매년 연평균 100% 이상의 매출 신장을 기록하며 첫해 매출은 20~30억 원, 다음해에 50억 원, 3년째는 100억 원을 기록한 것으로 업계에 알려져 있다. 그밖에 CJ제일제당이 비가열 착즙주스 시장을 개척하여 제품출시를 하였다. 국내시장에서의 우유제품군의 비가열처리는 아직 연구된 바가 없다.

제 2절. 국외 제품생산 및 시장 현황

1. 초고압 잼 제품

초고압 기술이 식품에 응용되면서 1990년대 초에는 일본에서 초고압을 이용한 과일 잼이 생산되었다. Horie 등(1991)은 잼을 만들어 본 결과 열처리를 통해 발생하는 향과 색깔의 변화가 적고 과일 특유의 성질이 유지된다고 보고하고 있다.

2. 초고압 guacamole제품

북미에서 초고압 제품으로 가장 성공적인 제품은 guacamole(avocado를 갈은 것으로 멕시코 요리에 주로 사용)로 냉장 저장기한을 30일 까지 연장시킬 수 있었다.

3. 수산식품

3,000기압 정도의 압력을 이용하여 바닷가재, 굴, 조개 등 해산물로부터 껍질을 제거하여 속살을 거의 100%분리하여 제품 크기에 관계없이 최대 수율을 얻을 수 있다. 이러한 초고압 기술을 수산물 가공에 이용할 경우 기계적 손상을 입지 않고 속살만 수거할 수 있어 노동력 및 제조경비를 줄일 수 있는 동시에, 유해균으로부터 제품을 보호하여 안전성을 증가시킬 수 있으며 유통기한을 연장하는데 사용할 수 있다.

제 3절. 특허분석

1. 특허분석 범위

대상국가	국내, 국외(미국, 일본, 유럽)
특허 DB	특허정보원 DB(www.kipris.or.kr), Aureka DB
검색기간	최근 5년간
검색범위	제목 및 초록

2. 특허분석에 따른 본 연구과제와의 관련성

개발기술명		High pressure processing 살균우유	고지혈증완화에 효과 있는 우유
Keyword		High pressure processing	고지혈증
검색건수		84	891
유효특허건수		4	1
핵심특허 및 관련성	특허명	초고압	고지혈증예방식품
	보유국	대한민국	대한민국
	등록년도	2010	2007
	관련성(%)	30	0
	유사점	없음	없음
차이점		우유와 HPP 살균에 관한 특허는 전무	식이섬유첨가한 유제품 및 육제품의 고지혈증의 특허에 초점

제 4절. 논문분석

1. 논문분석 범위

대상국가	미국, 일본, 유럽
논문 DB	Aureka DB, pubmed DB(www.ncbi.nlm.nih.gov), 국회도서관(www.nanet.go.kr)
검색기간	최근 5년간
검색범위	제목, 초록 및 키워드

2. 논문분석에 따른 본 연구과제와의 관련성

개발기술명	초고압처리 우유	초고압처리 우유	초고압처리 우유	
Keyword	초고압처리	High pressure processing milk	High pressure processing milk	
검색건수	63	63	63	
유효논문건수	14	14	14	
핵심논문 및 관련성	논문명	초고압 처리에 의한 이유식 가공 및 특성	Impact of high-pressure processing on vitamin E (α -, γ -and δ -tocopherol), vitamin D (cholecalciferol and ergocalciferol), and fatty acid profiles in liquid foods	Effect of thermal pasteurisation and high-pressure processing on immunoglobulin content and lysozyme and lactoperoxidase activity in human colostrum
	학술지명	한국식품영양학회	Journal of agricultural and food chemistry	Food chemistry
	저자	조형용, 조은경, 김병철, 신해현	Francisco J. Barba, Maria J. Esteve, Ana Frigola	Silvia G. Sousa, Ivonne Delgadillo, Jorge A. Saravia
	게재년도	2011.12.31	2012	2014
	관련성(%)	20	25	20
	유사점	초고압처리방식	초고압처리방식	초고압처리방식
	차이점	초고압처리압력조건 및 시간과 이유식가공에 초점을 맞추고 있음	우유와 과일 주스를 혼합 초고압처리 후 vitamin E, vitamin D, 지방산 profile을 분석하였다.	사람의 초유를 일반적인 살균처리와 초고압처리를 하여 immunoglobulin 함량, lysozym과 lactoperoxidase 활성을 분석하였다.

제 3장. 연구수행 내용 및 결과

제 1절. 제 1 세부

친환경 젓소 및 육우 사양기술을 통한 건강기능성 육우고기 및 유제품의 상품화

1. 산지축산

가. 산지축산의 필요성

FTA협정 등 시장개방 확대, 국내외 가축질병 발생, 사료작물가격 및 유가 상승, 금융위기로 인한 경제침체 등 국내외 시장여건이 급속히 변화함에 따라 국내축산은 새로운 시장변화에 효과적으로 대응하고 지속적인 발전을 이루기 위한 방안의 모색이 필요한 상황이다. 세계적인 곡물가격 상승으로 인한 축산농가의 사료비 과다지출에 대한 경쟁력 약화를 해소하고, 과도한 밀식 사육으로 인한 가축의 질병, 악취로 인한 민원발생 등의 우리축산의 문제점을 극복하고, 환경과 농가소득을 동시에 고려하는 산지를 이용한 생태축산이 필요하다.

산지생태축산은 국내에 풍부하고 인간의 식료와도 경쟁하지 않는 여러 가지 초자원을 효과적으로 활용하는 생산방식이며 수입사료 의존으로부터도 벗어날 수 있는 길이다. 산림을 이용한 생태축산은 임간 초지를 기반으로 조사료 생산, 생산비 절감, 친환경·동물복지 및 관광체험산업 연계 등 축산업 미래 성장 동력으로서 지속 가능하다. 또한 생태축산을 통해 초지가 가축의 먹이에만 국한되지 않고 방화벽, 자연환경 개선 등을 고려한 개념이 되고, 초지는 다양한 형태로의 이용 및 개발이 될 수 있다.

산지경사지는 친환경 축산 및 생산비 절감에 최적이다. 번식경영의 측면에서 보면 토지 기반을 확대하여 저비용의 사료를 확보하여 송아지 생산비 절감이 가능하고 비육경영에서는 가격이 싼 비육밀소(송아지) 생산과 전환 발 등에서 생산되는 고 에너지 사료에 의한 생산 방식으로 생산비절감이 가능하다. 산지와 유희농지를 활용한 자연친화적인 축산업 활성화로 차별화된 친환경 축산물을 생산하고 국내외 시장여건의 변화에 크게 좌우되지 않고 지속적이고 안정적인 조사료 수급이 용이하여 축산의 발전을 이루는 효과적인 방안이다(강원대학교, 2014).

(1) 경제적 관점

(가) 축산물의 가공·판매에 의한 소득향상과 고용 확대

산지생태축산을 통한 품미가 좋은 축산물의 생산은 소비자로부터 높은 평가를 받을 수 있고, 이런 양질의 축산물 생산은 한걸음 더 나아가서 가공·판매함으로써 부가가치 생산에 의한 소득 증대가 가능하다. 또한 축산물의 가공·판매는 원료부문인 축산과 함께 연중 가동이 가능하기 때문에 안정된 고용기회가 확대에 도움이 된다. 산지축산의 도입으로 연중 고용의 기회를 창출할 수 있다면 농업 이외의 취업 기회가 드문 산간지역 활성화에 기여할 수 있다.

(나) 저비용 생산방식

산림원야, 경작포기지 등 초자원을 효과적으로 이용하여 축산농가의 소득향상에 기여할 수 있다. 산지생태축산은 조건이 좋지 않아 경종농업을 하기 힘든 지역에 인간의 식용으로 사용되지 않는 풀과 나뭇잎을 조사료로 이용하여 축산업을 하는 것을 말한다. 지역자원의 효과적인 이용과 환경보전의 양립이 가능하고 저 투입·지속형의 생산 방식으로 농가소득 증가에 기여할 수 있다. 최근 가격이 폭등하고 있는 곡류사료를 대체하면서 귀중한 외화를 절약할 수 있고 사료비 절감으로 가격경쟁력을 얻을 수 있을 뿐 아니라 국가경제에 많은 도움을 줄 수 있다.

(다) 가축 생산비의 절감

가축의 사료를 산림의 풀로 대체함으로써 생산비가 절감된다는 것이 최대 장점이다. 사료 생산비 절감은 인공 초지 방목 시에도 동일하지만 인공 경운 초지처럼 집약 초지를 조성하지 않는 임간 초지는 인공 초지에 비하여 땅값이 낮으므로 인공 초지보다 생산비가 절감될 수 있다. 가축의 육성성적을 보면 번식우나 포유 송아지의 경우 임간방목으로 발육이 양호해진다는 보고가 많다. 반면 이유후의 육성우에서는 발육이 양호하지 않다는 보고도 있다. 따라서 가축생산성의 경우 방목하는 소의 종류에 따라 임간방목이 유리한 경우와 불리한 경우가 존재할 수 있다.

(라) 시장 친화적 사업

우리나라의 농산물은 3~5%만 과잉생산이 되어도 가격이 폭락하는 등 많은 문제점이 발생하지만, 산지 초지를 통한 자급 풀 사료는 과잉생산 하더라도 다른 농산물에 영향을 미치지 않아 시장 교란이 없다.

(2) 환경적 관점

(가) 환경보전과 경관의 제공

산지생태축산은 초지 조성 시 자연지형 그대로 이용하고 생태계의 순환시스템을 최대한 이용하는 농법을 말한다. 따라서 환경에 부담을 주는 비료 등의 투입은 최소로 하며, 잔디 등의 초지는 토양침식에도 강하다. 산지생태축산은 초지·야초지·임지 등이 섞여있는 푸른 토지에서 주로 이루어지며, 그곳에 가축을 방목함으로써 친근감이 더해져 도시 사람들이 찾아올 때 사람들에게 평온함이 느껴지는 공간을 제공한다. 산지축산에서는 자연 그대로의 지형을 이용하며 기계의 힘에 의존하지 않고 제경법에 의해 초지를 조성한다. 이 때문에 조성 시 토양이 흘러가는 것을 막을 수 있으며, 초지의 유지와 관리에서도 방목소의 분뇨는 초지에 환원되므로 화학비료 등의 투입이 억제된다.

(나) 초종과 물·토양 보존효과

잔디 등 단초형 초종은 줄기와 뿌리를 땅 표면과 땅속에 망을 치듯이 둘러쳐 있어서 소의 발굽과 밟는 압력에 의한 손상이 적다. 또한 잡초가 없는 임지에는 많은 비에 의해 토지침식이 되기 쉬운데 초지와 임지의 적절한 조합으로 토양과 물의 보전기능은 한층 향상될 수 있다.

(3) 사회적 관점

(가) 소비자의 요구 (건강·안전·맛)에 대응한 산업방식

산지생태축산은 자연자원의 내재력을 이용하여 축산물을 얻는 농법이다. 가축은 화학비료를 사용하지 않은 사료를 먹고 자라므로 생산된 축산물은 맛이 좋고 미네랄, 비타민 등도 풍부하게 함유하고 있다. 산지생태축산은 안전하고 맛있으며 건강에 좋은 식품을 제공한다. 요즘

소비자 측에도 건강을 지향하는 소리가 높아져 자연식품 또는 유기농식품에 대한 요구가 많아지고 있다. 이런 소비자의 필요 변화에 대응 가능한 산지생태 축산은 큰 의의가 있는 농법이다.

(나) 저 투입 지속형의 생산방식

산지축산은 제경법 등으로 소의 능력을 이용해서 초지를 조성한다. 방목에 의해 풀·토양·소를 통한 자연의 물질순환을 활용하기 때문에 비료 등의 자재 투입이 적고, 환경에 부담을 주지 않는 지속적 생산이 가능하다. 또한 방목에 의해 소가 건강해지기 때문에 번식력도 향상되고 방목기간 중에는 사료의 수확·조제·제공 등의 관리 작업이 경감되므로 산지축산은 농가의 일에 여유를 제공할 수 있다.

(다) 가축의 복지를 배려한 생산방식

유럽과 미국 등 축산 선진국에서는 소에게 스트레스가 되는 요인인 농후사료 과다 급여, 고밀도사양에서 점차 소의 생리·생태에 적합한 사육하는 방식으로 변하고 있다. 이제부터는 우리나라 축산에서도 가축의 복지가 요구되는데 이런 관점에서 방목을 주로 하는 산지생태축산은 우수한 사육환경을 제공한다. 우리 산의 초지를 이용하여 우리 땅에서 자란 풀 사료를 우리 가축에게 먹일 수 있어 신토불이 친환경 안전 축산물을 생산할 수 있다(강원대학교, 2014).

나. 산지축산의 개념

(1) 산지 및 산지 초지의 정의

산림법 상 산지란 농지, 초지, 주택지, 도로 등은 제외되고 입목, 죽(竹)이 집단적으로 생육하고 있는 토지와 그 토지 안에 있는 암석지, 소택지 및 임도 등이 포함된다. 산지 초지란 산이 많은 지대에 결뿌림으로 구성되어 주로 방목에 이용되는 초지로 일본에서는 고원 초지라 한다. 한편 초지란 주로 초본식물로 덮인 토지, 임지, 경지 등과 대응되는 지목의 일종으로 농업상의 용어이다. 산지 초지는 식생면에 따라 자연 초지(목초를 가꾸는 등의 적극적인 인위수단을 가하는 일 없이 자연 상태로 채초나 방목에 이용하는 초지로서 야초지라고함), 인공 초지

(인위적으로 목초를 가꾸어 만든 축산용의 초지로서 목초지라고 함)로 구분할 수 있다. 산지생태축산이란 유향 산지를 활용한 임간 초지를 조성하거나 방목축산을 통해 환경과 농가소득을 동시에 고려하는, 친환경적이고 지속 가능한 축산형태라고 말할 수 있다. 이 모델은 산림 본래의 기능과 생태계를 훼손하지 않으면서, 비용절감·방역 효율성증대·동물복지 배려 등의 효과를 기대할 수 있는 미래형 한국축산의 지향점으로 주목 받고 있다. 여기에 가공과 관광·체험산업이 연계되면 6차 산업화 모델이 될 수 있다(농촌진흥청, 2014).

다. 산지축산의 유형

산지축산은 관점에 따라 다양한 분류가 가능하지만, 산을 이용하여 축산을 영위한다는 관점에서 분류하였다. 즉, 축산업의 관점에서 축산업의 후방산업이라 할 수 있는 조사료 등을 산지로 이용하는 형태(기존의 산지 초지 축산)가 있고 나아가 1차 산업인 축산업을 하는 경우에도, 산지에 입목된 상태로 가축을 사육하는 형태(기존의 임간방목)가 있다. 이를 모두 포함하여 제1유형으로 분류하였다. 한편, 기존 사육방법이 아닌 친환경적인 방법으로 축산을 영위하는 경우(친환경축산 형태)가 있는데 이 경우에도 유기사료를 산지에서 재배하여 이용(채취 및 방목 포함)하는 경우가 있다. 이를 제2유형으로 분류하였다. 한편, 산지를 이용하여 1차 산업인 축산과 2차 산업인 가공 등 또는 3차 산업에 해당하는 체험 및 관광, 판매를 결합하는 형태를 제3유형으로 분류하였다. 이 밖에도 축산클러스터와 같이 축산을 중심으로 후방산업에서 전방산업에 이르기까지 연계된 모든 부문을 동시에 결합한 형태를 제4유형으로 분류하였다.

다시 말하면 제1유형은 산에서 축산에 이용하는 조사료 등을 생산하거나 산에서 가축을 기르지만 축산이 아닌 임업이 주가 되는 유형으로, 산지 초지에서 목초를 재배하여 축산에 이용하거나 방목하는 경우처럼 축산이 주가 아닌 부의 형태로 이용되는 유형이다.

두 번째로는 산에서 친환경적으로 가축을 사육하는 유형이다(제2유형). 이에 산지 내에서 가축을 직접 사육하는 형태와 산지 내에 가축 외에도 축사 등도 입지하는 산지 내 친환경적 사육형태의 축산이 입지하는 유형이다.

세 번째는 축산업과 전방산업을 연결하는 형태 중 축산을 이용하여 3차 산업인 관광(3차산업)과 연계하는 형태이다(제3유형). 이에 초지 자체를 관광자원으로 이용하는 초지 관광형, 축산농장을 중심으로 주변관광지와 연계하여 이용하는 형태, 가축을 직접 3차 산업으로 연계시킨 체험축산과 같은 형태이다.

네 번째 형태는 산지에서 1차 산업인 축산업 또는 가공부문 등 2차 산업 그리고 서비스 부문인 3차 산업이 입지하되, 세 산업이 서로 유기적으로 연계되는 소위 클러스터 연계형 산지 축산 형태이다(제4유형). 이에는 생산부문이 산지에 입지하는 축산 클러스터와 산지를 이용하여 축산물 가공 산업이나 서비스 산업이 입지하고 축산과 연계되는 형태의 축산 클러스터가 있을 수 있다. 현재 정부가 추진하고 있는 국가축산클러스터가 대표적인 예이다. 이를 정리하면 다음과 같다.

- 제 1유형: 조사료 생산·이용형 산지축산으로 초지이용형 축산, 임간초지방목, 기타가 있다.
 - 제 2유형: 친환경축산형 산지축산으로 친환경적으로 산지 내 가축사육(산지 초지, 임간방목), 친환경 산지 내 축산 입지, 친환경 축산 및 동물복지의 기본이 되는 산지 사육 밀도 조절형 축산, 유기사료 재배 이용형 축산, 기타가 있다.
 - 제 3유형: 관광산업 연계형 산지축산으로 초지관광형, 산지 입지 관광형, 주변 관광지 연계형, 기타가 있다
 - 제 4유형: 축산클러스터 연계형 산지축산으로 생산부분 산지 입지 축산 클러스터, 산지이용 서비스 산업 연계형 축산 클러스터가 있다
- (농촌진흥청, 2014)

Table 1. 산지축산의 네 가지 유형

유형	대유형	소유형	국내외 사례	비고
제1 유형	조사료 생산 이용형	초지 이용형	여주초지, 영동산불피해지, 일본공공목장, 북해도 요로우시아마 모토 목장	
		임간초지 방목형	해맑은목장(유산양), 괴산 하늘목장(흑염소), 제주 마을공동목장, 제주 노형동 말농장, 제주 흑염소목장, 일본경작포기지방목	
제2 유형	친환경 축산형	산지 내 가축사육	동물보호인증농장, 칠원S목장(산양), 아일랜드(소, 낙농, 양, 말 등)	
		산지 내 축산입지	은하목장, 농도원목장, 또나따목장, 신우목장, 강진흑염소목장, 문 경이지바이오목장(산양), 포르투갈HBS농장(양, 돼지)	
		사육밀도 조절형	봉동농장(돼지), 스페인 신코혼타스(돼지), 포르투갈 ALICEX (돼지)	
		유기사료 재배형	제주 성이시돌목장(낙농, 한우, 말)	
	기타유형	의령군, 일본 미야자키 미도리계약 (우드칩)		
제3 유형	관광산업 연계형	초지 관광형	삼양목장(젓소 등), 양떼목장	
		산지입지 관광형	소백산관광목장(한우, 토종닭, 흑염소), 안성팜랜드(젓소), 파주 포 드목장(젓소)	
		주변관광 지연계형	다하누촌(한우), 신우목장(젓소), 아일랜드 물랑모어(육우)	
		기타유형	은하목장, 농도원목장, 또나따목장, 신우목장, 포드농장, 임실치즈 마을, 하이록농장(한우), 돼지문화원, 일본 북해도 요크셔농장(돼 지)	

제4 유형	축산 클러스터	생산부문 산지입지 클러스터	강원산우리(돼지), 제주 마산업 클러스터-제라한(말), 네덜란드 와닝겐(돼지), 일본 모쿠모쿠팜(돼지, 젓소), 아일랜드 세인트토라(산양), 아일랜드 팜파울(가금), 일본 북해도 토미타팜(낙농)
	연계형	산지이용 서비스업 연계형 클러스터	경기도 에코팜랜드(한우, 육우, 돼지), 제주(한우, 젓소, 말), 강원 한우령(한우), 충북청풍명월(한우, 양돈, 양계), 충남 돼지카페마블로즈, 일본 효고현 아이스공방 라일락, 아키타현 쓰치다목장

(농촌진흥청, 2014)

라. 국내외 산지축산 사례

(1) 국내 산지축산 운영사례

(가) 금성목장

금성목장은 1982년 창업하였고 평창군 방림면 운교리 335-5에 위치하고 있다. 1세이상 번식우130두, 육성우& 송아지40두로 총 170두를 사육하고 있다. 평지 3ha, 산지 6ha로 초지는 총 9ha이다. 산지 초지의 방목사육방식으로는 봄 5월 중순 임목 하여 11월 중순 종목 실시, 기간 중 완전 목초사육을 한다. 9ha를 5구로 나누어 한구에 30두를 평균 1주일씩 방목한다. 1회 방목과 2회 방목은 5월 중순과 8월 중순 실시하며 평균 1개월 15일 전이 되는 2산 이상의 가임 암소를 방목시킨다. 방목실시 후 새끼가 분만되면 분만 후 평균 1개월 15일째 어미와 새끼를 떼어놓는다. 산지생태축산을 시행할 시 사료비는 방목하므로 0원이며, 오차드그라스, 티모시 위주의 종자구입비로 60kg/6ha에 50만원의 비용이 소요된다. 1두/달 사육비용은 1만 1천 원 정도가 소요되며 축사 내 사육 시 1두/달 사육비용은 약 10만 원 선으로 1/10의 비용이 소요된다. 산지축산의 장점으로 소의 발굽발달이 매우 우수하며 질병이 줄어든다. 또한 방목 암소는 난산이 한 건도 발생하지 않았고 수태 율이 높아졌다고 한다. 일반 농가의 경우 수태 율이 60%선이라면 방목 시 80%로 증가함을 보였다.

(나) 부개목장

부개목장은 1996년 7월에 창업하였고 평창군 미탄면 백운리에 위치하고 있으며 700~750m의 해발고도에 있다. 초지의 면적은 10ha이고 사료포로 연간 100t을 생산하고 있다. 창업 당시 오랜 기간 방치한 부실 초지가 있었고 10년간 자란 잡목이 숲을 이루어서 차량 접근이 어려웠다. 번식 우 30두, 비육우 10두, 송아지 27두 분만 예정이다. 거세 우 사육 시

400kg까지 충분한 조사료의 공급과 방목을 하고 400kg 후에는 계류하여 단계별로 농후사료를 급여하는 방식을 택하였다. 비고세우 사육 시에는 300kg까지 충분한 조사료의 공급과 방목을 시행하였고 300kg 후에는 계류하여 단계별 농후사료를 급여하였다. 부대목장에서 말하는 산지축산의 장점으로는 평지보다 부동산 비용이 저렴하고 양질의 조사료 생산이 가능하므로 생산비가 절감된다는 점이다. 또한 여름의 평균 기온이 평균 3~4℃ 낮아서 가축 스트레스를 줄일 수 있다. 또한 산지축산 시 청정의 공기와 깨끗한 물을 공급할 수가 있고 민가와외의 거리 차로 인해 환경문제에 대한 민원제기가 거의 없다. 산지축산의 단점으로는 배합사료 수송과 소 출하 등 운송의 불편이 있고 겨울철 기온 저하로 인한 방한 시설이 필요하다는 점이다.

(다) 우덕목장

우덕목장은 1974년 6월 5에 창업하였고 평창군 대관령 면 횡계리 꽃밭양지길 458-23에 위치하고 있으며 해발고도가 800~1,200m로 높은 편이다. 초지 조성면적은 약 250만평이며 홀스타인 300두(착유두 120두), 한우 150두를 사육하고 있다. 홀스타인 두당 일 착유량은 32kg이며 연간 원유 매출액은 약 13억 원이다. 착유동 1동, 육성우사1동, 한우사1동, 자동로봇착유시스템(드라발사)2기, 하베스토어2기 등을 소유하고 있다.

Table 2. 우덕목장 산지초지 운영현황

구분	채초지	방목지	잔존구	계	비고
1단지	30만평	63만평	43만2천평	136만2천평	방목지위주
2단지	60만평	21만평	36만2천평	117만2천평	채초지위주
계	90만평	84만평	79만4천평	235만4천평	

Table 3. 우덕목장 풀 사료 생산량 현황(단위: 톤)

조사료별	청초 생산량								비고
	2012	2011	2010	2009	2008	2007	2006	2005	
청초 수확량	2,614	2,464	2,540	2,959	2,744	2,730	1,872	2,296	
방목 중 청초 채식량	348	611	197	349	322	337	337	383	
합계	2,962	3,075	2,737	3,308	3,066	3,067	2,209	2,679	

우덕목장은 풀 사료 생산으로 연간 약 2억 5천만원의 사료작물 매입비를 절감하고 있다. 이는 배합사료를 포함한 전체사료 비(약 8억)의 약 32%를 차지한다. 향후 산지 초지를 통하여 풀 사료 비중을 더욱더 확대할 경우 목장의 원가경쟁력이 향상되고, 가축사육방식의 새로운 전환점이 될 것으로 보인다.

(라) 에코그린캠퍼스(대관령삼양목장)

현 에코그린캠퍼스(대관령삼양목장)은 삼양축산개발 주식회사로 1972년 2월 24일에 초지개발을 시작으로 1985년 현재의 목장이 완성되었다. 목장은 평창군 대관령면 꽃밭양지길 708-9 해발 850~1,140m에 위치해 있다. 초지 조성면적은 650ha 달하며 집약 초지가 350ha, 방목지가 300ha 이다. 총면적은 580만평으로 서울 여의도의 7.5배이다. 사육규모는 사양1단지에는 젖소 380두, 양 160두, 타조 10수가 있고 친환경 유기농 우사1동, 일반우사 14동이 있다. 2단지에는 방목육우 200두가 있으며 우사 7동이 운영되고 있다. 홀스타인 두당 일착유량은 약 30kg이며 목장전체 연간 약 950톤을 생산하고 있다. 2011년 11월 유기초지 인증을 받아 유기농우유를 생산하고 있으며 2012년 8월 삼양축산(주)에서 에코그린 캠퍼스(주)로 상호를 변경하였다. 2014년 1월에는 에코그린캠퍼스가 동계올림픽 관광특구지역으로 지정되어 관광지로 각광을 받고 있다.

Table 4. 에코그린캠퍼스 풀 사료 생산량 현황(단위: 톤)

조사료별	청초 생산량					비고
	2013	2012	2011	2010	2009	
청초 수확량	1,521	1,588	1,170	1,738	1,548	
방목 중 청초 채식량	152	159	117	174	155	
합계	1,673	1,746	1,287	1,912	1,703	

에코그린캠퍼스는 풀 사료 생산으로 연간 약 5~7억 원의 사료작물 매입비를 절감하고 있으며 이는 전체사료 비 18억의 약 39%를 차지한다. 현재 원유 생산부분의 손익은 유기화의 높은 단가로 인한 손익분기점 혹은 약간의 적자이나 산지 초지 활성화를 통한 풀 사료 비중 확대 시 목장브랜드가치가 프리미엄화 될 것으로 예상된다. 현재 유기농 우유 생산 및 판매를

하고 있으며 목초급여를 중심으로 한 소고기 제품 개발 진행 중에 있다. 또한 산지 초지 보존을 통한 경관, 체험 관광 사업으로 소득을 올리고 있다(강원대학교, 2014; 농촌진흥청, 2014).

(2) 일본 산지축산 운영사례

(가) 홋카이도 카미카와군 시미즈쵸 목장

1982년에 현재의 이농 철거 지를 4,000만 엔(전부 차입금)으로 구입하였다. I씨의 모토는 인간의 식료와 경쟁하는 곡물에 의지하지 않고, 목초와 발농사의 부산물로 안전하고 질 좋은 저비용 생유를 생산한다는 것이다. 그 다음 목표는 곡물제공을 가능한 없애고 양질의 조합사료 생산과 젖소의 유전적 개량으로 순 국산 생유를 생산하는 것이다.

시미즈쵸 목장은 표고 220m 경사지로 총면적이 61ha에 달한다. 방목지는 24ha지만 그 중 14ha는 돌과 바위가 많아 기계사용이 불가능하다. 채초지는 30ha이며 경산우 69두, 미경산우 66두로 총 135두를 사육하고 있다. 연간 우유 생산량은 567톤이며 유지방은 4.07%이다. 시설은 8두를 동시에 착유할 수 있는 팔러가 있다. 분뇨가 방목지 내에 균일하게 배설되므로 영양 염류가 순환 이용되고 적절한 방목관리가 되어 목초의 생산성이 저하되지 않고 지속적인 생산이 가능하다. 따라서 초지의 갱신작업이 필요 없다. 년 중 4~11월까지 방목을 하고 매우 추운 겨울에도 목구(방목을 위해 나뉜 구획)를 로테이션으로 이용하고 옥외에서 사육한다. 옥외 사육 개시 시 유방에 동상이 발생하기도 하였으나 기름을 발라 동상을 방지하고 있다. 방목으로 인해 유질·유 성분이 향상되고 번식성적이 향상되었으며 합리적 관리로 고수익이 보장되고 소득 율은 50%를 넘고 있다. 또한 이러한 독창적인 발상과 뛰어난 경영실적을 인정받아 1998년에는 일본 농업대상을 수상하였다(강원대학교, 2014).

(나) 코치현 난코쿠시 S목장

난코쿠시 S목장은 1959년부터 논 낙농을 시작했고 현 내에서 고유량 생산농가로 표창 받을 정도의 기술수준을 갖추었다. 하지만 토양, 풀, 소, 사람에게 좋은 자연순 환형 낙농에 뜻을 두고 표고 차 150m로 기복이 심한 현재의 깊은 산지로 들어오게 되었다. 가축의 생리·행동, 식물 생태, 기상조건 등 산지축산에 관한 풍부한 지견과 경험을 살려서 저 투입 지속형의 새로운 경영체계를 확립하였다. 소유지가 30.7ha이며 방목지는 23ha이고 채초지는 5ha이다.

소 27마리, 송아지 13두를 사육하고 있고 유지방이 4%대로 양호하며 우유생산에 사료비가 차지하는 비율은 20%로 낮은 편이다. 나무를 잘라 태워버린 자리에 잔디 모종 3~5개씩 옮겨 심고 예초를 하며 5~6년에 걸쳐서 산 전체를 잔디 초지화하기 때문에 밭굽으로 인한 파임, 많은 비, 풍식 등에 의한 토양침식을 방지 할 수 있다. 잔디길이를 5~10cm로 유지하도록 방목 관리를 하고 있으며 초지 생산량이 적을 시 사일리지 등을 보급하고 있다. 시바나 사일리지 등 자급 조사료의 영양 섭취량에 맞는 유량 수준을 유지하고 있고 소 전체를 주야방목 하고, 겨울철에는 방목지를 운동장으로 이용하고 있다. 방목소의 건강이 유지되므로 진료·치료비가 거의 들지 않는다. 산지낙농으로 생산된 우유를 산지낙농우유라는 브랜드로 9,000~10,000/월 판매하고 있으며 육우는 고기를 600엔/kg(지육)으로 자연식품을 원하는 소비자에게 공급 판매하고 있다(농촌진흥청, 2014).

(다) 아오모리현 츠가루시 묘부산축산조합

이 공공목장은 아오모리 현 츠가루시 묘부산 축산조합이 운영하고 있다. 조합원 다수는 축산과 벼농사 및 채소와의 복합경영이 중심이 되어 육용우 번식경영을 하고 있다. 여기서는 면적 91.43ha(방목초지 88.17ha, 겸용초지3,26ha)를 이용하여 현재 조합원 17명이 흑모화우 번식용 암소 285마리를 매년 5월 상순부터 11월 상순에 걸쳐 주야 방목하여 사육하고 있다. 하루 평균 200마리 정도만 방목하는 이유는 조합원들의 축사에는 분만1개월 전부터 출산 직후의 소와 건강상태가 좋지 않아 특별 관리하고 있기 때문이다.

목초는 오차드그라스가 중심이지만, 페레니알 라이그라스, 메도페스큐, 시록로바가 섞여 있어, 식생은 대체로 양호하나 일부 예조노기시기시 등의 잡초가 있다. 겸용 초지를 포함한 방목장은 크게 A(31.1ha), B(30.3ha), C(18.1ha), D(12.9ha)의 4개 구역으로 구성되어 있다. 각각의 소목구 1곳에 70~80마리의 비임신우가 무리 지어 생활하고 있고 목초의 이용률을 올리기 위해 초생을 보면서 3~7일정도마다 다른 소목구로 윤작방목을 하고 있다.



Fig. 1. 일본 아오모리현 츠가루시 묘부산축산조합.

(농축산업진흥기구, 2011)

(3) 미국 산지축산 운영사례

(가) 마크 에반스(Mark Evans, 조지아주 소재)

마크 에반스씨는 현재 조지아주에서 산지축산을 성공적으로 실행하고 있다. 이 농장은 2003년에 소나무 임지에 간벌이나 개벌의 필요성 때문에 시작하여, 대왕송 임지에 암소와 송아지들을 방목하고 있다. 회기식 방목(rotational grazing)방법을 사용하고 있고, 대왕송은 펄프나 제재목용으로 경영하고 있다. 그 외에도 솔잎 경영 등 다양한 수입원 창출을 위해 노력하고 있다.



Fig. 2. 조지아 주 산지축산 현장(왼쪽)고 마크 에반스씨(오른쪽) (Garrett 등, 2004)

(나) 짐 윌슨(Jim Wilson, 미주리 주 소재)

짐 윌슨씨는 미주리 주 네바다 근처에 월넛과 피칸 나무들을 심어 산지축산을 성공적으로 실행하고 있다. 그는 처음 견과류를 생산하기 시작한 이후로 풀들의 높이를 조절하기 위해

가축을 사용했다. 하지만 지금은 견과류 생산 이외에도 여기서 자라는 가축들을 팔아서 많은 이익을 남기고 있다. 윌슨씨는 가축들이 넓은 농장에서 뛰어 놀게 하고 가축의 분뇨는 질소와 함께 나무에게 좋은 비료가 된다. 또한 더운 여름에는 나무로 인해 약 5℃ 온도를 낮춰주는 효과가 있다.



Fig. 3. 미주리 주 산지축산지(왼쪽)와 짐 윌슨씨(오른쪽). (Garrett 등, 2004)

(4) 유럽 산지축산 운영사례

(가) 독일 Weber목장

Weber목장은 해발 850m에 위치해 있으며 별4개의 민박농가이다. 브라운스위스 중 120두(50두 착유, 70두 육성우)를 키우고 있으며 유지방이 평균 4.3%이다. 7,000kg까지는 농후사료 없이 생산하며 그 이상의 사료는 농후사료를 급여하고 있다. 1년에 4~5회 예취하며 그 후는 방목하여 키운다. 계류사육 시 평균 4산에 그치지만 Weber목장은 보통 6산 이상으로 생산성이 뛰어나고 연간 1,400mm 되는 강우량을 이용하여 목장용수로 이용한다 (강원대학교, 2014).

마. 산지축산 시 고려할 점

산지에 임간 초지를 조성하려 할 경우, 먼저 기상조건이나 산지의 여건, 사회적·경제적 여건을 검토하여야 한다. 기상조건 중에서 온도조건과 강수량 조건이 중요하다. 온도조건은 겨울철의 심한 추위이거나 여름철 고온 지속 및 일조량 과다에 의한 지역 등에 대한 검토가 필요하다. 강수량은 여름에 연중강수량의 50~60%가 편중되며, 가을~봄에 강수량이 낮아 목초의 생육을 저해하는 경향이 있으므로 조성 시 중요한 고려 요인이 된다. 산지여건이란 산지의 경사도가 주 고려 요소이다. 이외에도 임간방목을 위해서는 하부에 초본 류 생육이 가능하도록 임분 밀도를 낮게 유지할 필요가 있기 때문에 수관밀도도 중요한 고려 요소가 된다.

검토되어야 할 사회경제적 여건에는 산림의 소유구조나 산불 등 재해발생 시 관련된 것들을 주로 의미한다. 우리나라 전체 산림의 70%가 사유림이지만, 개별 소유규모가 영세하고 소유목적도 다양하기 때문에 산림의 소유구조에 대한 고려가 사전에 있어야 할 것이며, 산불 발생 시 축산 피해 확산에 대한 대책 등은 안정적 경영을 위해 반드시 미리 준비되어야 할 사항이다.

산지에 축산 입지를 선정할 경우에는 1) 유전자원 보호림·공원 등 녹지공간으로 지정되어 있거나 또는 기타목적의 사업제한 지역인지 여부 2) 송이나 산약초 등 산림 부산물의 생산지인지 3) 주변 경관과의 조화는 좋은지 4) 만일 초지 조성에 실패하였을 경우 복구문제 5) 지역주민과의 마찰문제 6) 산사태, 산불 등 각종 산림재해에 대한 대비 등이 우선적으로 고려되어야 한다(농촌진흥청, 2014).

바. 산지축산제도 현황

(1) 일본 방목인증제도(일본 초지축산종자협회)

사단법인 일본 초지 축산종자협회는 방목 인증을 기초로 하여 방목축산 기준 인증 제도를 소비자에게 널리 알리고 인증표시를 통해서 생산되는 축산물의 수요를 확대함으로써 방목축산의 보급에 공헌하고자 노력하고 있다. 방목인증제도는 정확히 말하면 방목 축산기준 인증 제도이며 본 제도에 대한 검토는 2001년부터 본격적으로 시도되었고 전국적으로 설명회를 개최하고 2010년부터 인증 작업을 개시하였다. 생산자의 경우 방목축산기준에서 생산과정에서 지켜야 할 사양관리사항 14가지 요건에 대해 준수해야 한다. 모든 요건을 준수한 방목축산 기준 인증을 취득한 경영 체에 대해서는 당 협회 홈페이지에 경영 개요를 게재하고 있다. 또한

인증을 받아서 생산물의 인증마크를 붙임으로써 브랜드화, 차별화를 할 수 있다. 요건으로 1두 당 방목면적은 목초지의 경우 0.25ha, 잔디초지 0.45ha, 야초지0.9ha가 하한선으로 정해져 있다.

(2) 미국의 산림복합경영 연방정부 정책

미국정부는 산림복합경영의 진흥을 위해 지속적으로 지원 정책을 개발해 왔다. 산림복합 경영과 관련된 대표 정책은 기술적인 지원 및 교육과 직접적인 보조금 지급이다. 먼저, 농업경영자들에게 기술 지원을 위해 1935년 토양보전 및 국내할당 조항에 의해 협동기술지원프로그램을 제정하였고 농무성 천연자원 보전국에서 운영하고 있다. 미 연방 정부에서는 식품, 농업, 보전, 및 무역에 관한 조항 제 14장인 보전 프로그램 개선조항에서 산림농업 유형 중 임간재 배에 비용을 분담할 수 있도록 1985년 Conservation reserve program 조항을 수정하였다. 이 수정안은 산림복합경영을 통해 나무아래 농산물을 생산하도록 허가해 주면서, 매년 임대료를 50%씩 감면해주도록 하였다. 또한 일정한 토지에 활엽수를 식재할 때 거기서 농산물을 생산하는 임간 재배자들에게는 비용분담을 하도록 해 주었다.

그 외에도 다양한 연방정부 정책을 수립하여 산림복합경영을 통해 지속 가능한 토지 이용 및 산림 경영을 하고 있는 지주·산주들을 지원하고 있다(농촌진흥청, 2014).

Table 5. 미국 산림복합경영 지원을 위한 연방 정부 정책

미국 연방 정부 정책	주요 내용
The Forest Stewardship Program	사유림소유자가 지속 가능한 산림경영을 수립하도록 도움
The Stewardship Incentive Program	사유림소유자에게 청지기 책무 프로그램을 수행하도록 비용 분담을 해주는 제도
Forestry Incentive Program	재정지원을 통한 재 조림, 육림, 방화림, 자연 복원지 확대를 통해 국가 목재 공급 능력 증대
Conservation Reserve Program	농작물 재배지의 영구적인 식물보호지대 설정을 위한 토지매입, 비용분담, 장기임대
Environmental Easement Program	토양과 수자원 개선을 위한 지원 제도
Sustainable Agricultural Research	지속 가능한 농업 실행 지원

(Keith N. Alexander, Joe C.E. Hope, Alan Lucas, John P. Smith, and Mark A. Wright.2007)

(3) 한국산지 축산 관련 제도

(가) 초지법

초지법은 일제의 식민통치를 벗어난 이후 1953년 한국전쟁 이후에 제1차 산업인 농·임·축산업의 발전으로 도모하기 위하여 1960년대 농지와 관련된 법을 제정함과 더불어 1969년에 초지법을 제정하게 되었다. 초지법의 목적은 축산진흥계획의 일환으로 초지 조성, 개갈, 개량, 보전, 관리 및 이용에 관한 사항을 규정함으로써 초지 조성에 장애가 되는 요인을 제거하여 축산업의 발전을 도모하기 위함이다(제1조). 이 초지법은 현재 2013년 4월 5일에 개정을 하였다.

(나) 초지법의 주요 내용

"초지"라 함은 다년생개량목초의 재배에 이용되는 토지 및 사료작물재배지와 목도·진입도로·축사 및 농림수산식품부령이 정하는 부대시설을 위한 토지를 말한다(제2조 제1호). "사료작물재배지"라 함은 조사료를 생산하기 위하여 일년생작물을 재배하는 토지를 말한다. "미개간지"라 함은 임야·황무지·자연생초지 등 법적 지목여하에 불구하고, 초지 조성에 적합한 토지(초지 조성을 위하여 필수적이라고 인정되는 농지를 포함한다)로서 초지로 이용되고 있지 아니하는 토지를 말한다. "초지의 전용이라 함은 초지의 형질을 변경하거나 초지의 이용에 장애가 되는 시설 또는 구조물을 '설치하는 등으로 초지를 초지 외의 목적에 사용하는 것을 말한다. 그리고 "초지 조성단비"라 함은 초지 1ha 조성에 필요한 비용으로서 농림수산식품부 장관이 매년 산출·고시하는 비용을 말한다.

(다) 초지 조성의 제한

아래와 같은 토지에 초지를 조성할 수 없다 (제3조 제1호)

국가·지방자치단체의 공용·공공용·기업용 또는 보존의 목적에 사용하고 있거나 사용하기로 계획이 확정된 토지, 채종림·시험림·산림유전자원보호림, 국립묘지·공설묘지·사설묘지와 국가 또는 지방자치단체가 지정한 국립묘지 또는 공설묘지의 예정지, 국토의 계획 및

이용에 관한 법률에 따른 도시지역, 자연 환경보전법 제12조의 규정에 의한 생태·경관보전지역, 야생 동·식물보호법 제27조의 규정에 의한 야생동·식물특별보호구역 등에 해당한다.

(라) 초지 조성의 허가과 취소

초지 조성을 하기 위해서는 법령(대통령령)에 정한 바에 따라 해당토지의 소재지를 관할하는 시장·군수에게 허가를 받아야 한다(제5조 제1항), 이때에 시장·군수를 해당토지가 초지 조성 및 이용에 적합한지 여부를 조사하여야 하고(제5조의2 제1항), 당해 토지 또는 인접 타인의 토지에 출입하거나 그 지상의 입목·토석 기타 장애물을 변경 또는 제거할 수 있다(제5조의2 제2항). 이때의 손실은 보상해야 한다(제5조의2 제5항). 이러한 허가는 첫째 허가일로부터 1년이 경과하여도 사업에 착수하지 아니하거나 착수 후 1년 이상 사업을 중지한 때, 둘째 사위 기타 부정한 방법으로 허가를 받은 때, 셋째 허가조건을 위반한 때, 넷째 초지 조성 완료 전에 그 대상 토지를 상속·양수 또는 임차한 자가 제11조의 규정에 의한 지위승계에 대하여 반대의 의사표시를 한 때 등이 존재하면 시장 또는 군수는 허가를 취소할 수 있다(제12조).

(마) 초지 안에서의 행위제한

허가를 받아 조성된 초지 안에서는 시장·군수의 허가를 받지 아니하고는 토지의 형질 변경 및 공작물의 설치, 분묘의 설치, 토석의 채취 및 반출, 기타 초지의 이용에 지장을 주는 행위로서 농림수산식품부령이 정하는 행위 등을 하지 못한다(제21조의 2).

(바) 초지의 전용 등

초지법에 따라 이미 조성된 초지를 다음과 같은 경우에 한하여 전용할 수 있다.

1. 중요산업시설·공익시설·주거시설 또는 관광시설의 용지로 전용하는 경우
2. 「농지법」 제2조제2호의 규정에 따른 농업인이 건축하는 주택의 용지로 전용하는 경우
3. 농수산물의 처리·가공·보관시설 및 농수산시설의 용지로 전용하는 경우
4. 농작물재배용지로 전용하는 경우, 다만, 과수용지 이외의 용지로 전용하는 경우에는 경사도 15℃ 이내의 초지에 한한다.
5. 「제주특별자치도 설치 및 국제자유도시 조성을 위한 특별법」 제4조의 규정에 따라 경제자유구역으로 지정하기 위하여 전용하는 경우

7. 「지역특화발전특구에 대한 규제특례법」 제9조제1항의 규정에 따라 지역특화발전특구로 지정하기 위하여 전용하는 경우
8. 「중소기업창업 지원법」 제2조의 규정에 따른 창업을 위하여 전용하는 경우
9. 그 밖에 시장·군수가 시·도시자와의 협의를 거쳐 특히 필요하다고 인정하는 시설의 용지로 전용하는 경우

위와 같은 초지의 전용은 시장·군수의 허가를 받아야 한다(제23조 제2항). 초지의 전용이 국가 또는 지방자치단체에 의한 공용 또는 공공용시설의 용지로 사용을 위한 것이면 이를 위하여 시장·군수와 협의하여야 한다(제23조 제4항). (초지법, 법률 제11743호, 2013.4.5)

(사) 초지법의 과제

초지법은 1990년 이후 시장개장과 경제성에 따른 도시화로 인하여 축산업과 초지 개발이 답보상태에 있는 것이 사실이다. 그러나 장차 식량문제에 대한 대비를 위해서는 초지의 중요성이 한층 강조된다고 할 수 있다. 따라서 초지법에 대하여는 장차 다음과 같은 과제와 더불어 이에 대한 정책이 필요할 것이다.

첫째, 시장개장과 경제성장에 따른 식단의 서구화가 점차 육류소비를 증가시키고 있고, 이로 인하여 국내의 육류공급의 점진적인 증가에 대한 국내 자체의 축산업발전과 적극적인 초지 개발이 필요하다. 이를 위하여 국가차원의 정책과 지원이 필요하다.

둘째, 초지 전용을 최대한 제한할 필요가 있다. 공업단지 및 도시권개발로 인하여 초지를 산업용지 그 밖의 건축 또는 주거용지로 전환되는 것을 최소화할 필요가 있다. 더 나아가 이에 대한 적극적인 법률제정과 시행이 필요하다.

셋째, 초지의 필요성에 대하여 국민의식의 제고와 국가적 차원에서의 정책이 필요하다. 21세기에 들어가 점차 식량과 환경의 중요성이 강조되고 있는 현실에서는 국민의식의 제고와 함께 국가 차원에서의 초지 보존과 개발에 대한 정책이 필요하다. 이를 통하여 장차 안정적인 식량 확보를 통하여 국민의 생존권을 보호할 것이다.

넷째, 초지 보존과 개발을 위한 전문인력양성과 관련법의 제정이 필요하다. 점차 초지 조성의 필요성과 산업화에 대한 용지개발을 함께 상존할 수 있도록 효과적인 정책수립과 개발을 위하여 적극적인 전문인력의 양성이 필요하다. 아울러 이를 효과적으로 발전시키기 위해서는 관련법의 제정 및 개정이 선행되어야 할 것이다(최명구, 2011).

(아) 환경친화축산농장 지정제도

환경친화축산농장은 소(젖소포함), 돼지, 닭을 사육하는 농장으로서 축사를 친환경적으로 관리하고 가축분뇨의 적절한 관리 및 이용에 기여하는 축산농장을 의미한다. 환경친화축산농장의 지정은 가축분뇨법 제10조에 근거를 두고 있다. 농림축산식품부 장관은 축사를 친환경적으로 관리하고, 가축분뇨의 적절한 관리 및 이용에 기여하는 축산농가를 환경친화축산농장으로 지정할 수 있도록 되어있다. 환경친화축산농장을 지정하고자 할 때에는 다음의 조건이 따른다. 즉, 축산업의 등록기준 이하로 가축사육의 밀도를 유지하고 생활환경을 개선할 것, 가축분뇨를 자원화 하여 전량 농지에 환원할 것, 조경수를 심는 등 자연 친화형 축사를 조성할 것, 악취저감시설을 설치·가동하여 주변의 생활환경을 저해하지 아니할 것 그밖에 농림축산식품부령으로 정하는 기준을 지킬 것 등의 조건이 갖추어 질 경우 환경친화축산농장으로 지정 받을 수 있다.

환경친화축산 농장으로 지정 받기 위해서는 축산업을 등록한 농장이어야 하며, 가축분뇨처리시설의 설치기준에 맞는 농장이어야 한다. 또한 위해요소중점관리기준(HACCP) 적용 농장이어야 한다(가축분뇨의 자원화 및 이용촉진에 관한 규칙 제7조). 환경친화축산농장으로 지정된 축산 농가는 축사 및 가축분뇨의 관리에 필요한 재정적 지원, 배출시설자에 대한 보고·검사의 면제, 그밖에 농림축산식품부령으로 정하는 사항에 대해 지원 받을 수 있다. 지원 내용은 다음과 같다. 가축분뇨의 자원화 및 이용 촉진에 관한 규칙 제6조). 1) 환경친화축산농장의 환경 개선과 경영에 관한 지도·상담 및 교육, 2) 자연친화형 축사의 조성에 필요한 조경 및 환경친화적 축산자재 등에 대한 지원 등이다. 환경친화축산농장의 지정을 받은 자가 다음 중 어느 하나에 해당하는 경우에는 지정이 취소될 수 있다. 1) 거짓 그 밖의 부정한 방법으로 지정을 받은 경우 2) 환경친화축산농장의 조건을 이행하지 않은 경우 3) 환경친화축산농장 지정기준에 적합하지 않은 경우 4) 가축분뇨법 또는 축산법을 위반하여 행정처분을 받거나 형벌 또는 과태료의 처분을 받은 경우로서 환경친화축산농장으로 부적합하다고 판단되는 경우 등이다. 가축을 관리함에 있어 가축의 사육밀도 기준 이상을 유지해야 하고 축사 간의 거리는 가축의 사양관리와 화재·질병 예방 등을 위하여 축사의 측벽 또는 전면을 기준으로 5 m 이상 떨어져 있어야 한다(농림축산검역본부, 2014).

Table 6. 환경친화축산농장 지정 현황(2012년 기준)

농장명	축종	제정일자
범산목장	젓소 250두	2009.01.20
봉영목장	돼지 2,000두	2009.03.06
산골목장	산란계 387천수	2009.04.17
우정종돈	돼지 3,000두	2009.04.24
청보리 한우목장	소 207두	2009.06.24
북제주동부양돈영농조합	돼지 15,210두	2009.12.04
덕풍농장	한우 310두	2011.12.12
한국공항(주) 제주목장	한우 310두, 산란계 •육계 3,520두	2011.12.12

사. 산지생태축산물의 특성

(1) 방목형 축산과 우유의 품질

(가) 지방산에 미치는 영향

옥수수나 옥수수 사일리지를 급여한 젓소보다 목초지에서 알팔파 및 건초를 섭취한 젓소에서 공액리놀레산의 함량이 2배 이상 높게 나타났다(Dhiman 등, 1999). 또 다른 논문에서도 저지종과 홀스타인 젓소에서 옥수수 사료와 알팔파 목초를 배합한 사료를 급여한 처리구와 방목하여 crabgrass(90%), clover(10%)를 자유롭게 섭취한 젓소의 우유가 CLA 함량이 유의적으로 높았으며, 불포화 지방산의 비율도 높아졌다(White 등, 2001).

방목하여 젓소를 사육할 경우 백센산(vaccenic acid)의 함량이 방목을 하지 않고 사일리지 급여를 통해 사육한 경우보다 함량이 높았다. 백센산은 반추동물이 생체 내에서 합성하는 지방산으로 인간이 우유나 유제품을 섭취할 경우 효소에 의하여 약19%가 CLA로 전환이 된다. CLA는 항암성, 체지방 감소 및 체지방 증가 억제, 면역체계활성 당뇨억제, 면역체계조절, 항산화성 등의 효과를 나타낸다(강원대학교, 2014).

(나) 비타민함량에 미치는 영향

비타민A와 E는 항산화 효과, 항암효과, 노화억제 등의 기능성을 가지고 있는 비타민이다. 이러한 비타민의 함량은 사육조건에 따라 차이가 있는데 방목기 6월부터 9월까지 방목만 했을 경우가 방목 없이 목초사일리지 콘사일리지, 농후사료를 다급 했을 때 그 함량이 높은 수치를 나타내고 있다. 또한 11월부터 3월까지의 우사사육기에 비해서도 방목기간 동안에 높은 A, D함량을 보였다.

일본 홋카이도 농업시험장은 방목젖소의 우유에는 항산화작용과 면역 조절 작용하는 성분인 β -카로틴과 비타민E 등이 풍부하다고 연구결과를 보고했다. 방목젖소는 축사젖소보다 β -카로틴 함량이 1.5배, 비타민E 함량이 1.8배 높았다(Chilliard 등, 2001).

(2) 방목형 축산과 쇠고기의 품질

(가) 우리나라의 축산물등급판정

축산물 등급 판정제도가 본격적으로 시작된 때는 1995년 1월 1일부터 종축개량협회가 시범적으로 실시하던 소와 돼지의 등급판정 사업이 1995년부터 서울과 5개 직할시(현 부산, 인천, 대구, 대전, 광주광역시)와 제주 지역부터 의무화 하면서 국내 축산물 등급판정제도의 역사가 시작되었다. 이후 축산물등급판정사업은 소를 중심으로 발전하면서 국내 쇠고기의 품질 향상에 크게 기여하였으며, 시장개방 이후에도 국내산 쇠고기가 수입쇠고기와의 경쟁에서 우위를 점할 수 있도록 기여를 하게 된다. 축산물등급판정사업이 의무화 된지 올해로 20년이 되었으며 현재 축산물등급판정업무는 축산물품질평가원에서 담당하고 있다. 우리나라에서의 고급육은 운동이 제한된 우사에서 곡류위주의 고에너지 사육으로 속성성장을 통해 근육내 지방침투를 촉진시켜 등심의 마블링이 잘된 고기를 말한다. 우리나라 고급육의 특징은 육색이 붉고 밝으며 지방이 하얀색이며 가열시 향기가 강하고 지방에 의해 고소한 맛이 강하다. 근내지방으로 인해 조직감이 좋고 다즙성이 높다.

(나) 산지생태 사양

소의 산지생태사양이란 초지동물로서 풀을 먹고 운동을 하며 건강한 환경에서 자연 친화적으로 사육되어야 한다. 생태를 고려한 사양으로 목초(조사료)위주의 급여로 활동이 자유로

위야 하고 생태사육은 공장형의 인위적인 사육과 정반대 개념으로 최근 유럽에서 관심을 많이 가지고 있는 동물복지와 밀접한 연관이 있다.

(다) 초지방목과 고기품질

우사비육과 초지 방목 사육 후 얻은 쇠고기와의 특성을 비교 시 초지방목 처리구보다 농후사료 비육 시 증체량 증가율이 더 높았다. 또한 초지방목 사육구가 대체로 명도와 적색도가 낮아 색이 어둡고 농후사료 급여구는 육색이 밝고 붉었다. 목장에서 풀을 급여한 처리구는 농후사료 급여구보다 드립감량이 낮아 보수성이 높은 경향을 보였다.

Table 7. 우사비육과 초지 방목한 쇠고기의 육질비교

	농후사료 급여구	초지방목 사육구	유의성
사육방법	19개월~25개월 : 곡류비육 25개월 도축	19개월 이후 5개월: grass silage 5개월: pasture 30개월 도축	
초기생체무게(kg)	506	513	NS
우사내 사육말기	629	570	**
생체중 도체중	629	683	***
L(명도)	36.9	35.5	*
A(적색도)	16.4	15.8	$p<0.1$
B(황색도)	9.6	9.1	*
드립함량(g/kg)	37.6	30.4	*

(Vasta 등, 2011, 실험우(Ireland의 Charolais× Friesia steers))

우사에서 계류시키면서 농후사료를 급여한 소와 여름철 목장에서 방목하며 초지를 급여한 소의 육질을 관능검사로 비교하였다. 방목초지급여구가 농후사료구에 비해 더 질기고 피냄새가 나며 종합기호성이 떨어지는 경향을 보였다.

Table 8. 농후사료 및 초지급여육의 기호성(맛)비교

	우사계류 농후사료구	여름철 방목초지급여구
질긴 정도	59.9	62.7
피냄새	6.7	12.7
종합기호도	16.2	12.2

(Nuernberg 등, 2005, 실험우 (German Simmental bulls beef의 loin steak))

강원도 산지 생태환경이 쇠고기의 육질에 미치는 영향을 비교하였다. 사육고도가 100m와 700m에서 사육된 한우의 지방산을 비교했을 때 사육고도가 높은 쇠고기일수록 포화지방산의 함량이 낮고 단가불포화지방산(MUFA)이 높았다. 또한 사육고도가 높을수록 올레산이 유의적으로 높았으며 올레산이 높을수록 쇠고기의 맛이 좋다고 알려져 있다. 사육고도가 높을수록 n3의 비율이 높아졌으며 n6/n3 비율이 낮아지는 경향을 보여 건강에 유의함을 알 수 있었다.

Table 9. 강원도 한우의 사육고도와 도축계절에 따른 지방산 변화

지방산	사육고도	
	100m	700m
C16:0	31.3	28.8
C18:1	36.8	39.9
SFA	59.0	56.1
MUFA	37.8	40.9
n6/n3	11.7	13.3
Ratio	도축계절	
	여름	겨울
n6/n3	11.3	17.0

(Kang 등, 2011, 실험우 (비경산우 48두, 22개월 도축))

사육공간과 활동제한에 따른 한우의 고기품질특성을 비교하였다. 한우를 1마리당 9, 15, 27 m² 크기의 우사에 사육시킨 다음 도축 후 고기를 저장하였다. 27m²에서 사육시킨 고기가 저장 중 지방산화가 가장 지연되었다. 따라서 사육공간이 클수록 운동을 더 많이 할 수 있게 되고 스트레스가 더 적다라고 판단된다. 또한 저장기간 중에 고기의 붉은색의 변화를 보면 움직이지 못하게 한 것보다 활동반경이 넓게 사육된 소의 고기가 저장 중 붉은색의 변색이 지연됨을 알 수 있었다. 결론적으로 생태환경에서 운동과 스트레스가 근육의 색소와 지방산화에 밀접한 연관이 있는 것으로 나타남을 알 수 있다.

사육고도에 따른 한우의 혈액 및 호르몬 관계를 분석하였다. 사육고도를 200m와 800m로 나누어 사육시킨 한우 혈액을 채취하여 혈액성분과 스트레스 관련 호르몬을 측정하였다. 800m 사육구에서는 저산소증에 따른 골수와 적혈구 신생자극 반응에 의해 적혈구 수치와 혈액색소 농도가 높았다. 또한, AST, BUN, Cortisol과 같은 스트레스성 호르몬은 800m 사육구에

서 낮음을 보였다. 이것은 강원도 해발 800m 지역은 여름에 시원하여 모기도 없고 고온스트레스가 없는 지역이기 때문에 스트레스 수치가 낮은 것으로 보인다.

Table 10. 사육고도에 따른 한우의 혈액 및 호르몬 변화

		사육고도	
		200m	800m
혈액	적혈구 수치	낮다	높다
	혈색소 농도	낮다	높다
스트레스관련 호르몬	AST	높다	낮다
	BUN	높다	낮다
	Cortisol	높다	낮다

(현창백 등, 2007)

산지 생태축산이 쇠고기의 육질과 인체건강에 미치는 영향을 요약하면 조사료위주의 급여와 방목위주의 운동을 시키면 지방이 적고 질긴 경향이 있다. 색깔은 검붉고 풀냄새 또는 피냄새 등의 off-flavor가 난다. 하지만 저장 중 산화스트레스가 적어서 지방산화와 색깔 변질을 지연시키는 특징이 있다. 생태축산 시 CLA 함량이 증가되고 지방 중에서 불포화지방산, 오메가3지방산이 많으며 저장 중 지방산화 및 콜레스테롤 산화가 억제되어 건강에 도움이 된다. 사육고도가 높으면 호르몬 구성에 의해 소가 건강해지고 높은 고도에서 사육 시 포화지방산이 적고 올레산이 많아 맛을 증진시키는 요인이 될 수 있다(강원대학교, 2013).

2. Grass-fed 사양기술

가. Grass-fed와 현재 축산 사양기술

한-EU FTA의 협상 과정에서 농장동물의 복지가 주요 의제로 다루어지면서 국내 축산업에서 점차 농장동물복지가 중요한 화제로 부각되기 시작하였다. 국내 소비자들에게는 다소 생소한 개념이지만 유럽의 경우 이미 다수의 가축 사육 농장에서 동물복지 개념을 도입하여 축산물을 생산하고 있고, 미국의 일부 주에서도 동물복지 규정을 준수하도록 의무화하는 등 축산업 선진 국가들에서는 근래 농장동물의 복지를 고려한 사육환경 조성에 열을 올리고 있다. 우리나라에서도 농장동물의 복지 향상을 위한 관련 법령이 제정되어 있지만 실제 농장동물의 복지를 고려한 사육환경을 조성하여 축산물을 생산하고 있는 농가는 미미한 실정이다. 때문에 앞으로 동물복지 형 축산을 도입이 필요하다.

우리나라 양질 조사료 생산비율은 총 조사료 공급량의 1/3 수준으로 매우 낮으며 최근 빈번한 기상재해로 인한 돌발적인 식량 공황상태에 대비 식량-사료의 상호보완적 생산기술 개발이 어느 때보다도 강하게 요망된다. 우리나라는 조사료 생산을 위한 충분한 토지기반 잠재력을 가지고 있으며 기술도 상당부분 확립되어 있는 상태로 200천 ha의 답리작에 사료작물 재배 시 연간 양질 사료작물을 건물기준 1,600천 톤, TDN 기준 960천 톤 생산으로 배합사료 1,330천 톤 대체 이용이 가능하다(Seo 및 Yook, 2002).

우리의 축우산업은 경영비의 절반 이상을 사료비가 차지하고 있어, 과다한 농후사료 위주 사양에서 벗어나 겨울철 논이나 유희농지에 청보리나 이탈리아인 라이그라스, 호밀 같은 월동 사료작물을 재배·이용하여 초식가축에게 필수적인 에너지원 공급 필요성이 어느 때보다도 높아지고 있다(농촌진흥청, 2011).

나. Grass-fed 사료와 현재 축산 사료의 품질특성

조사료 위주의 섭생을 가지고 있는 반추동물이 동물자원으로서 산업화되면서 농후사료 다급에 의한 장애가 많이 발생되고 있는데 이는 주로 반추위 내 조건의 불균형에 의해 영향을 받는다. 특히, 사료의 부피나 섬유질에 의한 반추위 내 중화력, 질소화합물에 의한 암모니아농도, 탄수화물에 의한 휘발성지방산농도 등은 반추동물의 영양 생리적 기능의 지표로서 조사료의 품질과 급여량은 매우 중요한 요소이므로 연구가 많이 수행되고 있다(한인규 등, 1996).

초식가축이 정상적으로 유지 및 생산을 위해서는 조사료와 농후사료의 급여 비율이 소화 생리상 적정수준이 되도록 하여야 하나 현재의 소 사육농가들의 경영여건상 그렇지 못하고 자급사료 생산을 등한시하고 구입사료와 저급의 농산부산물에 의존하는 농가가 증가하고 있는 실정이다. 또한 고능력우 및 고품질 축산물을 생산하기 위해 양질의 조사료 급여가 중요하며, 그 필요성이 증대되고 있는데도 조사료 생산의 어려운 여건 즉, 고용노동 과다, 조사료 생산 면적의 제한, 높은 지가 등으로 조사료 생산을 기피하고 있어 낙농업의 성장을 어렵게 하고 있다(박민수와 한인수, 1995). 젖소에 대한 섬유질 공급 지침을 보면 조사료vs농후사료의 비율을 최소 45:55이상으로 하며 전체사료의 1/3이상을 원형 건초 상당(Long-hay Equivalent)의 입자로 급여가 필요하다. 또한 체중의 1.5% 해당량을 입자도 1cm이상인 사료로 공급하는 것이 바람직하다(NRC 젖소영양위원회, Minimum Fiber Guidelines) 하지만 현재 젖소에게 급여되는 배합비를 보면 대개 조사료 함량은 평균 25% 이상이 되지 않는다. 조사료급여가 충분하지 않기 때문에 반추동물인 젖소에서 질병이 발생할 가능성이 크다.

Table 11. 일반농가 젖소 급여 배합비

사료종류 및 함량		충남1(공주)	충남2(보령)	전북(익산)	전남(순천)
조사료	종류	알팔파 티모시 연맥 버뮤다 페레니얼- 라이그라스	클라인 티모시 알팔파 연맥 페레니얼- 라이그라스	유정믹스2 (혼합건초) 티모시건초 알팔파건초 클라인혼합건초 웨스큐혼합건초	페레니얼- 라이그라스 알팔파건초 연맥건초 1등급 티모시건초 프리미엄
	함량(%)	약24%	약25%	약27%	약24%
곡물사료	종류	농후사료 맥주박 단백피 전지면실 옥수수 후레이크	농후사료 보령발효사료 맥주박 단백피 소맥피 전지면실 옥수수 후레이크	농후사료 전지면실 단백피 유정믹스7 (발효맥주박) 옥수수후레이크	농후사료 맥주박 전지면실 단백피 소맥피 옥수수후레이크
	함량(%)	약50%	약50%	약50%	약56%
사료종류 및 함량		경기1(여주/이천)	경기2(당진)	경기3(양주)	경기4(안성)
조사료	종류	톨페스큐 라이그라스 티모시 연맥	버뮤다 클라인 티모시 톨페스큐 연맥	알팔파 면실피펠렛 티모시 톨페스큐 연맥 옥대펠렛	알팔파 페레니얼라이그라스 티모시 톨페스큐 연맥 클라인
	함량(%)	약24%	약22%	약23%	약26%
곡물사료	종류	농후사료 파쇄옥수수 단백피 맥주박 비트펠프 당밀	농후사료 보령발효사료 맥주박 단백피 소맥피 전지면실 옥수수 후레이크	농후사료 전지면실 단백피 유정믹스7 (발효맥주박) 옥수수후레이크	농후사료 맥주박 전지면실 단백피 소맥피 옥수수후레이크
	함량(%)	약50%	약50%	약50%	약56%

다. Grass 위주 사양 기술 적용

(1) 연구 목표

Grass fed 위주의 사료 개발을 통해 젖소를 건강하게 키우고 그로 인해 생산되는 좋은 영양성분으로 구성된 우유 및 유제품을 만들어 환경 친화적이면서도 건강에 유익한 제품을 만드는 것이 목표이다. 이에 다양한 조사료의 접목을 통해 이러한 가축들의 먹거리를 개발하여 사료의 지방산 비율의 불균형을 극복하고 Non-GMO 원료의 확대를 통한 축산 소비자의 신뢰를 확보하고자 하였다. 아울러 초본식물의 본성대로 축산 경제동물인 반추동물에게 조사료 위주의 사료를 급여해 동물복지 및 건강증진에 기여하고자 한다.

현재 일반사양으로 젖소에게 급여되는 TMR의 구성은 옥수수나 콩과 같은 오메가6가 많이 함유된 사료이다. 이 사료를 먹고 자란 젖소들은 자연스럽게 오메가6지방산이 높은 우유를 생산하는데 오메가6지방산은 심혈관 질환, 당뇨병, 암, 비만 과 같은 만성 질환 발생을 높이는 것으로 알려져 있다. 따라서 세계 보건국(WHO)에서는 이상적인 오메가 6와 오메가3의 비율로 4:1이하를 권장하고 있다. 개발하려는 사료는 조사료 60%이상이며, 오메가 지방산 n3:n6 비율이 1:4이하인 기능성 사료이다.

(2) 조사료 위주 TMR 원료 검색

우리나라는 가축 배합사료 원료의 96% 이상을 수입에 의존하고 있어, 곡물 수출국의 작황이나 시장여건에 따라 곡물가격 변동이 심하고, 그 경제적 부담을 축산 농가들이 고스란히 떠안고 있는 실정이다. 이렇게 불안정한 사료가격에 적극 대응하는 방안의 하나가 캄보디아의 좋은 조사료를 이용하는 것이라고 판단하였다. 그러나 아직 사료자원으로 사용 할 수 있는 많은 조사료 작물들이 제도나 유통 상의 문제로 인하여 사료로 활성화 되지 못하고 있는 상황이다.

(가) Elephant grass (Napier grass)

현재 캄보디아에서 가장 흔하게 볼 수 있는 품종으로 직접 재배가 가능하고 KFAD 사료 공장 인근지역에서 자생하고 있어 사료자원으로의 이용가치는 상당히 높은 편이다. 그러나 엘리펀트그라스의 실제 영양성분을 조사해 보면 조단백질의 함량이 성숙한 경우 8-10%내외로 나타나 조사료 자원의 가치는 인정되나 조단백질 자원으로의 가치는 떨어진다. 하지만 생육 60일 내외의 경우 초장이 1m 정도 자라고 이 경우 조사료의 가치는 여타 북미산 수입건초와 견주어 떨어지지 않는다. 따라서 초장의 길이를 조절해서 예취해 이용한다면 적절한 조사료원과 약간의 단백질 보충 원료로 이용이 가능할 것으로 사료된다, 또한 여러 연구자료를 보더라도 이 품종에 대한 항 영양인자가 발견되지 않기 때문에 쉽게 이용 가능하다.

Table 12. Elephant grass의 영양성분

성분	함량	비고
조단백질	19.5%	
조지방	0.41%	
조섬유	6.35%	
조회분	2.00%	
칼륨	0.60%	
칼슘	0.04%	
인	0.04%	
납/중금속	0.18ppm	
수은	불검출	
ADF	7.74%	
NDF	12.43%	

(나) Seubau grass

스바우 풀은 캄보디아 국민의 오랜 역사를 같이 해 왔으며, 캄보디아인은 이 풀은 집의 지붕, 창문을 만들고 돛자리처럼 만들어 우리의 마루 역할을 했고 비가 올 때에는 우리나라 삿갓처럼 모자를 만들어서 활용하고 뜨거운 태양을 가리는 역할을 했다. 초식 가축의 먹이로도 사용을 했으며 노점상의 과일 진열을 위한 깔판으로 사용을 하기도 한다. 스바우 풀은 수천 년의 캄보디아 주거생활과 국민의 희로애락을 같이한 캄보디아 농경문화 역사의 풀이라고 할 수 있다. 영양성분을 보면 조단백질은 7.15%, 조지방은 1.57%, 조섬유는 38.64%로 단백질 함량은 높은 편은 아니며 조섬유의 비율이 높았다.

Table 13. Seubau grass 의 영양성분

성분	함량	비고
조단백질	7.15%	
조지방	1.57%	
조섬유	38.64%	
조회분	4.61%	
칼륨	0.97%	
칼슘	0.24%	
인	0.07%	
납/중금속	0.66ppm	
수은	0.04ppm	
ADF	50.21%	
NDF	82.24%	

(다) King grass (*Pennisetum hybridum*)

풀의 키가 아주 크게 자라 킹그라스라고 불리며, 캄보디아 산악지대나 밀림에서 많이 서식하고 있으며, 잎이나 줄기가 크고 역세어 캄보디아인들은 울타리를 치기도 한다. 생명력이 강하고 농지를 순식간에 망치곤 하여 농민들이 아주 싫어하는 풀이기도 하다. 킹그라스는 식용균 생산에서의 이상적인 원료이며 젖소 사료로 사용 시 유량이 20-40% 상승한다고 알려져 있다. 다년생의 tropical grass로 다년동안 계속해서 수확할 수 있다는 장점이 있다. 또한 킹

그라스는 척박하고 물이 부족한 환경에서도 생육이 가능하여 예로부터 목초지의 grass로 널리 이용되고 있고 동아프리카에서는 젓소들의 사료로 이용된다. 표 4-3을 보면 조단백질은 7.14%, 조지방은 2.43%, 조섬유는 40.48%로 조섬유 비율이 높다.

Table 14. King grass 의 영양성분

성분	함량	비고
조단백질	7.14%	
조지방	2.43%	
조섬유	40.48%	
조회분	6.75%	
칼륨	0.76%	
칼슘	0.47%	
인	0.12%	
납/중금속	0.81ppm	
수은	0.04ppm	
ADF	43.41%	
NDF	72.92%	

(라) Sudan grass (*Sorghum sudanense*)

1년생 화본과 목초로서 아프리카가 원산지인 난지(暖地)의 건조한 토양에서 잘 자라며 재생력이 왕성하여 1년에 4~5회 예취가 가능하며, 생초나 건조 또는 사일리지 형태로 급여하나 어린 것에는 청산성분이 포함되어 있다. 따라서 90cm 이상 자란 뒤 예취한다. 영양성분을 보면 조단백질이 1.9%, 조지방이 0.49%, 조섬유가 2.42%로 전반적으로 낮은 함량이고 수분이 90%로 높다.

Table 15. Sudan grass의 영양성분

성분	원물함량	건물함량	비고
조단백질	1.9%	20.32%	
조지방	0.49%	5.24%	
수분	90.65%	0%	
가용무질소물(NFE)	3.49%	37.33%	
조섬유	2.42%	25.88%	
조회분	1.05%	11.23%	

(따) Cassava stalks and leaves (*Manihot esculenta*)

아프리카, 남미, 동남아 등 열대지역 주로 재배되는 다년생 뿌리식물 카사바(Cassava), 메니악 등으로 불리며 동남아에서는 타피오카로 지칭하기도 한다. 건기에 강하고 척박한 토질에도 잘 자라며, 1년 주기로 수확과 식재가능하다. 전분함량이 높아 전분, 칩으로 가공되어 식품, 발효 및 사료원료로 사용한다. 카사바 재배 면적은 2007년부터 급격히 증가하기 시작했다. 이는 최근 수출 가격 상승과 함께 캄보디아산 카사바의 품질이 좋아 국제시장에서 인기가 높기 때문이다. 2000~2011년 기간 중 카사바 재배면적은 연평균 30.3%씩, 생산량은 같은 기간 중 39.5%씩 증가해 왔으며 ha당 생산성도 같은 기간 중 연 평균 7.0%씩 증가하였다. 카사바의 주산지역은 캄퐁참, 바탐방, 반테, 민체, 스페이, 리엥으로 이 지역에서 전체 카사바 생산량의 89%가 생산된다. 건기와 우기의 생산량도 크게 차이가 나는데 건기에는 ha당 8.9~13.2톤, 우기에는 ha당 20.7~22.4톤이 생산되는 것으로 나타나고 있다. 카사바는 캄보디아에서 쉽게 구입이 가능한 원료이나 건기와 우기간의 생산량이 차이가 크므로 저장시설과 건조로 만들어 이용 하는 것이 필요하다. 에너지 공급원으로 옥수수 다음으로 사용이 쉬우므로 옥수수 대체 에너지원으로 이용이 가능하다. 카사바 잎은 단백질 원료사료가 부족한 캄보디아에서는 우수한 자원으로 손꼽히는 원료로 조단백질 함량이 건물기준 25-28% 수준으로 상당히 높은 편이다. 또한 현재 캄보디아 내 카사바 재배지역이 광범위하므로 쉽게 자원으로 이용이 가능하다. 그러나 카사바가 가지고 있는 항 영양인자인 cyanide의 문제는 반드시 점검할 필요가 있다. 그러나 청산은 압착 또는 가열로 제거가 가능하기 때문에 큰 걸림돌이 되지는 않지만 이용상 주의는 필요하다.

Table 16. Cassava stalk and leaves 의 영양성분

성분	원물함량	건물함량	비고
조단백질	1.9%	20.32%	
조지방	0.49%	5.24%	
수분	90.65%	0%	
가용무질소물(NFE)	3.49%	37.33%	
조섬유	2.42%	25.88%	
조회분	1.05%	11.23%	

(바) Coconut (*Cocos nucifera*)

캄보디아 어디에서나 쉽게 볼 수 있고 접할 수 있는 대표적인 과일이다. 코코넛 워터는 갈증을 해소시켜 주고 내부의 연한 부분은 후식 및 여러 음식을 만들 때 재료로 쓰이기도 하는데 캄보디아 사람들은 손가락으로 파서 먹기도 한다. 외부의 단단한 껍질은 국자나 주걱 등의 주방용품 및 열쇠고리 거울 등의 공예품을 만드는데 활용되는 등 아주 유용한 과일이라 할 수 있다. 표 4-11을 보면 코코넛 전체의 조단백질 함량은 2%로 낮은 반면 코코넛 열매 안쪽 부분의 조단백질은 12.7%로 높은 편이며 조지방 또한 전체함량이 33.49%로 높은 편이다.

Table 17. Coconut 의 영양성분

성분	코코넛 홀 함량	코코넛 이너홀 함량	코코넛 껍질 함량	비고
수분	47.00%	51.80%	58.00%	
조단백질	2.00%	4.00%	4.50%	
조지방	33.49%	12.70%	1.85%	
조회분	1.90%	0.80%	0.61%	
조섬유	-	4.70%	53.06%	

(사) Jackfruit

인도·말레이시아 원산이다. 높이 15m에 달한다. 잎은 길이 10~20cm로 어긋나고 긴 타원형이며 가장자리가 밋밋하다. 줄기에 상처를 내면 유액(乳液)이 나온다. 꽃은 단성화로 암꽃은 줄기와 가지에 직접 달리고, 수꽃은 가지 끝과 잎겨드랑이에 1개씩 달린다. 열매는 줄기에 직접 달리고 원통형이다. 길이 25~60cm, 지름 15~20cm로서 무게가 7~9kg이지만, 큰 것은 25kg에 달하는 것도 있다. 캄보디아 일상 주변에 어디든지 볼 수 있으며, 캄보디아인이 즐겨먹는 과일이다. 잭푸르트의 영양성분을 보면 조단백질이 1.72%로 낮은 편이며, 조지방 0.64%, 조섬유 1.5%는 이다.

Table 18. Jackfruit 의 영양성분

성분	코코넛함량	비고
수분	73.20%	
조단백질	1.72%	
조지방	0.64%	
조회분	0.94%	
조섬유	1.50%	

(한국농어촌공사, 2013)

(3) 종기목장 Grass 위주 TMR 연구

국내 사료 작물과 경합하지 않으면서 기존의 서구식 사양에서 널리 알려 사용하고 있는 티모시, 알팔파 등 고가의 건초 외에 동남아 등지에서 수급할 수 있는 양질의 조사료, 과일, 채소 등의 작물을 활용한 사료를 개발하고자 하였다. 또한 캄보디아의 다양한 조사료 중 네이퍼 그라스의 적용을 통해 본 초종의 가능성을 확인하는 실험을 약 5개월간 진행하였다. 사양 적용 실험 결과 원유의 오메가 지방산 비율은 실험 시작 전 1:14에서 최종 배합비 적용 후 1:4이하까지 나타나 실험 목표를 달성하였다.

(가) 실험동물 및 사육 조건

본 시험은 조사료위주의 사료를 급여하는 실험군과 대조군로는 종기 목장에서 사육되는 4마리의 젖소 이외 목장에서 착유우로 사육되는 젖소를 기준으로 설정하였다. 공시동물은 개방식 후리스틀 우사에서 사육하였으며 Holstein cow 4두(평균체중 600kg, 2산)를 이용하였다. 각 사료는 Table 20에 제시한 사료를 혼합한 완전TMR 형태였으며 새벽 착유 직후 일당 사료량을 모두 제공하여 하루 종일에 걸쳐서 섭취하도록 하였다. 급여량은 30kg이었으며, 물은 자유 음수 할 수 있게 하였으며 시험 기간 중 착유는 일일 2회, 오전 05:00시와 오후 17:00시 같은 시간에 착유실에서 실시하였다.

(나) 시험기간 및 장소

Grass 중심의 TMR 시험은 2013년 6월 17일부터 2013년 11월 21일까지 문경시 마성면 외어리 423-1에 소재한 종기목장에서 실시하였다. 종기목장은 일착유량이 1t, 착유두수는 36마리이며 총 사육두수는 69마리이다. 두당 산유량은 약 28L인 목장이다. 이중 사양실험에 총 4두가 적용되었다.

(다) 시험사료

본 연구에 이용된 조사료 중심 사료의 제조는 효모균을 이용하여 30℃에서 7일간 발효시킨 배양물을 제조된 Table 20의 원료를 배합한 TMR사료에 첨가한 다음 사용하였다. TMR 배합기를 이용하여 혼합 후 20kg 비닐 팩에 밀봉하여 제조하였다. 사료의 발효는 약

25℃에서 60시간 동안 저장하여 발효시켰다. 대조군에 사용된 사료는 시판 착유중기용 젖소사료를 농후사료로 이용한 사료를 이용하였다. 대조군에 사용된 TMR의 원료 및 함량은 Table 2.3.8과 같다. 각 시험축은 NRC 젖소편의 유지에 필요한 ME 및 건물요구량을 충족시키면서 설정한 조: 농 비율을 유지하도록 사료를 조정하였다.

Table 19. 기존 중기목장 TMR 배합비

	사료명	Control (%)	비고
농후사료(78.05%)	TMR	35.12	
	배합사료	42.93	
조사료(21.95%)	건초티모시	8.78	
	페스큐	13.17	
합계		100	

Table 20. 중기목장 TMR 배합비

	사료명	배합비(%)	비고
배합사료 (54.50%)	Napier grass	13.18	
	사탕수수	4.09	
	톨페스큐	3.41	
	티모시	2.27	
	엘리펀트그라스	12.73	
	카사바잎줄기	15.00	
	연맥건초	2.27	
	잭프루트	5.45	
	파인애플	3.64	
	파파야	4.55	
	코코넛	0.91	
농후사료 (30.68%)	카사바건칩	14.32	
	들깨묵	9.09	
	맥주박	7.27	
기타(1.82%)	생균제 및 기타	1.82	
합계		100.00	

Table 21. 원유생산량 및 섭취량

	control	T1	T2
Milk yield, (L/두)	30.9	25	27
Feed intake, (kg/두)	31.92	35	33.6
Feed efficiency (Milk yield/Feed intake, L/kg)	0.96	0.71	0.8

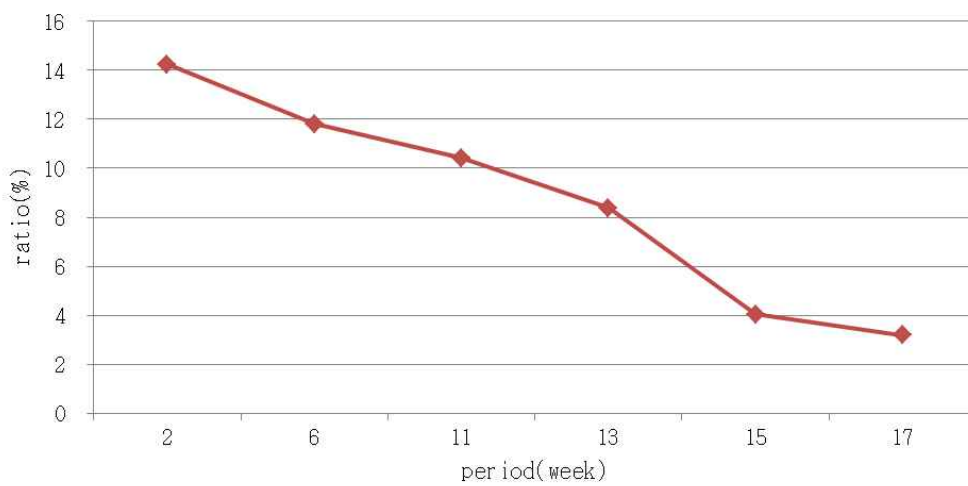


Fig. 4. 종기목장 실험군 원유 내 n6/n3지방산 비율

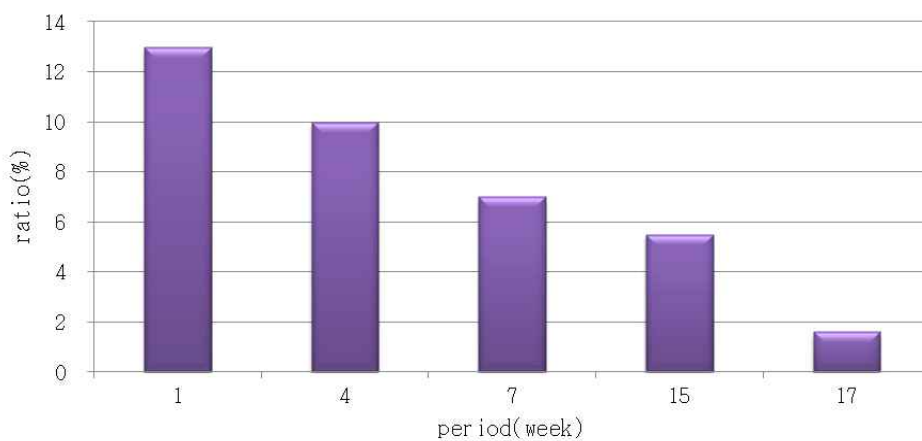


Fig. 5. 종기목장 실험군 TMR내 n6/n3지방산 비율

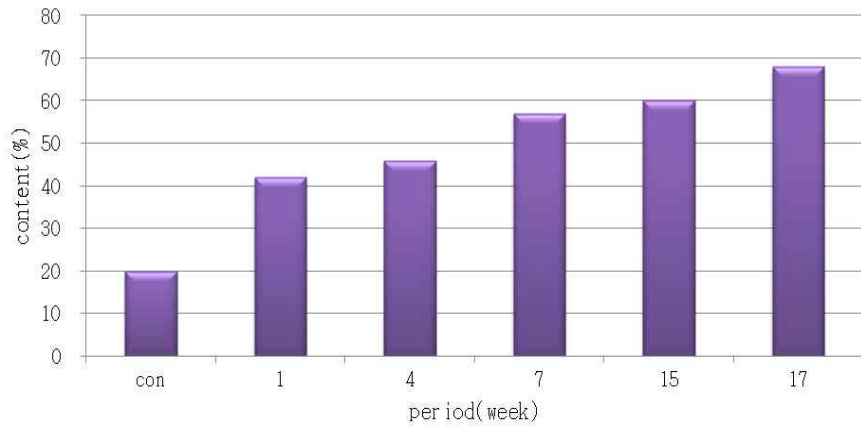


Fig. 6. 종기목장 실험군 TMR내 조사료 비율

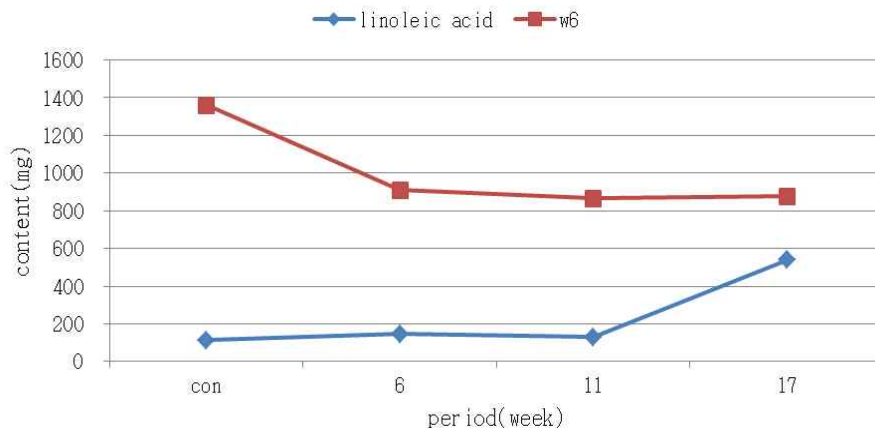


Fig. 7. 종기목장 실험군 TMR내 n3 및 n6 함량

문경 종기목장 조사료 위주 TMR사료의 지방산 비율은 초기 1:13 비율로 n3:n6 비율이 높은 편이었으나 최종 TMR 지방산 분석 시 1:1.62 분석되었다. 또한 종기목장 기존 착유우에게 급여하는 TMR내 조사료 비율은 약 20%였으나 Grass 중심의 TMR로 전환 후 final 배합비 내 조사료 비율은 약 70% 정도로 높은 조사료 함량을 보였다.

조사료 중심의 TMR을 급여한 결과 원유 내 n3/n6 지방산 비율이 1:14에서 1:4이하로 목표를 달성하였다. 하지만 본 실험에 이용된 젖소의 개체수가 4마리로 n수가 작았으며 여러 가지 환경조건 및 개체의 변수에 민감하게 반영되었다. 추후 실험에서는 1~2마리의 질병 또는 변수에도 결과에 영향을 적게 미칠 수 있도록 개체수의 확대 적용이 필요할 것이다.

(4) 제주 지역 농가의 일반현황

(가) 제주 지역 농가 분석현황

제주지역 젓소농가의 유지방의 함량은 Table 22에 제시한 바와 같다. 농가별 세균수 기준 1등급 출현 비율은 제주농가의 약 86%가 1A 등급이고 체세포등급은 36%가 1급으로 검출되었다. 유지방은 대체적으로 4% 내외였으며 두당 착유량은 20~30L로 농가별 차이가 큰 것으로 나타났다. 사양 실험 시 유량이 많은 목장이나 사육규모가 너무 크거나 작을 경우는 제외하였으며 전반적인 관리가 잘되고 있는 목장을 선정하였다. 건준목장은 착유두수가 56두로 적당하였으며 착유량은 평균적으로 낮은 편이나 두당 착유량이 32kg에 달하는 목장은 조사료 위주 급여시 유량감소로 인해 농가에 유량 감소로 인한 피해를 줄 수 있어서 조금 낮은 편인 건준 목장으로 선정하게 되었다. Control 목장으로서 착유량, 착유두, 세균수, 체세포수, 시설 관리현황 등을 고려하였을 때 타 목장에 비해 건준목장과 유사한 편으로 판단되어 희망목장으로 선정하게 되었다. 2014년 2월 제주지역 착유우를 대상으로 유성분 수준을 조사하였다. 목장의 사육현황과 유량 등 개체별 생체 자료를 기록한 뒤 아침 또는 저녁의 개체 종합우유를 유량계를 이용하여 채취하였다. 채취된 원유는 검사일 까지 냉장상태에서 보관하면서 유성분 검사를 실시하였다. 사료 급여 형태는 목장별로 차이가 있었으나 농후사료 비율이 전반적으로 높고, 주요 조사료 공급원으로 벼짚, 면실, 비트펠프, 알팔파 큐브 등이 사용되고 있었다.

Table 22. 제주농가 일반현황

목장명	착유두수	전체 착유량(L)	두당 착유량(L/두)	세균수	체세포수	유지방 (%)
동물목장	31	795	26	1A	1	4.19
지명목장	13	302	23	1B	1	4.12
기성목장	38	960	25	1A	2	3.93
지훈목장	36	1,103	31	1B	1	4.08
건준목장	63	1,655	26	1A	2	4.09
선삼동목장	78	2,427	31	1A	2	4.14
하이디목장	65	2,128	33	1A	2	4.13
동광목장	43	1,213	28	1A	2	4.16
해변목장	45	1,476	33	1A	2	4.21
일수목장	42	1,365	33	1A	1	4.06
향진목장	78	2,485	32	1A	2	3.61
희망목장	50	1,418	31	1A	2	3.87

제주 목장 시설관리에 대해 사료조청결, 음수통 청결, 냉각기 청결, 운동장 청결, 비가람 시설설치 유무, 착유기 세척상태, 우사 등 소독 실시여부 등을 양호, 보통, 불량으로 나누어 표시하였다. Table 23를 보면 모든 항목에서 양호평가를 받은 목장은 동물, 지훈, 건준, 선삼동, 동광, 해변, 일수, 향진, 희망목장이고 지명, 기성, 선삼동은 몇 개의 항목에서 보통 평가를 받았다.

Table 23. 제주농가 청결상태표

	동물	지명	기성	지훈	건준	선삼동	하이디	동광	해변	일수	향진	희망
사료조청결	○	△	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
음수통청결	○	△	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
냉각기청결	○	△	○	○	○	○	△	○	○	○	○	○
운동장청결	○	△	△	○	○	○	△	○	○	○	○	○
비가람시설	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
착유기세척	○	△	○	○	○	○	△	○	○	○	○	○
우사등 소독	○	△	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○

* 양호: ○ 보통: △ 불량: ×

제주지역 목장의 TMR을 위하여 지방산 분석을 한국사료협회에 의뢰하여 조지방 및 지방산함량 중 n3 및 n6 비율을 Table 24에 나타내었다. TMR 분석 시 농후사료 및 조사료의 혼합이 균일하게 되지 않았거나 분석상의 오류로 인해 지방산 비율이 잘못 나온 것으로 판단되는 몇몇 목장을 제외하고 대체적으로 1:7~13 내외의 비율을 보였다.

Table 24. TMR 내 지방산 profile

목장명	조지방 (%)	n3 함량 (%)	n6 함량 (%)	n6/n3 비율 (%)
동물목장	3.04	3.63	38.69	10.66
지명목장	1.10	14.39	27.12	1.88
기성목장	1.62	5.78	38.49	6.66
지훈목장	2.66	2.15	37.83	17.6
건준목장	3.13	4.08	47.09	11.54
선삼동목장	2.38	4.44	46.55	10.48
하이디목장	1.23	19.42	21.76	1.12
동광목장	2.98	3.21	42.11	13.12
해변목장	3.14	7.1	34.87	4.91
일수목장	1.90	4.71	36.86	7.83
향진목장	3.58	3.03	38.21	12.61
희망목장	2.89	7.1	41.83	5.89

제주목장의 원유를 지방산 분석한 결과(Table 25) 대체적으로 조지방은 3.5~4% 사이로 나타났고 n6/n3 비율은 1:10을 상회하는 수준을 보였다.

Table 25. 원유 내 지방산 profile

목장명	조지방 (%)	n3 함량 (%)	n6 함량 (%)	n6/n3 비율 (%)
동물목장	4.1	0.18	2.93	16.28
지명목장	7.9	0.27	2.39	8.85
기성목장	3.4	0.25	3.15	12.60
지훈목장	3.6	0.20	2.45	12.25
건준목장	3.6	0.20	2.34	11.70
선삼동목장	4.0	0.20	2.38	11.90
하이디목장	3.9	0.32	3.54	11.06
동광목장	4.1	0.25	2.98	11.92
해변목장	3.8	0.16	2.42	15.13
일수목장	3.5	0.16	2.52	15.75
향진목장	3.6	0.27	3.21	11.89
희망목장	3.2	0.23	3.05	13.26

(5) 제주 건준목장 Grass 위주 TMR 연구

(가) 실험동물 및 사육 조건

본 시험은 일반 농후사료위주의 사료를 급여하는 대조군과 조사료위주의 사료를 급여하는 2개의 처리구로 구성되었다. 본 시험에 사용한 젖소는 연령과 산차 그리고 비유 능력이 비슷한 홀스타인으로 구성되었다. 공시동물은 개방식 후리스틀 우사에서 사육하였으며 Holstein cow 66두(평균체중 600kg, 2.8산)를 이용하였다. 각 사료는 Table 26-28 에 제시한 사료를 혼합한 완전TMR 형태였으며 새벽 착유 직후 일당 사료량을 모두 제공하여 하루 종일에 걸쳐서 섭취하도록 하였다. 급여량은 32kg이었으며, 물은 자유 음수할 수 있게 하였으며 시험기간 중 착유는 일일 2회, 오전 05:00시와 오후 16:30시 같은 시간에 착유실에서 실시하였다.

(나) 시험기간 및 장소

Grass 중심의 TMR 시험은 2014년 5월18일부터 2014년9월 26일까지 제주도 조천읍 목선동길 33에 소재한 건준목장에서 실시하였고 대조군로서 제주일반농가로는 제주도 구좌읍 송담동 1길 40에 위치한 희망목장에서 실시하였다.

(다) 시험사료

본 연구에 이용된 조사료 중심 사료의 제조는 효모균을 이용하여 18~20℃에서 5일간 발효시킨 배양물을 제조된 Table 27, 28의 원료를 배합한 TMR사료에 첨가한 다음 사용하였다. TMR 배합기를 이용하여 20분간 혼합 후 20kg 비닐 팩에 밀봉하여 제조하였다. 사료의 발효는 약 30℃에서 48시간 동안 저장하여 발효시켰다. 대조군에 사용된 사료는 시판 착유중기용 젖소사료를 농후사료로 이용한 사료를 이용하였다. 대조군에 사용된 TMR의 원료 및 함량은 Table 26과 같다. 각 시험축은 NRC 젖소편의 유지에 필요한 ME 및 건물요구량을 충족시키면서 설정한 조사료:농후사료 비율을 유지하도록 사료를 조정하였다.

Table 26. 대조군 사료 배합비

	사료명	배합비 (%)	비고
배합사료 (54.50%)	커스텀믹스(퓨리나)	28.18	
	퓨라텍 탑(퓨리나)	9.40	
	통면실	8.15	
	비트펠프	8.77	
건초류 (43.00%)	알팔파	8.00	
	티모시	3.00	
	연맥건초	3.00	
	라이헤이	3.00	
	곤포사일리지	13.00	
	수단사일리지	13.00	
첨가제류 (2.50%)	중조	0.30	
	소금	0.30	
	비타민제제	0.60	
	생균제제	0.60	
	보호지방(메가락)	0.60	
	미네랄 블럭	0.10	
합계		100.00	

Table 27. 실험군 사료 배합비 (T1)

	사료명	배합비 (%)	비고
배합사료 (47.55%)	옥수수	15.00	
	사탕수수	15.00	
	당밀	0.30	
	코코넛 밀	17.25	
건초류 (51.12%)	모링가 알맹이	3.00	
	네이피어글라스	25.00	
	모링가 잎	4.14	
	파인애플 펄프	18.98	
첨가제류 (1.33%)	식염	1.13	
	비타민 및 미네랄 믹스	0.20	
합계		100.00	

Table 28. 실험군 사료 배합비 (T2)

	사료명	배합비 (%)	비고
배합사료 (28.00%)	NonGMO 농후사료	28.00	
건초류 (62.16%)	티모시	12.00	
	네이피어글라스 (수분 35%)	29.35	
	연맥건초	10.81	
	알팔파건초	10.00	
첨가제류 (9.84%)	젓산균	8.00	
	석회석	1.20	
	식염	0.50	
	글리코자임	0.14	
	합계	100.00	

(라) 실험설계 및 방법

본 실험에 사용된 사료의 영양성분과 배합비는 Table 26-28에서 나타내었고 본 실험은 총 80일간 실시하였으며, 실험기간은 약 56일 동안 시행하였다. 처음 8일간의 적응기간을 제공하여 가축이 사료변화에 대한 적응을 충분히 하도록 하였으며, 실험 시작부터 매주 지방산 분석을 위해 원유를 보관하였다. 05:00시 및 16:30시에 유량계를 통하여 취한 약 50ml 우유 sample은 유성분 분석을 위하여 냉동 보관하였다. 그리고 사료잔량은 매일 아침 급여 시 조사하였다. 본 연구에서 실험을 위해 조사된 항목은 산유량, 사료섭취량, 유조성분을 조사하였으며, 각 항목별 조사한 내용은 다음과 같다.

▶ 산유량

산유량은 Waikato(milk meter)를 이용하여 측정하였으며, 산유량 조사는 시험기간 동안 일정한 간격으로 8회 실시하였으며, 1회 측정 시마다 3일간 연속하여 조사하였다. 산유량 측정방법은 12시간 간격으로 1일 2회 (오전5시, 오후4시반) 측정하여 오전과 오후에 산유량을 합하여 1일 산유량으로 하였다.

▶ 사료섭취량

사료섭취량은 3회 조사하였으며, 1회 조사할 때마다 3일 연속하여 측정하였다. 매일 오전 9시에 사료급여량에서 잔량을 측정하여 계산하였다.

▶ 유조성분

Waikato(milk meter)에서 채취한 후 우유는 50ml 우유 샘플 병에 담았으며, 샘플의 신선한 보존을 위해 냉동 보관하였다. 냉동 보관 후 강원대학교 동물자원공동연구소에 의뢰하여 지방산 분석 의뢰하였다. 또한 유성분은 우유 자동분석기(Foss-4000, Denmark)을 이용하여 유지방, 유단백질, 무지유고형분을 분석하였다.

▶ 사료분석

급여 사료의 아미노산 분석을 위한 분석용 사료 샘플은 본 실험 기간 동안 각 period 첫 날 급여한 사료를 이용하였다. 채취한 각 시료 10g을 냉각 아세톤으로 탈수시킨 후 60°C의 dry oven에서 여과지에 퍼서 건조시키고 마쇄하였다. 경질 시험관(1.6× 16cm)에 마쇄 시료 5mg을 취해 6N HCL 5ml를 가하여 탈기한 후 밀봉하여 110°C에서 24시간 동안 가수

분해 시켰다. 가수분해한 시료는 2~3회 소량의 증류수로 씻은 후 evaporator(V805, BUCHI, Switzerland)로 45℃에서 가능한 짧은 시간에 건조시켜 염산을 제거하고, 시료 희석용 완충액으로 용해하여 아미노산 분석기 (Beckman 6300, GMI, U.S.A)로 분석하였다.

▶ 사료 성분분석

- 일반성분

사료의 화학 성분은 A.O.A.C(1984)의 방법에 준하였으며, 수분함량은 oven 건조법, 조단백질은 조단백질 증류장치 (2200 Kjeltac Auto Distillation, Switzerland), 조지방은 Soxhlet 추출법(Soxtec system HT6, Switzerland), 조회분함량은 electric muffle furnace (Naberphrem, Germany)를 이용하여 800℃로 5시간동안 회화시킨 후 그 함량을 측정하여 백분율(%)로 나타내었다.

- NDF, ADF 분석

Van Soest 등(1991)과 Van Soest와 Robertson(1985)의 분석방법에 따라 NDF는 neutral detergent로 시료를 60분간 끓인 다음 여기에 용해되지 않는 것을 105℃ drying oven 건조 후 30분간 desiccator에서 방랭한 후 측정하였다. ADF는 조사료의 lingo-cellulose 함량을 결정하는 가장 빠른 방법이며, 시료를 acid detergent 용액에서 60분간 끓인 후 여기에 용해되지 않는 것을 105℃ drying oven에서 건조 후 30분간 desiccator에서 방랭한 후 측정하였다.

▶ 우유로부터 지방성분 추출 방법 확립

우유에 함유되어 있는 지방성분의 기기분석을 위해 지방성분을 효율적으로 추출할 수 있는 방법을 ISO 14156에 준하여 실시하였다. 우유 20ml와 에탄올 16ml, 암모니아워터 4ml를 분액깔대기에 넣고, 섞은 다음 diethyl ether 20ml를 넣고 1분간 혼합, 층이 분리된 것을 확인 후 pentane 20ml를 넣고 교반 후 밑에 층을 버린다. 10% (w/v) sodium sulfate solution 20ml를 넣고 가볍게 섞은 후 밑에 층을 버린다. 다시 20ml의 sodium sulfate solution을 넣고 1분간 강하게 흔들어준다. 층을 명확히 분리 후 하층을 버린다. 남은 층을 삼각플라스크에 옮긴 후 2g의 sodium sulfate를 넣는다. 10분간 정치 후 필터에 걸러서 감압농축기로 50℃에서 용매를 증발시킨다. 남은 용매를 질소가스로 1분간 말린다. 추출한 지방성분을 GC/FID 분석을 위하여 fatty acid methyl esters (FAME)화 시킨다. FAME는 ISO15884에 준하여 실시하였다. Test tube에 100mg의 시료를 칭량하여 pentane 5ml와 혼

합한 후 transesterification reagent 0.2ml를 tube에 넣고 1분간 강하게 교반하여 5분간 반응시킨다. Sodium hydrogen sulfate 0.5g을 넣고 다시 섞어준다. 실온에서 원심분리(350×g, 3분) 후 상등액을 취하여 GC 분석용으로 이용한다.

Table 29. 지방산 분석 GC 조건

Equipment	Analysis condition
Instrument	Agilent j6890N
Detector	FID(Flame ionization detector)
Column	HP-Innowax (30m × 0.32mm × 0.25 μ m)
Oven temperature	150°C for 1 min, rate 5°C/min final temp. 250°C (for 5 min)
Injector temperature	250°C
Detector temperature	280°C
Injection type	Split mode
Injection volume	1 μ l

(6) 실험 결과

(가) 산유량 및 사료섭취량

비유전반기 산유량은 대조군 30.9kg, 실험군 25kg으로 대조군가 실험구보다 높은 성적으로 나타났으며, 이는 같은 제주지역이라고 할지라도 유량, 착유두수, 시설 현황 등을 검토했을 때 가장 적합한 목장선정을 하였으나 목장내의 기존에 두당 산유량의 차이로 기인한 것이다. Fig. 8을 보면 사양 실험이 진행됨에 따라 두당 유량이 증가하는 것을 볼 수 있었다. 단순히 유량만 증가하는 것이 아니라 feed efficiency인 두당 우유 생산량/ 사료섭취량의 효율성도 0.71에서 0.8로 증가하였다(Table 30).

Table 30. 원유생산량 및 섭취량

	control	T1	T2
Milk yield, (L/두)	30.9	25	27
Feed intake, (kg/두)	31.92	35	33.6
Feed efficiency (Milk yield/Feed intake, L/kg)	0.96	0.71	0.8

* TMR Control: 제주 희망목장 T1: 사양실험 전(6/4); T2: 사양실험종료(7/17)

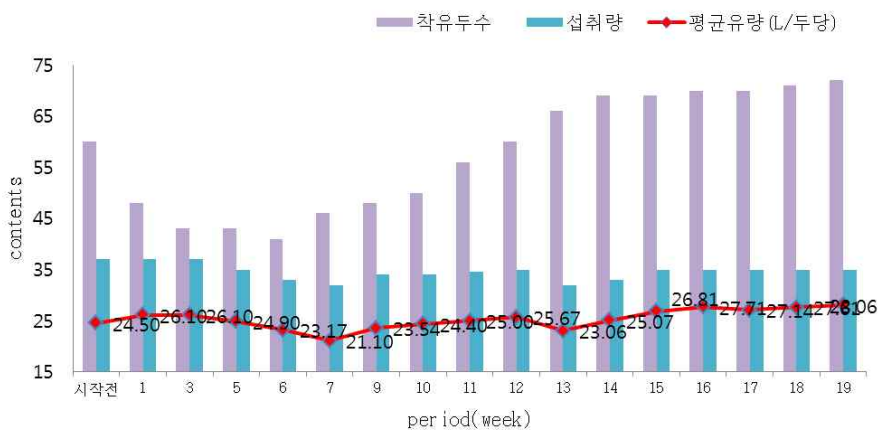


Fig. 8. 착유두수 및 섭취량 & 유량 변화

(나) 유성분 조성

Table 31은 조사료 위주의 TMR을 홀스타인 젖소에게 급여하였을 때, 우유 조성분에 미치는 결과를 나타낸 것이다. 전반기의 유단백질 함량은 대조군, T1가 3.5, 3.4%로 유사한 경향을 보였으나 조사료 중심의 사료 급여가 지속될수록 단백질함량의 감소를 보였다. 하지만 유지방의 경우 Control에 비해 실험군이 조금 높은 경향을 보였다.

Table 31. 원유 일반성분 분석

	Control	T1	T2
Milk fat	3.2	3.75	3.65
Milk protein	3.5	3.4	3.0
SNF	8.88	8.83	8.42

* control: 14년 5월 희망목장 T1: 14년 5월 건준목장 T2: 14년 9월 건준목장

Fig. 9를 보면 사양실험을 시작한 첫째 주의 경우 농후사료 함량이 60%이상으로 높은 수치를 보였으며 점차 사양 종료시점으로 갈수록 조사료함량이 60%, 농후사료가 40%수준으로 낮은 함량을 보였다.

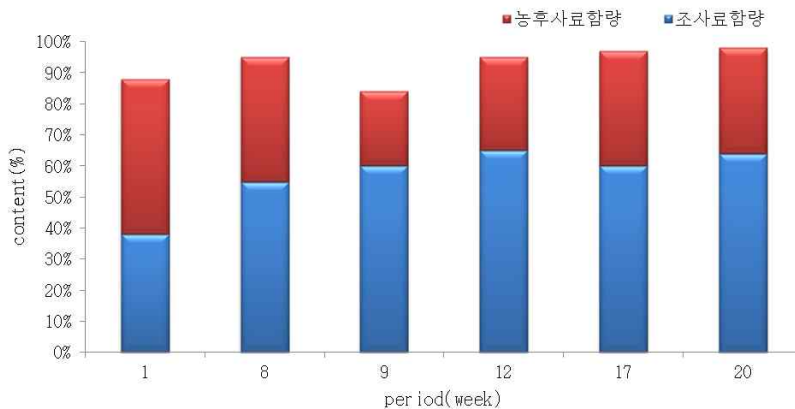


Fig. 9. 실험군 TMR의 조사료: 농후사료 비율 변화

(다) 지방산 조성

우유의 지방산 조성의 조절을 위한 식이 급여 원으로 오메가 3 성분이 많이 함유된 조 사료를 이용하여 급여 시험을 진행하였으며, 사양시험이 종료된 우유의 지방산 조성을 분석한 결과는 Table 33와 같다. 본 결과로부터 n-3 지방산 계열의 경우 대조군, T1(시험전)은 0.23, 0.17로 나타났으며 시험 완료 후 T2 경우 0.46 %로 나타내어 T2는 대조군 및 T1에 비해 높은 n-3 계열의 지방산을 함유하는 것으로 나타났다. 따라서 오메가3 성분이 많이 함 유된 급여 시 n-3 계열의 지방산 조성을 효과적으로 증진시키는 것으로 확인할 수 있었으며, 우유의 지방산물 조절을 위한 효과적인 조절 자원으로서의 이용 가능성을 확인할 수 있었다.

Table 32. TMR 내 지방산 지표 비율

	control (%)	T1 (%)	T2 (%)
Butyric acid (C4:0)	0	0	0
Caproic acid (C6:0)	0	0	0
Caprylic acid (C8:0)	0	0.26	0.62
Capric acid (C10:0)	0	0.33	0.69
Lauric acid (C12:0)	1.11	4.53	7.98
Myristic acid (C14:0)	1.31	2.31	3.46
Pentadecanoic acid (C15:0)	0	0	0
Palmitic acid (C16:0)	20.87	19.31	16.29
Heptadecanoic acid (C17:0)	0.21	0.47	0
Stearic acid (C18:0)	4.40	2.49	4.38
Myristoleic acid (14:1)	0	15.89	0
Palmitoleic acid (16:1n7)	0.79	0.47	0
Oleic acid (18:1n9)	23.46	15.89	19.70
Linoleic acid (18:2n6)	41.83	47.09	27.91
Alpha-Linolenic acid(18:3n3)	7.10	4.08	15.35
Gamma linoleic acid(18:3n6)	0	0	0
Eicosatrienoic acid (20:3n6)	0	0	0
Arachidonic acid (20:4n6)	0	0	0
Crude fat	2.89	3.13	3.10
Total n3	7.10	4.08	15.35
Total n6	41.83	47.09	27.91
n6/n3 ratio	5.89	11.54	1.82

* TMR Control: 제주 일반목장; T1: 사양시험 전(6/4); T2: 사양시험종료(7/17)

Table 33. 원유 내 지방산 지표 비율

	control (%)	T1 (%)	T2 (%)
Butyric acid (C4:0)	1.46	1.26	2.02
Caproic acid (C6:0)	1.49	1.41	2.22
Caprylic acid (C8:0)	0.96	1.11	1.24
Capric acid (C10:0)	2.12	2.60	2.53
Lauric acid (C12:0)	2.5	5.05	4.45
Myristic acid (C14:0)	9.33	12.47	11.42
Pentadecanoic acid (C15:0)	0.91	0.97	1.04
Palmitic acid (C16:0)	29.64	31.84	31.64
Heptadecanoic acid (C17:0)	0.61	0.55	0.67
Stearic acid (C18:0)	16.58	12.68	13.44
Myristoleic acid (14:1)	0.7	1.05	0.79
Palmitoleic acid (16:1n7)	1.53	1.76	1.62
Oleic acid (18:1n9)	28.7	24.16	24.27
Linoleic acid (18:2n6)	2.69	1.96	1.54
Alpha-Linolenic acid(18:3n3)	0.23	0.17	0.36
Gamma linoleic acid(18:3n6)	0.05	0	0.03
Eicosatrienoic acid(20:3n6)	0.14	0.42	0.08
Arachidonic acid(20:4n6)	0.17	0.18	0.16
Eicosapentaenoic acid(20:5n3)	0	0	0.05
Docosahexaenoic acid(22:6n3)	0	0	0.02
Crude fat	3.2	3.75	3.65
Total n3	0.23	0.17	0.46
Total n6	3.05	2.56	1.81
n6/n3 ratio	13.26	15.06	3.93

* Control: 제주 일반목장(희망) T1: 사양실험전 (6/4); T2: 사양실험종료(10/05)

Fig. 10을 보면 사양실험 초기에는 원유 내 n6/n3 비율이 1:15로 아주 높은 n6 비율을 보였으나 사양 실험이 진행될수록 점차 낮아져 19주차에는 1:4의 비율로 목표달성 하였다.

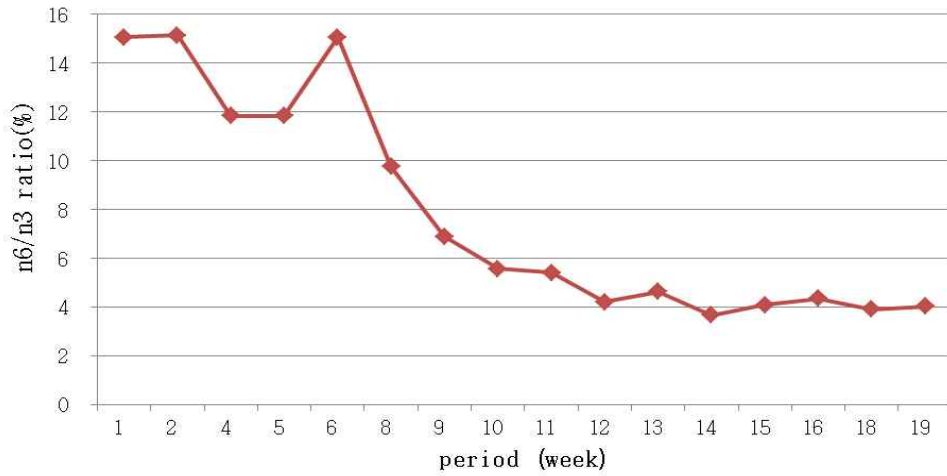


Fig. 10. 제주 희망목장 Grass 위주 급여 시 원유 오메가지방산 비율

Fig. 11를 보면 실험 시작 전 건준목장에서 급여하는 기존 사료의 경우 n6/n3 비율이 약 1:12로 높은 오메가6 함량을 보였으나 실험 진행이 됨에 따라 1:2의 비율로 오메가3함량이 증가하고 오메가6함량이 줄어들어 이상적인 비율이 되었다.

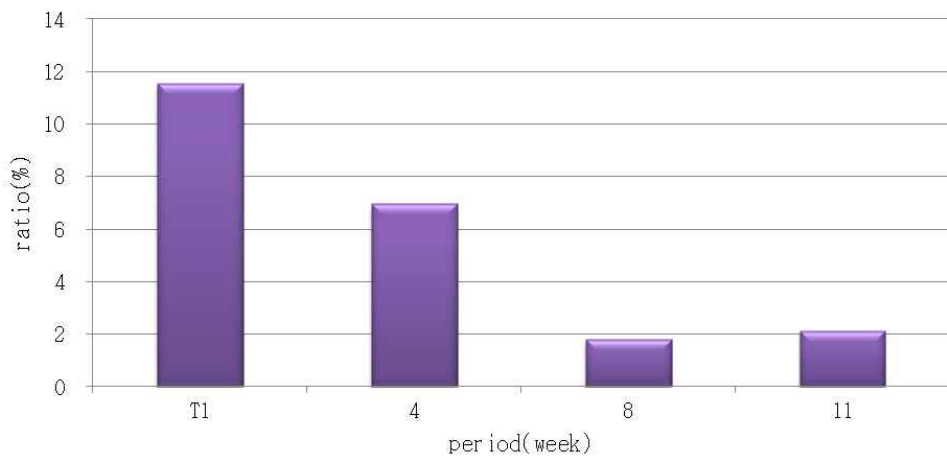


Fig. 11. 제주 희망목장 Grass 위주 TMR 지방산 n3와 n6 비율 변화

Table 34. TMR 및 원유 내 n3, n6 함량

		control (%)	T1 (%)	T2 (%)
TMR사료	n3(mg)	205.19	127.70	475.85
	n6(mg)	1,208.89	1,473.92	865.21
	n6/n3 ratio	5.89	11.54	1.82
원유	n3(mg)	7.00	6.00	17.00
	n6(mg)	98.00	96.00	66.00
	n6/n3 ratio	13.26	15.06	3.93

* TMR Control: 제주 일반목장(희망) T1: 사양실험 전(6/4); T2: 사양실험종료(7/17)

* 원유Control: 제주 일반목장(희망) T1: 사양실험 전(6/4); T2: 사양실험종료(10/05)

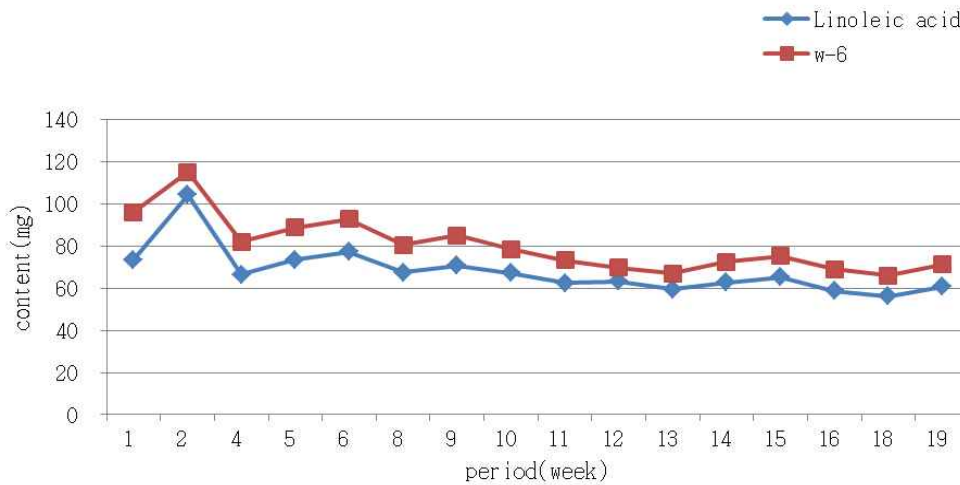



Fig. 12. 조사료 중심 사료 급여 후 원유내의 n3와 n6 함량변화

(라) Non-GMO

본 실험 TMR에 배합원료로 사용된 모든 조사료 및 농후사료원은 해외작물로서 Free-GMO 보장이 가능한 형태로 제작되었다. 2차에 걸쳐 GMO 검사 의뢰한 결과 모두 불검출됨을 확인 할 수 있었다.

(주)흙살림		
주소 : 충북 청원군 오창읍 각리 642-6		
www.heuksalim.com TEL : 043) 215-8179, FAX : 043) 216-2959		

시험 성적서

1. 일반사항			
의뢰인	(주)우성사료	연락처	041)559 - 9267
주소	충남 천안시 서북구 천안대로 1052	접수일	2014년 7월 18일
시료명	QP13 참여물 1호 QP14 참여물 2호 QP15 프리지 1호	작성일	2014년 7월 25일
의뢰목적	GMO 검출여부		

2. 시험결과				
검사명	시료명	항목	시험결과	검출한계
GMO정성분석	QP13 참여물1호	콩	GMO 불검출	0.1%
		옥수수	GMO 불검출	
	QP14 참여물2호	콩	GMO 불검출	
		옥수수	GMO 불검출	
	QP15 프리지1호	콩	GMO 불검출	
		옥수수	GMO 불검출	

* 본 시험 성적서는 의뢰인이 당사에 의뢰한 시료를 바탕으로 유전자재조합식품검사를 수행한 결과입니다. 이 시험성적서는 용도 이외에 선전, 소송, 특정상품의 광고, 기타 법적 요건으로 사용할 수 없으며 이에 따라 발생하는 모든 사항에 대해서 당사는 그 어떠한 법적 책임도 지지 않습니다.

담당자 : 강수진

승인자 : 양병근

흙살림부설연구소

(문서번호 : 14-03-07)

(페이지 : (1)/(총2))

3. 시료 및 시험정보	
생산일자	QP13 참여물1호 2014년 7월 17일 QP14 참여물2호 2014년 7월 17일 QP15 프리지1호 2014년 7월 17일
PCR 시험에 사용된 추출 DNA 농도 및 사용량	QP13 참여물1호 102.9 ng/ μ l, 100ng
	QP14 참여물2호 102.7 ng/ μ l, 100ng
	QP15 프리지1호 103.1 ng/ μ l, 100ng
GMO분석 부위	콩 재조합 유전자 RRS-01 부위: 121bp 옥수수 재조합 유전자 E176-2 부위: 100bp 옥수수 재조합 유전자 Bt11-3 부위: 127bp 옥수수 재조합 유전자 GA21-3 부위: 133bp 옥수수 재조합 유전자 T25-1 부위: 149bp 옥수수 재조합 유전자 M810-2 부위: 113bp

4. 시험결과 사진	
-------------------	--


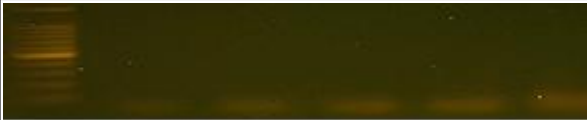
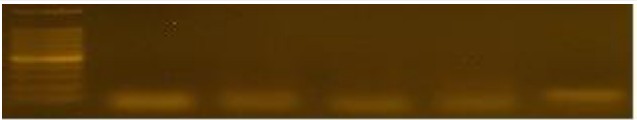



(1) GM Soybean RRS-01부위 증폭											
M	NC	1	2	3	PC						
											
(2) GM Maize E176-2부위 증폭				(3) GM Maize Bt11-3 부위 증폭							
M	NC	1	2	3	PC	M	NC	1	2	3	PC
											
(4) GM Maize GA21-3부위 증폭						(5) GM Maize T25-1부위 증폭					
M	NC	1	2	3	PC	M	NC	1	2	3	PC
											
(6) GM Maize M810-2부위 증폭											
M	NC	1	2	3	PC						
											
M : 100bp Size Marker			NC : Negative control			PC : Positive control (GMO)					
1:QP13 참여물1호			2:QP14 참여물2호			3:QP15 프리지1호					
(문서번호 : 14-03-07)							(페이지 : (2)/(총2))				

Fig. 13. 1차 GMO 불검출 분석결과 (2014.7.25)

주 식 회 사 우 성 사 료

우:330-210/ 충남 천안시 무성동 393-22/ 전화:(041)559-9240*/ FAX (041)559-9249

발 신 : (주)우성사료 제3사 업무부 2014. 8. 1.

수 신 : 경기도농산

참 조 :

제 목 : 배합사료(프리미1호 EPC/EPP) 주요 원료 구성 현황

1. 귀 사/농장의 변경하심을 기원합니다.
2. 2014년 8월 1일 현재 공급되고 있는 NON-GMO 배합사료 프리미1호EPC/EPP 제품 주 원료 구성 현황을 아래와 같이 통보 하오니 업무에 참고 하십시오.

▶ 아 래 ◀

제 품 명: 프리미1호 EPC/EPP

제품특징: NON-GMO 제품

사료원료: NON-GMO 곡물 - 루핀, 소맥, 아자빅, 소맥짚, 밀박, 채종박
- 외 오메가3 원료 및 메탄 저감 원료

성분동특:

성분명	성분량
조단백질	17.0% 이상
조지방	3.5% 이하
조성유	15.0% 이하
조회분	10.0% 이하
칼슘	0.8% 이상
인	0.7% 이하
TDN	72.0% 이상

기타사항: 상기 배합사료는 NON-GMO 원료로 구성되어 있으며, NON-GMO 제품임

주식회사 우성사료 대표이사 지 평 은



Fig. 14. 2차 GMO 불검출 분석결과 (2014.8.1)

(7) Grass위주 사양적용 실험결과 및 고찰

Grass위주 사양 적용 실험 결과 사회적 이슈로 대두되고 있는 식품안전에 대한 건강한 먹거리 대응책의 일환으로 유제품 생산 가능성을 검토한 결과, Non-GMO 사료원을 사용할 수 있는 계기가 되었으며 일반적으로 음용하고 있는 우유의 기능성을 높인 제품을 생산할 수 있다는 결론을 얻었다. 또한 인간에 의해 사육되고 있는 동물들을 위한 원초적인 사료 원으로 동물복지가 실현 가능하다는 것도 알 수 있었다. 하지만 해외 선진 낙농 국에 비해 초지 확보가 어렵고 계절적인 어려움이 있어 grass-fed 위주의 사료급여가 어려운 환경이다. 상기와 같은 환경에서 네피어그라스와 같은 우수한 사료자원을 확보하고 우유 내 오메가지방산의 이상적인 비율을 가진 제품을 만들어 낼 수 있는 여건을 이번 실험을 통해 당사의 경쟁력으로 확보할 수 있었다.

라. 조사료의 기능

조사료는 반추위를 발달시켜 반추동물의 특유한 소화생리작용을 갖게 하며 반추가축은 조사료를 통해 필요한 영양소와 소화관 내의 필요한 용적을 공급받게 된다. 조사료는 반추위 벽을 물리적으로 자극하여 타액의 분비를 촉진시키고 반추작용을 일으키며 정상적인 위와 장의 운동을 촉진시킬 뿐만 아니라 소화관 내의 내용물의 이동속도를 일정하게 유지시킨다. 조사료에 의해 분비가 촉진된 타액은 사료와 잘 혼합됨으로써 제1위 내의 pH가 저하되는 것을 방지하며 반추위 내 미생물을 유지시켜 소화 및 흡수를 돕는 작용을 한다.

한편, 전분이나 당류를 많이 함유하고 있는 곡류사료를 다량으로 급여 시 반추위에 발효가 너무 신속하게 진행되므로 우선 반추위 내의 pH가 사료섭취 후 급격하게 저하된다. pH가 저하되면 반추위에서 서식하는 섬유소(Cellulose 및 Hemicellulose) 미생물의 수가 줄어들고 전분 분해 미생물이 증가하여 반추위 내의 미생물의 균형이 깨어져 반추위의 기능저하로 인한 '급성소화불량'이나 '식욕감퇴'를 초래하며 낮은 pH에서는 젖산이 많이 생성되어 젖산중독현상의 야기로 가축의 생산성저하로 이어질 수 있으며, 초산의 생성 저하로 유지율이 감소하고 프로피온산 함량 증가에 따라 생성된 체지방은 간과 번식기관에 축적되어 각종 대사성 질병과 번식장애를 유발시켜 가축수명을 단축시키는 주원인이 된다. 조사료의 공급이 부족하면 반추위 용모에 이상 현상이 나타나 제1위 부전각화증이나 간농양, 케토시스, 요석증 및 제4위 전위증 등 대사성 질병의 발생빈도가 높아지게 된다(김동준, 2001).

Table 35. 주요 조사료의 β -카로틴 함량

구분	β -카로틴(mg/kg, 풍건물)
목건초	18.0
청초	254.0
목초 사일리지	212.9
옥수수 사일리지	10.7

(윤상기, 1998)

(1) 젖소의 단백질 요구량

(가) 조단백질

젖소의 사료단백질 요구량에 관하여 NRC(2001)에서 설명하고 있는 바와 같이 일반적으로 우유나 근육 단백질을 생산을 위한 사료단백질 요구량에 대해 대부분의 연구결과에서 유량 25kg 이하의 젖소의 경우 반추위 내에서 생성되는 미생물 단백질만으로도 충분하다고 보고하고 있다. 그러나 유량이 높고 증체율이 높은 경우 반추위 내에서 분해되지 않고 소장에서 흡수되는 단백질량이 전체 단백질 요구량의 약50% 이상을 차지하여야 한다고 보고하고 있으며 (Kolver 등, 1998) 사료단백질 중 소장에서 이용되는 반추위 우회단백질의 양과 관련된 연구들이 발표(Schwab와 Ordway, 2004)되고 있고 이의 아미노산 조성의 변화를 통하여 단백질 생산량 증가를 이룰 수 있다는 연구보고가 발표되고 있다(Blum 등, 1999). 산유량 = $0.8 \times \text{건물섭취량} + 2.3 \times \text{CP} - 0.05 \times \text{CP}^2 - 9.8$ ($r^2 = 0.29$) 이식에서 유량과 건물섭취량(DMI)은 kg/일, CP는 사료건물당 %이다. 반추동물이 이용하는 단백질은 소장에서 흡수되는 단백질량에 따라 제한되며 이는 반추위를 by-pass한 단백질과 반추위 내 미생물 단백질이 소장으로 흡수되어 반추동물의 질소 공급원으로 이용된다. 젖소의 우유생산량 및 유단백질에 영향을 미치는 제1 제한 아미노산은 methionine과 lysine이 가장 대표적으로 또한 목초사일리지를 위주로 한 조사료 환경 하에서 젖소의 유 생산을 위한 제한 아미노산은 histidine이 제1제한 아미노산으로 규명되었다. 우리나라에도 사료 원으로 곡류단백질인 옥수수가 다량으로 사용되고 있는데 옥수수는 lysine과 tryptophan이 결핍되고 leucine과 phenylalanine이 과잉으로 함유되어 필수 아미노산 조성이 매우 불균형한 단백질중의 하나이다. 이러한 단백질을 급여하였을 경우 사료섭취량과 증체량은 현저하게 억제되며 체내 아미노산 이용 효율 또한 감소한다(Kim 등, 1996). 연구결과에 따르면 lysine, isoleucine, valine의 충분한 공급과 상관없이 methionine 공급의 유무에 따라 유단백질 및 생산량의 차이가 나타났으며 이는 옥수수와 대두박 위주의 농후사료 급여체계에서 methionine이 젖소에 대한 제 1 제한 아미노산임을 알 수 있었다(박종국, 2007).

마. Grass-fed 적용 사례

(1) 육능목장

경기도 화성군 태안읍 안녕리 산 81에 위치한 육능목장은 1963년 목장을 시작으로 2대째 운영하고 있다. 육능목장 15천평에서 생산되는 옥수수 엔실리지를 연중 급여하고 있으며 3,000평까지 임대 연맥 및 호맥을 파종, 봄부터 가을까지는 방목하고 있다. 또한 고능력우의 사양에서 필수라고 할 수 있는 알팔파도 매년 구입하여 연중 꾸준히 급여하고 있다(지일성, 1993).

(2) 원스목장

충남 논산시 은진면 연서리 산 25-1번지에 위치한 원스목장은 오골계, 토종닭, 유산양을 자연방사하여 기르고 있다. 계사4개를 순환하여 키우고 있으며 여름철에는 계사 주변의 논에 물을 가두어 사용하고 추수 후에는 호밀을 뿌려 봄에 급여하고 있다. 항생제나 화학약품을 전혀 사용하지 않고 사육하며 원스목장 주인의 철학인 우리 선조들이 했던 방식에 근접한 방식으로 산품을 생산하고 판매하고 있다.



Fig. 15. 원스목장 방목모습

(3) 폴리페이스 목장

버지니아 주 외곽 작은 마을의 폴리페이스 목장은 100에이커의 목초지와 450에이커의 숲으로 둘러 싸여있다. 농장주는 조엘 셀라틴인데 현대의 농가들과 달리 소와 돼지를 방목해서 풀을 먹인다. 닭들은 소 뒤를 따라다니며 배설물에서 자라는 유충을 먹고 자란다. 조엘은 이 모든 과정을 자연본성에 맞춰 대우해주는 것이라고 말한다. 폴리페이스 농장은 다른 방목장에서 겨우 한, 두개 작물을 키우는 것과 달리 무슨 풀이든 자라게 두어 넓은 목초지에서 자라는 풀은 20종이 넘는다. 곡물사료로 편식하는 소는 살이 찌지만 풀을 골고루 먹은 소는 베타카로틴과 비타민E가 풍부하고 특히 암과 심장질환을 예방하는 오메가3가 풍부하다. 폴리페이스 농장에서는 넓은 숲을 조성하여 찬바람을 막을 뿐만 아니라 새들과 다람쥐를 불러 모아 생태계를 더욱 다양하게 하고 있다. 또한 일반적으로 사료나 음식찌꺼기를 먹는 돼지가 더 익숙하지만 이곳에서는 풀과 도토리를 먹게 하여 돼지 본성에 더욱 가까운 먹이습관이 되도록 하고 있다. 가축을 키우는 농장은 늘 질병을 걱정하여 항생제를 사용하지만 폴리페이스 농장에서는 자연 항생제인 햇볕과 바람 그리고 풀을 먹고 운동하며 키운 면역력 덕분에 항생제를 안 쓰는데도 질병 율이 1~2%미만으로 나타나고 있다. 또한 과학적인 풀 관리로 소들이 풀을 다 먹어 치우기 전에 새로운 목초지로 로테이션 시켜 풀이 성장할 수 있도록 한다. 소들이 풀을 뜯어 먹고 이동하면 3일후 닭을 풀어놓아 닭이 소 배설물에 생긴 파리 유충을 먹으며 충분한 단백질을 섭취하고 발로 배설물을 다져 토양에 더 잘 스며들게 한다. 이렇게 길러진 닭의 생산물인 달걀은 매우 밝은 오렌지색을 나타내며 탄력성이 뛰어나다(강원대학교, 2013).

(4) 아미티지 목장

미국 중남부 오클라호마 주의 Tulsa에 위치한 아미티지 목장은 2만 에이커의 땅부지에 1년 내내 방목으로 소를 키우고 있다. 목장을 시작한지 40년이 되었고 육우용 소를 생산하고 가임 암소를 판매하는 일을 하고 있다. 소들은 생후 10~12개월 동안 넓은 목초지에서 지내고 이유 단계인 6~7개월부터는 야생 건초를 급여한다. 또한 1년 내내 심지어 한겨울에도 방목을 하고 소의 건강 상태를 체크하기 위해 수의사가 상주하고 있다. 소마다 귀에 이표를 달고 예방 접종 및 수의사가 투여한 약의 종류와 투여량까지 컴퓨터로 기록하고 관리를 하고 있다. 주인장은 BOA 프로그램(우육 품질 보증: Beef Quality Assurance)에 맞춰 비육장 사료통의 높이, 환경과 경사도 등을 통제하며 고통과 스트레스를 최소화하는 인도적 도축법을 시행 적용하고 있다(여성중앙, 2013).



Fig. 16. 아미티지 목장의 방목지

(5) Harvey fresh 목장

하비프레쉬는 1986년 호주 Perth도시로부터 150km 떨어진 곳에서 100ha규모로 세워진 후 1989년부터 우유를 생산 판매하기 시작했다. 지중해성 기후와 넓은 대지 위에서 착유시간을 제외하고 방목시킨다. 착유는 하루에 두 번 오전 6시, 오후 4시에 이루어진다. 현재 홀스타인종뿐만 아니라 저지종으로 생산한 우유를 따로 저지 우유로 판매 중이며 다양한 유제품을 생산 중이다. 홈페이지에 지방산 검사 및 Ca 함량, 방사능검사, 항생제검사 등의 검사성적서를 공개하고 있다. 성적서를 보면 오메가3: 오메가6 지방산 비율은 1:1.6(1:3이하)로 검출되었고, 일반우유에 비해 자연적으로 30% 가량 더 높은 Ca 함량을 보였다. 이런 검사 결과를 공개함으로써 일반소비자가 더욱 신뢰할 수 있고 하비프레쉬는 더욱 좋은 제품을 생산하도록 노력을 하게 된다. 이러한 노력의 일환으로서 호주 산업 수출 대상을 받았으며 이 상은 낙농 등의 농업관련산업 수출 분야에 실적과 국가기여도를 치하 하는 상이다. 우리나라에서는 강남신세계백화점, 도곡동스타슈퍼 등 총 6개의 곳에서 오프라인으로 판매 중이다.

Table 36. 하비프레쉬에서 생산하는 제품들

제품 특징	제품 사진	비고
방목 목장우유		
저지종의 우유로 자연적으로 높은 단백질 함유 강조		
Lactose free		



Fig. 17. 하비프레쉬 방목지

(6) 제임스 메이저 목장

영국 런던에서 북쪽으로 150km 떨어진 스토크온트렌트 지방에 위치해 있으며 290ha 규모이다. 영국왕실로부터 목초지를 100년간 임차해 운영 중이며 500마리의 착유우와 2만 4000마리의 산란계를 개방형 목초지에서 사육하는 친환경 동물복지형 농장이다. 제임스 메이저 목장의 원유는 퍼스트 밀크(First Milk) 낙농협동조합의 조합원에 전량 납유한다. 또한 고품질 우유 생산과 동물복지를 위해 젖소 1마리당 2.5ha 면적을 제공하고 있다. 겨울철 3개월만 우사에서 건초와 사일리지를 먹고 나머지 기간은 방목을 통해 사육된다 (농민신문, 2014).



Fig. 18. 제임스 메이저 목장

3. Grass 위주 및 일반사양적용 동물복지 상관계 규명

가. 동물복지란

동물복지는 소비자의 윤리적 가치관을 반영한 것으로 축산물 생산방식과 관련되어 있으며, 생산방식 차이는 최종 제품의 품질에 영향을 주거나 영향을 주지 않을 수도 있다. 따라서 품질 요소로서의 동물복지는 내적 품질보다는 외적 품질로 접근하는 것이 더욱 용이할 것이다 (Grunert 등, 2004). 외적 품질은 소비자의 믿음에 의해 그 가치가 결정되며, 그 특성상 소비 전후에 확인이 어렵다. 따라서 소비자는 매장에서 축산물을 구입할 때에 내적 품질에 의존하는 경향이 있다. 이와 같은 경향은 동물복지에 대해 소비자가 보이는 이중적 형태에서 확인할 수 있다. 그런 의미에서 국제규격기구(ISO)의 품질 관리기준(BS EN ISO 9000)이 "동물복지는 품질을 말하는 것이 아니라 암시하는 것이다"로 정의한 것은 매우 시사적이다.

(1) 동물복지형 축산

동물의 복지에 대해서는 이견이 많지만 일반적으로 '정신적, 육체적으로 완전한 상태, 인위적 환경에서 고통 없이 적응하도록 하는 것, 학대금지, 육구의 충족' 등을 주요 내용으로 하고 있다. 즉 동물과 인간을 수평적이 아닌 수직적인 관계로 보며, 동물에게 불필요한 고통을 배제하고 사람을 위해 필요한 경우라도 고통을 최소화하며, 동물에게 영양과 휴식을 충분히 제공하고 위생, 질병예방, 치료에서도 적절히 해야 한다는 것이 동물복지라 할 수 있다. (한국형 동물복지농장 모형) 동물의 복지를 정의하고 분석하는 척도로는 먹이, 안락함, 건강, 안전이라 할 수 있으며 동물의 행동과 습성에 적합하도록 사육환경을 향상시키며 안전하고 고품질의 친 환경 축산물을 생산 공급하는데 목표를 두고 있다(유덕기, 2007).

(2) 동물복지형 축산의 주요 실천 내용과 영향

동물복지형 축산은 환경조건(축사, 시설, 사육형태 등)과 경영관리(사육방법)를 동물의 습성과 행동에 맞추어 동물에게 가해지는 스트레스를 줄임으로서 축산의 생산성을 높이고 안전하고 우수한 축산물을 생산하는 것으로, 적절한 먹이와 신선한 물의 충분한 공급, 불필요한 고통과 질병으로부터 해방이며, 먹이, 안락함, 건강, 안전으로 정리할 수 있다. 가축을 관리하는 사람이 실천해야 하는 내용으로 경영관리에 대한 철저한 계획, 충분한 지식과 성실한 목축

업자의 자세, 적절한 환경설계(사육 시스템 등), 적절한 취급과 수송, 인도적인 도축이다. 동물 복지를 결정하는 요인으로 생산단계에서는 동물이 학대나 고통 받지 않으며 편안하게 사육되어야 하고, 수송 및 도축단계에서도 인도적으로 처리되며, 호르몬제 사용 금지 등 안전한 축산물을 생산할 수 있어야 한다. 수송단계에서는 차량구조, 수송밀도, 운송거리와 시간, 수송조건 등이 인도적이어야 하며, 도축단계에서는 충분히 계류시켜 안정을 유지하고 도축할 때에 기절시킨 후 도살하는 등 인도적으로 처리하여야 한다.

(3) 동물복지형 축산물의 유통과 품질관리

유럽 등 선진축산물의 동물복지 축산물에 대한 시장은 유기축산물보다 시장이 발전하지 못하고 있다. 동물복지축산물은 농가직판, 친환경농산물판매점, 슈퍼마켓 등 대형 판매점의 친환경식품코너, 동물복지 생산자단체나 조직을 통해 이루어지고 있다. 동물복지축산물의 가격은 일반 축산물에 비해 10~20% 정도 비싸게 거래되고 있으나 품목에 따라 50%이상 비싼 경우도 있었다.

영국에서는 세계 최초의 동물보호법에 해당하는 가축 학대 방지법이 1822년 제정된 이후 농장동물의 복지에 대한 논의가 활발히 이루어져왔다. 1824년에는 농장동물 보호단체인 동물학대방지협회(SPCA)가 설립되었고 이후 1840년 빅토리아 여왕에 의해 왕립동물학대방지협회로 변경되었다. 1994년부터는 동물복지를 실천하는 농장에서 생산되는 축산제품임을 인증하는 제도로서 'Freedom Food'를 운영하고 있다. 영국에서는 동물복지 인증 마크인 'Freedom Food' 인증을 하는 RSPCA에서 회원농가의 정보를 전달하고 on-line 쇼핑을 할 수 있도록 하고 있으며 'Freedom Food'를 부착한 상품으로 판매하고 있다. 또한 일반축산물보다 더 높은 가격 프리미엄을 얻어 판매되고 있다(우병준 등, 2010).



Fig. 19. Freedom Food Label

AHA(American Humane Associate)는 1877년 설립된 기관이며 어린이와 동물의 복지를 위해 힘쓰고 있다. 1878년 이전에는International Humane Association이라고 불리다가 이후 이름을 변경하였다. 미국에서는 낙농제품, 양고기, 가금육, 쇠고기에 대해서는 AHA에서, 돼지고기는 NPPC에서 'Free Farmed Program'에 의해 영국의 RSPCA의 동물복지기준을 참고로Federation of Animal Science Societies에서 1999년에 제시한 기준으로 설정하였다. 또한 협회에서 Red Star Animal Emergency Service를 2000년부터 운영하고 있으며 식료품에 동물복지 라벨시스템을 시행하고 있다. 협회는 현재 워싱턴D.C. 에 본부가 위치해 있다. AHA에서는 'Free Farmed'로고를 부착한 것은 인도적으로 사육한 동물 복지 축산물이라는 내용으로 홍보하여 소비촉진 활동을 하고 있으며, 소매점이나 음식점에서 동물복지축산물을 판매할 때에도 이 로고를 부착하도록 하여 소비자의 인식제고와 신뢰향상에 노력하고 있다.



Fig. 20. Free Farmed Program

국내에서는 1991년에 동물보호법이 제정된 이후 현재까지 8번의 일부 개정과3번의 전부개정을 거쳐 왔다. 2011년 동물보호법 전면 개정('11.08.04)에서는 동물복지 위원회 설치와 동물복지 축산농장 인증 제 도입 등이 제정되어 국내에서도 동물복지에 대한 제도적 장치가 마련되었다. 이에 따라 농림수산물검역검사본부에서 동물복지 축산농장 인증기준 및 인증 등에 관한 세부실시요령을 제정하였고 2012년 3월부터 산란계를 대상으로 동물복지 축산농장 인증제를 시행해 오고 있다. 최근에 우리나라에서도 2011년 8월 4일 동물보호법 전면 개정에 따라 검역검사본부 고시인 동물복지 축산농장 인증기준 및 인증 등에 관한 세부실시요령을 제정·시행 되었으며, 동물복지 축산농장의 인증은 2012년 3월 20일부터 시작되었다(김정년, 2013) .

동물복지 축산농장 인증제란 높은 수준의 동물복지 기준에 따라 인도적으로 동물을 사육하는 소·돼지 ·오리농장에 대해 국가에서 인증하고, 인증농장에서 생산되는 축산물에 '동물복지 축산농장 인증마크'를 표시하게 되는 제도이다. 동물복지 축산농장 인증은 ('12년)산란

계→('13년) 돼지→('14년) 육계→('15년) 한우·젓소 등으로 축종을 확대하고 사육에서부터 운송·도축 전 과정을 체계적으로 관리하는 종합적인 농장동물복지체계를 마련할 것으로 보인다. 동물복지 축산농장 인증절차는 검역검사본부에 인증심사를 신청(제출서류: 인증신청서, 축산업 등록증 사본, 축산농장 운영현황서)하고 30일 이내 서류심사가 완료된다. 현장심사를 실시한 후 최종 인증서가 교부된다. 인증 받은 농장 및 해당 농장에서 생산된 축산물은 동물복지 축산농장 표시기준에 따라 인증마크를 표시할 수 있다. 또한 농림수산검역검사본부에서 축산농장 인증정보검색을 통해 해당 농장이 동물복지 축산농장인지 확인이 가능하다. 농림수산검역검사본부에서 동물복지 축산농장 인증제의 국민의 인지여부를 조사하였다. 전체 응답자의 13%가 알고 있는 것으로 나타났으며 이는 전국 인구수로 봤을 때 약 660만 명이 인지하고 있는 것으로 추산된다. 동물복지 축산농장 인증을 받은 축산물에 대해서는 10명중 약3~4명이 살 의향을 가지고 있는 것으로 나타났으며 남자보다는 여자가 구입의향이 높았다.



Fig. 21. 동물복지 축산농장 인증절차

 	생산자	홍길동
	인증번호	동물복지 - 10 - 01 - 1 - *
	전화번호	031 - *** - ****
	품목(축종, 추가인증사항)	계란(산란계, 동물복지 자유방목)
	농장소재지	경기도 수원시
	부계 또는 개수	10개

Fig. 22. 포장·용기 등에 표시하는 동물복지 축산농장 표시의 예

Table 37. 국가별 동물복지 인증기준 현황

축종별		국가명				
		영국	미국	호주	일본	한국
사양	육우	○	○	○	-	-
	젖소	○	○		-	-
	돼지	○	○	○	-	△
	산란계	○	○	○	-	△
	육계	○	○		-	-
운송, 도축		○	○	○	-	-

나. 자연친화형 복지사육을 통한 소 사육

(1) 동물복지형 소 사육 및 관리기준

(가) 관리자 및 관리

소 사육방법과 동물건강 및 복지에 관해 충분한 지식과 능력을 보유해야 하며 동물복지 규정과 방법에 대해 교육이 필요하다. 1일 1회 이상 소를 관찰하며 사육환경이나 질병에 의해 고통을 받지 않는지 확인한다. 우사의 사육밀도를 적절히 유지하고 1일1회 이상 운동을 시켜야 한다. 동물약품의 구입과 이용, 질병발생과 처치내용, 폐사한 소에 관한 내용 등을 기록하며 적어도 3년 이상 보유가 필요하다.

(나) 우사 및 시설

우사는 자연광과 바람을 충분히 활용할 수 있는 곳에 마련하며 소가 휴식하는 잠자리는 잘 건조되고 부드러운 깔짚을 제공해야 한다. 또한 우사의 난방 및 환기는 공기순환, 먼지농도, 온도, 상대습도, 가스농도가 송아지와 큰 소에게 위해 하지 않은 수준을 유지하는 것이 좋다. 우사와 시설은 소가 활동하면서 불필요한 고통이나 상처를 받지 않도록 충분한 면적으로 설계하고 관리되어야 하는데 최소 우사면적은 체중 60kg당 2㎡이상이 되어야 한다.

Table 38. 체중 및 단계별 두당 면적

송아지 두당 최소바닥면적			
분류	150kg이하	150~200kg	200kg이상
두당면적	3㎡/두	4㎡/두	6㎡/두
한우 등 큰 비육우와 번식우의 1두당 최소바닥면적(깔짚우사)			
분류	300kg이상 비육우	번식우	
두당면적	7.1㎡/두	9.2㎡/두	
젖소의 최소바닥면적(깔짚우사)			
분류	육성우(450kg이하)	건유우	경산우
두당면적	10.9㎡/두	17.3㎡/두	17.3㎡/두

(다) 도축

도살 전이나 도살 중 소에게 자극, 고통, 피로움을 최소화해야 하며 소가 고통을 느끼지 못하도록 먼저 기절시킨 후 경동맥을 잘라 방혈 도살해야 한다. 도축장에 도착한 소는 조심스럽게 다루고 고통 받지 않도록 적절히 조치해야 하며 기절시키기 전에 소의 다리를 묶거나 매다는 행위는 금지되어야 한다.

(2) 사료급여방식이 육 성분에 미치는 영향

방목한 30개월령 한우 암소와 옥내 사육한 21개월령 비거세 한우의 등심(*M. longissimus*) 부위의 품질을 비교, 분석하였다. 방목우의 배최장근단면적, 육량등급, 조지방 함량, 보수력 및 신선육 기호도가 옥내사육우보다 높았다($p < 0.05$). 방목우의 육색이 옥내 사육우보다 어둡고 진하였으며 육색소 산화안전성은 낮았다. 전자 코에 의한 향기패턴은 방목우와 옥내사육우간에 뚜렷한 차이를 보였다. 양의 수로 증가할수록 패턴의 차이가 크다는 것을 의미하며 음의수로 감소할수록 차이가 없어짐을 의미한다. 이러한 이유는 고기의 향기에 가장 큰 영향을 미치는 요인은 지방산이라는 Brennand(1989)의 보고로 미루어 보아 처리구들 간에 지방산 조성의 차이가 있었기 때문이라고 사료된다.

Table 39. 방목 및 옥내 사육한 한우의 특성 비교

Trait	Outdoor	Indoor
Carcass weight (kg)	319.0±24.5 ^b	419.3±31.4 ^a
Dressing percentage (%)	54.8±1.8 ^b	59.5±1.7 ^a
Backfat thickness (mm)	10.6±3.6	9.9±5.9
Ribeye area (cm ²)	77.0±7.3 ^b	92.9±5.8 ^a
Yield grade ¹⁾	2.2±0.4	2.5±0.8
Marbling score ²⁾	4.6±1.5	6.9±1.3
Meat color ³⁾	5.2±0.4	5.0±0.0
Fat color ⁴⁾	2.8±0.4	3.0±0.0
Firmness ⁵⁾	1.4±0.5 ^a	1.0±0.0 ^b
Maturity ⁶⁾	3.4±1.1 ^a	2.4±0.5 ^b
Carcass quality grade ⁷⁾	3.0±0.7 ^b	4.1±0.7 ^a

(강선문 등, 2008)

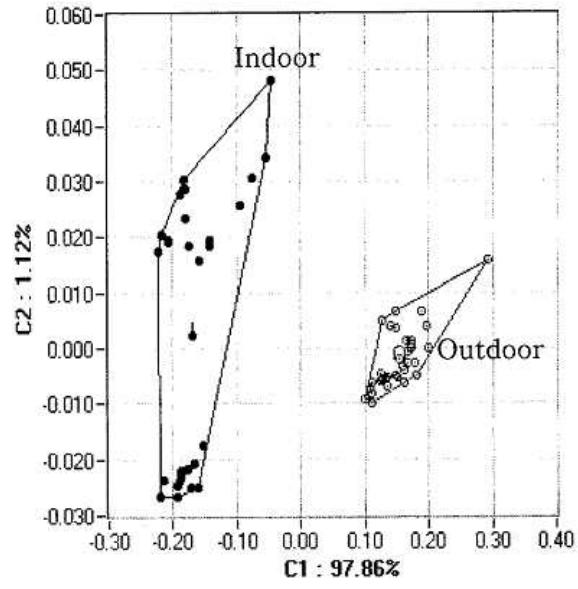


Fig. 23. 전자 코의 향기패턴 비교 (강선문 등, 2008)

4. 육우 사양 실험

가. 육우 쇠고기 개발의 중요성

(1) 경제적 중요성

우리나라에 수입되는 쇠고기는 냉장과 냉동을 합하여 연간 약 28만 톤으로 국내 쇠고기 생산량인 연간 20만 톤보다 더 많은 양이며 수입 쇠고기 부위별 kg가격의 평균을 기준으로 계산 시 약 1천억 원 정도로 그 가치가 굉장히 크다(Table 40, Table 41).

Table 40. 쇠고기 국가별 수입량 (검역기준) (단위: 톤)

	'11	'12	'13	'14
냉장	47,088	40,202	40,349	46,271
냉동	242,298	212,522	216,267	234,240
합계	289,386	252,724	256,616	280,511

(식약처, (사)한국육류유통수출협회, 2015)

Table 41. 쇠고기 부위별 평균 수입 가격 (단위: 원, kg당, 관세포함)

부위	가격
소갈비(냉장)	12,155
소갈비(냉동)	9,833
뼈없는쇠고기(냉장)	14,079
뼈없는쇠고기(냉동)	9,616
총 쇠고기	9,827

(관세청, 2015)

(2) 산업적 중요성

그 동안 국내 축산 분야에 관한 연구에서는 한우 고급육 생산에 초점을 맞춰 거세 한우를 위주로 품질 개선 및 브랜드화에 집중되어 수행되어 온 반면, 육우 생산 등 보다 다양한 분야에 대한 기능적 특성이나 발전에 대한 연구는 매우 제한적으로 진행 중이다. 낙농산업이 존재하는 한 홀스타인 수송아지는 계속 생산되므로 소비시장을 활성화시키는 방안이 필요하며 활성화에 따른 육우의 수요 증가는 국가 전체로 보았을 때 축산 자원의 낭비를 막고, 육우의 합리적인 가격 구조 실현의 효과 역시 얻을 수 있다. 한우와 수입육으로 포화된 쇠고기 시장에서 소비자에게 구매 욕구를 불러일으키려면 새로운 사양 방식 접목, 자연친화적 Grass-fed 사양을 통한 건강하고 안전한 쇠고기 생산이 그 중 한 가지 방법이라고 판단된다. Grass-fed 사양법을 이용한 홀스타인 육우의 품질을 차별화 할 수 있는 방안이 필요하나, Grass-fed 홀스타인 육우에 관한 연구는 매우 제한되어 있는 실정이다. 체계적인 연구와 더불어 육우의 단일 브랜드 출시, 육우 가공식품의 다양화를 통한 소비 촉진 등 안정적인 산업 생산 체계의 확립을 이루고, 더 나아가 그린마케팅과 연계하여 수출 기반을 구축하는 것을 육우산업의 궁극적 목표점으로 삼아야 할 것이다. 노인 사회의 급증 및 성인병 예방에 대한 소비자층의 관심 증가, 전 세계적으로 Grass-fed 축산물에 대한 긍정 여론 형성 등으로 보아 Grass-fed 육우 산업의 소비 추세가 증가할 것으로 예상되며, 육류 식생활에서 우리보다 앞서가는 미주 및 유럽 선진국의 경우 이미 Grass-fed 축산물이 널리 유통되고 있고, 그 인기가 높다. 그 동안 Grass-fed 쇠고기의 상품화에 대한 과학적 자료가 매우 미진한 실정이고, 거세 한우에 집중되어 육우고기에 대한 체계적인 연구가 필요하다(정의강, 2013).

(3) 사회적 중요성

최근 다양한 매체의 보도를 통해 마블링에 대한 올바른 지식이 알려지고 있다. 마블링이 풍부하게 펼쳐져 있어야 품질이 좋은 한우라는 잘못된 인식이 현재의 한우 등급 체계를 만들어 냈고, 더 높은 등급을 받기 위해 축산가에서는 소의 지방 늘리기에 집중하고 있다. 소는 움직임을 통제당하고, 고칼로리의 옥수수 또는 배합사료만을 섭취하고 있다. 반대로 목초를 먹으며 건강하게 키운 소들은 근내 지방이 적어 낮은 등급을 받고, 소비자에게 외면 받고 있다. 또한 소고기의 지방은 체내 중성지방을 높이고 더 나아가 심혈관 질환까지 일으켜 국외에서는 건강에 유해한 물질로 분류하고 있다. 이러한 불편한 진실이 알려지며 쇠고기 지방에 대한 소비자 인식에 변화가 일어나고 있으며, 마블링에 대해 무조건적으로 맹신하지 않고 저지방 쇠고

기 생산에 목소리를 높이고 있다. 이러한 면에서 육우의 저지방, 빠른 출하라는 특징을 장점으로 내세워 소비자들에게 적극적으로 홍보할 필요성이 있다.

홀스타인은 한우보다 증체가 빠르고 체성숙체증이 높다. 체성숙체증은 성장 중 더 이상 단백질의 축적은 없으며 지방의 축적만 일어나기 시작하는 체중이며 품종 또는 개체마다 다르다. 홀스타인은 한우와 같은 체중이라도 월령이 어리며 더 빨리 출하할 수 있다. 실제로 육우는 20개월령 내외에서 출하를 하고, 한우는 28~30개월령에 출하를 하기 때문에 육질이 연하고 지방이 적어 느끼하지 않은 담백한 맛을 낸다. 건강과 다이어트를 중시하는 사회적 트렌드에 따라 소비자들이 점차 저지방 식품을 찾고 있다. 안티마블링을 지향하는 소비자가 늘어나고, 저지방 쇠고기를 찾는 수요도 증가하고 있다. 육우고기는 이러한 트렌드로 볼 때 한우보다 더 경쟁력 있고, 구매가치가 있는 쇠고기이며 미래의 소비자 선호도와도 부합한다.

나. 국내 육우 산업 및 소비자 시장 현황

국내에서 2010년 구제역 이후 젖소 사육두수는 지속적으로 증가했지만 육우 사육두수는 매년 감소하고 있는 추세이다. 이것은 국내 쇠고기 시장에서 홀스타인 육우가 한우와 비교했을 때 상대적으로 등급 출현 율이 낮을 뿐 아니라 육질과 맛이 떨어져 저가로 유통되고 있기 때문이며, 특히 낙농가에서도 암송아지를 선호하고 수송아지는 시장가격이 불안정하고 고기 시장에서도 수요가 없어 농가에서조차 사육을 기피하고 있는 실정이다(Cho 등, 2014). 또한 육우는 한우에 비해 비육기간이 짧고 농후사료 위주로 사육하기 때문에 생산비 중 사료비가 차지하는 비중이 57.6%로 매우 높은 특성을 가진다('12, The Statistics Korea. 최순호 등, 2013). 따라서 사료가격에 상대적으로 민감하고, 생산비 급등은 육우농가에 직접적인 치명타를 가져다준다. 그렇게 되면 전반적인 육우 시장 역시 침체에 빠질 수밖에 없다. 육우는 2014년 4분기 기준 4천847개 농가에서 8만9천여두가 사육되고 있으며 약 26천톤 정도 쇠고기를 공급하고 있다. 한편, 같은 기간 한우는 9만9천285개 농가에서 267만여 두가 사육 중이며, 이는 육우의 30배이다. 육우는 2004년 국내 쇠고기 생산량의 30% 가까이 차지하며 그 시절 한우와 함께 국내 쇠고기 시장의 주공급원이었다. 한우와 수입 쇠고기의 중간에서 수입육의 일정 부분을 육우고기가 대체하여 국내 쇠고기 산업을 보호하는 역할로 인기를 끌기도 하였다. 하지만 한·미 FTA와 한우의 브랜드화로 육우에 대한 소비자의 수요가 점점 줄어들면서 국내 쇠고기 시장 중 육우 점유율이 2008년 16.5%, 2010년 13.3%, 2011년 12.2%까지 급락하게 된다. 2013년 최근 국내 쇠고기 생산량의 약 6%까지 추락하였고 이는 열악한 육우의 산업기반을 그대로 보여주고 있다.

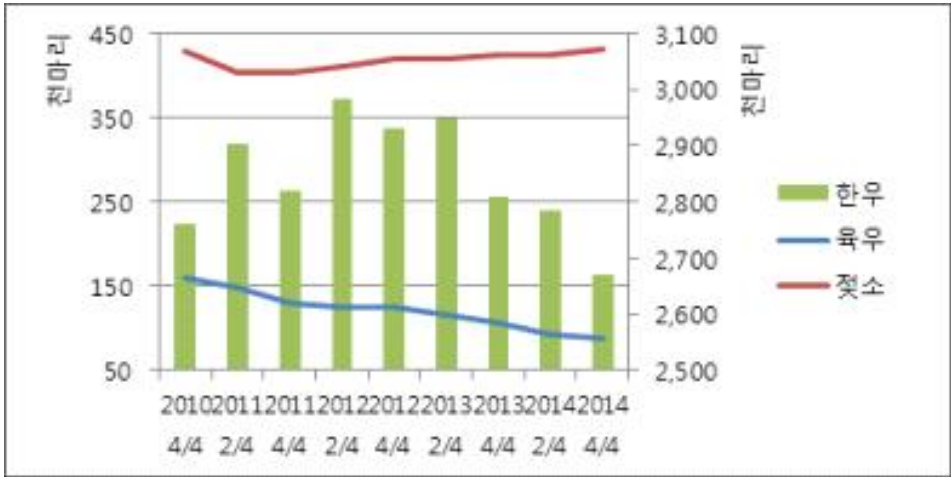


Fig. 24. 한우, 육우 및 젓소 사육마리수 (국가통계포털사이트)

다. 육우산업의 객관적 분석

(1) 육우의 BCG매트릭스 분석

※ BCG매트릭스는 Boston Consulting Group에 의해 개발된 사업 포트폴리오 분석 기법. 시장성장률(market growth rate)와 상대적 시장점유율(relative market share) 두 축을 기준으로 아래와 같은 4가지 산업군(제품)으로 나뉜다. 높은 점유율과 더딘 성장률을 가진 "cash-cows", 높은 점유율과 높은 성장률을 가진 "stars", 낮은 점유율과 성장률을 가진 "dogs", 낮은 점유율과 높은 성장률을 보이는 "question marks"

현재 육우의 시장점유율은 낮은 상태이고 육우에 대한 소비자의 매우 적은 수요, 농가들의 육우 비육 기피 등의 시장 상황을 봤을 때 불안정한 암흑기의 상태라고 말할 수 있다. 반면 한우보다 저렴한 가격, 수입산이 아닌 국내산 쇠고기인 점, 육우 시장이 활발해짐으로써 소비자의 다양한 선택권 증가 등 기회요인을 잘 활용하면 축산업계에 블루오션으로 성장할 수 있고, 큰 폭의 성장도 기대할 수 있다. 따라서 육우는 'question marks' 산업군으로 판단된다.

(2) 육우의 SWOT 분석

※ SWOT는 강점(Strengths), 약점(Weaknesses), 기회(Opportunities), 위협(Threats)의 머리글자이며, 이 분석은 광범위한 상황분석의 한 부분으로서 강·약점의 내부 역량과 기회·위협과 같은 외부 가능성 사이의 적합성을 평가하는데 사용하는 분석 방법이다(노동조, 2006).

(가) 강점(Strengths)

한우와 수입산 쇠고기로 양분된 시장에서 육우가 국내산이라는 것은 소비자의 구매를 이끌어 낼 수 있는 큰 강점이며, 쇠고기 이력추적제, 원산지 표시제 등 제도를 받침으로 삼아 시장에 접근해야 한다. 2014년 1월부터 12월 전국 도매시장 경락가격을 봤을 때 한우의 평균 거래가격은 14,272원(1kg당, 결함축 제외)이고, 같은 기간 육우의 평균 거래가격은 8,289원(1kg당, 결함축 제외)이다(축산물품질평가원 축산유통종합정보센터 eKAPEPIA).

(나) 약점(Weaknesses)

2012년도 이후로 국내 쇠고기 시장 점유율이 10%를 밑돌고 있으며 2013년 육우의 생산량은 한우의 1/13 규모로 한우에 비해 현저히 작은 시장을 가지고 있다. 점점 하락하고 있는 점유율과 생산량은 판매 채널 감소 및 소비자의 인식저하로 이어지고 있다(Table 42). 현재 육우를 판매하는 업체는 단체급식 공급업체, 소수의 인터넷 쇼핑몰, 육우고기 전문 프랜차이즈, 일부 낙농조합이며 전국적으로 봤을 때 극소수에 불과하여 소비자들이 육우고기를 접할 기회가 희박하다. 특히 대형마트 중 육우를 취급하는 곳이 전혀 없기 때문에 직접 구매 가능한 채널이 전무한 실정이다.

2009년 한국농촌경제연구원에서 수도권 및 주요 대도시 주부 811명을 대상으로 인터넷 설문조사를 진행하였다. 육우를 들어본 적이 있는 소비자는 84%, 육우와 한우가 같다고 대답한 응답자가 16.4%, 육우와 젓소가 같다고 대답한 응답자가 25.4%였다. 육우를 구매하지 않는 이유를 묻는 질문에서는 '인근 판매점에서 육우가 진열된 적을 본적이 없어서'라는 답변이 47.7%로 가장 많았고, 그 뒤로 '육우는 질이 안 좋은 고기일 것 같아서'가 32.4%였다. 이는 육우를 아는 소비자는 많음에도 정확한 정보를 가진 사람은 일부에 불과하였으며 육우를

다른 쇠고기 종으로 오인하여 잘못된 인식을 가지고 있는 현 상황을 나타내고 있다(Table 43, Table 44, Table 45, Table 46).

또 하나의 약점은 한우보다 낮은 품질이다. 매년 품종별 등급 판정두수를 보면 축산물 육질등급기준 한우의 1등급이상 출현 율이 육우에 비해 월등이 높고, 한우의 꾸준한 고품질화로 차이는 점점 더 벌어지는 것을 알 수 있다. 현재 소고기 육질 및 육량 등급체계는 사실상 한우를 중심으로 만들어진 등급체계이며 한우에 대해서만 육량등급을 가산하여 계산하도록 한 규정은 육우가 상대적으로 불리한 등급 판정을 받도록 하는 원인이 되고 있다. 따라서 육우 실정에 맞는 육우만의 육질 및 육량 등급을 도입하는 것 역시 육우산업의 과제로 남아있다.

Table 42. 연도별 국내산 쇠고기 생산량

	한우	비율	육우	비율	젓소	비율	합
'11	143,455	83.40%	21,040	12.20%	7,579	4.40%	172,074
'12	168,291	86.20%	17,719	9.10%	9,163	4.70%	195,173
'13	191,543	89.10%	14,296	6.60%	9,199	4.30%	215,038
'14	183,339	87.70%	14,893	7.10%	10,897	5.20%	209,129

(사)한국육류유통수출협회, 2015)

Table 43. 육우에 대하여 들어본 경험 여부

구분	무응답	있다	없다	전체응답자
응답자(명)	5	681	126	811
비율(%)	0.6	83.9	15.5	100

Table 44. 육우와 한우의 동일성 여부

구분	무응답	같다	다르다	합계	전체응답자
응답자(명)	0	133	548	681	811
비율(%)	0	16.4	67.6		

Table 45. 육우와 젓소고기의 동일성 여부

구분	무응답	같다	다르다	합계	전체응답자
응답자	3	206	266	475	811
비율	0.4	25.4	32.8		

Table 46. 육우를 구매하지 않은 이유

구분	무응답	인근 판매점에서 육우가 진열된 적을 본적이 없어서	육우는 수입육과 비교해서 가격이 비싸서	육우는 질이 안 좋은 고기일 것 같아서	기타	합계
응답자	45	180	12	122	18	377
비율	11.9	47.7	3.2	32.4	4.8	100

Table 47. 축종별 1, 2등급이상 출현율

	한우		육우	
	1등급이상	2등급이상	1등급이상	2등급이상
'09	56.70	81.40	13.90	55.21
'10	63.10	88.30	12.24	52.96
'11	62.40	87.90	13.60	54.52
'12	58.00	85.30	9.54	46.93
'13	61.30	88.40	8.97	48.01
'14	65.00	90.20	10.77	52.62

(축산물품질평가원 축산유통종합정보센터 eKAPEPIA, 등급관정통계)

(다) 기회(Opportunities)

2014년 상반기, 육우의무자조금이 출범하였다. 한우의 의무자조금 시행(2005년)보다 9년이 느리지만 농가들의 적극적인 참여율로 육우산업이 부활할 수 있는 기회가 될 것으로 예상된다. 또한 2014년 5월에는 육우를 온라인으로 직접 주문해 구매할 수 있는 쇼핑몰을 오픈하면서 소비자들이 직접 구매할 수 있는 유통 채널의 확장을 이뤄내었다. 육우의무자조금을 통하여 재원을 마련함과 동시에 적극적인 육우 홍보와 교육을 한다면 육우에 대한 소비자의 부정적 인식이 개선될 수 있을 것이다. 또한 어려운 육우산업의 상황 속에서도 육우농가들의 끊임없는 품질고급화 노력에 따라 육우 등급출현율은 지속적으로 증가하고 있고, 거세울 또한 높아지고 있다.

Table 48. 연도별 육우 등급출현 현황

구분		1등급 이상	2등급	3등급	D등급	계	2등급 이상
2000	두수	707	4,548	106,572	2,221	114,048	5,255
	(출현율%)	(0.6)	(4.0)	(93.4)	(2.0)	(100)	(4.6)
2003	두수	5,644	24,728	101,148	1,002	132,522	30,372
	(출현율%)	(4.3)	(18.7)	(76.3)	(0.7)	(100)	(22.9)
2005	두수	12,201	36,335	89,314	992	138,842	48,536
	(출현율%)	(8.8)	(26.2)	(64.3)	(0.7)	(100)	(35.0)
2008	두수	12,478	37,256	64,948	1,364	116,046	49,734
	(출현율%)	(10.8)	(32.1)	(56)	(1.1)	(100)	(42.9)
2010	두수	9,515	31,518	48,745	1,059	90,837	41,033
	(출현율%)	(10.5)	(34.7)	(53.7)	(1.1)	(100)	(45.2)
2012	두수	7,130	26,952	44,385	985	79,452	34,082
	(출현율%)	(9.0)	(33.9)	(55.9)	(1.2)	(100)	(42.9)
2014	두수	6,197	24,560	35,383	618	66,758	30,757
	(출현율%)	(9.3)	(36.8)	(53.0)	(0.9)	(100)	(46.1)

(축산물품질평가원 축산유통종합정보센터 eKAPEPIA. 등급관정통계)

Table 49. '00년~'12년 육우 거세율 추이

	'00	'03	'06	'09	' 12.1~10월
거세우	4,841	52,076	74,059	77,569	56,273
수소 전체	97,252	108,086	98,942	88,574	60,557
거세비율(%)	5	48	75	88	93

(축산물품질평가원 축산유통종합정보센터 eKAPEPIA)

또 하나의 기회로는 중국시장을 들 수 있다. 우리나라와 가장 인접한 나라이면서 거대한 소비시장을 가진 중국을 타깃으로 고품질의 육우 가공제품을 수출할 수 있도록 이와 관련한 개발이 필요하다. 중국의 쇠고기 산업 현황을 보면 2001-2010년 사이 소 사육두수는 1,182만두 가량 감소했지만, 연간 출하두수는 2001년의 3,794만두에서 2010년에 4,717만두까지 증가했고, 도축율은 지속적인 상승세를 보인다(Fig. 25). 이렇게 사육두수가 감소하는 반면에 출하두수가 증가하는 것은, 중국의 쇠고기 공급이 부족한 상황에 빠져있는 것을 추정하게 된다(이병오와 허국동, 2014). 중국의 쇠고기 1kg당 생산비(2013년 기준)는 우리나라의 4분의1에 불과한 2180원 수준이라 자칫 가격 경쟁력에서 밀릴 수 있으나 중국 고소득층에서 고급 쇠고기 소비가 증가하고 있다는 점은 육우제품의 중국 수출 성공 가능성을 엿볼 수 있다. 특히

중국의 고급육 생산은 매우 부진하여 수입에 의존하고 있다는 점(이병오와 허국동, 2014), 최근 중국 가계의 소득수준이 점점 향상되고 있는 점, 중국 역시 건강을 생각하는 소비자가 많아지고 있는 점은 육우 수출의 기회로 삼을 만하다.



Fig. 25. 중국의 소 출하량, 사육두수 및 도축율 (이병오와 허국동, 2014)

(라) 위협 (Threats)

군납으로 인한 물량 덕분에 육우가격이 안정세를 보인 긍정적인 면도 있지만, 정부 예산에 따라 언제든지 중단되기 쉽고 정책에 의해 수입육으로 대체되기 쉬운 군납의 특성상 장기적으로 안정된 산업구조를 구축하기 어렵다. 또한 군납 외에 매장에서 팔리는 경우는 거의 없고, 별도의 육우체인점이나 식당 역시 부족한 것이 현실이다. 또한 미국에서 발생한 광우병으로 인한 쇠고기 자체에 대한 불신이 국내 산업에까지 심각한 악영향을 불러일으킨 것을 시작으로 2010년 파동, 2014년 12월부터 2015년 3월 현재까지 돌고 있는 구제역 역시 쇠고기 축산물에 대한 불안감을 증폭시켰다.

라. 본 실험의 필요성

마블링을 증시하는 국내 쇠고기 등급 판정제도와 부드러운 지방의 맛을 좋아하는 소비자에 의해서 현 축산 업계는 지방 비육 위주의 사양을 하고 있다. 그래서 풀을 먹어야 하는 반추동물 소는 되새김질이 필요 없는 고칼로리 곡물 사료를 먹고 있으며, 지방을 늘리기 위해 움직임을 최대한 억제하고 있는 실정이다. 옥수수나 콩과 같은 사료는 오메가 6지방산이 많이 함유되어 있는데 이 사료를 먹고 자란 소들은 자연스럽게 오메가 6지방산이 높은 쇠고기로 생산된다. 오메가 6지방산은 체내 비율이 높을 때 심혈관질환, 알츠하이머, 암, 비만, 당뇨병 등으로 연결된다. 이와 관련해 세계보건기구(WHO)에서는 오메가3:6지방산 비율을 1:4이하로 권장하고 있다. 본 연구는 홀스타인 육우의 제품화를 최종 목표로 하여 사료 내 오메가-3와 오메가-6 지방산 비율을 조정하여 급여한 후 혈액 내 지방산 조성을 포함한 품질특성의 변화에 대하여 알아보기 위하여 수행하였다.

마. 재료 및 방법

(1) 시험동물, 시험설계 및 시험기간

본 연구는 19개월 13~21일령(평균체중 346 kg) 홀스타인 수소 15두를 실험군당 5마리로 하여 대조군(C), 실험군1(T1), 실험군2(T2) 세 개 사양실험군로 나누었으며 대조군(C)은 total-mixed ratio (TMR) 사료를 급여했고, 실험군1(T1)은 오메가3가 풍부한 곡물과 *Phalaris arundinacea*(Reed Canary Grass) 을 40:60으로 혼합한 사료를 급여하였으며, 실험군2(T2)은 *Phalaris arundinacea* 를 급여하였다. 시험 장소는 강원도 평창군 대관령 소재 에코그린캠퍼스(주) 대관령목장이고, 2014년 12월 18일부터 2015년 5월 16일까지 150일간 사육하였다. 실험군 분배 기준은 세 사양 실험군의 평균체중이 비슷하도록 나뉘었으며 가로 × 세로 3.0m × 10m의 실내우사에서 각각 군집 사육하였다.

(2) 사료 급여 및 사양관리

전 시험 기간 동안 1일 분량 사료를 2회(9시, 16시)에 나눠 급여하였다. 대조군은 비육용 TMR 사료로 두 당 1일 약 18 kg씩 무제한 급여하였고, 조사료는 급여하지 않았다. TMR 사료의 배합비 조성은 Table 50과 같다. 실험군1은 에코그린캠퍼스(주) 대관령목장에서 자체

생산하는 *Phalaris arundinacea* 와 농후사료를 혼합 급여하였고, *Phalaris arundinacea* 는 전 기간 자유 채식하도록 하였으며, 농후사료는 두 당 1일 6 kg씩 급여하였다. *Phalaris arundinacea* 는 양건시킨 건초 형태로 먹였고, 농후사료의 배합조성은 Table 51과 같다. 실험군2는 실험군1과 같은 건초로만 무제한 급여하였다. 이 때 건조비트펄프를 1일 두당 1 kg 씩 함께 급여시켰다. 전 기간 물은 자유 채식하도록 하였다. 개체사육시설의 여건상 사양실험 군별 조사료 섭취량은 조사하지 못하였으나 실험군별 TMR 사료 및 농후사료 잔량은 매일 조사하였다.

Table 50. 비육용 TMR 사료(대조군) 배합비 조성

원료명	배합비(%)
큰 후레이크	12.35
면실	5.70
단백피	2.80
연맥스트로	4.30
라이그라스	6.80
맥주박	21.00
버섯부산물	13.50
비지	9.40
천연미네랄	0.40
비타민믹스	0.15
생균제	5.80
사료베이스	17.80
합계	100.00

Table 51. 농후사료(실험군1)의 배합비 조성

원료명	배합비(%)
소 맥	19.45
소맥피	16.18
대두피	15.00
팜 박	11.40
채종박	10.44
타피오카	8.60
단백피	5.00
비트펄프	6.02
당 밀	2.00
아마유	3.55
석회석	0.96
인산칼슘	0.10
소 금	0.30
중 조	0.30
발효제	0.20
비타민미네랄	0.50
합 계	100.00

(3) 측정항목 및 분석방법

(가) 사료 분석

TMR 사료, 농후사료 및 조사료의 영양성분 및 에너지 분석은 AOAC(1995)방법에 준하여 분석하였고, 조사료의 NDF 함량은 Goering과 Van Soest(1970) 방법에 따라 분석하였다. 사료 지방산 조성 분석은 강원대학교 동물자원공동연구소 (농림부 인정 제10호 사료검정 인정기관) 에 의뢰하였다.

(나) 증체량 조사

우형기를 이용하여 사양시험 시작 0일과 2, 3, 5개월(사양시험 종료일) 간격으로 총 4회 실시하였다.

(다) 통계분석

본 실험을 통해 얻은 모든 자료는 Agricolae(R-version 3.1.2) 프로그램의 ANOVA(Analysis of variance)에 의해 통계분석(The R-foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria)을 실시하였으며, 각 평균들 간의 유의성 차이는 Duncan's multiple range test에 의해 5% 수준에서 검증하였다.

바. 결과

(1) 사료 분석

(가) 사료 영양성분 및 지방산 분석

각 실험군 사료의 영양성분은 Table 53에 제시되어져 있다. 실험군(T1, T2)의 화학적 성분은 CF 함량이 월등히 높은 특징이 있었는데, 이는 *Phalaris arundinacea* 조사료의 높은 CF 함량에 기인하였다. 또한 EE와 Energy 는 실험군(T1, T2)에 비해 대조군(C)가 높은 경향을 보였다. 각 실험군 사료 내의 대사에너지와 기타 영양소의 수준은 대조군 사료와 유사하도록 조절하였다. Table 4.6.2에는 전 실험군 사료의 오메가3지방산(n3)에 대한 오메가6지방산(n6) 비율을 명시하고 있으며 각 계열의 대표 지방산인 Linolenic acid(C18:3n3,n3) Linoleic acid(C18:2n6,n6)으로 그 비율을 나타내었다. n6:n3 비율은 대조군가 29.14로 가장 높고, 실험군1이 1.44이며 실험군2는 0.66이다.

Table 53. 대조군(C), 실험군1(T1), 실험군2(T2) 영양성분 분석

항목	대조군(C) 사료	실험군1(T1) 사료 ^{a)}	실험군2(T2) 사료
Moisture*	40.87	17.47	45.31
CP*	6.48	12.30	6.08
EE*	3.98	2.94	1.43
CF*	4.90	24.79	21.04
Ash*	2.94	6.00	4.00
NDF*	11.07	44.64	36.42
TDN*	51.37	36.19	14.27
Energy**	3,301	3,172	3,034

* %, **cal/g

Abbreviation used: CP, Crude protein; EE, Ether extract; CF, Crude fiber; NDF, Neutral detergent fiber; TDN, Total digestible nutrients

a) 조사료(*Phalaris arundinacea*) 60%와 오메가지방산 비율 조정사료 40%를 혼합하여 분석

Table 54. 대조군(C), 실험군1(T1), 실험군2(T2) 각 사료의 오메가3지방산에 대한 오메가6지방산 비율

	대조군(C) 사료	실험군1(T1) 사료	실험군2(T2) 사료
n6/n3*	29.14	1.44	0.66

* n6/n3 = C18:2n6 / C18:3n3

(2) 증체량

Table 55은 사양시험 중 시험축의 증체량을 나타내고 있다. 비육용 TMR 사료를 먹은 대조군은 평균 증체량이 186.4 kg으로 가장 높았고, 그 뒤로 T1이 평균 167.0 kg 증체하였으며 T2가 81.2 kg으로 가장 적었다. 이는 대조군의 일일 섭취량이 18kg으로 실험군 중 가장 많고 대조군 사료 에너지 양이 가장 크기 때문이라고 사료된다. 사양시험 중 시험축 체중이 직선의 모양으로 증가하였으며(Fig. 26) 다만 실험군2는 증체량이 다른 구에 비해 1/2 수준임을 알 수 있다. 이 시험에서 19개월령의 비육 후기의 소를 사용했기 때문에 사료로 인한 충분한 증체가 일어나지 않은 점은 한계로 생각되며 추후 비육 전기의 소를 사용한다면 더 큰 증체량을 기대할 수 있을 것이다.

Table 55. 대조군(C), 실험군1(T1), 실험군2(T2) 홀스타인 육우의 개체 별 증체량

구 분	차 수	개체 명호	1차 체중	2차 체중	3차 체중	4차 체중	증체량
Control	1	3B-075	394.0	467.0	501.0	555.0	161.0
	2	3B-078	382.0	465.0	518.0	588.0	206.0
	3	3B-081	295.0	363.0	430.0	470.0	175.0
	4	3B-083	372.0	450.0	504.0	560.0	188.0
	5	3B-088	344.0	435.0	489.0	546.0	202.0
		AVG.	357.4	436.0	488.4	543.8	186.4
		STDEV.	39.5	42.8	34.2	44.1	
T1	1	3B-076	390.0	475.0	505.0	542.0	152.0
	2	3B-079	376.0	470.0	517.0	552.0	176.0
	3	3B-080	344.0	435.0	475.0	522.0	178.0
	4	3B-082	297.0	395.0	417.0	485.0	188.0
	5	3B-084	344.0	435.0	450.0	485.0	141.0
		AVG.	350.2	442.0	472.8	517.2	167.0
		STDEV.	35.9	32.3	40.7	31.3	
T2	1	3B-077	376.0	415.0	427.0	450.0	74.0
	2	3B-085	298.0	315.0	315.0	342.0	44.0
	3	3B-086	354.0	400.0	425.0	475.0	121.0
	4	3B-087	339.0	390.0	398.0	440.0	101.0
	5	3B-089	289.0	320.0	320.0	355.0	66.0
		AVG.	331.2	368.0	377.0	412.4	81.2
		STDEV.	37.0	47.0	55.5	59.9	

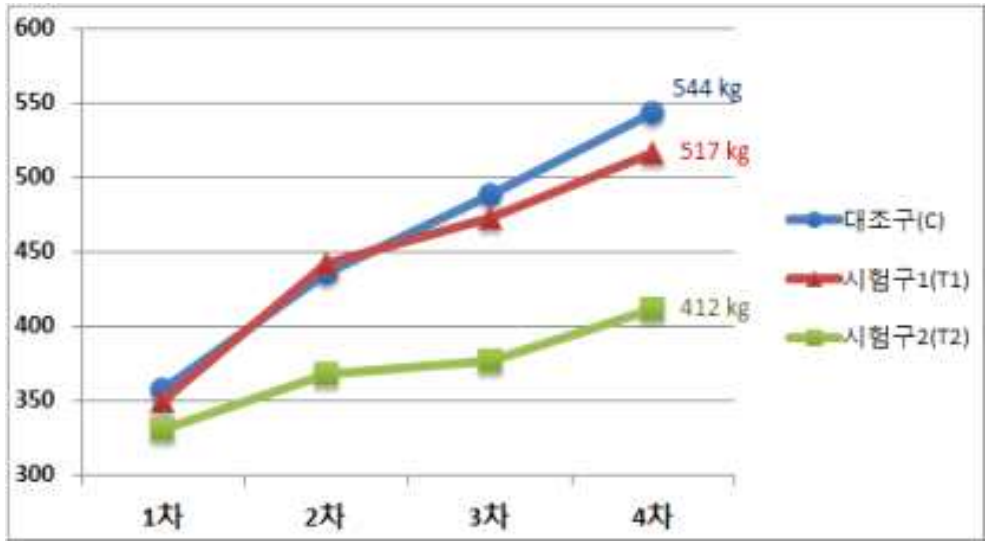


Fig. 26. 실험군별 사료에 따른 중체량 변화

5. 건강기능성 육우고기 생산 및 육가공 제품 제조 생산

가. 육가공 제품 제조 생산

(1) 숙성육 제조 실험

(가) 목적: 육우 사양실험을 통한 각 실험군별 관능검사 비교를 하여 소비자에게 최적의 제품을 제공함

(나) 시료: 등심(실험1군 건조숙성육, 실험2군 건조숙성육, 대조군 건조숙성육, 실험1군 진공숙성육, 실험2군 진공숙성육, 대조군 진공숙성육)

(다) 제조 방법

- 진공숙성: 발골 도체 후 진공 포장
- 건조숙성: 광목준비 - 발골 도체 알콜 소독 - 광목 3겹 랩핑 - 냉장보관
- 숙성조건: 4℃ 2주 숙성

(라) 관능검사 결과

관능검사는 삼양식품(주)유가공공장 인원 10명을 대상으로 진행하였으며, 5점 척도 법으로 평가하고, 샘플은 각각 2.5 cm 두께로 절단하여 팬 위에서 2분간 조리함. 샘플 관능결과 전체적인 맛에 있어서는 실험1군 건조숙성육이 가장 선호도가 높았고, 실험2군 건조숙성육 > 실험1군 진공숙성육 > 실험2군 진공숙성육 = 대조군 건조숙성육 > 대조군 진공숙성육 순으로 전체적인 맛의 선호도가 나타남

Table 56. 숙성육 관능검사 결과

샘플	전체적인 맛	부드러움	육즙	향	담백함	고소함
실험1군 건조숙성육	3.6	3.6	3.5	3.6	3.4	3.7
실험2군 건조숙성육	3.3	3.4	3.3	3.3	3.3	3.5
대조군 건조숙성육	2.8	2.8	2.8	2.9	3.3	3.2
실험1군 진공숙성육	3.1	3.2	3.4	3.2	3.2	3.3

실험2군 진공숙성육	2.8	2.9	3.1	3.1	3.1	3.1
대조군 진공숙성육	2.3	2.3	2.7	2.8	3.1	2.9

(2) 떡갈비 스타일 함박스테이크

(가) 목적: 기존 육가공제품 시장에서 유럽스타일의 다양한 제품들이 출시되고 있지만 국내 스타일의 퓨전 육가공 제품을 개발하여 소비자들의 기호 선택의 폭을 다양화 하고자 함

(나) 재료: 우목심, 우전각, 양파, 간장, 물엿, 후추, 버터, 대파, 다진마늘, 빵가루, 매실액기스, 계란, 전분

(다) 제조방법

- ① 양파와 버터를 개량하여 후라이팬에서 양파가 익을 때 까지 볶음
- ② 용기에 분쇄된 고기를 넣고 간장, 물엿, 후추, 대파, 다진마늘, 매실액기스, 계란, 빵가루, ①에서 준비한 양파를 잘 혼합되게 섞어줌
- ③ 전분을 혼합된 시료에 넣어 잘 섞어줌
- ④ 100 g 씩 개량하여 모양을 만든 후 포장 후 냉동 보관함

(라) 배합비

Table 57. 떡갈비 스타일 함박스테이크 배합비

원료	배합비 (%)
고기(목심, 전각)	50.23
양파	13.81
간장	5.44
물엿	2.51
후추	0.38
버터	0.84
대파	3.35
다진마늘	3.35
빵가루	5.86
매실액기스	2.51
계란	9.21
전분	2.51
계	100.00

(마) 제품사진



Fig. 27. 떡갈비 스타일 함박스테이크 시제품(좌), 포장 상태(우)

(바) 관능결과

관능검사는 삼양식품(주)유가공공장 인원 10명을 대상으로 진행하였으며, 5점 척도법으로 평가하였음. 관능결과 전체적인 맛이 3.9점으로 높게 나타났고, 특히 고소함 부분에서 높은 점수가 나옴

Table 58. 떡갈비 스타일 함박스테이크 관능검사 결과

샘플	전체적인 맛	부드러움	육즙	향	담백함	고소함
떡갈비 스타일 함박스테이크	3.9	3.3	3.7	3.9	3.5	4.1

(3) 매운 국물 소불고기

(가) 목적: 기존의 소불고기 제품의 경우 반찬 개념으로서 소비자들이 음용을 하었는데 불고기의 다양화를 확보하여 술안주 및 국 대용의 개념으로 개발하여 제품화 하고자함

(나) 재료: 우목심, 간장, 올리고당, 설탕, 다진마늘, 고추장, 후추가루, 매실엑기스, 가는고춧가루, 굵은 고춧가루, 청양고춧가루, 다시다, 미원, 생강분말, 파, 양파, 무

(다) 제조방법

- ① 핏물제거: 우목심을 물에 세척하여 핏물을 1차 제거하고, 용기에 우목심과 물을 채워 넣어 끓을 때까지 가열한 후 흐르는 물에 세척하여 핏물을 제거 한다.
- ② 정제수에 간장, 올리고당, 설탕, 고추장, 후추가루, 매실엑기스, 가는 고춧가루, 청양고춧가루, 굵은 고춧가루, 다시다, 미원, 생강분말을 투입하여 혼합한다.
- ③ 혼합한 용액을 포장용기에 용량에 맞게 충전한다.
- ④ 충전된 용기에 다진마늘, 파, 양파, 무, 우목심을 개량하여 투입한 후 실링한다.
- ⑤ 실링된 제품을 121℃ 10분간 살균 후 냉각한다.

(라) 배합비

Table 59. 매운 국물 소불고기 배합비

원재료	배합비(%)
불고기	32.34
간장	3.40
올리고당	1.78
설탕	0.16
간마늘	1.29
고추장	1.62
후추가루	0.12
매실엑기스	0.32
가는고춧가루	0.81
청양고춧가루	0.40
굵은고춧가루	0.40
다시다	0.40
미원	0.33
생강분말	0.03
파	1.62
양파	3.24
무	3.23
정제수	48.51
계	100.00

(마) 제품 사진



Fig. 28. 매운 국물 소불고기 시제품(좌), 포장상태(우)

(바) 관능결과

관능검사는 삼양식품(주)유가공공장 인원 10명을 대상으로 진행하였으며, 5점 척도 법으로 평가하였음. 관능검사 결과 전체적인 맛이 4.1점으로 선호도가 굉장히 높았으며 매운 맛과 감칠맛의 선호도가 높았음

Table 60. 매운 국물 소불고기 관능검사 결과

샘플	전체적인 맛	매운맛	단맛	짠맛	진한맛	감칠맛
매운 국물 소불고기	4.1	4.2	2.9	2.9	3.4	3.9

(4) 소시지 2종

(가) 컨셉: 정통 독일식 맛과 전통을 그대로 살려주는 정직한 셀러드바 비프, 목초사육 소고기의 풍부한 오메가 3 식단을 제공

(나) 목적: 오메가 3 지방산이 풍부한 소시지 개발

(다) 재료

- ① 린즈부어스: 돈육, 우육, 알트도이치콤비시즈닝, 프랑크 바인더 콤비시즈닝, 자색무발

효액

② 린즈 파프리카 리오나: 우육, 슈트트가르트형 켄부어스트 콤비시즈닝, 파브리카, 자색무 발효액

(라) 제조방법

- ① 린즈부어스트: 돈육 분쇄(입자형), 우육 분쇄(유화형) → 제 원료 혼합[진공믹서기] → 케이싱 → 건조(30min, 표면습도10%) → Smoking(20~30min) → cooking(75~78℃, steam, 20min) → 냉각(1·2차) → 포장
- ② 린즈파프리카리오나: 우육 분쇄(유화형) → 제 원료 혼합[진공믹서기] → 케이싱 → cooking(80℃, boiling, 1.5hr) → 냉각(1·2차) → 포장

(마) 공정사진



우육 분쇄(유화형)



돈육 분쇄(입자형)



진공 믹서기



케이싱



건조, Smoking, 쿠킹 room



1차 냉장

Fig. 29. 소세지 시제품 제작 과정

(바) 배합비

① 린즈부어스트

Table 61. 린즈부어스트 배합비

성분명	배합율 (정제수포함)	배합율 (정제수미포함)
돈육	24.17	30.05
우육	53.15	66.08
정제수	17.40	0.00
프랑크마인더콤비시즈닝	1.45	1.80
알트도이치콤비시즈닝	1.43	1.77
자색무발효액	2.42	0.30
합계	100.00	100.00

② 린즈파프리카리오나

Table 62. 린즈파프리카리오나 배합비

성분명	배합율 (정제수포함)	배합율 (정제수미포함)
우육	75.12	92.75

슈트트가르트썩켄	2.82	3.48
부어스트콤비시즈닝		
파프리카	2.82	3.48
정제수	16.9	-
자색무발효액	2.35	0.29
합계	100.00	100.00

(사) 관능결과

관능검사는 삼양식품(주) 본사 마케팅 및 영업 인원 10명을 대상으로 진행하였으며, 5점 척도법으로 평가하였음. 관능결과 린즈부어스트는 전체적인 맛이 4점이었고, 린즈파프리카리오는 4.2점으로 린즈파프리카리오는 선호도가 높았음 또한 파프리카 첨가로 인해 린즈부어스트에 비해 씹힘성과 향, 외관등의 항목이 높게 나타남.

① 린즈부어스트

Table 63. 린즈부어스트 관능검사 결과

샘플	전체적인 맛	씹힘성	단맛	짠맛	향	외관
린즈부어스트	4	4.3	1.8	3.4	3.7	4

② 린즈파프리카리오는

Table 64. 린즈파프리카리오는 관능검사 결과

샘플	전체적인 맛	씹힘성	단맛	짠맛	향	외관
린즈파프리카리오는	4.2	4.5	1.6	3.4	4.1	4.1

6. 고압살균처리한 원유를 이용한 건강기능성 발효유 제조

가. 서론

최근 들어, 많은 소비자들이 건강에 대한 관심이 높아지면서, 영양적으로도 우수하며, 다양한 기능성을 겸비한 식품들을 찾고 있다. 발효유제품은 probiotic bacteria를 섭취함으로써 얻을 수 있는 체내 콜레스테롤 저하, 유당불내증의 완화, 면역 system의 개선 등과 같은 여러 효과들 때문에, 오래전부터 기능성이 있는 것으로 인식되어 왔다(Hekmat와 Reid, 2006). 그 중 발효유는 probiotics 제품들 중에서 가장 대중적이고 세계에서 가장 많이 소비되고 있는 유제품이다(Da Cruz 등, 2010). 발효유는 일반적으로 우유, 산양유, 마유 등과 같은 포유류의 유즙에 유산균이나 효모 또는 그 두 가지를 혼용하여 발효한 제품을 말하며, 여기에 향료, 과즙 등을 첨가하여 음용하기 좋게 만들기도 한다(Lee 등, 1999).

한편, 최근 소비자들의 식품에 대한 관심은 건강과 더불어 안전이며, 가급적 천연의 상태, 첨가물이 들어있지 않은 안정적인 제품을 요구하고 있다. 식품의 보존성을 향상시키기 위해서 전통적으로 가열, 냉장, 건조, 식품보존제 첨가와 같은 방법을 사용해왔다. 그러나, 냉동, 건조 방법은 품질과 소비자의 기호도를 감소시킬 우려가 있으며, 식품보존제의 사용 또한 점차 소비자들이 기피하고 있는 실정이다. 널리 쓰이고 있는 가열공정은 열에 의한 영양성분의 파괴 및 변성, 향기성분손실 등의 품질저하를 초래한다(Park 등, 2010). 이에 따라, 여러 종류의 비가열처리 기술들이 연구, 개발되고 있다. 현재 식품의 비가열처리 방법에는 고압처리기술(HPP), 고전압 펄스 전기장, 진동 자기장, 방사선 조사법 등이 있다(Smelt, 1998). 이들 중 HPP는 Hite(1899)에 의해 처음 소개되었으며, 열처리의 장점을 유지하면서도 Maillard reaction, 비타민의 파괴, 맛의 손실, 물리화학적 변화 등과 같은 열처리시 발생하는 단점을 최소화할 수 있는 장점이 있으며, Horie 등(1991)이 과일 잼을 만들어 본 결과, 과일 특유의 색과 향을 보존할 수 있다는 연구 이후로 최근 주목을 받고 있다(Park 등, 2010). 그 동안, HPP 처리를 한 우유가 일반적인 저온살균 처리한 시유에 비해 관능적 특성이 우수하다(Lim 등, 2015)고 보고되는 등 그 우수성이 입증되고 있으나, HPP 처리한 유제품에 대한 연구는 HPP를 이용한 원유의 살균처리 및 단백질의 변화(Goyal 등, 2013; Gola 등, 2000; Gao 등, 2005) 또는 치즈제조(Saldo 등, 2000; Malone 등, 2003; Okpala 등, 2010; Sandra 등, 2006) 등에 국한되어 왔고, HPP 처리한 원유를 이용한 발효유에 관한 연구는 상대적으로 미미한 실정이다. 따라서, 본 연구에서는 HPP 처리한

원유를 이용하여 발효유를 제조하고, 이것의 발효특성과 저장기간 동안 이화학적 특성을 살펴보고자 한다.

나. 재료 및 방법

(1) 실험재료

실험에 사용된 원유는 (주)삼양식품(Seoul, Korea)에서 제공받아 사용하였다. 발효유 제조에 이용한 균주는 *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus fermentum*와 *Lactobacillus delbrueckii* sub sp. *bulgaricus*가 혼합된 상업용 균주(FD-DVS Yo-Flex Harmony 1.0, Chr. Hansen, Hoersholm, Denmark)를 사용하였다. 이 균주는 점성이 높고, 후발효가 거의 일어나지 않아 stirred type 발효유에 적합하며 동결건조된 direct-in-vat-set 타입으로 특별한 전처리 없이 바로 투입하여 사용할 수 있다. 탈지분유는 (주)롯데푸드(Seoul, Korea)에서 수입한, skim milk powder 88%와 demineralized whey powder 12%가 혼합된 제품을 사용하였으며, 정백당은 (주)큐원(Seoul, Korea)에서 생산된 제품을 사용하였다.

(2) 발효유의 제조

Table 65에 제시된 배합비에 의거하여, starter를 제외한 나머지 원료들을 혼합한 후, 대조균은 85℃에서 10분간 살균 후 40℃로 냉각하여 starter를 0.005%(w/w) 접종하고 (Table 65) 43℃의 배양기(BOD Incubator, HB-103M, Han Baek Scientific Co., Korea)에서 pH가 4.6이 될 때까지 약 8시간 배양하였다. 실험균은 대조균과 동일하게 원료배합 후, HPP(NC Hiperbaric 420, Hiperbaric Co., Burgos, Spain)처리를 각각 350, 450 MPa로 15분간 실시하였다. 이것을 40℃로 예열 후, 동일하게 starter를 접종하여 8시간 배양하였다.

Table 65. Formula composition of the yogurt making

Ingredients	Recipe (%)
Milk	89.995
Powdered skim milk	5
Starter	0.005
Sugar	5
Total	100

(3) 고압처리 발효유의 이화학적 특성

유산균 배양 중 발효유의 발효특성을 알아보기 위하여, 실험군과 대조군 모두 starter를 접종한 후, 발효 8시간 동안 2시간 간격으로 유산균 수를 측정하였다. 또한, 발효가 완료된 발효유를 4℃의 항온기에 보관하면서 저장기간에 따른 유산균 수, pH, 적정산도, 및 점성의 변화를 4일 간격으로 15일까지 측정하였다.

(4) 유산균 수 측정

시료는 vortex를 이용하여 균질화 시킨 후, 일정량을 취하여 사용하였다. 준비된 시료 1 mL에 0.1% peptone 용액 9 mL을 혼합하여 10배 희석법으로 희석하였다. 각 희석액 1 mL를 멸균된 유산균 배지 Bromocresol purple count agar(BCP, Eiken Chemical Co. Ltd., Tokyo, Japan)에 접종하고, 37℃ incubator에서 48시간 배양 후에 형성된 colony 수를 계측하고 여기에 희석배수를 곱하여 시료 mL당 CFU(Colony Forming Unit)로 나타내었다.

(5) pH 및 적정산도

발효유의 pH는 pH meter(FiveEasy™ Plus, Mettler-Toledo, Switzerland)를 이용하여 측정 전, 표준 완충용액 pH 4.0과 7.0의 표준 완충용액으로 기기를 보정한 후, 시료 50 mL을 비이커에 담아 3회 측정하여 평균 pH값을 얻었다. 적정산도는 시료 10 g을 취하여 증류수 10 mL를 가한 후 이를 0.1 N NaOH로 pH 8.3이 될 때까지 적정하여, 이 때 소비된 0.1 N NaOH를 lactic acid의 양으로 환산하였다.

$$Lacticacid(\%) = \frac{0.1 N NaOH \text{ 소비량 (mL)} \times 0.009}{Sample (g)} \times 100$$

(6) 점도분석

요구르트 200 mL를 250 mL 비이커에 담아 4℃에서 24시간 저장 후 미생물의 활동을 중지시키고 충분히 점도를 회복시킨 후, 8~9℃를 유지하며 Brookfield viscometer (Model LV DV2T, Brookfield Engineering Laboratories Inc., Middleboro, MA, USA)의 4번 spindle을 사용하여 10 rpm에서 4분에서 8분까지 1분 간격으로 점도를 측정하여 그 평균치를 data로 활용하였다.

(7) Syneresis

Keogh 등(1998)의 방법에 따라 요구르트 30 g을 50 mL conical tube에 취하고 4℃에서 0, 5, 15 day 보관 후 1,500 rpm, 10분간 원심분리하여 분리된 상등액 무게로 syneresis(%)를 계산하였다.

$$Syneresis (\%) = \frac{\text{분리된 상등액의 무게}}{\text{발효유의 무게}} \times 100$$

(8) 통계분석

본 연구에서 얻어진 실험결과에 대한 통계처리는 SAS package(Ver. 9.4)를 사용하였다. 각 실험구 간의 유의성을 검증하기 위하여, ANOVA 분석을 실시하였으며, 사후검증으로 Duncan's multiple range test에 의해 5% 유의수준에서 검증하였다.

다. 결과 및 고찰

(1) 발효유 배양 중 유산균 수 변화

Fig. 30 은 발효유의 유산균 발효 중 유산균 수의 변화를 나타낸 것이다. 고압처리한 원유로 제조한 발효유(HPP 350, 450)의 경우, HPP 처리군 모두 배양 2~4시간에서 유산균이 급격히 증식됨을 알 수 있었고, 그 이후에는 완만한 증가추이를 보였다. 80℃로 살균한 원유로 만든 발효유(대조군)의 경우, 발효초반(0~2 h)에 유산균 수의 비교적 가파른 증가추이를 보였으나 전체적으로 배양시간 동안 일정한 비율로 증가함을 알 수 있었다. Da Cruz 등 (2010)은 원유의 HPP 처리는 발효 유제품 제조 시 probiotic bacteria의 생육을 증진한다고 보고하였다. 본 실험에서는 고압처리군에서 발효 초반에 유산균이 급격히 증가하였으나, 발효 완료시점인 배양 8시간에서의 유산균 수는 대조군과는 큰 차이가 없는 것으로 나타났다. 이는 Da Cruz 등(2010)의 보고와는 다소 차이가 있으며, 원유의 HPP 처리가 발효유 제조시 유산균 생육에 크게 영향을 미치지 않음을 알 수 있었다.

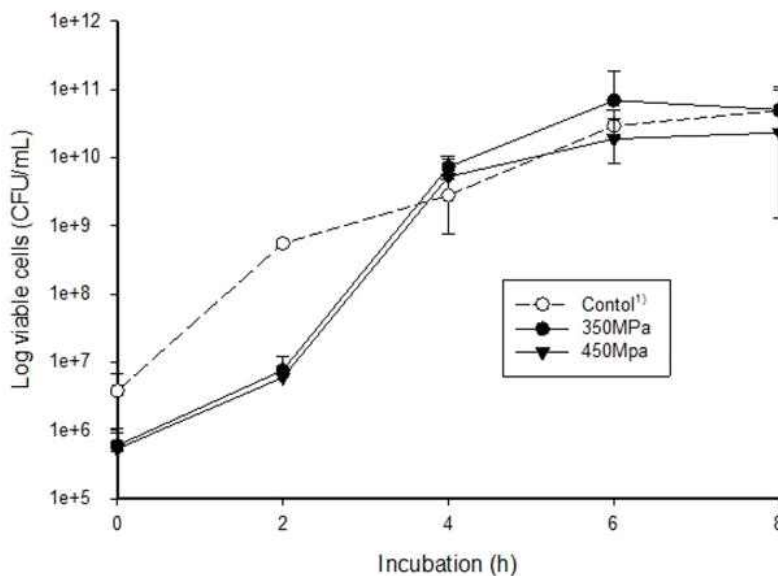
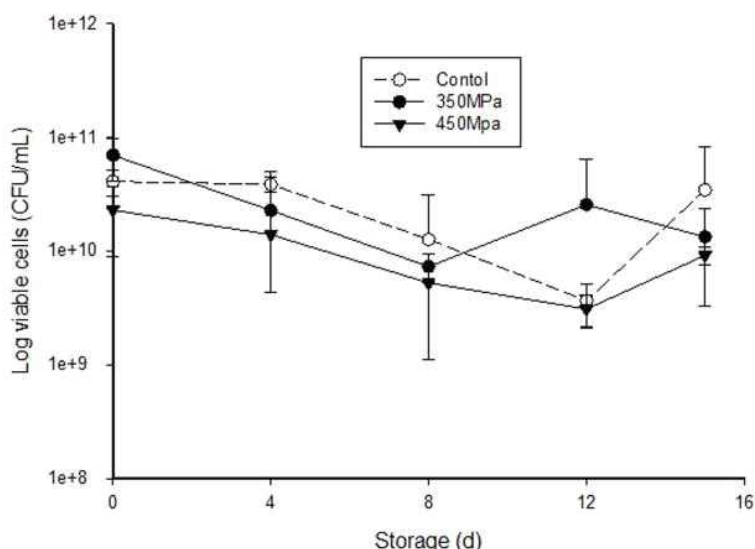


Fig. 30. Change of lactic acid bacteria in yogurt made with milk sterilized at 80℃ or high pressure process treated at 350, and 450 MPa during incubation at 37℃.

¹⁾Control: sterilized at 80℃ for 10 min

(2) 발효유 저장 중 유산균 수 변화

고압처리 및 열처리한 원유로 제조한 발효유를 4°C 에서 15일간 저장하면서, 유산균 수의 변화를 관찰한 결과는 Fig. 31와 같다. 실험군과 대조군 모두 저장기간동안 유산균 수가 감소하는 경향을 나타내었으나, 저장 15일차에서 각 군별 유산균 수에서는 큰 차이가 나타나지 않았다. Patrignani 등(2009)은 고압처리한 원유를 이용하여 발효유를 제조하고, 4°C에서 저장하는 동안 유산균 수의 변화를 관찰하였다. 그 결과, 저장 14일차에서는 HPP 처리군과 열처리군 모두에서 유의적 차이가 나타나지 않았으나, 저장 35일차에서는 HPP 처리군의 유산균 생존율이 더 높은 것으로 보고하였다. 본 연구에서는 저장기간을 15일까지로 한정하여 실험하였는데, Patrignani 등(2009)과 같이 저장기간을 늘려 실험한다면 저장기간 동안의 유산



균 수 생존율에서 확연한 차이가 드러날 것으로 기대된다.

Fig. 31. Change of lactic acid bacteria in yogurt made with milk sterilized at 80°C or high pressure processing treated at 350, and 450 MPa during storage at 4°C.¹Control: sterilized at 80°C for 10 min

(3) 저장기간 중 발효유의 산도 및 pH 변화

Fig. 33 과 34는 저장기간 동안, 발효유의 산도 및 pH 변화를 나타낸 것이다. 저장 15일 동안, 발효유의 산도는 증가하는 경향을 보였고, 이에 따라 pH는 감소하는 경향을 나타내

었다. 산도는 350, 450 MPa로 처리한 군과 대조군이 각각 1.01에서 1.15, 1.04에서 1.24, 그리고 0.99에서 1.06으로 증가하였다. 모든 처리군에서 0.99~1.24%의 산도를 나타내었는데, 이는 정상적인 발효유의 적정산도가 0.7~1.20% 라는 Davis(1970)의 보고와 유사하였다. pH는 350, 450 MPa로 처리한 군과 대조군이 각각 4.52에서 4.37, 4.49에서 4.34, 그리고 4.59에서 4.20으로 감소하였으며, 실험군이 대조군보다 pH가 더 낮은 것으로 나타났고 그 중 450 MPa로 처리한 군의 pH가 더 낮았다. 일반적으로, yogurt의 바람직한 pH범위는 pH 3.27~4.53의 범위라고 알려져 있는데(Kroger와 Weaver, 1973; Chambers, 1979; Duitschaever 등, 1972), 본 연구에서 제조한 yogurt의 pH는 4.20~4.59 로 대체로 위의 보고들과 일치하는 경향을 나타내었다.

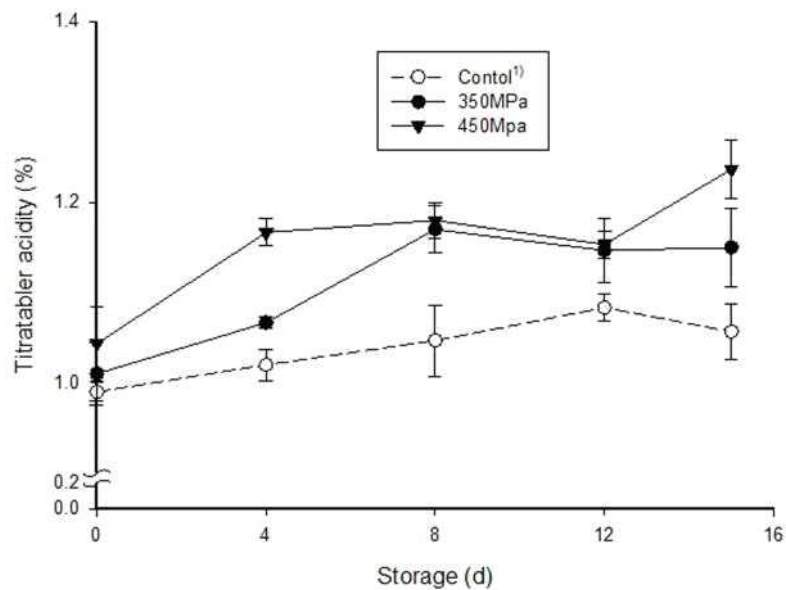


Fig. 33. Change of titratable acidity in yogurt made with milk sterilized at 80°C or high pressure processing treated at 350, and 450 MPa during storage at 4°C.

¹⁾Control: sterilized at 80°C for 10 min

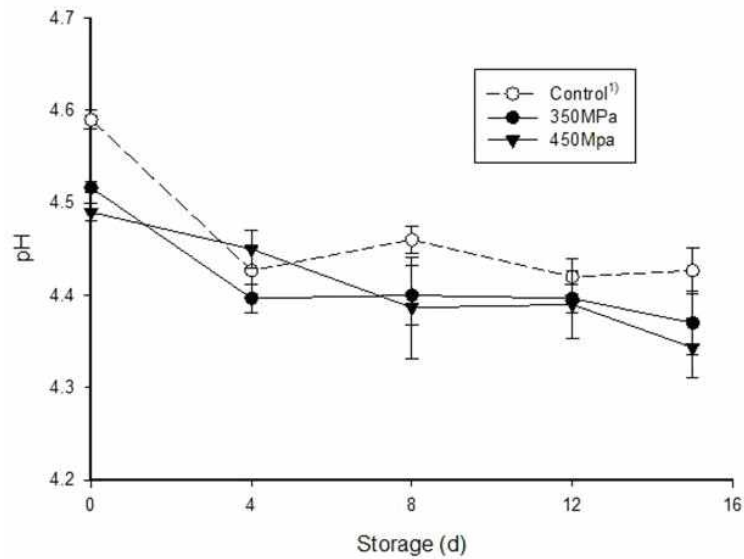


Fig. 34. Change of pH in yogurt made with milk sterilized at 80°C or sterilized with high pressure processing during storage at 4°C. ¹Control: sterilized at 80°C for 10 min

(4) 저장기간 중 발효유의 viscosity 변화

Fig. 35 에서 보는 바와 같이, 저장기간 중 발효유의 viscosity를 관찰한 결과, 대조군이 실험군에 비해 viscosity가 높게 나타났으며, 실험군 내에서도 450 MPa처리한 군의 점도가 더 높게 나타났다. 이는 Udabage 등(2010)의 보고와 일치하였다. Udabage 등(2010)은 각각 100, 250, 400 MPa 로 처리한 원유로 발효유를 제조하여, 열처리만을 실시한 원유로 제조한 발효유와 viscosity를 비교하였는데, 처리 압력이 높아질수록 점성이 증가하는 양상을 보였으나, 열처리를 한 대조군에 비해 점성이 모두 떨어지는 결과를 보였고, 이는 250 MPa 이상의 원유의 고압처리가 casein micelle 간의 network를 약화시키기 때문이라고 보고하였다. 한편, Johnston 등(1994)은 600 MPa에서 1시간 동안 HPP 처리한 원유로 발효유를 제조하였을 때 viscosity가 증가했다고 하여 본 연구와는 다른 결과를 보였는데, 이는 오랜 시간 동안 원유를 HPP 처리하여 viscosity에 영향을 줄 만큼 충분히 casein micelle의 변성을 초래했기 때문인 것으로 생각된다.

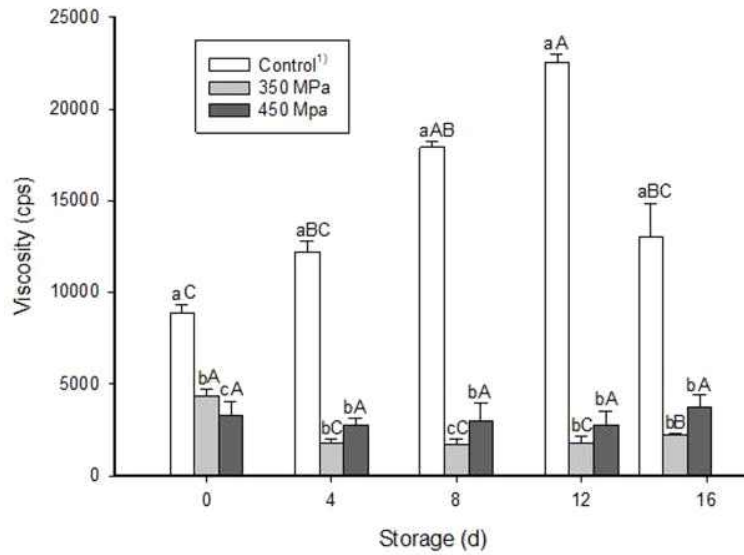


Fig. 35. Change of viscosity in yogurt made with milk sterilized at 80°C or sterilized with high pressure processing at 350 and 450 MPa during storage at 4°C

¹Control: sterilized at 80°C for 10 min

²Values with different superscript in a column (a-b) and row (A-B) are significant at $P < 0.05$ by Duncan's multiple range test

(5) 저장기간 동안 발효유의 syneresis 변화

저장기간 동안 발효유의 syneresis를 측정된 결과는 Table 66와 같다. 대체로, 시간이 지남에 따라 대부분의 군에서 syneresis가 줄어드는 경향을 보였으며, HPP 처리군에서 대조군에 비해 syneresis가 유의적으로 적게 나타나는 것을 확인할 수 있었다($P < 0.05$). 발효유에서 syneresis는 제품의 물성 및 외관에 영향을 주기 때문에 중요한 품질 특성으로 볼 수 있다. Syneresis는 plain 타입의 stirred yogurt에서 유청분리 현상을 의미하므로 그 값이 높을 경우 품질저하 요인으로 볼 수 있다(Lim와 Lee, 2009). Da Cruz 등(2010)은 HPP 처리는 발효유의 syneresis를 감소시켜, stabilizer의 첨가를 줄일 수 있다고 보고하였다. Goyal 등(2013)은 350 MPa 이상의 압력으로 우유를 처리하면, 비가역적으로 casein micelle의 크기가 줄어들게 된다고 보고하였다. 또한 Loveday 등(2013)은 고압처리에 의한 casein micelle의 크기변화로 인해 발효유의 curd가 수분을 holding하는 능력이 높아진다고 보고하였다. 따

라서, 발효유 제조공정에서 원유를 적절한 압력으로 처리하는 것은 발효유의 물성을 개선하는데 효과가 있다고 할 수 있다.

Table 66. Syneresis of yogurt made with milk sterilized at 80°C or high pressure processing treated milk at 350 and 450 MPa during storage at 4°C for 15 d

Treatment	Storage (d)		
	0	5	15
Control ¹⁾	2.328±0.286 ^{aA}	0.007±0.005 ^{aB}	0.066±0.003 ^{aB}
350 MPa	0.000±0.000 ^{bB}	0.008±0.001 ^{bA}	0.003±0.003 ^{bB}
450 MPa	0.383±0.671 ^{bA}	0.002±0.003 ^{bA}	0.001±0.001 ^{bA}

7. 고압살균방법을 활용한 건강기능성 치즈 제조

가. 서론

치즈 생산을 위한 우유의 열 살균은 유해 미생물을 사멸시킬뿐만 아니라 치즈의 유통기한을 늘려 보존성을 향상시켜준다. 그러나 열 살균은 유청단백질의 변성을 일으키고 변성된 단백질이 k-casein과 결합하여 치즈의 품질을 손상시킨다(Hinrich, 2001). 열 살균을 거치면 무살균 원유로 만든 치즈에 비해 수분함량이 많아지고, 효소 불활성화와 미생물의 사멸로 풍미가 떨어지는 경향이 있다(Lau 등, 1990; Grappin와 Beuvier, 1997). 열 처리의 단점을 보완하고자 최근에는 다른 기술과 결합하여 살균처리를 하면서도 무살균 원유 치즈의 품질특성과 유사한 치즈 생산 기술이 대두되고 있다. 이에 따라, 여러 종류의 비가열처리 기술들이 연구, 개발되고 있고 현재 식품의 비가열처리 방법에는 고압처리기술(HPP), 고전압 펄스 전기장, 진동 자기장, 방사선 조사법 등이 있다(Smelt, 1998). 이들 중 High-pressure processing(HPP)는 식품의 향과 영양성분에 영향을 미치지 않으면서도 Maillard reaction, 비타민의 파괴, 맛의 손실, 물리화학적 변화 등과 같은 열처리 시 발생하는 단점을 최소화할 수 있는 장점이 있다. 일본이 HPP 기술을 크게 발전시켰으며, 현재는 다수의 나라에서 잼, 과일주스(Mohacsi-Farkas 등, 2002), 생육, 꿀, 햄, 샐러드드레싱, 가금육 등 다양한 제품에 적용하고 있다(Chawla 등, 2011).

퀘소프레스코 치즈는 전통적으로 소나 염소젖으로 만들어 수분이 많고, 잘림성이 좋으며 고열에서 늘어나거나 녹지 않는 라틴아메리카의 비숙성 생치즈이다. 최근 북미를 비롯하여 우리나라의 치즈 소비량이 급증하고 있으나 국내 치즈시장은 피자치즈 및 사각 체다치즈가 독점하고 있으며, 치즈 산업이 좀 더 발전하게 되면 소비자들은 다양한 조직감, 향미 및 모양을 갖는 제품의 다양성을 추구하게 될 것이다. 이러한 측면에서 퀘소프레스코 치즈는 구이 문화가 발달한 우리나라 식생활에 적용할 수 있을 것으로 생각되며, 신제품 개발 측면에서도 그 가치가 높을 것이라 판단된다. 또한 HPP처리는 casein micelle의 크기와 숫자를 증가시키기 때문에 렌넷 응고시간을 줄여주는 효과를 보여 cheese 제조에 바람직하게 우유의 성질을 변화시킨다(Huppertz 등, 2006). 치즈 제조에 HPP라는 새로운 공정의 도입은 비용, 시간 경제적인 뿐만 아니라 새로운 치즈의 가능성을 밝힐 수 있을 것이라 생각된다.

그 동안, HPP 처리한 유제품에 대한 연구는 HPP를 이용한 원유의 단백질 및 지방의 변화(Goyal 등, 2013; Chicon 등, 2008; Gervilla 등, 2001), 요거트 제조(Ferragut 등,

2000; Needs 등, 2000; Mainville 등, 2001; Reys 등, 2001), 또는 소비량이 높은 모짜렐라 치즈, 체다 치즈(Sheehan 등, 2005; San Martin-Gonzalez 등, 2007; Rynne 등, 2008) 등에 국한되어 왔고, HPP 처리한 원유를 이용한 퀘소프레스코 치즈에 관한 연구는 상대적으로 미미한 실정이다. 따라서, 본 연구는 HPP 처리한 원유를 이용하여 제조한 퀘소프레스코 치즈와 HPP 처리한 치즈, 열 처리한 치즈의 이화학적 특성과 물성을 상호 비교 분석하는데 그 목적이 있다.

나. 재료 및 방법

(1) 실험재료

실험에 사용된 원유는 (주)삼양식품(Seoul, Korea)의 1A등급 원유를 사용하였다. 치즈 제조에 이용한 렌넷은 송은통상(주)(Seoul, Korea)에서 수입한 MAYSA GIDA San ve Tic. AS 사(Istanbul, Turkey)의 MYSECOREN 300FK 제품을 사용하였다. Starter culture 균주는 *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus fermentum*와 *Lactobacillus delbrueckii* sub sp. *bulgaricus*가 혼합된 상업용 균주(FD-DVS Yo-Flex Harmony 1.0, Chr. Hansen, Hoersholm, Denmark)를 사용하였으며, 식염은 씨제이제일제당(주)(Seoul, Korea)에서 생산된 제품을 사용하였다.

(2) 치즈의 제조

Sandra 등(2004)의 방법에 따라 퀘소프레스코 치즈를 제조하였다. 제조한 치즈는 총 4가지 종류로 무살균원유를 이용한 치즈(control), 저온장시간열살균(LTLT)원유를 이용한 치즈(LTLT cheese), HPP(NC Hiperbaric 420, Hiperbaric Co., Burgos, Spain) 처리한 원유를 이용한 치즈(HPP milk cheese), HPP 처리한 control(HPP cheese)이다. 제조방법은 원유를 32°C(±1°C)까지 가온한 후 starter culture 0.2%(w/w)를 첨가한 후 pH 6.5~6.6이 될 때까지 약 10~12분 배양한다. 5%(w/w) 렌넷을 첨가하고 잘 교반해준 후 커드가 형성되고 유청이 분리될 때까지 약 30분 정치한다. 커드의 pH가 약 6.45에 도달하면 가로-세로 1cm 큐브 형태로 커팅한 후 서서히 40°C로 올려주고 유청이 배출되도록 20분 동안 더 정치한다. 치즈 중량의 0.5%의 식염을 3번에 나누어 첨가하고, cheese cloth에 감싸 2시간동안 압력을 가해 잔여 유청을 배출시킨다. LTLT cheese는 치즈 제조 전 원유를 65°C에서 30분

간 살균 후 32℃로 냉각시켰고, HPP milk cheese는 원유를 450 MPa로 15분간 처리 후 위와 동일한 방법으로 제조하였으며, HPP cheese는 control 제조 후 밀봉하여 HPP milk cheese와 같은 조건인 450 MPa에서 15분간 처리하였다.

(3) 일반성분 분석

퀘소프레스코 치즈의 일반성분 분석은 A.O.A.C 방법에 따라 분석하였다. 즉, 수분함량은 105℃ 상압 가열건조법으로 측정하였고, 조단백질 함량은 듀마스법(Dumas method)에 의하여, 조지방 함량은 퇴제-고트리브법(Rose-Gottlieb method), 회분 함량은 550℃ 회화로법을 이용하여 측정하였다. 수율은 원유 중량 대비 치즈 중량 비율로 계산하였고, 치즈 총고형분 함량을 50%로 조정한 보정수율도 함께 구하였다.

$$\text{Adjusted yield} = \frac{\text{Yield}(\%) \times \text{Solids}(\%)}{50}$$

(4) 원유 및 유청의 pH 및 적정산도

원유와 HPP 처리한 원유, 가염 전 배출된 유청의 pH는 pH meter(FiveEasy™ Plus, Mettler-Toledo, Greisensee, Switzerland)를 이용하여 시료 50 mL을 비이커에 담아 3회 측정하여 평균 pH값을 얻었다. 측정 전, 표준 완충용액 pH 4.0과 7.0의 표준 완충용액으로 기기를 보정하였다. 적정산도는 시료 10 g을 취하여 증류수 10 mL를 가한 후 이를 0.1 N NaOH로 pH 8.3이 될 때까지 적정하여, 이 때 소비된 0.1 N NaOH를 lactic acid의 양으로 환산하였다.

$$\text{Lactic acid}(\%) = \frac{\text{mL of } 0.1 \text{ N NaOH} \times 0.009}{\text{Weight of sample (g)}} \times 100$$

(5) 미생물 측정

치즈 시료는 25 g을 취하여 0.85% Saline 용액 9배량을 가해 균질기로 균질화하여 사용하였고, 각 비율별 희석액 1 mL를 3M Petrifilm™ Aerobic count plate(3M, MN,

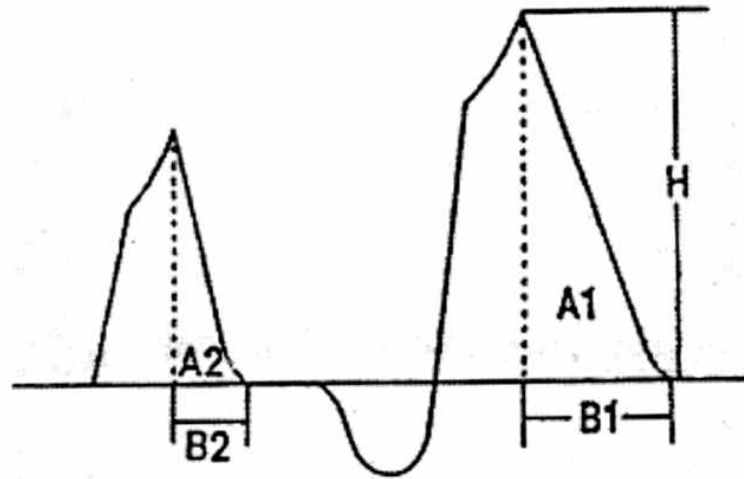
USA)에 접종하여 32℃ incubator에서 48시간 배양 후에 형성된 붉은 콜로니를 계수하였다. 대장균군은 3M Petrifilm™ Coliform count plate(3M, MN, USA)을 사용하여 35℃에서 24시간 배양하였다. 효모 및 곰팡이는 3M Petrifilm™ Yeast and Mold (YM) plate(3M, MN, USA)를 사용하여 25℃에서 최장 5일까지 배양하였다.

(6) 색도 측정

색도는 색차계(CR-400 Minolta Chroma Meter, Konica Minolta Sensing Inc., Tokyo, Japan)를 사용하여 CIE lightness (L^*), redness (a^*) and yellowness (b^*) 값을 각 시료의 다른 표면을 반복 측정한 뒤 평균값으로 나타내었다.

(7) 물성 측정

퀘소프레스코 치즈의 물성 측정은 실온에서 1시간 방냉한 치즈를 가로 2.5cm, 세로 2.5cm, 높이 2cm로 절단한 후 Fudoh Rheometer(Model NRM-2001, Fudoh Kogyo Co., Japan)를 사용하여 측정하였다. 시료를 두 번씩 찢러 나타난 전형적인 curve를 Bourne(1978)의 방법에 의하여 Fig. 36과 같이 분석계산하여 각 처리구는 경도(Max weight, hardness, firmness), 탄력성(springness, elasticity), 응집성(cohesiveness), 검성(gumminess), 부서짐성(brittleness, chewiness)을 조사하였다. 기기조건은 maximum load: 2,000 g, table speed: 60 mm/min, stroke: 20, chart speed: 15 mm/min, 시료의 높이: 20 mm, adaptor No.1(직경 20 mm), 침입거리: 7 mm로 하였다.



Hardness: H Cohesiveness: A_2 / A_1 Elasticity: B_2 / B_1

Brittleness: Hardness \times Cohesiveness \times Elasticity

Fig. 36. Rheometer texture profile analysis of Queso fresco cheese sample.

(8) 통계분석

실험결과는 PASW Statistics 18(SPSS Inc., Chicago, IL, USA)을 이용하여 분산분석(One-way ANOVA) 하였고, 집단 간 비교를 위한 사후분석은 Duncan으로 검증하여 $p < 0.05$ 이상일 때만 통계적 유의성이 있는 것으로 판단하였다. 모든 분석항목은 3반복 시험하여 얻은 결과를 평균 \pm 표준편차로 나타내었다.

다. 결과 및 고찰

(1) 일반성분 및 이화학 분석

Table 67은 원료유인 원유와 HPP 처리한 원유의 pH와 적정산도(TA), 일반성분 그리고 control, LTLT cheese, HPP-milk cheese를 제조하며 분리된 유청의 pH와 적정산도(TA), 일반성분을 나타낸 것이다. 원유와 HPP 처리한 원유사이에는 큰 유의차가 없었으나 단백질 함량에서 HPP 처리한 원유가 약 10% 낮게 나타났는데, 이는 HPP 처리로 인하여 카제인 마이셀이 작은 크기로 분열되면서 non-casein nitrogen와 serum nitrogen fractions이

감소하였기 때문이라 생각된다(Law 등, 1998). 유청의 pH는 HPP-milk cheese, control, LTLT cheese 유청 각각 6.38, 6.32, 6.16으로 유의차가 있었으며, 이는 HPP 처리한 원유로 만든 치즈 유청이 비살균 원유로 만든 치즈 유청보다 pH가 유의적으로 높다는 Goddik(2002)의 보고와 유사하였다. 단백질 함량과 회분 함량은 HPP-milk cheese 유청이 가장 유의적으로 높게 나타났으며, 그 외 유청의 수분 및 고형분 함량, 지방 함량에는 모든 처리군에서 유의적 차이가 없었다.

Table 67. Composition analysis of raw and high-pressure processing(HPP) treated milks and wheys from the control, LTLT cheese and HPP-treated milk cheese(HPP-milk cheese) making¹

	Raw milk	HPP Milk	Whey from control	Whey from LTLT cheese	Whey from HPP-milk cheese
pH	6.78	6.75	6.32	6.16	6.38
TA	0.105	0.110	0.287	0.303	0.189
% Moisture	88.2	87.0	92.6	93.1	93.1
% Solids ²	11.8	13.0	7.4	6.9	6.9
% Fat(as is)	3.1	3.4	0.4	0.4	0.4
% Fat(dry basis) ³	26.5	25.8	5.4	5.8	5.8
% Protein(as is)	3.0	2.7	0.7	0.7	0.9
% Protein(dry basis)	25.8	21.0	10.0	10.6	12.6
% Ash	0.7	0.7	1.4	1.4	1.6

¹Values are reported as mean \pm SD of triplicate samples and triplicate measurements.

²Calculated by difference.

³Calculated as (as is/%solids).

Table 68은 control, LTLT cheese, HPP-milk cheese 그리고 HPP cheese의 일반 성분 분석 결과와 수율 및 보정수율을 나타낸 것이다. 수분은 LTLT cheese가 가장 높고, HPP cheese, HPP-milk cheese, control 순으로 나타났다. 일반적으로 HPP 처리한 치즈는 비처리군에 비해 보수력이 높다고 보고된 바 있으며(Trujillo 등, 2000), Drake 등(1997)은 HPP 처리에 의해 단백질과 지방구가 재결합하게 되고 그 과정에서 생성된 공간으로 인해 수분함량이 높아진다고 보고하였다. 지방 함량은 HPP cheese가 유의적으로 가장 높으며,

control와 HPP-milk cheese는 유의차가 없다고 나타났다. 치즈 수율은 LTLT cheese가 그 값이 가장 높았고, 고형분을 고려한 보정수율에서는 HPP-milk cheese가 가장 높은 수율을 보였다. Trujillo 등(1999)과 Huppertz 등(2005)은 우유의 HPP 처리는 유청 단백질 변형, 카제인 마이셀의 분열, 미네랄 평형의 변화 등 우유의 성질을 바꾸기 때문에 치즈 제조유로 사용할 때 수율을 높이는 장점이 있다고 보고하였다.

Table 68. Composition and yield of control, LTLT cheese, cheese made from high-pressure processing treated milk(HPP-milk cheese) and high pressure processing treated cheese(HPP cheese)^{1,2}

	Control	LTLT cheese	HPP-milk cheese	HPP cheese
% Moisture	47.1C	55.3A	47.7C	48.7B
% Solids ³	52.9A	44.7C	52.3A	51.3B
% Fat(as is)	24.6B	20.9C	24.5B	26.2A
% Fat(dry basis) ⁴	46.4B	46.6B	46.9B	51.0A
% Protein(as is)	16.3C	19.8B	21.4A	21.4A
% Protein(dry basis)	30.9C	44.3A	40.9B	41.6B
% Ash	2.2	2.2	2.4	2.4
% Yield ⁵	10.7B	12.4A	11.3AB	NA ⁷
% Adjusted yield ⁶	11.3	11.1	11.9	NA

¹Values are reported as mean \pm SD of triplicate samples and triplicate measurements.

²Values with different superscript in a row (A-C) are significant at $P < 0.05$ by Duncan's multiple range test.

³Calculated by difference.

⁴Calculated as (as is/%solids).

⁵Calculated as $100 \times (\text{weight of cheese} / (\text{weight of milk} + \text{culture} + \text{salt}))$.

⁶Calculated as $(\text{yield}(\%) \times \text{solids}(\%) / 50)$.

⁷NA = not applicable.

(2) 퀘소프레스코 치즈의 미생물 변화

대조군과 열 및 고압처리 퀘소프레스코 치즈의 일반세균 및 대장균군, 효모곰팡이의 변화는 Table 69와 같다. 치즈의 일반세균은 control 5.0 log CFU/g으로 가장 높았고, LTLT cheese, HPP-milk cheese 그리고 HPP cheese가 각각 1.4, 4.7, 3.4 log CFU/g를 나타내었다. HPP 처리로 인하여 control과 HPP cheese 사이에 1.6 log CFU/g가 감소하였다. 퀘소프레스코 치즈는 starter culture를 포함하는 치즈이므로 유산균이 일반세균 결과에 포함된 것이라 추측되고, 다만 HPP-milk cheese의 값이 LTLT cheese와 HPP cheese보다 높고 control과 유사하게 나온 것은 고압처리 후 치즈 제조공정에서의 교차오염의 가능성이 보여진다. 또한 control의 5.0 log CFU/g 일반세균 결과는 시판 중인 raw milk cheese의 일반세균을 보고한 Moraes 등(2009)와 Oksuz 등(2004)의 보고와 유사하였다. 대장균군은 control에서만 2.5 log CFU/g가 검출되었으며, 그 외 군에서는 음성이었다. 효모 및 곰팡이도 control에서만 4.4 log CFU/g로 나타났으며, 그 외 군에서는 음성이었다.

Table 69. Microbiological properties of control, LTLT cheese, cheese made from high-pressure processing treated milk(HPP-milk cheese) and high pressure processing treated cheese(HPP cheese)¹

	Group of bacteria(log CFU/g cheese)		
	Standard plate count	Coliforms	Yeast and mold
Control	5.0	2.5	4.4
LTLT cheese	1.4	N.D ²	N.D
HPP-milk cheese	4.7	N.D	N.D
HPP cheese	3.1	N.D	N.D

¹Values with different superscript in a row (A-C) are significant at $P < 0.05$ by Duncan's multiple range test.

²N.D indicates that the value was not detected.

(3) 퀘소프레스코 치즈의 색도 분석

색도는 시장에서 소비자가 가장 먼저 인지하는 특성이기 때문에 치즈 품질을 결정하는데 중요한 역할을 한다. Table 70에서 보는 바와 같이, 열 또는 압력 처리한 퀘소프레스코 치즈

즈의 색도를 관찰한 결과, lightness 값은 LTLT cheese, yellowness 값은 HPP cheese가 유의적으로 높게 나타났다. 이는 Evert-Arriagada 등(2012), Capellas 등(2001)의 보고와 일치하는데, 각각 400 MPa, 500 MPa 처리한 생치즈가 처리하지 않은 대조군보다 더 노랗다, 즉 yellowness 값이 더 높다고 보고하였다. Okpala 등(2010)은 다양한 압력과 시간을 결합하여 생치즈에 처리 후 대조군과 색도를 비교하였는데, 대조군에 비해 모든 실험군이 yellowness 값이 높고, 실험군 내에서도 압력이 높을수록 yellowness 값이 높은 결과를 보여 본 실험 결과와 일치하였다. 치즈의 색의 변화는 압력으로 인한 치즈의 microstructure 변화와 관련 있으며(Saldo 등, 2002), microstructure 내에 수분이 움직여 재배치되기 때문이라고 보고된 바 있다(Johnston와 Darcy, 2000).

Table 70. Surface color of control, LTLT cheese, cheese made from high-pressure processing treated milk(HPP-milk cheese) and high pressure processing treated cheese(HPP cheese)¹

	Control	LTLT cheese	HPP-milk cheese	HPP cheese
Lightness (L^*)	92.20±0.50B	93.97±0.15A	92.24±0.28B	90.83±0.52C
Redness (a^*)	-3.15±0.05B	-2.86±0.01A	-2.90±0.02A	-3.24±0.11B
Yellowness (b^*)	11.60±0.07B	10.05±0.13C	11.13±0.08B	12.34±0.37A

¹Values with different superscript in a row (A-C) are significant at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range test.

(4) 퀘소프레스코 치즈의 물성

원유로 만든 치즈와 열 살균 및 HPP 처리한 원유로 만든 치즈, HPP 처리한 치즈에 대한 Max weight, springness, cohesiveness, gumminess, brittleness의 변화는 Table 71와 같다. Springness를 제외한 모든 특성에서 HPP-milk cheese의 값이 유의적으로 높았으며 그 중 Max weight, gumminess, brittleness는 압도적인 유의차를 나타내었다. 반면에 control과 HPP cheese는 모든 항목에서 유의적인 차이를 나타내지 않았다. 이러한 결과는 기존의 보고와 일치하는데, Goddik(2002)은 원유로 만든 치즈(RC), 400 MPa로 20분간 처리

한 원유로 만든 치즈(HPM), 같은 HPP 조건으로 처리한 치즈(HP)의 단백질 구조를 현미경으로 관찰한 결과, RC와 HP는 유사한 미세구조와 구성을 보였고 HPM은 변성되어 뭉친 유청단백질로 인해 다른 구조를 보였다고 보고하였다. Buffa 등(2001)은 HTST(72°C, 15초) 열 살균 치즈에 비해 HPP(500 MPa, 15분)처리한 치즈의 경도가 높다고 보고하여 본 연구와 동일한 결과를 보였다. 반면에 elasticity의 경우 HPP 치즈의 값이 감소했다고 하여 본 연구와 다른 결과를 보였는데 이는 다른 열 살균 조건을 적용했기 때문인 것으로 생각된다. 치즈의 elasticity 성질은 단백질 매트릭스 구조와 지방구 크기 및 모양에 의해 결정된다고 알려져 있으며(Okpala 등, 2010) 열 살균 처리의 차이가 단백질과 지방구 구조에 영향을 미쳤을 것으로 사료된다. 따라서, 우수한 잘림성이 퀘소프레스코 치즈의 중요한 품질 특성임을 고려했을 때 퀘소프레스코 치즈 제조공정에서 적절한 압력 처리는 치즈의 경도를 높여 자르기 쉽게 만드는 효과가 있다고 할 수 있다.

Table 71. Texture profile analysis(TPA) properties of control, LTLT cheese, cheese made from high-pressure processing treated milk(HPP-milk cheese) and high pressure processing treated cheese(HPP cheese)

	Control	LTLT cheese	HPP-milk cheese	HPP cheese
Max weight(g)	59.00±0.00BC	42.00±2.08C	340.67±10.73A	83.33±12.99B
springness(%)	72.45±7.08	70.87±3.07	79.05±1.43	64.34±4.41
cohesiveness(%)	65.85±6.61AB	57.51±1.13B	70.87±0.89A	57.72±3.59B
Gumminess(g)	38.85±3.90BC	24.17±1.41C	241.46±8.71A	49.02±10.83B
Brittleness(g)	28.70±5.30B	17.17±1.45B	191.08±9.83A	32.47±9.41B

¹Values with different superscript in a row (A-B) are significant at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range test.

8. 비열처리 살균을 위한 최적화된 포장 기술 개발

포장(Packaging)은 가공 공정동안 재오염 및 교차오염을 막아주고, 저장동안 저장환경으로부터 식품을 보호하기 때문에 어떠한 보관, 보존 방법과 관련하든 가장 중요한 요소이다. HPP(High Pressure Processing) 가공기술은 고압 처리 전에 내용물, 즉 음식이 포장되어 고압이 가해지는 배치(batch)식 공정이고, 내용물과 포장지 모두 고압 조건에 노출된다. 그래서 소비자가 포장지를 뜯기 전까지 그 제품은 "안전지대" 여야 한다. 공정 중에는 어떠한 포장 손상이나 변형이 일어날 수가 있고, 이것이 밀봉 상태를 해제시킬 수 있는 가능성이 있기 때문에 HPP 처리 시 포장에 대한 연구는 매우 중요하다. 또한 포장재 및 기술에 대한 심도 있는 연구가 제품의 품질, 안전 및 유통기간에 큰 영향을 미칠 것이다.

HPP 처리와 같이 포장 후 제품 자체로 가공공정이 들어가는 경우 파우치, 대량 비닐백, 또는 뚜껑이 결합된 용기 등 이어야하며, 전체 HPP 처리 제품의 약 90%는 신축성이 있고, 유연하거나 일부분만 딱딱한 포장재를 사용하고 있다.

HPP 처리에서 포장재의 조건은 성공적으로 고압 처리를 하는 것과 매우 밀접한 연관이 있다. 그래서 최근에 HPP 처리가 포장자재 및 내용물에 미치는 효과, 그리고 그 상호작용에 관한 연구들이 많이 진행되고 있다(Bull 등, 2010). HPP 처리는 아주 강한 압력 조건을 사용하기 때문에 포장자재의 구조를 변화시킬 수 있고, 결과적으로 외부환경으로부터 방어막이 되어주는 가장 중요한 성질이 변하게 될 수도 있다. 더 나아가 멸균에 가까운 효과를 얻기 위해, 또는 유통기한의 연장을 위해 고압처리와 열처리 복합 hurdle technology를 이용하기도 한다. 이 방법은 HPP chamber에서 고압처리 하기 전 가포장(prepackage)된 제품을 일정한 온도로 예열하는 전처리 과정을 거치게 된다. 이러한 가혹 조건에서도 포장자재의 성질에 영향을 미칠 수 있으므로 고압과 포장 사이에 관한 연구는 매우 중요하다(Koutchma 등, 2010). 일반적으로 HPP공정의 포장재로 적합하지 않은 자재는 금속 캔류, 유리 병류, 판지류이다.

최근에 수행된 HPP 처리가 식품의 품질과 포장재에 미치는 영향에 관한 연구들은 대부분 상온 조건이 많으며, 연구들의 결과 및 고찰을 봤을 때 고압 자체로는 포장재의 특성에 부정적인 영향은 미치지 않는 것으로 나타나고 있다. 그러나 포장지가 단겹이 아닌 다중 층 구조를 가진 포장재일 때, 고압 처리동안 포장지 층의 접착력이 영향을 받는다면 층과 층 사이의 틈이 생기게 되고 포장지의 견고함에 영향을 줄 수 있을 것으로 판단된다.

식품과 마찬가지로 포장재도 압력, 압축에 의한 열을 받는다. Knoerzer 등의 연구 (2010)에서는 폴리프로필렌(PP)와 폴리에틸렌(PE) 등을 외부의 열을 차단한 채 다양한 초기 온도와 다양한 압력 크기로 HPP 처리를 하였을 때 포장재들이 받는 압축열을 측정하였는데, 압력에 따른 압축열은 증가했으나 직선의 형태를 보이지 않았고 적합한 포장재를 찾는 데 있어 가장 영향을 미치는 것은 초기 온도와 압력 세기라고 보고하였다.



Fig. 37. Containers used for novel high-pressure products (NC Hyperbaric 2010, personal communication)

가. 플라스틱 포장재의 조건

(1) 유연성(Flexibility)

HPP 포장재는 고 압력에 견딜만큼 충분히 유연해야하며 포장재의 신축성은 비가역적인 변형을 막고 물리적 견고함을 유지시켜준다. 통상적으로 액체 또는 고체 식품을 HPP 처리할 때 사용하는 포장재는 중합체(polymer)나 공중합체(copolymer)로 이뤄져있고, 외부로부터 차단성이 좋으며 최소 한 면 이상 유연한 면으로 되어 있는 파우치 종류이다.

(2) 포장 디자인

포장재의 사이즈와 모양 역시 중요하게 고려되어야 할 요소이다. HPP 처리 시 배치식 챔버에 제품을 담아 압력을 가하는데, 1회 압력을 가할 때 최대한 빈 공간이 없이 제품이 나열되어야 효율적으로 기계를 가동할 수 있다. 현재 국내의 HPP 시설에서는 기계의 작동, 챔버 내 제품 진열, 압력 처리 후 운반 등 모든 작업이 수작업으로 이뤄지고 있어 1회 작동 대비 인력 가동률이 매우 크다. 따라서 적절한 포장 디자인은 HPP 처리의 경제적인 측면과 매우 밀접한 연관이 있다.

(3) 완전성(Integrity)

HPP 포장재는 가혹 조건에서도 견딜 수 있어야 하는 것이 그 첫 번째 조건이다. 포장재는 HPP 처리 시 그리고 그 후의 저장 과정에서도 물리적인 완전성을 유지해야한다. 이 점은 포장재 내부의 식품의 안전과 품질 상태와도 직접적인 관련이 있다. Lambert 등(2000)은 기계적으로, 그 외의 포장재가 가진 특성을 HPP 처리 후에서 유지해야할 뿐만 아니라 그 후에 유통과정에서도 소비자가 선호할 만한 외관과 편리함을 갖춰야한다고 말하고 있다. HPP 처리 시 고압을 가하기 때문에 포장재 및 내용물의 온도가 올라가고, 포장재 내부의 부피도 줄어들게 되는데, 몇 분간의 처리를 마치고 압력이 해제 되었을 때 포장재가 처리 전의 상태로 원상복구 되어야한다. Masuda 등의 연구(1992), Ochiai 등의 연구(1992)에서도 EVOH (ethylene vinyl alcohol)와 PVOH (polyvinyl alcohol) 포장재가 HPP 처리에 적합하다고 보고하였다.

(4) 차단성(Barrier properties)

포장재는 내용물의 품질을 유지하기 위해 우수한 차단성을 가져야한다. 특히 유통기한 내에는 이 성질이 더 유지되어야한다. 포장재에 있어서 차단성은 유통기한을 설정할 때에도, 어떤 폴리머로 이뤄진 재질을 고르는데에도 첫 번째로 고려해야할 성질이다. 물과 산소, 빛을 차단하는 성질을 높이는 것은 HPP 처리 또는 HPP와 예열 처리한 제품의 유통기한을 연장시켜주거나 고품질을 오래 유지할 수 있게 해줄 것이다. HPP 처리 시 가장 많이 사용되는 포장재인 파우치의 경우 sealing이 가장 중요한 핵심 과정이며, 밀봉의 강도가 HPP 처리 끝까지 유지되어야 내용물의 누출을 막을 수 있다(Koutchma 등, 2010). 또한 포장재가 압력을 받아 물질을 생성해내거나 그 포장재 자체가 분리 또는 파손되어 식품 내로 혼입 되도록 해선 안 된다(Juliano 등, 2010).

(5) 진공포장-최소 headspace

HPP 처리 시 포장 내의 공기는 더 큰 압력을 받기 때문에 진공포장은 제품의 균일성을 위해 필요한 조건이다. 포장 내의 공기가 과도하게 삽입되어 있으면 처리 시간이 더 늘어나게 된다. 또한 진공포장은 고압을 가할 때나 저장 동안 지방 산패와 같은 산소 결합 반응을 막을 수 있으므로 산화 및 산패로 인한 음식물의 변질 및 미생물 오염의 가능성을 현저하게 줄여준다. 진공포장의 장점은 부하율(loading factor)을 좋게 하고, 1회 가동 시 제한된 chamber 공간 안에 최대한 많은 양을 넣을 수 있어 경제적이다.

(6) HPP와의 적합성

식품 산업에서 사용하는 대부분 유연한 포장재는 HPP 처리에 적합하다고 예상된다. 왜냐하면 HPP 처리는 강한 열을 가하지 않기 때문이다. PET, PE, PP, EVOH 필름 또는 복합 필름이 HPP 처리 시 공통적으로 쓰이는 소재들이다(Juliano 등, 2010). 또한 폴리머층의 압출성형 필름, 접착력 좋은 라미네이트 필름, 알루미늄 호일 따위의 무기물로 이뤄진 포장재도 사용할 수 있다. PVDC(Polyvinylidene chloride), EVOH(Ethylene vinyl alcohol), PVAL(Poly-vinyl alcohol) 그리고 PA(Polyamide)도 차단성이 좋은 필름이라고 알려져 있다.

Table 72. Overall appearance (visible integrity, delamination), permeability and strength properties of films tested at HPLT conditions. Percentages indicate variation with respect to the control (Juliano 등, 2010)

Test film structure	Thickness (μm)	Max pressure/time/initial temp. (MPa/min/ C)	Physical/visual integrity	Oxygen permeability (control) % post HHP	Water permeability (control) % post HHP	Tensile strength (control c.d., MPa) % post HHP	Seal strength (control c.d. (N/15 mm)) % post HHP
<i>EVOH-based</i>							
LLDPE/EVA/EVOH/EVA/LLDPE	n/a	400/30/60	Retained	(0.74) - 15%	(1.9) - 5%	(27 N) + 1%	(?) + 0%
PE/PA/EVOH/PE	140	600/60/20	n/a	n/a	(6.0) - 5%	(58.3) +0%	(52.7)+8%
PET/PE/EVOH/PE	60	600/60/20	n/a	n/a	(8.8) +3%	(57.2) +5%	(65.3) - 9%
PP/EVOH/PP	35/10/60	600/10/20	Retained	(4.8) +10%	(5.2) +15%	(3.3) - 3%	(3.3) + 3%
<i>PVDC-based</i>							
PET/PVDC/nylon/HDPE/PP	102.5	800/20/45	Retained	(~2) +2%	(~3) +1%	(66.5) +15%	n/a
PET/PVDC/PE free radical, linear	(12/1/50)65	500/30/20	Retained	(11) +10%	(3.5) +109%	(347.0) +8%	(3.5) +6%
<i>PA (nylon)-based</i>							
Nylon/PP	n/a	600/3/5	Retained	(8.9) +17,700%	n/a	n/a	n/a
PA/PE free radical, linear	(30/60)100	500/30/20	Retained	(66) +2%	(5.9) - 25%	(149.8) +32%	(3.8) - 8%
PA/MDPE	(20/70)100	500/30/20	Retained	(68) +26%	(3.5) +24%	(177.5) +16%	(2.6) - 6%
PP/nylon/PP	115	800/20/45	Retained	(~5) +~10%	(~5) +~2%	(57.2) - 7%	n/a
<i>SiOx-based</i>							
PP/SiOx	21	400/30/20	Delamination	n/a	+	(18.8) ? 114%	n/a
PET/SiOx/LDPE	62.5	800/20/45	Retained	(1.6) ? 11%	(*4) ? 9%	(48.8) - 14%	n/a
<i>Al-based or metalized</i>							
PET/Al/CPP	09/12/1970	600/10/20	Retained	(0.3)0%	(0)0%	(5.0) - 4%	(4.6) - 7%
PET/Al/PP	n/a	400/30/60	Retained	(0.38) - 71%	(0.04) - 25%	(62 N) ? 1%	(?) ? 0%
<i>PE-based</i>							
LDPE	202	600/10/10	n/a	n/a	(71.2) - 1%	(9.0) - 2%	n/a
<i>PET-based</i>							
PET/PE	93/17	400/30/20	n/a	n/a	+	(68.4) ? 5%	n/a
<i>PP-based</i>							
PP antifog	30	600/60/20	n/a	n/a	(3.5) ? 0%	(17.6) ? 7%	(5.0) - 52%
KOP/CPP	20/40	600/10/20	Retained	(11) ? 10%	(3.4) ? 12%	(6.4) - 5%	(3.3) - 3%



Fig 38. 소매점 용 PET 용기의 개발(안)



Fig 39. B2B 납품용 PE 용기의 개발(안)

9. 조사료와 flaxseed oil 급여가 Friesian-Holstein 육우의 증체량과 분변 내 미생물 특성에 미치는 영향

가, 서론

최근 환경 오염, 식품위생 등의 문제들이 미디어의 발달과 맞물려 사회적 이슈로 크게 대두되면서 소비자들의 먹을거리에 대한 불안감과 식품 안전에 대한 관심이 날로 커지고 있다. 특히 빠른 생산을 위한 항생제의 과다사용, 산업발달에 따른 중금속 등 산업 오염물질로 인한 토양 및 수질 오염으로 축산물의 오염이 증가하고 있으며(Choe 등, 2005), 조류독감, 광우병, 구제역 파동 등 여러 가지 위해 요인들로 인해 축산물의 안전성에 대한 소비자들의 목소리가 거세지고 있다(Kim와 Kim, 2011). 이러한 사회적 배경으로부터 보다 깨끗한 환경에서 안전하게 생산된 축산물에 대한 시장과 수요가 생겨나기 시작했고 유기 및 무항생제 축산물 시장이 각광받고 있다. 최근 친환경축산정책의 일환으로 가축의 최소 조사료면적을 보장한 축산업 등록제와 친환경 직불제를 실시하고 있으며 조사료 섭취 및 방목 등 소의 특성을 보호할 수 있는 사양법의 중요성이 부각되고 있다(Yoo, 2007).

그 동안 국내 축산 분야에 관한 연구에서는 한우 고급육 생산에 초점을 맞춰 거세 한우를 위주로 품질 개선 및 브랜드화에 집중되어 수행되어 온 반면, 육우 또는 젖소 등 보다 다양한 분야에 대한 기능적 특성이나 발전에 대한 연구는 매우 제한적으로 진행 중이다. 한우와 수입육으로 포화된 국내 쇠고기 시장에서 육우 쇠고기가 소비자에게 구매 욕구를 불러일으키려면 새로운 사양 방식 접목, 즉 자연친화적 grass-fed 사양을 통한 건강한 육우 쇠고기 생산이 그 중 한 가지 방법이라고 판단된다. 육류 식생활에서 우리보다 앞서가는 미주 및 유럽 선진국의 경우 이미 grass-fed 축산물이 널리 유통되고 있고, grass-fed 쇠고기의 건강과 영양(Duckett 등, 1993), 동물복지 측면(Morrow-Tesch, 2000), 친환경적 목장경영 측면(Horrigan 등, 2002) 연구가 활발하다(McCluskey 등, 2005). 하지만 국내의 경우 구체적인 한국 맞춤형 grass-fed 사양 개발 연구를 포함하여 홀스타인 육우에 관한 집중적인 연구는 매우 제한되어 있는 실정이다. 따라서 국내 축산 환경 및 현실을 반영한 grass-fed 육우고기에 대한 체계적인 연구가 필요하며(Chung, 2014) 국내 grass-fed 육우 산업은 이를 바탕으로 한 활발한 마케팅이 뒷받침될 때 큰 수요가 생겨날 것으로 생각된다.

본 연구에서는 grass-fed 가축의 도체 내 미생물총에 주목하여 장점을 탐색하고 연구하고자 한다. 가축의 장내 미생물총은 숙주와 상생하며 살아가는 진핵, 원핵생물의 다양한 구

성으로 이루어져 있다(Robinson 등, 2010). 장내 미생물 군집은 나이, 식이 그리고 항생제, 프로바이오틱의 섭취에 영향을 받아 시시각각 변하며(Oakley 등, 2014) 병원성 균의 배척, 숙주의 영양 신진대사 관리, 숙주의 건강과 질병의 조절에 아주 중요한 역할을 한다. 최근 식육 및 육가공 산업에서 고기의 미생물 오염을 막기 위해 가공과정과 작업자의 개인위생에 집중하고 있다. 하지만 역류성 식도염, 도축 중 장기 내 소화물에 의한 오염, 분변 접촉 등 간접적인 요인도 식육 미생물 오염원으로 작용할 수 있다. 간접적인 오염에 대응하기 위해 많은 연구에서는 동물의 장내 자체의 병원성균 수를 줄이고 소화액 및 분변과 접촉하더라도 병원성균으로 활동할 가능성을 낮추는 방법들을 제시하고 있다. Russell 등의 연구(2000), Jacobson 등의 연구(2002), Jin 등의 연구(2015)에서는 grass 등 사료 종류를 달리하여 장관 또는 분변 내 *E. coli* 수를 줄일 수 있다고 보고하였다. 또한 Benjamin 과 Datta의 연구(1995)에 따르면 *E. coli*가 산과 접촉했을 때 견디거나 또는 사멸하는 성질은 *E. coli*가 서식하는 장내 pH와 연관이 있다고 보고하고 있다. 즉, 병원성 유무에 관계없이 *E. coli* 균주는 약산성의 pH 환경에서 자랐을 때 강한 내산성을 띄게 되고 *E. coli*가 중성의 pH에서 자랐을 때는 산에 예민하여 위액과 같은 강산성에서는 사멸된다고 하였다. 따라서 flaxseed oil 및 생초 등 식이 변수에 따른 장내 pH, 장내 *E. coli* 내산성의 상관관계를 연구할 필요성이 있으며, 사람이 식육 *E. coli*를 섭취했을 때 장에서 식중독 균으로 활동하기 전 위에서 쉽게 사멸할 수 있는 조건에 대한 탐색이 필요하다.

건강에 대해 관심이 깊은 소비자들의 요구에 발맞춰 지속 가능한 축산의 발전이 요구되지만 우리나라의 경우 비육 위주의 사양, 조사료 섭취 부족 및 곡물사료 치중이 축산업의 현재 모습이다. 이러한 때에 방목, 오메가3지방산이 풍부한 flaxseed oil 급여, 양질의 목초 사료제공 육우를 이용하여 비육 위주의 사양에서 탈피하고, 소와 사람에게 건강할 수 있는 사료를 개발해야 한다. 궁극적으로 식품산업에서 grass-fed 또는 이와 동등한 육가공 제품이 경쟁력을 갖추어 소비자에게 목초 방목사육 친환경 육우에 대한 건강한 인식을 심고자 한다.

본 연구는 flaxseed oil 및 생초 등 식이 변수에 따른 방목 Holstein 육우의 증체량, 분변에 분포하는 지표 미생물 조성을 알아보고, 분변의 pH와 *E. coli*의 in vitro 내산성능 간의 관계에 대한 연구 자료를 얻고자 하였다.

나. 재료 및 방법

(1) 시험동물 및 시험설계

본 연구는 15개월 15-26일령(평균체중 247.2 kg) 홀스타인 수소 15두를 공시하여 실험군당 5마리로 하여 대조군(C), 실험군1(T1), 실험군2(T2)의 3개 사양실험군으로 나누었으며 대조군(C)은 일반 농가에서 급여하는 육우비육용 total mixed ration(TMR)을 급여했고, 실험군1(T1)은 아마씨유를 첨가하여 오메가3지방산(n3)을 강화한 자체 생산 펠릿과 *Phalaris arundinacea*(Reed canary grass)을 40:60으로 혼합한 사료를 급여하였으며, 실험군2(T2)은 *Phalaris arundinacea*만을 급여하였다. 시험 장소는 강원도 평창군 대관령 소재 에코그린캠퍼스(주) 대관령목장이고, 2015년 6월 24일부터 2015년 11월 11일까지 141일간 사육하였다. 대조군과 실험군 모두 평균체중이 최대한 유사하도록 분류하였고, 대조군은 가로×세로 3.0m×10.0m의 실내우사에서 군집 사육하였으며 실험군1과 2는 급여시간을 제외하고 자유방목하였다.

(2) 사료 급여 및 사양관리

전 시험 기간 동안 1일 분량 사료를 2회(9시, 16시)에 나눠 급여하였다. 대조군은 비육용 TMR 사료로 두당 1일 약 18kg씩 무제한 급여하였고, 추가 조사료는 급여하지 않았다. TMR 사료의 배합비 조성 및 영양성분은 Table 73과 같다. 실험군1은 에코그린캠퍼스(주) 대관령목장에서 자체 생산하는 *Phalaris arundinacea*와 n3가 풍부한 농후사료를 혼합 급여하였고, *Phalaris arundinacea*는 생초의 형태로 전 기간 자유롭게 방목시켜 채식하도록 하였으며, 농후사료는 두당 1일 6kg씩 급여하였다. 농후사료의 배합비 조성 및 영양성분은 Table 74과 같다. 실험군2는 실험군1과 같은 생초로만 무제한 급여하였다. 생초의 영양성분은 Table 75과 같다. 이 때 건조비트펄프를 1일 두당 1kg씩 함께 급여시켰다. 전 기간 물은 자유 채식하도록 하였다.

Table 73. Formulation and analytical nutrient content of experimental control diets

	Control
Ingredients, %	
Corn flake	12.35
Cotton seed	5.70
Corn gluten feed	2.80
Oat straw	4.30
Ryegrass	6.80
Brewers grain	21.00
Mushroom by-product	13.50
Bean curd	9.40
Natural mineral	0.40
Vita-Mine mix	0.15
Probiotics	5.80
Feed base	17.80
Total	100.00
Analyzed composition ¹⁾ , %	
ME, cal/g	3,301.43 ± 24.68
Moisture	40.87 ± 0.80
CP	6.48 ± 0.17
EE	3.98 ± 0.11
CF	4.90 ± 0.04
Ash	2.94 ± 0.06
NDF	11.07 ± 0.27
TDN	51.37

1) Abbreviation used: CP, Crude protein; EE, Ether extract; CF, Crude fiber; NDF, Neutral detergent fiber; TDN, Total digestible nutrients. All values except TDN are mean ± standard deviation. Values are expressed on a dry matter basis.

Table 74. Formulation and analytical nutrient content of experimental T1 diets

Concentrate supplemented with flaxseed oil of T1	
Ingredients, %	
Wheat	19.45
Wheat bran	16.18
Soybean hull	15.00
Palm kernel expeller	11.40
Rapeseed oil meal	10.44
Tapioca	8.60
Corn gluten feed	5.00
Beet pulp	6.02
Molasses	2.00
Flaxseed oil	3.55
Limestone	0.96
Calcium phosphate	0.10
Salt	0.30
NaHCO ₃	0.30
Fermenting agent	0.20
Vita-Mine mix	0.50
Total	100.00
	Whole T1 diet
Analyzed composition¹⁾, %	
ME, cal/g	3,172.11 ± 46.70
Moisture	17.47 ± 0.44
CP	12.30 ± 0.21
EE	2.94 ± 0.10
CF	24.79 ± 0.65
Ash	6.00 ± 0.13
NDF	44.64 ± 0.95
TDN	36.19

1) Abbreviation used: CP, Crude protein; EE, Ether extract; CF, Crude fiber; NDF, Neutral detergent fiber; TDN, Total digestible nutrients. All values except TDN are mean ± standard deviation. Values are expressed on a dry matter basis.

Table 75. Formulation and analytical nutrient content of experimental T2 diets

	T2
Ingredients, %	
Reed canary grass	100.00
Total	100.00
Analyzed composition ¹⁾ , %	
ME, cal/g	3,034.24 ± 8.44
Moisture	45.31 ± 1.20
CP	6.08 ± 0.34
EE	1.43 ± 0.17
CF	21.04 ± 0.09
Ash	4.00 ± 0.07
NDF	36.42 ± 0.09
TDN	14.27

1) Abbreviation used: CP, Crude protein; EE, Ether extract; CF, Crude fiber; NDF, Neutral detergent fiber; TDN, Total digestible nutrients. All values except TDN are mean ± standard deviation. Values are expressed on a dry matter basis.

(3) 지방산 및 휘발성지방산 분석

사료 지방산 조성 및 분변·위액 휘발성지방산 분석은 강원대학교 동물자원공동연구소 (농림부 인정 제10호 사료검정인정기관)에 의뢰하였다.

(4) 분변·위액 샘플 채취

채변은 사양시험 시작 당일과 60, 120, 141일 째 총 4회 실시하였다. 분변은 소의 직장에서 직접 얻고(Grab samples), 공기와의 접촉을 최대한 줄이면서 멸균용기에 담은 후 냉각된 아이스박스에 저장하여 실험실로 이동하였다. 도착 즉시 분변의 일정 양을 증류수로 1:1 희석한 후 1분간 강하게 교반 시킨 후 전자 전극이 달린 pH meter(FiveEasy™ Plus, Mettler-Toledo, Switzerland)로 pH값을 측정하였다. 위액은 도축 당일 소의 첫 번째 반추위에서 채취하였으며, 위액 역시 공기와의 접촉을 최대한 줄이면서 가능한 빠르게 멸균 채수병에 담은 후 혐기적 조건이 조성된 박스에 담아 분석 전까지 -40℃에 보관하였다.

(5) 미생물 분석

실험측에서 채취한 분변을 실험실로 옮겨와 3시간 내에 총 혐기성 균, 대장균군, 효모 및 곰팡이 수를 측정하였다. 분변을 멸균생리식염수 9mL와 멸균혐기희석액(KH_2PO_4 4.5g, Na_2HPO_4 6.0g, L-cysteine 0.5g, Tween 80 0.5g/ distilled water 1L, pH 7.0) 9mL에 각각 1g씩 첨가한 후 10진 희석하여 분석 시료를 준비하였다. 총 혐기성 균은 Avendano-Perez 등(2015)의 방법에 따라 Wilkins-Chalgren agar(WCA) (Difco Laboratories, Detroit, MI)를 사용했고 혐기조건을 만들기 위해서 배지를 AnaeroGen™ gas pack(Oxoid, Basingstoke, Hampshire, UK)과 함께 넣고 35℃에서 48시간 배양하였다. 대장균군은 3M Petrifilm™ Coliform count plates(3M Co., St. Paul, MN, USA)에 분주하여 35℃에서 24시간 배양하였으며, 효모 및 곰팡이 수는 potato dextrose agar(PDA) (Difco Laboratories, Detroit, MI, USA)에 도말하여 35℃에서 4-7일간 배양하였다.

(6) Acid shock

분변 대장균의 acid shock test는 Krause 등(2003)의 방법을 변형하여 다음과 같이 수행하였다. 각 개체의 분변을 균질화한 후 1g을 멸균혐기희석액으로 10진 희석하였고 각 희석 단계에서는 1분간 vortex하였다. 희석액을 Sorbitol-MacConkey agar(SMAC) (Difco Laboratories, Detroit, MI)에 도말한 후 35℃에서 18시간 배양하였다. 배양 후 sorbitol 분해능 유무는 고려하지 않고 SMAC배지에 자란 투명 색과 붉은 색 집락을 전부 계수하였다. Acid shock를 위해 분변 1g을 위와 같은 방법으로 10진 희석하며 다만 이 때 멸균혐기희석액은 HCl를 이용하여 pH 2.0로 조정된 것을 사용하였다. 희석액을 상온에서 1시간 동안 배양시키고 위의 방법과 같이 SMAC 배지에 도말한 후 35℃에서 18시간 배양하여 자란 투명 색과 붉은 색 집락을 모두 계수하였다.

(7) 통계분석

실험결과는 PASW Statistics 18(SPSS Inc., Chicago, IL, USA)을 이용하여 분산분석(One-way ANOVA) 하였고, 집단 간 비교를 위한 사후분석은 Duncan으로 검증하여 $p < 0.05$ 이상일 때만 통계적 유의성이 있는 것으로 판단하였다. 모든 분석항목은 3반복 시험하여 얻은 결과를 평균±표준편차로 나타내었다.

다. 결과 및 고찰

(1) 사료 지방산 분석

최근 오메가6지방산(n6)과 오메가3지방산(n3)의 비율이 건강에 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있으며 식생활의 서구화로 오메가6지방산의 섭취가 크게 늘어나 오메가3지방산의 중요도가 높아졌다. 따라서 본 실험에서는 사료의 n3:n6 비율을 강조하고자 한다. 사양 기간 중 소에게 급여된 대조군, 실험군1 및 실험군2의 사료 지방산 조성을 Table 76에 나타내었으며, 실험군1의 사료는 n3을 강화한 펠렛과 *Phalaris arundinacea*(Reed canary grass)을 40:60 비율로 혼합하여 분석하였다. 각 배합비에 따른 linoleic acid(C18:2, n6) 과 α -linoleic acid(ALA, C18:3, n3), 그리고 그들의 비율은 유의적인 차이가 있었다($p < 0.001$). Linoleic acid의 경우 대조군의 사료에서 42.76%로 유의적으로 가장 높게 나타났으며 ($p < 0.001$) 이는 대조군 사료의 옥수수 성분에서 기인한 것이다. 반면에 α -linoleic acid는 대조군의 사료에서 가장 적은 양을 기록하였다. n3:n6 비율은 대조군이 1:21.93으로 가장 높았고, 실험군1과 실험군2이 각각 1:0.92과 1:0.51 인 것으로 나타났다. 세 군의 비율 모두 유의적으로 차이가 있었으며($p < 0.001$) 일반농가에서 사용하는 일반 사료 급여 방식과 grass-fed 방식은 오메가지방산 및 그 비율에 큰 차이가 있음을 알 수 있다. 또한 n3지방산을 첨가한 자체 생산 펠렛은 생초의 오메가 비율과 유사한 값을 나타냈기에 grass-fed 방식의 대체제가 될 수 있다고 판단된다.

Table 76. Fatty acid(FA) composition(%) of experimental diets¹⁾

Free fatty acid ²⁾	Control	T1	T2
C8:0	N.D	0.33 ± 0.00	N.D
C10:0	0.07 ± 0.01	0.29 ± 0.01	0.24 ± 0.01
C12:0	12.66 ± 0.00	6.75 ± 0.01	1.40 ± 0.01
C14:0	N.D	2.21 ± 0.01	1.92 ± 0.02
C16:0	14.12 ± 0.01	17.53 ± 0.02	16.61 ± 0.02
C16:1	0.22 ± 0.00	0.48 ± 0.00	0.50 ± 0.00
C17:0	0.07 ± 0.00	N.D	0.24 ± 0.00
C18:0	2.19 ± 0.01	3.17 ± 0.02	2.60 ± 0.01
C18:1	24.72 ± 0.03	13.27 ± 0.05	44.31 ± 0.03
C18:2(n-6)	42.76 ^a ± 0.00	25.45 ^b ± 0.01	10.11 ^c ± 0.00
C20:0	0.36 ± 0.00	N.D	0.77 ± 0.00
C18:3(n-3)	1.95 ^c ± 0.00	27.77 ^a ± 0.02	19.66 ^b ± 0.00
C22:0	0.26 ± 0.00	1.26 ± 0.00	0.82 ± 0.00
C20:1(n-9)	0.25	N.D	N.D
C22:1(n-9)	0.37	0.46	0.83
C24:0	N.D	0.64 ± 0.00	N.D
SFA	29.47	30.92	23.78
USFA	70.27	67.43	75.41
n-3 : n-6	1 : 21.93 ^a	1 : 0.92 ^b	1 : 0.51 ^c

1) Control, fed TMR; T1, fed grass + concentrate supplemented with n-3 T2, fed grass only

2) N.D indicates that the value was not detected.

a-c Means in the same row with different superscripts are significantly different ($p < 0.05$).

(2) pH

서로 다른 3가지 사료 급여에 따른 소 분변의 pH 변화는 Fig. 40에 나타내었다. 시험 1일차의 경우 대조군은 7.26, 실험군1은 7.20, 실험군2는 7.36을 나타내었고, 3개의 그룹 모두 유의적인 차이를 나타내지 않았다($p > 0.05$). 시험 60일차에는 대조군의 pH가 6.92로 급격히 감소하였고, 이는 실험군1의 pH 7.30과 실험군2의 pH 7.80보다 낮은 수치로 3개 그룹 모두 유의적인 차이를 나타내었다($p < 0.05$). 시험 120일차에는 3개 그룹 모두 시험 60일차에

비하여 pH가 상승했으며 그 중 대조군과 실험군1이 크게 상승하였다. 하지만 시험 60일차와 같이 대조군의 경우 실험군1과 실험군2보다는 유의적으로 낮은 결과를 보였다($p < 0.05$). 시험 141일차 때는 대조군이 7.26, 실험군1이 8.39, 실험군2이 8.31을 기록하였고 이 중 대조군의 결과는 다른 2개의 실험군과 비교하였을 때 유의적으로 낮았다($p < 0.05$) 또한 시험 120일차와 비교하였을 때 실험군1과 실험군2의 pH가 유사하게 상승한 반면에 대조군의 pH는 감소하였다. Diez-Gonzalez 등의 연구(1998)에서는 소가 목초보다 곡물을 많이 섭취하게 되면 곡물 내 전분 발효과정에서 acetic, butyrate, propionate acid 등 휘발성지방산을 생성하게 되고, 결과적으로 결장 내 pH를 낮춘다고 보고 하였으며, Sheng 등의 연구(2013)에서도 곡물 급여군이 건초 급여군에 비해 반추위와 분변이 더 산성을 띤다고 보고하였다. 본 연구의 결과는 위의 보고들과 일치하는 경향을 나타내었다.

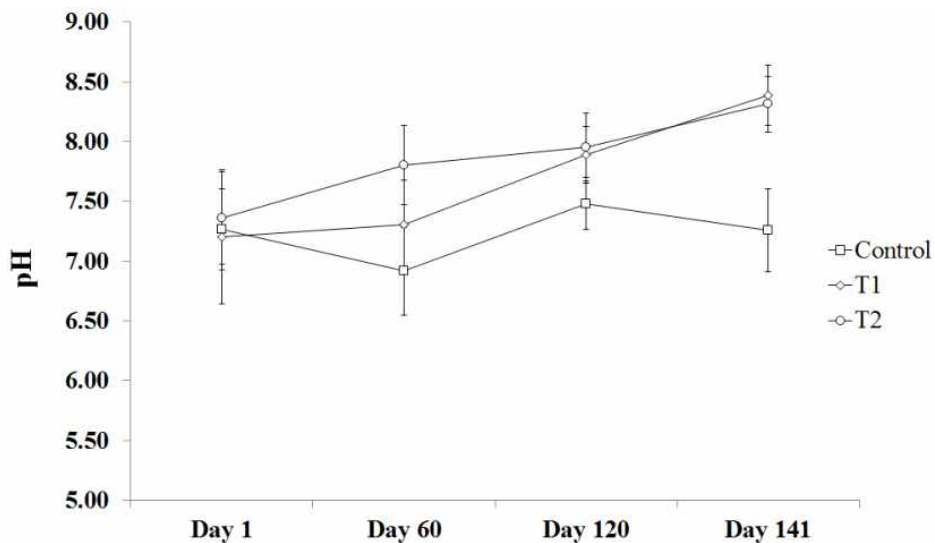


Fig. 40. Change of fecal pH of cattle during feeding treatment.

Control: fed TMR, T1: fed reed canary grass + concentrate supplemented with flaxseed oil, T2: fed reed canary grass only. Error bars represent standard error with respect to repeated measurements of the same group (n=7).

(3) 미생물 분석

TMR 사료, n3을 첨가한 농후사료, 생초를 먹인 소의 분변을 채취하여 총 혐기성 균, 대장균군, 효모 및 곰팡이 수의 변화를 측정하였다(Fig. 41). 소의 하단 대장에는

Bacteroides spp., *Clostridium* spp.와 같은 절대혐기성균이 대다수를 차지하고 있으므로 (Dowd 등, 2008) 대장 및 분변 내 절대혐기성균의 변화는 중요한 지표가 된다. 분변 중 총 혐기성 균은 시험 1일차에 대조군, 실험군1, 실험군2가 각각 6.6, 6.8, 6.3 Log CFU/g을 기록하여 유의적인 차이가 없었고($p>0.05$), 대조군은 이후 실험기간이 지남에 따라 약 1.1 Log CFU/g 증가하였으며, 전 실험 기간 동안 2개의 실험군보다 항상 높은 값을 기록했다. 다만 시험 60일차까지 3개 그룹의 결과가 유의적인 차이가 없었고, 시험 120일차에는 각각 7.3, 6.4, 6.1 Log CFU/g으로 대조군이 2개의 실험군보다 약 1.2-1.4 Log CFU/g 유의적으로 높았으며, 141일차에도 각각 7.7, 6.4, 6.1 Log CFU/g으로 대조군이 2개의 실험군보다 약 1.3-1.6 Log CFU/g 유의적으로 높았다. Diez-Gonzalez 등(1998)은 소에게 주는 먹이 중 곡물의 양을 증가시켰더니 결장 내 총 혐기성 균의 수 역시 증가했다고 하였으며 곡물의 양이 90%일 때에 0%일 때보다 그 수가 3배였다고 보고하였다. 또한 Van Kesse 등의 연구(2002)에서는 소의 복강 내로 starch 또는 glucose를 주입하였더니 맹장액과 분변 내 총 혐기성 균이 대조군보다 최소 1.3 Log CFU/g 높았다고 하여 본 연구와 상당히 유사한 결과를 보였다. 이는 곡물의 주성분이 starch이기 때문에 입으로 곡물을 섭취하는 것과 복강 내로 starch를 주입하는 것이 같은 결과를 보였다고 판단된다.

대장균군의 경우 시험 1, 60, 120, 141일차 모두 그룹 간 유의적인 차이가 없었다. 3개 그룹의 결과가 기간 내에 증가하는 경향을 보였으나 시험 120일차에 3개 그룹 모두 소폭으로 감소하는 결과를 보였다. 이는 모든 시험축을 대상으로 환경적 외부요인이 작용했을 것이라 사료된다. 결과적으로 그룹 간 대장균군 수의 차이는 나타나지 않는 것으로 판단되며, 이는 Grauke 등(2003)이 직장의 분변 내 coliform을 연구한 결과와 일치한다.

분변 내 효모와 곰팡이의 경우 대조군은 저장기간 중 약 0.1 Log CFU/g 증가하였고, 반면에 실험군1과 실험군2는 각각 0.6, 1.6 Log CFU/g 감소하였다. 시험 60일차에는 3개 그룹이 모두 비슷한 수준으로 감소하였고, 그 이후엔 다시 증가하였다. 시험 60일부터 141일까지 대조군의 결과는 실험군1과 실험군2의 결과보다 유의적으로 높았으며, 실험군1과 실험군2의 결과 간에는 유의적 차이가 없었다. Chiquette(1995)는 효모 및 곰팡이를 섭취했을 때의 캐놀라를 통해 위액의 발효에 미치는 영향을 연구하였는데, 효모 및 곰팡이를 섭취하지 않은 대조군보다 효모 및 곰팡이를 섭취한 그룹이 위액 내 lactate, acetate, propionate acid를 포함한 휘발성 지방산의 생산이 더 활발했으며 이로 인해 pH가 낮게 측정되었다고 보고하였다. Beharka 등(1991)은 소에게 효모 및 곰팡이를 사료와 함께 급여했을 때 total viable bacteria가 증가했다고 보고하였다. 본 실험의 결과인 분변 내 효모 및 곰팡이 균은 소의 식이와 밀접한 연관이 있는 것으로 사료되며, 대조군의 결과가 실험군1, 2의 결과보다 유의적으로

높은 것은 대조군의 TMR 사료 중 Brewers grain 속 효모를 섭취하였기 때문인 것으로 판단된다. 또한 대조군의 분변의 pH가 낮은 것과 총 혐기성 균의 수가 높은 것 역시 효모 및 곰팡이 균의 섭취와 일부 관련이 있을 것으로 사료된다.

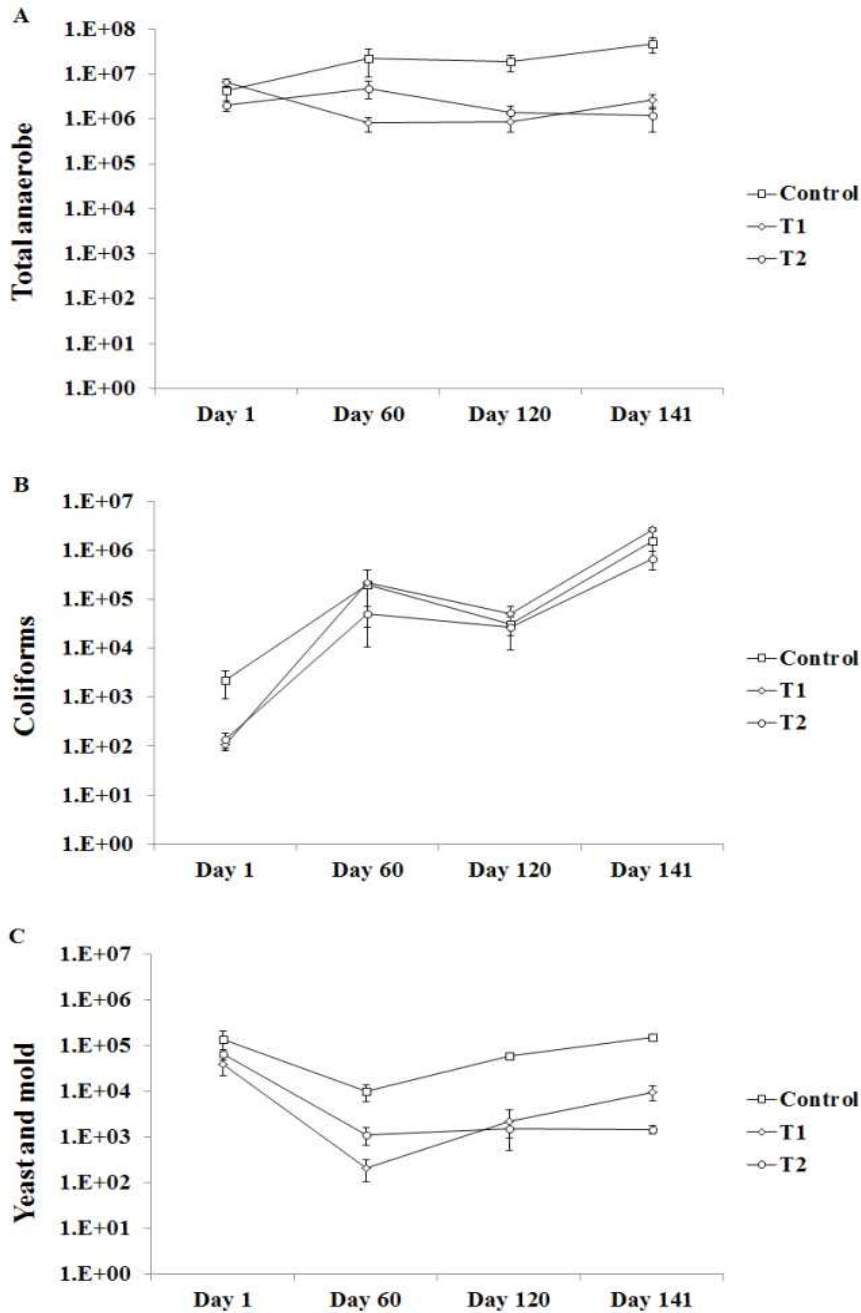


Fig. 41. Change of total anaerobe, coliforms, yeast and mold in feces during feeding treatment.

Control: fed TMR, T1: fed reed canary grass + concentrate supplemented with flaxseed oil, T2: fed reed canary grass only. Error bars represent standard error with respect to repeated measurements of the same group(n=7).

(4) 대장균의 acid shock 후 생존율

앞서 사료 종류에 따른 pH 변화와 장내 *E. coli*의 내산성 능력에 대한 중요성을 언급한 바 있다. 본 실험에서는 acid shock 환경을 조성하여 분변 내 *E. coli*의 내산성 능력을 조사하기 위해 사료로 인한 변화가 가장 크게 나타났던 실험 141일차의 분변을 사용하였으며 그 결과는 Fig. 42에 나타내었다. pH 2.0의 혐기희석액에서 1시간 배양한 결과 대조군에서의 *E. coli* 생존율은 34.09%이었고, 실험군1과 실험군2의 생존율은 각각 3.79%, 1.02%이었다. 대조군의 *E. coli* 생존율이 2개 실험군의 *E. coli* 생존율에 비해 유의적으로 높았으나 실험군1과 실험군2 간에는 유의적 차이는 없었다. 즉, 대조군의 *E. coli*은 실험군 1, 2의 *E. coli* 보다 낮은 pH 환경에서 생존능을 가짐을 확인할 수 있었다. 이는 대조군 사료를 섭취한 소의 *E. coli*은 강산성 조건에서 사멸하지 않고 생존할 수 있음을 의미하며, 생존한 대장균이 병원성 대장균인 경우 동물이 섭취 시 낮은 pH의 위를 통과하여 소장과 대장에 도달할 가능성이 있음을 시사한다. 내산성의 메커니즘은 산성 환경에 노출되고 접촉한 동안 유발된다고 알려져 있다 (Masuda와 Church, 2003). Chaucheyras-Durand 등의 연구(2010)에서는 grain-fed 가축 내 Shiga Toxin-producing *E. coli*(STEC)이 위장의 산성 환경과 만났을 때 STEC의 내산 성능이 유발된다고 하였으며, 그러나 모든 대장균군에서 동일한 결과를 보이는 것이 아니라 일부 strain은 내산성능 발현 유무가 다르다고 보고하였다(Grauke 등, 2003). 본 실험에서는 strain에 관계없이 포괄적인 *E. coli*의 내산성능을 측정하였으며, 실험60일차 이후 대조군의 분변 pH가 다른 두 군에 비해 유의적으로 낮았기 때문에 장 내 pH 역시 낮게 유지되고 있고, 대조군의 내산성능이 유도된 것이라 생각된다. 추후 strain 별 내산성 발현 유무에 대한 심화적인 연구가 필요하다. 또한 Diez-Gonzalez 등(1998)은 곡물의 비율이 다른 사료를 먹인 소의 결장액을 pH 2.0의 Luria broth에서 1시간 배양하였을 때 *E. coli*의 생존율이 0.01%–10%라고 보고하였는데, 본 연구에서는 좀 더 높은 생존율 범위를 보였다. 이는 내장 속에서 즉시 분리한 결장액과 도체 밖으로 배출된 분변의 차이로 판단된다.

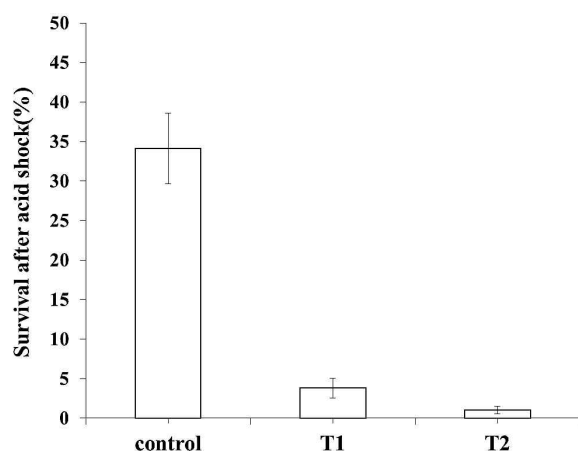


Fig. 42. The survival(%) of *E. coli* in feces after acid shock.

Control: fed TMR, T1: fed reed canary grass + concentrate supplemented with flaxseed oil, T2: fed reed canary grass only. Survival percentages were calculated from the count result of the bacterial colonies cultured after 1h at room temperature in anaerobic solution(KH₂PO₄ 4.5g + Na₂HPO₄ 6.0g + L-cysteine 0.5g + Tween 80 0.5g/L) acidified to pH 2.0 with HCl. Error bars represent standard error with respect to repeated measurements of the same group(n=7).

Table 77. Effects of grass or flaxseed oil on fecal and rumen digesta VFA of friesian-holstein fed diets with various feed ingredients

	Control	T1	T2
<i>Feces (µg/ml)</i>			
Acetic acid	N.D	0.34	0.81
Propionic acid	N.D	N.D	N.D
Butyric acid	0.15	0.13	0.20
<i>Rumen digesta (µg/ml)</i>			
Acetic acid	5.47	5.09	3.76
Propionic acid	1.07	1.00	0.59
Butyric acid	0.71	0.63	0.39

Control: fed TMR, T1: fed reed canary grass + concentrate supplemented with flaxseed oil, T2: fed reed canary grass only. N.D: not detected.

제 2절. 위탁

비가열살균방법(HPP)의 가공적성 연구

1. 식품의 살균기술

식품가공은 미생물을 사멸시켜 안전성을 보장하고 소화를 쉽게 돕고, 효소나 독소를 없애 유통기한을 연장시키고, 색깔이나 향, 조직감을 풍부하게 할 수 있기 때문에 식품회사에서 다양한 방법으로 가공처리를 하고 있다.

식품을 보존하는 수단에는 가열살균법외에 냉동, 냉장, 건조 및 방부제 첨가 등의 방법이 있다. 가열살균법과 기타 방법에는 기본적으로 큰 차이점이 있다. 즉, 가열살균법은 식품에 부착된 미생물을 사멸시키지만 후자는 생존하는 상태로 남아서 그 활동을 정지시키는 방법이다. 식품이 무균화 되었다는 것을 증명하기 위해서는 가열 살균한 식품 모두를 장기간 저장하여 변패하지 않는 것을, 또는 실제로 이것을 먹어보고 인체에 악 영향이 없다는 것을 확인하면 좋지만 매일 대량으로 생산하여 상업적으로 판매하는 식품에 있어서는 이와 같은 증명방법을 이용하는 것이 불가능 하다. 그렇다고 해서 미생물학적인 안전을 위해 터무니없이 고온에서 장시간 식품을 살균하면 그 식품은 벌써 식품으로서의 가치를 잃어버린다(안태희, 1996).

식품을 가공에는 가열을 통한 살균방식과 비가열 방식 두 가지로 크게 분류 할 수 있다. 전통적인 음식가공방법은 식품 안전성과 유통기한을 연장하기 위한 방법으로 높은 열처리에 의존해왔다. 하지만 가열가공방법은 열처리로 인해 기능적, 영양적, 관능적 부분에서 심각한 손상을 초래한다(Butz 등, 2002). 또한 가공처리를 위해 야채나 과일과 같은 신선 식품을 자르고 다지고 껍질을 벗김으로써 세포 손상을 초래하고 효소적 변화 등을 초래하게 된다. 많은 연구자들은 대신에 약한 처리로 유통기한을 연장시키고 손상을 최소화하는 방법을 연구해오고 있다.

Table 1. 가열가공기술

열처리 방법	비고
LTLT/저온살균/UHT	
리토르트 처리	
통전가열 (Ohmic heating)	전류이용
Microwave	
가열건조	
굽기	
튀기기	

2. 식품 비가열살균기술 연구

가. 비가열살균기술의 배경

경제적 수준이 향상되고 건강에 대한 관심이 높아지고 소비자들의 건강한 식생활에 대한 기대가 커지면서 보다 좋은 품질, 신선한 제품에 대한 소비자의 요구는 점점 증가하고 있다. 최근 소비자의 식품에 대한 관심은 건강과 안전이며 가능한 천연 상태의 물질을 유지한 제품을 요구하고 있다. 특히 과일, 야채류뿐만 아니라 가공식품에 있어서도 가능한 한 원물 그대로의 품질을 즐기고 싶어 하는 요구가 지속적으로 증가하고 있다. 그러나 식품을 생산하는 대부분의 공정은 열처리를 통해서 제품을 생산하기 때문에 열처리에 의해서 일어나는 영양성분의 파괴, 향미의 손실, 색택의 변화, 조직감의 변화 등에 의한 기호도의 감소를 피할 수 없다. 이러한 문제로 인해 식품업계에서는 가열을 대체할만한 가공 공정의 개발을 요구하고 있다(신정규 등, 2010). 식품산업에 있어서 가장 중요한 문제는 제품 유통 기간 중의 안전성과 안정성을 확보하는 것과 식품 본연의 품질을 유지한 상태로 유통 기한을 연장하는 것에 있다. 원료와 생산품을 방지하는 기술로 현재 가장 활발히 연구되고 있는 것은 최소가공기술이다. 최소가공기술이란, 식품 본래의 신선한 품질을 그대로 유지하면서 식중독 및 부패 미생물을 최소화시켜 저장수명을 연장시키는 최소처리가공기술을 말한다(박지용 등, 2010).

비가열 처리법에는 전자기 조사, 전자파 조사, 광 펄스, 초고압처리, CO₂처리, 양이온 고분자 물질의 첨가, 항균제 이용 등이 있다. 그 중 특히 초고압 처리기술은 미생물의 살균, 효소의 불활성화, 단백질의 변성, 전분의 호화 등 다양한 효과를 가지므로 새로운 식품가공법으로 기대를 모으고 있다(Mertens, 1992; Knorr, 1993).

나. 비가열 살균기술

여러 가지 비열 가공 기술 중 고전압 펄스 전기장, 광펄스 기술, 비가열 플라즈마, 고전압 아크방전, 전자빔 조사, X-ray 등은 고전압(또는 중·저전압)의 전기 에너지를 활용하여 식품을 살균 또는 가공하는 기술이라는 공통점을 가지고 있다. 고전압을 활용한 가공방법들은 식품을 처리할 경우 온도가 거의 상승하지 않으며, 처리시간은 짧고 무엇보다도 대부분 연속처리가 가능하며, 처리 후에도 식품의 물리적·화학적 및 영양학적 특성들은 거의 변화하지 않는다. 또한 이 전기적 비가열 가공 기술은 친환경적 기술로서 이산화탄소의 발생을 줄이고 에너지 측면에서도 열처리 공정에 비해 적은 에너지를 소모하는 녹색 기술로서 관심을 받고 있다(신정규 등, 2010).

Table 2. 비가열살균기술

물리적 방법	화학적 방법
고전압펄스전기장 (High voltage pulsed electric fields, PEF)	이산화탄소
초고압 (High hydrostatic pressure, HPP)	박테리오신
광펄스 (Intense pulse light, IPL)	양이온 다중고분자
초음파 (Ultrasonification)	세포벽 분해효소
비가열 플라즈마 (nonthermal plasma, NTP)	
고전압 아크 방전 (High voltage arcdischarge)	
이온화 조사 (ionizing radiation)	
진동자기장 (Oscillating magnetic fields)	

다. 비가열 살균기술의 원리

(1) 고전압 펄스 전기장(High Voltage Pulsed Electric Fields, PEF)의 원리

고전압 펄스 전기장 처리 기술의 기본원리는 2개의 전극 사이에 대상 물질을 위치시키고 전극 양단에 10Kv/cm 이상의 고전압을 가하여 순간적으로 방전시켜 전기장을 형성시킴으로서 식품을 처리하는 기술이다(신정규 등, 2010). 세포가 강력한 전기장에 노출되면 인지질 이중층으로 구성된 세포막은 이온의 이동에 의하여 극성을 띠게 되고 인지질 이중층은 불량

전기도체이므로 세포막내외의 표면에는 이온이 축적되며, 그 결과 transmembrane potential 이 유도된다. 만약 외부에서 형성되는 전기장의 세기를 증가시키면 유도되는 transmembrane potential도 증가하며 이 값이 임계값 1V이상 되면 세포막 내외의 표면에 축적된 반대전하의 인력에 의하여 세포막은 압축되며, 탄성한계 이상으로 압축되면 세포막은 파괴되거나 구멍이 형성되어 미생물이 불활성화 된다(정관재, 2000). PEF에 의한 미생물의 불활성화는 처리 중 온도가 거의 상승하지 않고 처리시간이 짧으며 연속 처리가 가능하며, 처리 후에 식품의 물리·화학적 또는 영양학적 특성이 거의 변하지 않기 때문에 최근 관심이 집중되고 있는 기술이다(박지용 등, 2010).

(2) 광펄스(Intense Pulsed-Light, IPL)

광펄스 기술은 UV(ultraviolet)부터 근적외선(near infrared)부분까지의 넓은 범위의 빛을 짧은 시간동안 강하게 조사하여 식품의 표면에 존재하는 미생물을 사멸시킴으로서 보존기간을 늘리는 기술이다(신정규 등, 2010). 광펄스의 파장은 매우 길기 때문에 작은 분자의 이온화를 일으키지 않으며, non-pulsed 또는 연속 파장 자외선(UV)보다 살균 효과가 매우 크다. 광 펄스 처리는 모든 종류의 박테리아와 진핵 미생물에 살균 효과가 있으며, 여러 번의 pulse를 이용할 경우 7~9 log CFU/cm의 감소가 가능하다(박지용 등, 2010). 과일 및 야채류에 존재하는 미생물을 사멸하는 연구가 진행되고 있다.

(3) 비가열 플라즈마(Non-thermal Plasma)

플라즈마는 분자의 일부분이 여기 또는 이온화되어 가스와 같은 상태로 되어 있는 것을 말한다. 이러한 플라즈마는 생성되는 조건에 따라서 가열 플라즈마(thermal plasma)와 비가열 플라즈마(non-thermal plasma)로 나눌 수 있는데 가열 플라즈마는 고압($\geq 10^5$ Pa)와 50MW 이상의 전력을 필요로 한다. 반면에 비가열 플라즈마는 낮은 압력과 상대적으로 낮은 전기로도 발생시킬 수 있으며, 가열플라즈마가 $5\sim 20 \times 10^3$ K이상의 온도로 가열되는 반면 비가열 플라즈마는 40℃ 정도의 낮은 온도가 유지된다(신정규 등, 2010; Moreau, 2008; Mastwijk과 Groot, 2010).

(4) 진동자기장(oscillating magnetic fields, OMF)

식품을 5~50 Telsa와 5~500 kHz 강도의 single pulse OMF에 노출시켰을 때 최대 약 2 log cycle의 미생물수가 감소되었으며, 20℃의 오렌지주스를 416kHz의 pulse로 처리하였을 때 총 세균수 2.5×10^4 가 6CFU/ml로 감소되었다. 그러나 고 강도의 OMF는 magnetic coil 주변에만 존재하며 coil로부터 아주 짧은 거리 내에서도 강도가 급감한다. 자기장은 미생물의 성장을 반대로 유도할 수도 있으며 효소나 세균 포자에는 영향이 거의 없기 때문에 식품 가공방법으로서의 OMF는 아직 미지수이며, 보다 많은 연구가 필요하다(박지용 등, 2010).

(5) 광촉매 산화반응(Photo-catalytic oxidation reaction)

이산화티탄(TiO_2)은 빛이 닿아 활성화되었을 때 electron-hole이 발생하여 공기 중의 산소, 물 분자와 반응하여 이산화티탄 표면에 superoxide 음이온(O_2^-)과 수산화라디칼, 2종의 활성산소를 생성한다. 이때 생성된 수산화라디칼은 높은 산화환원전위를 가지고 있어 미생물에 작용하여 산화시켜 살균효과를 나타내게 된다(박지용 등, 2010).

(6) 초음파(Ultrasonics)

초음파의 식품에의 응용은 낮은 power의 고주파 초음파를 식품에 적용하는 것이나 초음파를 살균의 목적으로 단독으로 사용하는 것은 효과가 없으며 다른 살균 방법과 병행하여 사용 시 살균효과를 기대할 수 있다. 초음파는 효소나 세균포자에 거의 효과가 없기 때문에 특히 살균을 목적으로 산업적으로 이용되려면 다른 방법과 병행하여 사용하여야 한다(박지용 등, 2010).

3. HPP(High Pressure Processing) 살균기술

가. HPP 원리

압력(P)도 온도(T)처럼 하나의 에너지 양으로 존재하므로, 물질의 상태를 변화시키는 열역학적 온도와 동일하게 이용될 수 있다. 따라서 압력처리에 의하여 얻어지는 효과를 기대할 수가 있다(좌미경, 2001).

초고압의 일반적인 원리는 Le Chatelier 법칙에 따르며 상태변화 인자로서 열과 압력은 물질의 상태변화에 역으로 작용한다(김봉오, 2002). 이 법칙을 요약하면 "화학 평형 상태의 화학계에서 농도, 온도, 부피, 압력 등이 변화할 때, 화학평형은 변화를 가능한 상쇄시키는 방향으로 움직여 화학 평형상태를 형성한다."라고 할 수 있다. 온도가 증가하면 부피가 증가하는 열처리와는 반대로 압력의 증가에 따라 부피가 감소하는 양상을 나타낸다. 즉 어떤 화학반응이 일어날 때 반응 이전 반응물의 몰 부피 합과 반응이후 생성물의 몰 부피 합에 차이가 나는데, 고압 하에서는 몰 부피 합이 감소하는 방향으로 반응이 촉진된다. 고압처리 특징 중의 하나는 압력이 공유 결합에는 영향을 미치지 않고 비공유 결합에 영향을 미치는 점이다(좌미경, 2001). 공유결합이나 수소결합의 경우 이들 결합이 파괴될수록 몰 부피의 합이 증가하기 때문에 압력의 증가가 이들 결합의 파괴를 촉진시키지 않는다. 따라서 고압 하에서도 DNA 변성이 일어나지 않고 안정하다. 압력에 의해 미생물이 살균되는 원리는 확실히 규명되어 있지 않지만 세포막 붕괴 및 세포막에 존재하는 단백질의 변성라고 가정하고 있다(박지용 등, 2010). 따라서 상온에서 열처리에 의하여 영양성분의 파괴, 이취의 발생, 향기성분의 변화가 야기되는 반면, 초고압 처리는 식품의 고유의 풍미를 유지 할 수 있다는 장점이 있다(Yen과 Lin, 1996).

이밖에도 Iso-static principle 및 Kinetic energy and molecular ordering 과 같은 원리들이 적용된다. Iso-static principle는 압력의 적용은 샘플 전체에 순간적이고 일정하다. Kinetic energy and molecular ordering: 일정한 온도로, 압력을 증가 시 분자의 규칙도가 증가, 압력은 분자와 관련된 운동에너지 증가, 온도와 압력의 적절한 조합은 운동에너지를 가속화시킨다. 또한 고분자 세포(단백질)에 영향을 미치나 저분자세포(영양소)에는 영향을 미치지 않는다. 미생물의 경우 다양한 기압의 조건에서 생존하고 있으나 극심한 기압조건(400~600MPa)에서는 생존하기 힘든 점을 이용하여 초고압을 가하여 없애는 원리를 이용하고 있다.

Table 3. HPP원리

HPP 적용되는 원리
Iso-static principle
Le Chatelier's principle
Kinetic energy and molecular ordering

나. 식품에 대한 초고압 처리효과

(1) HPP처리와 단백질의 변성

단백질 수용액을 가열하면 분자운동이 심해져 약한 비공유 결합을 파괴하므로 붕괴되어 변성한다. 반면 단백질 수용액을 가압하여 압축하면 분자간 거리, 체적, 구조의 흐트러짐, 엔트로피 등이 가열과는 반대로 감소되어 응고하게 된다(좌미경, 2001; Seyderhelm 등, 1996). 단백질 수용액에 압력을 가하면 Le Chatelier 법칙에 따라 물도 단백질도 구조변화를 일으켜 수용액 전체의 체적이 감소하게 되어 구조가 뻣뻣하게 된다. 먼저 수분 한 분자간 거리의 감소와 단백질 분자가 구상상태로 체적 감소에 의한 충전효과가 나타난다. 물 분자도 분자간의 거리가 줄어든다. 물 분자의 체적은 자유수로 존재할 때 보다 단백질의 아미노산 측쇄의 주변에 위치하였을 때 충전효과에 의한 체적감소가 더 크다. 단백질의 압력변성은 계 전체의 체적감소에 따라 수중에서 단백질의 비공유결합(소수성결합, 이온결합, 수소결합)이 자발적으로 변화하며 나아가서는 4차, 3차, 2차 구조가 붕괴하는 과정을 거치게 되는데, 이러한 변성은 단백질 내부의 아미노산 측쇄가 수중에 노출되어 여기에 물이 결합함으로써 발생하는 충전에 의한 체적감소 효과보다 훨씬 더 체적이 감소한다(좌미경, 2001; Hayashi 등, 1989). 열처리가 공유결합뿐만 아니라 비 공유 결합에도 영향을 미치는 것과는 반대로, 상온에서의 고압처리는 단지 약한 화학적 결합인 수소결합, 소수성결합, 이온결합을 파괴할 뿐이다. 단백질 구조의 변화는 식품 단백질의 기능적 특성변화를 초래하므로, 초고압처리에 의하여 특유한 조직과 맛을 갖는 새로운 제품의 개발도 가능하다고 할 수 있다(좌미경, 2001; Seyderhelm 등, 1996).

(2) HPP처리와 효소의 변성

효소 불활성화를 유도하는 인자는 분자 내 구조의 수정 및 활성부위의 형태의 변형이다 (Suzuki와 Suzuki, 1962). 압력 하에서 효소 불활성화는 pH, 기질의 농도, 효소의 subunit 구조에 의하여 영향을 받는다(Laider, 1951). 이러한 효소반응은 압력에 의하여 가속화 또는 비가속화 되기도 하며, 효소촉매반응의 반응체적에 의존한다(Morild, 1981). 이러한 영향으로 압력처리에 의하여 효소는 불활성화 되거나 반대로 활성이 증가하기도 하며 미생물을 사멸시키는 압력에 비하여 더 높은 압력을 필요로 하기도 한다.

식품에 있어서 압력처리효과는 완충액에서와는 다르며, Seyderhelm 등(1996)은 설탕은 압력에 의한 pectinesterase의 불활성화를 보호한 것으로 보아, 식품성분이 효소활성에 영향을 미칠 수 있다고 보고하였다. Peroxidase는 blanching의 유효성을 나타내는 지표로서 완전 불활성화를 위해서는 장시간의 가열을 필요로 하며, 60°C/600 MPa/30분의 처리로 90%의 잔존효소활성이 잔존하였다. 그러나 pH 7에서 9로 변화시켰을 때 효소활성의 50%가 감소하여 알칼리 pH와 온도 상승의 조합으로 peroxidase의 불활성화를 유도할 수 있다. Hara 등(1990)은 무살균 청주를 가압 처리하여 α -amylase, glucoamylase, acid protease, neutral protease의 효소활성을 측정한 결과, 600MPa에서 대부분의 효소가 20~30% 불활성화 되었으나 glucoamylase는 활성이 그대로 유지되었다. 그러나 온도와 알코올농도의 증가에 의하여 효소의 불활성화는 더 높일 수 있었다. 고압처리기술을 효소의 불활성화에 이용하여 자몽주스의 쓴맛을 제거할 수 있는데, 120~400 MPa로 고압 처리하여 쓴맛성분인 limonin의 생성을 방지할 수 있었다(Yuki 등, 1993; 좌미경, 2001).

다. 미생물에 대한 초고압 처리 효과

(1) 압력에 저항성 있는 미생물들

가장 열에 저항성 있는 병원성 균이고 인간에 치명적인 균은 *Clostridium botulinum*이며 A, B, E, F 종이 있다. *C. botulinum*은 압력에 가장 저항성이 큰 균으로 HPP에서 문제시되고 있다. *C. botulinum*의 포자는 가장 압력에 저항성이 크고 특히 17B, Cap 9B는 75°C, 827MPa에서 30분 처리에도 활성을 보였다(Larkin과 Reddy, 1999) 보통, 그람양성세균은 그람 음성 박테리아의 세균세포보다 환경적 스트레스에 강하기 때문에 압력 처리 시 같은 경향을 보였다. 병원성 비포자형성 그람양성 균 중에서 *Listeria monocytogenes*와

*Staphylococcus aureus*는 HPP 처리에 대해 연구가 가장 잘되어 있는 균이다. *Staphylococcus aureus*는 압력에 높은 저항성을 나타낸다. Patterson 등(1995)은 압력에 저항성을 가지는 *Escherichia coli* O157: H7에 대해 임상연구를 했다. 몇몇 *Salmonella* spp. 은 높은 수준의 압력에도 상당한 저항성을 나타냈다. 따라서 식품의 안전성을 최우선이기 때문에 압력에 저항성을 갖는 *E. coli* O157: H7 및 *Salmonella* spp. 은 HPP 식품 처리 발전에서 해결해야 할 큰 문제이다.

(2) 식품 미생물 불활성화

HPP는 세포의 번식과 생존에 필수적인 기능을 방해함으로써 미생물을 불활성화 시킬 수 있다. HPP는 박테리아 세포벽을 파괴함으로써 영양분 흡수와 배출 등 이동에 영향을 끼쳐 박테리아의 정상적인 생존을 할 수 없게 만든다. HPP 처리 후 박테리아 세포내부의 유동액이 배출되지 못하는 것을 관찰하였다(Shimada 등, 1993). 압력처리 후 미생물의 불활성 효과를 검증하기 위해 세포 염색결과 세포벽의 파괴는 결국 세포사로 이어지는 것을 확인하였다(Ulmer 등, 2000).

Horie 등(1991)은 일본에서 보존의 목적으로 최초로 HPP 처리한 잼류를 Meidi-ya Food Factory에서 개발하였다. 잼은 294 MPa에서 20분 처리하였고 세균 검사 시 105~106 CFU의 일반세균이 검출되었다. 관능패널은 일반 열처리 살균 우유와 비교 시 HPP살균 처리한 잼에 더 높은 선호도를 보였다. 영양학적으로도 딸기 생과와 HPP살균 잼의 비타민C 함량을 비교했을 때 95%의 유지율을 보였다.

과일은 HPP 살균 시 과일 고유의 낮은 pH 때문에 일반세균 및 효모의 살균에 매우 효과적이다. 하지만 과일의 살균 시 문제되는 것은 과일의 효소로 인한 갈변반응이 문제가 될 수 있다. 산소를 제거하기위한 진공과정과 더불어 ascorbic acid의 사용 또는 제품의 데치기 등이 효소 갈변화 방지에 도움이 될 수 있다.

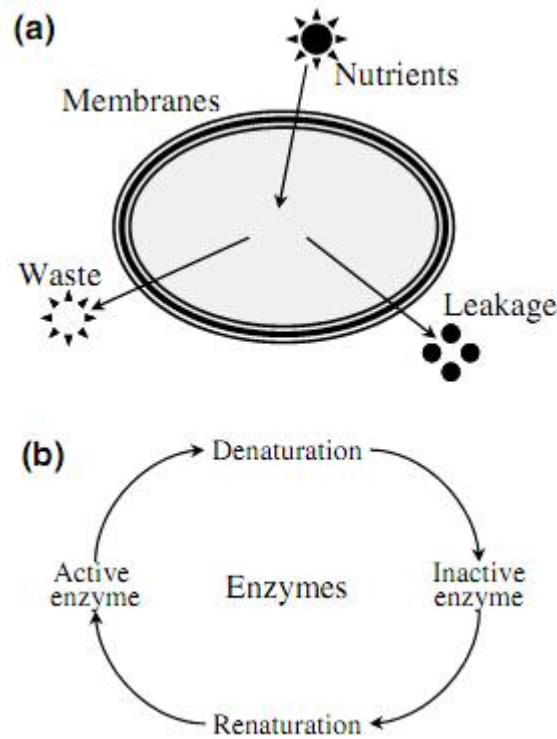


Fig. 1. HPP의 미생물 작용 기작: 세포벽 (Torres와 Velazquez, 2005)

라. HPP 역사

Table 4. HPP의 역사

년도	내용	비고
1985	H. Royer는 박테리아를 사멸시키기 위해 높은 압력을 이용함	19세기말 발견
1899	서부 버지니아 농업시험장에서 Bert H. 는 우유, 고기, 과일, 야채에 대한 압력의 효과를 검증함	
1914	Bridgman은 높은 압력하 계란알부민 응고 관찰 Hite와 박사들은 400-820MPa 압력에서 과일을 무균화 후 5년 보존 실험	
1929	Hite는 930MPa 압력에서 처리 후 담배모자이크병바이러스 불활성화 관찰	
1990	일본에서 최초의 상업용 제품 출시 (과일주스, 과일토핑, 고기연화) 미군과 오레곤주립대 파카스 교수와 HPP 공동연구	
1995	프랑스에서 상업용 오렌지 주스 출시	
1997	미국 Avomex에서 guacamole 상업화 스페인에서 슬라이스 햄 상업화	

1999	미국에서 곱을 HPP 살균처리	
2000-2007	미국 및 유럽시장에서 다양한 압력 처리한 스무디, 살사소스, 구아카몰, 과일주스, 고기, 가금류, 해산물 상업화	

최초의 초고압가공식품은 1990년 일본에서 출시되었다. 그 후 미국, 프랑스, 스페인 등에서도 초고압기술에 관심을 갖고 신제품을 출시하였다. 고압장치를 제조하는 기술적인 측면에 다소 어려움이 있어 초고압기술을 산업화하는데 제한을 받았으나 최근에는 여러 국가에서 초고압기술을 산업적으로 사용하고 있는 추세이다. 현재 살균의 목적 외에도 품질, 영양, 에너지 절감 등의 다양한 효과를 얻기 위해 초고압가공기술을 이용하고 있다.

4. HPP 설비에 대한연구

가. 기계 장치

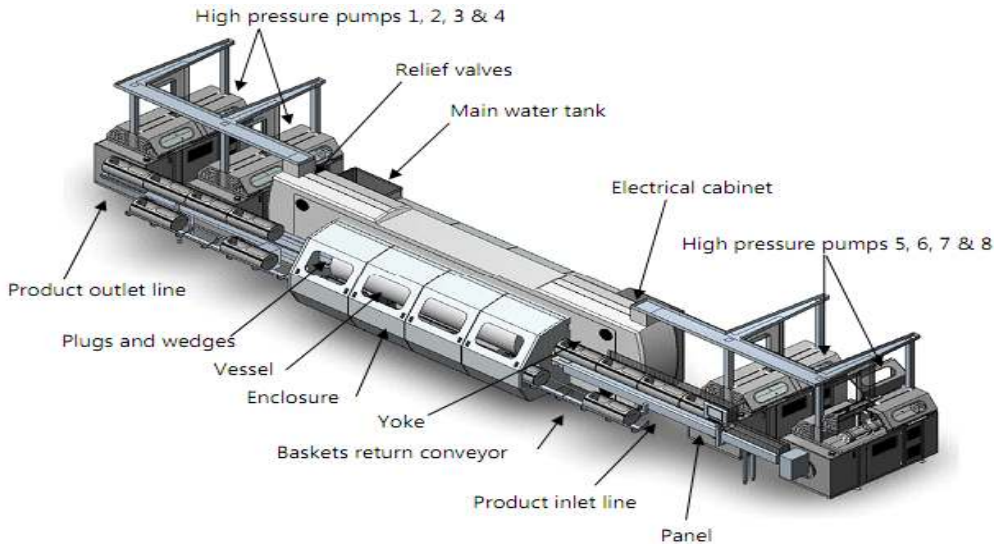


Fig. 2. 장치의 구성

(1) 장비 구성

- Pressure vessel: 부식 방지 처리된 스테인리스 철강 vessel(높은 응축압력에 견딜 수 있는 재질)

물 충전 및 에어제거를 위한 낮은 압력 가하기 위한 플랜지(관 지름이 큰관)를 포함하고 있다.

- Yoke: 강관(기폭제), 모든 가시적인 부분은 강관으로 구성

- Plugs: 밀봉을 위한 높은 내구성의 강관 플러그

- Wedges: plug부터 yoke까지 압력 전송하는 부분

모든 외부의 부품들은 강철로 만들어지고 (몸통)으로 들어가는 pusher는 basket의 짐을 쉽게 빠질 수 있게 만들어 주는 역할

- Beds: 모든 외부의 부품들은 강철로 만들어짐

- Automatic loading-unloading line: vessel 양쪽에 있고, 강철로 만들어짐

- Automatic baskets return conveyor(강철로 만들어짐)

- Water tank(강철로 구성)
- Filling pump:
- Pipes
- 메인탱크의 물 온도를 조절하기 위한 사전 설비: 코일, 탱크 내 온도측정기, 차단밸브로 구성
- 높은 압력 펌프의 오일을 cooling시키는 메인탱크와 메인탱크의 물 온도를 조절 설비: 강철 열교환기, 재순환펌프, 온도검침기로 구성

(2) 작동기작

HPP 장비기술의 중요한 부분은 압력 vessel과 높은 정수압을 생성하는 pump, 압력증폭기이다.

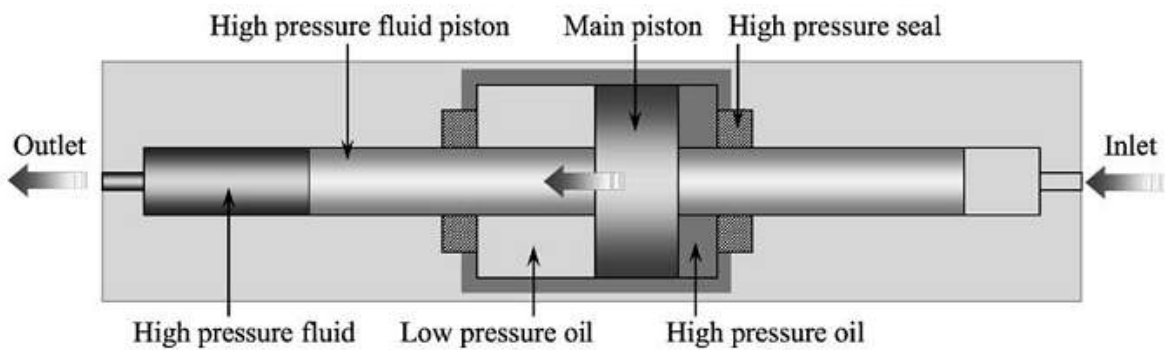


Fig. 3. HPP 정수압 펌프 및 압력 증폭기 (Torres와 Velazquez, 2005)

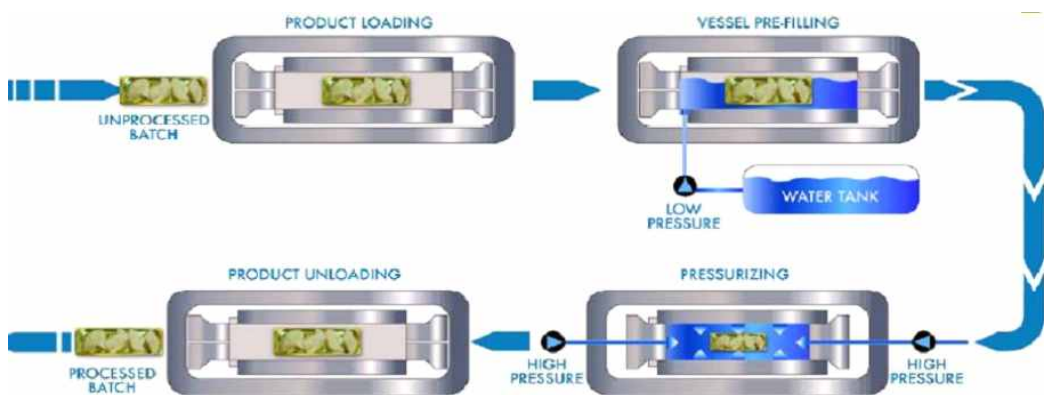


Fig. 4. HPP 의 과정 (조형용, 2014)

Table 5. 메인 tank 용적

기계종류	Volume Liters (US, liq. gallons)	비고
1	250 (66)	
2	600 (158.5)	
3	800 (211.3)	Power 및 펌프수 차이
4	800 (211.3)	
5	800 (211.3)	

(3) HPP 기계 작용 압력

최대 working 압력: 600MPa(87,000 psi), holding 시간이 길어지면 압력은 세팅 압력보다 1% 아래로 떨어질 수 있다. 압력조절 유동액은 물이며 압력 변환 범위는 0~7,000bar 내외이다.

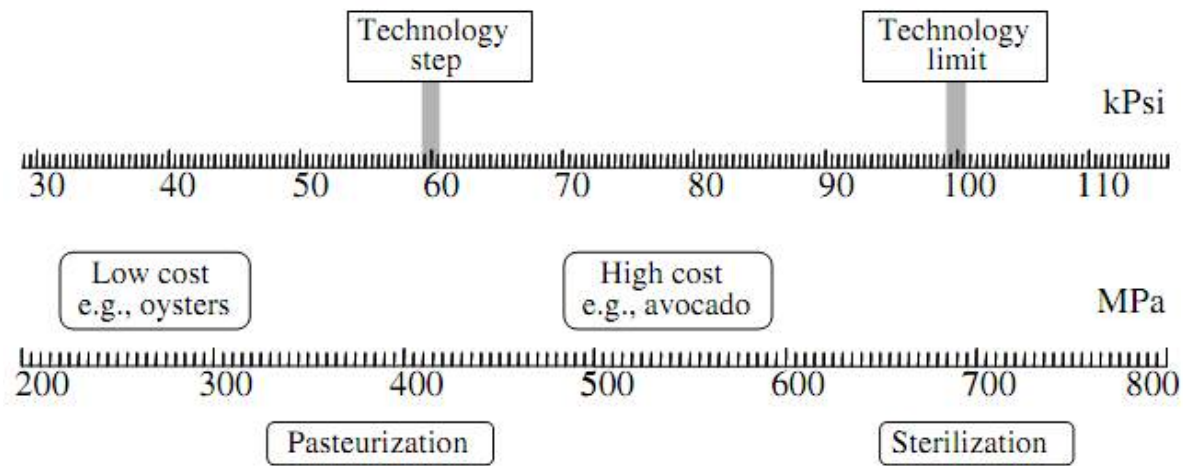


Fig. 5. HPP 살균 위한 적용 압력 (Torres와 Velazquez, 2005)

(가) 육제품 HPP 적용 압력

소고기에 HPP 처리 시 압력에 따른 단백질의 구조 변화로 색 및 질감의 변화를 야기할 수 있으나 기능적 및 영양적 가치에 영향은 없다. HPP 처리 시 근원섬유단백질에 영향을 주어 고기 연화를 촉진 시키는 것으로 알려져 있다. Ueno 등(1999)의 연구에 따르면 HPP처리는 숙성이라기보다는 근육 내 결합조직의 세포벽에 영향을 주기 때문이라고 하였다. 돼지고기

등심에 HPP 600MPa 처리 시 색변화가 나타났지만 30일 이상 유통기한을 연장시키고 영양학적 가치는 보존되었다. 일반적으로 고기 연화에 적용되는 HPP의 압력은 550~600 MPa(70%이상)이고 holding time은 1~3분정도가 적합하다. 또한 고기의 포장 방식이나 크기에 영향을 미치지 않기 때문에 고깃덩어리, 잘라 놓은 것, 분쇄형 모두 적용가능하다.

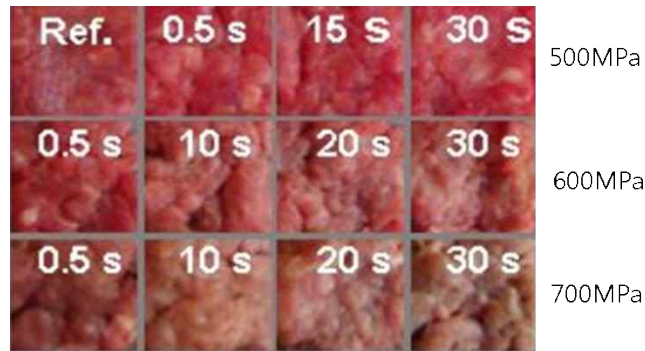


Fig. 6. HPP 압력에 따른 식육의 색변화(조형용, 2014)

식육에 존재하는 *Listeria*, *Salmonella*, *E. coli* 등과 같은 병원성 세균은 HPP 살균 시 불활성화 되는 것을 관찰하였다.

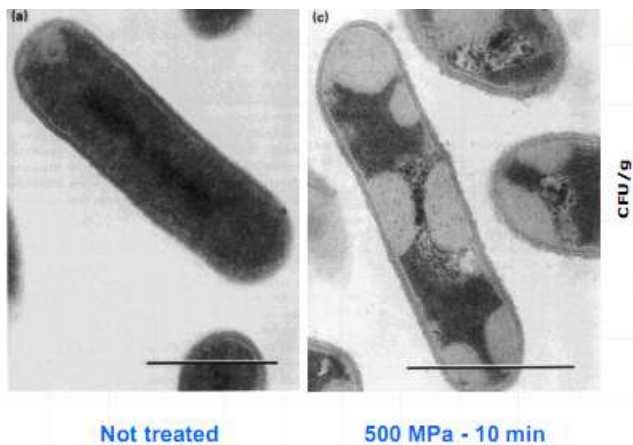


Fig. 7. *Listeria monocytogenes* 전자현미경 사진(조형용, 2014)

(나) 유제품 HPP 적용 압력

치즈 제조 전 우유 살균을 위한 HPP 살균은 렌넷응고 시간의 지연을 초래 하는 것으로 알려져 있다. 소수성결합의 노출 증가시킴으로서 겔응고성을 증가시키고 렌넷응고 시간을 단축시킬 수 있다. Messens 등(1998)은 200 MPa이상의 압력에서 고다 치즈를 살균 시 κ -casein의 가수분해를 가속화시킨다고 하였다.

(다) 사과주스 HPP 적용 압력

일반적으로 사과 주스나 농축액에서 문제시 되는 것이 바로 균들이 생성하는 독소인 patulin이다. Bruna 등은 사과농축액 및 사과주스에서 가열살균 시 패툴린 함량에 큰 감소를 보이지 않았으나 HPP 300, 500, 800 MPa 60분간 처리 시 사과 농축액에서 16, 20, 23% 감소를 보였고, 사과주스에서 42, 53, 62% 의 감소를 보였다(San Martin 등, 2002).

※ Patulin: Aspergillus, Penicillium, Bysochlamys균에서 생산하는 독소

(4) 식품가공 분야에 활용되는 산업용 초고압 장치 기술현황

초고압 장비를 식품가공에 활용하는 국가들은 유럽, 미국, 일본이 주도하고 있으며 NC Hyperbaric(스페인), Avure(미국), 미쯔비시중공업(일본)등에서 상업적 규모의 장치를 생산 판매하고 있다.



Fig. 8. AVURE 초고압기



Fig. 9. NC Hyperbaric 초고압기



Fig. 10. 미쯔비시 초고압기 (김성수 등, 2010)

나. HPP의 장점

기존의 열처리에 비해 초고압 처리가 갖는 주요 장점으로 다음과 같은 것들이 제시되었다.

Table 6. 비가열살균기술 특징

	HPP	Thermal processing
품질	높은 품질의 chilled products 생산 (고기, 과일, 야채, 허브 등)	고품질 신선식품에 적용 힘들
	제품 손상도 낮음	
	텍스춰 변형: 고기연화, 동물성 단백질(계란베이스등) 활용	
	갑각류의 껍질제거에 용이 (굴, 조개등의 해산물)	
	가열살균에 비해 영양소 손실 최소화	
	공유결합, 수소결합에 영향 주지 않음	
	압력 일정해서 처리정도에 따른 품질의 차이가 존재하지 않음	
	고품질 신선식품 제조 가능	
안전성	완제품포장 후 살균 (재 오염 없음)	식중독, 부패 미생물 제어 효율적
	유통기한 연장(보존제 무첨가)	
관능	매우 우수한 관능	식품의 조직감, 색, 향기 등 변화
	저분자 화합물의 변화 최소화 (향, 냄새, 영양성분)	
관리	부피가 큰 샘플 처리에 용이	
	파우치 형태 bag 이용 살균 가능	
에너지	에너지 소비가 매우 적음	
환경	폐수 최소화	
	원하지 않는 화합물 생성 촉진 안됨	
기타	Novel food (유럽연합집행위원회 선정)	

제품의 품질 면에서 고기, 과일, 야채와 같은 신선식품의 경우 열처리를 하게 되면 텍스춰, 풍미 등이 원재료로서 가치가 저하되고 맛에서도 현저한 차이가 나게 된다. 하지만 고압살균을 하게 되면 영양소의 가치는 보유하면서 품질은 가열전과 유사하게 보존되기 때문에 관능적 영양적 특성을 유지하며 유통기한을 연장 할 수 있게 된다. 예를 들어 Pectin, gum 살균 시 열을 가해야 되는데 과일 가공품 일 경우 열에 극도로 민감하기 때문에 열대신 압력을 사

용하여 미생물을 사멸 할 경우 제품에 영향을 미치지 않으므로 과일, 해산물 등에 적용하여 유통기한을 연장 시킬 수 있다.

또한 일정한 정수압으로 처리되기 때문에 제품의 살균처리에 있어 품질의 차이가 나지 않는다. 최근에는 갑각류 등의 해산물의 살균으로 초고압 처리를 할 경우 원물의 상태를 최대한 보존하면서 껍질을 쉽게 제거 할 수 있게 되어 소비자입장에서 편리한 장점이 있다.

가열처리의 경우 제품 제조 시 가열살균 처리 후 포장을 거치기 때문에 재오염 가능성이 배제 될 수 없으나 HPP살균의 경우 최종 소비자가 받는 완제품으로 살균하기 때문에 재오염 가능성이 전혀 없다. 또한 살균을 하는 동안 발생 할 수 있는 폐수가 줄어들게 되고 열처리로 인한 가열 살균 시 발생 할 수 있는 화합물이 생성되지 않으므로 안전한 제품을 생산 할 수 있다(Galindo 등, 2007).

다. HPP 단점

표준생산시스템 구축에 20억 원 정도 소요되는 등 초기 투자 비용이 높고 초고압 응용 신제품에 대한 불확실성이 있을 수 있다.

라. Packaging

보존기술로서 HPP의 산업에 적용하기 위해서 Package는 중요한 요소이다. 압력에 견딜 수 있는 견고하고 유동성이 있는 재질이어야 한다. 예를 들어 Polyethylene(PE), Polyethylene terephthalate(PET), Polypropylene(PP), Ethylene-vinyl alcohol(EVOH), Polyamide(PA), Nylon film 등이 있다. Juliano 등(2010)은 vessel 용적의 이용을 최대화하기 위해 30%까지 헤드스페이스를 최소화하라고 권장하였다. 대개 HPP vessel은 vessel 디자인과 package의 모양에 따라 용적의 50~70%를 활용할 수 있다(Lambert 등, 2000).

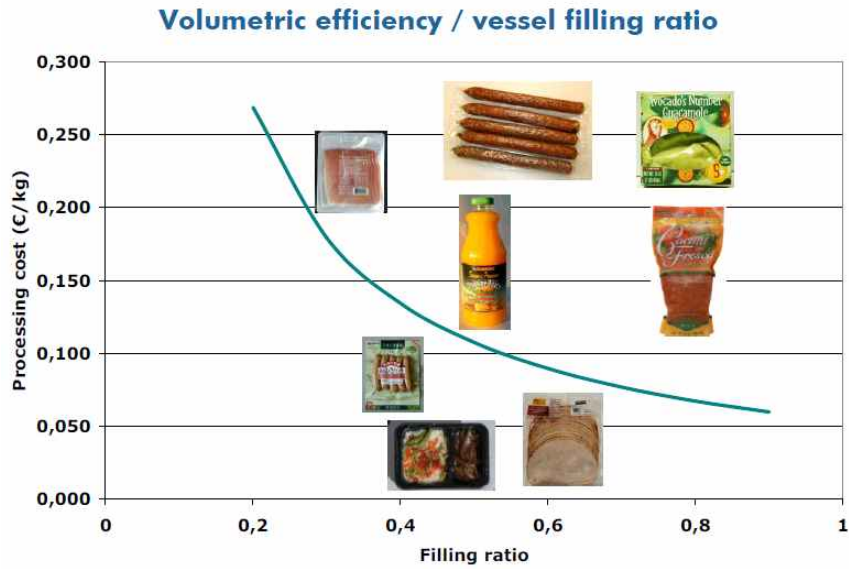


Fig. 11. Filling ratio와 cost관계(조형용, 2014)

위의 그래프를 보면 Filling ratio가 커질수록 HPP 처리 비용이 줄어들음을 알 수 있다. 해산물의 경우 300 MPa/1min로 비교적 낮은 압력 대에서 처리가 가능하고 즉석식품의 경우 590 MPa/3min으로 높은 압력에서 처리가 필요한 것을 알 수 있다.

Table 7. 비가열살균기술

product	seafood	Juice	RTE	RTE Pouch
Pressure (MPa)	300	450	590	590
Holding time (min)	1	1	3	3
Filling ratio	0.7	0.5	0.5	0.8

(NC Hyperbaric 자료)

5. 국내외제품 HPP 적용 및 시장현황 연구

가. 초고압 기술 응용 현황

초고압 기술은 풍미와 조직감을 유지하고 천연물 추출공정에도 이용되며, 미생물과 효소를 불활성화 시켜 살균 효과를 낼 목적으로도 사용된다. Skimmed milk에서 *E. coli* K12를 불활성 시키기 위해, cooked ham에서 *Salmonella* sp를 억제하기 위해서 사용되고 포도 껍질에서 anthocyanins을 추출하기 위해 이용되고 있다.

국내에서는 90년대 말부터 lab규모의 장치를 이용하여 비열살균에 의한 저장기간 연장, 단백질, 전분 등 생체 고분자성분의 변성, 가압에 의한 반조리, 기능성 식품개발 분야 등에 응용연구를 시작하여 식품에의 응용관련 특허 현황에서와 같이 다양한 연구가 시도 되었으나 상업적 규모의 생산이 가능한 장치 및 시스템의 부재로 상용화가 이루어지지 못하고 있는 실정이다.

2006년에 상업적 규모의 시스템이 본 기술이전을 실시하고자 하는 (주)다손과 전략적 제휴를 맺은 해진물산에 도입(미국의 Avure사, 215L)되어 굴가공에 적용, 일본수출 및 국내시장에 제품 출시를 준비하고 있으며 2007년에는 동원 F&B에 일본 미쓰비시사(현 고베철강) 초고압기가 도입되어 썬룩이라는 즉석밥을 생산 및 판매하고 있고 전남 생물센터에 pilot 규모의 장비로서 미국의 Avure사의 35L급 장비가 도입되어 태평양의 인삼가공 제품에 활용되다가 규모의 문제로 2008년 1월에 해진물산에서 OEM을 하고 있다.

국내에서 초고압살균 기술을 무방부제·무첨가제 생과일 주스 제품에 적용한 경우는 풀무원의 '아임리얼(I'm real)'제품이 처음이며 2010년 5월부터 백화점 및 대형마트에서 판매를 하고 있다. '아임리얼'의 경우 2007년 말에 출시되었지만 유통기한이 5일밖에 되지 않아서 매우 한정된 지역의 전문매장에만 공급되고 있었으나 초고압살균기술을 활용하여 유통기한이 14일로 연장됨에 따라 그 판매처가 급증하였다. 또한 동원에서 초고압 기술을 이용하여 즉석밥을 제조하여 시판하고 있다(김성수 등, 2010)

우리나라에서 초고압 기술에 대한 연구는 많이 이뤄지지 않고 있으며 와인, 좁쌀, 탁주, 돈육, 미생물 살균 및 고추장 등에서 연구가 있었으나 그 편수가 많지 않다. 최근 국내에서는 대나무에서 항산화 활성물질을 추출하거나, 굴의 저장성을 증진하기 위해 그리고 인삼을 가공하는 방법으로도 연구되고 있다.

Table 8. 국내 초고압관련 연구현황

연구수행 기관	연구개발의 내용	연구개발성과의 활용현황
한국식품연구원	초고압에 의한 신선육 및 가공육의 저장성향상에 관한 연구	식육의 숙성 기간 단축 및 냉장육의 유통기한 연장, 대외 경쟁력 향상
(주) 건국유업, 건국햄	High pressure Low temperature 기술을 이용한 새로운 축산식품 가공처리 기술개발	
경원대학교, 제주대학교	초고압 처리한 좁쌀약주의 저장 중 미생물수, 효소활성 및 품질변화	품질변화를 줄이고 저장성 있는 전통주의 개발
이화여자대학교, (주)동원F&B	초고압 처리 즉석밥의 생물학적 특성	즉석밥의 생물학적 특성을 살펴봄으로써 새로운 즉석밥 개발

나. 식품가공 분야에 활용되는 산업용 스케일 초고압 장치 개발 분야 기술현황

초고압 장비를 식품가공에 활용하는 국가들은 유럽, 미국, 일본이 주도하고 있으며, NC Hyperbaric(스페인), Avure(미국), 미쯔비시중공업(일본)등에서 상업적 규모의 생산 및 판매하고 있다. NC Hyperbaric사 제품은 세계시장 점유율이 70%에 이르므로 기술력은 NC Hyperbaric> AVURE> 미쯔비시상사(고베)로 판단된다.




제조사	회사개요	설비개요	국내외 설치업체
 (스페인)	<ul style="list-style-type: none"> · 1999년 스페인 Burgos에서 설립 · 50년 동안 정밀산업 기기 제작 · 식품산업의 초고압장비 분야에 세계 선두 · IFT(Food Expo Innovation) 수상 (2008년도) 	<ul style="list-style-type: none"> · 형태: 수평형 설계 · 압력: ~6,000 bar · 온도: 5~50℃ · 설치가 용이하며, 식품 산업에 특화된 설계임 · 내구성/사용 편리성 우수 	<ul style="list-style-type: none"> · 국내: 풀무원 (신선음료 및 녹즙가공) · 해외: 전세계 약 50개 정도 가동됨(스페인, 이태리, 독일, 그리스, 폴란드, 미국, 캐나다, 호주, 일본 등)
 (미국)	<ul style="list-style-type: none"> · 1999년에 ABB로부터 초고압장비 부분을 Avure사에서 인수함 · 수직형 기기를 제조하고 있으며 최근에 수평형 기기를 출시함 	<ul style="list-style-type: none"> · 형태: 수직형 설계 · 최근에 수평형 개발 되었으며, 개발 초기에 1대를 판매하였음 · 압력: ~6,000 bar · 온도: 5~50℃ · 글로벌 식품산업 진출은 NC사 보다 늦음 · 현재 AS지원이 문제 되고 있음 	<ul style="list-style-type: none"> · 국내: 해진물산 · 해외: 전세계 약 20개 정도 가동됨(캐나다, 미국 등)
 (일본)	<ul style="list-style-type: none"> · 살균보다는 식품가공에 활용되는 장비임 · 비가열 살균에는 부적당한 설비임 	<ul style="list-style-type: none"> · 형태: 수직형 설계 · 압력: ~4,000 bar 	<ul style="list-style-type: none"> · 국내: 동원(밥: 쉐록 가공) · 해외: 주로 일본 내에서 사용됨

Fig. 12. 초고압 장치 국외 현황(김성수 등, 2010)

다. 식품에 대한 초고압처리 가공분야 기술현황

고압 하에서의 생물학적/생화학적 변화를 살펴보면 다음과 같이 구분된다.

Table 9. 비가열살균기술에 의한 변화 (김성수 등, 2010)

MPa(압력)	효과	비고
100	단백질 해리, 세포막의 파괴, 효소반응속도의 변화	
200	효소의 가역적 불활성화	
300	미생물 사멸, 바이러스 사멸	
400	전분의 호화, 단백질 변성 및 침전	
500	효소의 비가역적 불활성화	
600	내열성 포자의 사멸	

2010년 현재 세계적으로 56개(한국4개) 기업이 상업적 규모의 장치를 갖추고 있으며, 종업원 50명 이하의 기술 집약형 중소기업이 37% 정도를 차지하고 있다.

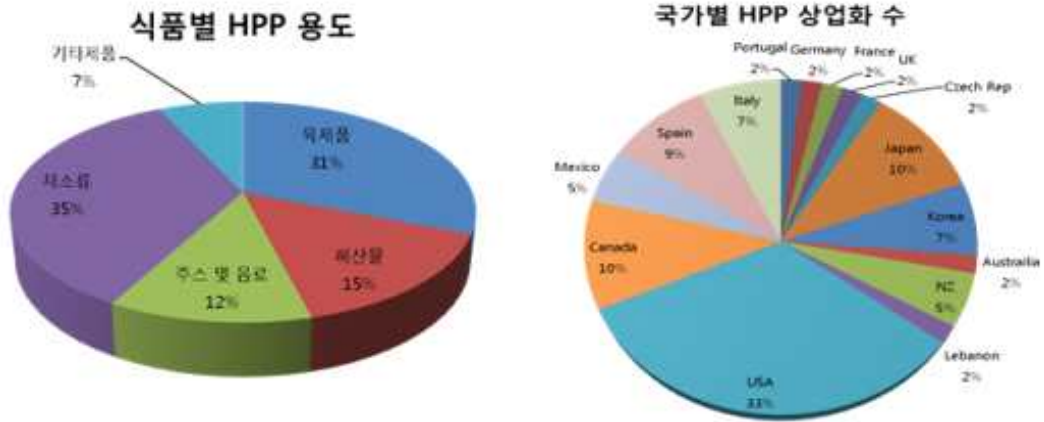


Fig. 13. 식품별 HPP 용도 및 국가별 상업화수

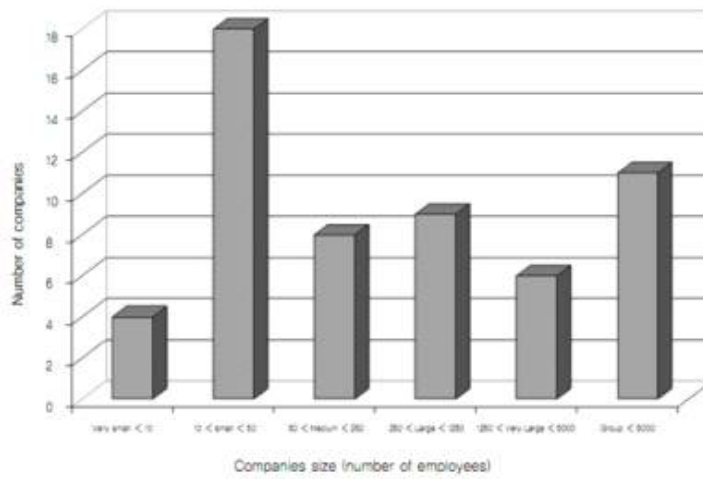


Fig. 14. HPP 설비업체의 규모(김성수 등, 2010)

라. 국외 시장 HPP 상업화 상품

Table 10. 비가열살균기술을 이용한 국외제품 (조형용, 2014)

	제조원	이미지	제조국
아보카도	AVOMEX		미국
	VERFRUCO		멕시코
알로에	FAROC		멕시코

			
살사소스	FRESCO		미국
과일	Donny Boy		호주
햄, 칠면조	Campofrio		스페인
	MRM		스페인
	MARTIKO		스페인
	Ferrarini-Vismara		이탈리아
	Vismara		이탈리아
	Confidential		그리스
햄	Abraham		독일
	Dil		독일
	ITOHAM		일본
	SANTA MARIA FOODS		캐나다
	HORMEL		미국

	FOSTERFARMS		미국
	KRAFT FOODS		미국
애견사료	STELLA & CHEWY'S		미국
분쇄육	Zwanenberg		네덜란드
과일스낵	LEAHY ORCHARD		캐나다

마. 국내 시장 HPP 상업화 상품

국내에 HPP를 이용한 제품으로는 대부분 주스나 스무디에 이용되고 있고, 해외사례와 같이 육제품에 이용되는 사례는 아직 드물다. 주스의 경우 가열농축액을 물과 희석한 가열농축 주스가 이전에 시판되었다면 최근의 트렌드는 생과일을 착즙하여 HPP로 살균처리한 주스 및 스무디 제품이 상용화 되고 있다. 저스트주스는 고급백화점에 입점되어 있으며 유기농 생과일을 갈아 초고압 살균한 주스를 판매하고 있다. 이밖에도 암환자들을 위해 개발되었고 우리나라에서 해독주스라고 알려진 주스를 HPP처리 살균한 참좋은 야채주스 이외에도 CJ에서 내놓은 스퀴즈 주스가 있다.

국내 HPP제품에서 가장 인기 있는 제품은 풀무원의 아임리얼 제품이다. 현재 11종의 다양한 flavor로 판매되고 있고 국내 시판 HPP 상용화제품 중에서 가장 성공한 제품이라고 할 수 있다. 주스 이외에 즉석밥 제품으로 300MPa의 초고압 살균으로 동원에서 출시한 썬콕이 있다.

Table 11. 비가열살균기술을 이용한 국내 제품

	제조원	상품명	이미지	비고
주스	올가니카	저스트주스		
	CJ 제일제당	스퀴즈주스		
	상락수	해독주스		
	풀무원	아임리얼		NC Hyperbaric
즉석밥	동원	썬콕		

Table 12. HPP 살균 제품 및 생산국가(Barbosa–Canovas와 Juliano, 2008)

Product types	Countries*	Shelf life achieved (4°C to room temperature)
Juices and beverages	Japan, France, Mexico, USA, Lebanon, UK, Portugal, Italy, Ireland, Czech Republic	21 d. to 12 mo.
Vegetable products	Japan, USA, Italy, Canada	1 to 6 mo.
Meat products	Japan, Spain, USA, Italy	21 d. to 2 mo. (cooked products)
Seafood products	Japan, USA, Australia, Canada, Spain	10 d. to 2 mo.

*Countries are listed in order of product appearance in the market

6. 축산물의 미생물 제어 효과 연구 및 목적 제품의 관리 규격기준 및 규격 표준화 연구

가. 우유의 미생물 제어효과연구

(1) 재료 및 방법

(가) 초고압 처리

원유 시료의 HPP 처리는 Hiperbaric Co.,(Burgos, Spain)사의 NC Hiperbaric 420장비를 이용하여 550–600 MPa의 조건으로 수행하였다.

(나) 원유의 잔존 미생물 분석

HPP 처리 후 원유 내 잔존하는 미생물 분석은 다음과 같이 수행하였다. 550 MPa (HPP A, 550 MPa, 3분) 및 600 MPa (HPP B, 600 MPa, 3분)의 조건에서 3분간 처리한 HPP 원유를 4°C 냉장온도에서 15일 동안 저장하면서 일반세균수, 유산균수 및 대장균군수를 측정하였다. 저장 기간에 따라 시료를 취하여 멸균생리식염수에 10진희석하여 일반세균은 Plate Count Agar(PCA) 배지(BD Difco, Detroit, MI, USA), 총 유산균수는 BCP Plate Count(BCP) 배지(Eiken Chemical Co., Tochigi, Japan), 대장균군은 3M Petrifilm™ *E. coli*-Coliform plates(3M Co., St. Paul, MN, USA)에 도말하였다. 각각 30°C에서 48시간, 30°C에서 72시간, 30°C에서 24시간 배양하였고, BCP 배지의 경우 GasPak EZ Container System(BD, Sparks, MD, USA)을 사용하여 혐기 배양하였다.

(다) 통계분석

실험결과의 통계분석은 PASW Statistics 18(SPSS Inc., Chicago, IL, USA)을 이용하여 분산분석(One-way ANOVA)을 실시하였고, 실험군 간의 비교를 위한 사후분석은 Duncan's multiple range test ($p < 0.05$) 수준에서 검증하였다. 모든 분석항목은 3반복 시험하여 얻은 결과를 평균±표준편차로 나타내었다.

(2) 결과 및 고찰

HPP 처리에 따른 원유의 살균 효과를 알아보기 위하여 원유를 상온 15℃에서 550 및 600 MPa의 조건으로 각각 3분 동안 초고압 처리를 하였으며, 그 후 시료를 냉장온도 4℃에서 15일동안 저장하면서 일반세균, 유산균 및 대장균군 수의 변화를 측정하였다. Fig. 14에서와 같이 저장 1일차 대조군로 사용된 무살균 우유의 일반세균수는 4.09 log CFU/ml로 나타났으며, HPP A의 경우 1.34 log CFU/ml로 대조군에 비하여 2.75 log CFU/ml 감소하였고, HPP B는 0.85 log CFU/ml로 3.25 log CFU/ml 정도 감소하였다. 이는 HPP의 처리 압력이 높을수록 효율적으로 일반세균이 제어되는 것을 나타낸다. 또한 저장 기간 중 HPP 처리구의 일반세균 수는 대조군과 비교하여 약 2-3 log CFU/ml의 감소 효과를 15일간 유지하였다. 열살균 우유 시료인 HTST와 UHT는 15일 동안 일반세균이 검출되지 않았으나, LTLT 처리 우유는 저장 15일차 일반세균이 약 3 log CFU/ml 수준으로 검출되었다. 이러한 결과는 600 MPa의 압력 하에 3분간 우유를 HPP 처리할 경우 LTLT 수준으로 살균 효과를 갖는다는 것을 나타낸다. 유산균의 경우 비살균 대조군의 경우 3.41 log CFU/ml로 HPP A의 log CFU/ml 보다 2.56 log CFU/ml 정도 감소하였고, HPP B는 log CFU/ml로 2.93 log CFU/ml 만큼 감소하였다. 550 MPa 조건 보다 600 MPa 처리 조건이 더 큰 유산균 제어 효과를 나타냈으며, 이러한 경향은 일반세균과 마찬가지로 15일간 저장 중 꾸준히 유지되었다. 대장균군의 수는 초기 비살균 우유에서 3.04 log CFU/ml로 검출되던 것이 15일차에서 5.85 log CFU/ml로 증가하였으나, HPP 처리 군에서는 모두 불검출 되었다. Huppertz 등(2006)은 원유를 600 MPa로 처리할 경우 4 log CFU/ml이상의 일반세균 감소효과가 나타난다고 보고하였는데 본 연구에서는 2-3 log CFU/ml 정도의 일반세균 및 유산균 제어효과가 나타났다. 이는 각각의 연구에 사용한 초고압살균기의 크기 및 초고압 처리 시간 등이 다른 것에 기인한 것으로 사료된다.

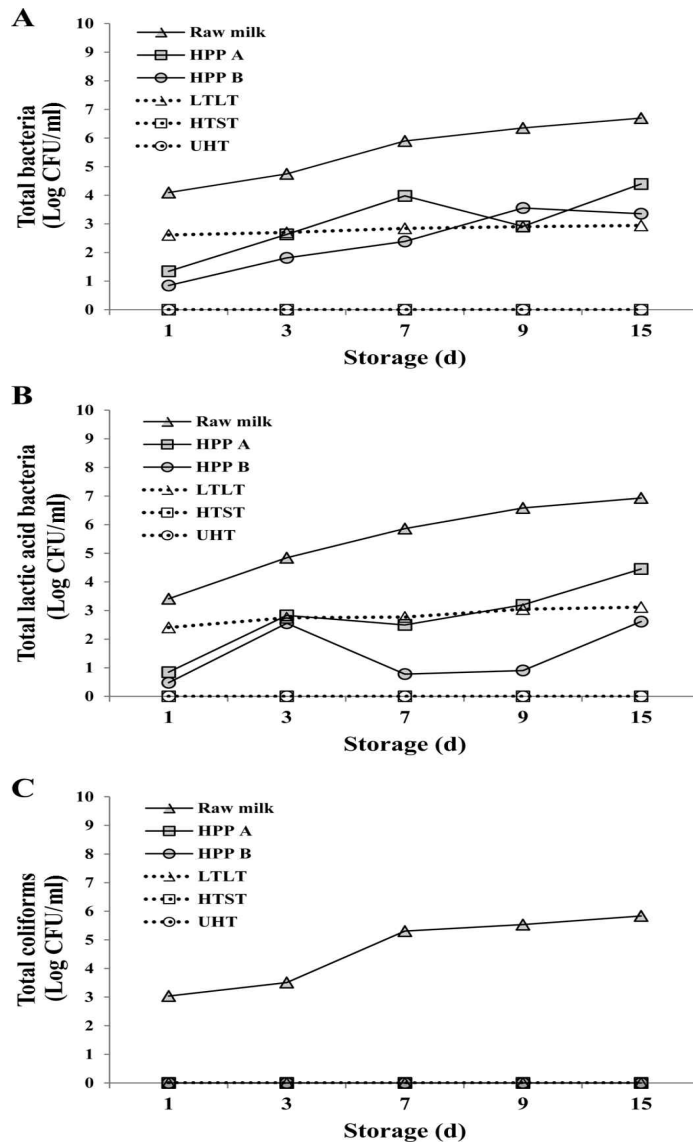


Fig. 15. (A) Total bacteria, (B) Total lactic acid bacteria, (C) Total coliforms from raw milk or high pressure-treated milk during storage at 4°C. HPP A; high pressure-treated raw milk at 550 MPa for 3 min, HPP B; high pressure-treated raw milk at 600 MPa for 3 min.

나. 관리 규격기준 및 규격 표준화 연구

Table 13. 축산물의 자가 품질 검사기준표 확립

구분	현행 축산물의 가공기준 및 성분규격	HPP 축산물 설정 기준	비고
공통기준			
살모넬라			
황색포도상구균			
클로스트리디움 퍼프린젠스	n=5, c=0, m=0 / 25 g	n=5, c=0, m=0 / 25 g	
리스테리아 모노사이토제네스			
장출혈성 대장균			
우유류			
일반세균	n=5, c=2, m=10,000, M=50,000	n=5, c=2, m=1,000, M=10,000	
대장균군	n=5, c=2, m=0, M=10	n=5, c=2, m=0, M=5	
발효유류			
대장균군	n=5, c=2, m≤3, M=10	n=5, c=2, m≤3, M=10	
유크림류			
일반세균	20,000 이하 /g	20,000 이하 /g	
대장균군	n=5, c=2, m≤3, M=10	n=5, c=2, m≤3, M=10	
자연치즈류			
대장균	n=5, c=1, m=10, M=100	n=5, c=0, m=0 / 25 g	
황색포도상구균	n=5, c=2, m=10, M=100	n=5, c=0, m=0 / 25 g	
클로스트리디움 퍼프린젠스	n=5, c=2, m=10, M=100	n=5, c=0, m=0 / 25 g	

제 3절. 제 1 협동

자연친화적 건강기능성 젓소고기 제품 연구

* 위의 젓소고기 명칭은 “홀스타인 거세 육우” 임을 미리 고지합니다.

1. 자연친화적 육우 고기의 기능적 품질에 관한 연구

가. 연구 목적 및 배경

HPP는 비가열 식품보존기술로서 저온에서 살균을 하였기 때문에, 영양성분에 미치는 영향을 최소화 할 수 있으며, 화학 첨가제를 사용하지 않았음에도 불구하고 식품의 신선도가 유지되기 때문에 부가가치 측면에서 효과가 있다고 보고되었다(Bajovic 등., 2012). 또한 고기 품질에 영향을 미치는 지표인 육색, 연도, 조직감, pH, 지방산화, 항산화효소 활성, 향기성분이 HPP 처리를 하였을 때 어떤 효과가 나타나는지를 알아보기 위한 연구가 보고되고 있다.

DFD 쇠고기는 도축 전 근육 내 글리코겐의 고갈로 인해 바람직하지 않은 관능적 특성 및 높은 pH(>6.0)가 나타나는 것으로 보고되었다. 또한 DFD 쇠고기는 육색, 연도, 풍미에서 소비자들이 선호하지 않는 조건을 갖고 있다. 그리고 정상육 보다 미생물에 의한 오염이 빨리 촉진된다. 이를 개선하기 위해 연육제와 발색제는 품질 향상에 기여할 수 있다. 그러나 최근 건강이 트렌드인 식품산업에서 이들은 문제를 일으킬 수 있다. Chan 등.(2011) 은 PSE 칠면조 고기를 4 °C에서 200 MPa의 고압처리를 하였을 때 품질 향상 효과가 있다고 보고하였다.

따라서 본 연구는 비가열초고압처리에 따른 DFD 거세육우 등심 부위가 물리화학적 품질특성에 어떤 효과를 나타내는지 알아보기 위한 목적으로 실시하였다.

나. 재료 및 방법

(1) 시료

육우고기의 육질평가를 위해 (주)에코그린캠퍼스에서 사육한 33.5개월령 육우 거세우를 우리나라 일반 도축장에서 도축하였다. 육우고기는 등심 부위(두께 2.5cm) 냉장육을 사용하였고, Dark-Firm-Dry (DFD) 특징이 나타났으며, 따라서 등외판정을 받았다. 시료들은 진공포장(약 350g) 하였으며, 이를 (주)홍국F&B에서 High Pressure Processing (HPP) 처리한

후 실험실로 옮겨와 실험의 재료로 사용하였다. 시료는 0, 3, 6, 9일 동안 4 ± 1 °C에서 냉장 보관하였다.

(2) 시험방법

High Pressure Processing(HPP)은 0.1 MPa(대기압)인 대조군과 200, 400, 600 MPa 처리구로 나누어 실시하였으며, 350 L chamber (QFP 350L-600, Avure Technologies, US) 를 이용하여 수온 15 ± 2 °C 에서 HPP 처리를 하였다. 가압, 압력유지, 감압시간은 평균적으로 각각 56.3초, 180초, 12.2초가 소요되었다.

시료의 표면육색은 chroma meter(CR-400, Konica Minolta Sensing, Inc., Japan)를 이용하여 CIE L*(lightness), a*(redness), b*(yellowness) 및 C*(chroma= $[a^2+b^2]^{1/2}$)를 측정하였으며, Eagerman 등(1977)의 방법에 따라 총육색(total color= $\{L^*a^2\}/b^*$)을 산출하였다. 이때 calibrate plate (2° observer)의 illuminant C는 Y=93.6, X=0.3134, y=0.3194 이었다.

pH는 시료 5 g과 증류수 50 mL를 homogenizer (PH91, SMT Co., Ltd., Japan)로 10,000 rpm에서 1분 동안 균질한 다음 pH meter(SevenEasy pH, Mettler-Toledo GmbH, Switzerland)로 측정하였다.

마이오글로빈 함량은 DeoxyMb, OxyMb, MetMb의 상대적 농도(%)를 Krzywicki(1982)의 방법에 의해 실시하였다. 시료 5g과 40 mM potassium phosphate buffer (pH 6.8, 4°C) 25 ml을 50 ml centrifuge tube에 넣은 후 4°C에서 13,000 rpm 으로 10초 동안 균질한 다음 4°C에서 1시간동안 방치하였다. 이 후 4°C에서 3700 rpm으로 30분 동안 원심분리한 후 상등액의 흡광도를 525, 545, 565, 572 nm(UV-2401PC, Shimadzu Corp, Nakagyo-ku, Kyoto, Japan)에서 측정하였다. 최종적으로 DeoxyMb와 OxyMb의 농도는 Krzywicki(1982)의 수식에 의해 산출하였으며, MetMb의 농도는 $100 - [DeoxyMb(\%) + OxyMb(\%)]$ 로 산출하였다.

가열감량은 polyethylene zipper bags에 두께 2.5 cm 크기의 고기를 넣고 밀봉한 다음 수조에 가열하여 고기의 중심온도가 72 °C가 된 다음 꺼내어 2 ± 2 °C에서 하룻밤을 저장한 후 무게를 측정하였다. 이때 발생한 육즙의 양을 시료 초기무게의 백분율(%)로 산출하였다.

전단력(WBSF)은 가열감량을 측정된 시료들을 각각 $1 \times 1 \times 1 \text{ cm}^3$ 로 성형한 다음 Warner-Bratzler shear blade를 장착한 texture analyser(TA-XT2i version 6.06, Stable Micro Systems Co., Ltd, UK)로 전단력(Warner-Bratzler shear force, WBSF)을 측정하였으며, blade와 근섬유 방향이 평행하도록 절단하였다. 이때 분석조건은 load cell 5 kg, pretest speed 5.0 mm/sec, test speed 2.0 mm/sec, posttest speed 5.0 mm/sec이였으며, 분석된 결과는 kg으로 산출하였다.

Puncture test는 시료를 $1 \times 1 \times 1 \text{ cm}^3$ 로 성형한 후 $\phi 35 \text{ mm}$ 의 cylindrical probe가 장착된 texture analyzer(TA-XT2i version 6.01, Stable Micro Systems Co., Ltd., UK)를 이용하여 hardness(kgf), springiness, cohesiveness, gumminess 및 chewiness, resilience 를 측정하였다. 분석 조건은 pretest·test·posttest speed 1 mm/sec로 시료 높이의 75%를 2회 압착하여 측정하였다.

지방산화는 Sinnhuber와 Yu(1977)의 TBARS(2-thiobarbituric acid reactive substances) 방법을 약간 수정하여 실시하였다. 시료 0.5g 과 항산화제(54% propylene glycol+40% Tween 20+3% BHT+3% BHA) 3방울, 1% TBA 3mL, 25% TCA 17mL를 혼합하고, 98°C water bath(OB-25E, Jeio Tech, Korea)에서 30분 동안 가열한 후 얼음물에 담가 10분 동안 냉각하였다. 이후 상등액 5mL를 취하여 chloroform 3mL를 넣고 실온에서 3,500rpm으로 30분 동안 원심분리(GS-6R Centrifuge, Beckman Instruments Inc., USA)한 다음 상등액의 흡광도를 532nm에서 측정(UV-mini-1240, Shimadzu, Japan)하였다. 최종 수치는 시료 1kg당 mgMA(malonaldehyde)로 산출하였으며, blank는 증류수 0.5mL를 사용하였다.

항산화효소 활성은 시료 5g과 50 mM phosphate buffer(pH 7.0) 25mL를 homogenizer (Ultra-Turrax T25basic, Ika Werke GmbH & Co., Staufen, Germany)를 이용하여 13,500 rpm에서 15초 동안 균질한 후 2°C, 3000rpm에서 15분 동안 원심분리하였다. 분리된 상등액은 지방과 결체조직을 제거하기 위해 Whatman filter paper No. 1 으로 여과하였으며, 이를 항산화 효소의 활성 측정에 이용하였다. CAT 활성은 Aebi(1983)의 방법에 의해 실시하였다. 상등액 100 μL 를 30 mM H₂O₂ 용액(in phosphate buffer, pH 7.0) 2.9mL에 첨가 후 240 nM에서 30초 동안 H₂O₂ 의 감소를 측정하였으며, CAT 1 unit은 1분 동안 1 μmol H₂O₂를 소거시키는데 필요한 시료량(g)으로 산출하였다. GPx 활성은 DeVore & Greene 에 따라 약간 변형된 방법에 의해 실시하였다. 상등액 100 μL 와 2 mM EDTA-2 mM NaN₃-5 U/mL GR-10 mM GSH-1.5 mM NADPH 용액(in phosphate

buffer, pH 7.0) 0.8 mL의 혼합물에 1.5 mM H₂O₂ 용액(in phosphate buffer, pH 7.0) 100 μ L를 첨가 후 340 nm에서 NADPH를 산화시키는데 필요한 시료량(g)으로 나타내었다.

향기패턴은 시료 2 g을 10 mL headspace vial에 넣고 PTFE/rubber septa와 aluminium cap으로 밀봉한 다음 autosampler(HS100, Alpha MOS, Toulouse, France)에 의해 60°C에서 500 rpm으로 교반하면서 600초 동안 향기성분을 추출하였다. Headspace 가스를 autosampler의 syringe(45°C)로 2.5 mL씩 뽑은 후 12개의 metal oxide 센서가 내장된 전자코(FOX3000, Alpha MOS, Toulouse, France)의 injector에 주입하였으며, carrier gas와 flow는 air 및 150 mL/min이었다. 분석된 결과는 principal component analysis(PCA, Alpha soft version 8.01 software, Alpha MOS, Toulouse, France)에 의해 처리되었다.

(3) 통계분석

본 실험을 통해 얻은 모든 자료는 Agricolae(R-version 3.1.2) 프로그램의 ANOVA(Analysis of variance)에 의해 통계분석(The R-foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria)을 실시하였으며, 각 평균들 간의 유의성 차이는 Duncan's multiple range test에 의해 5% 수준에서 검증하였다.

다. 결과 및 고찰

(1) 비가열 초고압 처리에 따른 DFD 거세육우 등심 부위의 물리화학적 품질특성

Table 1.1은 서로 다른 압력으로 처리한 DFD 쇠고기 등심 부위의 pH와 마이오글로빈 조성을 나타내고 있다. pH를 보면 대조군인 0.1 MPa 에서 pH가 6.17로 다른 처리구들에 비해 유의적으로 낮았다($p < 0.05$). 그러나 압력을 가한 처리구간의 유의적인 차이는 없었다.

마이오글로빈 함량은 DeoxyMb, MetMb이 0.1 MPa에서 각각 16.51%, 2.93% 으로 다른 처리구들에 비해 유의적으로 낮았으며($p < 0.05$), 압력이 증가할수록 각각의 함량이 증가하는 경향을 보였다. 반면 OxyMb는 600 MPa에서 61.5%로 대조군의 82.51% 에 비해 유의

적으로 낮게 나타났다($p < 0.001$). 이는 비가열 초고압 처리가 산성기 감소를 일으키고 단백질 변성을 촉진시키기 때문이며, 200 MPa에서 actomyosin이 압력에 의해 변성되어 pH가 증가한 사례도 보고되어 있다.

Table 1.1 pH and myoglobin composition of DFD beef loin treated with different pressure

Parameter	0.1 Mpa	200 Mpa	400 Mpa	600 Mpa	SEM
pH*	6.17 ^b	6.21 ^a	6.32 ^a	6.30 ^a	0.03
Total Mb (mg/g)	6.74	6.86	6.72	6.47	0.10
DeoxyMb (%)***	16.51 ^c	17.05 ^c	23.72 ^b	30.80 ^a	1.43
OxyMb (%)***	82.51 ^a	80.66 ^a	66.66 ^b	61.50 ^b	2.29
MetMb (%)*	2.93 ^b	6.87 ^{ab}	9.62 ^a	11.55 ^a	0.80

SEM, standard error of the means; ^{a-c} Means within each row with different superscripts are significantly different: * ($p < 0.05$), *** ($p < 0.001$).

육색은 육질을 판단하는 지표 중 하나이며, 소비자들이 고기를 구입할 때 고려하는 품질 특성 중 하나이다. Table 1.2는 서로 다른 압력으로 처리한 DFD 쇠고기 등심 부위의 표면육색 차이를 나타내고 있다. 명도, 적색도, 황색도를 보면 압력이 증가할수록 유의적으로 높게 나타났다고($p < 0.001$). 특히 적색도를 보면 400 MPa에서 대조군에 비해 유의적으로 높게 나타났다고($p < 0.001$).

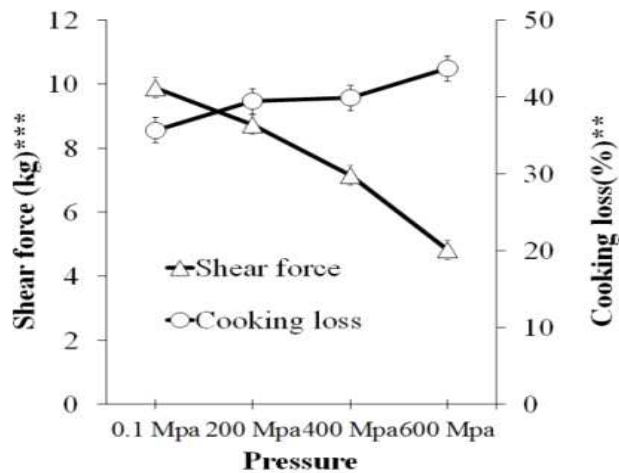
Table 1.2 Instrumental surface color of DFD beef loin treated with different pressure

Parameter	0.1 Mpa	200 Mpa	400 Mpa	600 Mpa	SEM
Lightness (L^*)	34.05 ^c	40.92 ^b	44.46 ^b	50.18 ^a	1.01
Redness (a^*)	13.83 ^b	15.27 ^{ab}	16.28 ^a	11.49 ^c	0.27
Yellowness (b^*)	1.46 ^c	2.35 ^c	3.53 ^b	6.92 ^a	0.31

^{a-c} Means within each row with different superscripts are significantly different ($p < 0.001$).

Fig 1.1은 서로 다른 압력으로 처리한 DFD 쇠고기 등심 부위의 연도를 나타내는 전단력과 가열감량을 보여주고 있다. 가열감량($p < 0.01$)과 전단력($p < 0.001$)은 유의적인 차이가 나타났다. 가장 높은 압력으로 처리한 600 MPa에서 가열감량은 가장 높게 나타났으며, 연도를

나타내는 전단력은 가장 낮게 나타났다. Kim 등. (2007)은 400 MPa와 600MPa 에서 가열 중 수분 손실이 증가한다고 하였다. 이와 같이 비록 HPP는 고기의 보수력에 부정적인 영향을 주지만, 전단력 값은 바람직한 지점까지 감소하였다.



Significant differences were ** ($p < 0.01$) & *** ($p < 0.001$)

Fig 1.1 Cooking loss and tenderness of DFD beef loin treated with different pressure

Table 1.3은 서로 다른 압력으로 처리한 DFD 쇠고기 등심 부위의 puncture test값을 보여주고 있다. puncture test값을 보면 경도, 탄력성, 껌성, 씹힘성에서 유의적인 차이가 없었다($p > 0.05$). HPP는 응집성의 경우에만 400 MPa 처리구에서 대조군에 비해 유의적으로 높게 나타났다($p < 0.01$).

Table 1.3 Texture profile of DFD beef loin treated with different pressure

Parameter	0.1 Mpa	200 Mpa	400 Mpa	600 Mpa	SEM
Hardness (kg)	22.86	21.4	20.91	19.78	0.63
Springiness	0.5	0.5	0.49	0.47	0.01
Cohesiveness	0.48 ^b	0.49 ^b	0.53 ^a	0.47 ^b	0.01
Gumminess	11.14	10.44	11.04	9.37	0.37
Chewiness	5.60	5.24	5.36	4.43	0.23

^{a-c} Means within each row with different superscripts are significantly different ($p < 0.05$).

(2) 비가열 초고압 처리를 실시한 DFD 쇠고기의 냉장저장 중 항산화 효소 활성 변화

Table 1.4는 서로 다른 압력으로 처리한 DFD 쇠고기의 냉장 저장 중 pH 결과를 나타내고 있다. 본 연구에서는 냉장저장 기간에 따른 처리구들의 유의적인 차이는 없었다 ($p>0.05$). 이는 시료들을 진공포장 하였기 때문에 신선도가 유지되어 저장시간이 지남에도 pH가 유의적인 차이가 나지 않은 것으로 판단된다.

Table 1.4 Meat pH from different pressure treatment during chilled storage

Storage time (day)	0.1 MPa	200 MPa	400 MPa	600 MPa
0	6.17 ± 0.14	6.25 ± 0.24	6.32 ± 0.01	6.30 ± 0.07
3	6.13 ± 0.06	6.29 ± 0.05	6.36 ± 0.01	6.33 ± 0.12
6	6.18 ± 0.09	6.24 ± 0.17	6.29 ± 0.15	6.31 ± 0.03
9	6.12 ± 0.12	6.24 ± 0.10	6.32 ± 0.07	6.32 ± 0.16

Means within each row and column are not significantly different ($p>0.05$).

Fig 1.2는 서로 다른 압력으로 처리한 DFD 쇠고기의 냉장저장중 TBARS 값을 나타내고 있다. 지방산화는 육질에 영향을 미치는 주요 요인 중 하나이며, 시료의 malondialdehyde 함량에 의해 지방산화 정도를 알 수 있다. 예상대로 200 MPa 이상의 압력을 가한 처리구들이 대조군보다 TBARS 값이 유의적으로 높게 나타났다($p < 0.001$). 또한 저장기간과 서로 다른 압력 사이에 상관관계를 갖는 것을 알 수 있었으며($p < 0.01$), 대조군과 압력을 가한 DFD쇠고기 모두 저장 중 malondialdehyde 함량이 증가하는 것으로 나타났다.

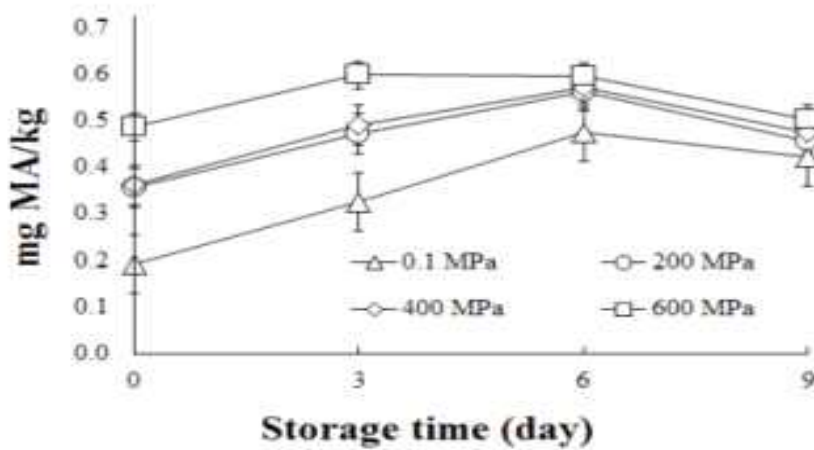


Fig 1.2 Changes in TBARS values of high pressure treated DFD beef during chilled storage

향기는 소비자 선호에 영향을 미치는 중요한 요인이며, Fig 3는 서로 다른 압력을 가한 처리구들이 냉장저장중의 변화가 향기패턴에 미치는 영향을 보여주고 있다. 분별지수 (discrimination index)는 처리구들의 향기패턴 간에 차이를 나타내는 지수로서 그 수치가 음수로 감소할수록 차이가 작아지나, 양수로 증가할수록 커지는 것을 의미한다(Alpha MOS, 2002). C1과 C2는 전자코 데이터로부터 얻어진 정보의 수준에 따라 분류된 구성요소이며, C1은 97.15%, C2는 2.78% 이며 모든 처리구들간의 향기패턴이 차이가 났다. 이와 같이 HPP를 통해 서로 다른 압력으로 처리하였을 때, DFD육의 향기패턴이 서로 차이가 난다는 것을 Fig 1.3을 통해 판단할 수 있었다.

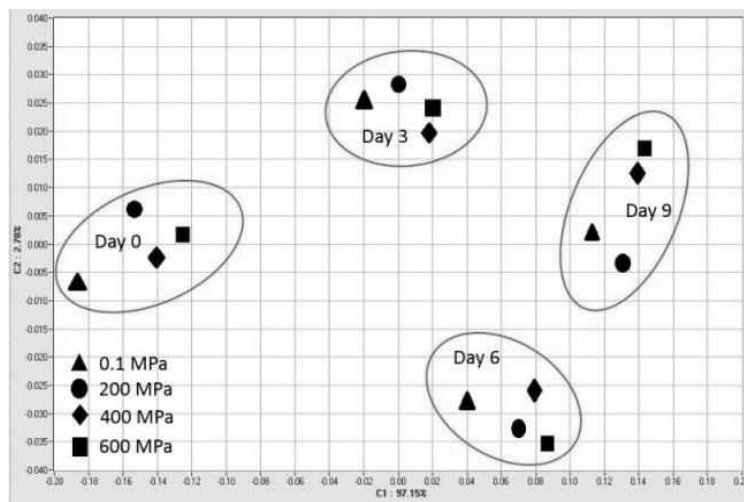


Fig 1.3 Principal component analysis of aroma pattern from DFD beef loin treated with different pressure and its changes during chilled storage as revealed by electronic nose

Fig 1.4는 서로 다른 압력으로 처리한 DFD 쇠고기의 냉장저장중 CAT활성의 변화를 나타내고 있다. CAT활성은 서로 다른 압력을 처리한 처리구와 저장기간 사이의 유의성은 나타나지 않았다. 단지 저장 9일차에서 CAT활성이 유의적으로 감소하였다($p < 0.01$). 또한 가장 높은 압력으로 처리하였을 때, 다른 처리구들보다 약간 낮은 CAT활성을 나타냈다.

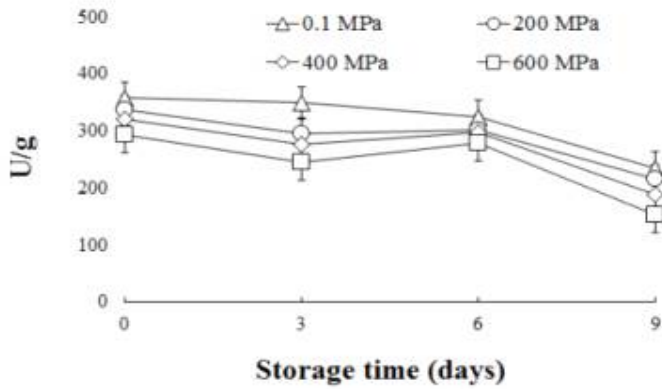


Fig 1.4 CAT activity of different high pressure treated DFD beef during chilled storage compared with control

Fig 1.5는 서로 다른 압력으로 처리한 DFD 쇠고기의 냉장저장중 GPx활성의 변화를 나타내고 있다. HPP는 GPx활성을 저하시키며 ($p < 0.05$), 가장 높은 압력을 가한 처리구가 가장 낮은 GPx활성을 나타냈다. GPx활성은 서로 다른 압력을 처리한 처리구와 저장기간 사이의 유의성은 나타나지 않았다. 단지 저장 9일차에서 GPx활성이 유의적으로 감소하였다 ($p < 0.001$). HPP는 식품저장을 목적으로 미생물의 성장과 효소 활성을 저해시키는 기능을 하게 되며, 고기에서 CAT와 GPx 등의 항산화 효소의 활성도 영향을 받을 수 있다. 본 연구에서는 14-17°C의 온도에서 600 MPa 압력을 가했을 때, DFD 쇠고기 등심 부위에서는 효소가 불활성화 되지 않았다.

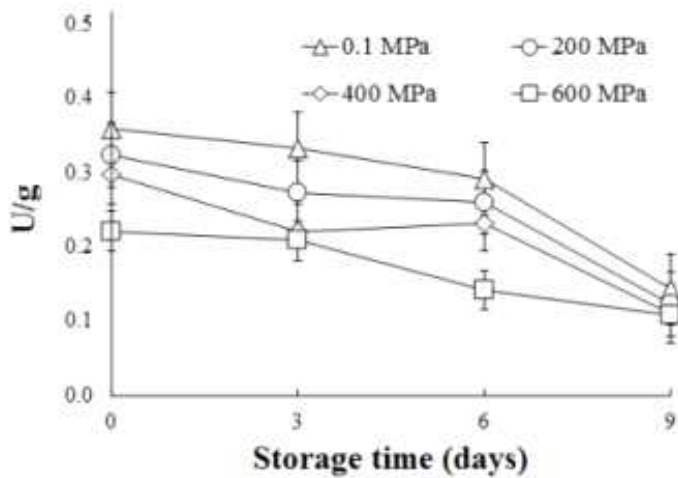


Fig 1.5 GSH-Px activity of different high pressure treated DFD beef during chilled storage compared with control

라. 결론

DFD 쇠고기 등심 부위에 400MPa로 비가열 초고압 처리(HPP)를 할 경우 소비자들의 선호에 영향을 미치는 주요 요인인 육색과 연도가 향상되어 품질개선의 효과를 얻을 수 있다고 판단하였다. 또한 DFD 쇠고기에서 HPP처리는 GSH-Px 활성에 영향을 주지만 CAT 활성에는 영향을 주지 않았으며, GSH-Px 와 CAT 활성은 냉장저장 시 감소하였다. 전자코는 서로 다른 압력을 가한 처리구들이 냉장저장 기간에 따라 차이가 났다. 이를 종합해보면 생육을

저온살균하기 위해 HPP처리를 적용하였을 때, 400 MPa 에서 가장 좋은 품질 향상을 나타내는 것으로 판단하였다.

2. Grass fed beef의 건강기능성 인자 탐색

가. 연구 목적 및 배경

육류 및 우유 등의 동물성 제품은 관상동맥 심장질환을 유발시킬 수 있다. 일반적으로 오메가-3 지방산이 심혈관계 질환의 위험을 낮추는 역할을 하며, 따라서 건강에 필수적인 것으로 잘 알려져 있다. 그러나 오메가6 지방산의 경우 그 함량이 오메가 3지방산보다 매우 높아, 비율이 균형을 잃게 되면 건강에 문제가 될 수 있다. 많은 현대인들의 오메가3 지방산 : 오메가6 지방산 섭취비율은 1 : 20 으로 이상적인 권장비율인 1 : 4를 크게 상회하는 수준이다. 이러한 오메가6 지방산의 섭취가 과다할 경우, 몸 안에서 각종 염증 유발 물질이 배출되어 알레르기 질환과 각종 성인병 위험에 노출될 가능성이 커지게 된다. 또한 palmitic acids 과 myristic acids 등의 포화지방산은 콜레스테롤 수치와 저밀도지단백질을 축적시키는 것으로 알려져 있다. French 등. (2000)은 목초를 섭취한 소의 근육에서 palmitic acid 의 침착은 감소되고, 반대로 오메가3 지방산은 증가된다는 연구결과를 보고하였다. 이러한 연구결과가 보고되어 있고, 따라서 추가적으로 목초 급여의 효과에 대한 연구가 필요하였다. 본 연구의 목적은 사료급여를 달리 하였을 때, 혈장 지방산 조성에서 오메가3 : 오메가6 비율의 차이를 알아보고, 사양 기간 중 Friesian-Holstein 거세우의 생화학 및 혈액학적 파라미터와 고기 지방산 조성과의 관계에서 나타나는 특성을 알아보기 위해 실시하였다.

나. 재료 및 방법

(1) 육우의 사양 및 사료급여 조건

20개월령 Friesian-Holstein 거세우 15마리를 무작위로 그룹당 5마리로 하여 3그룹으로 나누었으며, 방목장에서 유사한 조건으로 성장시켰다. 첫 번째 그룹은 대조군(C)으로서 total-mixed ratio (TMR) 사료를 급여했고, 두 번째 그룹(T1)은 오메가3가 다량 함유된 곡물과 reed canary grass (*Phalaris arundinacea*)을 40:60 으로 혼합한 사료를 급여하였으며, 세 번째 그룹(T2)은 reed canary grass (*Phalaris arundinacea*)를 급여하였다.

(2) 혈액 샘플

채혈시기는 처음 채혈한 달을 기준으로 2달, 3달 후로 정하였으며, Friesian-Holstein 거세우의 경정맥과 꼬리정맥에서 정맥채혈주사기(18G)를 이용하여 채혈하였다. 채혈한 혈액은 6 mL의 vacutainer (Heparin or EDTA-containing, BD Diagnostics, US) 에 주입한 후, 실험실로 옮겨와 분석을 실시하였다. 혈액에서 혈장을 분리하기 위해 4°C 에서 15분 동안 3,000 X g 동안 원심분리를 하였다. 혈장은 2 mL 마이크로튜브로 옮겨 담은 후, 추가 분석을 실시하기 전까지 -75 °C에서 저장하였다.

(3) 혈액 생화학 및 혈액학적 분석

혈액 생화학 및 혈액학적 분석은 서울대학교 평창캠퍼스의 대동물임상수의학 연구실에서 실시하였다. Mindray BS-400 화학 분석기(Mindray, Shenzhen, P.R.China)로 혈장으로 분석 가능한 Total protein (TP), albumin, total cholesterol, triglyceride, low density lipoprotein, high density lipoprotein, glucose, total bilirubin, urea, creatinine, calcium, inorganic phosphate, and magnesium concentrations, aspartate transaminase (AST), gamma-glutamyl transpeptidase (GGT), creatine kinase (CK), alkaline phosphatase (ALP) 활성을 분석하였다. 일반혈액검사(complete blood cell)는 EDTA 혈액 항응고제를 사용하여 실시하였으며, 혈액 분석기(HemaVet 950, DrewScientific, TX, USA)로 분석하였다.

(4) 혈장 지방산 조성

지방산 조성은 가스 크로마토그래피(YL6500, YL Instrument, Korea)를 이용하여 측정하였다. 혈장 지질은 Folch 등(1957)의 방법에 의하여 chloroform:methanol(2:1 v/v) 을 이용해 추출하였으며, 각각의 시료는 2반복 실시하여 지방산 조성을 분석하였다. 지방산은 AOAC(1995)의 방법을 수정하여 진행 하였으며, methyl esters 로 전환하였다. 간단히 요약 하자면, 시료를 냉각수로 침지시켜 냉각시키고, 25% BF₃-MeOH 용액 2 mL를 혼합한 후, 80°C water bath에서 1시간 동안 가열하였으며, 냉각수로 10분 동안 냉각하여 FAME화 시켰다. 최종 반응물은 증류수 3 mL 와 hexane 2 mL를 혼합하고, 3,000 rpm에서 10분간 원심분리한 후 상층액을 1.8 mL 용량의 GC vial 에 옮겨 GC에 의해 분석하였다. 이때 분석 조

건은 Table 2.1과 같으며, 시료 내 지방산의 농도는 standard (Supelco 47015-U)의 retention time과 비교하여 분석한 후 총 지방산 peak area의 백분율(%)로 산출하였다.

Table 2.1 Analysis method for the fatty acid composition using GC

Instrumentation

Chromatographic system	YL6500 (YL Instrument, Korea)
Automatic sampler	Acme 6000 (YL Instrument, Korea)

Experimental conditions GC/FID

Column	Omegawax-320 fused silica capillary column (30m length×0.32mm i.d.×0.25 μm film thickness, Supelco, Inc, Bellefonte, PA, USA)
Injector	250℃
Injection volume	1 μL
Split/splitless	Sprlit 1:5
Carrier	Helium at 1.0 mL/min constant flow
Oven temperature	190-200℃ at 10℃/min, 27 min/sample
Detector temperature	FID, 250℃

(5) 통계분석

본 실험을 통해 얻은 모든 자료는 Agricolae(R-version 3.1.2) 프로그램의 ANOVA(Analysis of variance)에 의해 통계분석(The R-foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria)을 실시하였으며, 각 평균들 간의 유의성 차이는 Duncan's multiple range test에 의해 5% 수준에서 검증하였다.

다. 결과 및 고찰

Table 2.2는 Blood hematological parameters를 나타내고 있으며, 다른 사료를 급여했을 때 WBC, RBC, HGB, HCT 는 유의적인 차이가 나타나지 않았다. 다만, 처음 채혈 했을 때의 Hemoglobin, Hematocrit 함량은 모든 처리구에서 유의적으로 낮게 나타났으며, 이 실험에 사용된 육우의 blood hematological profile 은 기준 범위 내에 있었다[Mohri 등., 2007].

Table 2.2 Blood hematological parameters

Group	Parameter	WBC	RBC	HGB	HCT
	Unit	(10 ³ /mm ³)	(10 ⁶ /mm ³)	(g/dL)	(%)
C	Initial	7.62	8.36	8.74 ^B	27.60 ^B
	2 month	7.25	8.74	11.00	32.02
	3 month	7.51	8.56	11.14	32.84
	4 month	8.30	8.41	10.00	31.52
	Mean	7.68	8.57	10.70 ^A	32.1 ^A
T1	Initial	9.56	7.64	8.00 ^B	27.38 ^B
	2 month	10.04	8.81	11.20	33.20
	3 month	10.36	7.94	10.78	30.90
	4 month	9.72	8.47	10.60	33.16
	Mean	10.04	8.41	10.9 ^A	32.4 ^A
T2	Initial	8.56	7.78	9.46 ^B	27.26 ^B
	2 month	8.27	8.60	12.16	32.46
	3 month	8.38	8.51	10.96	34.24
	4 month	7.84	7.34	9.20	29.42
	Mean	8.16	8.15	10.80 ^A	32.00 ^A
	SEM	0.30	0.11	0.21	0.51

WBC, white blood cell; RBC, red blood cell; HGB, hemoglobin; HCT, hematocrit;

SEM, standard error of the mean; A-B means differ significantly by sampling time;

Mean is the average of values during feeding treatment

Table 2.3는 Blood glucose, protein and mineral parameters 를 나타내고 있으며, 사료 급여에 따른 Blood glucose, total protein, albumin, calcium and inorganic phosphorus 은 유의적인 차이는 나타나지 않았다. 그러나 Inorganic phosphorus 함량은 사료 급여를 시작할 때 보다 사양기간이 진행되었을 때 더 높게 나타났으며, 그 결과는 기준 범위 이내였다(Mohri 등., 2007).

Table 2.3 Blood glucose, protein and mineral parameters

Group	Parameter	Glucose	Total Protein	Albumin	Ca	iP
	Unit	(mg/dl)	(g/dl)	(g/dl)	(mg/dl)	(mg/dl)
C	Initial	76.20	8.14	4.28 ^A	9.58	5.00 ^B
	2 month	76.60	7.30	3.64	9.16	8.62
	3 month	77.20	7.30	3.70	9.12	8.54
	4 month	77.20	7.38	3.68	9.14	6.98
	Mean	77.00	7.33	3.70 ^B	9.14	8.00 ^A
T1	Initial	73.20	7.68	4.12 ^A	9.72	5.30 ^B
	2 month	75.40	7.38	3.68	9.36	7.76
	3 month	76.40	7.62	3.74	9.04	7.48
	4 month	73.00	7.54	3.60	9.02	6.80
	Mean	74.93	7.51	3.70 ^B	9.14	7.10 ^A
T2	Initial	73.80	7.62	4.14 ^A	9.46	5.62 ^B
	2 month	69.40	7.56	3.72	9.12	7.08
	3 month	68.60	7.86	3.86	9.28	7.12
	4 month	77.40	7.32	3.42	8.90	6.08
	Mean	71.80	7.58	3.70 ^B	9.10	6.80 ^A
	SEM	0.69	0.06	0.04	0.05	0.17

Ca, calcium; iP, inorganic phosphorus; SEM, standard error of the mean;

A-B means differ significantly by sampling time; Mean is the average of values during feeding treatment

Table 2.4는 Blood lipid parameters 를 나타내고 있다. 서로 다른 사료를 급여함에 따라 total cholesterol, LDL 과 HDL 함량에 유의적인 차이를 보였으나, 사양기간에 따른 혈 중 triglyceride 함량은 유의적인 차이가 나타나지 않았다. 다른 사료를 급여함에 따라 C 과 T1은 LDL 과 HDL 함량 뿐만 아니라 total cholesterol 에서 T2보다 높은 경향을 보였다.

Table 2.4 Blood lipid parameters

Group	Parameter	Total Cholesterol	Triglyceride	LDL	HDL
	Unit	(mg/dl)	(mg/dl)	(mg/dl)	(mg/dl)
C	Initial	103.60	17.00	47.40	63.40
	2 month	113.20	20.20	45.20	69.00
	3 month	133.80	17.80	55.60	77.00
	4 month	125.40	18.60	54.20	69.80
	Mean	124.13 ^a	18.87	51.67 ^a	71.93 ^a
T1	Initial	115.20	26.20	49.00	67.00
	2 month	118.60	21.20	51.40	71.20
	3 month	120.00	17.80	52.00	71.00
	4 month	92.00	19.20	40.00	48.40
	Mean	110.00 ^{ab}	19.40	48.00 ^a	64.00 ^a
T2	Initial	107.80 ^A	19.20	45.00 ^A	63.6 ^A
	2 month	76.20	21.60	34.60	46.40
	3 month	80.00	19.40	36.00	47.80
	4 month	75.20	9.20	31.20	42.80
	Mean	77.00 ^{bB}	17.00	33.93 ^{bB}	45.67 ^{bB}
	SEM	3.39	0.79	1.44	1.83

LDL, low density lipoprotein; HDL, high density lipoprotein; SEM, standard error of the mean; a-b Means differ significantly between different diets; A-B means differ significantly by sampling time; Mean is the average of values during feeding treatment

Table 2.5는 혈액 대사 물질 함량과 간 건강과 관련된 효소 활성을 나타내고 있다. 다른 사료를 급여함에 따른 total bilirubin, creatine 함량, AST 와 GGT 효소 활성에 유의적인 차이는 나타나지 않았다. T1의 BUN 함량은 사양 기간 중 일관되게 높았고, C과 T2는 낮은 경향을 보였다. 또한 사료급여에 따른 BUN 함량은 T1이 C과 T2에 비해 유의적으로 높았다. Creatine kinase 활성은 T2가 C과 T1에 비해 유의적으로 높게 나타났으며, alkaline phosphatase 활성은 T1이 C과 T2에 비해 유의적으로 낮았다. 또한 본 연구를 위한 목적으로 길러진 육우는 건강 관련 효소의 정상적인 활성에 따라 건강에 문제는 발견되지 않았다.

Table 2.5 Blood metabolites content and liver health-related enzymes activity

Group	Parameter	Total Bilirubin	Creatinine	BUN	AST	GGT	CK	ALP
	Unit	(mg/dl)	(mg/dl)	(mg/dl)	(U/l)	(U/l)	(U/l)	(U/l)
C	Initial	0.28	1.14	13.60 ^A	74	15	293 ^A	103 ^B
	2 month	0.20	1.04	5.00	73	14	202	189
	3 month	0.20	1.08	7.40	71	19	136	198
	4 month	0.22	1.20	5.60	61	27	134	152
	Mean	0.21	1.11	6.00 ^{bb}	68	20	158 ^{bb}	180 ^{aA}
T1	Initial	0.28	1.14	14.80	85	20	408 ^A	88 ^B
	2 month	0.20	0.92	14.40	74	17	161	158
	3 month	0.20	0.98	15.60	79	19	173	121
	4 month	0.20	0.96	12.40	66	19	180	108
	Mean	0.20	0.95	14.30 ^a	73	18	172 ^{bb}	129 ^{ba}
T2	Initial	0.26	1.16	16.80 ^A	77	15	436 ^A	96 ^B
	2 month	0.20	1.16	6.60	69	17	249	157
	3 month	0.20	1.18	11.60	75	19	214	177
	4 month	0.22	0.88	5.20	71	19	200	140
	Mean	0.21	1.07	7.80 ^{bb}	72	18	221 ^{aB}	159 ^{abA}
	SEM	0.01	0.02	0.61	1.90	0.85	17.43	5.84

BUN, blood urea nitrogen; AST, aspartate aminotransferase; GGT, gamma-glutamyl transpeptidase; CK, creatine kinase; ALP, alkaline phosphatase; SEM, standard error of the mean; A-B means differ significantly by sampling time SEM, standard error of the mean; Mean is the average of values during feeding treatment

Table 2.6는 사양 기간 중 혈장 지방산 조성의 변화를 나타내고 있다. 다른 사료를 급여함에 따라 사양 기간 중 혈장 지방산 조성은 유의적인 차이가 나타났다. myristic acid (C14:0), Palmitic (C16:0), linolenic (C18:3n6), α -linoleic (ALA, C18:3n3)은 사료급여 및 사양기간에 따른 유의적인 차이는 없었으나, 사료급여에 따른 eicosapentaenoic acids (EPA, C20:5n3)는 유의적인 차이가 나타났다. Palmitic, palmitoleic, oleic acids 함량은 사료급여를 시작한지 2개월이 지난 시점부터 모든 처리구에서 유의적으로 감소하였으며, 반면에 linoleic (C18:2n6), linolenic acid 는 유의적으로 증가하였다. 사양기간에 따른 ALA 와 EPA 의 비율은 C 에서만 유의적으로 감소하였으며, C에서 arachidonic acid(C20:4n6)은 유의적인 차이가 나타나지 않았다. 그러나 T1 과 T2는 사양기간에 따라 arachidonic acid 의 비율이 유의적으로 감소하였다.

Table 2.6 Changes in plasma fatty acid composition during feeding treatment

Group	Sampling time	C14:0	C16:0	C16:1n7	C18:0	C18:1n9	C18:2n6	C18:3n6	C18:3n3	C20:4n6	C20:5n3
C	Initial	1.55	20.51 ^A	3.03 ^A	19.97	22.54 ^A	23.74 ^B	0.83 ^B	2.44 ^A	3.62	1.76 ^A
	2 month	1.59	13.78	1.02	19.69	13.46	44.50	1.14	1.23	2.96	0.63
	3 month	1.71	17.96	2.78	17.30	9.88	41.48	2.44	1.47	4.02	0.97
	4 month	1.53	17.20	1.75	16.96	12.19	42.40	1.64	0.89	4.98	0.45
	Mean	1.61	16.31 ^{ab}	1.85 ^B	17.99	11.84 ^B	42.79 ^A	1.74 ^{ba}	1.20 ^{bb}	3.99	0.68 ^{bb}
T1	Initial	1.71	20.17 ^A	2.74 ^A	17.48	23.45 ^A	25.95 ^B	0.82 ^B	2.35 ^B	3.45 ^B	1.88
	2 month	1.61	12.19	0.83	18.72	12.81	41.05	1.22	5.91	3.33	2.33
	3 month	1.46	13.21	1.70	15.10	10.30	41.65	6.45	5.72	2.17	2.24
	4 month	1.41	13.00	1.75	15.02	10.55	41.27	6.75	5.56	2.34	2.36
	Mean	1.49	12.80 ^{bb}	1.43 ^B	16.28	11.22 ^B	41.32 ^A	4.81 ^{aa}	5.73 ^{aa}	2.61 ^A	2.31 ^a
T2	Initial	1.63	19.13 ^A	2.93 ^A	19.26	22.68 ^A	23.98 ^B	0.74 ^B	2.89 ^B	4.66 ^B	2.11
	2 month	1.04	11.30	0.91	19.17	13.81	39.63	1.08	6.55	4.04	2.47
	3 month	1.66	12.26	1.16	14.97	11.38	39.32	6.39	6.76	3.73	2.39
	4 month	1.64	12.25	1.17	14.77	11.73	39.46	6.58	6.59	3.38	2.45
	Mean	1.44	11.93 ^{bb}	1.08 ^B	16.30	12.31 ^B	39.47 ^A	4.68 ^{aa}	6.63 ^{aa}	3.71 ^A	2.44 ^a
	SEM	0.05	0.90	0.22	0.52	1.33	1.98	0.68	0.60	0.21	0.19

Mean is the average of values during feeding treatment; SEM, standard error of the means;

a-b Means differ significantly between different diets; A-B means differ significantly by sampling time.

Table 2.7는 사양 기간 중 혈장 지방산 조성의 변화를 나타내고 있다. 목초와 omega-3가 다량 함유되어 있는 곡물을 섞은 사료는 plasma omega-3 fatty acids, α -linolenic acid (ALA), eicosapentaenoic acid (EPA)가 유의적으로 증가하였으며 ($p < 0.001$), omega-6/omega-3 비율은 유의적으로 감소하였다($p < 0.001$). 사양 기간 중 대조군에서는 일관적으로 saturated fatty acid (SFA)조성이 유의적으로 높았다($p < 0.001$). 또한 MUFA의 비율은 모든 처리 군에서 감소하였다. 사료급여에 따른 PUFA의 비율과 PUFA/SFA 비율은 T1과 T2가 C에 비해 유의적으로 높게 나타났다. 사료급여에 따른 omega-6의 함량은 유의적인 차이가 나타나지 않았지만, 사양기간에 따른 total omega-6 지방산의 함량은 유의적으로 증가하였다. 사료급여에 따른 total omega-3 지방산 함량은 T1과 T2가 CON에 비해 유의적으로 높았으며, omega-6/omega-3 비율은 C에 비해 유의적으로 낮았다. 따라서 T1과 T2의 atherogenic 과 thrombogenic index 는 C에 비해 낮았고, omega-3가 다량 함유되어 있는 사료를 급여한다면, 소의 심혈관계질환의 위험을 낮출 것으로 사료된다.

Table 2.7 Changes in plasma fatty acid index during feeding treatment

Group	Sampling time	SFA	MUFA	PUFA	PUFA/SFA	n6	n3	n6/n3	AI	TI
C	Initial	42.04 ^A	25.57 ^A	32.39 ^B	0.77 ^B	28.19 ^B	4.20 ^A	6.72 ^B	0.46 ^A	0.91 ^A
	2 month	35.06	14.48	50.46	1.44	48.59	1.86	26.07	0.31	0.55
	3 month	36.97	12.66	50.37	1.36	47.94	2.44	19.67	0.39	0.65
	4 month	35.70	13.94	50.36	1.41	49.02	1.34	36.53	0.36	0.50
	Mean	35.91 ^{ab}	13.69 ^B	50.40 ^{ba}	1.40 ^{ba}	48.52 ^A	1.88 ^{bb}	27.42 ^{aa}	0.36 ^{ab}	0.56 ^{ab}
T1	Initial	39.35 ^A	26.20 ^A	34.45 ^B	0.88 ^B	30.22 ^B	4.23 ^B	7.14	0.45 ^A	0.82 ^A
	2 month	32.51	13.64	53.84	1.66	45.60	8.25	5.53	0.28	0.54
	3 month	29.76	12.00	58.23	1.96	50.27	7.96	6.32	0.27	0.49
	4 month	29.43	12.30	58.27	1.98	50.36	7.92	6.36	0.26	0.48
	Mean	30.57 ^{ab}	12.65 ^B	56.78 ^{aa}	1.86 ^{aa}	48.74 ^A	8.04 ^{aA}	6.07 ^b	0.27 ^{bb}	0.50 ^{ab}
T2	Initial	40.01 ^A	25.61 ^A	34.38 ^B	0.86 ^B	29.38 ^B	5.00 ^B	5.88	0.43 ^A	0.83 ^A
	2 month	31.51	14.72	53.77	1.71	44.75	9.02	4.96	0.23	0.51
	3 month	28.88	12.54	58.58	2.03	49.43	9.15	5.40	0.27	0.45
	4 month	28.65	12.90	58.45	2.04	49.41	9.04	5.47	0.26	0.45
	Mean	29.68 ^{bb}	13.39 ^B	56.93 ^{aa}	1.93 ^{aa}	47.87 ^A	9.07 ^{aA}	5.28 ^b	0.25 ^{bb}	0.47 ^{bb}
SEM		1.22	1.48	2.59	0.12	2.28	0.78	2.68	0.24	0.18

Mean is the average of values during feeding treatment; SEM, standard error of the means; SFA, saturated fatty acids; MUFA, monounsaturated fatty acids; PUFA, polyunsaturated fatty acids; AI, atherogenic index; TI, thrombogenic index; a-b Means differ significantly between different diets; A-B means differ significantly by sampling time.

사료를 달리하여 육우에 급여하였을 때, 육우의 혈액에서 스트레스 관련 지표가 육질에 미치는 상관성에 관한 연구결과는 Table 2.8과 같다. 간 기능 검사에 활용되고 있는 AST, GGT, CK와 ALP 효소는 모든 처리구에서 사양기간 중 건강상 문제가 발견되지 않았다. 이와 같은 바이오마커는 에너지밸런스, 육우의 성장율, 근육과 뼈, 간 기능 등에 영향을 미치는 지표로써 육우가 성장하는 동안 사양 환경에서 발생하는 스트레스와 상관성이 있다. 본 연구에서는 간 기능 뿐 만 아니라 동물의 성장률에도 영향을 미치는 ALP활성이 C에서 가장 높게 나타났으며, T1이 그 뒤를 이었다. 따라서 대조군과 T1이 T2에 비해 성장률이 높았다. ALP는 동물의 성장에서 조골세포의 활성화와 뼈 성장에 관여하는 주요 지표로 도체중량, 사양기간의 단축 등에 영향을 미친다. 육우의 혈액지표 관련 연구에서 제시한 혈중 콜레스테롤 수치는 C와 실 T1이 T2에 비해 높게 나타났지만 중성지방은 실험2군과 유사한 수치를 나타냈다. 혈중 콜레스테롤은 육우의 에너지 균형 상태를 예측하는데 유용한 지표로써 사용된다. T2의 혈중 콜레스테롤이 다른 처리구에 비해 낮게 나타났으며, 이는 에너지 결핍과 낮은 성장성적과 관련이 있는 것으로 판단된다. T2의 에너지 결핍은 육질에 영향을 미치며 생육에서 다른 처리구에 비해 지방함량이 적고 육색이 어두운 경향을 나타내었으며, 가열육에서 관능평가 지표 중 연도와 종합적 기호도에서 T2가 가장 낮은 점수를 받았다.

또한 스트레스 관련 지표 중 혈중 glucose 함량을 측정하여 제시하였지만(Table 2.3), 도축전후의 환경에 매우 민감한 지표이며 처리구간 유의차가 없었기 때문에 본 연구 목적과 부합하는 사양단계별 혈액 성분 및 지방산 조성 분석을 추가적으로 실시하여 연구결과를 제시하였다

Table 2.8 Different diets on stress-related parameter and its association with meat quality

Parameter	C	T1	T2
Serum ALP (U/L)	160.90	142.90	119.15
Daily gain (kg)	1.24	1.11	0.54
<i>Meat quality</i>			
Water holding capacity (% total moisture)	55.46	55.19	44.94
Shear force (kgf)	6.81	7.97	8.54
<i>Eating quality</i>			
Juiciness	6.56	5.19	4.38
Tenderness	6.50	5.00	4.38
Off-flavor	3.07	3.14	5.44
Overall acceptance	7.19	5.25	4.25

라. 결론

사양기간 중 목초를 급여하였을 때 혈중 콜레스테롤 함량과 plasma omega-6/omega-3 비율이 TMR사료를 급여하였을 때 보다 낮은 경향을 보였다. Omega-3가 많이 함유된 곡물과 목초를 40:60 비율로 혼합하여 급여하면 목초를 급여하였을 때와 마찬가지로 blood plasma omega-6/omega-3 비율이 균형을 유지하는 뚜렷한 효과가 있었지만, 혈중 콜레스테롤 함량은 목초만 급여했을 때 보다 약간 높았다.

3. Grass fed 급여 홀스타인 거세우의 도축후 식육에서의 건강기능성 인자 탐색

가. 연구 목적 및 배경

육류 및 우유 등의 동물성 제품은 관동맥성 심장병을 유발시킬 수 있는 것으로 알려져 있다. 일반적으로 오메가-3 지방산은 심혈관 질환의 위험을 낮추는 기능을 한다고 알려져 있어 인간의 건강에 필수적이다. 그러나 생선을 섭취하지 않는 사람의 경우, n-3 지방산을 섭취해야 하는 식품으로서 고기는 한가지 대안이 될 수 있다. 한 편, 오메가-3 지방산과 오메가-6 지방산 간의 비율이 문제로 대두되고 있다. 오메가-6 지방산 비율이 불균형적으로 나타날 때, 건강상의 문제가 발생할 수 있다(N6는 N3보다 4 배 이상 높다).

소에 초지를 급여하여 얻은 쇠고기는 사람에게 유익한 C18:3n-3, EPA, DPA 와 DHA 등의 n-3 지방의 함량이 높게 나타난다. palmitic acid (C16:0), myristic acid (C14:0)와 같은 포화지방산은 저밀도지단백 콜레스테롤의 축적을 야기시키는 주요 요인이 되며, 이와는 반대로 stearic acid (C18:0)와 oleic acid (C18:1)는 콜레스테롤 저하 작용이 있는 것으로 알려져 있다(Zock 등., 1994; Bonanome 등., 1988). 반추동물에서, 포화지방산 함량이 높으면 반추위 식이 지방의 생체경화를 일으킨다. 선행 연구에서 초지를 급여한 소의 경우에는, 근육에서 palmitic acid의 침착을 감소시키고 이와는 반대로 오메가-3 지방산은 증가하는 경향을 나타냈다(French 등., 2000). 이러한 점에서 초지 급여 효과에 대한 추가 연구를 진행할 필요가 있다고 판단하였다. 본 연구에서는 사료 급여를 달리한 Friesian-Holstein 거세우 고기의 혈장 및 고기 지방산 조성, 생화학 및 혈액학적 지표, 오메가-6/오메가-3 비율에 따른 육질 구멍을 위해 분석을 실시하였다.

나. 재료 및 방법

(1) 동물과 사료급여 관리

총 15마리의 20개월령 Friesian-Holstein 거세우를 세 집단으로 각각 5마리씩 무작위로 나누었다. 처리구를 나누기 전인 20개월까지는 유사한 조건으로 reed canary grass (*Phalaris arundinacea*)를 무제한 급여하며, 물에 자유롭게 접근할 수 있도록 성장시켰다. 첫

번째 군은 대조군으로, 한 마리당 하루에 TMR(Total-mixed ration) 사료를 18kg을 급여하고, 두 번째 군은 omega-3 enriched pellet 과 reed canary grass (*Phalaris arundinacea*) 를 40:60의 비율로 급여하였으며, 세 번째 군은 reed canary grass (*Phalaris arundinacea*) 를 무제한 자유급여 하였다. 각각의 사료 영양성분은 Table 3.1에 제시하였다.

Table 3.1 Nutrient composition of experimental diets

Nutrient	C	T1	T2
Moisture*	40.87	17.47	45.31
Crude protein*	6.48	12.3	6.08
Ether extract*	3.98	2.94	1.43
Crude fat*	4.90	24.79	21.04
Ash*	2.94	6.00	4.00
Neutral Detergent Fiber*	11.07	44.64	36.42
Total digestible nutrient*	51.37	36.19	14.27
Energy**	3,301	3,172	3,034
C18:2n6 (% of fatty acids)	45.16	28.86	19.30
C18:3n3 (% of fatty acids)	1.55	18.43	29.15
n6/n3***	29.14	1.44	0.66

* %, **cal/g, *** n6/n3 = C18:2n6 / C18:3n3

(2) 혈액 채취

사료를 달리하여 급여하는 기간동안 0, 2 번째, 3 번째 달로 총 3회 채혈을 실시하였으며, 아침에 정맥천자 주사기 (18G) 를 이용하여 경정맥과 꼬리 정맥에서 채혈하였다. 채혈한 혈액은 6-mL vacutainer 로 옮겼으며 (Heparin or EDTA-containing, BD Diagnostics, US), 이를 ice box에 보관하여 실험실로 운반하였다. 지방산 분석을 위해 혈액은 원심분리기를 4 oC에서 15분 동안 3,000g 의 조건으로 작동시켜 혈장을 분리하였다. 혈장은 2ml의 마이크로 튜브에 옮겨담은 후 분석에 사용하기 까지 -75 oC에 저장하였다.

(3) 혈액생화학 및 혈액학적 분석

혈액생화학 및 혈액학적 분석은 서울대학교 평창캠퍼스 수의과대학 산업동물임상수의학 대동물임상수의학 연구실에서 실시하였다. Mindray BS-400 Chemistry Analyzer (Mindray, Shenzhen, P.R.China)를 사용하여 Total protein (TP), albumin, total cholesterol, triglyceride, low density lipoprotein, high density lipoprotein, glucose, total bilirubin, urea, creatinine, calcium, inorganic phosphate concentrations, aspartate transaminase (AST), gamma-glutamyl transpeptidase (GGT), creatine kinase (CK), alkaline phosphatase (ALP) activities of plasma 을 분석하였다. 일반 혈액 검사는 EDTA-항 응고 혈액으로 hematological analyzer (HemaVet 950, DrewScientific, TX, USA)를 사용하여 분석하였다.

(4) 육질 분석

사료조성을 달리하여 급여한 5개월 후, 홀스타인 거세우를 도축장의 표준 절차를 이용하여 도축하였다. 사료급여를 달리하기 이전인 생체중(kg)과 TMR, Mix, Grass 급여 실시 5개월 후인 도체중(kg)을 Table 3.2에 제시하였다. 각각의 longissimus lumborum 근육을 도축 24시간 후에 육질분석의 시료로 사용하였다. 고기는 진공 포장한 후 ice box에 옮겨담아 실험실로 운반하였다. 그 후, 이화학적 분석, 관능 평가, 저장 품질 분석을 위해 시료를 분리하였다. 지방산화 및 항산화 효소 활성으로 구성된 저장 품질 분석을 위해, 시료를 진공 포장하여 -24에 저장하였으며, 저장 0, 1, 3, 5개월 째에 측정하였다.

Table 3.2 Cattle performance

	C	T1	T2	SEM	Significance level
Initial weight (kg)	357.4	350.2	331.2	9.43	ns
Dry matter intake (kg/day)					
Feed conversion ratio					
Slaughter weight (kg)	543.80 ^a	517.20 ^a	412.40 ^b	18.81	**
Average daily gain (kg/day)	1.25 ^a	1.12 ^a	0.54 ^b	0.09	***
Carcass weight (kg)					

SEM, standard error of the means; a-b Means differ significantly between different diets; *** ($P < 0.001$); ** ($P < 0.01$); ns (not significant, $P > 0.05$)

(5) 일반성분 분석

일반 성분 함량은 AOAC(1995) 방법에 의해 실시하였다. 수분은 105°C dry oven을 이용한 상압 가열건조법, 조지방은 diethyl ether에 의한 soxhlet 추출법, 조단백질은 kjeltec system (2200 Kjeltec Auto Distillation Unit, Foss Tecator, Sweden)에 의한 micro-Kjeldahl법, 조회분은 550°C 회화로에 의한 건식회화법에 의해 정량하였다.

(6) pH

pH는 시료 5 g과 증류수 50 mL를 homogenizer (PH91, SMT Co., Ltd., Japan)로 10,000 rpm에서 1분 동안 균질한 다음 pH meter(SevenEasy pH, Mettler-Toledo GmbH, Switzerland)로 측정하였다.

(7) 보수력

보수력(water-holding capacity, WHC)은 원심분리법으로 실시하였다(Wierbicki 등., 1957). 10 g의 세절고기를 원심분리관에 넣고 75 °C 항온수조에서 30 분간 가열 후 냉각한

다음 원심분리 1,000 rpm에서 10 분간 가열하여 유리된 수분을 측정하여 총 수분함량과의 비율로서 산출하였다.

(8)가열감량

가열감량은 폴리에틸렌 지퍼백에 두께 약 2.5cm로 절단하여 무게를 측정하고, 은박지포장 후 넣고 밀봉한 다음 항온 수조에 가열하여 고기의 중심온도가 72℃까지 도달하였을 때 꺼내어 2±2℃에서 하룻밤을 저장한 후 무게를 측정하였다. 이때 발생한 육즙의 양을 시료 초기 무게의 백분율(%)로 산출하였다.

(9)조직감 특성

TPA(Texture profile analysis) 측정은 가열감량을 측정하고 난 시료들을 각각 1 cm×1 cm×1 cm 로 성형한 후 ϕ 35mm의 cylindrical probe가 장착된 texture analyzer(TA-XT2i version 6.01, Stable Micro Systems Co., Ltd., UK)를 이용하여 경도(hardness), 탄력성(springiness), 응집성(cohesiveness), 검성(gumminess) 및 씹힘성(chewiness)을 측정하였다. 분석 조건은 pretest speed 2.0 mm/sec, test speed 1.0 mm/sec, posttest speed 5.0 mm/sec이었으며, 시료 높이의 80%를 2회 압착하여 측정하였다.

전단력(Warner-Bratzler shear force, WBSF)은 가열감량을 측정하고 난 시료들을 각각 1 cm×1 cm×1 cm로 성형한 다음 Warner-Bratzler shear blade를 장착한 texture analyser(TA-XT2i version 6.06, Stable Micro Systems Co., Ltd, UK)로 전단력을 측정하였으며, 칼날과 근섬유 방향이 평행하도록 절단하였다. 이때 분석조건은 load cell 5 kg, pretest speed 2.0 mm/sec, test speed 1.0 mm/sec, posttest speed 5.0 mm/sec이었으며, 분석된 결과는 kg으로 산출하였다.

(10)표면육색

시료를 선상 저밀도 폴리에틸렌 랩(O₂ transmissionrate=35,273 cc/m²·24 hr·atm, 0.01 mm thickness, 3M Co., Korea)에 포장한 후 chroma meter(CR-400, Konica

Minolta Sensing, Inc., Japan)를 이용하여 CIE L*(lightness), a*(redness), b*(yellowness)을 시료 표면을 무작위로 5 반복하여 측정하였다. 이때 calibrate plate(2° observer)의 illuminant C는 Y=93.6, x=0.3134, y= 0.3194이었다.

(11) 관능 평가

관능검사는 실험실에서 관능검사 방법에 익숙한 대학원생 및 학부생 21명을 대상으로 실시하였으며, 총 15개의 쇠고기 시료를 관능 평가에 사용하였다. 관능 평가의 각 시료는 중복하여 관능 검사 요원에 의해 실시하였다. 시료는 세자리의 무작위 수로 표시 하였다. 각 시료를 관능평가 한 뒤 물을 마시게 하여 입 안에 남아있는 잔류 물질을 제거하도록 하였다. 관능 평가는 두 개의 파트로 나누어 실시하였다. 첫 번째는 생육의 시각적 평가, 그리고 두 번째는 구운 쇠고기의 모든 감각 특성을 평가하였다. 시료는 9점 척도법을 사용하였다. 진공포장 되어있는 시료(두께 2.5 cm)를 4℃에서 12시간 동안 해동하였으며, 그 후 30분간 공기에 노출시켜 완전히 해동시켰다.

시각적 평가는 육색 (1 = 매우 창백 또는 어두움; 9 = 매우 밝은 적색), 이취 (1 = 매우 약한; 9 = 매우 강한), 마블링 (1 = 매우 드문드문; 9 = 매우 조밀), 그리고 종합적 기호도 (1 = 매우 부적합한; 9 = 매우 적합한)로 나타냈다.

구운 쇠고기의 관능 평가는, 전기 구이용 팬 (HM-2002, Daewon Home Electrics, Korea)을 이용하여 원형 스테이크 형태로 180℃에서 10분간 조리하였다. 그 후 조리된 스테이크는 1 cm × 1 cm × 1 cm 형태로 정형 하였으며, 알루미늄 접시에 옮겨 담은 즉시 관능 검사 요원들이 평가하였다. 조리된 시료는 다즙성 (1 = 매우 딱딱한; 9 = 매우 다즙한), 연도 (1 = 매우 딱딱한; 9 = 매우 연한), 맛 (1 = 매우 맛없는; 9 = 매우 맛있는), 풍미 (1 = 매우 약한; 9 = 매우 강한) 그리고 종합적 기호도 (1 = 매우 부적합한; 9 = 매우 적합한)로 평가하였다.

(11) 미오글로빈 측정

미오글로빈 함량은 근형질 추출물을 분광 광도계 (UV-2401 PC, Shimadzu Corporation, Japan)로 525, 545, 565 그리고 572 nm의 흡광도를 측정하여 결정된다. 우

선, 5 g의 시료를 냉각된 40 mM phosphate buffer (pH 6.8)에 넣고 균질기 (Ultra-Turrax T25 basic, Ika Werke GmbH & Co., Germany)를 이용하여 9,500 rpm에서 60초간 균질하였다. Krzywicki (1982)의 방법에 의해 deoxymyoglobin, oxymyoglobin과 metmyoglobin의 상대적인 비율에 의해 미오글로빈 함량을 계산하였으며, 각각 3반복하여 나온 평균 값을 사용하였다.

(12) 철 함량

헴철의 함량은 Hornsey 방법을 약간 수정하여 실시하였다(Hornsey, 1956). 시료 10 g을 acetone 40 ml에 넣어 균질하고, 9 ml 증류수와 11.3 % HCL 1 ml를 homogenizer(Ultra-Turrax T25 basic, Ika Werke GmbH & Co., Staufen, Germany)를 이용하여 9,500 rpm에서 60초 동안 균질한다. 균질액은 암실에서 1시간동안 배양한 후 2,200 g에서 10분간 J2-21 centrifuge (Beckman, USA)의 JA-20 rotor를 이용하여 원심분리 하였다. 그 다음 상등액을 Whatman paper (GE Healthcare Life Sciences, Amersham, UK)를 이용하여 여과 하였으며, blank는 분광 광도계 (UV-mini-1240, Shimadzu, Japan)를 이용하여 640 nm의 흡광도에서 측정하였다. 철 함량은 iron/ μ g hematin에 0.0882 μ g을 계산하여 산출하였다(Clark 등., 1997).

비 헴철의 함량은 Carter (1971)와 Ahn 등.(1993)의 ferrozine 방법을 약간 수정하여 측정하였다. 시료 5g과 citrate phosphate buffer(pH 5.5) 45 mL를 homogenizer(Ultra-Turrax T25 basic, Ika Werke GmbH & Co., Staufen, Germany)를 이용하여 9,500 rpm에서 60초 동안 균질한 후, 균질액을 4,500 rpm에서 20분 동안 원심분리(JA-20 rotor, Beckman, USA; J2-21 centrifuge, Beckman, USA) 하였다. 그 다음 상등액 1 ml와 ascorbic acid 2 %를 첨가한 0.2N HCL 0.5 ml를 혼합한 뒤에 실온에서 5분간 배양한다. 그리고 나서 혼합물과 11.3 % trichloroacetic acid 1.3 ml를 10,000 g에서 Eppendorf Micro 17R 원심분리기(Hanil Science Industrial, Korea)를 이용하여 충분히 섞이게 원심분리를 10분간 실시한다. 마지막으로 상등액 1 ml를 10% ammonium acetate 0.4 ml, ferroun indicator 1ml와 함께 혼합시킨 후 5분 동안 배양시킨다. Blank는 562 nm의 흡광도에서 측정하였으며, 유리철 값은 μ g/g meat로 산출하였다. 총 철 함량은 헴철과 비 헴철 함량의 합으로 산출하였다.

(13) 향기 패턴 분석

향기패턴은 시료 2 g을 10 mL headspace vial에 넣고 PTFE/rubber septa와 aluminium cap으로 밀봉한 다음 autosampler(HS100, Alpha MOS, Toulouse, France)에 의해 40℃에서 500 rpm으로 교반하면서 180초 동안 향기성분을 추출하였다. Headspace 가스를 autosampler의 syringe(45℃)로 2.5 mL씩 뽑은 후 12개의 metal oxide 센서가 내장된 전자코(FOX3000, Alpha MOS, Toulouse, France)의 injector에 주입하였으며, carrier gas와 flow는 air 및 150 mL/min이었다. 분석된 결과는 principal component analysis(PCA, Alpha soft version 8.01 software, Alpha MOS, Toulouse, France)에 의해 처리되었다.

(14) 지방산 조성

시료의 지질 추출은 Folch 등.(1957)을 조금 수정하여 실시하였다. 시료 5 g과 chloroform:methanol(2:1) 25 mL를 균질기(T25 basic ultra turrax, Ika Werke GmbH & Co., Germany)로 13,500 rpm에서 2분 동안 균질하였다. 이후 0.88 % KCl 6 mL를 넣고 3,000 rpm에서 10분 동안 원심분리(GS-6R Centrifuge, Beckman Instruments Inc., USA)하였다. 다음에는 하층액을 38℃에서 질소가스농축기(MGS-2200, Eyela Tokyo Rikakikai Co., Ltd., Japan)로 완전히 농축시킨 후 순수 지질을 AOAC(1995)의 방법에 의해 fatty acid methyl ester(FAME)로 전환시켰다. 시료의 FAME는 GC에 의해 지방산 표준품(Supelco 47015-U)의 retention time과 비교, 분석하였으며, 총 지방산 피크면적의 백분율(%)로 산출하였다. 품종별로 2회 반복 분석하였으며, 이때 GC의 분석 조건은 Table 3.3과 같다.

Table 3.3 Condition of gas chromatography on fatty acid analysis

Item	Condition
Instrument	YL6500 (YL Instrument, Korea)
Column	Omegawax-320 fused silica capillary column (30 m length×0.32 mm i.d.× 0.25 μm film thickness, Supelco, Inc, Bellefonte, PA, USA)
Injector temperature	250°C
Injection volume	1 μL
Split ratio	1:5
Carrier	Helium at 1.0 mL/min constant flow
Oven temperature	130~200°C at 10°C/min, 27 min/sample
Detector temperature	FID, 250°C

(15) 지방 산화

지방산화는 Sinnhuber와 Yu(1977)의 TBARS(2-thiobarbituric acid reactive substances) 방법을 약간 수정하여 실시하였다. 시료 0.5g 과 항산화제(54% propylene glycol+40% Tween 20+3% BHT+3% BHA) 3방울, 1% TBA 3mL, 25% TCA 17mL를 혼합하고, 100°C water bath(BW-20G, Biotechnical Services, Inc., US)에서 30분 동안 가열한 후 얼음물에 담가 15분 동안 냉각하였다. 이후 상등액 5mL를 취하여 chloroform 3mL를 넣고 4° C에서 2,400 g로 30분 동안 원심분리(1248R, Labogene, Denmark)한 다음 상등액의 흡광도를 532nm에서 측정(UV-mini-1240, Shimadzu, Japan)하였다. 최종 수치는 시료 1kg당 mgMA(malonaldehyde)로 산출하였으며, blank는 증류수 0.5mL를 사용하였다. 각 시료는 3반복 하여 분석하였다.

(16) 항산화 효소 활성 측정

SOD, catalase 와 GSH-Px의 항산화 효소 활성 측정은 Renner 등. (1996)의 방법에 의해 실시하였다. 시료 5g과 50 mM phosphate buffer(25° C에서 pH 7.0) 25mL를 homogenizer(Ultra-Turrax T25 basic, Ika Werke GmbH & Co., Staufen, Germany)를

이용하여 13,500 rpm에서 15초 동안 균질한 후 2°C, 3000rpm에서 15분 동안 원심분리 하였다. 분리된 상등액은 지방과 결체조직을 제거하기 위해 Whatman filter paper No. 1 으로 여과하였으며, 이를 항산화 효소의 활성 측정에 이용하였다. Catalase 활성은 Aebi(1983)의 방법에 의해 실시하였다. 여과된 상등액 100 μ L와 30 mM의 H₂O₂ 용액 2.9mL를 석영 큐벳(광로: 1 cm)에 넣어 혼합하였다. 그 다음 240 nm의 흡광도에서 2분 동안 10초 간격으로 H₂O₂ 의 감소를 측정하였으며, catalase 활성은 시료당 units/g으로 산출하였다. SOD 활성은 Marklund 와 Marklund (1974)의 pyrogallol 자동산화 방법을 약간 수정하여 측정하였다. 여과 된 상등액 50 μ L, 50 mM Tris-cacodylate-DTPA buffer (25° C에서 pH 8.2)용액 3.025 mL와 24.8 mM pyrogallol 50 μ L를 혼합한 다음, 420 nm의 흡광도에서 2분 동안 15초 간격으로 blank를 측정하였으며, SOD 1 unit은 25° C에서 pH 8.2일 때, 고기 추출물에서 pyrogallol 자동산화 반응을 50 % 저해하는 SOD의 요구량으로 나타내었다. GSH-Px 활성 측정은 Floh \square 와 G \square nzler (1984)의 약간 변형된 방법에 의해 실시하였다. 상등액 100 μ L와 2 mM EDTA-2 mM NaN₃-5 U/mL GR-10 mM GSH-1.5 mM NADPH 용액(in phosphate buffer, pH 7.0) 0.8 mL의 혼합물에 1.5 mM H₂O₂ 용액(in phosphate buffer, pH 7.0) 100 μ L을 10 mm의 정밀 셀 (104-QS, Hellma Analytics, Germany)에 첨가 후 5분 동안 배양 하였다. GPx 활성은 배양된 혼합물을 340 nm의 흡광도에서 2분에 걸쳐 측정하였으며, NADPH를 산화시키는데 필요한 시료량(g)으로 산출하였다.

(17)통계 분석

본 실험을 통해 얻은 모든 자료는 Agricolae(R-version 3.1.2) 프로그램의 ANOVA(Analysis of variance)에 의해 통계분석(The R-foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria)을 실시하였으며, 각 평균들 간의 유의성 차이는 Duncan' s multiple range test에 의해 5% 수준에서 검증하였다.

다. 결과 및 고찰

Table 3.4 Blood hematological parameters

Group	Parameter	WBC	RBC	HGB	HCT
	Unit	(10 ³ /mm ³)	(10 ⁶ /mm ³)	(g/dL)	(%)
C	Initial	7.62	8.36	8.74 ^B	27.60 ^B
	2 month	7.25	8.74	11.00	32.02
	3 month	7.51	8.56	11.14	32.84
	4 month	8.30	8.41	10.00	31.52
	Mean	7.68	8.57	10.70 ^A	32.1 ^A
T1	Initial	9.56	7.64	8.00 ^B	27.38 ^B
	2 month	10.04	8.81	11.20	33.20
	3 month	10.36	7.94	10.78	30.90
	4 month	9.72	8.47	10.60	33.16
	Mean	10.04	8.41	10.9 ^A	32.4 ^A
T2	Initial	8.56	7.78	9.46 ^B	27.26 ^B
	2 month	8.27	8.60	12.16	32.46
	3 month	8.38	8.51	10.96	34.24
	4 month	7.84	7.34	9.20	29.42
	Mean	8.16	8.15	10.80 ^A	32.00 ^A
	SEM	0.30	0.11	0.21	0.51

WBC, white blood cell; RBC, red blood cell; HGB, hemoglobin; HCT, hematocrit;

SEM, standard error of the mean; A-B means differ significantly by sampling time;

Mean is the average of values during feeding treatment

본 실험에 사용된 동물의 혈액학적 지표는 Table 3.4 와 같다. 사료 급여를 다르게 하였을 때 처리구 간 혈액 WBC, RBC, HGB와 HCT는 유의적인 차이가 나타나지 않았다. 그러나 초기 급여시 HGB와 HCT는 2,3,4달의 평균값과 비교해 유의적으로 낮게 나타났다.

Table 3.5 Blood glucose, protein and mineral parameters

Group	Parameter	Glucose	Total Protein	Albumin	Ca	iP
	Unit	(mg/dl)	(g/dl)	(g/dl)	(mg/dl)	(mg/dl)
C	Initial	76.20	8.14	4.28 ^A	9.58	5.00 ^B
	2 month	76.60	7.30	3.64	9.16	8.62
	3 month	77.20	7.30	3.70	9.12	8.54
	4 month	77.20	7.38	3.68	9.14	6.98
	Mean	77.00	7.33	3.70 ^B	9.14	8.00 ^A
T1	Initial	73.20	7.68	4.12 ^A	9.72	5.30 ^B
	2 month	75.40	7.38	3.68	9.36	7.76
	3 month	76.40	7.62	3.74	9.04	7.48
	4 month	73.00	7.54	3.60	9.02	6.80
	Mean	74.93	7.51	3.70 ^B	9.14	7.10 ^A
T2	Initial	73.80	7.62	4.14 ^A	9.46	5.62 ^B
	2 month	69.40	7.56	3.72	9.12	7.08
	3 month	68.60	7.86	3.86	9.28	7.12
	4 month	77.40	7.32	3.42	8.90	6.08
	Mean	71.80	7.58	3.70 ^B	9.10	6.80 ^A
	SEM	0.69	0.06	0.04	0.05	0.17

Ca, calcium; iP, inorganic phosphorus; SEM, standard error of the mean; A-B means differ significantly by sampling time; Mean is the average of values during feeding treatment

혈당, 총 단백질, 알부민, 칼슘, 무기 인은 사료 급여에 따른 유의적인 차이가 나타나지 않았다 (Table 3.5). 그러나 알부민과 무기 인은 사료 급여를 달리 하여 사육하는 기간이 초기 측정 시기보다 유의적으로 높게 나타났다.

Table 3.6 Blood lipid parameters

Group	Parameter	Total	Triglyceride	LDL	HDL
		Cholesterol			
	Unit	(mg/dl)	(mg/dl)	(mg/dl)	(mg/dl)
C	Initial	103.60	17.00	47.40	63.40
	2 month	113.20	20.20	45.20	69.00
	3 month	133.80	17.80	55.60	77.00
	4 month	125.40	18.60	54.20	69.80
	Mean	124.13 ^a	18.87	51.67 ^a	71.93 ^a
T1	Initial	115.20	26.20	49.00	67.00
	2 month	118.60	21.20	51.40	71.20
	3 month	120.00	17.80	52.00	71.00
	4 month	92.00	19.20	40.00	48.40
	Mean	110.00 ^{ab}	19.40	48.00 ^a	64.00 ^a
T2	Initial	107.80 ^A	19.20	45.00 ^A	63.6 ^A
	2 month	76.20	21.60	34.60	46.40
	3 month	80.00	19.40	36.00	47.80
	4 month	75.20	9.20	31.20	42.80
	Mean	77.00 ^{bB}	17.00	33.93 ^{bB}	45.67 ^{bB}
	SEM	3.39	0.79	1.44	1.83

LDL, low density lipoprotein; HDL, high density lipoprotein; SEM, standard error of the mean; a-b Means differ significantly between different diets; A-B means differ significantly by sampling time; Mean is the average of values during feeding treatment

다른 사료를 급여하였을 때, 총 콜레스테롤, LDL 및 HDL의 함량에 유의적인 차이가 있었으나 중성지방의 함량은 유의적인 차이가 없었다 (Table 3.6). Grass는 총 콜레스테롤, LDL 및 HDL 함량이 TMR 과 Mix에 비해 유의적으로 낮게 나타났다.

Table 3.7 Blood metabolites content and liver health-related enzymes activity

Group	Parameter	Total	Creatinine	BUN	AST	GGT	CK	ALP
		Bilirubin						
Unit		(mg/dl)	(mg/dl)	(mg/dl)	(U/l)	(U/l)	(U/l)	(U/l)
C	Initial	0.28	1.14	13.60 ^A	74	15	293 ^A	103 ^B
	2 month	0.20	1.04	5.00	73	14	202	189
	3 month	0.20	1.08	7.40	71	19	136	198
	4 month	0.22	1.20	5.60	61	27	134	152
	Mean	0.21	1.11	6.00 ^{bB}	68	20	158 ^{bB}	180 ^{aA}
T1	Initial	0.28	1.14	14.80	85	20	408 ^A	88 ^B
	2 month	0.20	0.92	14.40	74	17	161	158
	3 month	0.20	0.98	15.60	79	19	173	121
	4 month	0.20	0.96	12.40	66	19	180	108
	Mean	0.20	0.95	14.30 ^a	73	18	172 ^{bB}	129 ^{bA}
T2	Initial	0.26	1.16	16.80 ^A	77	15	436 ^A	96 ^B
	2 month	0.20	1.16	6.60	69	17	249	157
	3 month	0.20	1.18	11.60	75	19	214	177
	4 month	0.22	0.88	5.20	71	19	200	140
	Mean	0.21	1.07	7.80 ^{bB}	72	18	221 ^{aB}	159 ^{abA}
SEM		0.01	0.02	0.61	1.90	0.85	17.43	5.84

BUN, blood urea nitrogen, AST, aspartate aminotransferase; GGT, gamma-glutamyl transpeptidase; CK, creatine kinase; ALP, alkaline phosphatase; SEM, standard error of the mean; A-B means differ significantly by sampling time SEM, standard error of the mean; Mean is the average of values during feeding treatment

다른 사료를 급여시 AST 및 GGT의 활성 뿐 만 아니라 total bilirubin 과 creatine contents 에 유의적인 차이가 나타나지 않았다 (Table 3.7). 혈중 요소질소의 함량은 일관적으로 Mix가 높게 나타났으며 이와는 반대로 TMR 과 Grass 의 경우 감소하였다. Mix의 BUN 함량이 TMR 과 Grass 보다 높게 나타났다. Grass의 creatine kinase의 활성은 TMR 과 Mix에 비해 유의적으로 높은 반면에, Alkaline phosphatase의 활성은 Mix가 유의적으로 다른 처리구에 비해 낮게 나타났다. 본 연구의 실험동물에서는 건강 관련 효소의 정상적인 활동에 따라, 심각한 건강적 문제는 발견되지 않았다.

Table 3.8 Changes in plasma fatty acid composition during feeding treatment

Group	Sampling time	C14:0	C16:0	C16:1n7	C18:0	C18:1n9	C18:2n6	C18:3n6	C18:3n3	C20:4n6	C20:5n3
C	Initial	1.55	20.51 ^A	3.03 ^A	19.97	22.54 ^A	23.74 ^B	0.83 ^B	2.44 ^A	3.62	1.76 ^A
	2 month	1.59	13.78	1.02	19.69	13.46	44.50	1.14	1.23	2.96	0.63
	3 month	1.71	17.96	2.78	17.30	9.88	41.48	2.44	1.47	4.02	0.97
	4 month	1.53	17.20	1.75	16.96	12.19	42.40	1.64	0.89	4.98	0.45
	Mean	1.61	16.31 ^{ab}	1.85 ^B	17.99	11.84 ^B	42.79 ^A	1.74 ^{abA}	1.20 ^{bb}	3.99	0.68 ^{bb}
T1	Initial	1.71	20.17 ^A	2.74 ^A	17.48	23.45 ^A	25.95 ^B	0.82 ^B	2.35 ^B	3.45 ^B	1.88
	2 month	1.61	12.19	0.83	18.72	12.81	41.05	1.22	5.91	3.33	2.33
	3 month	1.46	13.21	1.70	15.10	10.30	41.65	6.45	5.72	2.17	2.24
	4 month	1.41	13.00	1.75	15.02	10.55	41.27	6.75	5.56	2.34	2.36
	Mean	1.49	12.80 ^{bb}	1.43 ^B	16.28	11.22 ^B	41.32 ^A	4.81 ^{abA}	5.73 ^{abA}	2.61 ^A	2.31 ^a
T2	Initial	1.63	19.13 ^A	2.93 ^A	19.26	22.68 ^A	23.98 ^B	0.74 ^B	2.89 ^B	4.66 ^B	2.11
	2 month	1.04	11.30	0.91	19.17	13.81	39.63	1.08	6.55	4.04	2.47
	3 month	1.66	12.26	1.16	14.97	11.38	39.32	6.39	6.76	3.73	2.39
	4 month	1.64	12.25	1.17	14.77	11.73	39.46	6.58	6.59	3.38	2.45
	Mean	1.44	11.93 ^{bb}	1.08 ^B	16.30	12.31 ^B	39.47 ^A	4.68 ^{abA}	6.63 ^{abA}	3.71 ^A	2.44 ^a
	SEM	0.05	0.90	0.22	0.52	1.33	1.98	0.68	0.60	0.21	0.19

Mean is the average of values during feeding treatment; SEM, standard error of the means;

a-b Means differ significantly between different diets; A-B means differ significantly by sampling time.

사료 급여 기간 동안 혈장 지방산 조성은 유의적인 차이가 나타나지 않았다 (Table 3.8). 사료급여를 달리하였을 때, 사료 급여기간에 따른 myristic acid (C14:0)의 비율에는 변화가 나타나지 않았다. Palmitic (C16:0), linolenic (C18:3n6), α -linoleic (ALA, C18:3n3) 과 eicosapentaenoic (EPA, C20:5n3) acids 는 사료급여에 따른 유의적인 차이가 나타났다. Palmitic, palmitoleic 와 oleic acids 는 사료급여 후, 감소하는 경향을 보였으며 이와는 반대로 linoleic (C18:2n6) 와 linolenic acid 는 모든 처리구에서 증가하였다. TMR을 급여한 처리구에서는 ALA 와 EPA 의 비율은 감소하였고, arachidonic (C20:4n6) 는 사료 급여 기간에 따른 유의적인 차이는 나타나지 않았다. 그러나 Mix와 Grass 두 처리구에서는 arachidonic acid 의 비율이 유의적으로 낮게 나타나는 경향을 보였다.

Table 3.9 Changes in plasma fatty acid index during feeding treatment

Group	Sampling time	SFA	MUFA	PUFA	PUFA/SFA	n6	n3	n6/n3	AI	TI
C	Initial	42.04 ^A	25.57 ^A	32.39 ^B	0.77 ^B	28.19 ^B	4.20 ^A	6.72 ^B	0.46 ^A	0.91 ^A
	2 month	35.06	14.48	50.46	1.44	48.59	1.86	26.07	0.31	0.55
	3 month	36.97	12.66	50.37	1.36	47.94	2.44	19.67	0.39	0.65
	4 month	35.70	13.94	50.36	1.41	49.02	1.34	36.53	0.36	0.50
	Mean	35.91 ^{abB}	13.69 ^B	50.40 ^{baA}	1.40 ^{baA}	48.52 ^A	1.88 ^{bbB}	27.42 ^{aaA}	0.36 ^{abB}	0.56 ^{abB}
T1	Initial	39.35 ^A	26.20 ^A	34.45 ^B	0.88 ^B	30.22 ^B	4.23 ^B	7.14	0.45 ^A	0.82 ^A
	2 month	32.51	13.64	53.84	1.66	45.60	8.25	5.53	0.28	0.54
	3 month	29.76	12.00	58.23	1.96	50.27	7.96	6.32	0.27	0.49
	4 month	29.43	12.30	58.27	1.98	50.36	7.92	6.36	0.26	0.48
	Mean	30.57 ^{abB}	12.65 ^B	56.78 ^{aaA}	1.86 ^{aaA}	48.74 ^A	8.04 ^{aaA}	6.07 ^b	0.27 ^{bbB}	0.50 ^{abB}
T2	Initial	40.01 ^A	25.61 ^A	34.38 ^B	0.86 ^B	29.38 ^B	5.00 ^B	5.88	0.43 ^A	0.83 ^A
	2 month	31.51	14.72	53.77	1.71	44.75	9.02	4.96	0.23	0.51
	3 month	28.88	12.54	58.58	2.03	49.43	9.15	5.40	0.27	0.45
	4 month	28.65	12.90	58.45	2.04	49.41	9.04	5.47	0.26	0.45
	Mean	29.68 ^{bbB}	13.39 ^B	56.93 ^{aaA}	1.93 ^{aaA}	47.87 ^A	9.07 ^{aaA}	5.28 ^b	0.25 ^{bbB}	0.47 ^{bbB}
	SEM	1.22	1.48	2.59	0.12	2.28	0.78	2.68	0.24	0.18

Mean is the average of values during feeding treatment; SEM, standard error of the means; SFA, saturated fatty acids; MUFA, monounsaturated fatty acids; PUFA, polyunsaturated fatty acids; AI, atherogenic index; TI, thrombogenic index; a-b Means differ significantly between different diets; A-B means differ significantly by sampling time.

Mix 사료 급여시 오메가-3 지방산이 유의적으로 증가하였으며, 그 중 ALA 와 EPA의 증가 추세가 가장 뚜렷하게 나타났다. 또한 오메가-6/오메가-3 비율은 Grass 급여 처리구가 낮게 나타났다 (Table 3.9). TMR 처리구가 사료급여기간에 따른 saturated fatty acid (SFA) 조성은 다른 처리구에 비해 높게 나타났다. MUFA의 비율은 모든 처리구에서 감소하였다. PUFA와 PUFA/SFA 비율은 Mix와 Grass에서 유의적으로 높게 나타났다. 사료급여를 달리하였을 때, 오메가-6의 비율은 유의적인 차이가 없었지만, 모든 처리구에서 total omega-6 fatty acids 가 유의적으로 증가하였다. Mix와 Grass 급여시 총 오메가-3 지방산이 증가하였으며, 오메가-6/오메가-3 비율은 TMR에 비해 유의적으로 낮게 나타났다. 본 사양시험의 결과 Mix와 Grass 사료 급여시 동맥경화 및 혈전 지표가 TMR에 비해 낮게 나타났으며, 따라서 오메가-3가 풍부한 사료를 육우(거세우)에 급여하였을 때, 심혈관계 질환의 위험을 낮출 것으로 판단된다.

사료급여를 달리한 처리구 간에 수분, 조지방 그리고 조단백질에서 유의적인 차이가 나타났으며, 회분은 유의적인 차이가 나타나지 않았다 (Table 3.10). 초지를 급여한 육우의 경우 수분 함량이 높게 나타나는 경향을 보였으며, 지방과 단백질의 경우에는 TMR과 Mix 급여

구에 비해 낮게 나타났다. 이는 상대적으로 일일급여량이 초지급여 처리구가 적으며, 도체중이 다른 처리구에 비해 적게 나가기 때문이다.

Table 3.10 Meat proximate composition

Composition (%)	C	T1	T2	SEM	Significance level
Moisture	75.49 ^c	77.31 ^b	78.95 ^a	0.50	***
Crude fat	4.36 ^a	3.16 ^a	1.07 ^b	0.49	***
Crude protein	20.93 ^a	20.66 ^a	19.41 ^b	0.30	**
Ash	0.96	0.95	0.94	0.001	ns

SEM, standard error of the means; a-b Means differ significantly between different diets; *** ($P < 0.001$); ** ($P < 0.01$); ns (not significant, $P > 0.05$)

Table 3.11 에서 나타난 바와 같이 초지급여 처리구의 고기가 pH가 높게 나타나는 경향을 보였고, 보수력은 낮게 나타났으며, 가열감량과 전단력은 높게 나타났다. Young 등. (1999) 은 초지급여한 소의 경우 곡물사료를 급여한 소 보다 pH가 높게 나타난다고 보고하였다. 또한 조리한 쇠고기에서는 초지급여한 처리구가 응집성, 검성 그리고 씹힘성에서 다른 처리구에 비해 높은 값을 나타냈다.

Table 3.11 Meat physical attributes

	C	T1	T2	SEM	Significance level
Meat pH	5.75 ^b	5.80 ^{ab}	5.88 ^a	0.04	*
Water holding capacity (%)	55.46 ^a	55.19 ^a	50.45 ^b	1.41	*
Cooking loss (%)	37.83 ^c	42.20 ^b	44.94 ^a	0.91	***
Shear force (kg)	6.81 ^b	7.97 ^a	8.54 ^a	0.26	***
Hardness (kg)	24.51	25.49	26.18	0.67	ns
Springiness	0.46 ^b	0.52 ^a	0.51 ^{ab}	0.02	*
Cohesiveness	0.40 ^c	0.44 ^b	0.50 ^a	0.01	***
Gumminess	7.02 ^c	9.33 ^b	13.44 ^a	1.06	***
Chewiness	3.16 ^c	4.67 ^b	6.91 ^a	0.58	***
Resilience	0.22 ^c	0.27 ^b	0.34 ^a	0.02	***

SEM, standard error of the means; a-c Means differ significantly between different diets: *** ($P < 0.001$); ** ($P < 0.01$); * ($P < 0.05$); ns (not significant, $P > 0.05$)

쇠고기의 표면육색은 Table 3.12와 같다. 초지급여 처리구의 경우 명도가 다른 처리구에 비해 유의적으로 낮게 나타났으며, 적색도와 황색도는 유의적으로 높게 나타났다.

Table 3.12 Meat surface color, myoglobin and iron content

	C	T1	T2	SEM	Significance level
<i>Instrumental color</i>					
Lightness (L*)	41.02 ^a	42.08 ^a	38.66 ^b	0.45	***
Redness (a*)	17.29 ^b	17.63 ^b	20.88 ^a	0.51	***
Yellowness (b*)	7.38 ^b	8.07 ^b	10.43 ^a	0.41	***
Chroma (C*)	20.18 ^b	19.46 ^b	26.01 ^a	0.93	***
Hue angle (h°)	24.62	24.3	25.78	0.2	Ns
<i>Myoglobin content</i> [†]					
Total myoglobin (mg/g)	10.13	10.36	10.26	0.33	Ns
Deoxymyoglobin (%)	24.93	24.78	25.58	0.79	Ns
Oxymyoglobin (%)	51.95 ^b	55.04 ^b	61.86 ^a	1.99	**
Metmyoglobin (%)	23.12 ^a	20.18 ^a	12.57 ^b	1.85	***
<i>Iron content</i>					
Total iron (μg/g)	20.70 ^b	19.58 ^b	24.82 ^a	1.02	*
Heme iron (μg/g)	18.56 ^b	17.19 ^b	22.49 ^a	1.37	*
Nonheme iron (μg/g)	2.13	2.41	2.26	0.08	Ns

총 미오글로빈 함량은 처리구간에 유의적인 차이는 나타나지 않았다 (Table 3.12). 그러나 초지급여 처리구가 옥시미오글로빈 함량이 높고 메트미오글로빈 함량은 상대적으로 다른 처리구에 비해 낮게 나타났다.

Table 3.13 Meat and adipose tissue fatty acid composition (% of total fatty acids)

	C	T1	T2	SEM	Significance level
<i>Meat fat</i>					
C14:0	2.94 ^a	2.51 ^b	2.48 ^b	0.07	*
C16:0	27.85 ^a	26.89 ^a	25.61 ^b	0.29	**
C16:1n7	3.15 ^{ab}	3.74 ^a	2.66 ^b	0.14	*
C18:0	16.97	17.15	17.40	0.06	ns
C18:1n9	42.31 ^b	43.21 ^{ab}	44.47 ^a	0.28	*
C18:2n6	4.48 ^a	3.48 ^b	3.36 ^b	0.16	***
C18:3n6	0.07	0.12	0.08	0.01	ns
C18:3n3	0.40 ^c	0.69 ^b	1.06 ^a	0.09	***
C20:1n9	0.08 ^b	0.12 ^{ab}	0.15 ^a	0.01	*
C20:4n6	1.30	1.54	1.49	0.03	ns
C20:5n3	0.24 ^b	0.31 ^b	0.88 ^a	0.09	***
C22:4n6	0.15 ^b	0.16 ^b	0.20 ^a	0.01	**
C22:6n3	0.05 ^b	0.09 ^b	0.15 ^a	0.01	***
Total	100	100	100		
SFA	47.76	46.55	45.49	0.29	ns
MUFA	45.54	47.07	47.28	0.24	ns
PUFA	6.69	6.38	7.23	0.11	ns
PUFA/SFA	0.14	0.14	0.16	0.00	ns
n6	6.00 ^a	5.30 ^b	5.13 ^b	0.12	*
n3	0.70 ^c	1.08 ^b	2.10 ^a	0.19	***
n6/n3	8.58 ^a	4.89 ^b	2.44 ^c	0.80	***
<i>Adipose tissue</i>					
C14:0	4.77 ^a	4.72 ^a	3.51 ^b	0.18	**
C16:0	41.60 ^a	35.56 ^b	30.44 ^c	1.44	***
C16:1n7	3.64	3.25	2.72	0.12	ns
C18:0	19.14 ^b	24.39 ^a	27.58 ^a	1.10	**
C18:1n9	27.62 ^b	28.52 ^{ab}	32.54 ^a	0.68	*
C18:2n6	2.55 ^a	2.25 ^b	1.92 ^c	0.08	***
C18:3n6	0.20 ^c	0.45 ^a	0.32 ^b	0.03	***
C18:3n3	0.26 ^b	0.60 ^a	0.55 ^a	0.05	***
C20:1n9	0.05 ^b	0.05 ^b	0.13 ^a	0.01	**
C20:4n6	0.10	0.08	0.12	0.01	ns
C20:5n3	0.01 ^c	0.03 ^b	0.04 ^a	0.00	***
C22:4n6	0.07 ^b	0.09 ^b	0.16 ^a	0.01	***
C22:6n3	0.004 ^c	0.01 ^b	0.04 ^a	0.00	***
Total	100	100	100		
SFA	65.50	64.68	61.52	0.54	ns
MUFA	31.31	31.81	35.38	0.57	ns
PUFA	3.19	3.51	3.10	0.06	ns
PUFA/SFA	0.05	0.05	0.05	0.00	ns
n6	2.91 ^a	2.87 ^a	2.53 ^b	0.05	*
n3	0.28 ^b	0.64 ^a	0.57 ^a	0.05	***

n6/n3	10.46 ^a	4.46 ^b	4.45 ^b	0.90 ***
-------	--------------------	-------------------	-------------------	----------

SFA, saturated fatty acids; MUFA, monounsaturated fatty acids; PUFA, polyunsaturated fatty acids; SEM, standard error of the means; a-c Means differ significantly between different diets; *** ($P < 0.001$); ** ($P < 0.01$); * ($P < 0.05$); ns (not significant, $P > 0.05$)

쇠고기 지방과 longissimus lumborum 근육의 지방산 조성을 Table 3.13에 나타냈다. 본 연구에서는 SFA, MUFA, PUFA, PUFA/SFA의 비율은 유의적인 차이가 나타나지 않았으며 ($P > 0.05$), 이는 Rubia Gallega 와 Charolais 품종의 거세우 연구와 유사한 경향을 나타냈다 (Varela 등. 2005, Scolan 등. 2001). 그러나 SFA는 TMR사료를 급여한 쇠고기가 다소 높게 나타났다. 특히 조사료를 급여한 쇠고기의 경우 인체내 콜레스테롤 수치를 증가시키는 주요인인 C14:0와 C16:0이 낮은 함량을 나타내었으며 이는 Moloney 등 (2001)의 연구와 유사한 경향을 나타냈다. 이와는 반대로 C18:3n3 (ALA), C20:5n3 (EPA), C22:6n3 (DHA)와 같은 n3지방산은 다른 처리구에 비해 조사료를 급여한 처리구에서 유의적으로 높게 나타났다 ($P < 0.001$). 그러므로 고기 지방에서 n6/n3 비율은 조사료를 급여한 소에서 낮게 나타났다. 이러한 결과에서 Holstein 거세우에 무제한 건초를 급여하는 것이 n3지방산 함량을 향상시키는 효과가 있다는 것을 확인하였다.

쇠고기 등심의 생고기와 구웠을 때 관능특성을 Table 3.14에 나타냈다. 생육에서 육색의 경우 Mix와 Grass처리구가 TMR처리구에 비해 높은 점수를 받았다 ($P < 0.05$). 그러나 이취, 종합적 기호도에서는 유의적인 차이가 없었다. 고기를 구운 후에는 TMR처리구가 다즙성, 연도, 종합적 기호도에서 다른 처리구에 비해 유의적으로 높은 점수를 받았다. 헤일리지를 급여한 쇠고기에서 기호도가 가장 낮게 나타났으며, 이는 다른 처리구에 비해 이취가 높게 나타났고 다즙성이 낮았기 때문이다. 그러나 맛에서는 처리구간 유의적인 차이는 없었다.

Table 3.14 Sensory scores of raw and roasted beef

	C	T1	T2	SEM	Significance level
<i>Raw</i>					
Color	6.42 ^b	7.45 ^a	7.69 ^a	0.29	*
Abnormal odor	3.45	3.42	4.09	0.43	ns
Overall acceptability	6.31	6.13	6.00	0.37	ns
<i>Roasted</i>					
Juiciness	6.56 ^a	5.19 ^b	4.38 ^b	0.43	***
Tenderness	6.50 ^a	5.00 ^b	4.38 ^b	0.46	**
Taste	6.63	5.93	6.27	0.32	ns
Off-flavor	3.07 ^b	3.14 ^b	5.44 ^a	0.46	**
Overall acceptability	7.19 ^a	5.25 ^b	4.25 ^c	0.49	***

SEM, standard error of the means; a-b Means differ significantly between different diets; *** ($P < 0.001$); ** ($P < 0.01$); * ($P < 0.05$); ns (not significant, $P > 0.05$)

관능검사의 결과를 살펴보면, 많은 패널리스트들이 건초를 급여한 구운 쇠고기에서 다른 처리구에 비해 이취가 심하다고 평가하였다. 이를 보다 과학적으로 접근하기 위해 본 연구에서는 전자코를 이용한 향기패턴 분석을 실시하였다. Figure 3.1을 살펴보면, 초지급여 처리구가 TMR급여 쇠고기와 다른 향기패턴을 나타내는 것을 확인 하였다.

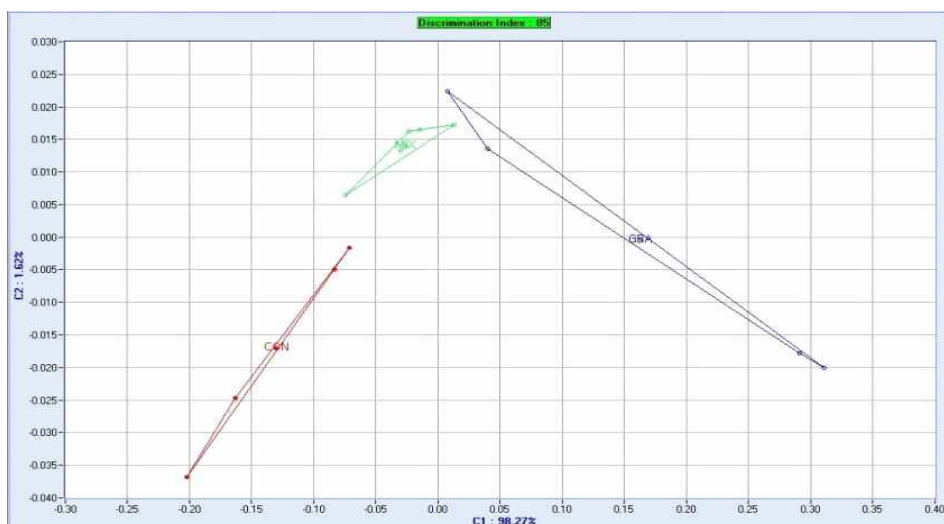


Fig. 3.1. Aroma pattern of beef from TMR (CON), n-3 mix (MIX) and grass (GRA) groups as revealed by electronic nose

Figure 3.2를 보면 Mix와 Grass처리구는 저장 0일과 한 달 후의 TBARS값이 유의적으로 증가하였으나, TMR처리구에서는 유의적인 차이가 나타나지 않았다. 저장 한 달 후, 초지를 급여한 쇠고기에서 TBARS값이 다른 처리구에 비해 높게 나타났다. 비록 처리구간 쇠고기 지방산화가 유의적인 차이를 나타냈지만, 모든 처리구가 malondialdehyde 함량이 지방산패취가 나는 않는 0.6 mg/kg 이하인 적합한 수치를 보였다.

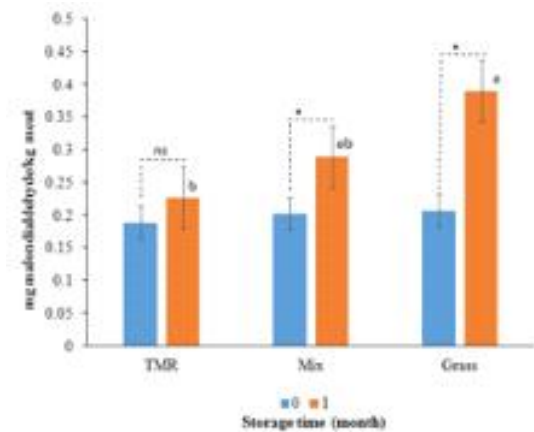


Fig. 3.2 TBARS values of beef from TMR (CON), n-3 mix (MIX) and grass (GRA) groups during frozen storage at $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ for a month. Effect of storage: Ns (not significant, $P > 0.05$), * ($P < 0.05$). Effect of diets: a-b Means differ significantly ($P < 0.05$).

냉동저장 중 TBARS값이 증가됨에 따라, 항산화효소인 superoxide dismutase (SOD)와 glutathione peroxidase (GSH-Px)은 유의적으로 감소하였으며, catalase는 유의적인 차이가 나타나지 않았다. 비록 초지를 급여한 쇠고기가 다른 처리구에 비해 malondialdehyde 함량이 높게 나타났지만 SOD와 catalase 활성이 Mix처리구와 같이 TMR처리구에 비해 더 높게 나타났다.

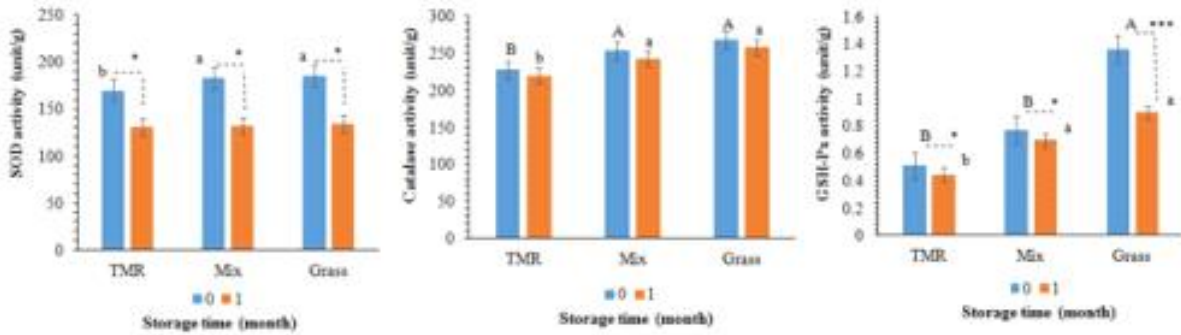


Fig. 3.3 Antioxidant enzyme activity of beef from TMR (CON), n-3 mix (MIX) and grass (GRA) groups during frozen storage at -18°C for a month. Effect of storage: Ns (not significant, $P > 0.05$), * ($P < 0.05$). Effect of diets: a-b Means differ significantly ($P < 0.05$).

라. 결론

아마씨유가 첨가된 펠렛과 reed canary grass (*Phalaris arundinacea*) 해일리지를 40:60 비율로 Friesian-Holstein 거세우에 급여하였을 때, TMR과 해일리지만 단독으로 급여하였을 때 보다 더 많은 이점이 있는 것으로 판단된다. 아마씨유가 첨가된 펠렛 사료를 급여한 수컷 육우의 체중과 육질이 해일리지만 급여한 쇠고기에 비해 더 좋은 평가를 받았으며, n6/n3 비율이 TMR사료를 급여한 거세우에 비해 낮아 인체의 건강적인 측면에서도 바람직할 것으로 사료된다.

4. 혈액의 성분과 지방산 조성분석 및 육질과의 상관성

가. 연구 목적 및 배경

1980년대 후반부터 건강 증진에 기여하는 기능성 물질인 카로테노이드, 토코페롤 등을 비롯하여 동물성식품에 함유되어 있는 오메가-3, 오메가-6 지방산에 대한 관심이 나타나기 시작했다(최은옥, 2010). 특히 오메가-3 지방산 시장규모가(생산액) 2010년 348억에서 2013년 586억원으로 지속적으로 성장하고 있다(식품의약품안전처, 2014).

최근 현대인들의 서구화된 식습관에 의해 일반적인 식사의 구성을 보면 오메가-6 지방산 섭취가 오메가-3 지방산보다 훨씬 많으며, 서구의 경우 오메가-6/오메가-3 지방산 섭취비가 15.0-16.7 정도이며, 2014년 우리나라의 지방산 섭취비는 6.2-7.9로 보고되었다(국민건강영양조사, 2015). 오메가-3 지방산 : 오메가6 지방산 권장 섭취비율은 국가마다 약간씩 다른 편이나, 일반적으로 1 : 4 내외이다(Lee 등., 1997; Harris 등., 1984). 오메가-3 지방산의 주요 기능으로는 항염증 반응, 항혈전 기능, 항암 기능, 고혈압 예방 기능을 하는 것으로 알려져 있으며, 오메가-6 지방산 섭취증가로 인해 지방산 섭취비가 올라가면 아테롬성 질환 등의 발병 위험성이 커진다. 따라서 본 연구의 목적은 선행연구 보다 처리구의 규모 및 사양기간을 늘려 해당 연구에 관한 재확인 및 농후사료, 조사료, 조사료에 아마씨유를 혼합한 사료를 급여하였을 때 혈장 지방산 조성에서 오메가3 : 오메가6 비율의 차이를 알아보고, 사양 기간 중 Friesian-Holstein 거세우의 생화학 및 혈액학적 지표와 고기 지방산 조성과의 관계에서 나타나는 특성을 알아보기 위해 실시하였다.

나. 재료 및 방법

(1) 육우의 사양 및 사료급여 조건

15개월령 Friesian-Holstein 거세우 21마리를 무작위로 그룹당 7마리로 하여 3그룹으로 나누었으며, 방목장에서 유사한 조건으로 성장시켰다. 첫 번째 그룹은 대조군(C)으로서 total-mixed ratio (TMR) 사료를 급여했고, 두 번째 그룹(T1)은 아마씨유를 첨가하여 오메가-3 지방산을 강화한 곡물과 reed canary grass (*Phalaris arundinacea*)을 40:60 으로 혼

합한 사료를 급여하였으며, 세 번째 그룹(T2)은 reed canary grass (*Phalaris arundinacea*)를 급여하였다.

(2) 혈액 샘플

채혈시기는 처음 채혈한 달을 기준으로 2달, 3달, 5달, 8달 후로 정하였으며, Friesian-Holstein 거세우의 경정맥과 꼬리정맥에서 정맥채혈주사기(18G)를 이용하여 채혈하였다. 채혈한 혈액은 6 mL의 vacutainer (Heparin or EDTA-containing, BD Diagnostics, US)에 주입한 후, 실험실로 옮겨와 분석을 실시하였다. 혈액에서 혈장을 분리하기 위해 4°C에서 15분 동안 3,000 X g 동안 원심분리를 하였다. 혈장은 2 mL 마이크로 튜브로 옮겨 담은 후, 추가 분석을 실시하기 전까지 -75 °C에서 저장하였다.

(3) 혈액 생화학 및 혈액학적 분석

혈액 생화학 및 혈액학적 분석은 서울대학교 평창캠퍼스의 대동물임상수의학 연구실에서 실시하였다. Mindray BS-400 화학 분석기(Mindray, Shenzhen, P.R.China)로 혈장으로 분석 가능한 Total protein (TP), albumin, total cholesterol, triglyceride, low density lipoprotein, high density lipoprotein, glucose, total bilirubin, urea, creatinine, calcium, inorganic phosphate, and magnesium concentrations, aspartate transaminase (AST), gamma-glutamyl transpeptidase (GGT), creatine kinase (CK), alkaline phosphatase (ALP) 활성을 분석하였다. 일반혈액검사(complete blood cell)는 EDTA 혈액 항응고제를 사용하여 실시하였으며, 혈액 분석기(HemaVet 950, DrewScientific, TX, USA)로 분석하였다.

(4) 혈장 지방산 조성

지방산 조성은 가스 크로마토그래피(YL6500, YL Instrument, Korea)를 이용하여 측정하였다. 혈장 지질은 Folch 등(1957)의 방법에 의하여 chloroform:methanol(2:1 v/v)을 이용해 추출하였으며, 각각의 시료는 2반복 실시하여 지방산 조성을 분석하였다. 지방산은 AOAC(1995)의 방법을 수정하여 진행하였으며, methyl esters로 전환하였다. 요약하자면, 시료를 냉각수로 침지시켜 냉각시키고, 25% BF₃-MeOH 용액 2 mL를 혼합한 후, 80°C water bath에서 1시간 동안 가열하였으며, 냉각수로 10분 동안 냉각하여 FAME화 시켰다.

최종 반응물은 증류수 3 mL 와 hexane 2 mL를 혼합하고, 3,000 rpm에서 10분간 원심분리 한 후 상층액을 1.8 mL 용량의 GC vial 에 옮겨 GC에 의해 분석하였다. 이때 분석 조건은 Table 4.1과 같으며, 시료 내 지방산의 농도는 standard (Supelco 47015-U)의 retention time과 비교하여 분석한 후 총 지방산 peak area의 백분율(%)로 산출하였다.

Table 4.1 Analysis method for the fatty acid composition using GC

Instrumentation	
Chromatographic system	YL6500 (YL Instrument, Korea)
Automatic sampler	Acme 6000 (YL Instrument, Korea)
Experimental conditions GC/FID	
Column	SP 2560 column (100m length×0.25mm i.d.×0.2 μm film thickness, Supelco, Inc, Bellefonte, PA, USA)
Injector	250°C
Injection volume	1 μL
Split/splitless	Sprlit 1:5
Carrier	Helium at 1.0 mL/min constant flow
Oven temperature	190–200°C at 10°C/min, 27 min/sample
Detector temperature	FID, 250°C

(5) 통계분석

본 실험을 통해 얻은 모든 자료는 Agricolae(R-version 3.1.2) 프로그램의 ANOVA(Analysis of variance)에 의해 통계분석(The R-foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria)을 실시하였으며, 각 평균들 간의 유의성 차이는 Duncan's multiple range test에 의해 5% 수준에서 검증하였다.

다. 결과 및 고찰

처리구간 사료를 달리하여 급여하였을 때 혈액성상 지표는 Table 4.2과 같다. WBC는 질병의 진단에 근본적인 지표중 하나이며, 독성에 따른 지표의 변동 등을 쉽게 알 수 있다. RBC는 독성에 의한 적혈구의 수적 감소 등 기본적인 건강상태를 조사 할 수 있다. WBC, RBC, HGB, HCT는 처리구 간 유의적인 차이가 없었다. 또한 처리구별 사양기간에 따른 유의적인 차이는 나타났으나, 모두 건강상 문제가 되지 않는 기준 범위 내에 있었다(Mohri 등., 2007). 다만 HGB와 HCT의 경우 모든 처리구에서 사양기간이 길어질수록 유의적으로 증가하는 경향이 나타났다($p < 0.05$).

Table 4.2 Blood hematological parameters

Group	Parameter	WBC	RBC	HGB	HCT
	Unit	($10^3/\text{mm}^3$)	($10^6/\text{mm}^3$)	(g/dL)	(%)
C	Initial	9.07 ^b	8.26 ^{ab}	9.06 ^c	27.6 ^c
	2 month	12.23 ^a	7.06 ^b	9.16 ^c	27.36 ^c
	3 month	9.35 ^b	8.00 ^{ab}	11 ^b	29.26 ^{bc}
	5 month	9.11 ^b	7.94 ^{ab}	12.09 ^{ab}	30.74 ^{ab}
	8 month	8.57 ^b	8.99 ^a	12.99 ^a	33.29 ^a
	Mean	9.70	8.04	10.97	29.77
T1	Initial	9.16 ^b	7.44 ^{ab}	8.9 ^c	25.67 ^c
	2 month	13.14 ^a	8.31 ^{ab}	10.27 ^{bc}	30.67 ^b
	3 month	11.25 ^{ab}	7.17 ^b	11.23 ^b	28.53 ^{bc}
	5 month	9.79 ^b	7.64 ^{ab}	11.8 ^b	30.11 ^b
	8 month	9.10 ^b	9.20 ^a	14.7 ^a	35.83 ^a
	Mean	10.64	7.97	11.44	30.18
T2	Initial	11a	7.80 ^b	8.54 ^d	26.36 ^c
	2 month	10.69	8.73 ^{ab}	10.25 ^c	29.68 ^b
	3 month	10.13	5.16 ^d	9.043 ^d	24.91 ^c
	5 month	9.72	6.67 ^c	11.4 ^b	29.44 ^b
	8 month	9.214	9.27 ^a	14.24 ^a	34.79 ^a
	Mean	10.05	7.47	10.84	29.02
	SEM	0.27	0.15	0.22	0.38

WBC, white blood cell; RBC, red blood cell; HGB, hemoglobin; HCT, hematocrit.

^{a-d} Means differ significantly among feeding period within diet group ($p < 0.05$).

Mean is the average of values during feeding treatment.

SEM, standard error of the mean.

처리구간 사료를 달리하여 급여하였을 때 Blood glucose, protein, mineral 함량은 Table 4.3과 같다. Glucose의 경우 대조군이 88mg/dl로 오메가-3 지방산이 다른 처리구들에

비해 유의적으로 높은 결과를 나타냈다($p<0.05$). 이와는 반대로 total protein, albumin의 경우 조사료를 급여한 처리구에서 가장 높은 수치를 나타냈다($p<0.05$).

Table 4.3 Blood glucose, protein and mineral parameters

Group	Parameter	Glucose	Total Protein	Albumin	Ca	iP
	Unit	(mg/dl)	(g/dl)	(g/dl)	(mg/dl)	(mg/dl)
C	Initial	86.83 ^a	7.84 ^a	3.52 ^a	9.79 ^a	5.73 ^b
	2 month	88.14 ^a	7.07 ^b	3.27 ^b	9.04 ^b	8 ^a
	3 month	87.71 ^a	7.41 ^{ab}	3.54 ^a	8.91 ^b	7.91 ^a
	5 month	89.43 ^a	7.46 ^{ab}	3.59 ^a	8.9 ^b	8.17 ^a
	8 month	87.71 ^a	7.51 ^{ab}	3.71 ^a	9.44 ^a	7.59 ^a
	Mean	88 ^A	7.44 ^B	3.53 ^B	9.22	7.48 ^A
T1	Initial	87 ^a	7.54 ^a	3.44 ^c	9.96 ^a	5.79 ^b
	2 month	85.29 ^a	7.2 ^a	3.36 ^c	9.34 ^b	7.49 ^a
	3 month	78.67 ^b	7.5 ^a	3.53 ^{bc}	9.02 ^b	7.43 ^a
	5 month	85 ^a	7.8 ^a	3.79 ^{ab}	9.21 ^b	7.91 ^a
	8 month	86.33 ^a	7.45 ^a	3.92 ^a	9.77 ^a	7.25 ^a
	Mean	84.5 ^B	7.51 ^B	3.61 ^{AB}	9.46	7.16 ^A
T2	Initial	84.33 ^a	7.74 ^b	3.5 ^c	9.67 ^a	5.64 ^b
	2 month	68.67 ^b	7.317 ^b	3.52 ^c	9.57 ^a	5.92 ^b
	3 month	73.14 ^b	8.329 ^a	3.73 ^{bc}	9.04 ^b	5.79 ^b
	5 month	70.57 ^b	8.329 ^a	3.8 ^b	9.01 ^b	6.97 ^a
	8 month	79.71 ^a	8.029 ^{ab}	4.07 ^a	9.87 ^a	6.3 ^{ab}
	Mean	75.21 ^C	7.98 ^A	3.74 ^A	9.42	6.13 ^B
	SEM	0.81	0.06	0.03	0.05	0.11

Ca, calcium; iP, inorganic phosphorus; SEM, standard error of the mean.

^{a-c} Means differ significantly among feeding period within diet group ($p<0.05$).

^{A-C} Means differ significantly among diets ($p<0.05$).

Mean is the average of values during feeding treatment.

SEM, standard error of the mean.

처리구간 사료를 달리하여 급여하였을 때 혈중 지질의 수치는 Table 4.4과 같다. Total cholesterol은 대조군이 124.3mg/dl로 실험군1과 실험군2 각각 85.84mg/dl와 88.36mg/dl에 비해 유의적으로 높은 수치를 나타냈으며 이는 LDL과 HDL에서도 유사한 경향이 나타났다($p<0.05$). 이는 실험군1과 실험군2에 급여한 사료의 조성 중 조섬유의 비율이 대조군에 비해 높기 때문에 이와같은 결과가 나타난 것으로 판단된다. 섬유소는 장내에서 콜레스테롤로부터 합성되는 담즙산을 흡착하여 대변으로 배설시킴으로써 혈청 내 콜레스테롤 함량을 감소시키는

것으로 알려져 있다(Jonnalagadda 등., 1993). 또한 Roberfroid(1993)는 식이섬유가 중성지질 및 혈청콜레스테롤 함량을 낮춘다고 보고하였다.

Table 4.4 Blood lipid parameters

Group	Parameter	Total Cholesterol	Triglyceride	LDL	HDL
	Unit	(mg/dl)	(mg/dl)	(mg/dl)	(mg/dl)
C	Initial	87.67 ^c	24.83 ^a	40.17 ^c	55.67 ^b
	2 month	109.7 ^{bc}	20 ^b	47.57 ^{bc}	70.43 ^a
	3 month	149.3 ^a	19.86 ^b	64.14 ^a	81.71 ^a
	5 month	124.1 ^{ab}	18.86 ^b	54.71 ^{ab}	68.86 ^{ab}
	8 month	145.4 ^a	20.57 ^b	61.43 ^a	79 ^a
	Mean	124.3 ^A	20.71	54A	71.59 ^A
T1	Initial	83.17 ^{ab}	23.17 ^a	37.17 ^a	52.17 ^{ab}
	2 month	70.14 ^b	19.57 ^{ab}	34.29 ^a	49.71 ^{ab}
	3 month	76 ^b	15.33 ^b	34.67 ^a	44.17 ^b
	5 month	94.57 ^{ab}	16.71 ^b	41.86 ^a	57.43 ^{ab}
	8 month	106.5 ^a	17.5 ^b	45.5 ^a	61.67 ^a
	Mean	85.84 ^B	18.44	38.66 ^B	53.06 ^B
T2	Initial	87 ^b	19.5 ^{ab}	40 ^{ab}	55.33 ^{ab}
	2 month	90.5 ^b	22.33 ^a	41.5 ^{ab}	61.33 ^{ab}
	3 month	70.14 ^c	19.71 ^{ab}	30.57 ^c	41 ^c
	5 month	88.14 ^b	23 ^a	38.57 ^b	53.29 ^b
	8 month	106.1 ^a	16.43 ^b	44.57 ^a	63.57 ^a
	Mean	88.36 ^B	20.15	38.94 ^B	54.7 ^B
	SEM	3.08	0.46	1.25	1.55

LDL, low density lipoprotein; HDL, high density lipoprotein.

^{a-c} Means differ significantly among feeding period within diet group ($p < 0.05$).

^{A-B} Means differ significantly among diets ($p < 0.05$).

Mean is the average of values during feeding treatment.

SEM, standard error of the mean.

처리구간 사료를 달리하여 급여하였을 때 혈액 대사물질 함량 및 간 건강 관련 효소 수치는 Table 4.5과 같다. BUN, creatinine은 노폐물을 걸러 주는 신장 기능을 검사하는 지표로 이용되며, AST, ALT, GGT는 간과 관련된 각종 효소들로, 간염, 간경화, 간암 등의 진단에 이용된다(김기훈 등, 2013). 모든 처리구에서 의학적으로 정상범위의 수치를 나타냈으며 creatinine, BUN, CK는 실험군2가 유의적으로 높게 나타났으며($p < 0.05$), ALP는 주로 뼈를 만드는 동안 분비되는 단백질 효소로써 육우의 성장과 관련된 지표중 하나이다. 실험군2가 다

른 처리구에 비해 낮게 나타났으며 ($p < 0.05$), 이는 조사료를 급여한 실험군2가 대조군과 실험군1에 비해 증체량 및 최종 체중이 낮게 나타나는 주관기관인 삼양식품 연구결과와 부합한다.

Table 4.5 Blood metabolites content and liver health-related enzymes activity.

Group	Parameter	Creatinine	BUN	AST	GGT	CK	ALP
	Unit	(mg/dl)	(mg/dl)	(U/l)	(U/l)	(U/l)	(U/l)
C	Initial	0.92 ^c	6.33 ^b	77.83 ^a	11.5 ^c	431.4 ^a	172.7 ^b
	2 month	1.07 ^b	7 ^b	66.86 ^b	16.57 ^b	186 ^b	243.1 ^a
	3 month	1.09 ^b	8.86 ^a	61.71 ^b	19 ^{ab}	170.7 ^b	239.3 ^{ab}
	5 month	1.1 ^b	8.71 ^a	61.57 ^b	19.57 ^{ab}	190 ^b	205.3 ^{ab}
	8 month	1.39 ^a	8.71 ^a	67 ^b	20.86 ^a	240.6 ^b	174.9 ^b
	Mean	1.12 ^{AB}	6.37 ^B	55.79 ^A	26.47	243.7 ^B	207.1 ^A
T1	Initial	0.95 ^{bc}	7 ^d	76.5 ^a	10.4 ^b	322.9 ^a	169.9 ^b
	2 month	0.81 ^c	10.71 ^c	77.14 ^a	18.57 ^a	172 ^b	258 ^a
	3 month	1.03 ^{ab}	18.17 ^a	67.5 ^a	17.83 ^a	158.2 ^b	225.5 ^{ab}
	5 month	1.13 ^{ab}	14.71 ^b	74.86 ^a	19.14 ^a	200 ^b	165.1 ^b
	8 month	1.2 ^a	15.5 ^b	65.17 ^a	15.83 ^{ab}	182.5 ^b	163.7 ^b
	Mean	1.02 ^B	9.98 ^A	63.22	26.32	211 ^B	197.8 ^A
T2	Initial	0.92 ^b	6.33 ^c	78.83 ^b	14 ^b	555.9 ^a	132.1 ^{ab}
	2 month	1.05 ^b	18.5 ^a	94 ^a	17.6 ^{ab}	329.8 ^b	121 ^{ab}
	3 month	1.01 ^b	9.29 ^c	71.29 ^b	20.29 ^a	423.3 ^{ab}	143.3 ^a
	5 month	1.3 ^a	13.29 ^b	71.71 ^b	18.57 ^{ab}	227 ^b	111.1 ^b
	8 month	1.37 ^a	15.29 ^{ab}	72.29 ^b	18.14 ^{ab}	249.9 ^b	115.7 ^b
	Mean	1.14 ^A	10.79 ^A	63.94	29	352.2 ^A	125.7 ^B
SEM		0.02	0.58	2.81	2.16	17.12	6.41

BUN, blood urea nitrogen; AST, aspartate aminotransferase; GGT, gamma-glutamyl transpeptidase; CK, creatine kinase; ALP, alkaline phosphatase

^{a-c} Means differ significantly among feeding period within diet group ($p < 0.05$).

^{A-B} Means differ significantly among diets ($p < 0.05$).

Mean is the average of values during feeding treatment.

SEM, standard error of the mean.

사양 기간 중 육우의 혈중 지방산 조성의 변화는 Table 4.6과 같다. 사료급여 처리구에 따라 지방산들이 유의적인 차이를 나타냈으며, 특히 오메가-6 지방산인 linoleic acid (C18:2n6) 는 조사료함량이 많은 실험군1과 실험군2가 각각 35.24%, 25.03%로 대조군 42.18%에 비해 유의적으로 낮은 함량을 나타냈으며 ($p < 0.05$), gamma linolenic acid (C18:3n6) 역시 실험군1과 실험군2가 각각 0.91%와 1.1%로 대조군 1.17%에 비해 유의적으로 낮은 함량을 나타냈다 ($p < 0.05$). 반면에 오메가-3 지방산인 α -linoleic acid (ALA,

C18:3n3)는 실험군1과 실험군2의 함량이 각각 8.08%와 11.05%로 대조군 3.42%에 비해 유의적으로 높았다($p<0.05$).

Table 4.6 Changes in plasma fatty acid composition during feeding treatment

Group	Sampling time	C14:0	C16:0	C16:1n7	C18:0	C18:1n9	C18:2n6	C18:3n6	C18:3n3	C20:4n6
C	Initial	0.91 ^b	19.98 ^a	0.84 ^b	21.05 ^b	12.73 ^a	25.84 ^c	1.02 ^b	10.06 ^a	3.09 ^b
	2 month	0.58 ^c	15.2 ^b	0.47 ^d	20.38 ^b	9.51 ^b	48.79 ^a	0.97 ^b	1.52 ^b	2.57 ^c
	3 month	0.67 ^c	15.44 ^b	0.51 ^{cd}	20.73 ^b	9.65 ^b	47.67 ^a	1.06 ^b	1.60 ^b	2.67 ^{bc}
	5 month	0.71 ^{bc}	14.94 ^b	0.63 ^c	19.94 ^b	9.44 ^b	48.97 ^a	1.09 ^b	1.63 ^b	2.65 ^{bc}
	8 month	1.27 ^a	15.83 ^b	1.21 ^a	25.54 ^a	11.65 ^a	39.43 ^b	1.73 ^a	2.30 ^b	5.53 ^a
	Mean	0.83 ^B	16.26 ^B	0.74 ^B	21.51 ^B	10.59 ^B	42.18 ^A	1.17 ^A	3.42 ^C	3.30 ^B
T1	Initial	0.91 ^b	19.33 ^a	0.81 ^a	25.35 ^a	12.13 ^a	27.52 ^b	0.93 ^a	9.97 ^a	3.05 ^a
	2 month	1.21 ^{ab}	17.72 ^{ab}	0.70 ^{ab}	21.48 ^b	9.74 ^a	37.37 ^a	0.79 ^a	7.56 ^b	3.43 ^a
	3 month	1.18 ^{ab}	18.06 ^{ab}	0.74 ^a	21.52 ^b	10.26 ^a	36.32 ^a	0.81 ^a	7.46 ^b	3.66 ^a
	5 month	1.48 ^a	17.28 ^{ab}	0.93 ^a	21.19 ^b	9.38 ^a	37.53 ^a	1.04 ^a	7.72 ^b	3.44 ^a
	8 month	0.97 ^b	16.05 ^b	0.48 ^b	20.85 ^b	11.6 ^a	37.53 ^a	0.83 ^a	7.63 ^b	4.06 ^a
	Mean	1.18 ^A	17.65 ^A	0.76 ^B	22.05 ^B	10.6 ^B	35.24 ^B	0.91 ^B	8.08 ^B	3.54 ^{AB}
T2	Initial	0.74 ^b	18.07 ^a	0.79 ^b	23.03 ^a	11.04 ^b	30.71 ^a	0.85 ^b	11.3 ^a	3.48 ^b
	2 month	0.75 ^b	17.85 ^a	0.94 ^{ab}	26.23 ^a	13.67 ^{ab}	24.48 ^b	0.99 ^b	11.02 ^a	4.08 ^{ab}
	3 month	0.84 ^b	17.92 ^a	1.01 ^{ab}	26.38 ^a	13.71 ^{ab}	23.99 ^b	1.1 ^b	10.9 ^a	4.14 ^{ab}
	5 month	0.93 ^b	17.63 ^a	1.12 ^{ab}	25.75 ^a	13.58 ^{ab}	24.54 ^b	1.15 ^b	11.11 ^a	4.19 ^a
	8 month	2.24 ^a	18.24 ^a	1.84 ^a	18.5 ^b	16.81 ^a	18.58 ^c	2.03 ^a	10.14 ^a	4.59 ^a
	Mean	0.97 ^B	18.29 ^A	1.01 ^A	24.5 ^A	14 ^A	25.03 ^C	1.10 ^A	11.05 ^A	4.05 ^A
	SEM	0.037	0.21	0.028	0.28	0.31	0.97	0.03	0.38	0.12

^{a-d} Means differ significantly among feeding period within diet group ($p<0.05$).

^{A-C} Means differ significantly among diets ($p<0.05$).

Mean is the average of values during feeding treatment.

SEM, standard error of the mean.

Table 4.7을 보면, SFA는 실험군2가 실험군1과 대조군에 비해 유의적으로 높았다 ($p<0.05$). 또한 포화지방산 중 MUFA는 실험군2가 실험군1과 대조군에 비해 높게 나타났으며 ($p<0.05$), 반대로 PUFA는 실험군2가 다른 처리구에 비해 유의적으로 낮았다 ($p<0.05$). 오메가-6/오메가-3 비율은 실험군1과 실험군2가 대조군에 비해 획기적으로 감소하였으며, 이는 아마씨앗 첨가 한우사료를 한우에 급여하기 전에 비해 급여 후 오메가-6/오메가-3 비율이

감소한다는 보고와 유사한 경향이 나타났으며, 이 한우를 사람이 섭취하였을 경우, 수입산 쇠 고기를 섭취하였을 때 보다 사람의 혈중 총콜레스테롤, 중성지방 등의 수치를 감소하는 효과가 있다고 보고되어 있다(박상오 등, 2014).

Table 4.7 Changes in plasma fatty acid index during feeding treatment

Group	Sampling time	SFA	MUFA	PUFA	n6	n3	n6/n3
C	Initial	46.43 ^a	13.57 ^a	40 ^c	29.94 ^c	10.06 ^a	3.06 ^c
	2 month	36.17 ^b	9.98 ^b	53.85 ^a	52.33 ^a	1.52 ^b	35.11 ^a
	3 month	36.84 ^b	10.16 ^b	53 ^a	51.41 ^a	1.60 ^b	32.87 ^a
	5 month	35.6 ^b	10.07 ^b	54.34 ^a	52.71 ^a	1.63 ^b	33 ^a
	8 month	38.15 ^b	12.86 ^a	48.99 ^b	46.69 ^b	2.30 ^b	21.2 ^b
	Mean	38.6 ^C	11.33 ^B	50.07 ^A	46.65 ^A	3.42 ^C	25.05 ^A
T1	Initial	45.6 ^a	12.94	41.46 ^b	31.5 ^b	9.97 ^a	3.16 ^b
	2 month	40.41 ^b	10.44	49.15 ^a	41.6 ^a	7.56 ^b	5.50 ^a
	3 month	40.76 ^b	11	48.24 ^a	40.79 ^a	7.46 ^b	5.47 ^a
	5 month	39.95 ^b	10.31	49.74 ^a	42.02 ^a	7.72 ^b	5.44 ^a
	8 month	37.87 ^b	12.08	50.05 ^a	42.42 ^a	7.63 ^b	5.57 ^a
	Mean	40.88 ^B	11.36 ^B	47.76 ^A	39.69 ^B	8.08 ^B	5.02 ^B
T2	Initial	41.84 ^a	11.83 ^b	46.33 ^a	35.04 ^a	11.3 ^a	3.11 ^a
	2 month	44.83 ^a	14.61 ^{ab}	40.56 ^a	29.55 ^b	11.02 ^a	2.7 ^a
	3 month	45.14 ^a	14.72 ^{ab}	40.13 ^a	29.23 ^b	10.9 ^a	2.7 ^a
	5 month	44.31 ^a	14.7 ^{ab}	40.99 ^a	29.89 ^b	11.11 ^a	2.7 ^a
	8 month	37.36 ^a	17.84 ^a	32.92 ^b	23.59 ^c	10.14 ^a	2.9 ^a
	Mean	43.76 ^A	15.01 ^A	41.23 ^B	30.18 ^C	11.05 ^A	2.74 ^B
	SEM	0.43	0.33	0.65	0.93	0.38	1.24

SFA, saturated fatty acids; MUFA, monounsaturated fatty acids; PUFA, polyunsaturated fatty acids.

^{a-d} Means differ significantly among feeding period within diet group ($p < 0.05$).

^{A-C} Means differ significantly among diets ($p < 0.05$).

Mean is the average of values during feeding treatment.

SEM, standard error of the mean.

라. 결론

n-3가 풍부한 아마씨유를 급여한 육우의 혈액 지방산 중 오메가-6와 오메가-3 지방산 비율이 감소하는 효과가 나타났다. 따라서 조사료만 급여하였을 때 보다 증체량은 증가하고, 오메가-6/오메가-3 지방산 비율은 TMR사료만 급여하였을 때 보다 현저하게 감소하는 아마씨유 첨가 사료를 급여하였을 때 인체의 건강적인 측면에서 바람직할 것으로 판단된다.

5. 친환경 방목사양과 사료급여로 육우고기의 기능성 육질향상

가. 연구 목적 및 배경

국내 소 도축두수가 2013년 1,071,897로서 2003년 584,253에 비해 약 183.5% 로 매년 증가하고 있으나 소의 품종중 홀스타인 육우의 경우 2013년 도축두수가 64,107로서 2003년 131,700두와 비교하여 약 48.7% 감소한 실정이다(축산유통종합정보센터, 2016). 이는 한우가 육우에 비해 1등급 이상 출현율이 높기 때문에 농가에서 경제성이 육우에 비해 우수한 한우를 사육하는 농가가 늘어나고 있는 추세이며, 육우를 사육하는 농가는 감소하고 있기 때문인 것으로 판단된다.

현재 홀스타인종 수소는 경제성이 떨어져 농가에서 사육을 기피하고 있는 실정이다. 이러한 점을 보완하기 위하여 최근 사양기술 및 출하시기의 개선과 함께 육질을 개선시키는 수단으로 거세처리가 활용되어 왔다(조수현 등, 2016). 홀스타인 수소와 비교하여 거세우의 장점은 근내지방도와 육색을 포함한 육질개선이며, 특히 수소에서 많이 발생하는 암적색육(Dark cutting) 발생을 감소시킨다는 것이다(Tarrant, 1989).

일반적인 소의 비육방법에서는 전 사육기간에 걸쳐 농후사료는 권장량보다 많이 급여하고 있고 조사료는 권장량보다 적게 급여하고 있다(안병홍 등, 2002). 농후사료와 조사료의 급여 불균형으로 인하여 소는 다양한 장애를 유발할 수 있으며, 반추위부전각화증, fat cow syndrome 등을 유발할 수 있다(박광진과 지설하, 1977; 정태영 등, 1994; 전병태 등, 2015). 따라서 반추동물인 육우에게 적절한 섬유소를 제공할 수 있는 조사료의 급여가 절대적으로 필요하다.

초고압 처리 기술은 식품 산업에서 식품의 구조적 특성에 관계없이 미생물 안전성 확보에 사용할 수 있으며, 열에 의한 유독물질의 생성을 억제하는 역할을 하여 소비자들에게 식품의 안전성 측면에서 장점을 갖고 있다는 것을 인식시킬 수 있을 것이라 판단된다(정연국 등, 2010).

숙성은 도체나 절단육을 빙점 이상의 온도에서 방치시킴으로써 고기의 질, 특히 연도를 향상시키는 방법이다. 저온 습식숙성방법(진공포장숙성법)은 절단육을 0~5℃ 사이에서 숙성시키는 것을 말하며, 숙성된 소고기는 연도 향상과, 단백질 분해산물로 인한 고기의 향미 성분이 유리되어 맛이 깊어지는 효과가 있다(이춘식, 2011).

따라서 본 연구는 사료급여 구성에 따른 우유 등심부위의 육질평가 및 비열초고압처리한 진공포장숙성육의 품질특성을 알아보기 위한 목적으로 실시하였다.

나. 재료 및 방법

(1) 홀스타인 거세우의 사양 및 사료급여 조건

삼양목장에서 15개월령 Friesian-Holstein 거세우 21마리를 무작위로 그룹당 7마리로 하여 3그룹으로 나누었으며, 방목장에서 유사한 조건으로 성장시켰다. 첫 번째 그룹(TMR)은 total-mixed ratio 사료를 급여했고, 두 번째 그룹(Grass)은 reed canary grass (*Phalaris arundinacea*)를 급여하였으며, 세 번째 그룹(Mix)은 오메가3가 다량 함유된 곡물과 reed canary grass (*Phalaris arundinacea*)을 40:60 으로 혼합한 사료를 급여하였다. 8개월간 처리구별로 사료조성을 달리하여 급여하여 육우의 혈액성분을 분석한 후, 도축할 때 까지 약 4개월간 모든 처리구에서 reed canary grass (*Phalaris arundinacea*)를 급여하였다.

(2) 시료준비 및 처리내용

(가) 생육 및 비열초고압처리 진공포장숙성육의 시료준비

생육은 삼양목장에서 사료조성을 달리하여 급여한 27개월령 홀스타인 거세우의 육질을 분석하기 위해 일반 도축장에서 도축하였다. 도축장에서 얻은 3등급 등심 부위(두께 2.5cm)를 실험실로 옮겨와 합기포장 하였으며 시료는 0, 3, 6, 9, 12일 동안 2 ± 1 °C에서 냉장 보관하며, 분석용 시료로 사용하였다.

비열초고압처리 진공포장숙성육은 삼양목장에서 오메가3가 다량 함유된 곡물과 reed canary grass (*Phalaris arundinacea*)을 40:60 으로 혼합한 사료를 급여한 27개월령 홀스타인 거세우를 시료로 사용하였으며, 일반 도축장에서 도축한 후 3등급 등심부위를 두께 2.5cm로 절단한 후 진공포장하여 아이스박스에 넣어 비열초고압처리를 위해 홍국F&B로 시료를 운반하였다. 시료의 압력처리는 대조군로 압력처리하지 않은 0.1Mpa, 300Mpa 및 500Mpa로 HPP기계(QFP 350L-600, Avure Technologies, USA)를 이용하여 비열초고압처리를 하였으며, 이 때 처리조건은 Table 과 같다. 그 이후 시료를 실험실로 옮겨와 과도한 결체조직을

제거한 후 진공 포장한 후 0, 1, 2, 3, 4주 동안 2 ± 1 °C에서 냉장 보관하며, 분석용 시료로 사용하였다.

(3) 실험항목

일반 성분 함량은 AOAC(1995) 방법에 의해 실시하였다. 수분은 105°C dry oven을 이용한 상압 가열건조법, 조지방은 diethyl ether에 의한 soxhlet 추출법, 조단백질은 kjeltec system (2200 Kjeltec Auto Distillation Unit, Foss Tecator, Sweden)에 의한 micro-Kjeldahl법, 조회분은 550°C 회화로에 의한 건식회화법에 의해 정량하였다.

표면육색은 chroma meter(CR-400, Konica Minolta Sensing, Inc., Japan)를 이용하여 CIE L*(lightness), a*(redness), b*(yellowness)을 시료 표면을 무작위로 10 반복하여 측정하였다. 이때 calibrate plate(2° observer)의 illuminant C는 $Y=93.6$, $x=0.3134$, $y=0.3194$ 이었다.

보수력(water-holding capacity, WHC)은 원심분리법으로 실시하였다. 5g의 시료를 원심분리관에 넣고 80°C 항온수조에서 30분간 가열 후 냉각한 다음, 원심분리 1,000 rpm에서 10분간 가열하여 유리된 수분을 측정하여 총 수분함량과의 비율로서 산출하였다.

마이오글로빈 함량은 DeoxyMb, OxyMb, MetMb의 상대적 농도(%)를 Krzywicki(1982)의 방법에 의해 실시하였다. 시료 5g과 40 mM potassium phosphate buffer (pH 6.8, 4°C) 25 ml을 50 ml centrifuge tube에 넣은 후 4°C에서 13,000 rpm으로 10초 동안 균질한 다음 4°C에서 1시간동안 방치하였다. 이 후 4°C에서 3700 rpm으로 30분 동안 원심분리한 후 상등액의 흡광도를 525, 545, 565, 572 nm(UV-2401PC, Shimadzu Corp, Nakagyo-ku, Kyoto, Japan)에서 측정하였다. 최종적으로 DeoxyMb와 OxyMb의 농도는 Krzywicki(1982)의 수식에 의해 산출하였으며, MetMb의 농도는 $100 - [\text{DeoxyMb}(\%) + \text{OxyMb}(\%)]$ 로 산출하였다.

pH는 시료 5 g과 증류수 50 mL를 균질기(PH91, SMT Co.,Ltd., Japan)로 10,000 rpm에서 1분 동안 균질한 다음 pH meter(SevenEasy pH, Mettler-Toledo GmbH, Switzerland)로 측정하였다.

지방산화는 Sinnhuber와 Yu(1977)의 TBARS(2-thiobarbituric acid reactive substances) 방법을 약간 수정하여 실시하였다. 시료 0.5g 과 항산화제(54% propylene

glycol+40% Tween 20+3% BHT+3% BHA) 3방울, 1% TBA 3mL, 25% TCA 17mL를 혼합하고, 98°C water bath(OB-25E, Jeio Tech, Korea)에서 30분 동안 가열한 후 얼음물에 담가 10분 동안 냉각하였다. 이후 상등액 5mL를 취하여 chloroform 3mL를 넣고 실온에서 3,500rpm으로 30분 동안 원심분리(GS-6R Centrifuge, Beckman Instruments Inc., USA)한 다음 상등액의 흡광도를 532nm에서 측정(UV-mini-1240, Shimadzu, Japan)하였다. 최종 수치는 시료 1kg당 mgMA(malonaldehyde)로 산출하였으며, blank는 증류수 0.5mL를 사용하였다.

SOD, catalase 와 GSH-Px의 항산화 효소 활성 측정은 Renner 등. (1996)의 방법에 의해 실시하였다. 시료 5g과 50 mM phosphate buffer(25° C에서 pH 7.0) 25mL를 homogenizer(Ultra-Turrax T25 basic, Ika Werke GmbH & Co., Staufen, Germany)를 이용하여 13,500 rpm에서 15초 동안 균질한 후 2°C, 3000rpm에서 15분 동안 원심분리 하였다. 분리된 상등액은 지방과 결체조직을 제거하기 위해 Whatman filter paper No. 1 으로 여과하였으며, 이를 항산화 효소의 활성 측정에 이용하였다. Catalase 활성은 Aebi(1983)의 방법에 의해 실시하였다. 여과된 상등액 100 µL와 30 mM의 H₂O₂ 용액 2.9mL를 석영 큐벳(광로: 1 cm)에 넣어 혼합하였다. 그 다음 240 nm의 흡광도에서 2분 동안 10초 간격으로 H₂O₂ 의 감소를 측정하였으며, catalase 활성은 시료당 units/g으로 산출하였다. SOD 활성은 Marklund 와 Marklund (1974)의 pyrogallol 자동산화 방법을 약간 수정하여 측정하였다. 여과 된 상등액 50 µL, 50 mM Tris-cacodylate-DTPA buffer (25° C에서 pH 8.2)용액 3.025 mL와 24.8 mM pyrogallol 50 µL를 혼합한 다음, 420 nm의 흡광도에서 2분 동안 15초 간격으로 blank를 측정하였으며, SOD 1 unit은 25° C에서 pH 8.2일 때, 고기 추출물에서 pyrogallol 자동산화 반응을 50 % 저해하는 SOD의 요구량으로 나타내었다. GSH-Px 활성 측정은 Floh \square 와 G \square nzler (1984)의 약간 변형된 방법에 의해 실시하였다. 상등액 100 µL와 2 mM EDTA-2 mM NaN₃-5 U/mL GR-10 mM GSH-1.5 mM NADPH 용액(in phosphate buffer, pH 7.0) 0.8 mL의 혼합물에 1.5 mM H₂O₂ 용액(in phosphate buffer, pH 7.0) 100 µL을 10 mm의 정밀 셀 (104-QS, Hellma Analytics, Germany)에 첨가 후 5분 동안 배양 하였다. GPx 활성은 배양된 혼합물을 340 nm의 흡광도에서 2분에 걸쳐 측정하였으며, NADPH를 산화시키는데 필요한 시료량(g)으로 산출하였다.

가열감량은 시료를 은박지포장 후 넣고 폴리에틸렌 지퍼백에 밀봉한 다음 항온 수조에 가열하여 시료의 중심온도가 80°C로 하여 1시간 동안 가열한 다음, 꺼내어 2±2°C에서 하룻밤을 저장한 후 무게를 측정하였다. 이때 발생한 육즙의 양을 시료 초기무게의 백분율(%)로 산출하였다.

보수력(water-holding capacity, WHC)은 원심분리법으로 실시하였다. 5g의 시료를 원심분리관에 넣고 80℃ 항온수조에서 30분간 가열 후 냉각한 다음, 원심분리 1,000 rpm에서 10분간 가열하여 유리된 수분을 측정하여 총 수분함량과의 비율로서 산출하였다.

TPA(Texture profile analysis) 측정은 가열감량을 측정하고 난 시료들을 각각 1 cm×1 cm×1 cm 로 성형한 후 ϕ 35mm의 cylindrical probe가 장착된 texture analyzer(TA-XT2i version

6.01, Stable Micro Systems Co., Ltd., UK)를 이용하여 경도(hardness), 탄력성(springiness), 응집성(cohesiveness), 검성(gumminess) 및 씹힘성(chewiness)을 측정하였다. 분석 조건은 pretest-test-posttest speed 1mm/sec로 시료 높이의 80%를 2회 압착하여 측정하였다.

전단력(Warner-Bratzler shear force, WBSF)은 가열감량을 측정하고 난 시료들을 각각 1 cm×1 cm×1 cm로 성형한 다음 Warner-Bratzler shear blade를 장착한 texture analyser(TAXT2i version 6.06, Stable Micro Systems Co., Ltd, UK)로 전단력을 측정하였으며, 칼날과 근섬유 방향이 평행하도록 절단하였다. 이때 분석조건은 load cell 5 kg, pretest speed 5.0mm/sec, test speed 2.0 mm/sec, posttest speed 5.0 mm/sec이었으며, 분석된 결과는 kg으로 산출하였다.

시료의 지질 추출은 Folch 등.(1957)을 조금 수정하여 실시하였다. 시료 5 g과 chloroform:methanol(2:1) 25 mL를 균질기(T25 basic ultra turrax, Ika Werke GmbH & Co., Germany)로 13,500 rpm에서 2분 동안 균질하였다. 이후 0.88% KCl 6 mL를 넣고 3,000 rpm에서 10분 동안 원심분리(GS-6R Centrifuge, Beckman Instruments Inc., USA)하였다. 다음에는 하층액을 38℃에서 질소가스농축기(MGS-2200, Eylea Tokyo Rikakikai Co., Ltd., Japan)로 완전히 농축시킨 후 순수 지질을 AOAC(1995)의 방법에 의해 fatty acid methyl ester(FAME)로 전환시켰다. 시료의 FAME는 GC에 의해 지방산 표준품(Supelco 47015-U)의 retention time과 비교, 분석하였으며, 총 지방산 피크면적의 백분율(%)로 산출하였다. 처리구별로 4회 반복 분석하였으며, 이때 GC의 분석 조건은 Table 5.1과 같다.

Table 5.1 Analysis method for the fatty acid composition using GC

Instrumentation	
Chromatographic system	YL6500 (YL Instrument, Korea)
Automatic sampler	Acme 6000 (YL Instrument, Korea)
Experimental conditions GC/FID	
Column	SP 2560 column (100m length×0.25mm i.d.×0.2 μm film thickness, Supelco, Inc, Bellefonte, PA, USA)
Injector	250°C
Injection volume	1 μL
Split/splitless	Sprlit 1:5
Carrier	Helium at 1.0 mL/min constant flow
Oven temperature	130–200°C at 10°C/min, Hold 200°C for 10min 200–250 at 5°C/min Hold 250°C for 10min
Detector temperature	FID, 250°C

향기패턴은 시료 2 g을 10 mL headspace vial에 넣고 PTFE/rubber septa와 aluminium cap으로 밀봉한 다음 autosampler(HS100, Alpha MOS, Toulouse, France)에 의해 60°C에서 500 rpm으로 교반하면서 600초 동안 향기성분을 추출하였다. Headspace 가스를 autosampler의 syringe(45°C)로 2.5 mL씩 뽑은 후 12개의 metal oxide 센서가 내장된 전자코(FOX3000, Alpha MOS, Toulouse, France)의 injector에 주입하였으며, carrier gas와 flow는 air 및 150 mL/min이었다. 분석된 결과는 principal component analysis(PCA, Alpha soft version 8.01 software, Alpha MOS, Toulouse, France)에 의해 처리되었다.

휘발성 염기태 질소(volatile basic nitrogen, VBN)는 Kohsaka(1975)의 Conway dish 방법에 의해 실시하였다. 시료 5g과 5% TCA 25 mL를 homogenizer(Ultra Turrax T25 basic, Ika Werke GmbH & Co., Germany)로 13,500 rpm에서 2분동안 균질하였다. 5% TCA를 이용하여 균질액의 부피가 50mL가 되도록 맞춘 후 filter paper No.2(Whatman

International Ltd, UK)로 여과하였다. 여액 1 mL를 Conway dish의 내실에 넣고, Conway's borate butter와 50% K₂CO₃를 각각 1 mL씩 외실에 넣은 다음 바세린을 바른 뚜껑과 쇠고리를 밀봉하였다. 이후 37°C에 2시간 동안 배양하고, 0.01N HCl를 이용하여 내실의 용액을 무색이 될 때까지 적정한 후 최종 수치를 mg%로 산출하였다.

총 균수(Total plate count)는 우선, 시료 10 g과 0.1% peptone 90 mL를 멸균백(Whirlpak blender bag, Nasco International, USA)에 넣고, stomacher(Laboratory blender400, Seward, England)로 low speed에서 2분 동안 균질하였다. 균질액 내의 총 균수는 plate count agar(Difco, USA)를 이용하여 배지들을 37°C에서 48시간 동안 배양하였으며, 최종 균수는 log CFU/g으로 산출하였다.

관능검사는 실험실에서 관능검사 방법에 익숙한 대학원생 10명을 대상으로 실시하였으며, 시료를 전기오븐에서 그릴팬을 이용하여 가열한 후 온도계를 통해 시료의 중심온도가 80°C가 되었을 때 꺼내었고, 실온에서 10분 동안 냉각한 후 각 시료를 약 1 cm×1 cm×1 cm 크기로 절단하였다. 각각의 항목은 1에서 9점까지의 등급을 사용하여연도, 다즙성, 향, 맛, 종합기도 항목을 가장 낮은 점수 1점에서 가장 높은 점수 9점까지로 나타냈다.

다. 결과 및 고찰

(1) 사료급여 구성에 따른 우육 등심부위의 육질평가

홀스타인 거세우에 사료조성을 달리하여 급여하였을 때 쇠고기 등심부위의 일반 성분은 Table 5.2와 같다. 수분함량은 Grass처리구가 75.34%로 다른 처리구에 비하여 유의적으로 높았다($p<0.05$). 조지방함량은 Mix처리구가 6.11%로 유의적으로 높은 수준을 보였으며, Grass처리구가 유의적으로 가장 낮은 수준을 나타냈다($p<0.05$). 조단백질과 회분함량은 TMR처리구가 각각 21.6%와 1.09%로 다른 처리구들에 비해 유의적으로 높았다($p<0.05$).

TMR처리구 및 Mix처리구의 지방함량이 Grass처리구에 비해 높게 나타난 것은 조섬유의 함량이 Grass처리구에 비해 낮기 때문으로 사료된다. Cho 등.(2008)은 배합사료와 볏짚 분리급여 및 TMR 급여 처리가 거세한우의 발육, 사료이용성 및 도체특성에 미치는 영향을 조사한 결과 TMR처리구가 근내지방도가 유의적으로 더 높게 나타났다고 보고하여서 본 연구결과와 유사한 경향을 나타냈다.

Table 5.2 Proximate composition (%) of loin muscles from Holstein steers with different feeding treatment

Composition (%)	C	T2	T1	SEM
Moisture	72.58 ^b	75.34 ^a	73.82 ^{ab}	0.42
Crude fat	4.72 ^{ab}	3.68 ^b	6.11 ^a	0.42
Crude protein	21.6 ^a	20.04 ^{ab}	19.12 ^b	0.45
Ash	1.09 ^a	0.94 ^b	0.96 ^b	0.03

SEM, standard error for the means.

^{a~b} Means in the same row with different superscripts are significantly different ($p < 0.05$).

육우 거세우에 사료조성을 달리하여 급여하였을 때 저장기간에 따른 쇠고기 등심부위의 명도값은 Table 5.3과 같다. 명도는 모든 처리구에서 저장기간에 따른 유의적인 차이는 없었으며, 저장 0일차에서 TMR처리구의 명도가 40.73으로 다른 처리구에 비해 유의적으로 높게 나타났으나 저장3일부터 처리구간 유의적인 차이는 나타나지 않았다.

Table 5.3 Lightness value of loin muscles from Holstein steers with different feeding treatment during storage at 2°C

	0 day	3 day	6 day	9 day	12 day	SEM
C	40.73 ^{aA}	40.35 ^{aA}	39.83 ^{aA}	39.68 ^{aA}	38.45 ^{aA}	0.35
T2	38.91 ^{aAB}	40.27 ^{aA}	39.81 ^{aA}	39.29 ^{aA}	38.25 ^{aA}	0.28
T1	37.63 ^{aB}	39.12 ^{aA}	38.88 ^{aA}	37.9 ^{aA}	37.44 ^{aA}	0.27
SEM	0.45	0.26	0.40	0.41	0.40	

SEM, standard error for the means.

^a Means in the same row with different superscripts are significantly different ($p < 0.05$).

^{A~B} Means in the same column with different superscripts are significantly different ($p < 0.05$).

홀스타인 거세우에 사료조성을 달리하여 급여하였을 때 저장기간에 따른 쇠고기 등심부위의 적색도값은 Table 5.4와 같다. 적색도는 모든처리구에서 저장기간이 경과함에 따라 유의적으로 감소하는 경향이 나타났으며 ($p < 0.05$), 처리구간에는 저장 6일차부터 Grass처리구가 다른처리구에 비해 유의적으로 높은 값을 나타냈다 ($p < 0.05$).

Table 5.4 Redness value of loin muscles from Holstein steers with different feeding treatment during storage at 2°C

	0 day	3 day	6 day	9 day	12 day	SEM
C	23.69 ^{aA}	21.96 ^{abA}	20.01 ^{bcB}	17.32 ^{cB}	13.37 ^{dB}	0.70
T2	22.33 ^{aA}	23.05 ^{aA}	22.38 ^{aA}	21.39 ^{aA}	19.54 ^{bA}	0.28
T1	23.32 ^{aA}	21.50 ^{abA}	19.27 ^{bcB}	18.68 ^{cB}	16.14 ^{dB}	0.52
SEM	0.47	0.46	0.45	0.57	0.78	

SEM, standard error for the means.

^{a-d} Means in the same row with different superscripts are significantly different ($p < 0.05$).

^{A-B} Means in the same column with different superscripts are significantly different ($p < 0.05$).

홀스타인 거세우에 사료조성을 달리하여 급여하였을 때 저장기간에 따른 쇠고기 등심 부위의 황색도값은 Table 5.5와 같다. TMR처리구에서 황색도는 저장기간이 증가할수록 유의적으로 감소하는 경향이 나타났으나, 다른 처리구에서는 저장초기인 0일차와 저장후기인 12일 차 간에 유의적인 차이는 없었다.

Table 5.5 Yellowness value of loin muscles from Holstein steers with different feeding treatment during storage at 2°C

	0 day	3 day	6 day	9 day	12 day	SEM
C	12.99 ^{aA}	12.72 ^{abA}	11.77 ^{bB}	10.5 ^{cB}	10.34 ^{cA}	0.23
T2	11.29 ^{bA}	13.47 ^{aA}	13.38 ^{aA}	12.78 ^{aA}	11.21 ^{bA}	0.22
T1	11.99 ^{abA}	13.24 ^{aA}	11.96 ^{abB}	12.09 ^{abA}	11.28 ^{bA}	0.20
SEM	0.37	0.21	0.22	0.25	0.22	

SEM, standard error for the means.

^{a-c} Means in the same row with different superscripts are significantly different ($p < 0.05$).

^{A-B} Means in the same column with different superscripts are significantly different ($p < 0.05$).

홀스타인 거세우에 사료조성을 달리하여 급여하였을 때 저장기간에 따른 쇠고기 등심 부위의 테옥시미오글로빈 함량은 Table 5.6 과 같다. Grass와 Mix처리구에서 저장초기인 0 일차에 비해 저장후기인 12일차에 테옥시미오글로빈 함량이 다소 감소하는 경향이 나타났으며 ($p < 0.05$), TMR처리구에서는 유의적인 차이는 없었다. 처리구간 비교해보면, TMR처리구가 테옥시미오글로빈함량이 모든 저장기간에서 다른 처리구에 비해 유의적으로 낮은 결과를 보였다($p < 0.05$).

Table 5.6 Deoxymyoglobin compstion (%) of loin muscles from Holstein steers with different feeding treatment during storage at 2°C

	0 day	3 day	6 day	9 day	12 day	SEM
C	17.59 ^{aB}	18.17 ^{aB}	16.7 ^{aB}	15.08 ^{aB}	16.77 ^{aB}	0.62
T2	21.4 ^{abcA}	22.68 ^{abA}	24.37 ^{aA}	19.24 ^{cA}	20.14 ^{bcA}	0.51
T1	21.9 ^{bA}	20.98 ^{bA}	26.35 ^{aA}	19.28 ^{bA}	17.93 ^{bAB}	0.72
SEM	0.80	0.53	1.47	0.81	0.53	

SEM, standard error for the means.

^{a-c} Means in the same row with different superscripts are significantly different ($p < 0.05$).

^{A-B} Means in the same column with different superscripts are significantly different ($p < 0.05$).

홀스타인 거세우에 사료조성을 달리하여 급여하였을 때 저장기간에 따른 쇠고기 등심부위의 옥시미오글로빈 함량은 Table 5.7 과 같다. 모든 처리구에서 저장기간이 경과함에 따라 옥시미오글로빈 함량이 감소하는 경향이 나타났으며 ($p < 0.05$), 처리구간에는 저장 0, 3, 6일차에서 옥시미오글로빈 함량이 Grass처리구가 유의적으로 낮은 수준을 보였으나 ($p < 0.05$), 저장 9, 12일차에서는 모든 처리구간 유의성은 나타나지 않았다.

Table 5.7 Oxymyoglobin compstion (%) of loin muscles from Holstein steers with different feeding treatment during storage at 2°C

	0 day	3 day	6 day	9 day	12 day	SEM
C	67.05 ^{aA}	55.7 ^{abA}	58.52 ^{abA}	50.14 ^{bcA}	39.03 ^{cA}	2.59
T2	59.18 ^{aB}	44.74 ^{bB}	39.86 ^{bC}	46.04 ^{bA}	44.68 ^{bA}	1.41
T1	51.80 ^{aC}	56.22 ^{aA}	51.08 ^{aB}	44.32 ^{bA}	39.98 ^{bA}	1.40
SEM	2.09	1.49	2.13	1.34	2.71	

SEM, standard error for the means.

^{a-c} Means in the same row with different superscripts are significantly different ($p < 0.05$).

^{A-C} Means in the same column with different superscripts are significantly different ($p < 0.05$).

홀스타인 거세우에 사료조성을 달리하여 급여하였을 때 저장기간에 따른 쇠고기 등심부위의 메트미오글로빈 함량은 Table 5.8과 같다. 모든 처리구에서 저장기간이 경과함에 따라 메트미오글로빈 함량이 증가하는 경향이 나타났으며 ($p < 0.05$), 처리구간에는 저장 3, 6일차에서 메트미오글로빈 함량이 Grass처리구가 유의적으로 높았으나 ($p < 0.05$), 저장 9, 12일차에서는 모든 처리구간 유의성은 나타나지 않았다.

Table 5.8 Metmyoglobin compstion (%) of loin muscles from Holstein steers with different feeding treatment during storage at 2°C

	0 day	3 day	6 day	9 day	12 day	SEM
C	15.36 ^{cb}	26.13 ^{bcB}	24.78 ^{bcB}	34.78 ^{abA}	44.2 ^{aA}	2.87
T2	19.42 ^{bB}	32.58 ^{aA}	35.78 ^{aA}	34.72 ^{aA}	35.19 ^{aA}	1.42
T1	26.30 ^{bA}	22.80 ^{bc}	22.57 ^{bcB}	36.41 ^{aA}	42.09 ^{aA}	1.80
SEM	1.56	1.15	2.12	1.40	3.12	

SEM, standard error for the means.

^{a-c} Means in the same row with different superscripts are significantly different ($p < 0.05$).

^{A-C} Means in the same column with different superscripts are significantly different ($p < 0.05$).

홀스타인 거세우에 사료조성을 달리하여 급여하였을 때 저장기간에 따른 쇠고기 등심부위의 pH 결과는 Table 5.9 과 같다. 저장기간이 경과함에 따른 처리구별 pH변화는 없었으며, 처리구간에는 저장 0, 3일차에서 TMR처리구가 pH가 유의적으로 낮게 나타났으나($p < 0.05$), 그 후 저장기간에서는 처리구간 유의적인 차이는 나타나지 않았다.

Table 5.9 pH of loin muscles from Holstein steers with different feeding treatment during storage at 2°C

	0 day	3 day	6 day	9 day	12 day	SEM
C	5.71 ^B	5.72 ^B	5.79 ^A	5.87 ^A	6.00 ^A	0.06
T2	5.94 ^A	5.93 ^A	5.94 ^A	5.98 ^A	6.13 ^A	0.05
T1	6.00 ^A	6.01 ^A	6.08 ^A	6.07 ^A	6.14 ^A	0.02
SEM	0.05	0.04	0.08	0.05	0.07	

SEM, standard error for the means.

^{A-B} Means in the same column with different superscripts are significantly different ($p < 0.05$).

홀스타인 거세우에 사료조성을 달리하여 급여하였을 때 저장기간에 따른 쇠고기 등심부위의 지방산패도 결과는 Table 5.10 과 같다. 모든 처리구에서 저장기간이 경과할수록 TBARS값이 유의적으로 증가하였으며($p < 0.05$), 저장 12일차에서 Mix처리구가 다른 처리구에 비해 유의적으로 낮은 지방산패도 값을 보였다($p < 0.05$).

Table 5.10 TBARS of loin muscles from Holstein steers with different feeding treatment during storage at 2°C

	0 day	3 day	6 day	9 day	12 day	SEM
C	0.14 ^{cAB}	0.48 ^{bcA}	0.61 ^{abA}	0.83 ^{abA}	0.98 ^{aA}	0.08
T2	0.18 ^{bA}	0.24 ^{bA}	0.40 ^{bA}	0.42 ^{bB}	0.69 ^{aAB}	0.05
T1	0.12 ^{bB}	0.39 ^{aA}	0.46 ^{aA}	0.53 ^{aB}	0.51 ^{aB}	0.03
SEM	0.01	0.05	0.06	0.06	0.07	

SEM, standard error for the means.

^{a-c} Means in the same row with different superscripts are significantly different ($p < 0.05$).

^{A-B} Means in the same column with different superscripts are significantly different ($p < 0.05$).

홀스타인 거세우에 사료조성을 달리하여 급여하였을 때 저장기간에 따른 쇠고기 등심부위의 SOD 활성도 결과는 Table 5.11 과 같다. 모든 처리구에서 저장기간이 증가할수록 SOD의 활성이 현저하게 감소하였다($p < 0.05$). 그러나 처리구간 유의적인 차이는 나타나지 않았다

Table 5.11 Superoxide dismutase (SOD) of loin muscles from Holstein steers with different feeding treatment during storage at 2°C

	0 day	3 day	6 day	9 day	12 day	SEM
C	90 ^a	82.11 ^{ab}	75.36 ^{ab}	52.9 ^{bc}	45.4 ^c	5.33
T2	83.48 ^a	80.53 ^a	69.28 ^a	65.53 ^{ab}	46.22 ^b	4.01
T1	103 ^a	90.79 ^a	79.52 ^a	73.42 ^a	40.54 ^b	6.33
SEM	4.50	4.45	4.16	5.51	5.49	

SEM, standard error for the means.

^{a-c} Means in the same row with different superscripts are significantly different ($p < 0.05$).

홀스타인 거세우에 사료조성을 달리하여 급여하였을 때 저장기간에 따른 쇠고기 등심부위의 Catalase 활성도 결과는 Table 5.12 과 같다. 모든 처리구에서 저장기간이 증가할수록 catalase의 활성이 현저하게 감소하였다($p < 0.05$). 저장 0일차에서는 Grass와 Mix처리구의 catalase의 활성이 TMR처리구에 비해 유의적으로 높게 나타났으며($p < 0.05$), 저장 12일차에는 Mix처리구가 TMR과 Grass처리구에 비해 catalase 활성이 유의적으로 낮게 나타났다($p < 0.05$).

Table 5.12 Catalase of loin muscles from Holstein steers with different feeding treatment during storage at 2°C

	0 day	3 day	6 day	9 day	12 day	SEM
C	339.7 ^{aB}	323.1 ^{aA}	274 ^{bA}	255.3 ^{bcB}	209.8 ^{cA}	12.32
T2	394.6 ^{aA}	322.7 ^{bA}	314.7 ^{bA}	295.2 ^{bA}	211.3 ^{cA}	15.84
T1	389.4 ^{aA}	260 ^{bA}	222.1 ^{bcB}	210.4 ^{cdC}	180.8 ^{dB}	18.26
SEM	10.33	12.81	13.58	11.84	5.98	

SEM, standard error for the means.

^{a-d} Means in the same row with different superscripts are significantly different ($p < 0.05$).

^{A-B} Means in the same column with different superscripts are significantly different ($p < 0.05$).

홀스타인 거세우에 사료조성을 달리하여 급여하였을 때 저장기간에 따른 쇠고기 등심부위의 GPx 활성도 결과는 Table 5.13과 같다. GPx는 모든 저장기간에서 Mix처리구가 다른처리구에 비해 유의적으로 높게 나타났다($p < 0.05$).

Table 5.13 Glutathione peroxidase (GPx) of loin muscles from Holstein steers with different feeding treatment during storage at 2°C

	3 day	6 day	9 day	12 day	SEM
C	1.18 ^{aB}	1.57 ^{aB}	1.27 ^{aB}	1.47 ^{aAB}	0.09
T2	0.69 ^{abC}	0.59 ^{bC}	0.91 ^{aC}	0.90 ^{aB}	0.05
T1	2.13 ^{aA}	2.06 ^{aA}	2.05 ^{aA}	2.01 ^{aA}	0.03
SEM	0.18	0.19	0.15	0.17	

SEM, standard error for the means.

^{a-b} Means in the same row with different superscripts are significantly different ($p < 0.05$).

^{A-C} Means in the same column with different superscripts are significantly different ($p < 0.05$).

홀스타인 거세우에 사료조성을 달리하여 급여하였을 때 쇠고기 등심부위의 가열감량과 보수력은 Table 5.14 과 같다. 가열감량은 TMR처리구가 다른 처리구에 비해 유의적으로 가장 낮았으며($p < 0.05$), 보수력은 Grass처리구가 다른처리구에 비해 유의적으로 가장 높았다($p < 0.05$).

Table 5.14 Cooking loss and water holding capacity of loin muscles from Holstein steers with different feeding treatment

	C	T2	T1	SEM
cooking loss	37.68 ^b	42.4 ^a	41.98 ^a	0.83
water holding capacity	71.09 ^b	73.33 ^a	70.38 ^b	0.42

SEM, standard error for the means.

^{a-b} Means in the same row with different superscripts are significantly different ($p < 0.05$).

홀스타인 거세우에 사료조성을 달리하여 급여하였을 때 쇠고기 등심부위의 조직감과 전단력은 Table 5.15 과 같다. 검성, 씹힘성, 탄력성, 전단력에서 Grass처리구가 TMR처리구에 비해 유의적으로 높게 나타났으며 ($p < 0.05$), Mix처리구도 검성과 전단력은 Grass처리구와 같이 높은 값을 나타냈으나, 씹힘성과 탄력성은 Grass처리구에 비해 낮았다 ($p < 0.05$).

Table 5.15 texture profile analysis and shear force of loin muscles from Holstein steers with different feeding treatment

	C	T2	T1	SEM
Hardness (kg)	17.07	17.54	17.07	0.28
Springiness	0.53	0.50	0.53	0.01
Cohesiveness	0.42	0.43	0.42	0.007
Gumminess	5.44 ^b	7.70 ^a	7.67 ^a	0.34
Chewiness	2.32 ^b	3.89 ^a	2.97 ^{ab}	0.26
Resilience (mm)	0.22 ^b	0.28 ^a	0.23 ^b	0.008
SF (kgf)	3.65 ^b	5.41 ^a	4.81 ^a	0.21

SEM, standard error for the means.

^{a-b} Means in the same row with different superscripts are significantly different ($p < 0.05$).

홀스타인 거세우에 사료조성을 달리하여 급여하였을 때 쇠고기 등심부위의 지방산 조성은 Table 5.16과 같다. 팔미트산(palmitic acid, C16:0), 팔미토레익산(palmitoleic acid, C16:1n7)과 올레산(oleic acid, C18:1n9)의 함량은 Grass처리구가 다른처리구에 비해 유의적으로 낮게 나타났으며 ($p < 0.05$), 스테아르산(stearic acid, C18:0), 감마리놀렌산(gamma linolenic acid, C18:3n6), 도코사테트라엔산(docosatetraenoic acid, C22:4n6) 및 도코사헥

사옴산(docosahexaenoic acid, C22:6n3) 함량은 다른 처리구들에 비해 유의적으로 높았다 ($p<0.05$).

Table 5.16 Fatty acid composition (%) of loin muscles from Holstein steers with different feeding treatment

	C	T1	T2	SEM
C14:0	2.99	2.85	2.49	0.12
C16:0	27.56 ^a	27.07 ^a	24.23 ^b	0.55
C16:1n7	3.56 ^a	3.69 ^a	2.84 ^b	0.16
C18:0	17.57 ^b	16.63 ^b	23.60 ^a	1.02
C18:1n9	41.51 ^{ab}	43.80 ^a	38.62 ^b	0.83
C18:2n6	4.00	3.59	4.98	0.38
C18:3n6	0.11 ^b	0.09 ^b	0.16 ^a	0.01
C18:3n3	0.55	0.75	0.65	0.06
C20:4n6	1.77	1.12	1.83	0.24
C20:5n3	0.16	0.22	0.16	0.03
C22:4n6	0.18 ^b	0.11 ^b	0.32 ^a	0.03
C22:6n3	0.04 ^c	0.08 ^b	0.11 ^a	0.01
Total	100	100	100	
SFA	48.12 ^{ab}	46.55 ^b	50.31 ^a	0.69
MUFA	45.06 ^{ab}	47.49 ^a	41.46 ^b	0.97
PUFA	4.70	4.51	5.91	0.41
n6	5.88	4.81	6.97	0.62
n3	0.75	1.04	0.93	0.09
n6/n3	7.63	4.90	7.60	0.61

SEM, standard error for the means.

^{a-b} Means in the same row with different superscripts are significantly different ($p<0.05$).

홀스타인 거세우에 사료조성을 달리하여 급여하였을 때 쇠고기 등심부위의 향기패턴을 전자코로 분석한 결과는 Figure 5.1 에 나타내었으며, Grass처리구가 TMR과 Mix처리구와 다른 향기패턴을 나타내는 것을 확인 하였다.

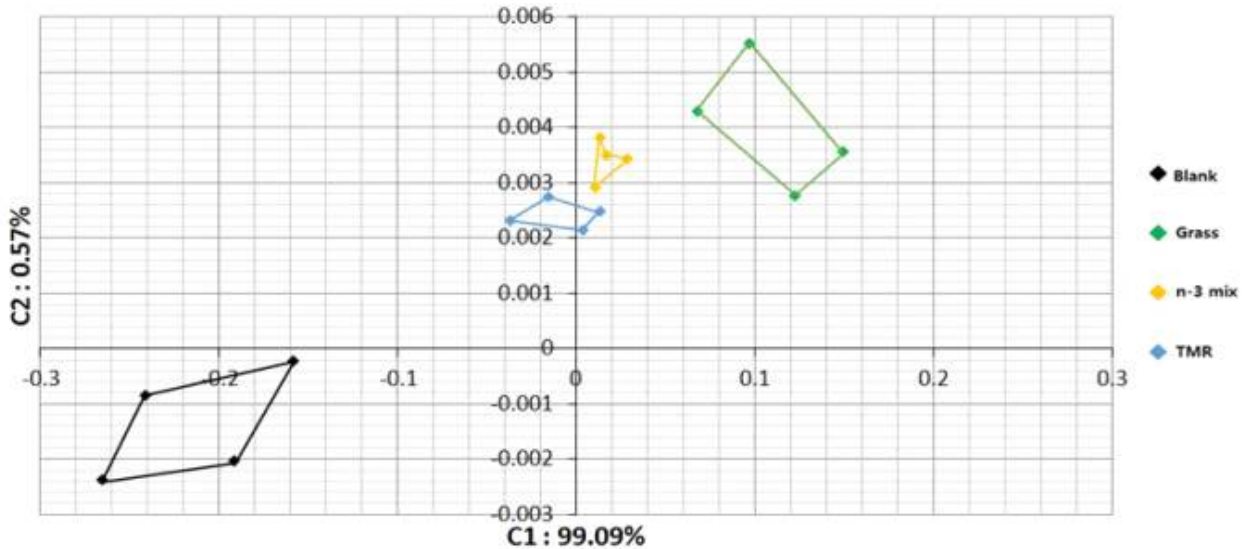


Fig 5.1 Aroma pattern of beef from TMR, n-3 mix (Mix) and Grass groups as revealed by electronic nose

(2) HPP처리 진공포장숙성육의 품질평가

홀스타인 거세우 쇠고기 등심부위에 초고압 처리를 하였을 때 일반 성분 결과는 Table 5.17 와 같다. 수분, 조지방과 회분 함량은 모든 처리구에서 유의적인 차이는 나타나지 않았지만 조단백질에서 500MPa 처리구가 다른 처리구에 비하여 유의적으로 높은 함량을 나타냈다 ($p < 0.05$).

Table 5.17 Proximate composition (%) of loin muscles from Holstein steers with different pressure

Composition (%)	0.1 Mpa	300 Mpa	500 Mpa	SEM
Moisture	76.51	76.12	72.65	0.53
Crude fat	3.38	3.34	3.57	0.18
Crude protein	19.12 ^b	19.51 ^b	22.73 ^a	0.76
Ash	0.99	1.03	1.04	0.02

SEM, standard error for the means.

^{a-b} Means in the same row with different superscripts are significantly different ($p < 0.05$).

홀스타인 거세우 쇠고기 등심부위에 초고압 처리를 하였을 때 명도의 결과는 Table 5.18 과 같다. 처리직후인 저장 0주차에서 500MPa 처리구가 0.1MPa 처리구, 300MPa 처리구에 비해 유의적으로 높은 측정값을 나타냈으며($p<0.05$), 이는 모든 저장기간동안 유사한 경향을 나타내었다. 그러나 모든 0.1MPa 처리구에서만 저장기간이 경과함에 따라 명도값이 감소하는 경향이 나타났으며 다른 처리구에서는 유의적인 차이는 없었다.

Table 5.18 Lightness value of loin muscles from Holstein steers with different pressure during storage at 2°C

	0 week	1 week	2 week	3 week	4 week	SEM
0.1 Mpa	41.08 ^{abC}	39.06 ^{bC}	44.00 ^{aB}	37.21 ^{bC}	38.98 ^{bC}	0.65
300 Mpa	48.81 ^{aB}	51.17 ^{aB}	49.95 ^{aAB}	51.68 ^{aB}	47.25 ^{aB}	0.67
500 Mpa	55.83 ^{aA}	56.21 ^{aA}	51.22 ^{bA}	57.31 ^{aA}	57.53 ^{aA}	0.43
SEM	1.19	1.39	1.38	1.61	1.49	

SEM, standard error for the means.

^{a-b} Means in the same row with different superscripts are significantly different ($p<0.05$).

^{A-C} Means in the same column with different superscripts are significantly different ($p<0.05$).

홀스타인 거세우 쇠고기 등심부위에 초고압 처리를 하였을 때 적색도의 결과는 Table 5.19와 같다. 적색도의 경우 0.1MPa와 300MPa 처리구는 저장기간 경과에 따른 유의적인 차이는 나타나지 않았으며 500MPa 처리구에서는 저장 3주차부터 적색도 값이 급격히 감소하는 결과가 나타났다($p<0.05$). 또한 저장 4주차에서 500MPa 처리구의 적색도 값이 15.68로 다른 처리구에 비해 유의적으로 낮은 측정값을 나타내었다($p<0.05$).

Table 5.19 Redness value of loin muscles from Holstein steers with different pressure during storage at 2°C

	0 week	1 week	2 week	3 week	4 week	SEM
0.1 Mpa	23.55 ^{abA}	21.70 ^{bB}	24.10 ^{aA}	23.60 ^{abA}	25.22 ^{aA}	0.35
300 Mpa	23.54 ^{aA}	24.13 ^{aA}	24.26 ^{aA}	22.86 ^A	25.73 ^{aA}	0.41
500 Mpa	22.12 ^{bB}	20.42 ^{bB}	24.94 ^{aA}	15.74 ^{cB}	15.68 ^{cB}	0.61
SEM	0.50	0.43	0.44	0.75	1.02	

SEM, standard error for the means.

^{a-c} Means in the same row with different superscripts are significantly different ($p < 0.05$).

^{A-B} Means in the same column with different superscripts are significantly different ($p < 0.05$).

홀스타인 거세우 쇠고기 등심부위에 초고압 처리를 하였을 때 황색도의 결과는 Table 5.20 과 같다. 황색도의 경우 0.1MPa와 300MPa 처리구는 저장기간 경과에 따른 유의적인 차이는 나타나지 않았으며 500MPa 처리구에서는 저장 1주차부터 황색도 값이 유의적으로 감소하였으며, 특히 저장 4주차에서 황색도 값이 가장 낮은 값을 나타냈다($p < 0.05$). 또한 저장 4주차에서 500MPa 처리구의 황색도 값이 12.16으로 다른 처리구에 비해 유의적으로 낮은 측정값을 나타내었다($p < 0.05$).

Table 5.20 Yellowness value of loin muscles from Holstein steers with different pressure during storage at 2°C

	0 week	1 week	2 week	3 week	4 week	SEM
0.1 Mpa	13.53 ^{aA}	10.69 ^{bB}	12.73 ^{aA}	12.19 ^{aA}	13.65 ^{aA}	0.27
300 Mpa	13.01 ^{aA}	14.11 ^{aA}	12.54 ^{aA}	12.40 ^{aA}	13.28 ^{aAB}	0.27
500 Mpa	14.15 ^{aA}	13.63 ^{abA}	13.89 ^{abA}	13.11 ^{bA}	12.16 ^{cB}	0.17
SEM	0.36	0.37	0.30	0.22	0.29	

SEM, standard error for the means.

^{a-c} Means in the same row with different superscripts are significantly different ($p < 0.05$).

^{A-B} Means in the same column with different superscripts are significantly different ($p < 0.05$).

홀스타인 거세우 쇠고기 등심부위에 초고압 처리를 하였을 때 테옥시미오글로빈 함량은 Table 5.21과 같다. 테옥시미오글로빈 함량은 300MPa 처리구가 0.1MPa와 500MPa 처리구에 비교하여 유의적으로 낮게 나타났으며, 이는 저장기간이 경과하여도 같은 결과가 나타났었다($p < 0.05$).

Table 5.21 Deoxymyoglobin compstion (%) of loin muscles from Holstein steers with different pressure during storage at 2°C

	0 week	1 week	2 week	3 week	4 week	SEM
0.1 Mpa	21.9 ^{aA}	20.86 ^{aB}	13.96 ^{bcB}	13.15 ^{bB}	15.48 ^{cB}	0.73
300 Mpa	12.53 ^{bbB}	13.65 ^{bcC}	11.11 ^{cC}	8.138 ^{dC}	16.79 ^{aB}	0.62
500 Mpa	22.92 ^{bcA}	26.80 ^{aA}	21.82 ^{bcA}	20.97 ^{cA}	24.35 ^{bA}	0.60
SEM	1.54	1.34	1.08	1.32	0.96	

SEM, standard error for the means.

^{a-d} Means in the same row with different superscripts are significantly different ($p < 0.05$).

^{A-C} Means in the same column with different superscripts are significantly different ($p < 0.05$).

홀스타인 거세우 쇠고기 등심부위에 초고압 처리를 하였을 때 옥시미오글로빈 함량은 Table 5.22와 같다. 저장초기인 0주차에는 300MPa 처리구에서 옥시미오글로빈 함량이 유의적으로 가장 높게 나타났다. 0.1MPa 처리구는 저장 0주차에서는 옥시미오글로빈 함량이 300MPa와 500MPa에 비해 유의적으로 가장 낮게 나타났지만 저장기간이 경과함에 따라 점차 증가하는 경향을 보였으며, 저장 4주차에서는 300MPa와 유사한 수준을 보였다. 500MPa 처리구의 경우 저장 초기에 비해 저장후기(4주차)로 갈수록 옥시미오글로빈 함량이 급격히 감소하는 경향을 나타냈다.

Table 5.22 Oxymyoglobin compstion (%) of loin muscles from Holstein steers with different pressure during storage at 2°C

	0 week	1 week	2 week	3 week	4 week	SEM
0.1 Mpa	51.80 ^{dC}	59.31 ^{cB}	73.65 ^{aB}	67.32 ^{bB}	71.41 ^{abA}	1.67
300 Mpa	74.88 ^{aA}	76.26 ^{aA}	78.34 ^{aA}	79.01 ^{aA}	66.18 ^{bA}	1.13
500 Mpa	69.59 ^{aB}	60.02 ^{bbB}	42.50 ^{cC}	42.73 ^{cC}	42.68 ^{cB}	3.20
SEM	3.45	2.51	3.69	3.70	3.05	

SEM, standard error for the means.

^{a-d} Means in the same row with different superscripts are significantly different ($p < 0.05$).

^{A-C} Means in the same column with different superscripts are significantly different ($p < 0.05$).

홀스타인 거세우 쇠고기 등심부위에 초고압 처리를 하였을 때 메트미오글로빈 함량은 Table 5.23과 같다. 0.1MPa 처리구는 저장직후(0주차)에서는 메트미오그로빈 함량이 26.30%로 다른 처리구들에 비해 유의적으로 높게 나타났다. 그러나 저장기간이 경과할수록

메트미오글로빈 함량이 감소하는 경향이 나타났으며 저장 4주차에서는 13.11%로 500MPa 처리구와 비교하여 유의적으로 낮은 결과를 나타냈다. 300MPa와 500MPa 처리구는 저장기간이 길어질수록 메트미오글로빈 함량이 증가하는 경향을 나타냈다($p<0.05$). 특히 저장 0주차에서는 다른 처리구들에 비해 유의적으로 가장 낮은 결과를 보였던 500MPa 처리구는 저장 2주차에 메트미오글로빈 함량이 급격히 증가하였으며 저장 4주차에서 다른 처리구와 비교하여 유의적으로 가장 높은 결과를 나타냈다($p<0.05$).

Table 5.23 Metmyoglobin composition (%) of loin muscles from Holstein steers with different pressure during storage at 2°C

	0 week	1 week	2 week	3 week	4 week	SEM
0.1 Mpa	26.30 ^{aA}	19.83 ^{bA}	12.39 ^{cB}	19.53 ^{bB}	13.11 ^{cB}	1.09
300 Mpa	12.59 ^{bB}	10.09 ^{bB}	10.55 ^{bB}	12.85 ^{bC}	17.02 ^{aB}	0.69
500 Mpa	7.49 ^{bC}	13.19 ^{bB}	35.68 ^{aA}	36.31 ^{aA}	32.97 ^{aA}	3.40
SEM	2.76	1.50	2.65	2.40	2.10	

SEM, standard error for the means.

^{a-c} Means in the same row with different superscripts are significantly different ($p<0.05$).

^{A-C} Means in the same column with different superscripts are significantly different ($p<0.05$).

홀스타인 거세우 쇠고기 등심부위에 초고압 처리를 하였을 때 pH 결과는 Table 5.24 와 같다. 저장기간에 따른 처리구별 변화는 나타나지 않았으며 저장 4주차에서 500MPa 처리구의 pH가 5.87로 다른 처리구들에 비해 유의적으로 낮게 나타났다($p<0.05$).

Table 5.24 pH of loin muscles from Holstein steers with different pressure during storage at 2°C

	0 week	1 week	2 week	3 week	4 week	SEM
0.1 Mpa	5.88 ^A	5.87 ^A	5.99 ^A	6.02 ^A	6.05 ^A	0.03
300 Mpa	5.95 ^A	6 ^A	5.99 ^A	5.98 ^A	5.99 ^A	0.02
500 Mpa	5.94 ^A	5.98 ^A	6.05 ^A	6.00 ^A	5.87 ^B	0.03
SEM	0.02	0.03	0.04	0.04	0.02	

SEM, standard error for the means.

^{A-B} Means in the same column with different superscripts are significantly different ($p<0.05$).

홀스타인 거세우 쇠고기 등심부위에 초고압 처리를 하였을 때 지방산패도 결과는 Table 5.25 과 같다. 0.1MPa와 300MPa 처리구는 저장기간이 증가할수록 TBARS값이 유의적으로

증가하는 경향을 나타냈으나($p < 0.05$), 500MPa 처리구는 저장기간에 따른 유의적인 차이는 나타나지 않았다($p > 0.05$). 0.1MPa 처리구는 저장 0주차와 2주차에서 다른 처리구에 비해 TBARS값이 유의적으로 낮게 나타났지만($p < 0.05$), 숙성 마지막주차인 저장 4주차에서는 처리구간 유의적인 차이를 보이지 않았다($p > 0.05$).

Table 5.25 TBARS of loin muscles from Holstein steers with different pressure during storage at 2°C

	0 week	1 week	2 week	3 week	4 week	SEM
0.1 Mpa	0.12 ^{bB}	0.19 ^{bA}	0.26 ^{bB}	0.61 ^{aA}	0.60 ^{aA}	0.06
300 Mpa	0.30 ^{bA}	0.30 ^{bA}	0.44 ^{abA}	0.56 ^{aA}	0.53 ^{aA}	0.03
500 Mpa	0.26 ^{aA}	0.34 ^{aA}	0.50 ^{aA}	0.44 ^{aB}	0.37 ^{aA}	0.03
SEM	0.03	0.04	0.04	0.03	0.06	

SEM, standard error for the means.

^{a-b} Means in the same row with different superscripts are significantly different ($p < 0.05$).

^{A-B} Means in the same column with different superscripts are significantly different ($p < 0.05$).

홀스타인 거세우 쇠고기 등심부위에 초고압 처리를 하였을 때 SOD 활성도 결과는 Table 5.26 과 같다. 모든 처리구에서 저장기간이 증가할수록 SOD의 활성이 감소하였다($p < 0.05$). 또한 저장 4주차에서 초고압처리를 하지 않은 0.1MPa와 300MPa 초고압 처리구가 500MPa 처리구에 비해 SOD 활성이 유의적으로 높게 나타났다($p < 0.05$).

Table 5.26 Superoxide dismutase (SOD) of loin muscles from Holstein steers with different pressure during storage at 2°C

	0 week	1 week	2 week	3 week	4 week	SEM
0.1 Mpa	103 ^{aA}	64.43 ^{bA}	75.94 ^{bA}	72.91 ^{bA}	67.44 ^{bA}	4.18
300 Mpa	100 ^{aA}	63.44 ^{cA}	68.75 ^{bA}	65.32 ^{bcB}	61.67 ^{cA}	3.31
500 Mpa	78.26 ^{aA}	59.51 ^{bA}	58.12 ^{bA}	58.33 ^{bC}	52.56 ^{bB}	4.25
SEM	5.13	2.61	4.51	1.95	2.32	

SEM, standard error for the means.

^{a-c} Means in the same row with different superscripts are significantly different ($p < 0.05$).

^{A-B} Means in the same column with different superscripts are significantly different ($p < 0.05$).

홀스타인 거세우 쇠고기 등심부위에 초고압 처리를 하였을 때 catalase 활성도 결과는 Table 5.27과 같다. 모든 처리구에서 저장기간이 증가할수록 catalase의 활성이 감소하였다

($p < 0.05$). 또한 저장 4주차에서 초고압처리를 하지 않은 0.1MPa 처리구가 300MPa와 500MPa 처리구에 비해 catalase 활성이 유의적으로 높게 나타났다($p < 0.05$).

Table 5.27 Catalase of loin muscles from Holstein steers with different pressure during storage at 2°C

	0 week	1 week	2 week	3 week	4 week	SEM
0.1 Mpa	389.4 ^{aAB}	270.7 ^{bA}	237.1 ^{cA}	228.2 ^{cA}	223.7 ^{cA}	16.34
300 Mpa	409.4 ^{aA}	262.7 ^{bA}	231.5 ^{cA}	219.4 ^{cAB}	210.5 ^{cB}	15.65
500 Mpa	365.2 ^{aB}	294.3 ^{bA}	210.1 ^{cA}	209.3 ^{cB}	207.6 ^{cB}	16.54
SEM	7.91	8.25	6.75	3.42	2.87	

SEM, standard error for the means.

^{a-c} Means in the same row with different superscripts are significantly different ($p < 0.05$).

^{A-B} Means in the same column with different superscripts are significantly different ($p < 0.05$).

홀스타인 거세우 쇠고기 등심부위에 초고압 처리를 하였을 때 가열감량과 보수력 결과는 Table 5.28 과 같다. 가열감량은 초고압 처리한 300MPa와 500MPa 처리구가 유의적으로 높았으며 보수력은 300MPa 처리구가 유의적으로 높게 나타났다($p < 0.05$).

Table 5.28 Cooking loss and Water holding capacity of loin muscles from Holstein steers with different pressure

	0.1 Mpa	300 Mpa	500 Mpa	SEM
Cooking loss	38.51 ^b	47.63 ^a	46.92 ^a	1.89
Water holding capacity	69.89 ^b	70.7 ^a	66.52 ^c	0.64

SEM, standard error for the means.

^{a-c} Means in the same row with different superscripts are significantly different ($p < 0.05$).

홀스타인 거세우 쇠고기 등심부위에 초고압 처리를 하였을 때 조직감과 전단력은 Table 5.29와 같다. 경도는 300MPa와 500MPa 처리구에서 저장 0주차에 비해 저장 4주차에서 유의적으로 높았다($p < 0.05$). 이와는 반대로 전단력은 모든 처리구에서 저장 0주차에 비해 저장 4주차에서 유의적으로 감소하였다($p < 0.05$).

Table 5.29 Texture profile analysis and shear force of loin muscles from Holstein steers with different pressure during storage at 2°C

	0 day			28 day			SEM
	0.1 Mpa	300 Mpa	500 Mpa	0.1 Mpa	300 Mpa	500 Mpa	
Hardness (kg)	17.07 ^b	17.72 ^b	17.72 ^b	16.28 ^b	20.94 ^a	21.33 ^a	0.35
Springiness	0.53	0.59	0.53	0.56	0.58	0.52	0.009
Cohesiveness	0.42 ^{ab}	0.45 ^a	0.42 ^{ab}	0.39 ^b	0.40 ^b	0.45 ^a	0.006
Gumminess	7.67 ^{ab}	9.23 ^a	8.05 ^{ab}	6.51 ^b	8.43 ^{ab}	9.74 ^a	0.26
Chewiness	2.97 ^b	4.64 ^{ab}	3.02 ^b	3.92 ^{ab}	4.5 ^{ab}	4.88 ^a	0.20
Resilience (mm)	0.23 ^{cd}	0.30 ^a	0.25 ^{bc}	0.20 ^d	0.23 ^{cd}	0.28 ^{ab}	0.006
SF (kgf)	4.81 ^a	5.18 ^a	5.15 ^a	3.16 ^c	3.28 ^c	4.10 ^b	0.11

SEM, standard error for the means.

^{a-d} Means in the same row with different superscripts are significantly different ($p < 0.05$).

홀스타인 거세우 쇠고기 등심부위에 초고압 처리를 하였을 때 단백질변패도 결과는 Table 5.30 과 같다. 처리구간 유의적인 차이는 나타나지 않았으며 모든 처리구에서 저장 초기(0주차)에서 저장 후기(4주차)로 시간이 경과할수록 유의적으로 증가하는 경향을 보였다 ($p < 0.05$).

Table 5.30 Volatile basic nitrogen (VBN) of loin muscles from Holstein steers with different pressure during storage at 2°C

	0 week	1 week	2 week	3 week	4 week	SEM
0.1 Mpa	11.05 ^b	13.03 ^{ab}	13.18 ^{ab}	13.6 ^{ab}	14.88 ^a	0.44
300 Mpa	10.48 ^d	12.47 ^c	12.97 ^c	13.81 ^b	14.73 ^a	0.35
500 Mpa	9.917 ^c	12.47 ^b	12.9 ^b	13.18 ^b	14.45 ^a	0.39
SEM	0.25	0.36	0.12	0.22	0.16	

SEM, standard error for the means.

^{a-d} Means in the same row with different superscripts are significantly different ($p < 0.05$).

홀스타인 거세우 쇠고기 등심부위에 초고압 처리를 하였을 때 총균수 결과는 Table 5.31 과 같다. 총균수의 경우 저장 0주차에서 500MPa 처리구가 다른 처리구에 비해 유의적으로 낮은 결과를 나타냈다($p < 0.05$). 이는 저장기간이 경과하여도 유사한 경향을 보였으며,

특히 저장 후기인 4주차에서 500 MPa 처리구가 다른 처리구에 비해 유의적으로 낮은 값을 보였다($p < 0.05$).

Table 5.31 Total aerobic bacteria counts (Log CFU/g) of loin muscles from Holstein steers with different pressure during storage at 2°C

	0 week	1 week	2 week	4 week	SEM
0.1 Mpa	3.55 ^{dA}	5.09 ^{cA}	5.86 ^{bA}	6.95 ^{aA}	0.43
300 Mpa	3.10 ^{dB}	5.16 ^{cA}	6.15 ^{bA}	6.87 ^{aA}	0.38
500 Mpa	0 ^{cC}	4.71 ^{bB}	5.79 ^{aA}	5.96 ^{aB}	0.81
SEM	0.48	0.09	0.08	0.18	

SEM, standard error for the means.

^{a-d} Means in the same row with different superscripts are significantly different ($p < 0.05$).

^{A-C} Means in the same column with different superscripts are significantly different ($p < 0.05$).

홀스타인 거세우 쇠고기 등심부위에 초고압 처리를 하였을 때 관능평가 결과는 Table 5.32와 같다. 관능평가에서 연도는 500MPa 처리구가 다른 처리구들에 비해 높은 점수를 받았으며($p < 0.05$), 맛과 종합기호도는 300MPa 처리구가 다른 처리구들에 비해 높은 점수를 받았다($p < 0.05$).

Table 5.32 Sensory characteristics of the cooked loin muscles from Holstein steers with different pressure during storage at 2°C

	0.1 Mpa	300 Mpa	500 Mpa	SEM
Tenderness	4.56 ^b	6 ^{ab}	6.25 ^a	0.33
Juiciness	4.6 ^a	6.1 ^a	4.9 ^a	0.31
Aroma	4.83 ^a	5.67 ^a	5.17 ^a	0.25
Taste	5.36 ^b	6.82 ^a	5.45 ^b	0.27
Overall acceptance	5.18 ^b	7 ^a	5.45 ^b	0.28

SEM, standard error for the means.

^{a-b} Means in the same row with different superscripts are significantly different ($p < 0.05$).

라. 결론

본 연구는 사료급여 조성에 따른 우육 등심부위의 육질평가 및 비열초고압처리한 진공포장숙성육의 품질특성을 알아보기 위한 목적으로 실시하였다. 사료급여 조성에 따른 우육 등심부위는 도축전 4개월간 모든 처리구에서 reed canary grass (*Phalaris arundinacea*)를 급여하였기 때문에 명도, 황색도, 미오글로빈, pH, 오메가-6/오메가-3 지방산의 비율 등에서는 처리구간 유의적인 차이는 나타나지 않았다. 그러나 일반성분 중 지방함량이 유의적으로 Mix 처리구가 다른 처리구에 비해 높았으며, 적색도에서 Grass 처리구가 다른 처리구에 비해 높은 결과를 보였다. 지방산패도의 경우에는 저장 12일차에서 Mix처리구가 가장 낮은 수치를 보였다.

선행연구에서 도축전까지 사료조성을 달리 하여 급여하였을 때 오메가-6/오메가-3 지방산비율 등을 비롯하여 다양한 지표에서 유의성을 나타냈지만, 2차년도 연구에서는 도축전까지 4개월간 동일한 조사료를 급여하여 큰 차이가 나타나지 않았다. 따라서 도축전 4개월간 증체량, 혈액성분 분석 등을 통하여 건강기능성 측면에서

HPP처리 진공포장숙성육에서는 500MPa 처리구가 단백질 함량이 유의적으로 증가했다. 명도는 초고압처리를 할수록 높은 값을 나타냈으며 이와는 반대로 적색도는 감소하는 경향을 나타냈다. 총균수에서는 500MPa 처리구가 다른 처리구에 비해 유의적으로 낮은 값을 보였다. 관능평가에서는 300MPa 처리구가 종합기호도에서 다른 처리구에 비해 높은 점수를 받았다.

HPP처리 진공포장숙성육은 300MPa로 고압처리를 하였을 때, 총균수가 비처리구에 비해 감소하였고, 육색의 경우 변색이 500MPa 처리구에 비해 적게 나타났으며, 관능평가에서도 다른 처리구에 비해 우수한 점수를 받았다. 따라서 300MPa 초고압처리 진공포장숙성육이 다른 처리구에 비해 우수한 것으로 사료된다.

6. 비열초고압처리 및 폴리인산나트륨 첨가 인도네시아식 미트볼(Bakso)의 냉장저장 중 품질 및 저장 특성에 미치는 영향

가. 연구 목적 및 배경

육제품 및 식육의 소비는 1980년대 이후 꾸준히 증가하고 있으며, 이는 경제 수준의 향상으로 인한 것으로 사료된다. 또한 국민소득의 증가로 인해 소비자의 의식수준이 향상되었으며 한국인의 식문화를 양적인 면에서 질적인 측면으로 전환하는 추세가 되었다(Jung 등., 2012). 한편 비열초고압처리는 가열처리를 하지 않기 때문에 영양소 파괴를 최소화하며 미생물을 사멸, 감소시키는데 효과적이다. 비열초고압처리시 식육 및 육제품의 조직감, 미생물수, 육색, 단백질변패도, 지방산화에 영향을 미친다고 보고되어 있다(Cheftel and Culioli, 1997).

트리폴리인산나트륨은 식육 및 육제품에 첨가되어 조직감, 보수력을 증진시키기 위해 가장 대표적으로 사용된다(Lee and Chin., 2012).

본 연구는 우선 시중에 판매되어 직접 구매가 가능한 제품이 아닌 인도네시아식 미트볼(Bakso)을 소비자들이 가정에서 손쉽게 가공할 수 있게 조직감이 우수한 제품을 개발하는 것, 그리고 육우 3등급 목심(저등급 저지방 부위)을 비열초고압처리하여 미트볼의 질적인 측면을 향상시켜 부가가치를 증진시키기 위해 실시하였다.

나. 재료 및 방법

(1) 시료

삼양목장에서 사육한 육우를 일반 도축장에서 도축한 후 목심(거세, 3등급)을 실험실로 운반하여 과도한 결체조직을 제거한 후 진공포장한 다음 -24°C 에 실험 전까지 냉동 저장하였다. 그 후 냉동상태의 고기와 아이스팩을 아이스박스에 넣어 흥국F&B로 옮겨와 비열초고압 처리한 후 미트볼 제조에 이용하였다.

(2) 미트볼의 제조

비열초고압처리 및 폴리인산나트륨의 첨가가 냉장저장 중 미트볼의 품질특성에 미치는 효과를 확인하고자 압력처리를 하지 않은 처리구인 NH, 500Mpa의 비열초고압처리구인 H, 압력처리를 하지 않고 트리폴리인산나트륨을 첨가한 처리구인 NH+stpp 및 500Mpa의 비열초고압처리구에 트리폴리인산나트륨을 첨가한 처리구인 H+stpp로 분류하여 Table 6.1 과 같이 미트볼을 제조하였다. 완만 해동시킨 원료육을 chopper를 이용하여 5mm로 분쇄 후 첨가물과 함께 믹서로 혼합하였다. 우선 분쇄된 목심, 소금 및 폴리인산나트륨(첨가구만 해당)을 투입하여 3분간 혼합한 후, 모든 처리구에 마늘분말, 흑후추, 설탕, beef powder, 넛맥을 투입하여 다시 3분간 혼합하고, 타피오카 분말과 ISP를 넣고 추가로 3분간 재 혼합하였다. 혼합이 끝난 실험재료는 약 20 g씩 분할하여 미트볼을 만든 후 80℃ 물에 30분간 가열한 후 상온에서 1시간 방치하여 제품 온도를 일정수준 이하로 떨어뜨린 후 함기포장하여 저장 0일차로 설정하였으며, 4℃ 냉장고에서 0, 3, 6, 9일 동안 미트볼의 품질 및 저장 특성을 분석하였다.

Table 6.1 The basic formulation of meatball with ingredients Unit(%)

Ingredient	NH	H	NH+stpp	H+stpp
Ground chuck roll	61.20	61.20	61.20	61.20
Ice	18.36	18.36	18.36	18.36
Tapioca powder	15.30	15.30	15.30	15.30
Salt	2.14	2.14	2.14	2.14
ISP ¹⁾	1.53	1.53	1.53	1.53
Black pepper	0.24	0.24	0.24	0.24
Sugar	0.24	0.24	0.24	0.24
Garlic powder	0.49	0.49	0.49	0.49
Ground nutmeg	0.24	0.24	0.24	0.24
Beef powder	0.24	0.24	0.24	0.24
Total	100	100	100	100
STPP ²⁾	—	—	0.1	0.1

¹⁾Isolated soy protein

²⁾Sodium tripolyphosphate

(3) 실험항목

pH는 시료 5 g과 증류수 50 mL를 균질기(PH91, SMT Co.,Ltd., Japan)로 10,000 rpm에서 1분 동안 균질한 다음 pH meter(SevenEasy pH, Mettler-Toledo GmbH, Switzerland)로 측정하였다.

지방산화는 Sinnhuber와 Yu(1977)의 TBARS(2-thiobarbituric acid reactive substances) 방법을 약간 수정하여 실시하였다. 시료 0.5g 과 향산화제(54% propylene glycol+40% Tween 20+3% BHT+3% BHA) 3방울, 1% TBA 3mL, 25% TCA 17mL를 혼합하고, 98°C water bath(OB-25E, Jeio Tech, Korea)에서 30분 동안 가열한 후 얼음물에 담가 10분 동안 냉각하였다. 이후 상등액 5mL를 취하여 chloroform 3mL를 넣고 실온에서 3,500rpm으로 30분 동안 원심분리(GS-6R Centrifuge, Beckman Instruments Inc., USA)한 다음 상등액의 흡광도를 532nm에서 측정(UV-mini-1240, Shimadzu, Japan)하였다. 최종 수치는 시료 1kg당 mgMA(malonaldehyde)로 산출하였으며, blank는 증류수 0.5mL를 사용하였다.

표면색은 chroma meter(CR-400, Konica Minolta Sensing, Inc., Japan)를 이용하여 CIE L*(lightness), a*(redness), b*(yellowness)을 시료 표면을 무작위로 10 반복하여 측정하였다. 이때 calibrate plate(2° observer)의 illuminant C는 Y=93.6, x=0.3134, y=0.3194이었다.

보수력(water-holding capacity, WHC)은 원심분리법으로 실시하였다. 5g의 시료를 원심분리관에 넣고 80°C 항온수조에서 30분간 가열 후 냉각한 다음, 원심분리 1,000 rpm에서 10분간 가열하여 유리된 수분을 측정하여 총 수분함량과의 비율로서 산출하였다.

가열감량은 시료를 은박지포장 후 넣고 폴리에틸렌 지퍼백에 밀봉한 다음 항온 수조에 가열하여 미트볼의 중심온도가 80°C로 하여 1시간 동안 가열한 다음, 꺼내어 2±2°C에서 하룻밤을 저장한 후 무게를 측정하였다. 이때 발생한 육즙의 양을 시료 초기무게의 백분율(%)로 산출하였다.

TPA(Texture profile analysis) 측정은 가열감량을 측정하고난 시료들을 각각 1 cm×1 cm×1 cm 로 성형한 후 ϕ 35mm의 cylindrical probe가 장착된 texture analyzer(TA-XT2i version

6.01, Stable Micro Systems Co., Ltd., UK)를 이용하여 경도(hardness), 탄력성(springiness), 응집성(cohesiveness), 검성(gumminess) 및 씹힘성(chewiness)을 측정하였다. 분석 조건은 pretest-test-posttest speed 1mm/sec로 시료 높이의 80%를 2회 압착하여 측정하였다.

전단력(Warner-Bratzler shear force, WBSF)은 가열감량을 측정하고 난 시료들을 각각 1 cm×1 cm×1 cm로 성형한 다음 Warner-Bratzler shear blade를 장착한 texture

analyser(TAXT2i version 6.06, Stable Micro Systems Co., Ltd, UK)로 전단력을 측정하였으며, 칼날과 근섬유 방향이 평행하도록 절단하였다. 이때 분석조건은 load cell 5 kg, pretest speed 5.0mm/sec, test speed 2.0 mm/sec, posttest speed 5.0 mm/sec이었으며, 분석된 결과는 kg으로 산출하였다.

관능검사는 실험실에서 인도네시아식 미트볼을 섭취해본 경험이 있는 인도네시아 대학원생 5명을 포함하여 관능검사 방법에 익숙한 대학원생 및 학부생 26명을 대상으로 실시하였으며, 시료를 지퍼백(low densitypolyethylene, Cleanwrap Co., Ltd, Korea)에 넣고 수조에 침지 가열한 후 온도계를 통해 시료의 중심온도가 80℃가 되었을 때 꺼내었고, 실온에서 10분 동안 약 30℃ 전후까지 냉각한 후 각 시료를 관능검사에 이용하였다. 각각의 항목은 외관, 경도, 응집성, 탄력성, 종합적기호도를 가장 낮은 점수 1점에서 가장 높은 점수 9점까지로 나타냈다.

다. 결과 및 고찰

저장기간에 따른 미트볼의 pH 변화를 Table 6.2 에 나타내었다. 모든 처리구에서 저장 0일차에 비해 저장 9일차에서 pH가 유의적으로 감소하였으며($p<0.05$), 저장기간이 경과함에 pH가 감소하는 경향이 나타났다. 또한 HPP처리구가 비처리구에 비해 pH가 유의적으로 높게 나타났으며, 트리폴리인산나트륨 첨가구들이 비첨가구들에 비해 pH가 유의적으로 높게 나타났다($p<0.05$). 이는 돈육소시지에 200 MPa의 압력을 가하였을 때, 비처리구에 비해 pH가 상승한다고 보고된 결과와 유사한 경향을 나타냈으며(Yang 등., 2015), 트리폴리인산나트륨을 첨가하였을 때 비커소시지에서 비첨가구에 비해 pH가 상승한다고 보고되어(Trius 등., 1994), 본 연구와 유사한 경향을 나타내고 있는 것을 확인하였다.

Table 6.2 pH of the meatball with different pressure and additives sodium tripolyphosphate during storage at 4°C

	0 day	3 day	6 day	9 day	SEM
NH	6.43 ^{aD}	6.2 ^{bC}	6.21 ^{bC}	6.24 ^{bD}	0.03
H	6.59 ^{aB}	6.33 ^{dB}	6.39 ^{bB}	6.37 ^{cB}	0.03
NH+stpp ¹⁾	6.53 ^{aC}	6.31 ^{dB}	6.35 ^{bB}	6.33 ^{cC}	0.03
H+stpp	6.72 ^{aA}	6.42 ^{cA}	6.44 ^{cA}	6.5 ^{bA}	0.04
SEM	0.03	0.02	0.03	0.03	

¹⁾Sodium tripolyphosphate

^{a-d} Means in the same row with different superscripts are significantly different ($p < 0.05$).

^{A-D} Means in the same column of each meat part with different superscripts are significantly different ($p < 0.05$).

SEM, standard error for the means.

저장기간에 따른 미트볼의 지방산패도 변화를 Table 6.3에 나타내었다. 처리구에 따른 TBARS 값은 유의성이 나타나지 않았으며, 모든 처리구에서 저장 초기에 비해 시간이 증가할 수록 TBARS값이 높아졌으며, 저장 9일차에서 가장 높게 나타났다. HPP처리시 생육에서 TBARS값이 증가한다고 보고되고 있다. 그러나 육제품인 햄에 600 MPa의 압력을 처리하였을 때 비처리구와 유의적인 차이가 없었다는 연구도 보고되고 있다(Pietrasik 등., 2016).

Table 6.3 TBARS of the meatball with different pressure and additives sodium tripolyphosphate during storage at 4°C

	0 day	3 day	6 day	9 day	SEM
NH	0.81 ^a	0.81 ^a	0.84 ^a	1.05 ^a	0.05
H	0.67 ^b	0.67 ^b	0.55 ^b	1.07 ^a	0.07
NH+stpp ¹⁾	0.71 ^b	0.74 ^b	0.75 ^b	1.13 ^a	0.06
H+stpp	0.70 ^b	0.94 ^{ab}	0.61 ^b	1.18 ^a	0.07
SEM	0.05	0.05	0.05	0.05	

¹⁾Sodium tripolyphosphate

^{a-b} Means in the same row with different superscripts are significantly different ($p < 0.05$).

SEM, standard error for the means.

미트볼의 색도를 측정한 결과는 Table 6.4과 같다. 명도는 H와 H+stpp 처리구가 압력 처리하지 않은 다른 처리구들에 비해 유의적으로 낮은 값을 나타냈으며($p<0.05$), 적색도와 황색도는 반대로 유의적으로 높은 값을 나타내었다($p<0.05$).

Table 6.4 Color values of the meatball with different pressure and additives sodium tripolyphosphate

	Lightness	Redness	Yellowness
NH	57.65 ^A	3.30 ^C	13.67 ^C
H	53.95 ^B	3.86 ^B	14.72 ^B
NH+stpp ₁₎	57.37 ^A	3.62 ^{BC}	13.64 ^C
H+stpp	52.90 ^B	4.79 ^A	15.78 ^A
SEM	0.62	0.11	0.21

¹⁾Sodium tripolyphosphate

^{A-C} Means in the same column of each meat part with different superscripts are significantly different ($p<0.05$).

SEM, standard error for the means.

미트볼의 보수력과 가열감량을 측정한 결과는 Table 6.5와 같다. 보수력은 HPP처리한 H와 H+stpp 처리구에서 유의적으로 낮게 나타났으며($p<0.05$), 가열감량은 H와 H+stpp 처리구에서 유의적으로 높았다($p<0.05$).

Table 6.5 Water holding capacity, cooking loss of the meatball with different pressure and additives sodium tripolyphosphate

	NH	H	NH+stpp ¹⁾	H+stpp	SEM
Water holding capacity	91.27 ^a	82.05 ^b	90.55 ^a	81.86 ^b	2.04
Cooking loss	10.84 ^{ab}	14.56 ^a	9.9 ^b	13.16 ^{ab}	0.76

¹⁾Sodium tripolyphosphate

^{a-b} Means in the same row with different superscripts are significantly different($p<0.05$).

SEM, standard error for the means.

미트볼의 조직감과 전단력을 측정한 결과는 Table 6.6과 같다. 경도, 탄력성 그리고 씹힘성은 H와 H+stpp 처리구가 다른 처리구들에 비해 유의적으로 낮게 나타났으며, 전단력에서도 마찬가지로 H와 H+stpp 처리구가 유의적으로 낮게 나타났다($p<0.05$). 종합해보면 HPP처

리한 H와 H+stpp 처리구가 연도가 높은 결과를 나타냈고, 미트볼 특성상 대부분의 소비자들은 단단한 식감을 선호하기 때문에 낮은 pH의 칠면조 고기를 50~100 Mpa 수준으로 낮게 HPP 처리하였을 때 보수력이 향상되었다는 연구가 보고되어 있는 것처럼(Chan 등., 2011), HPP 처리수준을 낮추어 조직감을 개선시키는 연구가 추가적으로 필요하다.

Table 6.6 Texture and tenderness of the meatball with different pressure and additives sodium tripolyphosphate

	Hardness	Springiness	Cohesiveness	Gumminess	Chewiness	Resilience	shear force
NH	5.65 ^B	0.80 ^A	0.24 ^B	1.37 ^A	1.10 ^B	0.12 ^B	1.14 ^B
H	4.26 ^C	0.47 ^B	0.32 ^A	1.37 ^A	0.65 ^C	0.14 ^A	0.60 ^C
NH+stpp ¹⁾	6.61 ^A	0.84 ^A	0.26 ^B	1.75 ^A	1.48 ^A	0.13 ^{AB}	1.57 ^A
H+stpp	3.66 ^C	0.40 ^C	0.30 ^A	0.93 ^B	0.39 ^D	0.12 ^B	0.64 ^C
SEM	0.27	0.04	0.01	0.08	0.09	0.003	0.08

¹⁾Sodium tripolyphosphate

^{A-D}Means in the same column of each meat part with different superscripts are significantly different ($p < 0.05$).

SEM, standard error for the means.

미트볼에 대한 관능적 특성을 Table 6.7과 Table 6.8에 나타내었다. 인도네시아 및 한국 관능평가요원들 모두 NH와 NH+stpp 처리구를 선호하는 것으로 나타났다. 외관, 경도, 응집성, 탄력성, 종합적기호도에서 HPP처리하지 않은 NH와 NH+stpp가 좋은 점수를 받았으며, HPP처리를 높은 수준으로 하였을 때에는 소비자들이 선호하는 단단한 미트볼 식감이 아닌, 부드럽고 잘 부서지는 식감이 나타나 낮은 점수를 받은것으로 판단된다.

Table 6.7 Sensory characteristics of the meatball with different pressure and additives sodium tripolyphosphate of Indonesian students

	NH	H	NH+stpp ¹⁾	H+stpp	SEM
Appearance	6.8 ^a	4.4 ^b	8 ^a	3.2 ^b	0.56
Hardness	5.8 ^a	3.6 ^b	6.8 ^a	3.4 ^b	0.42
Compactness	7.4 ^a	4.2 ^b	8.2 ^a	3.6 ^b	0.56
Springiness	5.75 ^{ab}	3.75 ^b	8.5 ^a	4.75 ^b	0.61
Overall acceptance	7.4 ^a	3.6 ^b	8.2 ^a	3.4 ^b	0.59

¹⁾Sodium tripolyphosphate

^{a-b} Means in the same row with different superscripts are significantly different ($p < 0.05$).

SEM, standard error for the means.

Table 6.8 Sensory characteristics of the meatball with different pressure and additives sodium tripolyphosphate of Korean students

	NH	H	NH+stpp ¹⁾	H+stpp	SEM
Appearance	5.76 ^a	5.48 ^a	6.57 ^a	5.95 ^a	0.22
Hardness	5.38 ^a	2.71 ^b	6.05 ^a	3.14 ^b	0.24
Compactness	6.24 ^a	4.10 ^b	6.14 ^a	4.24 ^b	0.22
Springiness	5.67 ^a	3.67 ^b	6 ^a	3.62 ^b	0.23
Overall acceptance	5.76 ^a	3.10 ^b	6.39 ^a	3.57 ^b	0.25

¹⁾Sodium tripolyphosphate

^{a-b} Means in the same row with different superscripts are significantly different ($p < 0.05$).

SEM, standard error for the means.

라. 결론

아마씨유를 첨가하여 오메가-3 지방산을 강화한 곡물과 reed canary grass (*Phalaris arundinacea*)을 40:60 으로 혼합한 사료로 사육시켜 도축한 쇠고기를 가공제품으로 제조하였다. 초고압처리 및 인산염 첨가에 따른 인도네시아식 미트볼의 냉장저장 중 품질 및 저장특성을 구명하였다.

트리폴리인산나트륨 첨가유무에 따른 조직감, pH, 지방산패도, 관능특성에 대한 차이는 나타나지 않았으며, HPP처리시 비처리구 보다 pH가 상승하고, 경도 및 전단력이 낮아지며 관능특성에서 낮은 점수를 받은 것을 확인할 수 있었다. 그러나 HPP처리는 미생물수를 현저하게 감소시키는 장점을 갖고 있으며, 연한 식감을 선호하는 생육에서는 이점이 있을 것으로 판단된다. 추후 연한 식감이 선호되는 육제품을 개발하는데 HPP처리를 이용하면 적합할 것으로 판단되며, 저장성 증진 및 연도개선에 효과적일 것으로 판단된다.

제 4절. 제 2 협동

자연친화적 건강기능성 우유제품 연구

1. Grass-fed 젖소유래 자연친화적 우유의 영양학적 품질특성 연구

가. 연구배경 및 목적

최근 사회의 모유수유의 중요성 강조, 음료시장의 확대, 고령화, 저 출산 등의 이유로 유가공 시장은 정체 중이다. 또한 2004년 이후 유업체별 수급조절제 시행, 원유감산대책 추진 등으로 인해 생산량 감소가 큰 폭으로 줄어들고 있으나 아직은 소비량 대비 공급과잉 현상을 유지하고 있는 실정이다(Bae, 2010). 따라서 우유의 소비증진 및 고부가가치를 지닌 신제품의 개발은 향후 낙농업계 및 유가공 시장에서 우선적인 과제로 여겨지고 있고, 특히 가공유의 성장세에 비해 백색시유의 소비량과 수급량이 저조하기 때문에 이를 타개할 수 있는 방법에 만전을 기해야 할 것으로 보인다. 우유, 특히 백색시유의 소비를 늘리기 위해서는 기존의 제품과 차별성과 경쟁력을 가져야하고, 소비대상 연령을 전 연령층으로 확대할 수 있어야 하며, 영양적인 측면과 기능성을 포함하여 소비자의 욕구를 충족시킬 수 있는 제품이 절실히 요구된다. 건강에 대한 관심도가 높아지고 생활수준이 향상됨에 따라 소비자들은 유기농 및 친환경적인 식품에 대한 선호도가 높아지는 추세이며, 식품안전성에 대한 욕구가 크게 증가하고 있다. 또한 축산물을 포함하여 식품을 구매하는 소비자들은 언론 보도의 영향으로 인해 위생 수준과 영양학적 측면에서 안전성과 기능성을 모두 갖춘 제품에 대해 관심이 높아지게 되었다(Lee *et al.*, 2014).

따라서 유기농 우유, 방목 목초급여 우유와 같이, 초지에 화학비료, 항생물질을 사용하지 않으며 살충제 및 산유 촉진제 등을 사용하지 않는 자연친화적이고 안전한 제품이 미래의 유가공업계에서 경쟁력과 파급력을 가질 것으로 예상된다. 이러한 시기에 방목, 유기농 사료제공 등 유기농 유제품의 가공을 이용하여 기반을 확립하고 현재 식품업계에서 유가공 제품이 경쟁력을 갖추어 우유 소비량을 늘리기 위한 방향을 제시하고자 비가열처리 목초급여 친환경 우유에 대해 연구를 하고자 하였다.

본 연구는 비가열 초고압처리공정 변수에 따른 grass-fed 친환경 젖소유래 우유의 살균효과 연구 및 영양적 품질특성 분석을 위해 HPP 처리한 grass-fed 젖소유의 저장기간에

따른 품질변화 및 영양학적 품질특성을 분석하고, 자연 친화·건강지향적인 고품질 유제품제조
의 가능성을 검토하였다.

나. 실험방법

(1) 실험재료 및 살균처리

본 실험에 사용한 우유는 삼양식품(주)의 사양실험을 통해 농후사료 위주로 급여한 실험구에서 얻은 일반사료급여 원유(CM)와 목초사료를 급여한 실험구에서 얻은 grass-fed 원유(GM)를 사용하였다. 관능검사 비교평가에 사용된 시판우유는 춘천지역 대형마트에서 구입하여 사용하였다. 분석실험에 이용한 CM과 GM 원유의 살균을 위해 LTLT 및 HPP 살균처리를 실시하였다. LTLT 살균은 63°C에서 30분간 열처리한 뒤, 20°C이하로 냉각하여 멸균 용기에 소분하였다. HPP 살균처리를 위하여 흥국F&B에 설치되어 있는 초고압살균장치(QFP 350L-600, Avure Technol., USA)를 이용하였다. 원유는 190mL 용기에 소분한 후 15±2°C에서 압력과 시간을 각각 550, 580, 600 MPa 및 3, 5분 동안 정수압을 이용하여 처리하였으며 처리조건은 다음과 같다. HPP A: 550MPa(3min), HPP B: 550MPa(5min), HPP C: 580MPa(3min), HPP D: 580MPa(5min), HPP E: 600MPa(3min), HPP F: 600MPa(5min). Thom 등(2006)은 Lee 등(2014)은 우유를 600MPa 조건에서 살균했을 때 미생물 제어 효과가 나타났다고 보고하였다. 하지만 고압 살균 장치의 압력을 600MPa 이상 유지하는 것은 경제적인 측면 및 장비의 과부하 등의 문제로 상용화되기 힘들기 때문에 600MPa 이하의 압력을 사용하였다. 살균된 우유는 5°C와 10°C로 구분하여 14일 동안 저장하며 품질변화를 분석하였다.

(2) 지방산 profile 분석

(가) 지방산 추출

지방산 분석을 위한 우유의 지방성분추출은 ISO 14156 방법을 이용하여 실시하였다. 즉, 우유 20 mL와 에탄올 16 mL, 암모니아 4 mL를 분액깔때기에 넣고 1분간 가볍게 교반한 뒤, diethyl ether 20 mL를 가하여 1분간 강하게 교반하여 정치시킨다. 층이 분리되는 것을 확인 후 pentane 20 mL를 넣고 1분간 가볍게 교반 및 정치하고 층이 분리되면 하층액을 버린다. 다음 10%(w/v) sodium sulfate solution 20 mL를 가하여 30초간 가볍게 교반 및 정치하여 분리된 하층액을 버리고, 다시 10%(w/v) sodium sulfate solution 20 mL를 넣어

1분간 강하게 교반하여 분리된 하층액을 버린다. 투명하게 남은 상층액을 삼각플라스크에 옮긴 후 sodium sulfate 2 g을 첨가하여 15초간 교반한 뒤 10분간 정치시키고 여과지로 걸러서 농축 후 -70°C 에 보관하여 사용하였다. 지방산 조성을 분석하기 위한 fatty acid methyl esters(FAMES)는 ISO 15884 방법을 이용하여 실시하였다. 즉, 시료 100 mg을 test tube에 칭량하여 pentane 5 mL를 가한 뒤 transesterification reagent(11% KOH in methanol) 0.2 mL를 넣고 강하게 교반하여 반응시킨 뒤 sodium bisulfate를 넣고 원심분리(3,500 rpm, 3 min) 후 상층액을 GC/FID 분석시료로 이용하였다.

(나) 지방산 분석

지방산 분석은 Agilent 6890 GC를 이용하여 분석하였다(Table 1). 분석용 컬럼은 SP-2560 Capillary column(SUPELCO, USA, $100\text{ m}\times 0.25\text{ mm}$, $0.20\ \mu\text{m}$)을 사용하였으며, 이동상(He)의 유속은 1.0 mL/min 으로 하였다. 주입구(Injector)와 검출기(Detector)의 온도는 250°C 로 설정하였으며, 오븐(Oven) 온도는 gradient mode로 100°C 에서 5분간 유지하고 3°C/min 속도로 190°C 까지 승온한 뒤, 2°C/min 속도로 240°C 까지 증가시킨 후 최종 온도 240°C 에서 10분간 유지하였다. Sample의 지방산은 37-Component FAME mix(Supelco, USA)를 표준물질로 머무름 시간(retention time)을 비교하여 정성분석 하였으며(Fig. 1.), 전체 지방산 피크 면적(peak area)으로 지방산 비율을 계산하였다.

Table 1. Fatty acid components analysis conditions of gas chromatography

Parameters	Conditions
Instrument	Agilent 6890 gas chromatography (Agilent, USA)
Detector	FID (Flame ionization detector)
Column	SP TM -2560 (100m × 0.25mm × 0.20 μ m)
Air & Hydrogen flow rate	400 & 45 (mL/min)
Injector temp.	250 $^{\circ}$ C (split mode 10 : 1)
Carrier gas	He
Flow rate	1.0 mL/min
Detector temp.	250 $^{\circ}$ C
Oven temp.	Hold 5 min at 100 $^{\circ}$ C → increase 3 $^{\circ}$ C/min up to 190 $^{\circ}$ C → increase 2 $^{\circ}$ C/min up to 240 $^{\circ}$ C and hold 10 min

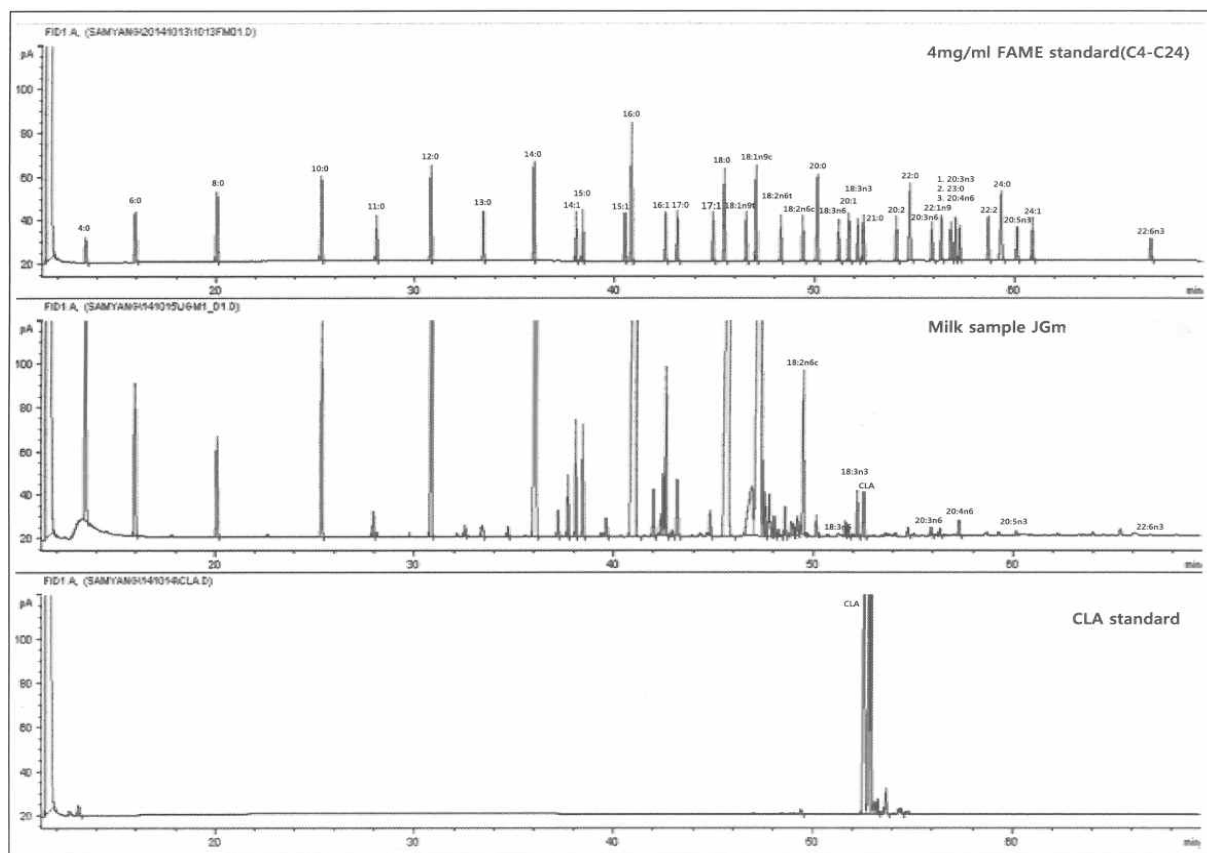


Fig. 1. Gas chromatogram of FAME standard, CLA and grass-fed milk.

(3) 비타민 B2 분석

우유의 비타민 B2를 분석하기 위하여 HPLC(LC-20A, Shimadzu Co., Tokyo, Japan)를 이용하였으며, 분석용 컬럼은 Luna C18 column (Phenomenex, Torrance, 10 μ m, 250 \times 4.6 mm)을 사용하였다. 분석에 이용한 이동상은 35% Methanol이 함유된 10 mM 이동용매는 isocratic 조건으로 20분간 컬럼을 통해 나오는 화합물을 fluorescence detector(Ex: 445nm, Em: 530nm)로 모니터링하며 분석을 실시하였다. 이동용매의 용출속도는 0.8 mL/min, 컬럼 오븐의 온도는 35 $^{\circ}$ C로 유지하였다. 비타민 B2를 측정하기 위하여 사용된 전처리는 식품공전의 고성능 액체크로마토그래피에 의한 정량방법을 기준으로 변형하여 사용하였다. 시료 1g을 H₂O 15 mL로 균질화한 후 70 $^{\circ}$ C 수욕상에서 잘 혼합하여 15분간 추출하였다. 추출액을 식힌 후 0.45 μ m syringe filter(Advantec, Tokyo, Japan)로 여과하여 시험용액으로 사용하였다. 표준물질을 이용한 HPLC chromatogram은 Fig. 2와 같다.

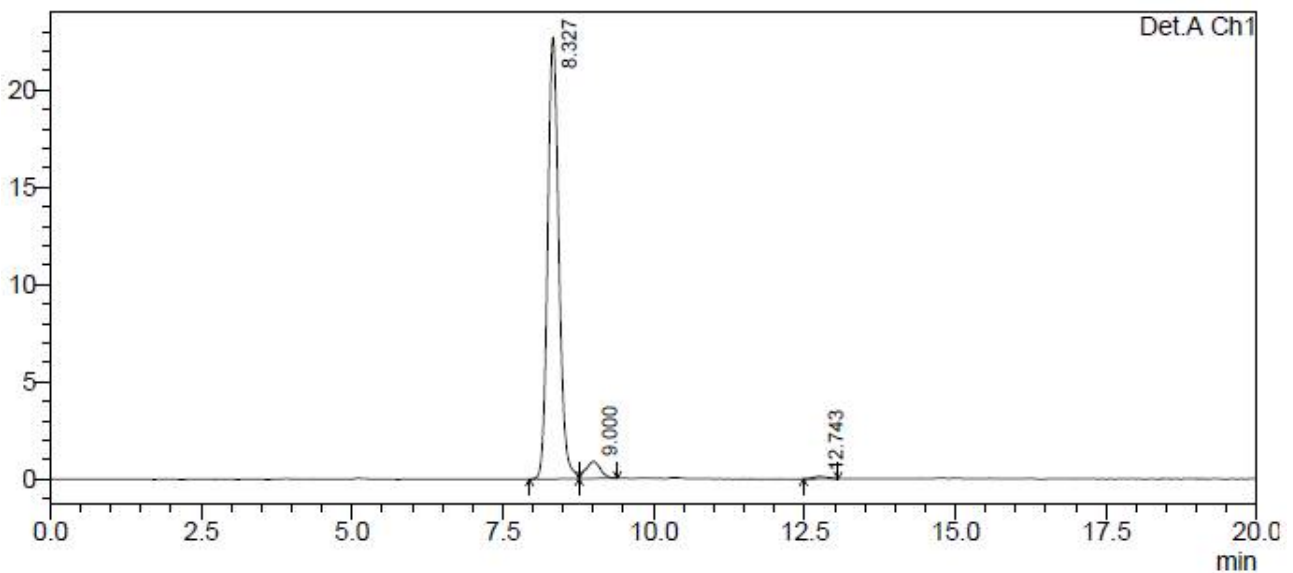


Fig. 2. HPLC chromatogram of vitamin B2

(4) 미네랄 분석

우유의 미네랄 분석을 위한 시료의 전처리는 식품공전의 습식 회화법을 이용하였다. 전처리 된 시료는 ICP-OES(OPTIMA 7300 DV, Perkinelmer)를 이용하여 분석하였으며, 각각의 미네랄은 칼슘(Ca) 317.93 nm, 나트륨(Na) 589.59 nm, 마그네슘(Mg) 285.21nm, 칼륨(K) 766.49 nm, 인(P) 213.62 nm, 아연(Zn) 206.20 nm 그리고 셀레늄(Se)은 196.03 nm 파장에서 측정하였다. ICP-OES 분석조건은 Table 2와 같다. 각 미네랄의 표준물질을 이용하여 검량선을 이용하여(Fig. 3.), 시료 내 미네랄 함량을 정량분석 하였다(Fig. 3.).

Table 2. Mineral component analysis conditions of ICP-OES

Parameters	Conditions
Instrument	ICP-OES(OPTIMA 7300 DV, Perkinelmer)
Mode	Radial Mode
Plasma	15 L/min
Auxiliary & Nebulizer	0.2 L/min & 0.65 L/min
RF Power	1300 W
Pump(Flow rate)	1.5 mL/min

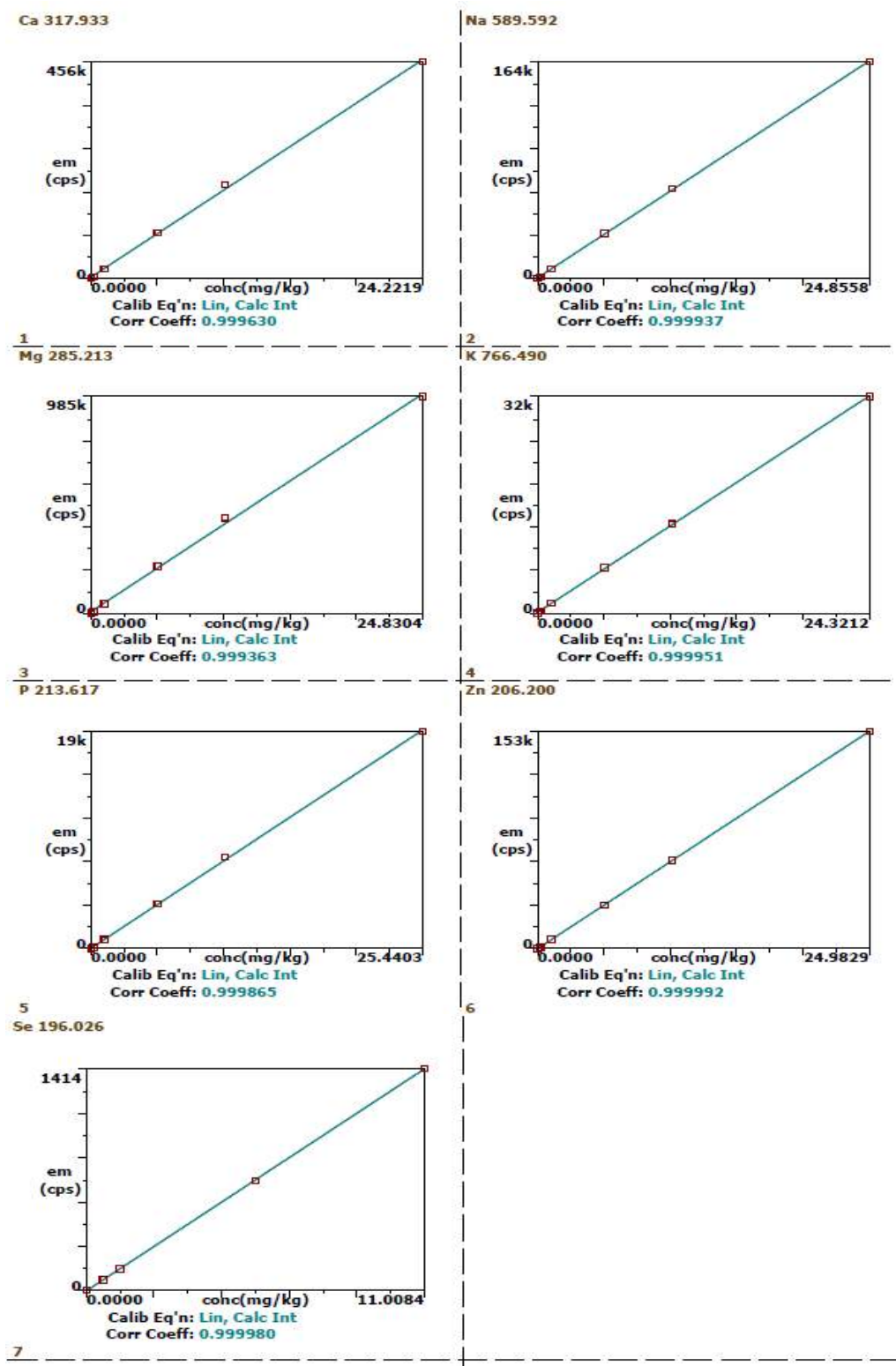


Fig. 3. standard curve of minerals

(5) 소비자 기호도 분석

우유에 대한 소비자의 인식을 알아보기 위해 총 7가지 문항을 제시하여 설문을 실시하였으며, 관능평가를 실시하기 위해 시판 UHT 우유, 시판 LTLT 우유, HPP 살균(580 MPa, 5 min) 일반우유 그리고 HPP 살균(580 MPa, 5 min) grass-fed 우유 총 4가지 시료를 이용하였다. 20-50대 60명을 대상으로 7점 척도법을 이용하여 평가하였으며, 평가항목은 우유의 비린 맛, 고소한 맛, 부드러운 맛, 풍미, 그리고 종합적 기호도로서 매우 좋다: 7점부터 매우 싫다 : 1점까지 총 7가지 항목으로 조사하였다. 시료는 50 mL 일회용 종이컵에 30 mL씩 담아 평가자 개인에게 제공하였고, 시료명은 난수표를 이용하여 추출된 숫자를 적용하여 평가자에게 제시하였다. 설문지 및 관능평가를 위한 평가지는 다음과 같다.

우유의 소비자 인식 및 기호도 조사

본 설문은 우유에 대한 인식을 알아보기 위해 실시하는 내용입니다. 귀하의 의견은 여러 사람의 의견을 종합하여 통계를 산출하는 데 사용되고, 이 외의 목적으로는 사용되지 않습니다. 신중한 답변 부탁드립니다.

1. 귀하의 성별에 ○ 표시를 해주십시오. (남 , 여)

2. 연령을 기재해 주십시오. (세)

3. 본인이 일주일 동안 섭취하는 우유의 양을 선택하여 주십시오.

- ① 거의 먹지 않는다 ② 200mL이하 ③ 500mL 이하 ④ 1L~2L ⑤ 2L 이상

4. 우유 구매 시 가장 먼저 고려하는 사항은 무엇입니까?

- ① 가격 ② 포장 ③ 맛 ④ 브랜드 ⑤ 기능성

5. 우유를 드시는 이유는 무엇입니까?

- ① 맛이 좋아서 ② 건강에 좋을 것 같아서 ③ 주위 권유에 의해서 ④ 기타()

6. 주로 마시는 우유 종류는 무엇입니까?(중복표기가능)

- ① 일반흰우유 ② 가공우유(딸기/초코/커피 등) ③ 저지방우유
④ 유기농우유 ⑤ 기능성우유(고칼슘, DHA우유 등)

7. 우유 살균종류에 대해 아는 대로 기입하여 주십시오(혹은 선호하는 살균종류가 있다면 기입하십시오).

<관능평가> - 시료에 대한 느낌을 가장 잘 표현하는 곳에 √표하여 주십시오.

1. 우유의 특유한 비린 맛의 느낌은?

	512	392	614	787
매우 좋다	()	()	()	()
보통 좋다	()	()	()	()
약간 좋다	()	()	()	()
좋지도 싫지도 않다	()	()	()	()
약간 싫다	()	()	()	()
보통 싫다	()	()	()	()
매우 싫다	()	()	()	()

2. 우유의 고소한 맛의 느낌은?

	512	392	614	787
매우 좋다	()	()	()	()
보통 좋다	()	()	()	()
약간 좋다	()	()	()	()
좋지도 싫지도 않다	()	()	()	()
약간 싫다	()	()	()	()
보통 싫다	()	()	()	()
매우 싫다	()	()	()	()

3. 우유의 부드러운 맛(목넘김 또는 식감)의 느낌은?

	512	392	614	787
매우 좋다	()	()	()	()
보통 좋다	()	()	()	()
약간 좋다	()	()	()	()
좋지도 싫지도 않다	()	()	()	()
약간 싫다	()	()	()	()
보통 싫다	()	()	()	()
매우 싫다	()	()	()	()

4. 우유의 향기(풍미)는 어떠한가?

	512	392	614	787
매우 좋다	()	()	()	()
보통 좋다	()	()	()	()
약간 좋다	()	()	()	()
좋지도 싫지도 않다	()	()	()	()
약간 싫다	()	()	()	()
보통 싫다	()	()	()	()
매우 싫다	()	()	()	()

5. 종합적인 기호도를 평가한다면?

	512	392	614	787
매우 좋다	()	()	()	()
보통 좋다	()	()	()	()
약간 좋다	()	()	()	()
좋지도 싫지도 않다	()	()	()	()
약간 싫다	()	()	()	()
보통 싫다	()	()	()	()
매우 싫다	()	()	()	()

(6) pH 및 적정산도 분석

원유 및 살균유의 pH는 pH meter(FiveEasy™ Plus, Mettler-Toledo, Switzerland)를 이용하여 측정하였다. 적정산도를 측정하기 위해 sample 10 g 을 취하여 증류수 10 mL를 가한 후 균질 하였고 이를 0.1N NaOH로 pH 8.3이 될 때까지 적정하여 이를 lactic acid양으로 환산하였다.

$$\text{Lactic acid(\%)} = \frac{0.1\text{N NaOH 소비량(mL)} \times 0.009}{\text{Sample (g)}} \times 100$$

(7) 미생물 분석

원유 및 살균처리(LTLT, HPP)된 시료를 각각 5°C와 10°C에서 14일 동안 저장하며 대장균군, 일반세균, 유산균 수를 측정하였다. 각 저장기간에 따라 시료 1 mL를 취하여 0.1% peptone(Difco, Sparks, MD, USA)용액 9 mL에 분주하고 10진 희석법으로 희석하여 분석시료를 준비하였다. 대장균군은 3M Petrifilm™ Aerobic count plates, 3M Petrifilm™ Coliform count plates (3M Co., St. Paul, MN, USA)에 분주하여 35°C에서 24시간 배양하였고, 일반세균의 경우 3M Petrifilm™ Aerobic count plates(3M Co., St. Paul, MN, USA)에 분주하여 35°C에서 48시간 배양하였다. 유산균 수는 BCP plate count(BCP) 배지(Eiken Chemical Co., Tochigi, Japan)에 분주하여 37°C에서 48시간 배양하였다. HPP 및 LTLT 살균시료의 14일 저장 후 병원성 미생물인 *Salmonella* spp. *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* O157:H7, *Staphylococcus aureus*, *Clostridium perfringens*의 분석을 위해 강원도가축위생연구소에 의뢰하여 검출여부를 확인하였다.

(8) 병원성미생물 분석

살모넬라균(*Salmonella* spp.) : 시료 1 mL에 9 mL buffered peptone water (BPW)를 가하여 36±1°C, 18-24시간 배양을 한 후 이 배양액을 2종류의 증균배지, 즉 10 mL의 tetrathionate(TT) broth에 배양액 1 mL를 첨가함과 동시에 10 mL의 Rappaport and Vassiliadis(RV) broth에 배양액 0.1 mL를 첨가하여 각각 36±1°C 및 42±0.5°C에서 20-24시간 동안 증균배양하였다. 각각의 증균 배양액을 brilliant green(BG) sulfa agar 및 xylose lysine deoxycholate(XLD) agar 도말한 후 36±1°C, 18-24시간 증균 배양하였다. BG sulfa agar에 도말한 시료는 분홍색-흰색 집락의 유무, XLD agar에 도말한 시료는 가운데가 검은 집락의 유무를 확인하였다.

리스테리아 모노사이토제네스(*Listeria monocytogenes*) : 시료 1 mL와 *Listeria* enrichment broth 9 mL를 혼합하여 30℃, 24±2시간 증균배양 후 배양액 0.1 mL에 fraser broth 9 mL를 가하여 35℃, 24-48시간 2차 증균배양을 실시한다. 증균된 배양액을 PALCAM agar에 도말을 하여 35±1℃, 48±2시간 배양하여 검은색 환이 있고 움푹 들어간 모양의 갈색/검은색 집락 유무를 확인한다.

대장균 O157:H7 (*Escherichia coli* O157:H7) : 시료 1 mL와 modified tryptone soya broth (mTSB)를 혼합하여 37℃, 18-24시간 증균배양한 후 배양액을 cfrifime tellurite-sorbitol macconkey (CT-SMAC) 과 CHROMagar O157에 도말하여 37℃, 24시간 배양하여 CT-SMAC에 도말한 시료는 무색 집락의 유무를 확인하고 CHROM agar에 도말한 시료는 엷은 자줏빛의 집락 유무를 확인한다.

황색포도상구균 (*Staphylococcus aureus*) : 시료 1 mL를 10% NaCl가 첨가된 tryptone soya broth(TSB) 9 mL와 혼합하여 37℃, 24시간 배양한 후 배양액을 Baird-parker agar에 도말하여 37℃, 24시간 배양한다. 배양된 집락에서 2-5mm 불투명한 환으로 둘러싸인 검정색 집락의 유무를 확인한다.

클로스트리디움 퍼프린젠스 (*Clostridium perfringens*) : 시료 1 mL을 10 mL cooked meat (CM) broth 아랫부분에 접종하여 36±1℃, 20±2시간 혐기적 조건에서 증균 배양 후 배양액을 Tryptose sulfite cycloserin(TSC) agar에 도말하여 36±1℃, 20±2시간 혐기적 조건에서 배양한다. 배양된 집락에서 불투명한 환을 가지는 황회색 집락의 유무를 확인한다.

다. 실험결과

(1) Grass-fed 젖소유래 자연친화적 우유의 영양학적 품질특성 연구결과

(가) Grass-fed 젖소유의 지방산 profile 분석

일반원유(CM) 및 grass-fed(GM) 원유를 LTLT 및 HPP A-F 살균 시 지방산 조성의 차이를 분석한 결과는 다음과 같다(Table 3, 4). 살균 처리(LTLT, HPP A-F)된 일반 및 grass-fed 우유의 지방산 조성은 각 원유의 지방산 조성과의 유의적인 차이를 나타내지 않았다. M. Carmen (2011) 등은 사람의 모유를 400-600 MPa 조건으로 HPP 처리하였을 때 아무 처리하지 않은 모유 및 LTLT 처리한 모유와 유의적인 차이를 나타내지 않음을 보고하였다. 본 연구에서는 550-600 MPa 조건으로 HPP 처리를 하였을 지방산 조성에 유의적인 차이가 나타나지 않아 M. Carmen (2011)의 보고내용과 유사한 결과임을 확인하였다. 따라서 원유를 고압살균에 의한 지방산 성분의 변화는 안정한 것으로 판단된다.

일반우유와 grass-fed 우유의 지방산 조성을 분석한 결과 포화지방산과 불포화지방산의 비율에서 차이를 나타내었다. 일반우유의 경우 포화지방산과 불포화지방산의 비율이 약 67, 33 %로 나타난 반면 grass-fed 우유의 경우에는 약 69.5, 30.5 %로 grass-fed 우유에서 포화지방산의 비율이 더 높게 나타났다. 특히 Grass-fed 우유의 포화지방산 중 butyric acid, caproic acid, caprylic acid, capric acid, lauric acid와 같은 단쇄 지방산(C4-14)의 비율이 증가한 반면, stearic acid와 같은 장쇄지방산(C18-24)의 경우에는 일반우유에 비해 지방산 비율이 감소하였다. 이는 grass의 종류에 따라 지방산 조성에 따른 차이로 사료된다.

Grass-fed유의 불포화 지방산의 경우 n3 : n6 비율이 약 1 : 3.6으로 일반우유의 약 1: 11.7과 확실한 차이를 보였다(Fig. 4). 특히 n-3 계열의 알파-리놀렌산(C18:3n3)이 우유의 총 지방산 조성에서 차지하는 비율이 grass-fed우유가 0.48 %로 일반우유의 0.23 %보다 약 2배 높았다. 또한 고도 불포화 지방산인 EPA(C20:5n3)와 DHA(C22:6n3) 비율에서도 미량이지만 grass-fed유에서 차지하는 비율이 더 높았다. Couvreur S (2006), Slots T (2009)는 grass를 급여하였을 때 CLA함량이 증가한다고 보고하였고 본 연구에서는 전체 지방산 중 CLA가 차지하는 비율이 grass-fed우유가 0.49 %로 일반우유 0.58 %에 비해 낮은 비율을 나타내었지만 이는 상대적인 비율을 측정된 값이며, chromatogram의 peak area 값은 grass-fed우유에서 더 높은 수준을 나타내 실제 CLA 함량은 grass-fed우유가 높을 것으로 사료된다. 이를 통해 grass의 종류 및 급여 여부에 따라 지방산 조성 및 함유량에 차이를 나

타낸다는 결과를 밝힐 수 있으며 grass-fed 우유는 영양학적으로 비교적 우수한 지방산함량을 가지는 것을 판단 할 수 있다.

Table 3. Changes in fatty acid compositions of control milk by different sterilize processing.

Free fatty acid	(% of total FAME)			
	Raw	LTLT	HPP A	HPP B
C4:0	2.62 ± 0.03	2.62 ± 0.03	2.62 ± 0.04	2.61 ± 0.05
C6:0	1.55 ± 0.01	1.55 ± 0.01	1.55 ± 0.01	1.55 ± 0.02
C8:0	0.90 ± 0.00	0.90 ± 0.00	0.90 ± 0.00	0.90 ± 0.00
C10:0	1.94 ± 0.01	1.94 ± 0.01	1.94 ± 0.01	1.94 ± 0.01
C12:0	2.68 ± 0.00	2.68 ± 0.01	2.67 ± 0.01	2.67 ± 0.01
C14:0	9.24 ± 0.01	9.25 ± 0.01	9.24 ± 0.02	9.24 ± 0.00
C14:1	0.74 ± 0.00	0.74 ± 0.00	0.74 ± 0.00	0.74 ± 0.00
C15:0	0.87 ± 0.00	0.87 ± 0.00	0.87 ± 0.00	0.87 ± 0.00
C16:0	29.61 ± 0.01	29.62 ± 0.02	29.63 ± 0.02	29.66 ± 0.04
C16:1	1.30 ± 0.00	1.30 ± 0.00	1.30 ± 0.00	1.30 ± 0.01
C17:0	0.59 ± 0.00	0.59 ± 0.00	0.59 ± 0.00	0.59 ± 0.00
C18:0	16.86 ± 0.01	16.85 ± 0.02	16.88 ± 0.01	16.87 ± 0.05
C18:1	27.04 ± 0.03	27.04 ± 0.05	27.02 ± 0.03	27.04 ± 0.03
C18:2(n6)	2.59 ± 0.00	2.59 ± 0.01	2.60 ± 0.00	2.56 ± 0.05
C20:0	0.22 ± 0.00	0.21 ± 0.00	0.22 ± 0.00	0.22 ± 0.00
C18:3(n6)	0.05 ± 0.00	0.05 ± 0.00	0.05 ± 0.00	0.05 ± 0.00
C18:3(n3)	0.23 ± 0.00	0.23 ± 0.00	0.23 ± 0.00	0.23 ± 0.00
CLA	0.58 ± 0.00	0.58 ± 0.00	0.58 ± 0.00	0.58 ± 0.00
C22:0	0.05 ± 0.00	0.05 ± 0.00	0.05 ± 0.00	0.05 ± 0.00
C20:3(n6)	0.14 ± 0.00	0.14 ± 0.00	0.14 ± 0.00	0.14 ± 0.00
C20:4(n6)	0.16 ± 0.00	0.16 ± 0.00	0.16 ± 0.00	0.16 ± 0.00
C24:0	0.03 ± 0.00	0.02 ± 0.00	0.02 ± 0.00	0.02 ± 0.00
C20:5(n3)	0.02 ± 0.00	0.02 ± 0.00	0.02 ± 0.00	0.02 ± 0.00
C22:6(n3)	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
SFA	67.15	67.15	67.17	67.18
USFA	32.85	32.85	32.83	32.82
CLA	0.58	0.58	0.58	0.58
n3 : n6	1 : 11.76	1 : 11.76	1 : 11.80	1 : 11.64

Table 4. Continue

	(% of total FAME)			
Free fatty acid	HPP C	HPP D	HPP E	HPP F
C4:0	2.61 ± 0.02	2.60 ± 0.01	2.59 ± 0.02	2.63 ± 0.03
C6:0	1.56 ± 0.00	1.55 ± 0.00	1.55 ± 0.00	1.57 ± 0.01
C8:0	0.90 ± 0.00	0.90 ± 0.00	0.90 ± 0.00	0.90 ± 0.00
C10:0	1.94 ± 0.00	1.94 ± 0.00	1.94 ± 0.01	1.95 ± 0.00
C12:0	2.67 ± 0.00	2.67 ± 0.00	2.67 ± 0.01	2.67 ± 0.00
C14:0	9.24 ± 0.01	9.25 ± 0.01	9.25 ± 0.00	9.24 ± 0.00
C14:1	0.74 ± 0.00	0.74 ± 0.00	0.74 ± 0.00	0.74 ± 0.00
C15:0	0.87 ± 0.00	0.87 ± 0.00	0.87 ± 0.00	0.87 ± 0.00
C16:0	29.61 ± 0.01	29.63 ± 0.00	29.62 ± 0.01	29.62 ± 0.01
C16:1	1.30 ± 0.00	1.30 ± 0.00	1.30 ± 0.00	1.30 ± 0.00
C17:0	0.59 ± 0.00	0.59 ± 0.00	0.59 ± 0.00	0.59 ± 0.00
C18:0	16.86 ± 0.02	16.88 ± 0.01	16.86 ± 0.02	16.85 ± 0.00
C18:1	27.05 ± 0.03	27.03 ± 0.02	27.05 ± 0.03	27.01 ± 0.06
C18:2(n6)	2.59 ± 0.01	2.59 ± 0.00	2.60 ± 0.01	2.59 ± 0.01
C20:0	0.22 ± 0.00	0.22 ± 0.00	0.22 ± 0.00	0.21 ± 0.00
C18:3(n6)	0.05 ± 0.00	0.05 ± 0.00	0.05 ± 0.00	0.05 ± 0.00
C18:3(n3)	0.23 ± 0.00	0.23 ± 0.00	0.23 ± 0.00	0.23 ± 0.00
CLA	0.58 ± 0.00	0.58 ± 0.00	0.58 ± 0.00	0.58 ± 0.00
C22:0	0.05 ± 0.00	0.05 ± 0.00	0.05 ± 0.00	0.05 ± 0.00
C20:3(n6)	0.14 ± 0.00	0.14 ± 0.00	0.14 ± 0.00	0.14 ± 0.00
C20:4(n6)	0.16 ± 0.00	0.16 ± 0.00	0.16 ± 0.00	0.16 ± 0.00
C24:0	0.02 ± 0.00	0.02 ± 0.00	0.02 ± 0.00	0.02 ± 0.00
C20:5(n3)	0.02 ± 0.00	0.02 ± 0.00	0.02 ± 0.00	0.02 ± 0.00
C22:6(n3)	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
SFA	67.14	67.17	67.14	67.19
USFA	32.86	32.83	32.86	32.81
CLA	0.58	0.58	0.58	0.58
n3 : n6	1 : 11.76	1 : 11.76	1 : 11.80	1 : 11.76

Table 5. Changes in fatty acid compositions of Grass-fed milk by different sterilize processing.

Free fatty acid	(% of total FAME)			
	Raw	LTLT	HPP A	HPP B
C4:0	3.03 ± 0.03	3.03 ± 0.03	3.00 ± 0.03	2.98 ± 0.04
C6:0	1.84 ± 0.02	1.84 ± 0.02	1.84 ± 0.02	1.84 ± 0.02
C8:0	1.10 ± 0.01	1.10 ± 0.01	1.10 ± 0.01	1.10 ± 0.01
C10:0	2.38 ± 0.00	2.37 ± 0.01	2.37 ± 0.01	2.37 ± 0.01
C12:0	4.19 ± 0.00	4.18 ± 0.01	4.18 ± 0.00	4.18 ± 0.00
C14:0	11.28 ± 0.01	11.26 ± 0.00	11.27 ± 0.01	11.27 ± 0.01
C14:1	0.94 ± 0.00	0.94 ± 0.00	0.94 ± 0.00	0.94 ± 0.00
C15:0	1.05 ± 0.00	1.05 ± 0.00	1.05 ± 0.00	1.05 ± 0.00
C16:0	30.21 ± 0.04	30.18 ± 0.01	30.19 ± 0.02	30.20 ± 0.04
C16:1	1.46 ± 0.00	1.47 ± 0.00	1.46 ± 0.00	1.46 ± 0.00
C17:0	0.68 ± 0.00	0.68 ± 0.00	0.68 ± 0.00	0.68 ± 0.00
C18:0	13.38 ± 0.03	13.40 ± 0.03	13.39 ± 0.02	13.39 ± 0.02
C18:1	25.10 ± 0.02	25.13 ± 0.03	25.15 ± 0.02	25.14 ± 0.01
C18:2(n6)	1.69 ± 0.01	1.69 ± 0.01	1.69 ± 0.00	1.69 ± 0.00
C20:0	0.26 ± 0.00	0.26 ± 0.00	0.26 ± 0.00	0.26 ± 0.00
C18:3(n6)	0.04 ± 0.00	0.04 ± 0.00	0.04 ± 0.00	0.04 ± 0.00
C18:3(n3)	0.48 ± 0.00	0.48 ± 0.00	0.48 ± 0.00	0.48 ± 0.00
CLA	0.49 ± 0.00	0.49 ± 0.00	0.49 ± 0.00	0.49 ± 0.00
C22:0	0.09 ± 0.00	0.09 ± 0.00	0.09 ± 0.00	0.09 ± 0.00
C20:3(n6)	0.09 ± 0.00	0.09 ± 0.00	0.09 ± 0.00	0.09 ± 0.00
C20:4(n6)	0.14 ± 0.00	0.14 ± 0.00	0.15 ± 0.00	0.15 ± 0.00
C24:0	0.04 ± 0.00	0.04 ± 0.00	0.04 ± 0.00	0.04 ± 0.00
C20:5(n3)	0.05 ± 0.00	0.05 ± 0.00	0.05 ± 0.00	0.05 ± 0.00
C22:6(n3)	0.01 ± 0.00	0.01 ± 0.00	0.01 ± 0.00	0.01 ± 0.00
SFA	69.51	69.47	69.45	69.45
USFA	30.49	30.53	30.55	30.55
CLA	0.49	0.49	0.49	0.49
n3 : n6	1 : 3.57	1 : 3.63	1 : 3.65	1 : 3.65

Table 6. Continue

Free fatty acid	(% of total FAME)			
	HPP C	HPP D	HPP E	HPP F
C4:0	2.98 ± 0.06	2.97 ± 0.05	2.99 ± 0.02	2.97 ± 0.07
C6:0	1.85 ± 0.02	1.84 ± 0.02	1.86 ± 0.01	1.85 ± 0.02
C8:0	1.10 ± 0.01	1.10 ± 0.01	1.10 ± 0.00	1.10 ± 0.01
C10:0	2.38 ± 0.01	2.37 ± 0.00	2.38 ± 0.00	2.37 ± 0.01
C12:0	4.19 ± 0.01	4.18 ± 0.00	4.18 ± 0.00	4.19 ± 0.00
C14:0	11.30 ± 0.03	11.27 ± 0.01	11.27 ± 0.00	11.28 ± 0.01
C14:1	0.94 ± 0.00	0.94 ± 0.00	0.94 ± 0.00	0.94 ± 0.00
C15:0	1.05 ± 0.00	1.05 ± 0.00	1.05 ± 0.00	1.05 ± 0.00
C16:0	30.23 ± 0.06	30.21 ± 0.04	30.19 ± 0.01	30.22 ± 0.05
C16:1	1.46 ± 0.00	1.46 ± 0.00	1.46 ± 0.00	1.46 ± 0.00
C17:0	0.68 ± 0.00	0.68 ± 0.00	0.68 ± 0.00	0.68 ± 0.00
C18:0	13.36 ± 0.03	13.39 ± 0.02	13.38 ± 0.00	13.38 ± 0.03
C18:1	25.11 ± 0.03	25.14 ± 0.01	25.13 ± 0.02	25.13 ± 0.02
C18:2(n6)	1.69 ± 0.01	1.69 ± 0.00	1.69 ± 0.00	1.68 ± 0.00
C20:0	0.26 ± 0.00	0.26 ± 0.00	0.26 ± 0.00	0.26 ± 0.00
C18:3(n6)	0.04 ± 0.00	0.04 ± 0.00	0.04 ± 0.00	0.04 ± 0.00
C18:3(n3)	0.48 ± 0.00	0.48 ± 0.00	0.48 ± 0.00	0.48 ± 0.00
CLA	0.49 ± 0.00	0.49 ± 0.00	0.49 ± 0.00	0.49 ± 0.00
C22:0	0.09 ± 0.00	0.09 ± 0.00	0.09 ± 0.00	0.09 ± 0.00
C20:3(n6)	0.09 ± 0.00	0.09 ± 0.00	0.09 ± 0.00	0.09 ± 0.00
C20:4(n6)	0.14 ± 0.00	0.15 ± 0.00	0.14 ± 0.00	0.14 ± 0.00
C24:0	0.04 ± 0.00	0.04 ± 0.00	0.04 ± 0.00	0.04 ± 0.00
C20:5(n3)	0.05 ± 0.00	0.05 ± 0.00	0.05 ± 0.00	0.05 ± 0.00
C22:6(n3)	0.01 ± 0.00	0.01 ± 0.00	0.01 ± 0.00	0.01 ± 0.00
SFA	69.51	69.46	69.48	69.48
USFA	30.49	30.54	30.52	30.52
CLA	0.49	0.49	0.49	0.49
n3 : n6	1 : 3.61	1 : 3.65	1 : 3.65	1 : 3.61

HPP A; high pressure processing at 550MPa for 3min, HPP B; high pressure processing at 550MPa for 5min, HPP C; high pressure processing at 580MPa for 3min, HPP D; high pressure processing at 580MPa for 5min, HPP E;

high pressure processing at 600MPa for 3min, HPP F; high pressure processing condition at 600MPa for 5min.

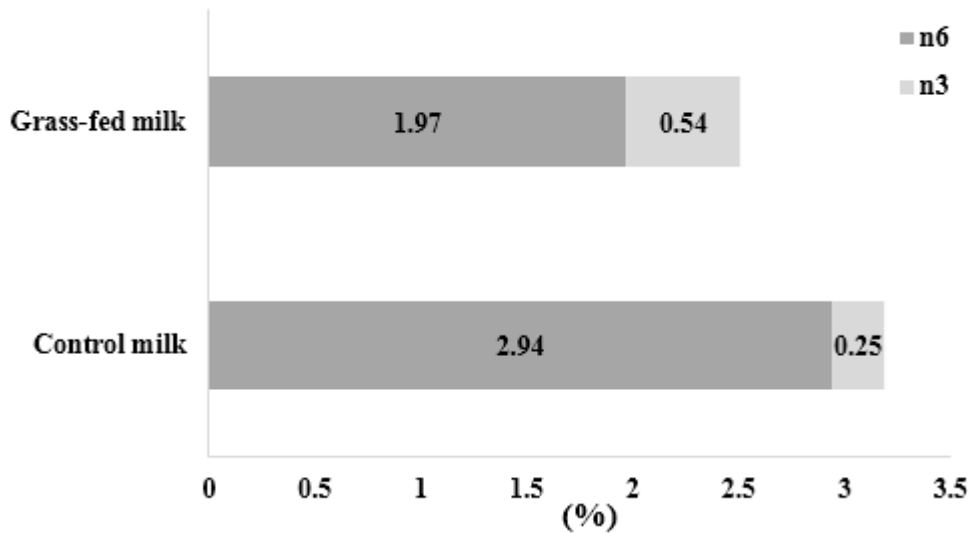


Fig. 4. n-3 : n-6 ratio analysis of grass-fed milk

(2) Grass-fed 젖소유래 이화학적 품질특성 분석결과

(가) 비타민 B2 분석

원유의 저장기간 중 저장 1일차와 저장 14일차의 비타민 B2를 HPLC(LC-20A, Shimadzu Corp., Tokyo, Japan)를 이용하여 분석한 결과 일반우유(CM) 1일차 5℃ 원유의 비타민 B2함량은 1.21 ± 0.02 mg/dl, LTLT 살균유의 비타민 B2함량은 1.19 ± 0.01 mg/dl, 6000 bar, 5min 조건에서의 HPP 처리유의 비타민 B2함량은 1.15 ± 0.03 mg/dl로 분석되었다. 10℃의 원유의 비타민 B2함량은 1.23 ± 0.01 mg/dl, LTLT 살균유의 비타민 B2함량은 1.11 ± 0.02 mg/dl, 6000 bar, 5min 조건에서의 HPP 처리유의 비타민 B2함량은 1.12 ± 0.1 mg/dl로 분석되었다. 일반우유(CM)의 저장 14일차 5℃ 원유의 비타민 B2함량은 1.41 ± 0.02 mg/dl, LTLT 살균유의 비타민 B2함량은 1.27 ± 0.01 mg/dl, 6000 bar, 5min 조건에서의 HPP 처리유의 비타민 B2함량은 1.24 ± 0.09 mg/dl로 분석되었다. 10℃의 원유의 비타민 B2함량은 1.27 ± 0.03 mg/dl, LTLT 살균유의 비타민 B2함량은 1.22 ± 0.07 mg/dl, 6000 bar, 5min 조건에서의 HPP 처리유의 비타민 B2함량은 1.28 ± 0.06 mg/dl로 분석되었다. Grass-fed 우유(GM) 1일차 5℃ 원유의 비타민 B2함량은 1.37 ± 0.46 mg/dl, LTLT 살균유의 비타민 B2함량은 1.25 ± 0.19 mg/dl, 6000 bar, 5min 조건에서의 HPP 처리유의 비타민 B2함량은 1.24 ± 0.12 mg/dl로 분석되었다. 10℃ 원유의 비타민 B2함량은

1.33±0.26 mg/dl, LTLT 살균유의 비타민 B2함량은1.28±0.23 mg/dl, 6000 bar, 5min 조건에서의 HPP 처리유의 비타민 B2함량은 1.24±0.11 mg/dl으로 분석되었다. Grass-fed 우유(GM)의 저장 14일차 5℃ 원유의 비타민 B2함량은 1.31±0.05 mg/dl, LTLT 살균유의 비타민 B2함량은 1.19±0.11 mg/dl, 6000 bar, 5min 조건에서의 HPP 처리유의 비타민 B2함량은 1.19±0.12 mg/dl으로 분석되었다. 10℃ 원유의 비타민 B2함량은 1.21±0.09 mg/dl, LTLT 살균유의 비타민 B2함량은1.13±0.06 mg/dl, 6000 bar, 5min 조건에서의 HPP 처리유의 비타민 B2함량은 1.37±0.12 mg/dl으로 분석되었다. 본 연구 결과 HPP 살균 처리 및 저장기간에 따른 비타민 B2 함량은 차이를 나타내지 않았다.

Table 7. Vitamin B₂ analysis of grass-fed milk.

Treatment		Concentration of vitamins B ₂ (mg/dl)				
		Control milk		Grass-fed milk		
		day 1	day 14	day1	day 14	
5℃	Raw milk	1.21±0.02	1.41±0.02	1.37±0.46	1.31±0.05	
	LTLT	1.19±0.01	1.27±0.01	1.25±0.19	1.19±0.11	
	550MPa	3min	1.18±0.02	1.33±0.05	1.16±0.31	1.22±0.09
		5min	1.22±0.04	1.28±0.03	1.22±0.31	1.24±0.07
	580MPa	3min	1.20±0.01	1.28±0.08	1.17±0.25	1.14±0.10
		5min	1.09±0.04	1.28±0.03	1.18±0.12	1.05±0.03
	600MPa	3min	1.33±0.04	1.30±0.07	1.22±0.24	1.14±0.09
		5min	1.15±0.03	1.24±0.09	1.24±0.12	1.19±0.12
	10℃	Raw milk	1.23±0.01	1.27±0.03	1.33±0.26	1.21±0.09
		LTLT	1.11±0.02	1.22±0.07	1.28±0.23	1.13±0.06
550MPa		3min	1.30±0.02	1.19±0.02	1.18±0.19	1.09±0.09
		5min	1.26±0.04	1.19±0.02	1.18±0.15	1.11±0.03
580MPa		3min	1.27±0.03	1.20±0.06	1.25±0.09	1.30±0.24
		5min	1.17±0.04	1.29±0.04	1.17±0.08	1.30±0.05
600MPa		3min	1.16±0.03	1.30±0.04	1.24±0.11	1.39±0.12
		5min	1.12±0.1	1.28±0.06	1.24±0.11	1.37±0.12

(나) 미네랄 분석

HPP(high pressure processing)처리한 일반 및 grass-fed 우유의 7가지 미네랄 함량(Ca, Na, Mg, K, P, Zn, Se)을 분석한 결과는 Table 8, 9와 같다. 일반 및 grass-fed 원유의 미네랄 함량은 칼륨(K)이 약 130 mg/dl로 7가지 분석 항목 중 가장 높은 함량을 나타내었으며, 다음으로 칼슘(Ca)이 약 82-86 mg/dl, 인(P) 함량이 약 64-71 mg/dl로 높게 나타났다. 일반원유와 grass-fed원유는 살균처리에 따라 미네랄 함량이 감소하는 경향을 나타내었고, HTST(high temperature short time) 처리구보다 550 MPa 조건에서 HPP(high pressure processing) 처리한 경우 미네랄 함량이 유의적으로 감소하는 것으로 분석되었다. 특히 550MPa에서 HPP 처리했을 때 칼슘함량이 약 5-10 mg/dl, 칼륨함량이 약 10-12 mg/dl, 인 함량이 9-10 mg/dl 수준으로 감소하여 모든 처리구 중 가장 낮은 함량을 나타내었다. 그리고 일반우유 및 grass-fed 우유에서 셀레늄(Se)는 검출되지 않았다.

Table 8. An analysis of mineral components with high pressure processing sterilized control milk

구분	mg/100mL			
	Raw	HTST	HPP	
			550 MPa/3 min	550 MPa/5 min
Ca	85.96 ^d ± 0.57	84.76 ^c ± 0.42	78.58 ^b ± 0.55	76.84 ^a ± 0.34
Na	35.27 ^b ± 0.40	35.00 ^b ± 0.17	32.56 ^a ± 0.38	32.49 ^a ± 0.20
Mg	9.16 ^b ± 0.11	9.07 ^b ± 0.06	8.28 ^a ± 0.02	8.34 ^a ± 0.03
K	129.80 ^c ± 1.23	127.88 ^b ± 0.52	117.87 ^a ± 0.28	117.59 ^a ± 0.49
P	71.06 ^c ± 0.15	70.62 ^c ± 0.59	62.80 ^b ± 0.38	61.14 ^a ± 0.27
Zn	0.35 ^b ± 0.01	0.33 ^{ab} ± 0.01	0.30 ^a ± 0.00	0.31 ^a ± 0.01
Se	ND	ND	ND	ND

Table 9. An analysis of mineral components with high pressure processing sterilized grass-fed milk

구분	Raw	HTST	mg/100mL	
			HPP 550 MPa	
			3 min	5 min
Ca	81.61 ^d ± 0.42	79.64 ^c ± 1.04	77.74 ^b ± 0.32	75.58 ^a ± 0.68
Na	29.38 ^b ± 0.25	28.71 ^b ± 0.48	28.75 ^b ± 0.51	27.11 ^a ± 0.62
Mg	8.43 ^c ± 0.08	8.25 ^{bc} ± 0.16	8.11 ^b ± 0.03	7.71 ^a ± 0.18
K	129.06 ^d ± 0.28	125.01 ^c ± 1.21	121.79 ^b ± 0.94	118.65 ^a ± 0.60
P	64.50 ^d ± 0.51	60.94 ^c ± 0.35	57.92 ^b ± 0.89	55.42 ^a ± 0.57
Zn	0.31 ^b ± 0.00	0.31 ^b ± 0.01	0.32 ^b ± 0.02	0.28 ^a ± 0.01
Se	ND	ND	ND	ND

(다) 소비자 기호도 분석

HPP 처리한 일반우유 및 grass-fed 우유의 소비자 기호도 분석 결과는 Fig. 5에 나타내었다. 580 MPa(5 min)에서 HPP처리한 grass-fed 및 일반우유의 소비자 기호도 분석 결과, 부드러운 맛을 제외한 나머지 항목에서 grass-fed 우유가 일반우유보다 높은 점수를 얻었다. 그리고 시중에 판매되고 있는 UHT시유는 종합적 기호도를 포함한 모든 평가항목에서 4 종류의 우유 중 가장 높은 점수를 받은 반면, LTLT 유는 가장 낮은 점수를 나타내었다. 이는 시장점유율도 높으며 소비자들의 인지도가 높아 관능적으로 익숙한 맛을 지닌 UHT 시판우유의 특징으로 해석해 볼 수 있다. 반면 저온장시간 살균 처리한 LTLT 시판우유는 종합적 기호도를 포함하여 모든 평가항목에서 가장 낮은 점수를 받아 4가지 종류의 우유 중 가장 낮은 점수를 받았다. 이는 LTLT살균 시 발생하는 특유의 가열취와 풍미가 소비자들이 느끼기에 익숙하지 않은 것으로 사료된다. 결과적으로 판단해볼 때, grass-fed원유를 토대로 HPP(580 MPa, 5 min) 살균 처리한 우유가 4종류의 실험군중에 2번째로 우수한 평가를 받았으며 소비자들의 입맛에 거부감 없이 다가갈 수 있을 것으로 판단된다.

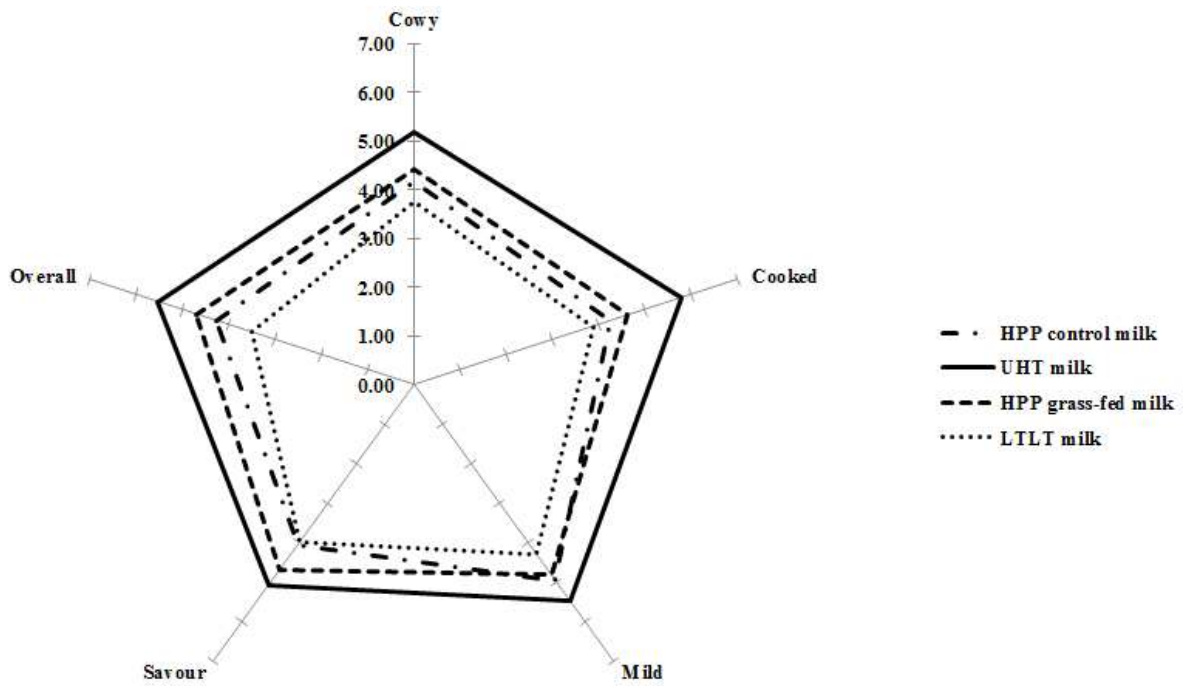


Fig. 5. Consumer acceptance of different sterilize treated milk. HPP control milk; CM by high pressure processing at 580MPa for 5min, UHT milk; purchased in stores. HPP grass-fed milk; GM by high pressure processing at 580 MPa for 5min. LTLT milk; purchased in stores.

(라) pH 및 적정산도

일반우유와 grass-fed우유의 저장기간에 따른 pH 및 적정산도 변화는 다음과 같다 (Fig. 6, 7.). 5 °C 저장(A,C)의 경우 일반 및 grass-fed원유의 pH는 저장 1일차 6.8에서 저장 14일차 6.5-6.6까지 떨어지는 경향을 나타낸 반면 LTLT 및 HPP 살균유의 pH는 저장 1일부터 14일까지 6.8 이상의 수준을 유지하였다. 10 °C 저장(B,D)의 경우에는 일반 및 grass-fed원유의 pH가 저장 14일차 5.7-5.8로 저장 5 °C 에 비해 급격하게 떨어졌으며, LTLT 및 HPP 살균유의 경우에도 pH가 약 6.7수준까지 감소하는 경향을 보였다.

저장기간 중 적정산도의 결과는 pH의 결과와 유사한 경향을 나타내었다(Fig. 8, 9.). 10 °C에서 저장한 일반 및 grass-fed 원유는 저장 7일차를 기점으로 산도가 급격하게 증가하는 것으로 나타났으며, LTLT 및 HPP 살균 처리한 우유는 저장기간 동안 0.14-0.16 %의 산도를 유지하였다. pH 및 산도의 결과를 종합하였을 때 pH와 산도변화는 모든 실험군에서 10 °C에서 저장할 때 급격하게 증가하는 경향을 나타내었으며, 모든 살균우유의 경우에는 온도 및 원유종류에 관계없이 안정한 상태를 유지하였다. 축산물 가공기준 및 성분규격에 의하면 신선한 우유의 산도는 젖산을 기준으로 0.18% 이하로 고시되어 있어 본 연구에서 살균 처리한 우유는 축산물 성분규격에 적합한 것으로 판단된다.

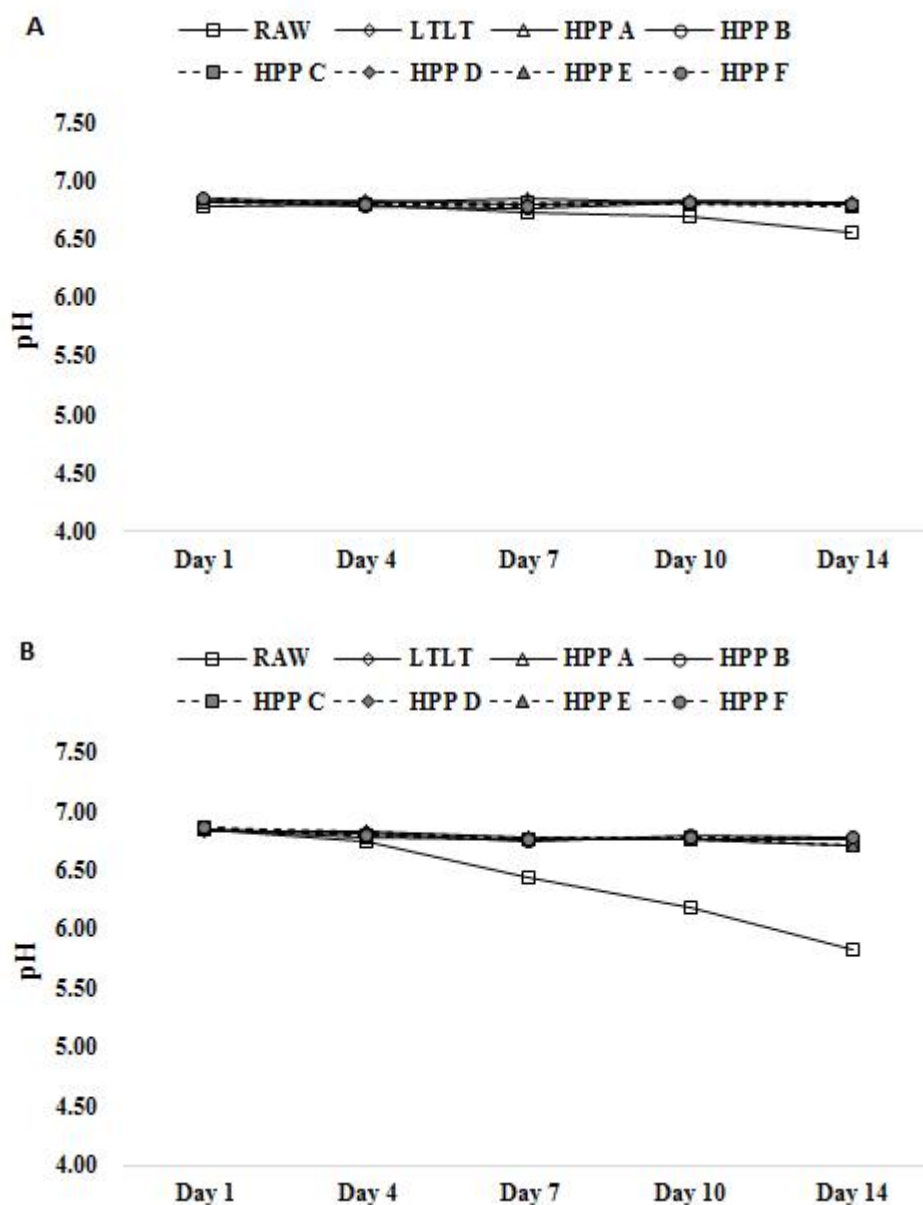


Fig. 6. Changes in pH of high pressure treated conventional control milk by different sterilize conditions during storage periods. A: storage at 5°C, B: storage at 10°C, HPP A: high pressure processing at 550MPa for 3min, HPP B: high pressure processing at 550MPa for 5min, HPP C: high pressure processing at 580MPa for 3min, HPP D: high pressure processing at 580MPa for 5min, HPP E: high pressure processing at 600MPa for 3min, HPP F: high pressure processing condition at 600MPa for 5min.

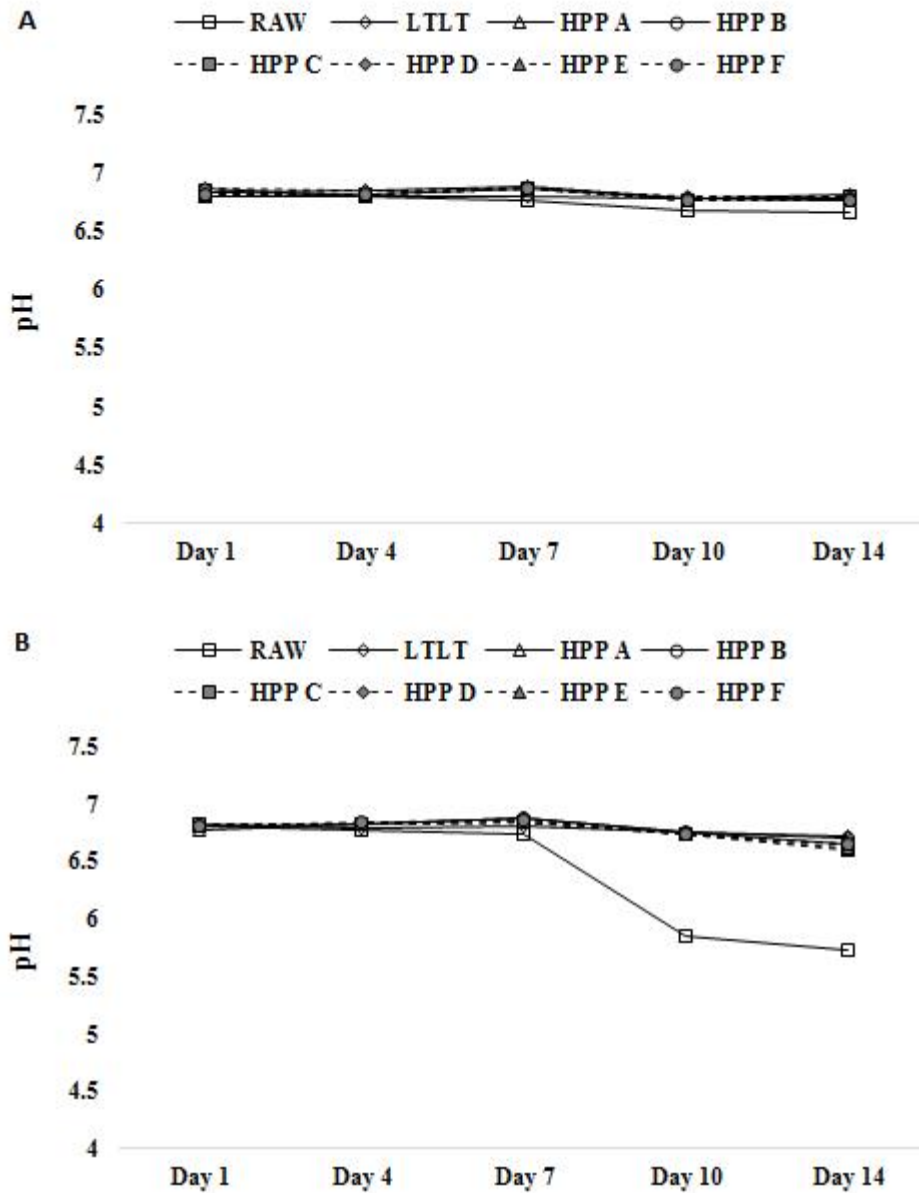


Fig. 7. Changes in pH of high pressure treated grass-fed milk by different sterilize conditions during storage periods. A: storage at 5°C, B: storage at 10°C, HPP A: high pressure processing at 550MPa for 3min, HPP B: high pressure processing at 550MPa for 5min, HPP C: high pressure processing at 580MPa for 3min, HPP D: high pressure processing at 580MPa for 5min, HPP E: high pressure processing at 600MPa for 3min, HPP F: high pressure processing condition at 600MPa for 5min.

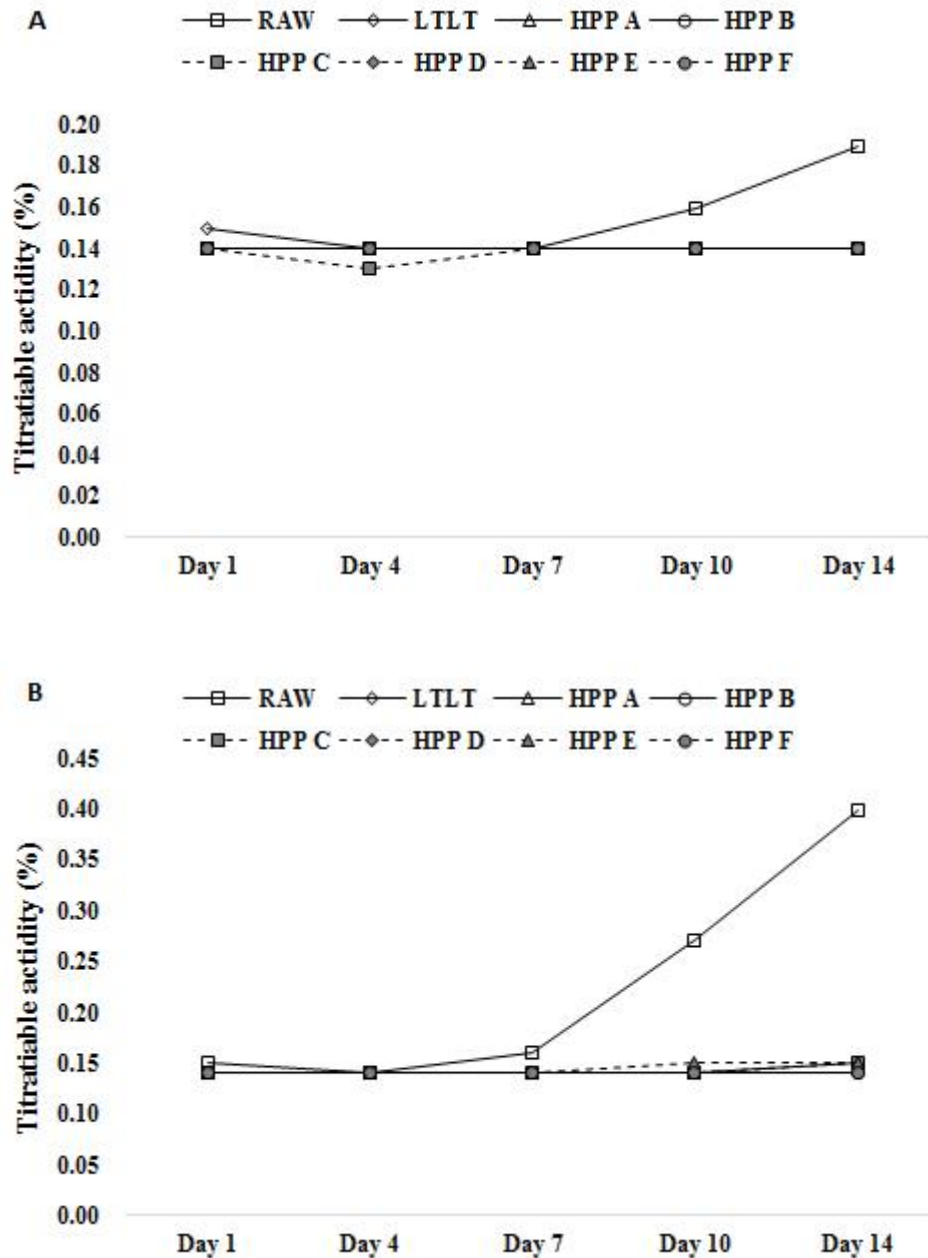


Fig. 8. Changes in titratable acidity of high pressure treated conventional control milk by different sterilize conditions during storage periods. (A) storage at 5°C, (B) storage at 10°C, HPP A; high pressure processing at 550MPa for 3min, HPP B; high pressure processing at 550MPa for 5min, HPP C; high pressure processing at 580MPa for 3min, HPP D; high pressure processing at 580MPa for 5min, HPP E; high pressure processing at 600MPa for 3min, HPP F; high pressure processing condition at 600MPa for 5min.

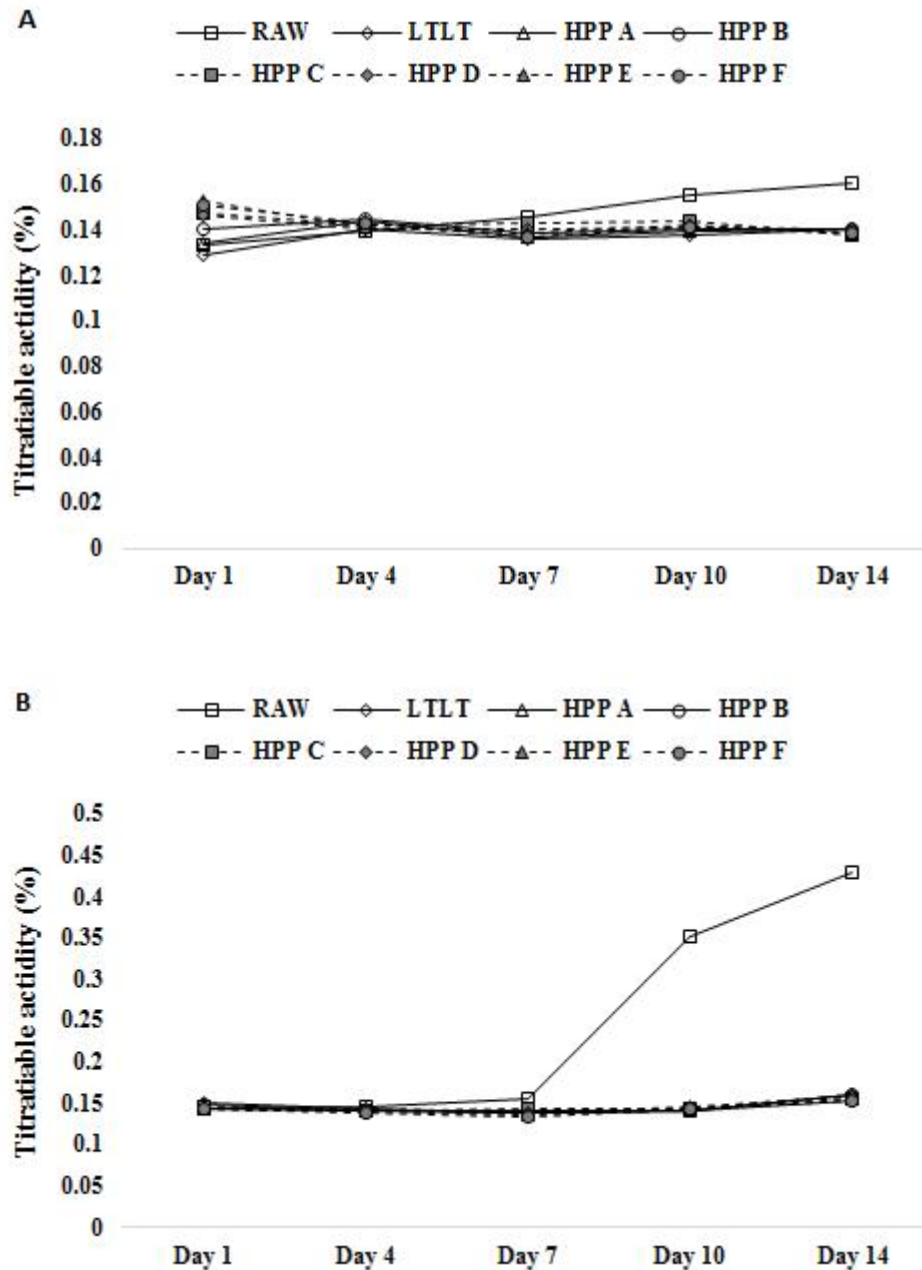


Fig. 9. Changes in titratable acidity of high pressure treated grass-fed milk by different sterilize conditions during storage periods. (A) storage at 5°C, (B) storage at 10°C, HPP A; high pressure processing at 550MPa for 3min, HPP B; high pressure processing at 550MPa for 5min, HPP C; high pressure processing at 580MPa for 3min, HPP D; high pressure processing at 580MPa for 5min, HPP E; high pressure processing at 600MPa for 3min, HPP F; high pressure processing condition at 600MPa for 5min.

(마) 미생물 분석 결과

원유, LTLT 및 HPP 살균 처리한 우유의 5°C, 10°C에서 14일간 저장하며 대장균군, 일반세균, 비피더스 그리고 유산균 수의 변화를 측정하였다(Fig. 10-17.). 살균처리 하지 않은 일반원유 및 grass-fed 원유에서 저장 1일차 대장균군은 검출되지 않았지만 저장기간이 지남에 따라 증가하는 것을 확인하였으며, 저장 14일차에는 각각 5°C 저장의 경우 6.1, 6.5 Log CFU/mL, 10°C 저장의 경우 8.4, 10.1 Log CFU/mL 로 증가하는 경향을 나타냈다. LTLT 및 HPP(Fig. 10, 11.) 처리구의 저장기간 중 대장균군은 저장온도에 관계없이 검출되지 않은 것으로 나타났다. 이에 따라 비가열 초고압살균 처리(550-600MPa)에 의해 대장균군이 효과적으로 제어된 것을 확인할 수 있었다.

일반세균의 경우, 5°C 저장 1일차 일반원유에서 3.3 Log CFU/mL로 나타났으며, LTLT 및 HPP(Fig. 12.) 처리구의 경우 약 1.6-1.9 Log CFU/mL로 살균하지 않은 원유에 비해 약 1.5 Log CFU/mL 감소하였다. 또한 저장 7일차 이후 LTLT 및 HPP(Fig. 12.) 처리구의 일반세균 수는 원유에 비하여 약 7.0 Log CFU/mL의 감소효과를 유지하였다.

Grass-fed우유를 5°C에서 저장하며 일반세균의 증가를 분석한 결과 LTLT 및 HPP 살균 처리한 일반우유와 유사한 경향으로 나타났으며, 저장 7일차 이후 LTLT 및 HPP(Fig. 13., A-F) 처리구의 일반세균 수는 3.0 Log CFU/mL 미만으로 검출되어 grass-fed 원유에 비해 약 4.2 Log CFU/ml 낮은 수준을 유지하였다. 그리고 HPP 처리구 중 HPP F(600 MPa, 5 min)의 경우 저장 1, 14일차 일반세균 수가 각각 1.7, 1.8 Log CFU/mL(CM), 1.9, 2.2 Log CFU/mL(GM)로 저장기간 동안 HPP 처리구 중 가장 낮은 수준의 미생물 수를 나타내었으며, 이는 LTLT 처리구의 1.6, 1.8 Log CFU/mL(CM), 2.2, 2.3 Log CFU/mL(GM)와 유사한 살균효과로 판단해 볼 수 있다. 10°C 저장 시 원유 및 LTLT, HPP 살균처리 우유의 경우 일반세균 수는 저장 7일차 이후 증가하는 것으로 나타내었다. 일반원유와 grass-fed 원유는 저장 14일차 일반세균 수가 각각 13.6, 10.7 Log CFU/mL로 5°C 저장 시 일반세균 수보다 현저히 높게 나타났으며, LTLT 및 HPP(Fig. 12, 13.) 살균 처리한 우유 또한 저장기간 중 일반세균이 약 4-6 Log CFU/mL 이상 증가하는 경향을 나타내었다. 일반우유에서 HPP A(550 MPa, 3 min)는 HPP 처리구 중 일반세균 수가 가장 높았으며, 저장 14일차에는 7.8 Log CFU/mL로 LTLT 5.4 Log CFU/mL에 비해 2.4 Log CFU/mL 높은 수준을 나타냈다. Grass-fed우유의 HPP A(550 MPa, 3 min)도 일반우유와 마찬가지로 저장 14일차에 8.6 Log CFU/mL로 LTLT 7.6 Log CFU/mL보다 높았다. 반면, 일반우유와 grass-fed우유의 HPP F(600 MPa, 5 min) 살균 처리구는 저장 14일차 일반세균 수가 각각 5.7, 7.3 Log CFU/mL로 LTLT 처리구와 유사한 살균효과를 나타내었다. Thom *et al.*(2006)은 원유를

600 MPa 조건에서 처리하였을 때 일반세균의 수가 4.0 Log CFU/mL 이상 감소한다고 보고하였고, Lee *et al.*(2014)은 600 MPa 조건에서 일반세균의 수가 2-3 Log CFU/mL 수준 감소한다고 하였다. 본 연구에서는 550-600 MPa 조건에서 일반세균이 4-8 Log CFU/mL 수준의 감소효과가 나타났으며, 600 MPa 조건에서의 살균효과가 가장 우수하였다. 또한 600 MPa 조건에서 5분(HPP F)동안 처리하였을 때의 살균효과는 LTLT 처리구와 유사한 살균효과를 나타내었다. Choi *et al.*(2014)의 결과와 살균효과에서 약간의 차이를 나타낸 것은 샘플의 초기오염도 차이, 시험에 사용한 용기, 그리고 외부 환경차이 등에 의한 것으로 사료된다. 본 연구의 결과에서는 원유를 600MPa 압력에서 5분 간 처리하는 것이 가장 미생물 제어 효과가 우수한 것으로 판단된다.

비피더스균의 경우 5°C 저장 일반원유는 저장 1일차에 2.2 Log CFU/mL로 나타났으며, 저장기간 중 증가하여 저장 14일차에는 5.7 Log CFU/mL로 분석되었다. LTLT 및 HPP 살균 처리한 일반우유의 경우 저장 14일 동안 비피더스균이 검출되지 않았다. grass-fed 원유의 경우 저장 1일차 비피더스균이 2.5 Log CFU/mL로 검출되었으며, 저장기간 중 증가하여 저장 14일차에 6.3 Log CFU/mL로 나타났고, LTLT 살균 처리한 grass-fed 우유는 저장기간 중 비피더스균이 검출되지 않았다. 반면 550 MPa 압력에서 3분(HPP A), 580 MPa 압력에서 3분(HPP C)간 살균 처리한 grass-fed 우유는 저장 10일차 까지 비피더스균이 검출되지 않았으나 저장 14일차에는 약 2.5 Log CFU/mL로 검출되었다. Grass-fed 원유는 일반원유에 비해 저장 초기부터 비피더스균이 더 많았으며 이러한 초기 오염도 차이에 의해 grass-fed HPP A 및 C 살균 처리구는 저장 14일차에 비피더스균이 검출된 것으로 판단된다. 10°C에서 저장한 일반원유 및 grass-fed 원유는 저장기간 중 비피더스균이 증가하였으며, 일반원유와 grass-fed 원유를 LTLT 및 HPP(A-F) 살균 처리했을 때 저장기간이 지남에 따라 비피더스균이 급격하게 증가하여 저장 14일차에는 원유와 비슷한 수준으로 검출되어 5°C 저장 시 결과와 상반된 결과로 분석되었다.

5°C 저장 시 유산균의 경우 일반원유 및 grass-fed 원유는 저장기간 중 약 3-4 Log CFU/mL 증가하였고 LTLT 처리구는 저장기간 중 검출되지 않았다. HPP 처리한 일반우유의 경우 550, 580MPa 압력에서 각각 3분 또는 5 분간 처리한 처리구(HPP A-D)는 저장 초기에 유산균이 검출되지 않았지만, 저장 7일차 이후 증가하여 저장 14일차에는 2.0 Log CFU/mL 이상 검출되었다. 반면 600MPa 조건에서는 저장기간 중 유산균이 검출되지 않았다. HPP 처리한 grass-fed 우유의 경우에는 HPP A(550 MPa, 3min)에서 저장 10일차 이후 유산균이 2.0 Log CFU/mL 이상 증가하였고, 나머지 HPP 처리구에서는 유산균이 검출되지 않았다. 일반우유는 HPP A-D 처리구에서 유산균이 검출된 반면 grass-fed 우유는 HPP A 처리

구만 유산균이 검출되었는데, 이는 초기 원유의 오염정도에 의한 것으로 사료된다. 10℃ 저장 시 일반원유 및 grass-fed원유의 유산균 수는 5℃로 저장할 때보다 현저하게 많은 양이 증가하였으며, LTLT 및 HPP 살균 처리한 우유 또한 10℃ 저장기간 중 증가하는 경향을 나타내었다. LTLT 및 HPP 처리한 두 종류의 우유 모두 저장 1일차에는 유산균이 검출되지 않았지만 저장 1일차 이후 유산균의 수가 증가하여 저장 14일차에 약 5.0-8.0 Log CFU/mL 검출되었다. 일반우유 및 grass-fed우유의 LTLT 처리구는 저장 14일차에 각각 5.1, 7.9 Log CFU/mL로 나타났으며, 600MPa에서 5분 간 처리한 HPP F의 경우에는 5.8, 7.6 Log CFU/mL로 HPP 살균 처리구 중 LTLT 처리구와 가장 유사한 제어효과를 나타냈다. Jwa *et al.* (2002)는 약주와 탁주를 300-400 MPa 조건에서 10분간 처리할 경우 유산균이 완전히 제어 되었으며 저장기간 중 온도에 상관없이 유산균 수의 변화가 없다고 보고하였다. 반면 본 실험에서는 일반우유와 grass-fed유를 600 MPa 조건에서 3분 또는 5분간 처리하였을 때 5℃에서 저장 시 14일 동안 유산균이 검출되지 않았지만, 10℃에서 저장 시 저장기간이 지남에 따라 유산균이 증가하는 경향을 나타내었다. 이러한 결과는 탁주나 우유의 매질상태, 고형분 차이, 균질화 여부 등에 의해 살균효과에 차이가 생긴 것으로 판단된다.

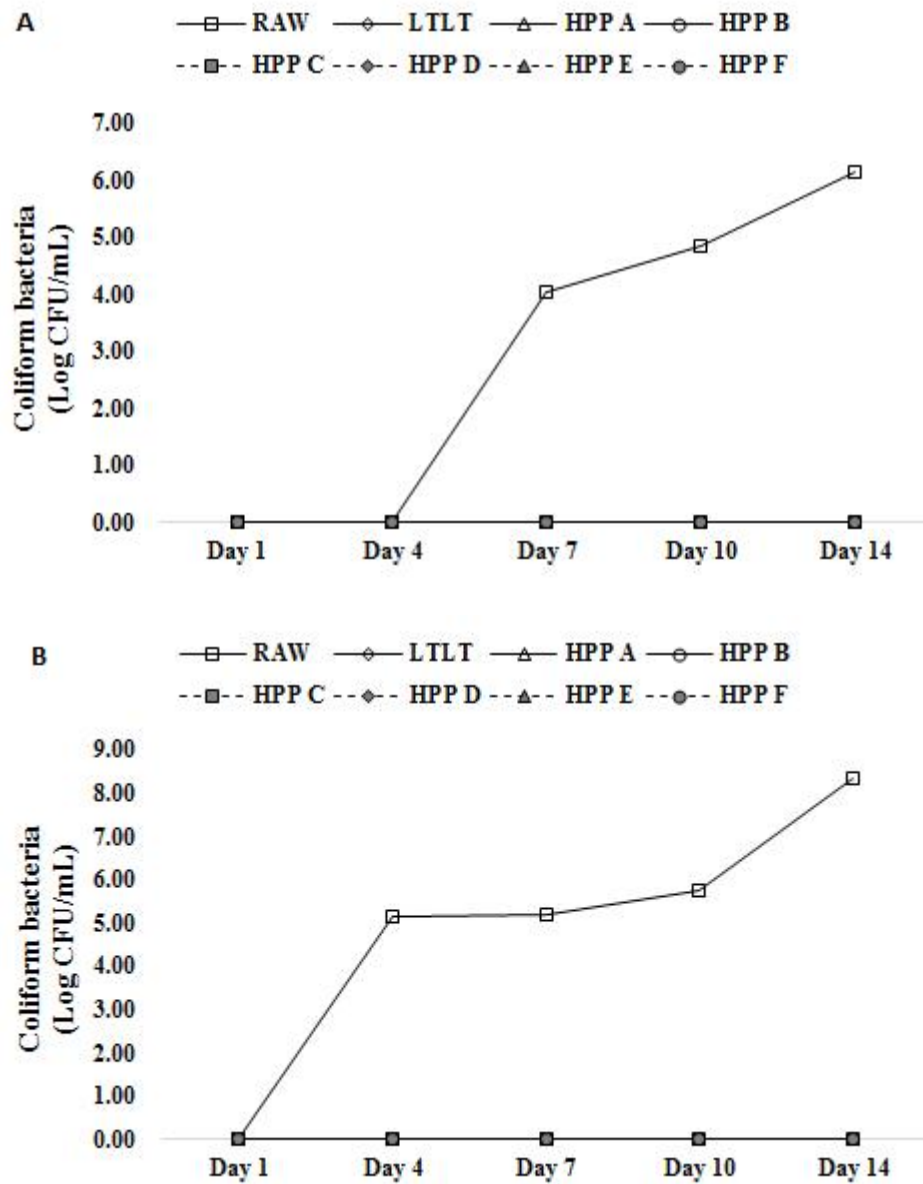


Fig. 10. Total coliforms from high pressure treated conventional control milk by different sterilize conditions during storage periods. (A) storage at 5°C, (B) storage at 10°C, HPP A; high pressure processing at 550MPa for 3min, HPP B; high pressure processing at 550MPa for 5min, HPP C; high pressure processing at 580MPa for 3min, HPP D; high pressure processing at 580MPa for 5min, HPP E; high pressure processing at 600MPa for 3min, HPP F; high pressure processing condition at 600MPa for 5min.

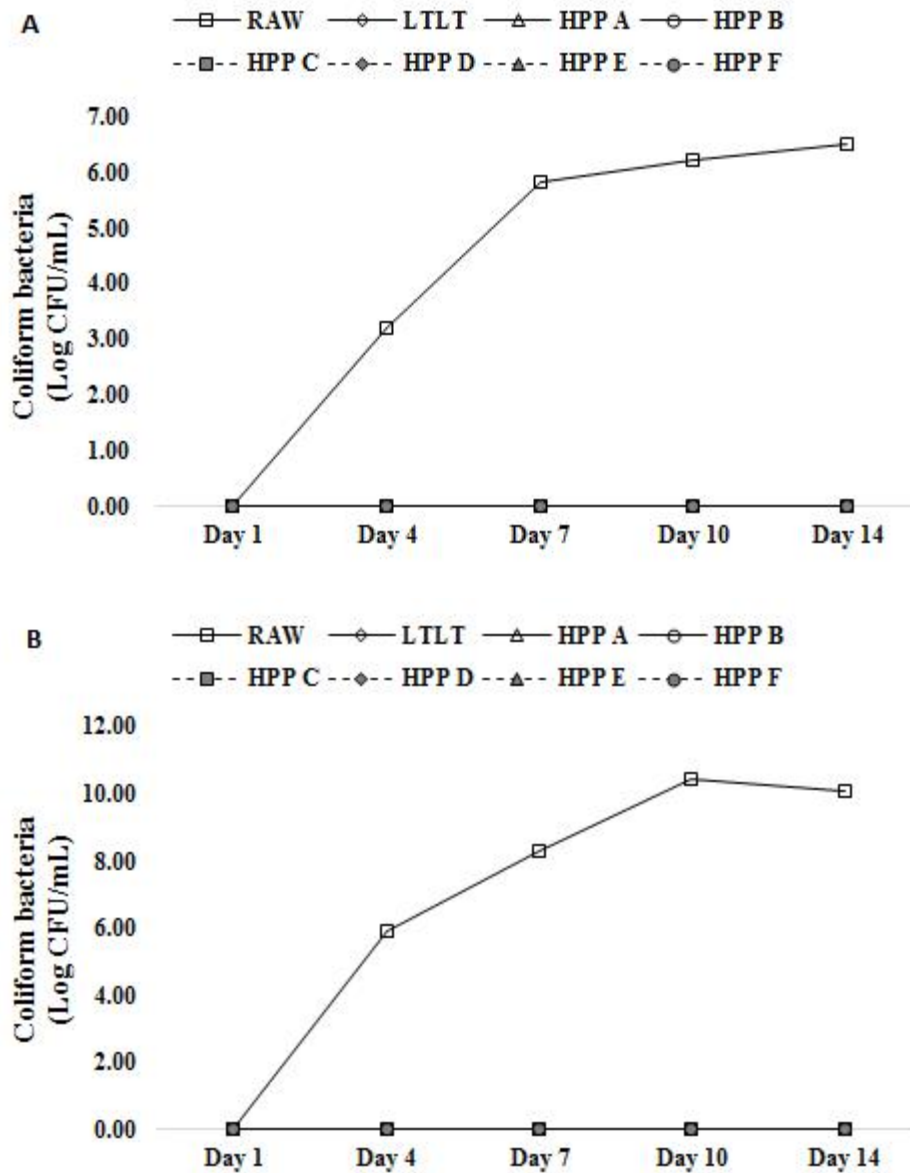


Fig. 11. Total coliforms from high pressure treated grass-fed milk by different sterilize conditions during storage periods. (A) storage at 5°C, (B) storage at 10°C, HPP A; high pressure processing at 550MPa for 3min, HPP B; high pressure processing at 550MPa for 5min, HPP C; high pressure processing at 580MPa for 3min, HPP D; high pressure processing at 580MPa for 5min, HPP E; high pressure processing at 600MPa for 3min, HPP F; high pressure processing condition at 600MPa for 5min.

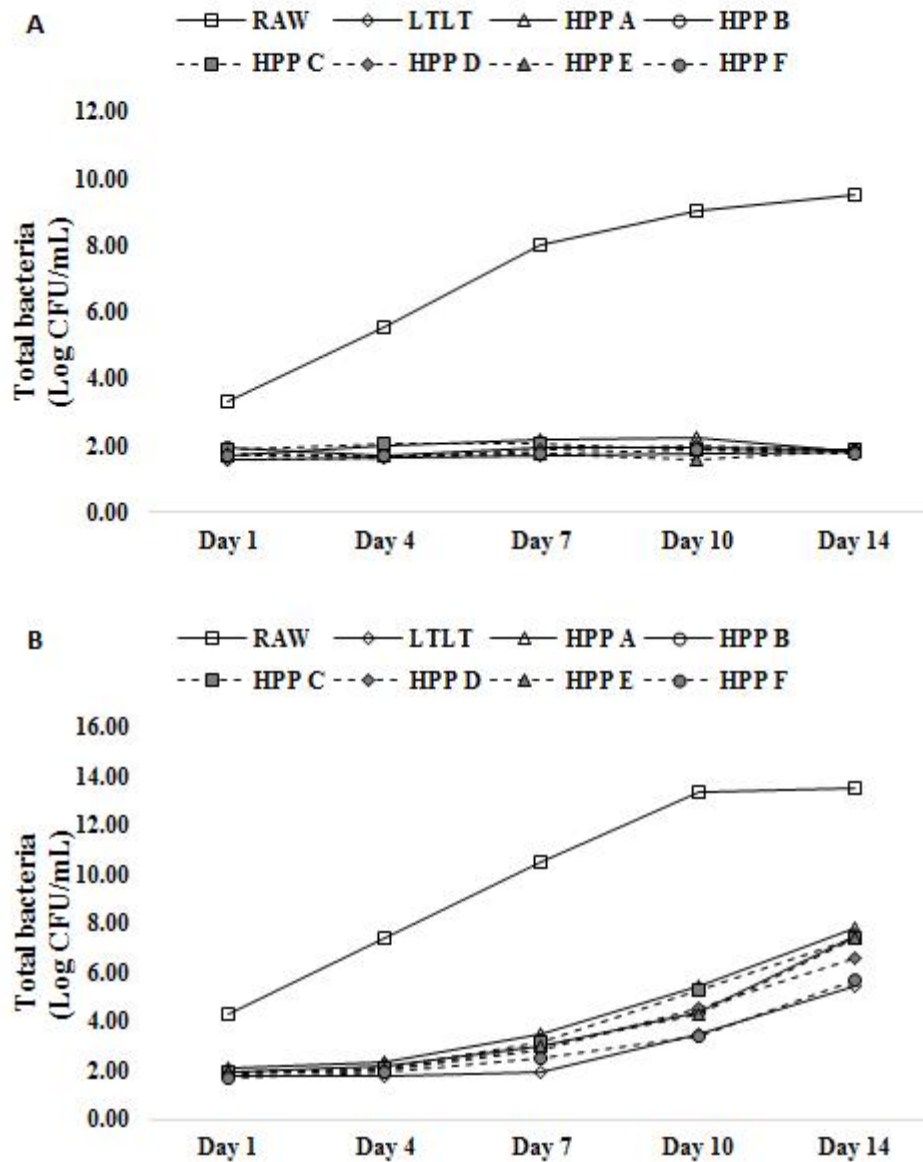


Fig. 12. Total bacteria from high pressure treated conventional control milk by different sterilize conditions during storage periods. (A) storage at 5°C, (B) storage at 10°C, HPP A; high pressure processing at 550MPa for 3min, HPP B; high pressure processing at 550MPa for 5min, HPP C; high pressure processing at 580MPa for 3min, HPP D; high pressure processing at 580MPa for 5min, HPP E; high pressure processing at 600MPa for 3min, HPP F; high pressure processing condition at 600MPa for 5min.

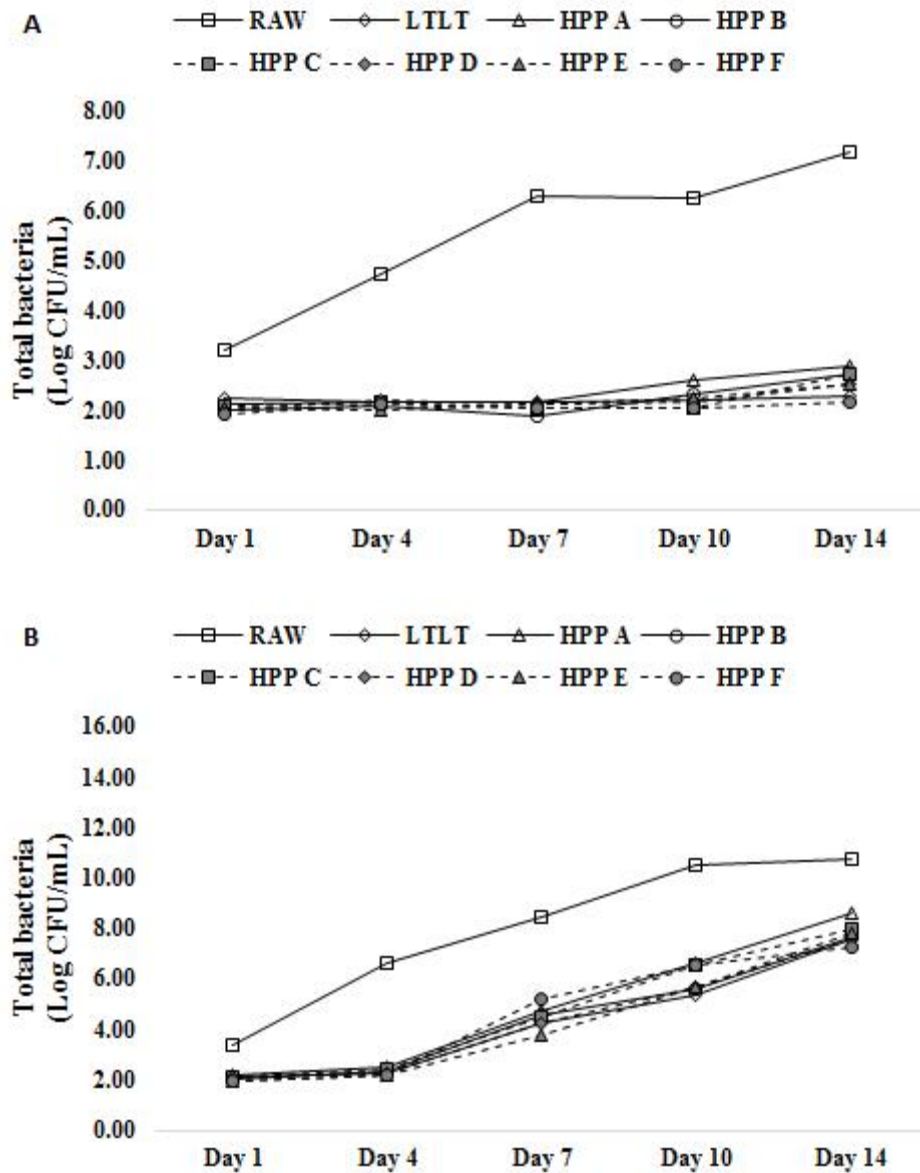


Fig. 13. Total bacteria from high pressure treated grass-fed milk by different sterilize conditions during storage periods. (A) storage at 5°C, (B) storage at 10°C, HPP A; high pressure processing at 550MPa for 3min, HPP B; high pressure processing at 550MPa for 5min, HPP C; high pressure processing at 580MPa for 3min, HPP D; high pressure processing at 580MPa for 5min, HPP E; high pressure processing at 600MPa for 3min, HPP F; high pressure processing condition at 600MPa for 5min.

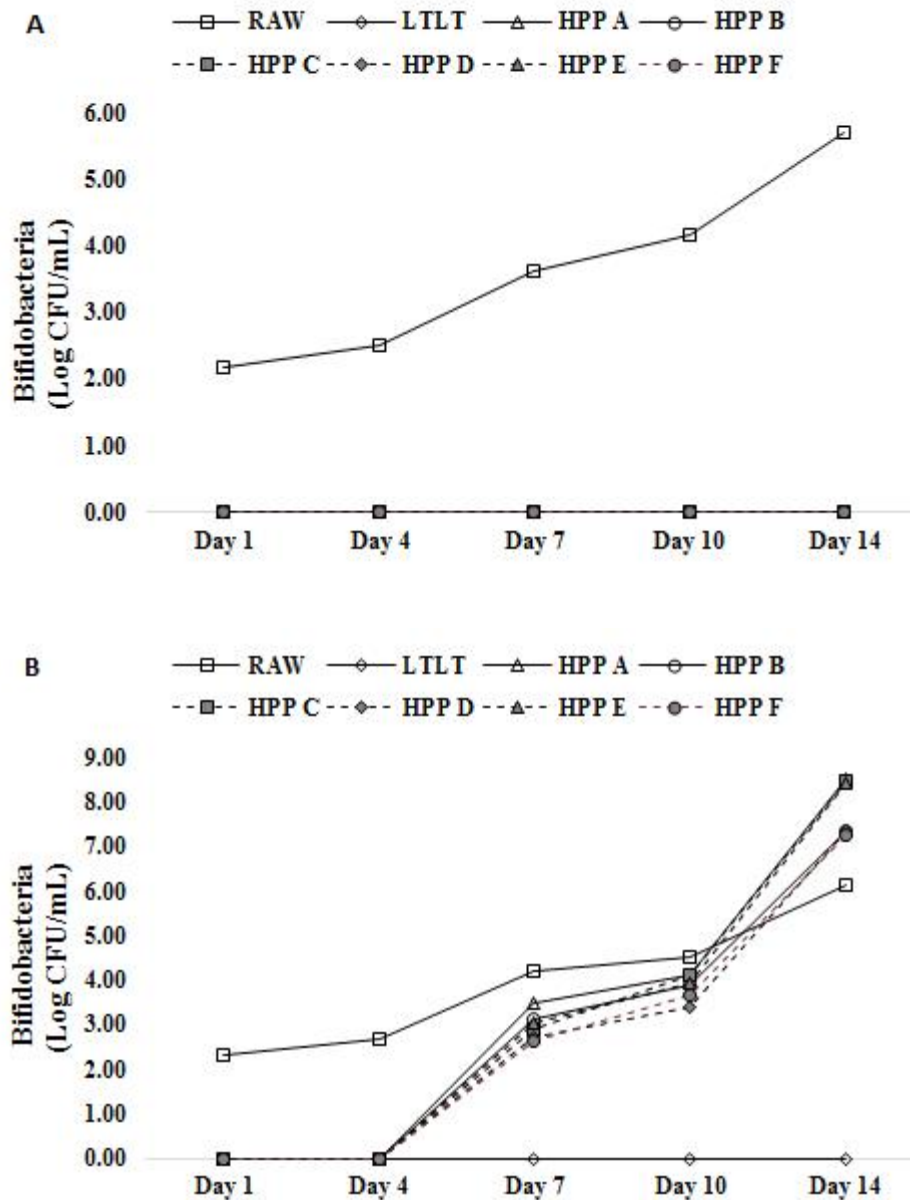


Fig. 14. Total bifido bacteria from high pressure treated conventional control milk by different sterilize conditions during storage periods. (A) storage at 5°C, (B) storage at 10°C, HPP A; high pressure processing at 550MPa for 3min, HPP B; high pressure processing at 550MPa for 5min, HPP C; high pressure processing at 580MPa for 3min, HPP D; high pressure processing at 580MPa for 5min, HPP E; high pressure processing at 600MPa for 3min, HPP F; high pressure processing condition at 600MPa for 5min.

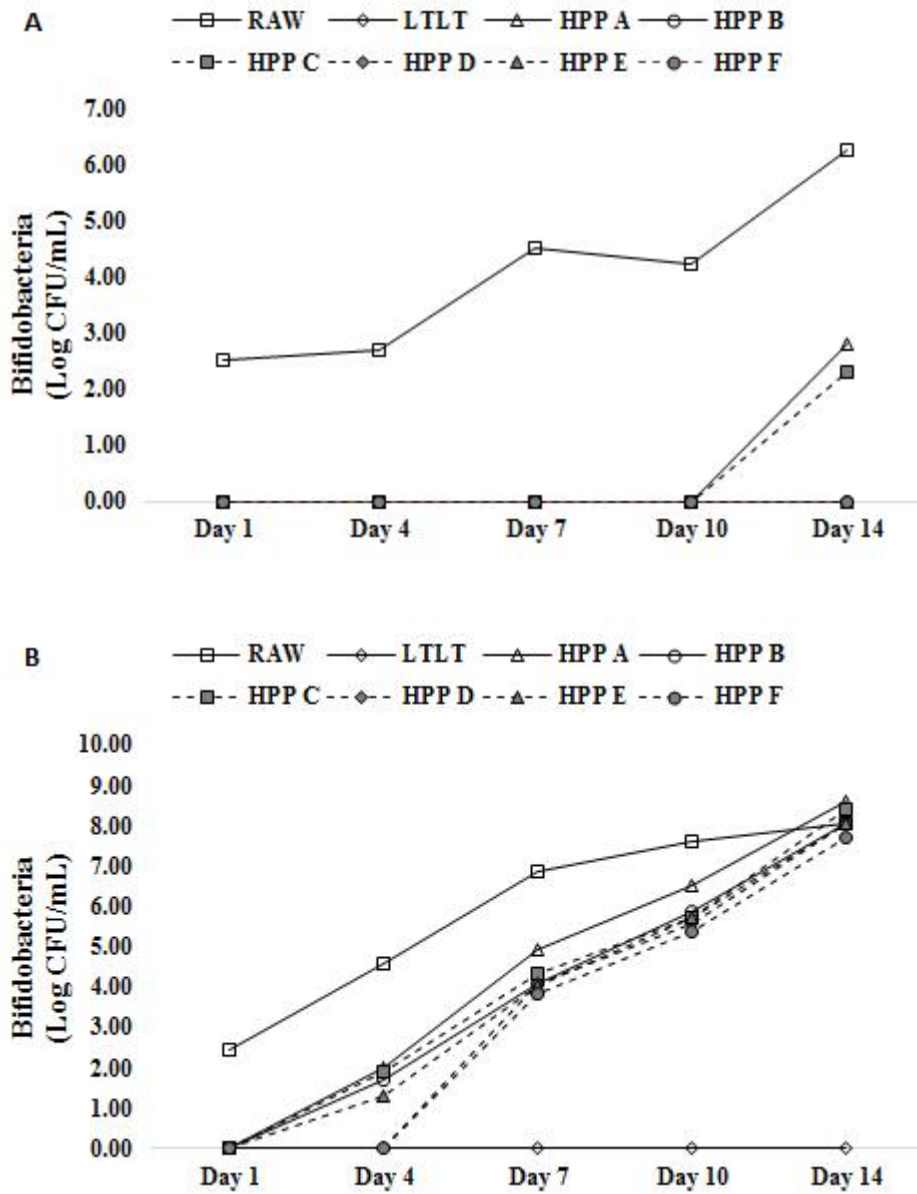


Fig. 15. Total bifido bacteria from high pressure treated grass-fed milk by different sterilize conditions during storage periods. (A) storage at 5°C, (B) storage at 10°C, HPP A; high pressure processing at 550MPa for 3min, HPP B; high pressure processing at 550MPa for 5min, HPP C; high pressure processing at 580MPa for 3min, HPP D; high pressure processing at 580MPa for 5min, HPP E; high pressure processing at 600MPa for 3min, HPP F; high pressure processing condition at 600MPa for 5min.

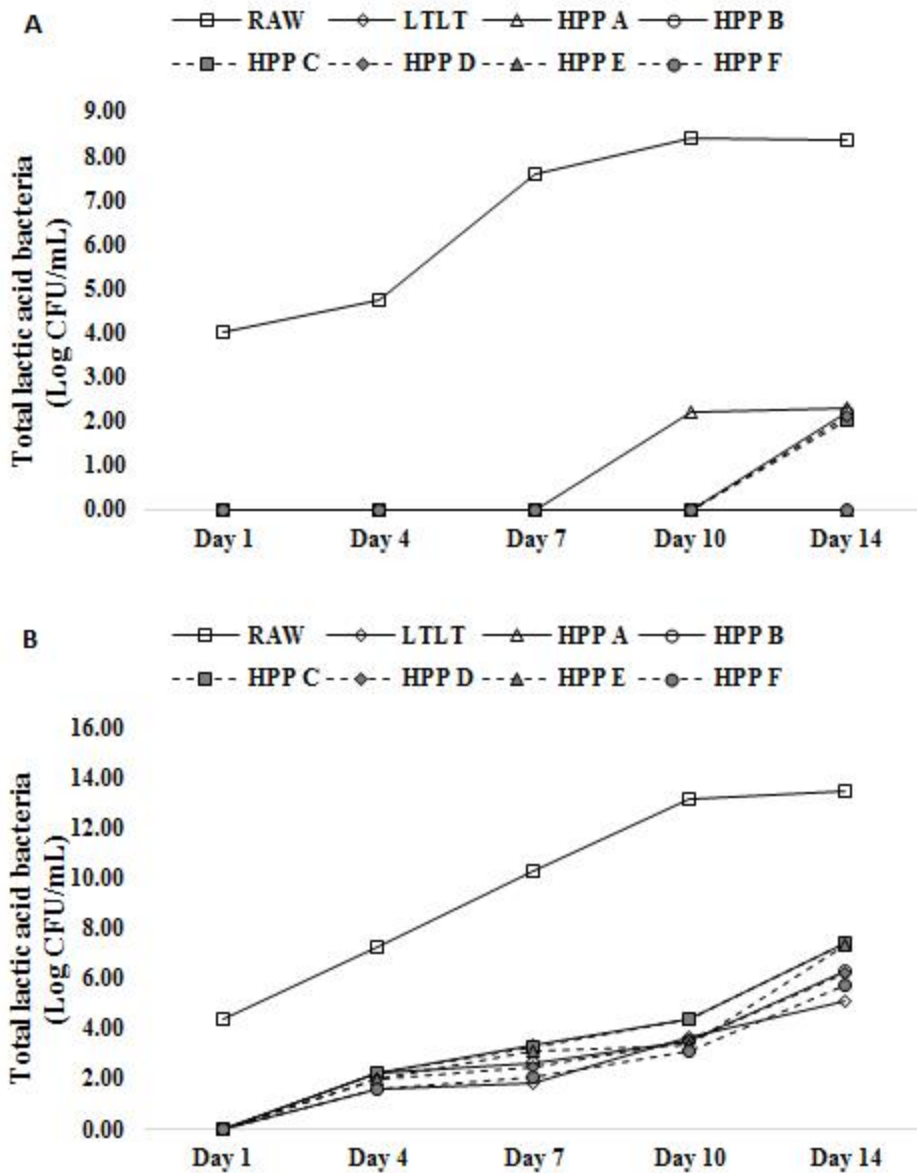


Fig. 16. Total lactic acid bacteria from high pressure treated conventional control milk by different sterilize conditions during storage periods. (A) storage at 5°C, (B) storage at 10°C, HPP A; high pressure processing at 550MPa for 3min, HPP B; high pressure processing at 550MPa for 5min, HPP C; high pressure processing at 580MPa for 3min, HPP D; high pressure processing at 580MPa for 5min, HPP E; high pressure processing at 600MPa for 3min, HPP F; high pressure processing condition at 600MPa for 5min.

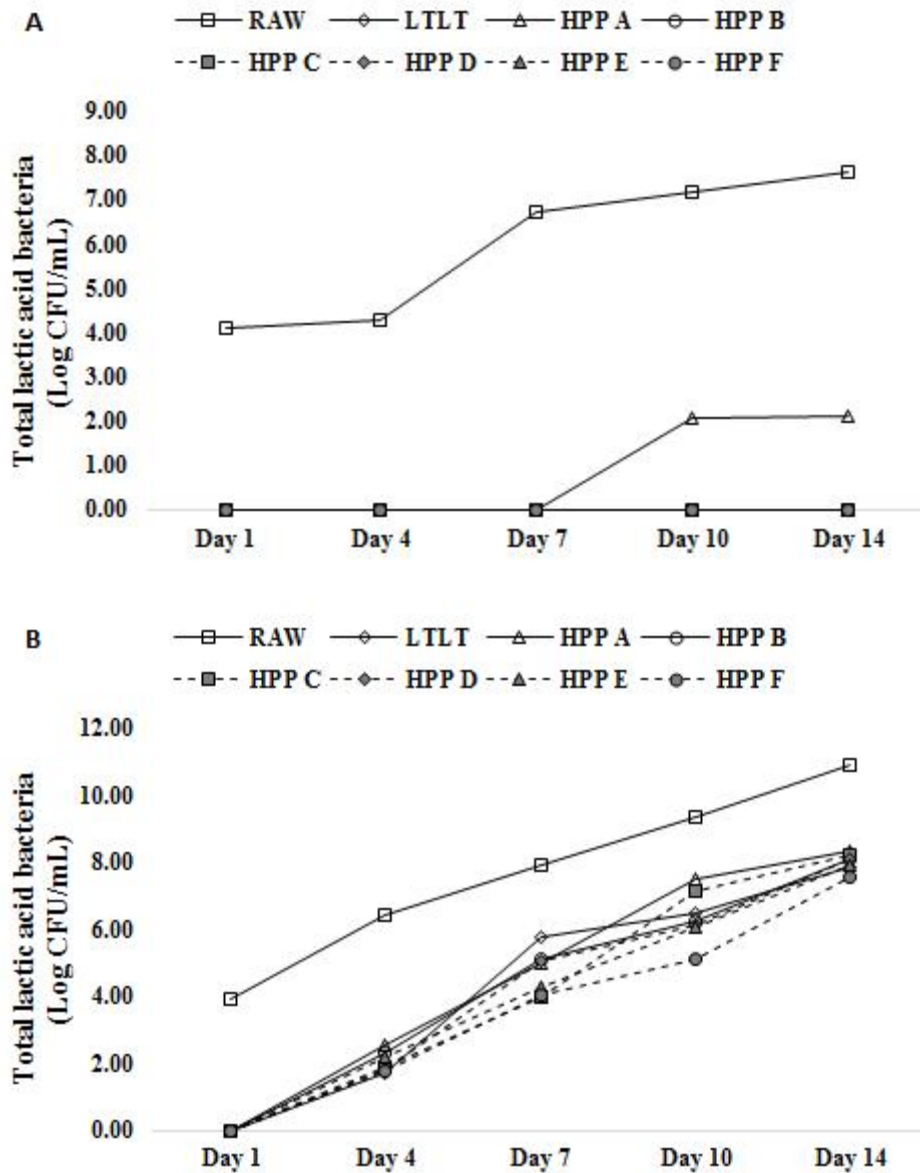


Fig. 17. Total lactic acid bacteria from high pressure treated grass-fed milk by different sterilize conditions during storage periods. (A) storage at 5°C, (B) storage at 10°C, HPP A; high pressure processing at 550MPa for 3min, HPP B; high pressure processing at 550MPa for 5min, HPP C; high pressure processing at 580MPa for 3min, HPP D; high pressure processing at 580MPa for 5min, HPP E; high pressure processing at 600MPa for 3min, HPP F; high pressure processing condition at 600MPa for 5min.

(바) 병원성미생물 분석 결과

HPP 처리한 grass-fed우유(GM) 및 일반우유(CM)를 대상으로 살모넬라(*Salmonella* spp.), 대장균(*Escherichia coli*) 리스테리아 모노사이토제네스(*Listeria monocytogenes*), 대장균 O157:H7(*Escherichia coli* O157:H7), 황색포도상구균(*Staphylococcus aureus*) 그리고 클로스트리디움 퍼프리젠스(*Clostridium perfringens*)와 같은 병원성 미생물을 분석한 결과 모든 처리구에서 병원성 미생물이 검출되지 않았다(Table 10, 11). Fonberg-Broczek *et al.* (2005)는 400 MPa 압력에서 15분간 처리하였을 때 *Listeria monocytogenes* 균주가 완전히 제어된다고 하였으며, Considine *et al.* (2008)은 미생물의 종류에 따라 압력에 대한 저항성이 서로 달라 효과적으로 제어하기 위해서는 조건이 달라진다고 보고하였다. 본 실험에서는 550-600 MPa 압력으로 5분간 처리하였을 때 저장 14일 까지 *Listeria monocytogenes* 를 포함한 모든 병원성미생물이 제어됨을 확인하였으며, 550 MPa 압력 이상에서 대부분의 병원성 미생물이 효과적으로 제어될 수 있을 것으로 사료된다.

Table 10. Analysis of total pathogenic microorganism in sterilized control milk.

Microorganism	LTLT ²⁾	HPP B ³⁾	HPP D ⁴⁾	HPP F ⁵⁾	
5℃	<i>Escherichia coli</i>	N.D ⁶⁾	N.D	N.D	N.D
	<i>Salmonella</i> spp.	N.D	N.D	N.D	N.D
	<i>Listeria monocytogenes</i>	N.D	N.D	N.D	N.D
	<i>Staphylococcus aureus</i>	N.D	N.D	N.D	N.D
	<i>Clostridium perfringens</i>	N.D	N.D	N.D	N.D
	<i>Escherichia coli</i> O157:H7	N.D	N.D	N.D	N.D
	10℃	<i>Escherichia coli</i>	N.D	N.D	N.D
<i>Salmonella</i> spp.		N.D	N.D	N.D	N.D
<i>Listeria monocytogenes</i>		N.D	N.D	N.D	N.D
<i>Staphylococcus aureus</i>		N.D	N.D	N.D	N.D
<i>Clostridium perfringens</i>		N.D	N.D	N.D	N.D
<i>Escherichia coli</i> O157:H7		N.D	N.D	N.D	N.D

- 1) Conventional control milk.
- 2) Low temperature long time sterilization.
- 3) High pressure processing at 550MPa for 5min.
- 4) High pressure processing at 580MPa for 5min.
- 5) High pressure processing at 600MPa for 5min.
- 6) Not detected.

Table 11. Analysis of total pathogenic microorganism in sterilized grass-fed milk.

	Constitutions	LTLT ²⁾	HPP B ³⁾	HPP D ⁴⁾	HPP F ⁵⁾
5 °C	<i>Escherichia coli</i>	N.D ⁶⁾	N.D	N.D	N.D
	<i>Salmonella</i> spp.	N.D	N.D	N.D	N.D
	<i>Listeria monocytogenes</i>	N.D	N.D	N.D	N.D
	<i>Staphylococcus aureus</i>	N.D	N.D	N.D	N.D
	<i>Clostridium perfringens</i>	N.D	N.D	N.D	N.D
	<i>Escherichia coli</i> O157:H7	N.D	N.D	N.D	N.D
10 °C	<i>Escherichia coli</i>	N.D	N.D	N.D	N.D
	<i>Salmonella</i> spp.	N.D	N.D	N.D	N.D
	<i>Listeria monocytogenes</i>	N.D	N.D	N.D	N.D
	<i>Staphylococcus aureus</i>	N.D	N.D	N.D	N.D
	<i>Clostridium perfringens</i>	N.D	N.D	N.D	N.D
	<i>Escherichia coli</i> O157:H7	N.D	N.D	N.D	N.D

¹⁾ Grass-fed milk.

²⁾ Low temperature long time sterilization.

³⁾ High pressure processing at 550MPa for 5min.

⁴⁾ High pressure processing at 580MPa for 5min.

⁵⁾ High pressure processing at 600MPa for 5min.

⁶⁾ Not detected.

2. Grass-fed 젖소유래 우유의 동물모델을 이용한 지질대사 및 간기능 개선효능 구명

가. 연구배경 및 목적

우리나라는 최근 과거에 비해 향상된 생활수준 및 식생활의 서구화로 인해 동물성 식품 및 지방의 섭취가 증가하는 추세이며 이와 관련된 여러 가지 질병의 발생 빈도가 높아지고 있다. 우리나라 국민의 총 에너지 섭취량 중 70년대의 6.3~11.8%에서 2005년에는 21%까지 증가하여 한국인 영양 권장량에서의 제시인 20%를 상회하고 있는 실정이다. [Park, 2010]. 서구식단의 n-3:n-6 지방산 비율은 약 1:20-1:50에 육박하며 지중해식 식단의 경우 n-3:n-6 지방산 비율은 1:1-1:4 정도이다. 표준 체중의 사람들의 n-3:-6 지방산 비율이 1:4-1:11 수준이며 반대로 비만체중인 사람들의 n-3:-6 지방산 비율은 1:50-1:120인 점을 고려해 볼 때, 체내의 n-3:-6 지방산의 비율을 균형 있게 맞추는 것은 매우 중요하다. 하지만 서구식단과 같은 n-6지방산의 다량 섭취는 동맥경화, 허혈성 심장질환 등 지질대사와 관련된 질병을 야기할 수 있는 반면 n-3지방산은 혈중 총 콜레스테롤을 낮추고 심장혈관질환 및 동맥경화증을 비롯한 각종 성인병을 예방할 수 있다는 점에서 관심이 집중되고 있다. 현재 우리가 먹는 대부분의 축산물은 n-6의 비율이 압도적으로 높으며 성인병 예방에 효과적이라고 알려진 n-3 비율은 1% 미만으로 아주 낮은 수준이다 [Park, 1991]. 가축에게 n-6 지방산의 함량이 높은 사료를 급여했을 때 가축으로부터 생산되는 축산물 또한 n-6 지방산 함량이 증가한다는 많은 연구보고가 있으며 이를 근거로 사람의 체내 n-3:n-6 비율을 알맞게 조정하는데 있어서 섭취하는 식품의 n-3:n-6 비율 또한 앞선 결과들과 비슷한 경향을 나타낼 것으로 사료된다.

따라서 본 연구는 grass-fed를 급여한 젖소유래 우유의 n-3:n-6비율이 기존의 1:11 수준에서 1:4 수준까지 조정된 HPP 살균 처리한 우유를 고지방 식이로 비만이 유도된 C57BL/6에 급여하였을 때 간 기능 및 지질대사의 개선효과를 알아보기 위해 실시하였다.

나. 재료 및 실험방법

(1) 우유 살균 방법

본 실험에 사용한 우유는 (주)삼양식품의 사양실험을 통해 농후사료 위주로 급여한 실험군에서 얻은 일반사료급여 원유(CM)와 목초사료를 급여한 실험군에서 얻은 grass-fed 원유(GM)를 이용하였다. 살균 처리는 HPP 살균처리를 실시하였으며, 흥국F&B에 설치되어 있는 초고압살균장치 (QFP 350L-600, Avure Technol., USA)를 이용하였다. 원유는 용기에 소분하여 580 MPa에서 5분간 정수압을 이용하여 살균하였으며 온도는 $15 \pm 2^\circ\text{C}$ 를 유지하였다.

(2) 실험동물사육

- 실험동물은 4주령 C57BL/6(Charles River Laboratories, Tokyo, Japan) 수컷 마우스 60마리를 구입하여 2주일 동안 환경에 적응시킨 후 난괴법(randomized block design)에 의해 정상식이군(NC), 고지방식이군(HC), 일반사료급여원유 섭취처리군(HCC), grass-fed 원유 섭취처리군(HCG) 총 4군으로 나누어 8주간 사육하였다. 동물사육실험환경은 온도 $21 \pm 2^\circ\text{C}$, 습도 $50 \pm 10\%$ 로 유지하였고, 낮과 밤의 주기는 12시간 (7:00~19:00) 주기로 조명하였다. 사료의 급여는 2일 1회(개체당 5g) 공급하였으며, 음용수는 자유급식하였다. 우유의 급여는 일정시간에 0.3 mL씩 위내 투여 하였으며 NC군과 HC군 또한 음용수 0.3 mL씩 위내 투여 하였다. 식이 섭취량은 2일에 한번 씩 일정한 시간에 측정하였고, 매주 같은 시간에 체중을 기록하였다.

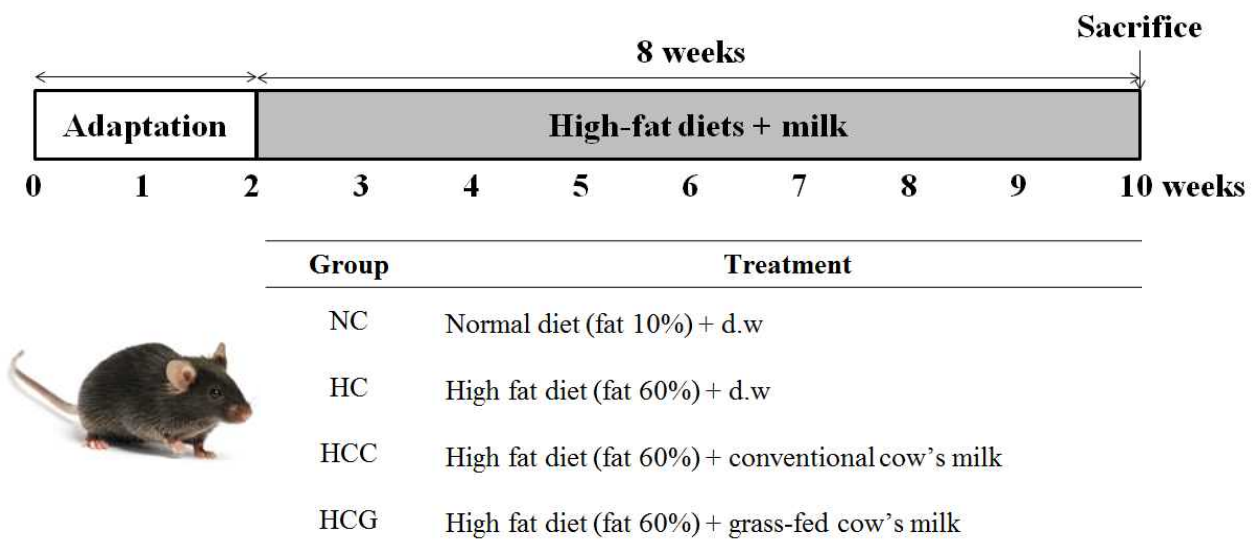


Fig. 18. Overall experimental schedule and treatments

Table 12. Composition of the Experimental Diets.

	gm%		gm%
Protein	19.2	Protein	26.2
Carbohydrate	67.3	Carbohydrate	26.3
Fat	4.3	Fat	34.9
	Total		Total
	kcal/gm		kcal/gm
	3.85		5.24
Ingredient	gm	Ingredient	gm
Casein, 30 Mesh	200	Casein, 30 Mesh	200
L-Cystine	3	L-Cystine	3
Corn Starch	315	Corn Starch	0
Maltodextrin	35	Maltodextrin	125
Sucrose	350	Sucrose	68.8
Cellulose, BW200	50	Cellulose, BW200	50
Soybean Oil	25	Soybean Oil	25
Lard*	20	Lard*	245
Mineral Mix S10026	10	Mineral Mix S10026	10
DiCalcium Phosphate	13	DiCalcium Phosphate	13
Calcium Carbonate	5.5	Calcium Carbonate	5.5
Potassium Citrate, 1 H2O	16.5	Potassium Citrate, 1 H2O	16.5
Vitamin Mix V10001	10	Vitamin Mix V10001	10
Choline Bitartrate	2	Choline Bitartrate	2
FD&C Yellow Dye #5	0.05	FD&C Blue Dye #5	0.05
Total	1055.05	Total	773.85

(3) 혈장 및 장기 채취

– 사육이 끝난 실험동물은 12시간 절식시킨 후, 에테르를 흡입시켜 마취시키고 심장 채혈을 통하여 혈액을 채취하였으며, 혈액은 3,000rpm, 5℃에서 15분간 원심분리하여 -70℃에 보관하였다. 각 실험동물의 장기조직(간, 심장, 신장, 비장, 부고환지방, 신장지방)은 적출하여 생리식염수로 씻은 다음 여과지로 물기를 제거하여 무게를 측정 한 후 -70℃에 보관하였다.

(4) 지질성분 함량 측정

– 혈중 내의 Total Cholesterol, Triglyceride 및 HDL의 함량을 측정하기 위해 혈액을 30분간 상온에서 굳힌 후, 3,000rpm에서 15분간 원심분리 하여, (주)한국동물의과학연구소에 의뢰하였다. 분석 기기는 Olympus, AU400, (Tokyo Japan)을 이용하여 측정하였다.

(5) 간기능 지표 분석

- 혈중 Aspartic acid transaminase (AST), Alanine transaminase (ALT), Alkaline phosphatase(ALP)의 활성도를 측정하기 위해 혈액을 30분간 상온에서 굳힌 뒤, 3,000rpm에서 15분간 원심분리 하여, Olympus, AU400, (Tokyo Japan)을 이용하여 측정하였다.

(6) 간 지방조직의 병리학적 검사

적출한 간의 일부를 식염수로 씻은 후 10% formaldehyde 용액에 고정 하여 파라핀으로 조직표본을 제작하여 절편하였다. 조직 절편은 H&E(hematoxylin and eosin)으로 염색하여 광학현미경으로 관찰하였다.

(7) 간조직 항산화 효소 측정

항산화 효소인 superoxide dismutase(SOD), catalase(CAT) 및 glutathione peroxidase(GSH-Px)의 활성을 알아보기 위해 실험을 진행하였다. SOD 활성은 BIOXYTECH SOD-525nm ASSAY Kit(OXIS International, Inc. USA)를 사용하여 측정하였다. 멸균된 tube에 900 μ L의 Buffer(2-amino-2-methyl-1,3propanediol, boric acid, DTPA, pH 8.8)를 넣고, 간 추출액의 상층액을 40 μ L를 가하였다. 여기에 R2(1,4,6-trimethyl-2-vinylpyridinium trifluoromethanesulfonate, in HCL) 시약을 30 μ L첨가한 후, 섞어준 뒤 37 $^{\circ}$ C 워터배스에서 1분 동안 incubation하였다. 마지막으로 R1(5,6,6a,11b-tetrahydro-3,9,10,tri-hydroxybenzo[c]fluorene, in HCL, DTPA, ethanol) 시약을 30 μ L 첨가하여 525nm에서 3분 간 흡광도 변화를 측정하였다. CAT 활성은 Abei법으로 진행하였다. 간 추출액의 상층액 100 μ L에 50 mM phosphate buffer 2 mL를 가한 후, 30 mM hydrogen peroxide in phosphate buffer를 1 mL 넣고, 240nm에서 1분간 흡광도 변화를 측정하였다. GSH-Px 활성은 Lawrence와 Burk 방법으로 실험하였다. Phosphate buffer/0.1 M EDTA/0.1 M NaN₃ 0.9 mL, GSH 0.3 mL, 0.002 M NADPH 0.3 mL, Glutathione reductase(500 μ L/mL) 20 μ L, 증류수 0.6 mL, 간 상층액 0.3 mL을 혼합하여 실온에서 5분 동안 incubation 한 후, 2.5 mM H₂ O₂ 0.3 mL를 첨가하여 조심스럽게 잘 섞고 3분 동안 30초 간격으로 흡광도 변화를 알아보았다.

(8) 지방대사 관련 유전자 발현 측정

지방대사 관련 유전자 발현을 알아보기 위해 mRNA 발현량을 real-time PCR을 이용하여 분석하였다. 간을 분쇄한 후 Nucleospin RNA kit (Macherey-Nagel)를 사용하여 RNA를 추출하였다. Real-time PCR 반응액은 Rotor-Gene SYBR Green PCR Master Mix(Qiagen, USA), 지방대사 관련 유전자의 -F, -R primer (10 pmol/ μ L), H₂O를 혼합한 후 추출한 cDNA에 첨가하여 사용하였다. Real-time PCR은 Qiagen사의 Rotor-Gene Q 2plex 기기를 사용하였으며 반응조건은 two step cycling protocol을 기준으로 95°C에서 5분 동안 predenaturation을 실시한 후, 95°C에서 5초, 60°C에서 10초씩 40cycles을 반복하고, 60°C에서 95°C까지 3분 동안 증가하는 melting 단계 순으로 수행하였다. Real-time PCR을 통해 증폭된 산물은 Delta delta Ct method를 이용하여 정량하였으며, 각 시료를 β -actin의 발현량으로 보정하였다.

Table 13. Sequences of primer used for real-time PCR

Gene	Primer sequence
β -actin	F: 5'-CTGGTCGTCGACAACGGCTC-3' R: 5'-TCTTGCTCTGGGCCTCGTCA-3'
ACS	F: 5'-AGAGAAGGGCTTCCCAGTGA-3' R: 5'-GCCACCATAAGTCAACCCCT-3'
CPT-1	F: 5'-AAAGATCAATGGACCCTAGACA-3' R: 5'-CAGCGAGTAGCGCATAGTCA-3'
FAS	F: 5'-GGATCTGGGCTGTCTGCCT-3' R: 5'-TGACAGCAAATGGGCCTCC-3'
PPAR- α	F: 5'-CCTGAACATCGAGTGTCGAATAT-3' R: 5'-GGTCTTCTTCTGAATCTTGCAGCT-3'

(9) 통계분석

실험 결과는 SPSS 22.0(SPSS Inc., Chicago, IL, USA)을 이용하여 ANOVA로 분석하였고, 집단 간 비교를 위한 사후분석은 Duncan's로 검증하였으며 P<0.05 이상일 때만 통계적 유의성이 있는 것으로 판단하였다. 모든 분석항목은 3회 이상 반복 시험하여 얻은 결과를 평균±표준오차로 나타내었다.

다. 실험결과

(1) 실험동물의 체중, 식이 섭취량, 식이 효율

실험기간 중 8주 동안 실험동물의 체중, 식이 섭취량, 식이효율은 Table 14와 같다. 초기체중은 모두 유의적 차이를 보이지 않았지만, 식이섭취 8주 동안의 체중 변화는 grass-fed 원유섭취군(HCG)에서 고지방식이군(HC) 및 일반원유섭취군(HCC)보다 각각 14.42g, 14.45g 감소하여 유의적으로 낮은 체중을 나타내었다. 또한 식이섭취량에서 HC, HCC 및 HCG 처리군에서 유의적인 변화가 나타나지 않았다. Grass-fed 우유의 경우 일반원유보다 포화지방산의 비율이 높았으며, n-3계열의 불포화지방산의 비율이 증가하고 n-6계열의 불포화지방산은 감소하여 n-3:n-6 비율이 약 1:3.7로 일반우유의 약 1:11.7보다 약 3배 낮은 비율을 나타내었고 보고하였다(Lim *et al.*, 2015). 따라서 HCC와 HCG의 체중 차이는 우유의 지방산 조성에서의 차이로 인해 나타난 것으로 사료된다.

Table 14. Effects of grass-fed cow's milk on weight gain and feed efficiency ratio in high-fat diet fed C57BL/6 mice.

Group	Body weight (g)		Weight gain (g per day)	Feed efficiency ratio
	Initial	Final		
NC	20.46±0.524	27.27±0.991 ^c	0.11±0.012 ^b	0.04±0.004 ^b
HC	20.40±0.188	34.82±0.732 ^a	0.23±0.013 ^a	0.10±0.005 ^a
HCC	20.49±0.145	34.94±0.866 ^a	0.23±0.012 ^a	0.10±0.005 ^a
HCG	19.61±0.336	31.63±0.870 ^b	0.19±0.014 ^a	0.09±0.007 ^a

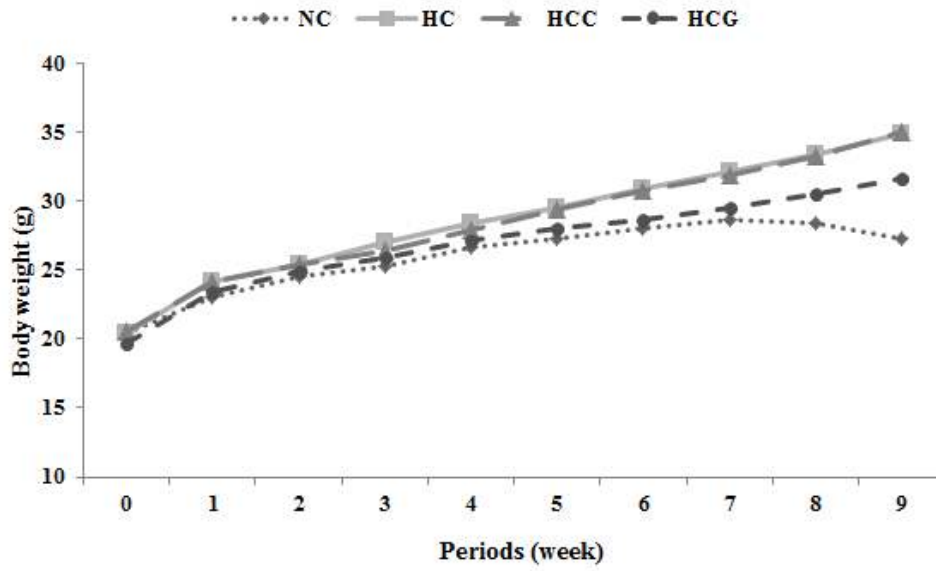


Fig. 19. Effects of grass-fed cow's milk on weight gain of high-fat diet fed C57BL/6 mice during experimental periods (9 weeks).

(2) 실험동물의 주요장기 무게

실험동물의 주요 장기의 무게를 측정해본 결과, 간, 신장 및 고환에서는 모든 처리군에서 유의적인 차이가 나타나지 않았다. 부고환 지방에서는 HC과 HCC군이 약 1.59, 1.78g으로 높은 지방함량을 나타냈지만, HCG군은 약 1.41g으로 유의적으로 감소한 것을 확인하였다. 이는 고지방식이는 정상식이에 비하여 백색지방 무게를 증가시키지만(Cho *et al.*, 2007), grass-fed 우유는 이를 억제하는 것으로 사료된다.

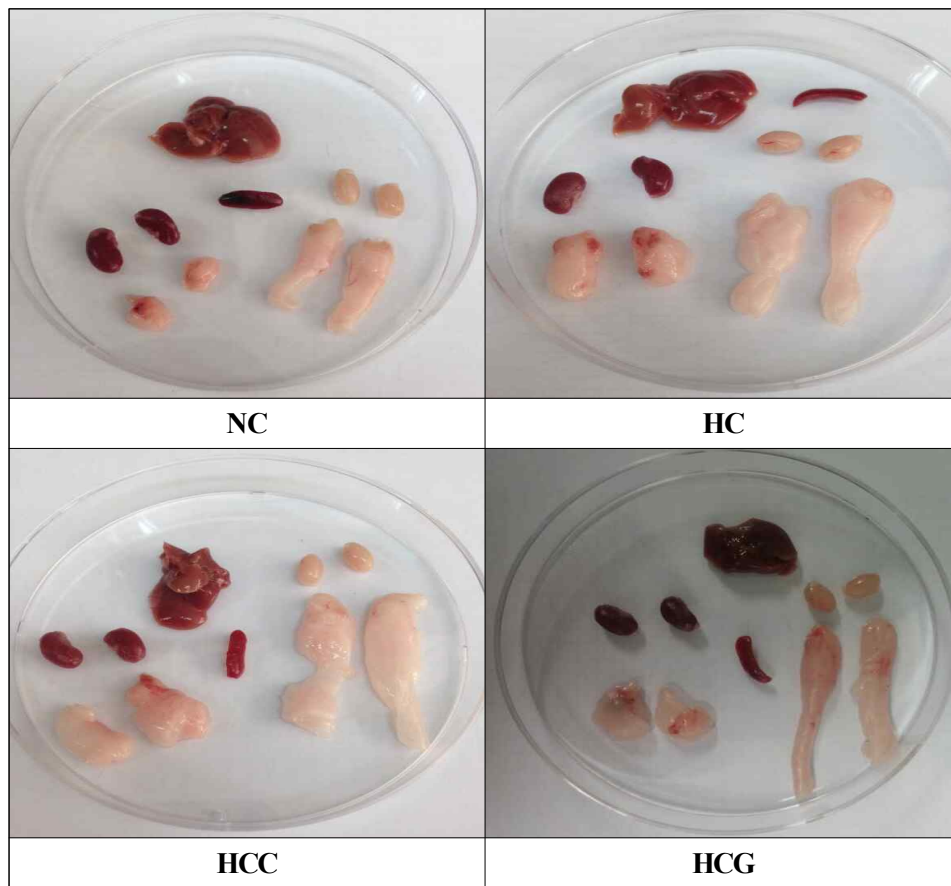


Fig. 20. Effects of grass-fed cow's milk on organs and tissue(liver, kidney, spleen, testis, epididymal fat and perirenal fat) size in high-fat diet fed C57BL/6 mice

Table 15. Effects of grass-fed cow's milk feeding on organs and tissue weight to body weight in high-fat diet fed C57BL/6 mice.

Group	Weight (g)					
	Liver	Kidney	Spleen	Testis	Epididymal fat	Perirenal fat
NC	1.00±0.06	0.31±0.02	0.07±0.00 ^b	0.21±0.01	0.50±0.08 ^b	0.22±0.05 ^b
HC	1.02±0.04	0.33±0.01	0.08±0.00 ^a	0.23±0.01	1.59±0.16 ^a	0.68±0.08 ^a
HCC	1.02±0.04	0.32±0.01	0.08±0.00 ^a	0.24±0.00	1.78±0.18 ^a	0.77±0.08 ^a
HCG	0.87±0.04	0.29±0.01	0.07±0.00 ^a	0.21±0.01	1.41±0.13 ^b	0.67±0.07 ^a

(3) 지질성분 함량 측정

고지방식이 급여가 일반식이군과 비교하여 혈중 총콜레스테롤과 중성지방 함량을 증가시킨다고 보고하였다(Park *et al.*, 2005). 이는 본 연구 결과와 일치하며, 중성지방의 경우 NC군보다 고지방식이를 먹인 처리군에서 모두 유의적으로 증가하여 비만유도가 성공적으로 유도된 것으로 사료된다. 반면에, 혈중의 중성지방 함량에서는 HCG가 HCC보다 약 20.68g 낮은 함량을 나타냈으며 NC군과 유의적인 차이가 없었다. 이는 grass-fed 우유와 일반 우유의 n-3 : n-6 비율의 차이 때문에 나타난 것으로 사료된다. HDL의 경우 HC, HCC 및 HCG에서 약 78.23, 83.54, 77.34g의 높은 HDL 함량을 확인하였다. Cho *et al.*, (2007)에서는 고지방식이군의 HDL 함량은 대조군에 비하여 유의적으로 높아졌으며 이는 고지방 식이로 인한 혈청 중 총 콜레스테롤 함량 증가에 의한 것으로 보고하였다.

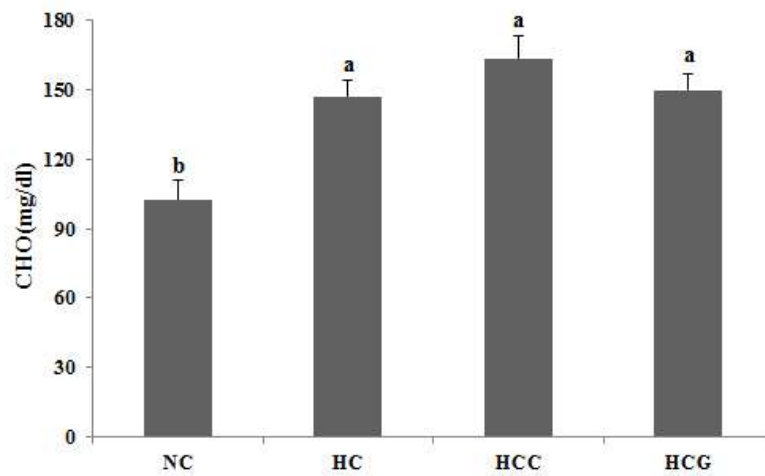


Fig. 21. Effects of grass-fed cow's milk feeding on serum total cholesterol concentration in high-fat diet fed C57BL/6 mice. Values are mean of seven replicate determination (n=7) \pm standard error. Different letters indicate statistically significant differences (P<0.05).

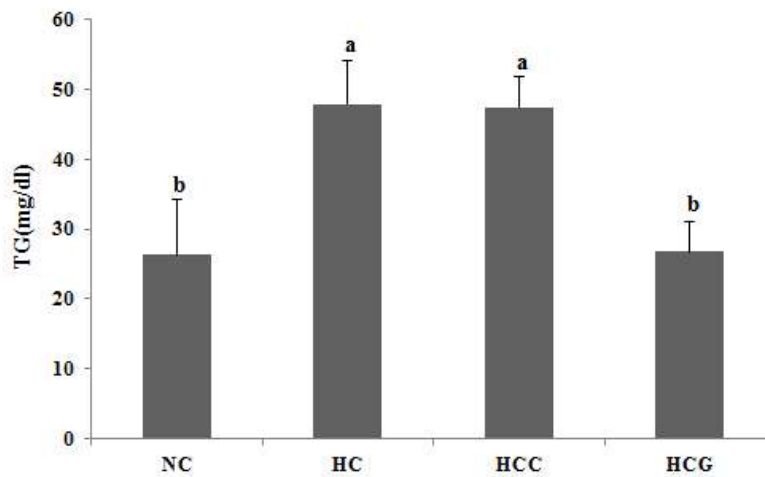


Fig. 22. Effects of grass-fed cow's milk feeding on serum triglyceride concentration in high-fat diet fed C57BL/6 mice. Values are mean of seven replicate determination (n=7) \pm standard error. Different letters indicate statistically significant differences (P<0.05).

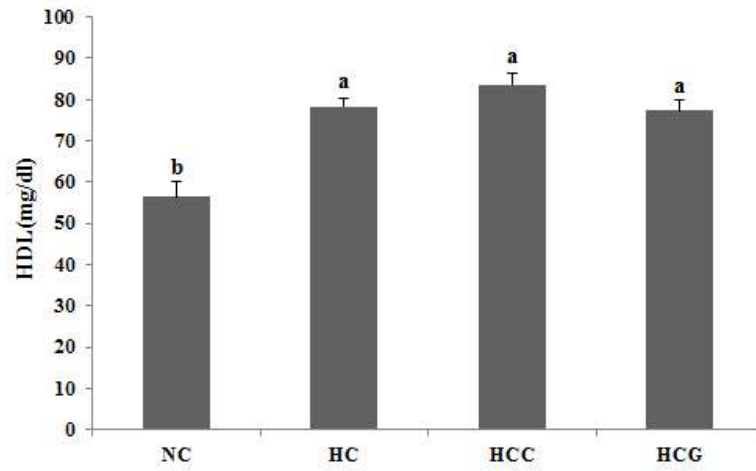


Fig. 23. Effects of grass-fed cow's milk feeding on serum high density lipoprotein concentration in high-fat diet fed C57BL/6 mice. Values are mean of seven replicate determination (n=7) \pm standard error. Different letters indicate statistically significant differences (P<0.05).

(4) 혈청의 간 기능 지표 분석 결과

- 간 기능을 측정하기 위해 혈액에서 Alkaline phosphatase (ALP), Alanine transaminase (ALT) 및 Aspartic acid transaminase (AST)를 측정하였다. 간장과 심장에 다량분포하며 간세포 손상 시 농도가 현저히 상승하므로 이 활성도는 간질환의 지표가 된다 (Moon *et al.*, 2010). ALT와 AST의 경우 모든 처리군에서 NC와 유의적인 차이가 없었으므로 간질환에 이상이 없는 것으로 사료된다.

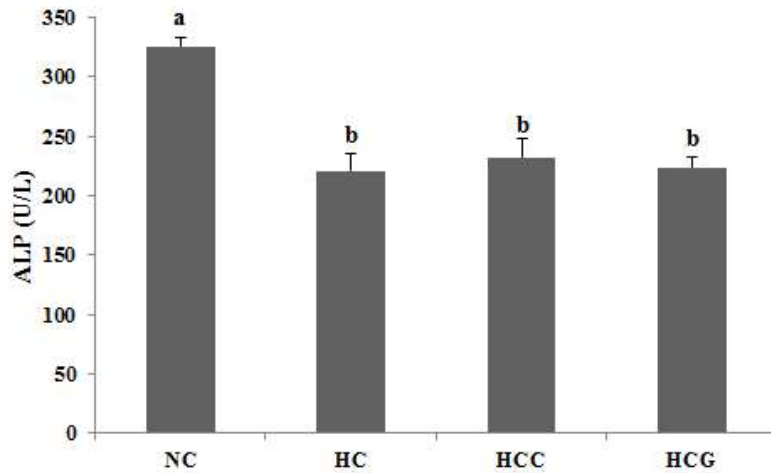


Fig. 24. Effects of grass-fed cow's milk feeding on serum ALP activity in high-fat diet fed C57BL/6 mice. Values are mean of seven replicate determination (n=7) \pm standard error. Different letters indicate statistically significant differences (P<0.05).

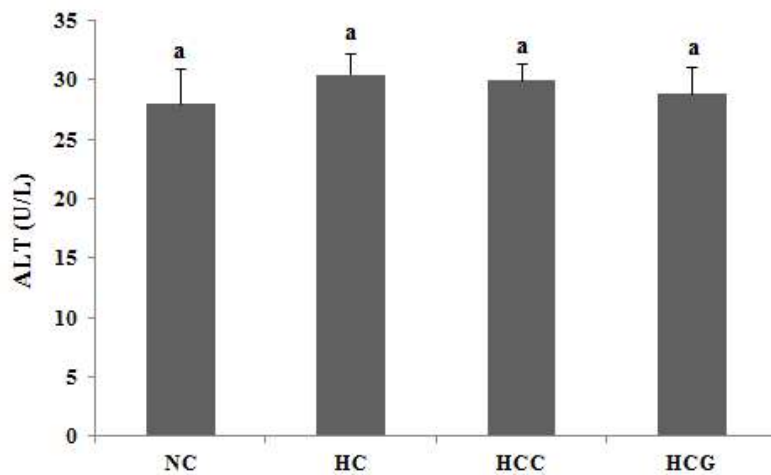


Fig. 25. Effects of grass-fed cow's milk feeding on serum ALT activity in high-fat diet fed C57BL/6 mice. Values are mean of seven replicate determination (n=7) \pm standard error. Different letters indicate statistically significant differences (P<0.05).

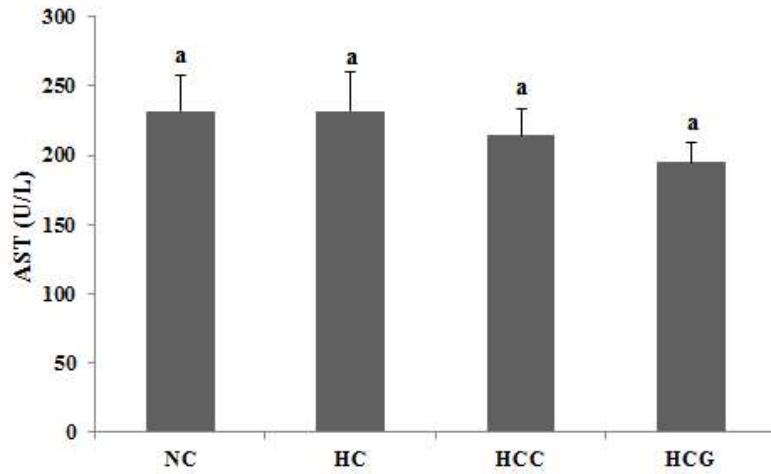


Fig. 26. Effects of grass-fed cow's milk feeding on serum AST activity in high-fat diet fed C57BL/6 mice. Values are mean of seven replicate determination (n=7) \pm standard error. Different letters indicate statistically significant differences (P<0.05).

(5) 간 지방조직의 병리학적 검사

간 조직의 지방축적에 대하여 조사하기 위해 각 실험군의 간조직의 파라핀 절편을 제작하여 H&E 시액으로 조직염색을 실시하였다. Fig. 27. 같이 NC는 간세포의 지방구가 균일하고 지방공포가 전혀 보이지 않지만, HC와 HCC의 경우 세포질에 지방축적으로 인해 간세포질의 지방공포가 많이 출현 하였으며 간세포 내 지방축적의 흔적이 뚜렷하게 관찰되었다. 한편, HCG의 간세포에서는 NC와 비슷한 모습을 보였으며 지방축적이 현저히 감소한 것을 확인할 수 있었다.

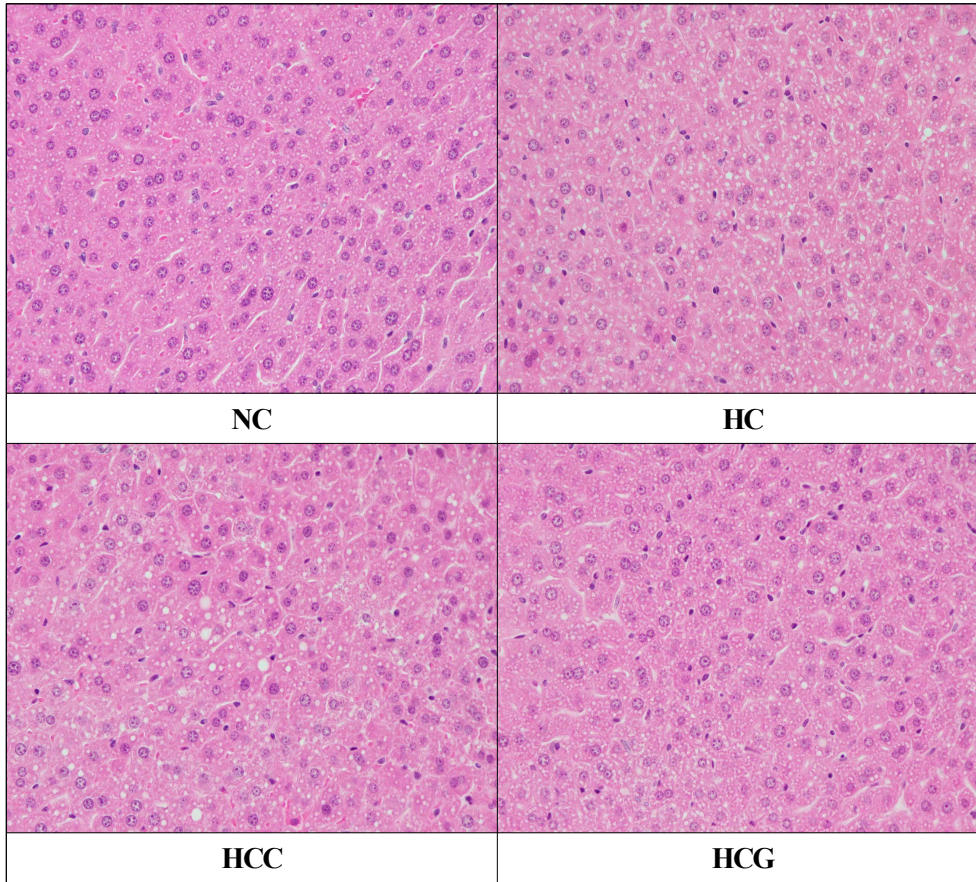


Fig. 27. Effects of grass-fed cow's milk feeding on HFD-induced lipid accumulation liver tissues were fixed with 4% paraformaldehyde, embedded in paraffin, and H&E stained (X200).

(6) 효소활성

우유 섭취로 인한 간 조직 내 SOD, CAT 및 GPx의 항산화 효소활성을 알아보았다. 생체내의 항산화 방어하는 효소 시스템으로 SOD, CAT 및 GPx 등이 알려져 있다. 항산화 효소는 활성산소종 (reactive oxygen species, ROS)을 제거하거나 불활성화 시켜 항산화 작용을 한다. 특히, SOD는 세포내 호흡작용의 부산물로써 생성되는 superoxide anion (O_2^-)와 작용하는 첫 번째 효소이며 O_2^- 과산화수소로 전환시켜 세포내 superoxide anion 제거를 돕는다(FRIDOVICH, 1989). El-Alfy *et al.* (2005)에 의하면 비만인 사람의 SOD 활성이 유의적으로 낮았다고 보고하였으며, 이는 본 실험과 일치하였다. HC는 약 24.09 U/mg로 가장 낮은 함량이 나타났으며, 이에 비해 HCC와 HCG는 약 28.52 , 31.92 U/mg으로 HC보다 높은 수치이지만 유의적인 차이는 나타나지 않았다.

이러한 과정에서 생성된 과산화수소는 CAT 또는 GPx에 의하여 제거 또는 무독화된다. SOD 활성에 의해 생성된 과산화수소를 CAT에서 1차적으로 방어 역할을 하며, GPx는 1

차적으로 제거되지 못한 과산화수소 및 과산화물을 제거하게 된다. 본 실험에서 CAT의 경우 우유 섭취 처리군 간의 유의적인 차이는 없었지만, HCG는 13.2 U/mg로 NC와 유의적인 차이 없이 높은 함량을 확인 할 수 있었다. GPx는 우유를 섭취한 HCC와 HCG가 NC보다 높은 함량을 보였으며, 두 처리군 간의 유의적인 차이는 나타나지 않았다.

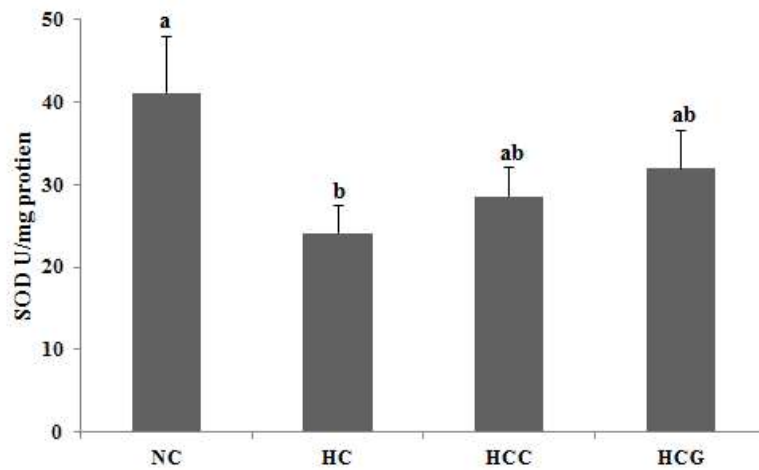


Fig. 28. Effects of grass-fed cow's milk feeding on hepatic superoxide dismutase activity in high-fat diet fed C57BL/6 mice. Values are mean of seven replicate determination (n=7) ± standard error. Different letters indicate statistically significant differences (P<0.05).

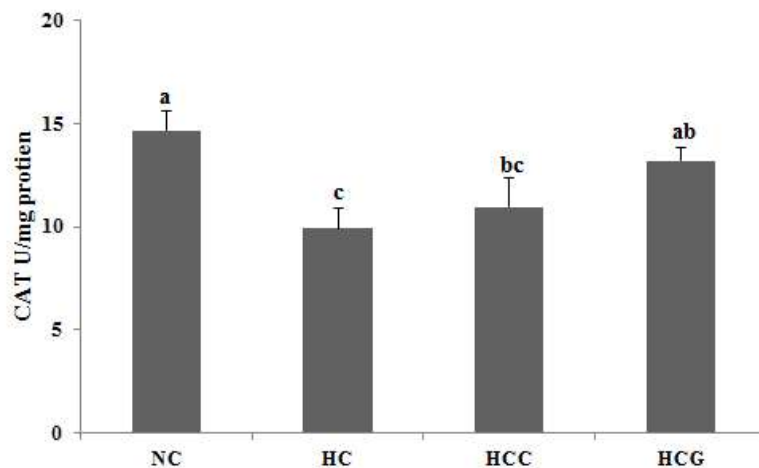


Fig. 29. Effects of grass-fed cow's milk feeding on hepatic catalase activity in high-fat diet fed C57BL/6 mice. Values are mean of seven replicate determination (n=7) ± standard error. Different letters indicate statistically significant differences (P<0.05).

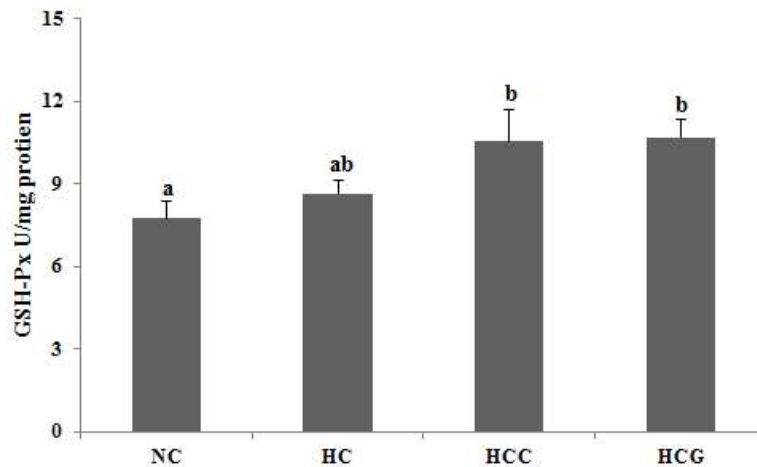


Fig. 30. Effects of grass-fed cow's milk feeding on glutathione peroxidase activity in high-fat diet fed C57BL/6 mice. Values are mean of seven replicate determination (n=7) ± standard error. Different letters indicate statistically significant differences (P<0.05).

(7) 지질대사 관련 mRNA 발현 수준

간 조직으로부터 지방산 합성 및 산화에 관여하는 유전자 발현 수준을 측정한 결과, Fig. 31, 32, 33, 34와 같다. 지방산 산화를 조절하는 중요인자 중 하나인 PPAR- α 는 갈색 지방, 간, 심장 및 근육에서 발현되고 ATP 생산을 위한 주요 공급원으로, 활성화 시 지방산 수송 단백질 및 long-chain acyl-CoA synthase 발현을 유도하여 미토콘드리아 내로 지방산 흡수를 증가시키고, CPT-1 발현을 증가시켜 지방산 산화를 증가시킨다. 간조직에서 CPT-1 mRNA 발현 수준은 HCG가 HCC보다 유의적으로 높았으며, PPAR- α mRNA 발현 수준 또한 전자와 같은 결과를 도출하였다. 이는 grass-fed원유가 일반원유보다 지방산 산화를 촉진하여 체내 지방을 억제하는 것으로 사료된다.

ACS의 조절기능은 지방산 산화 기전에 매우 중요한 대사 중간체이다. acyl-CoA synthase(ACS)는 ATP존재 하에 지방산과 CoA를 결합시켜 acyl-CoA를 합성하는 효소이다. FAS(fatty acid synthase)는 지방산 합성효소로서 세포질에서 acetyl-CoA와 Malonyl-CoA의 축합반응을 통하여 지방산의 합성을 촉진시킨다. ACS mRNA 발현 수준은 일반원유섭취군(HCC)에서 발현량이 가장 많았으며, grass-fed원유섭취군(HCG)은 HCC처리군에 비해 유의적으로 낮은 결과를 도출하였다. FAS mRNA 발현수준에서 HCG는 HCC와 유의적 차이는 나타나지 않았지만, 고지방섭취군(HC)보다 낮은 발현량이 측정되었다.

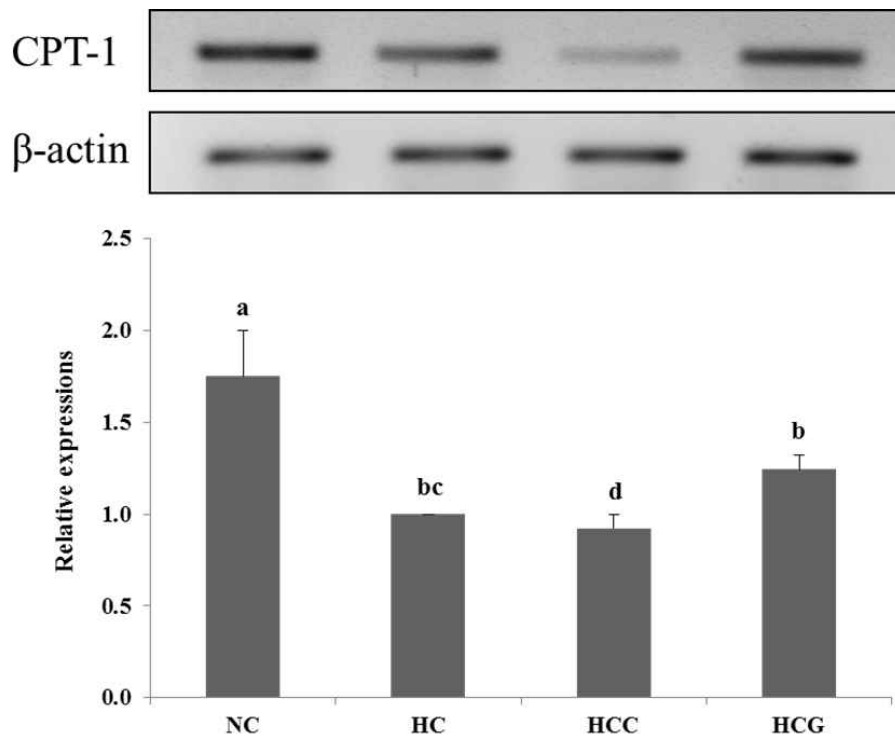


Fig. 31. Effects of grass-fed cow's milk feeding on hepatic CPT-1 gene expression in high-fat diet fed C57BL/6 mice. Values are mean of seven replicate determination (n=7) ± standard error. Different letters indicate statistically significant differences (P<0.05).

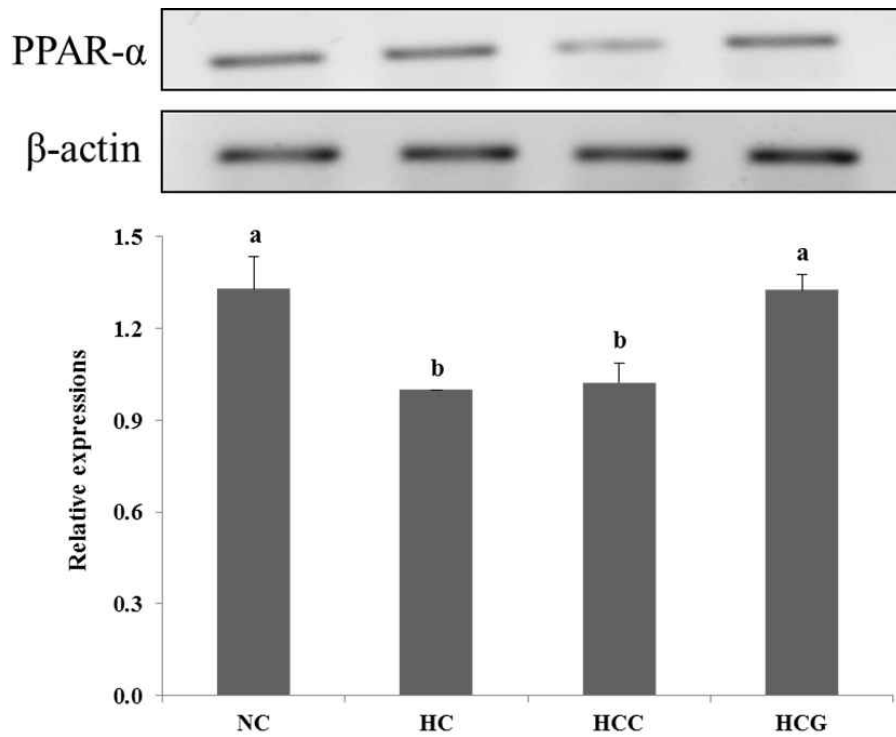


Fig. 32. Effects of grass-fed cow's milk feeding on hepatic PPAR- α gene expression in high-fat diet fed C57BL/6 mice. Values are mean of seven replicate determination (n=7) \pm standard error. Different letters indicate statistically significant differences (P<0.05).

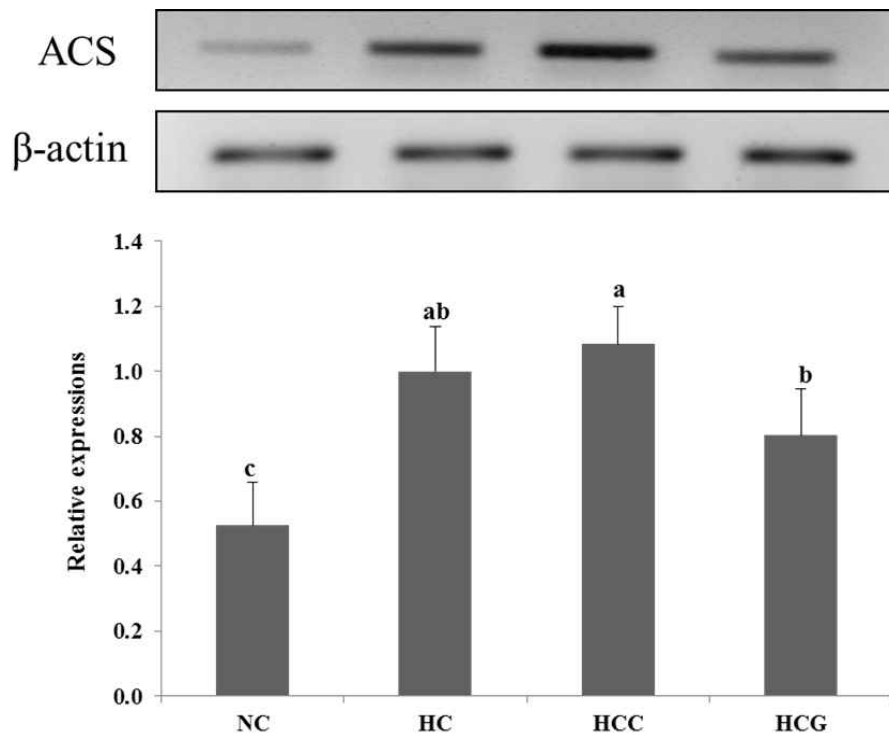


Fig. 33. Effects of grass-fed cow's milk feeding on hepatic ACS gene expression in high-fat diet fed C57BL/6 mice. Values are mean of seven replicate determination (n=7) \pm standard error. Different letters indicate statistically significant differences (P<0.05).

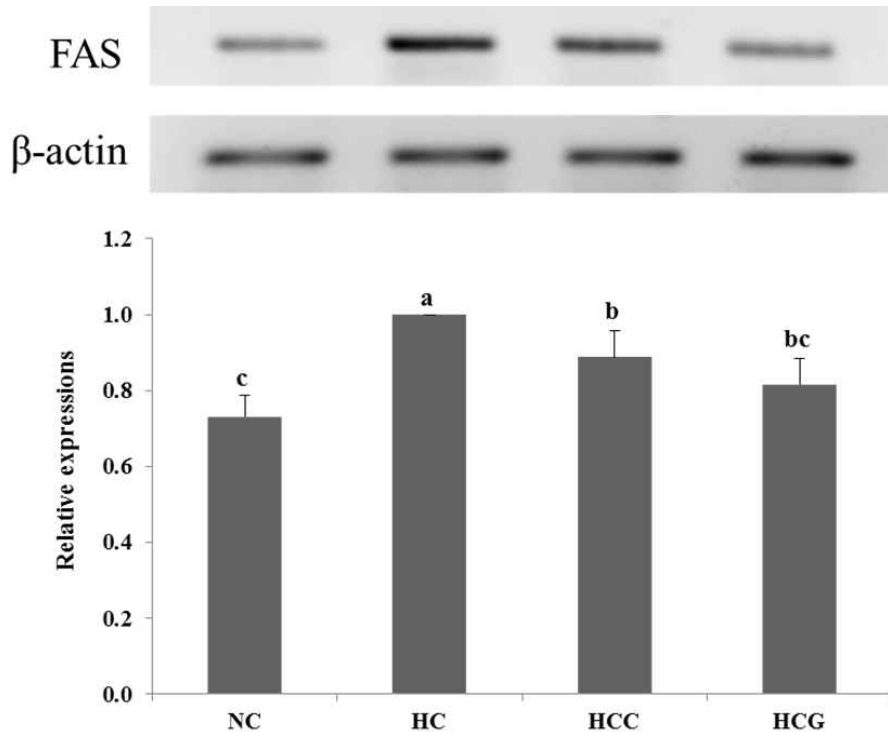


Fig. 34. Effects of grass-fed cow's milk feeding on hepatic FAS gene expression in high-fat diet fed C57BL/6 mice. Values are mean of seven replicate determination (n=7) \pm standard error. Different letters indicate statistically significant differences (P<0.05).

라. 최종결론

본 연구는 Grass-fed 젖소유래 우유의 동물모델을 이용한 지질대사 및 간 기능 개선 효능 구명하기 위해 C57BL/6 mice에 8주간 고지방 식이를 공급하며 각각의 우유를 섭취시키고 조직의 무게, 증체량, 혈액의 지질농도, 간의 지방대사 유전자 및 항산화 활성을 분석하였다. 실험 결과 HC는 고지방 식이로 인하여 체중이 증가하였으나, HCG는 최종 무게 및 부고환 지방에서 HC보다 유의적으로 감소하였다. 하지만 HCC에서는 HC와 유의적인 차이를 보이지 않았다. 총 콜레스테롤의 경우 HC, HCC 및 HCG와 유의적인 차이를 보이지 않았지만, 중성지방의 경우 HCG가 HC와 HCC에 비해 유의적으로 감소하는 결과를 얻었다. 간 지방조직의 병리학적 검사를 통해 지방구의 크기 또한 HCG는 NC와 비슷한 것을 확인하였다. 간 조직에서 항산화 활성의 경우 SOD 및 CAT에서 HCG는 NC와 유의적인 차이 없이 높은 활성을 나타냈다. 또한 간 조직에서의 지질대사 관련 mRNA 발현량을 확인한 결과, 지방산 산화를 조절하는 CPT-1과 PPAR- α 에서 HCC보다 HCG에서 높은 발현량을 나타냈으며, 합성을 조절하는 FAS와 ACS에서는 낮은 발현량을 확인할 수 있었다. 이상의 실험 결과 고지방식이와 함께 급여한 grass-fed 젖소유래 우유는 체중 및 지방조직의 무게감소와 더불어 혈중 중성지방

감소와 간 조직의 항산화 활성 증대와 지질대사 개선할 수 있는 유용한 소재가 될 수 있을 것으로 사료된다.

3. 비가열가공기술을 이용하여 제조한 우유의 품질특성 연구

가. 연구배경 및 목적

최근 음식 섭취와 관련하여 과거에는 큰 문제가 되지 않았던 알레르기 환자가 점점 증가하는 추세이다. 식품 알레르기는 영·유아와 어린이에서 주된 증상을 나타내는 것으로 다양한 식품 섭취로 인하여 야기되며, 이는 영·유아기에 섭취한 음식물을 소화시키는 소화관, 즉 장관의 미성숙으로 인하여 알레르기를 일으키는 물질의 침입을 막기가 어려워 음식 알레르기가 많이 일어나고, 3세 이후에는 장관면역계가 성숙되어 알레르기가 많이 줄어든다(Nam, 2010). 그 중 우유 및 유제품은 식품 알레르기의 원인으로 알려져 있으며 심지어 적은 양의 우유단백질이 함유되어 있는 경우에도 알레르기를 일으킬 수 있다(Sampson and H. A., 2003). 우유의 알레르기는 우유에 존재하는 거의 모든 단백질이 알레르겐으로 작용하는 것으로 보고되고 있으며, 그 중 β -lactoglobulin과 카제인 단백질들이 주요 알레르기로 알려져 있다(Yunginger, 1997). 카제인은 열에 의해 분자가 영향을 받지 않아 열에 대한 항원성 감소가 일어나지 않는 반면, 유청 단백질은 열로 인해 분자구조가 변하여 항원성이 감소할 수 있다(Lee, 2003).

대부분의 우유의 살균은 가열살균법을 가장 많이 사용되고 있으며 이러한 가열살균법은 우유의 단백질 및 비타민 C와 같은 성분을 변성시키며 특히, 고온살균 과정 중 변성된 유청 단백질은 신생아에게 항원으로 작용하여 심각한 알레르기를 유발하기도 한다(Isolauri and Turjanmaa, 1996). 가열살균 과정에서 변성된 알레르기 유발 단백질은 섭취 후 소화효소인 chymotrypsin 또는 trypsin에 의하여 분해된 후 생체 알레르기 유발 항체인 immunoglobulin E와 결합하여 알레르기를 유도한다(Beran *et al.*, 2009). 알레르기 감소를 위한 우유의 비가열 살균 기술로 HPP(high Pressure Processing) 살균법이 이용되고 있으며(Iametti *et al.*, 1997), 최근 연구에 의하면 HPP 살균 우유의 β -lactoglobulin은 trypsin에 의하여 가수분해 후에도 IgE와 결합하는 능력을 상실한다고 보고되었다(Lopez-Expósito *et al.*, 2012).

본 연구에서는 비가열가공공정 우유의 항알레르기 효과를 알아보기 위해 mast cell line인 RBL-2H3를 이용하여 염증반응의 원인인 β -hexosaminidase와 histamine의 분비량 및 염증성 cytokine TNF- α , IL-6의 발현량을 확인하였다.

나. 실험방법

(1) 우유 살균 방법

본 실험에 사용한 우유는 (주)삼양식품의 사양실험을 통해 농후사료 위주로 급여한 실험구에서 얻은 일반사료급여 원유를 이용하였다. 분석실험에 이용한 원유의 살균을 위해 HPP, HTST 및 LTLT 살균처리를 실시하였다. 즉, HPP 살균처리를 위하여 흥국F&B에 설치되어 있는 초고압살균장치(QFP 350L-600, Avure Technol., USA)를 이용하였다. 원유는 소분한 후 $15 \pm 2^\circ\text{C}$ 에서 580 MPa 및 5분간 정수압을 이용하여 살균하였다. HTST 살균은 72°C 에서 15초간, LTLT 살균은 63°C 에서 30분간 열처리한 뒤, 20°C 이하로 냉각하여 멸균 용기에 소분하였다. 그 후 deep freezer(-80°C)에서 24시간 보관 후 동결건조 하였다. 동결건조가 끝난 시료는 파쇄하여 보관하였다.

(2) 세포주 배양

RBL-2H3 세포주는 American Type Culture Collection사(Manassas, USA)로부터 분양받았으며, Dulbecco's modified eagle medium (DMEM)(Hyclone, USA) 배지에 10% fetal bovine serum (FBS)(Hyclone, USA)와 1% penicillin (Sigma-Aldrich Co., USA)을 첨가하여 37°C , 5% CO_2 를 유지하는 배양기(HERAcell 150, Thermo Electron Corp., Waltham, MA, USA)에서 배양하였다.

(3) MTT assay를 통한 세포생존율 측정

배양을 완료한 세포의 생존율은 MTT (3-[4,5-dimethylthiazole-2-yl]-2,5-diphenyl-tetrazolium bromide) (Sigma-Aldrich Co., USA) 환원 방법을 이용하여 측정하였다. 본 연구에서 사용된 RBL-2H3 세포를 10% FBS와 1% penicillin이 첨가된 DMEM 배지를 이용하여 1×10^5 cells/mL의 농도로 희석한 후 96-well plate에 분주하여 24시간 배양하였다. 동결 건조된 시료 분말을 증류수에 녹여 ($100 \mu\text{g/mL}$) 세포에 처리한 후 37°C , 5% CO_2 incubator에서 24시간 동안 반응시킨 후 MTT stock solution (5mg/mL)을 넣고 37°C , 5% CO_2 incubator에서 4시간 동안 반응시켰다. 반응 후, MTT를 환원시켜 생성된 formazan이 배지에 따라 나가지 않게 배지를 조심스럽게 제거하였다. 그런 다음 $200 \mu\text{L}$ dimethyl sulfoxide (DMSO)를 첨가하여 암실에서 15~20분 반응시킨 후 Macro Plate reader (BioTek, USA)를 이용하여 570 nm 에서 흡광도를 측정하였다.

$$\text{세포생존율}(\%) = \frac{\text{시료 처리군의 흡광도}}{\text{대조군의 흡광도}} \times 100$$

(4) Histamine release 억제효과 분석

histamine의 분비를 측정하기 위하여 RBL-2H3 세포를 10% FBS와 1% penicillin이 포함된 DMEM을 이용하여 24-well plate에 2×10^5 cells/mL로 분주한 뒤 0.5 $\mu\text{g/mL}$ dinitrophenyl-Immuno globulin E (DNP-IgE) (Sigma-Aldrich Co., USA)를 첨가하여 37 $^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 incubator에서 18시간 배양하였다. 배양 후 배지를 제거 하고 500 μL HEPES-Buffered Tyrode's (10 mM HEPES, 135 mM NaCl, 2.8 mM KCl, 1 mM MgCl, 2 mM CaCl_2 , 12 mM NaHCO_3 , 0.4 mM NaH_2PO_4 , 0.25% BSA, Glucose, pH 7.4) (Boston BioProducts Inc., Ashland)로 2번 세척한 다음 HEPES-Buffered Tyrode's 160 μL 첨가하여 37 $^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 incubator에서 10분간 배양하였다. 동결 건조된 시료 분말을 증류수로 희석 (100 $\mu\text{g/mL}$)하여 40 μL 첨가한 후 37 $^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 incubator에서 2시간 동안 반응시켰다. 이후 10 $\mu\text{g/mL}$ DNP-BSA (Santa cruz Biotechnology Inc., USA)을 가하여 37 $^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 incubator에서 2시간 동안 반응시키고 ice bath에서 10분간 incubation하여 반응을 종결시켰다. 반응 혼합물을 4 $^{\circ}\text{C}$, 500 \times g에서 10분간 원심분리 후 상등액을 분리하여 1.5 mL tube에 25 μL 를 넣고 0.1 N HCl 22.5 μL , 60% HClO_4 2.5 μL 를 넣고 혼합 후 원심분리 하였다. 그 상등액 40 μL 를 5 N NaOH용액 25 μL , n-butanol 500 μL 및 NaCl 0.06 g을 혼합한 튜브에 넣고 진탕 후 원심분리 (2000 rpm, 10min)하여 상등액 400 μL 를 새 1.5 ml tube에 넣고 0.1 N HCl 용액 150 μL , n-heptane 0.5 mL를 가하여 진탕 후 원심분리하였다. 여기에서 얻어진 수층 100 μL 에 1 N NaOH 용액 200 μL 와 0.1% o-phthaldialdehyde 용액 5 μL 를 넣고 혼합 후 37 $^{\circ}\text{C}$ 에서 3분 동안 반응시킨 후 3 N HCl 용액 10 μL 를 넣고 혼합하여 2분 동안 방치한 후 360 nm (excitation)과 450 nm (emission)에서 microplate reader (Molecular Devices, USA)로 형광도를 측정하였다. 다음 식에 의해 release (%)를 산출하였다.

$$\text{release}(\%) = \{1 - (\text{Control} - \text{Treated}) / \text{Control}\} * 100$$

Control : IgE (+), DNP-BSA (+), test sample (-)

Treated : IgE (+), DNP-BSA (+), test sample (+)

(5) β -hexosaminidase 저해효과 분석

β -Hexosaminidase 분비를 측정하기 위하여 RBL-2H3 세포를 10% FBS와 1% penicillin이 포함된 DMEM을 이용하여 24-well plate에 2×10^5 cells/mL로 분주한 뒤 0.5 μ g/mL dinitrophenyl-Immuno globulin E (DNP-IgE) (Sigma-Aldrich Co., USA)를 첨가하여 37 $^{\circ}$ C, 5% CO₂ incubator에서 18시간 배양하였다. 배양 후 배지를 제거 하고 500 μ L HEPES-Buffered Tyrode's (10 mM HEPES, 135 mM NaCl, 2.8 mM KCl, 1 mM MgCl, 2 mM CaCl₂, 12 mM NaHCO₃, 0.4 mM NaH₂PO₄, 0.25% BSA, Glucose, pH 7.4) (Boston BioProducts Inc., Ashland)로 2번 세척한 다음 HEPES-Buffered Tyrode's 160 μ L 첨가하여 37 $^{\circ}$ C, 5% CO₂ incubator에서 10분간 배양하였다. 동결 건조된 시료 분말을 증류수로 희석 (100 μ g/mL)하여 첨가한 후 37 $^{\circ}$ C, 5% CO₂ incubator에서 2시간 동안 반응시켰다. 이후 10 μ g/mL DNP-BSA (Santa cruz Biotechnology Inc., USA)을 가하여 37 $^{\circ}$ C, 5% CO₂ incubator에서 2시간 동안 반응시키고 ice bath에서 10분간 incubation하여 반응을 종결시켰다. 반응 혼합물을 4 $^{\circ}$ C, 500 \times g에서 10분간 원심분리하여 상등액을 분리하고 상등액 25 μ L를 96-well plate에 옮기고 substrate buffer (1 mM 4-Nitrophenyl-N-acetyl- β -D-glucosaminide in 0.05 M citrate buffer, pH 4.5) 25 μ L를 넣은 후 37 $^{\circ}$ C, 5% CO₂ incubator에서 1시간 동안 배양시켰다. 배양이 끝난 후 0.1 M Na₂CO₃/NaHCO₃를 200 μ L 첨가하여 반응을 종결시키고 ELISA reader를 이용하여 405 nm에서 흡광도를 측정하였다.

$$\text{Release (\%)} = \{1 - (\text{Control} - \text{Treated}) / \text{Control}\} * 100$$

Control : IgE (+), DNP-BSA (+), test sample (-)

Treated : IgE (+), DNP-BSA (+), test sample (+)

(6) Cytokine (IL-6, TNF- α) 분비능 측정

RBL-2H3를 24-well plate에 2×10^5 cells/mL의 세포와 DNP-IgE (0.5 μ g/mL)를 분주한 뒤 37 $^{\circ}$ C, 5% CO₂ incubator에서 18시간 배양한 다음 동결 건조된 시료 분말을 증류수에 녹여 (100 μ g/mL) 세포에 처리하였다. 2시간 동안 배양 후 DNP-BSA (10 μ g/mL)를 가하여 37 $^{\circ}$ C, 5% CO₂ incubator에서 2시간 반응시켰다. 그 다음 ice bath에서 10분간 incubation하여 반응을 종결시킨 후 4 $^{\circ}$ C, 500 \times g에서 10분간 원심분리하여 상등액을 분리하였다. 상등액을 IL-6 ELISA kit (R&D Systems Inc., USA)와 TNF- α ELISA kit (BD OptEIA™, USA)를 사용하여 측정하였다.

(7) 통계분석

실험 결과는 SPSS 22.0(SPSS Inc., Chicago, IL, USA)을 이용하여 ANOVA로 분석하였고, 집단 간 비교를 위한 사후분석은 Duncan's로 검증하였으며 $P < 0.05$ 이상일 때만 통계적 유의성이 있는 것으로 판단하였다. 모든 분석항목은 3회 이상 반복 시험하여 얻은 결과를 평균±표준편차로 나타내었다.

다. 실험 결과

(1) MTT assay를 통한 세포생존율 측정

살균처리한 우유의 RBL-2H3 세포주로부터 세포생존율에 미치는 영향을 분석한 결과는 Fig. 35와 같다. 각각의 살균처리한 우유 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 처리 농도에서 약 95% 이상의 세포 생존율을 나타내는 것을 확인 할 수 있었다. 따라서 살균처리한 우유의 세포독성이 나타나지 않는 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 농도에서 실험을 진행 하였다.

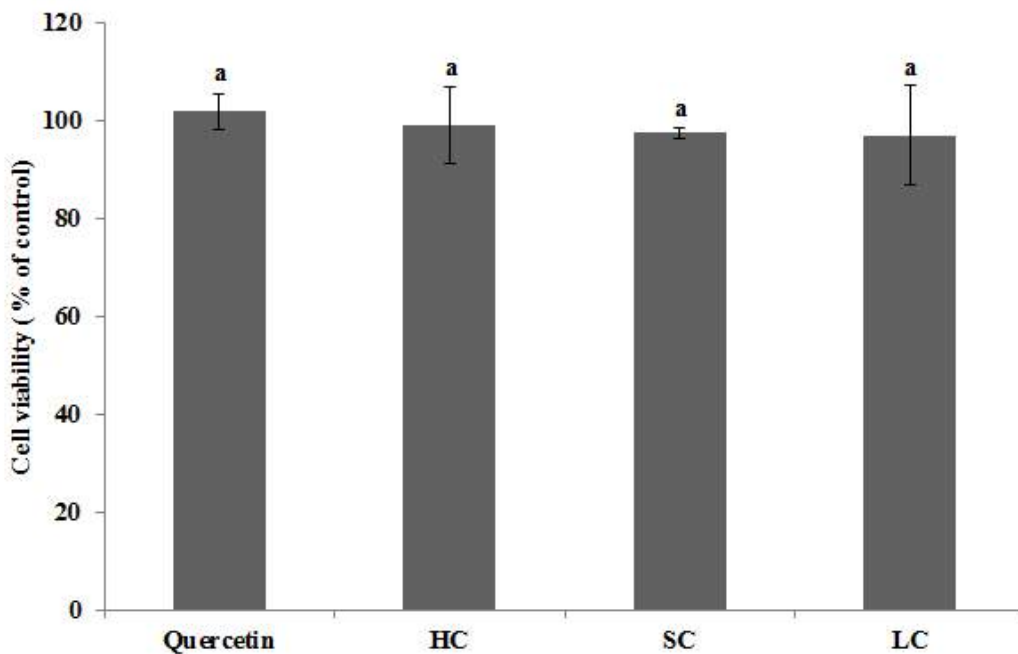


Fig. 35. The effect of differences in sterilized milk on cell viability from RBL-2H3 cells. HC : high pressure processing (HPP), SC : high temperature short time (HTST), LC : low temperature long time (LTLT). Sample concentration was adjusted to 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Quercetin (10 μM) was used positive control. Values are mean of three replicate determination ($n=3$) \pm standard deviation. Different letters indicate statistically significant differences ($P<0.05$).

(2) Histamine release 분석

비만세포는 세포표면에 $\text{Fc}\epsilon\text{RI}$ 수용체를 발현하고 있으며 항원들이 이 수용체에 결합된 IgE와 교차 결합되면 활성화가 시작되고 탈과립화가 진행된다. 탈과립화는 즉시반응인 항원 결합 후 5-10 분 내에 발생하여 histamine 등 이미 생성되어 있는 다양한 종류의 화학적 매개물질들을 세포 밖으로 방출한다(Ban *et al.*, 2012). 따라서 histamine은 비만세포의 활성화

화에 대한 탈 과립 (degranulation)의 지표로 알레르기 억제물질의 생물활성 측정에 널리 사용되고 있다(Mekori and Metcalfe, 2000). 활성화된 RBL-2H3 세포를 통하여 우유의 살균조건에 대한 histamine의 방출량을 알아본 결과는 Fig. 36과 같다. 그 결과, HPP 살균 우유(HC)에서는 Control 대비 75.89%로 HTST 살균 우유(SC) 보다 약 10.05% 유의적으로 낮은 방출량을 확인하였다. LTLT 살균 우유(LC)군과는 유의적인 차이가 없었지만, HC군에서 가장 낮은 histamine이 방출된 것으로 나타났다.

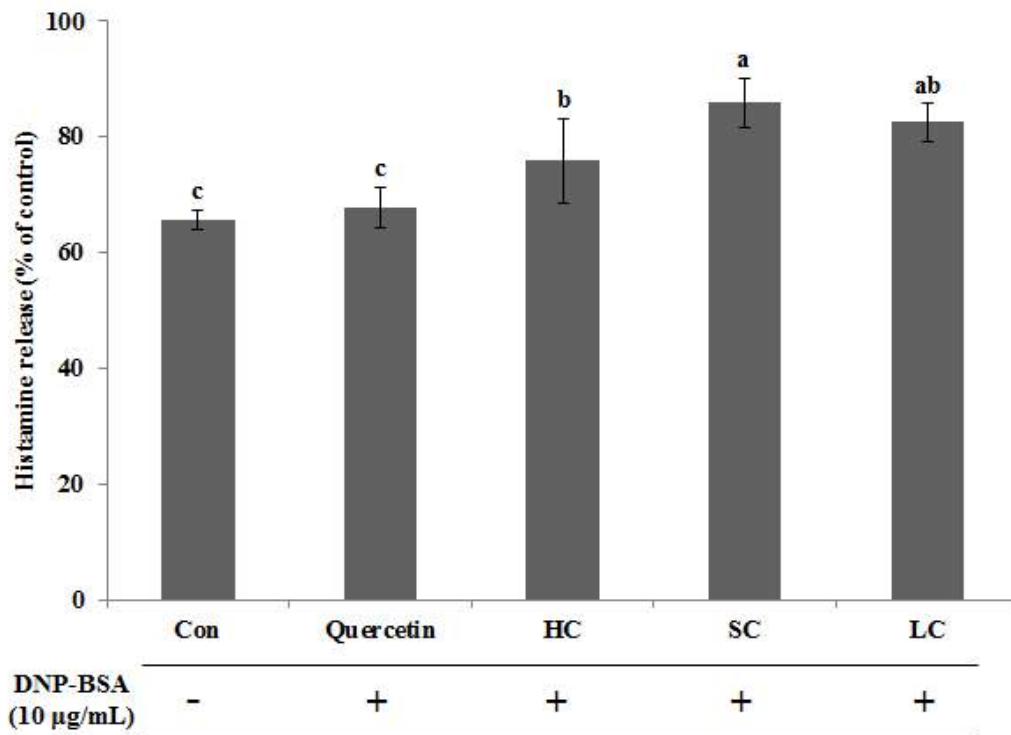


Fig. 36. The effect of differences in sterilized milk on IgE-mediated Histamine release from RBL-2H3 cells. HC : high pressure processing (HPP), SC : high temperature short time (HTST), LC : low temperature long time (LTLT). Sample concentration was adjusted to 100 µg/mL. Quercetin (10 µM) was used positive control. Values are mean of three replicate determination (n=3) ± standard deviation. Different letters indicate statistically significant differences (P<0.05).

(3) β-hexosaminidase 저해효과 분석

β-Hexosaminidase는 비만세포가 면역학적으로 활성화될 때 histamine과 함께 부수적으로 분비되며(Mastuda *et al.*, 2002), histamine 측정법 보다 방법이 간단하고 자외선 영역에서 용이하게 측정될 수 있기 때문에 비만세포 탈과립의 표지인자로 유용하게 사용되고 있다. 따라서 우유의 살균조건에 따른 β-Hexosaminidase의 방출량을 알아보기 위해

RBL-2H3 세포를 이용하여 측정한 결과는 Fig. 37.과 같다. LC는 대조군에 비해 70.84%를 나타내어 가장 높은 hexosaminidase의 활성을 나타내었으며 SC와는 유의적인 차이가 나지 않았다. 하지만 HC는 60.26%로 LC보다 약 10.58% 감소한 방출량을 측정하였다.

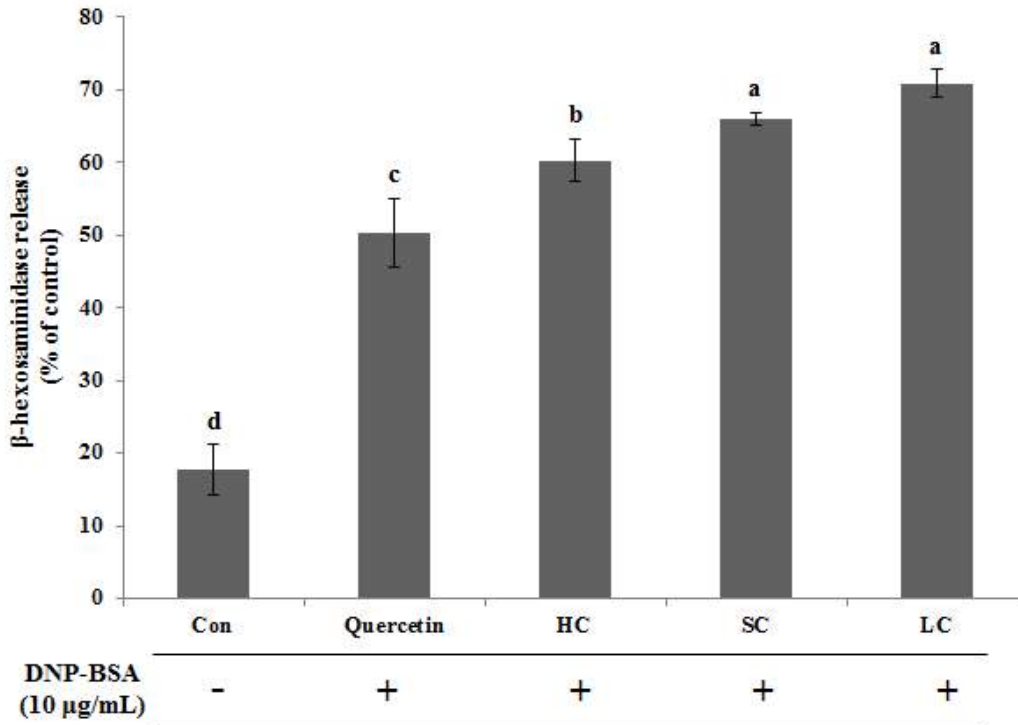


Fig. 37. The effect of differences in sterilized milk on IgE-mediated β β -hexosaminidase release from RBL-2H3 cells. HC : high pressure processing (HPP), SC : high temperature short time (HTST), LC : low temperature long time (LTLT). Sample concentration was adjusted to 100 μ g/mL. Quercetin (10 μ M) was used positive control. Values are mean of three replicate determination (n=3) \pm standard deviation. Different letters indicate statistically significant differences (P<0.05).

(4) Cytokine (IL-6, TNF- α) 분비능 측정

TNF- α 는 대식세포와 비만세포 등에서 생성되어 많은 염증을 유발하는 인자로, 국소적인 알레르기 염증반응에 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다(Gordon *et al.*, 1990). 알레르기 반응이 시작되면 비만세포에서 탈과립이 일어나면서 내부의 히스타민 및 다른 염증 매개인자들과 함께 유출하게 되어 증상을 더욱 악화시킨다(Chung and Barnes, 1999). TNF- α 는 자가 분비뿐만 아니라 IL-6와 같은 염증성 cytokine의 유도인자이다. IL-6는 T cell, monocytes, macrophage 등에 의해 생성되는 다면발현 염증성 cytokine이며, B cell 분화의

유도와 T cell의 성장과 분화 등의 기능을 가진다(Ko *et al.*, 2013). 따라서 RBL-2H3 cell에서 분비된 TNF- α 의 양은 대해 조사한 결과, 아무런 처리를 하지 않은 경우 9.28 pg/mL로 낮은 함량을 나타내었으며, BSA를 처리한 경우 25.27 pg/mL로 현저히 증가되는 것을 확인하였다. HC는 31.24 pg/mL로 LC보다 유의적으로 감소한 것을 나타냈지만, SC와는 유의적인 차이가 나지 않았다. 하지만 HC는 처리군 중 가장 낮은 수치를 나타내었으며 BSA를 첨가한 Con과 유의적인 차이를 보였으며 억제됨을 확인할 수 있었다.

같은 방법으로 RBL-2H3 세포의 IL-6 분석 결과는 Fig. 39와 같다. SC와 LC는 각각 35.58, 33.92 pg/mL로 BSA를 첨가한 Con과 유의적인 변화를 볼 수 없었다. 반면에, HC는 28.08 pg/mL의 함량을 나타내었으며, positive control인 Quercetin과 유의적인 차이 없이 낮은 함량을 확인할 수 있었다.

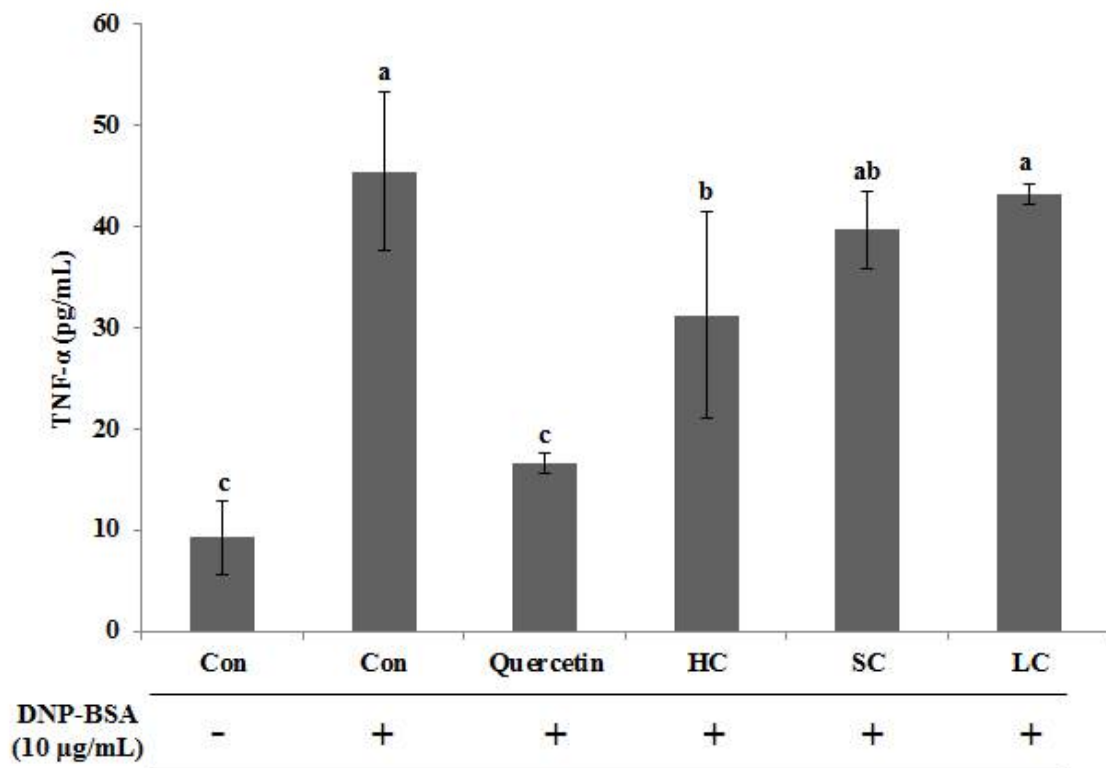


Fig. 38. The effect of differences in sterilized milk on TNF- α from RBL-2H3 cells. HC : high pressure processing (HPP), SC : high temperature short time (HTST), LC : low temperature long time (LTLT). Sample concentration was adjusted to 100 μ g/mL. Quercetin (10 μ M) was used positive control. Values are mean of three replicate determination (n=3) \pm standard deviation. Different letters indicate statistically significant differences (P<0.05).

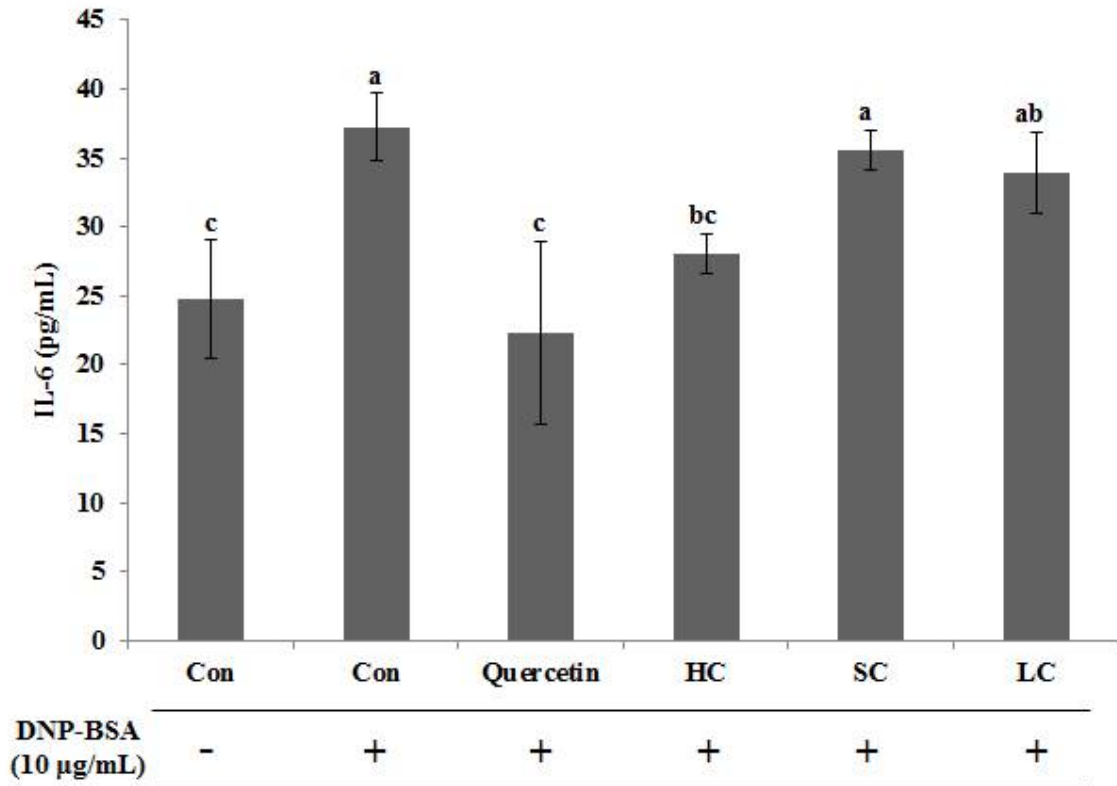


Fig. 39. The effect of differences in sterilized milk on IL-6 from RBL-2H3 cells. HC : high pressure processing (HPP), SC : high temperature short time (HTST), LC : low temperature long time (LTLT). Sample concentration was adjusted to 100 µg/mL. Quercetin (10 µM) was used positive control. Values are mean of three replicate determination (n=3) ± standard deviation. Different letters indicate statistically significant differences (P<0.05).

라. 최종결론

우유의 살균처리에 따른 항알레르기 활성을 조사하기 위해, 비만세포주인 RBL-2H3 세포를 이용하였으며, 우유를 처리한 후 BSA를 이용하여 세포를 활성화 시켜 분비되는 Histamine, β-Hexosaminidase 및 Cytokine (IL-6, TNF-α)의 양을 측정하였다. 그 결과 활성화된 비만세포에서 분비되는 Histamine, β-Hexosaminidase 및 Cytokine (IL-6, TNF-α)이 가열 살균한 우유보다 HPP 살균한 우유에서 억제하는 것을 확인 할 수 있었다. 따라서 HPP 살균 우유는 가열 살균한 우유보다 알레르기 반응을 억제시키는 것으로 판단된다.

제 4장. 목표달성도 및 관련분야 기여도

제 1절. 목표달성도

구분 (연도)	세부과제명	세부연구목표	달성 도 (%)	연구개발 수행내용
1차 년도 (2015)	(제 1 세부) 삼양식품(주)	국내외 친환경 및 산지 생태축산 모델의 운영 사례, 법령, 산업화 연 구	100	<ul style="list-style-type: none"> ◎ 국내 산지초지 축산 운영사례 조사 ◎ 국외 산지초지 축산 운영사례 조사 ◎ 초지법 등의 관련 제도 현황 파악 ◎ 산지생태 축산 모델 전략안 도출
	친환경 젖소 및 육우 사양 기술을 통한 건강 기능성 육우고기 및 유제 품의 상품화	Grass fed 위주 사료 의 영양적 품질 특성 및 사양기술에 대한 연 구 대관령 EGC목장 (grass fed 위주)과 일 반목장의 사료급여 차 이에 의한 동물복지 상 관관계 분석	100	<ul style="list-style-type: none"> ◎ 사료의 영양성분 및 에너지 분석 ◎ 사료의 지방산 profile 분석(n3:n6 ratio) ◎ 사료급여 목장의 사양 기술 최적화 <ul style="list-style-type: none"> - 대관령, 제주목장 등에서 현장적용 예정 ◎ 육우 혈액의 이화학적 특성분석 <ul style="list-style-type: none"> - 육우 혈액의 지방산 profile 분석 ◎ Stress 측정 지표 선정 및 분석 <ul style="list-style-type: none"> - lactic acid, glucose 등 분석
	홍국F&B 비가열살균방법 (HPP)의 가공적 성 연구	국내외 관련기술, 시장 조사, 개발상황, 산업 화, 법령검토 축산물의 비가열살균법 의 현황 및 기술 검토	100	<ul style="list-style-type: none"> ◎ 식품 비가열공정 연구 ◎ HPP(High Pressure Processing) 연구 ◎ HPP 살균 및 장치 특징에 대한 연구 ◎ 국내외제품 HPP 적용 및 시장현황 연구
	(제 1 협동) 강원대학교 자연친화적 젖소 (육우) 고기의 기 능적 품질에 관한 연구	자연친화적 건강기능성 육우고기의 영양적 품질 특성 구명	100	<ul style="list-style-type: none"> ◎ 5대 일반 영양성분의 분석 ◎ 육우고기의 품질특성 <ul style="list-style-type: none"> - 육우 고기의 색깔(L,a,b), 색소산화(Mb, OxyMb, MetMb), pH측정, Cooking loss, TPA에 의한 조직감 분석, CAT, GSH-Px, SOD activity 측정(지방산화도), Electric nose에 의한 맛과 풍미

				<p>분석</p> <p>◎ 비열초고압처리에 따른 육우고기의 품질특성 분석</p> <p>- 색깔(L,a,b), 색소산화(Mb, OxyMb, MetMb), pH측정, Cooking loss, TPA에 의한 조직감 분석, CAT, GSH-Px, SOD activity 측정(지방산화도), Electric nose에 의한 맛과 풍미 분석</p>
		Grass fed beef의 건강 기능성 인자 탐색	100	<p>◎ 자연친화적 건강기능성 육우의 사육기간 중 혈액성분 구명</p> <p>- 건강 기능성 지방산 profile 비교분석, 혈액성분 분석</p> <p>◎ 자연친화적 건강기능성 육우고기의 건강기능성 인자탐색</p>
(제 2 협동) 강원대학교 자연친화적 건강 기능성 유제품연 구	Grass-fed 젖소우래 자연친화적 우유의 영 양학적 품질특성 연구		100	<p>◎ Grass-fed 젖소우의 지방산 profile 분석</p> <p>- 지방산 추출 및 GC/FID 분석</p> <p>- 포화지방산 및 불포화지방산 비율 분석</p> <p>- 불포화지방산 n-6 : n-3 비율 분석</p> <p>- GC/FID를 이용한 CLA 함량 분석</p> <p>◎ Grass-fed 젖소우의 이화학적 품질특성 차이 구명</p> <p>- 원유의 기능적 영양성분 분석</p> <p>·비타민: 비타민 A, 비타민 D, thiamin, riboflavin 분석</p> <p>·미네랄: calcium, magnesium, phosphorus, potassium, selenium, zinc 분석</p> <p>- 관능적 특성 검사</p> <p>grass-fed 젖소우의 소비자 기호도 분석</p>
	Grass-fed 젖소우래 우유의 동물모델을 이		100	<p>◎ 동물모델을 이용한 지질대사 개선효능 분석</p> <p>- 혈청 cholesterol, HDL cholesterol 분석</p>

		용한 지질대사 및 간 기능 개선효능 구명		<ul style="list-style-type: none"> - 혈청 triglyceride 함량 측정 - 중체량 분석 ◎ 동물모델을 이용한 간 기능 개선효능분석 - 혈청 ALT, AST, ALP 간 기능 지표분석 - SOD 활성측정 ◎ 동물모델을 이용한 항고지혈 효능 시험 - 간 세포내 지방합성관련 유전자(Fatty acid synthase (FAS), Acyl CoA synthase (ACS) 등, PPAR-α 및 CPT-1)의 real-time PCR을 이용한 발현정도 분석
2차 년도 (2016)	(제1세부) 삼양식품(주) 친환경 젖소 및 육우 사육을 통한 건강에 유익한 육 우고기 및 우유의 상품화	건강기능성 육우고기 생 산 및 육가공 제품(원너, 약드부어스 트, 소떡갈비) 제조 생산	100	<ul style="list-style-type: none"> ◎ 숙성 조건 설정 - 온도, 습도 설정 ◎ 배합비 설정 ◎ 기호성 분석 - 관능검사 후 데이터 분석 ◎ 제품 종류별 현장 제조 실험 및 제품화 작업 ◎ 개발제품의 원가 및 판매가격 설정 연구
	(위탁과제) 홍국F&B 비가열살균방법 (HPP) 가공적성 연구	비열처리 살균을 위한 최 적화된 포장 기술	100	<ul style="list-style-type: none"> ◎ 포장 재질 및 형태 개발 - 제품유통에 적합한 재질 검토 ◎ 충전 방법 개발
		축산물의 미생물 제어 효 과 연구 및 목적 제품의 관리 규격기준 및 규격 표준화 연구	100	<ul style="list-style-type: none"> ◎ 제품별 보존성 실험 - 미생물 검사진행 ◎ 축산물의 미생물제어 효과가 상품화 가능수준 - 축산물 가공기준 및 성분규격 내 기준 ◎ 축산물의 검사기준표 - 축산물 가공기준 및 성분 규격 내 기준보다 높 은 기준설정
	(제1협동) 강원대학교 자연친화적 건강 기능성 젖소(육우) 고기제품의 탐색	친환경 방목사양과 사료 급여로 육우고기의 기능 성 육질향상	100	<ul style="list-style-type: none"> ◎ 영양 기능성분 비교 - 식육의 조성, 지방산 조성 분석 ◎ 생육, 건조속성육, 진공포장 숙성육의 기호도 분 석 - Electric nose, TPA, CIE Lab 분석

	에 관한 연구			<ul style="list-style-type: none"> - 지방산 profile 분석, 관능검사 ◎ 비열초고압가공육의 기호도 분석
		혈액의 건강인자와 지방산 조성이 육질 미치는 영향 구명	100	<ul style="list-style-type: none"> ◎ pH, Drip loss, Cooking loss, 보수력, 전단력, 일반성분 분석 ◎ 혈액의 건강인자와 지방산 조성이 육질 미치는 영향 구명 - 혈액의 미네랄, 대사산물, 단백질, 효소, 지방함량이 육질에 미치는 영향 - 혈액의 지방산 조성이 육질의 n6/n3 지방산 비율에 미치는 영향
(제2협동) 강원대학교	비가열 초고압처리 기술 이용하여 제조한 우유의 품질특성 분석	비가열 초고압처리 공정 변수에 따른 살균효과 연구	100	<ul style="list-style-type: none"> ◎ 온도 및 시간에 따른 살균 효과 분석여부(총균수 측정을 통한 비교분석) ◎ 원유의 미생물이 제어되는 가열온도 및 시간 조건 확립(총균수를 통한 대조군 와 비교분석)
		비가열 초고압처리에 따른 우유의 품질변화 연구	100	<ul style="list-style-type: none"> ◎ 비타민 A, 비타민 D, thiamin, riboflavin 등(최소 3종) 분석여부 ◎ calcium, magnesium, phosphorus, potassium, selenium, zinc 등(최소 5종) 분석여부
		비가열 초고압처리 우유의 항알레르기 효과 연구	100	<ul style="list-style-type: none"> ◎ β-hexosaminidase 저해효과 분석여부(세포실험을 통한 방출억제 효과 탐색) ◎ Histamin release 억제효과 분석여부 ◎ 사이토카인(TNF-α, IL-6 등 최소 2종) 분석여부

제 2절. 관련분야 기여도

- 본 연구개발은 국내 산지초지의 여러 case study를 모아 축산 경영을 위한 기초 및 응용자료로 활용할 수 있음
- TMR사료, 리드카나리아그라스 그리고 아마씨유가 함유된 곡물과 리드카나리아그라스를 40:60 으로 혼합한 사료(Mix)의 제품화 및 오메가지방산 발현성을 확인한 결과 Mix 사료의 오메가지방산 비율이 가장 뛰어났고, 우수한 증체량을 보여 제품화의 가능성을 보임.

- 초지 위주의 먹이를 급여한 육우로 육가공 제품을 제조 생산한 결과, 생육에 비해 기호성과 관능검사 결과가 높은 것을 확인하였고, 숙성 조건 및 배합비 연구, 그리고 마케팅에 관한 연구로부터 제품화 및 시판 가능성을 확인하였음
- 유가공품, 즉 요거트와 치즈 제조 시 가열살균의 대체제로써 High Pressure Processing(비열초고압처리)의 가능성을 확인하였으며, HPP 처리 유가공품의 이화학, 미생물 및 물성 분석을 통해 우수한 살균효과를 보였음. 다만, 국내에서 유제품 HPP는 법적으로 허용하고 있지 않으므로 본 연구결과를 정책활용 등 기초자료로 활용할 수 있음
- TMR사료, 조사료 그리고 아마씨유가 함유된 곡물과 조사료를 40:60 으로 혼합한 사료(Mix)를 홀스타인 거세우에 급여하였을 때 혈액지표성분, 지방산조성, 육질특성을 분석하였고, 이에 따른 차이를 확인하였으며, Mix사료를 급여하는 것이 건강기능성과 경제적인 측면에서 바람직한 것을 확인하였음
- 진공포장상태의 압력처리하지 않은 생육과 High Pressure Processing(비열초고압처리)처리한 쇠고기의 육질특성을 분석하였으며, 아직 국내에서는 관련 연구가 부족한 실정이기 때문에 본 연구결과를 기초자료로 활용할 수 있음
- 자연친화적 건강 기능성 우유 제품의 새로운 방향 제시
 - (1) Grass-fed 젖소유의 포화지방산 및 불포화지방산의 분석을 통한 일반 사료 급여 우유와의 지방산 조성 차이를 규명
 - (2) C57BL/6의 동물모델을 이용하여 Grass-fed 젖소유의 섭취를 통한 지질대사 및 간 기능개선 효능을 평가
 - (3) 소비자 기호도 평가를 통한 Grass-fed 젖소유의 제품화 발전 가능성 확보
- 비가열가공기술 우유의 제품을 통한 새로운 우유 살균법
 - (1) 비가열가공기술 우유의 저장실험에서 이화학적 및 영양학적 품질특성 평가를 통하여 새로운 제품개발의 방향 제시
 - (2) 기존 가열살균법 (LTLT, HTST, UHT) 적용 시 초래되는 유단백 변성을 통한 알레르기 반응을 억제할 수 있는 살균법으로서 가능성을 확인

제 5장. 연구결과의 활용계획

제 1절. 논문실적

논문(국내외 전문학술지) 게재							
번호	논문명	학술지명	주저자명	호	국명	발행기관	SCI여부 (SCI/비SCI)
1	조사료와 Flaxseed oil 급여가 Friesian-Holstein 육우의 증체량과 분변 내 미생물 특성에 미치는 영향	동물자원 연구	정인애	Vol. 27(1) Accepted 09 June 2016	대한 민국	강원대학교 동 물 자원 공동 연 구소	비SCI
2	고압살균처리한 원유로 제조한 발효유의 저장 중 유산균수 변화와 이화학적 특성	한국식품 영양과학 회지	안성일	제45권 6호	대한 민국	한국식품영양 과학회	비SCI
3	High Pressure Processing for Dark-Firm-Dry Beef: Effect on Physical Properties and Oxidative Deterioration during Refrigerated Storage	Asian-A ustralasi an Journal of Animal Sciences	Dicky Tri Utama	Published online 11 June 2016	대한 민국	Asian-Austr alasi an Association of Animal Production Societies (AAAP)	SCI
4	Blood profile and meat quality of Holstein-Friesian steers finished on total mixed 1 ration or flaxseed oil-supplemented pellet mixed with <i>Phalaris arundinacea</i> haylage (심사중)	Animal	Dicky Tri Utama		영국	Cambridge University	SCI
5	살균처리조건의 의한 grass-fed 우유의 품질특성	동물자원 연구	주진우	제26권 1호	대한 민국	강원대학교 동 물 자원 공동 연 구소	비SCI

제 2절. 학술대회 발표 실적

국내 및 국제 학술회의 발표 (학술회의명을 세부적으로 전부(건별로) 기록하고, 국외인 경우 반드시 국명을 기록.- 본 연구과제의 수행결과로 발표한 것만 기재합니다.)						
번호	학술발표제목	회의명칭	발표자	발표일시	장소	국명
1	조사료 위주의 TMR 급여시 우유 내 오메가-3 함량 변화 연구	[2015 한국유가공기술과학회] 유제품과 대사질환 예방	전가영, 정운 시,전정태	2015.5.14	서울우유 중앙연구 소	대한 민국
2	Carcass Characteristics and Fatty Acid Composition of Beef Loin of Friesian-Holstein Steers Fed Conventional Diet, Omega-3-rich Pellets or Grass.	[2015 (사)한국식품영양과학회 국제 심포지엄, 정기학술대회] Phytonutrients and Heathy Foods(식물유래 기능성 영양성분과 건강안전식품)	정인애, 박수 현, 전정태	2015.8.24	평창 알펜시아 리조트	대한 민국
3	비가열 초고압 처리에 따른 DFD(Dark-Firm-Dry)거 세 육우 등심 부위의 품질특성	[제47차 (사)한국축산식품학회] 건강기능성 축산식품 소비촉진을 위 한 신소재와 신기술	이승규, 백기 호, 디키틀리 우타마, 전정 태, 이성기	2015.5.21	국립 축산과학 원	대한 민국
4	Plasma fatty acid composition of Friesian-Holstein steers fed with omega-3 enriched diet or grass during finishing period	[2015년(사)한국동물자원과학회] 국내 축산업의 위기 극복 전략	디키틀리우타 마,이승규, 백 기호, 전정태, 김단일, 이성기	2015.6.25	건국대학 교	대한 민국
5	Effects of high pressure processing on physicochemical quality attributes of DFD beef loin	[61st International Congress of Meat Science & Technology] Meat and health	이승규, 백기 호, 디키틀리 우타마, 박수 현, 정인애, 전정태, 이성 기	2015.8.25	Clermont -Ferrand	프 랑스
6	Changes in antioxidant enzymes activity of DFD	[61st International Congress of Meat Science & Technology]	디키틀리우타 마,이승규, 백	2015.8.25	Clermont -Ferrand	프 랑스

	beef subjected to high pressure processing during chilled storage	Meat and health	기호, 박수현, 정인애, 전정태, 이성기			스
7	Producing omega-3-enriched beef from dairy steers with flaxseed oil-supplemented pellet and haylage	[제48차 (사) 한국축산식품학회] 글로벌 식문화 구축을 위한 축산식품과 과학의 만남	디키티리우타마, 이승규, 백기호, 정운시, 정인애, 김거유, 이성기	2016.5.27	국립축산과학원	대한민국
8	Meat quality and fatty acid composition of beef from dairy steers finished on total mixed ration or <i>Phalaris arundinacea</i> haylage	[62nd International Congress of Meat Science & Technology]	이성기, 디키티리우타마, 백기호, 이승규, 정운시, 정인애, 김거유	2016.8.16	방콕	태국
9	An analysis of fatty acid composition of grass-fed cow's milk with high-pressure processing sterilization	[2015 한국유가공기술과학회] 유제품과 대사질환 예방	박준홍, 임찬목, 홍성현, 주태우, 박선영, 전가영, 정운시, 전정태, 주진우, 김거유	2015.05.14	서울우유중앙연구소	대한민국
10	Microbiological and chemical analysis of high-pressure processing (HPP) grass-fed cow's milk	[축산식품과학회] 건강기능성 축산식품 소비촉진을 위한 신소재와 신기술	박선영, 임찬목, 홍성현, 주태우, 박준홍, 전가영, 정운시, 전정태, 김거유, 주진우	2015.5.21	국립축산과학원	대한민국
11	Effects of grass-fed cow's milk on hepatic lipid-regulating and antioxidant enzyme expression in C57BL/6 Mice	[제48차 (사) 한국축산식품학회] 글로벌 식문화를 위한 축산식품과 과학의 만남	박선영, 박준홍, 김하나, 황지은, 정인애, 정운시, 전정태, 김거유, 주진우	2016.5.26	국립축산과학원	대한민국
12	Hypolipidemic Effects of Grass-fed Cow's Milk in High-Fat Diet - induced Obese C57BL/6 Mice	[제48차 (사) 한국축산식품학회] 글로벌 식문화를 위한 축산식품과 과학의 만남	박선영, 박준홍, 김하나, 황지은, 정인애, 정운시, 전정태, 김거유, 주진우	2016.5.26	국립축산과학원	대한민국

제 3절. 특허실적

지식재산권 [발명특허, 실용신안, 의장, 상표, 규격], 신품중, 프로그램개발 등으로 구분하고, 세부적으로 전부(건별) 기록하며, 국외인 경우 반드시 국명을 기록합니다									
구분	지식재산권 등 명칭 (건별 각각 기재)	국명	출원			등록			기타
			출원인	출원일	출원번호	등록인	등록일	등록번호	
발명특허	우유의 제조방법	대한민국	(주)삼양식품	2014.12.26	10-2014-0191147				
발명특허	우유 및 이를 포함하는 식품 조성물	대한민국	(주)삼양식품	2014.12.26	10-2014-0191151				
발명특허	고지혈증 억제를 위한 우유 및 이를 포함하는 식품조성물	대한민국	강원대학교 산학협력단						출원중

제 4절. 인력활용 및 양성효과

연구인력 활용/양성 성과													
번호	분류	기준년도	인력양성 현황										
			학위별				성별		지역별				
	석사학위 논문 예정	2017.2 (예정)	박사	석사	학사	기타	남	여	수도권	충청권	영남권	호남권	기타
				1			1						1

제 5절. 제품화

기술사업화								
번호	제품(상품)명	제품(상품)설명	활용 업체명	사업화 여부	매출 발생여부	제품 매출액	고용 창출	R&D 기여율
1	HPP 비열초고압처리 우유	HPP(초고압비열처리) 적용한 100% 국내산우유 - 열에 민감한 면역 글로불린 및 면역 성장인자의 열 손실을 저감	삼양식품(주)	법령 검토 중	법령 검토 중	20억원/년 (예상)		100%

		-우유 알레르기 저감 효과						
2	HPP 비열초고압처리 호상요거트-딸기	HPP 처리한 원유와 CHR. Hansen 사의 유산균으로 배양된 stirred type 호상 발효유(국내산 원유) -국내산 딸기 시럽 -열살균 호상요거트에 비해 안정성 및 점성이 뛰어난 요거트	삼양식품(주)	법령 검토 중	법령 검토 중 시제품제조 완성단계	15억원/년 (예상)		100%
3	HPP 비열초고압처리 호상요거트-복숭아	HPP 처리한 원유와 CHR. Hansen 사의 유산균으로 배양된 stirred type 호상 발효유(국내산 원유) -열살균 호상요거트에 비해 안정성 및 점성이 뛰어난 요거트	삼양식품(주)	법령 검토 중	법령 검토 중 시제품제조 완성단계	15억원/년 (예상)		100%
4	HPP 비열초고압처리 퀘소프레스코치즈	HPP 처리한 생치즈(국내산 원유 100%) - 열 살균 치즈에 비해 향과 풍미, 물성이 우수한 비숙성 생치즈	삼양식품(주)	법령 검토 중	법령 검토 중 시제품제조 완성단계	10억원/년 (예상)		100%
5	육우 숙성육	조사료 및 오메가3지방산이 풍부한 사료를 섭취한 육우고기를 진공·건조 숙성하여 제품제조	삼양식품(주)	최종 검토 중	시제품제조 완성단계			100%
6	떡갈비 스타일 함박스테이크	조사료 및 오메가3지방산이 풍부한 사료를 섭취한 육우고기를 이용한 국내 스타일 퓨전 육가공 제품	삼양식품(주)	최종 검토 중	시제품제조 완성단계			100%
7	매운 국물 소불고기	조사료 및 오메가3지방산이 풍부한 사료를 섭취한 육우고기를 재료로 불고기의 다각화 제품	삼양식품(주)	최종 검토 중	시제품제조 완성단계			100%

8	린즈부어스트	초지 사료만 섭취한 육우고기로 제조한 독일 전통의 소시지- 풍부한 오메가3식단제공	삼양식 품(주)	사업화 완료	매출	6,000 만원/년		100%
9	린즈파프리카리오나	초지 사료만 섭취한 육우고기로 제조한 독일 전통의 소시지- 풍부한 오메가3식단제공	삼양식 품(주)	최종 검토 중	시제품제 조 완성단계			100%

제 6절. 기타 성과

1. 홍보실적

홍보실적(신문, 방송, 저널 등)				
번호	홍보유형	매체명	홍보내용	홍보일자
해당사항없음				

2. 전시회 등 참여

전시회 등 참여(전시회, 박람회, 제품설명회 등)					
번호	유형	행사명	전시품목	장소	활용년도
1	전시회	치유농업과 농촌 관광의 6차 산업 화 국제심포지엄	-Grass-fed 소고기 소시지(Beef G) -오메가비율1:4유기농 자연방목 우유 및 아이스크림	강 원 대 학 교 60주년기념 관 국제회의 실 및 미래광 장	2015
2	전시회	대관령 딸기축제	n3/n6 비율이 1:4 이 하인 우유로 만든 요거 트쉐이크 및 아이스크 림	EGC 에코그 린캠퍼스	2015

3. 기타 활용 및 홍보실적

기타 활용 및 홍보실적(단행본 발간, CD 제작 등)			
번호	일자	활용명칭	활용내역
해당사항없음			

4. 정책활용

정책활용 내역(농정시책 반영 및 정책건의)				
번호	정책활용상태	주관부처	시책추진실적 및 계획	활용년도
1	정책건의	식품의약품안전처	오메가비율1:4유기농 자연방목 우유의 목장 내 판매 건의 -타 영업과의 형평성 및 안전성 확보 고려 등 정책 검토 중	2015

5. 교육 및 지도활용 내역

교육 및 지도활용 내역				
번호	교육명	교재명	주요내용	활용년도
1	등심 및 유회형 육제품에서 HPP 처리 효과 그리고 식품에의 적용	자체 교재(HPP 처리와 육제품)	-비열초고압처리의 상업화 적용 가능성 -등심육에서의 HPP처리 효과: 연도증가를 중심으로	2016
2	Grass-fed 우유의 지질 개선효과 및 사업화 적용 교육	자체 교재(HPP 처리와 원유)	-Grass-fed 우유의 지질개선효과 동물실험 결과 발표 -동물실험 결과를 통한 제품화 가능성 -Grass-fed 사양 활성화를 위한 산·학·연의 역할: 산업체를 중심으로	2016

제 7절. 성과 활용계획

1. 쇠고기의 오메가-6/오메가-3 지방산 비율을 획기적으로 낮추는 연구를 진행해 왔음. 그러나 오메가-3가 풍부한 음식은 가공 및 저장 중 산화되기가 쉬운 단점을 갖고 있음. 따라서 건강 기능성 쇠고기의 영양적인 가치를 장기간 보존할 수 있는 기술을 개발하는 연구가 추가적으로

필요함

2. 최근 국외 육가공 산업체에서는 비열초고압처리를 통한 ready-to-cook 양념살코기 제품과 염지햄 제품이 개발되고 있음. 이를 국내 육가공 산업에 맞추어 ready-to-cook 한국식 불고기나 오메가-3 지방산 비율이 높은 쇠고기 패티를 개발하는데 비열초고압처리 기술을 적용하여 저장성을 증진시키는 후속 연구가 필요함

3. 비가열가공기술 우유의 항알레르기 효과의 추가 연구

가. 세포 내 생성되는 ROS 정량 : 비만세포는 항원에 의해 자극되었을 때 ROS를 생성하고 ROS가 알레르기성 염증반응에서 intercellular second messenger로써 작용하여 염증매개인자들의 생성과 신호전달을 촉진시키므로 중요한 지표가 될 수 있음

나. 동물모델을 이용한 항알레르기 효과 연구 : in vitro를 통하여 규명된 grass-fed 젖소유를 비장세포에서의 cytokine 분비량 분석을 통하여 알레르기성 피부 질환의 면역체계를 연구함. 면역체계에서 Th1과 Th2 cell의 불균형에 의해 발생함. 피부 질환은 Th2형이 관여되며, 이는 IL-4, IL-5 및 IL-18 등의 발현이 증가하는 것으로 알려져 있음

4. 제품개발

가. 삼양식품(주)의 광활한 방목형 목장과 사업망을 활용할 경우 본 과제를 통하여 grass-fed 우유는 건강 기능성에 대한 소비자들의 높은 선호도와 관심도를 고려할 때, 기능성 유제품으로 새로운 제품으로서 시장 진출이 가능할 것으로 사료됨

나. 식품의 향, 맛, 영양성분에 변화를 주지 않으면서 미생물과 세포를 불활성화 시키는 비가열가공기술인 초고압처리법(HPP)을 이용하여 우유의 알레르기성에 민감한 소비자를 대상으로 새로운 우유제품을 개발함

5. 사업화- 제품 생산비용 분석

가. 조사료의 사용

본 과제의 실험을 토대로 조사료만을 급여한 (실험군2) 또는 조사료와 오메가펠릿을 급여 (실험군1)하여 사업화 시 증감되는 사료의 비용을 아래와 같이 계상하였다. 제품의 원료를 생산하는 목장의 기존 사료 급여는 조사료와 비트펠프로 이뤄지고 있으며, 실험군 중 가장 사업성이 높은 실험군1과 비교하였을 때 1 두 당 5,762원에서 7,093원으로 증가한다(약 23.1% 상승). 또한 기존 방식인 조사료는 현지 목장에서 직접 생산하여 외부 구매로 인한 현금지출이 적으나, 실험군1을 적용할 시 오메가펠릿 (605원/kg, 부가세포함)을 외부에서 구매해야하기 때문에 현금지출이 늘어나게 된다. 하지만 앞서 과제 고찰 및 연구 결과를 보았을 때 조사료를 급여한 쇠고기의 판매가치가 크고, 건강과 웰빙에 관심 많은 소비자들을 타깃으로 하여 마케팅한다면 사료비 23.1%의 상승은 영업이익으로 상쇄될 것으로 생각되며, 식품 시장에서 기존 제품보다 건강을 내세운 제품은 수요가 높고 WTP (willingness to pay)가 높다고 알려져 있음

므로 원재료비가 상승됨에도 불구하고 투자할 가치 있는 사업이라고 판단된다.

< 사업화 시 기존 사료급여와의 증감 관계 >

구분	적요	기존 사료급여량				실험기간중 사료 급여(안)				증감	비고
		대조군	실험군(1)	실험군(2)	계	대조군	실험군(1)	실험군(2)	계		
실험두수(1차)	18개월령	5두	5두	5두	15두	5두	5두	5두	15두		
실험일수(1차)	2014.12/15~2015.5/14	151일	151일	151일	151일	151일	151일	151일	151일		
사료급여량(kg) (B/두)	TMR사료					18					
	농후사료						6				
	EGC조사료	12	12	12			9	12			
	비트필프	2	2	2							
	계	14	14	14		18	15	12			
사료단가(kg당)	TMR사료					440					
	농후사료						605				
	EGC조사료	384.8	384.8	384.8			384.8	384.8			
	비트필프	572	572	572							
사료금액(일)	TMR사료	-	-	-	-	39,600	-	-	39,600	39,600	
	농후사료	-	-	-	-	-	18,150	-	18,150	18,150	
	EGC조사료	23,088	23,088	23,088	69,264	-	17,316	23,088	40,404	-28,860	
	비트필프	5,720	5,720	5,720	17,160	-	-	-	-	-17,160	
	계	28,808	28,808	28,808	86,424	39,600	35,466	23,088	98,154	11,730	
(1두당금액)	5,762	5,762	5,762	5,762	7,920	7,093	4,618	6,544	782		
사료총금액 (실험기간)	TMR사료	-	-	-	-	5,979,600	-	-	5,979,600	5,979,600	
	농후사료	-	-	-	-	-	2,740,650	-	2,740,650	2,740,650	
	EGC조사료	3,486,248	3,486,248	3,486,248	10,458,744	-	2,614,686	3,486,248	6,100,934	-4,357,810	
	비트필프	863,720	863,720	863,720	2,591,160	-	-	-	-	-2,591,160	
	계	4,349,968	4,349,968	4,349,968	13,049,904	5,979,600	5,355,336	3,486,248	14,821,184	1,771,280	
(1두당금액)	869,994	869,994	869,994	869,994	1,195,920	1,071,067	697,250	988,079	118,085		
사료구입처	현금유출(외부구입)				2,591,160				8,720,250	6,129,090	
	당사생산				10,458,744				6,100,934	-4,357,810	

※ 실험대상인 비육우 18개월령 EGC조사료 1일 급여량은 하루 평균 12kg 가정, VAT포함

나. HPP 기술 적용

열처리의 대안으로 HPP 초고압처리로 살균을 한다면 원가 산출 적인 면에서 증가하는 것은 유틸리티-전력비, 인건비, 인건비에 따른 법정복리비, 복리후생비 등이며, HPP 기기 및 부품 구입에 따른 초기비용이 발생할 것이다. 아래에는 초기비용과 HPP 적용 시 유·육제품의 원가산출표를 나타내었다.

< High pressure processing 도입 시 기기 및 부속 초기비용 (단위: 천원)>

	비용	비고
기기 (350 L 대용량)	2,600,000	QFP 350L-600, Avure Technologies 사 기준
부대비용	100,000	
인력추가	400,000	
세척용품	100,000	
관리용품	200,000	
초기부속품	300,000	
소모품	80,000	
가동 오일 (원/년)	60,000	
기타소모부품 (원/년)	20,000	
합계	2,780,000	

< High pressure processing 도입 시 강화우유류 원가 산출: 1,000 ml 페트 기준>

(단위 : 원/개)

구 분		산출액	산출내역			비 고
1.원재료	원료비	1,214.84	원재료명	단가(원/kg)	금액(원/개)	
			로스율 / 생산량 / 중량	#REF!	1,000ml/EA	
			원유	1,150.0	1,196.70	
			원료1	2,200.0	10.93	
			원료2	65,703.0	7.21	
	개당금액(원/개)		1,214.84			
	소 계	1,214.84				
2.부재료	재료비		비공개			
	소 계	404.47				
3.노무비			비공개			
	소 계	104.84				
4.제조경비	법정복리비	3.88	법정복리비,복리후생비, 감가상각비, 유틸리티, 기타경비 포함			
	소 계	134.54				
계		1,858.70				
5.일반관리비		132.00				
산 출 가		1,990.70				

< High pressure processing 도입 시 농후발효유류 원가산출: 20 kg 플레인 Bag in box 기준 >

구 분		산출액	산출내역			비 고
HPP설비 도입		1식 (단위:원)	제품명	단위	금액(원/개)	
			플레인 발효유	20 kg (BIB)	53,558	
1. 변동비	소 계	37,848.90 37,848.90	비공개			
2. 고정비	생산고정비	15,384.60	비공개			
	소 계	15,384.60				
	물류고정비	192.30	비공개			
	소 계	192.30				
3. 일반관리비		132.00				
산 출 가		53,558.00				

< High pressure processing 도입 시 소시지 원가산출:

Sausage1: 쇠고기만 2 부위 / Sausage2: 쇠고기 + 쇠기름>

Sausage 1								
구 분	단위	단 가	투입비(%)	백분율(%)	1KG당원가	비 고		
	Beef 90cl	KG	12,000.00	40.00	39.024	5,321.51		
	Beef 80cl	KG		35.00	34.146	0.00		
	Ice	KG	0.00	25.00	24.390	0.00		
		KG			0.000	0.00		
	복합향신료	KG	4,000.00	2.50	2.439	110.86		
	계			102.5	100.000	₩5,432.37		
	단위	단가	투입량	수율(%)	1KG당원가	비 고		
	부자재비				₩1,768.12			
	합 계					₩7,200		
	제조경비					₩347		
예상 납품 가능가(vat 포함)						₩16,348		

Sausage 2

구 분	단위	단 가	투입비(%)	백분율(%)	1KG당원가	비 고	
	Beef 95cl	KG	12,000.00	60.00	58.537	7,982.26	
	Beef Fat	KG	0.00	20.00	19.512	0.00	
	Ice	KG	0.00	20.00	19.512	0.00	
		KG			0.000	0.00	
	복합향신료	KG	4,000.00	2.50	2.439	110.86	
	계			102.5	100.000	₩8,093.13	
					1KG당원가	비 고	
	부재 자비					₩1,701.19	
	합 계					₩9,794	
	제조경비					₩347	
예상 납품 가능가(vat 포함)					₩21,765		

제 6장. 연구과정에서 수집한 해외과학기술정보

제 1절. 과제 관련 해외 제품화 정보

1. HPP Milk 제품화

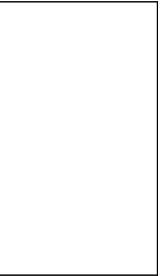
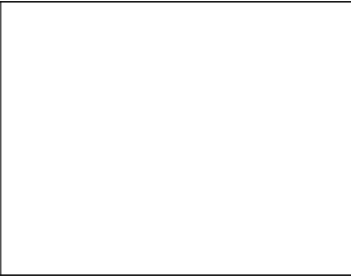
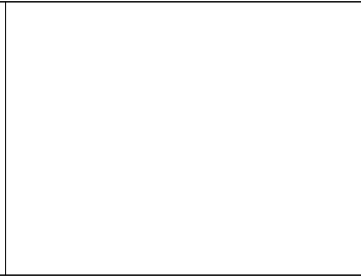
호주 스타트업 기업 Made By Cow사는 2016년 6월 호주에서 최초로 비열살균우유 판매를 시작한다. 제품명은 ‘Cold pressed raw milk’ 이고, 지방량이 많고 크리미한 특징을 가진 Jersey 종의 원유를 사용하며 심해 60km에서 받는 압력을 가하여 유해균을 제거하는 HPP(high pressure processing) 기법을 도입하였다. HPP는 호주 내에서도 과채주스 등에만 한정적으로 적용되고 있으며, 기존 열 살균에 비해 비타민 파괴가 적고 색과 향에도 손상을 덜 입힌다고 알려져 있다. 현재 호주는 Raw milk의 판매는 법적으로 금지되어 있기 때문에 Made By Cow사는 Raw milk가 아닌 그것에 가까운 우유를 만들고자 HPP 우유를 개발하였으며 결국 호주 정부는 HPP 기법을 우유의 열 살균 대체법으로 승인하였다. 하지만 정부는 모든 제품에 적용되는 것은 아니라며 엄격한 태도를 보였다. 가격은 750ml에 5 AUD.



2. 국외 시판 중인 HPP 상품

	제품명	회사	비고
	Wholly guacamole [®]	Fresherized Foods(미국)	
	Verfruco Guacamole	Verfruco Foods, Inc (미국)	
	HORMEL [□] NATURAL CHOICE [□]	Hormel Foods, LLC(미국)	Ham, Sausage
	Ifantis Mortadellas	Ifantis Freshpress(그리스)	Ham, Sausage
	COL+	New Image International(뉴질랜드)	Colostrum

			
	Once Upon A Farm	Once Upon A Farm (미국)	Baby food
	Leche de vaca pasteurizada en frio	Villa de Patos (멕시코)	Milk
	Tapas mix of chicken with lemon skewers and dates 160 gr. Serrano ham slices 등등	Espuna (스페인)	Ham, Sausage, Tapas, Chorizo
	Kips Filet American	Zwanenberg (네덜란드)	Raw meat
	Fiambre lacon lonchas cortado a mano	Noel (스페인)	Raw meat



제 7장. 연구개발결과의 보안등급

○ 일반과제

제 8장. 국가과학기술종합정보시스템에 등록된 연구시설·장비 현황

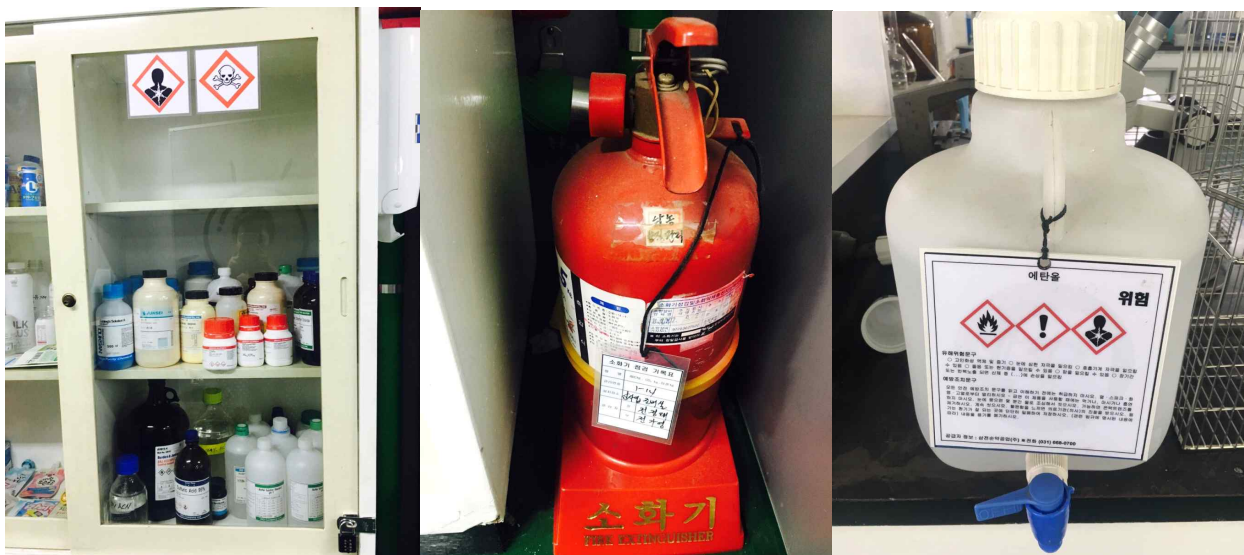
○ 해당사항 없음

제 9장. 연구개발과제 수행에 따른 연구실 등의 안전조치 이행실적

- 본 연구실은 연구실 ‘안전 환경 조성에 관한 법률’ (제10446호, 2011년) 및 교육과학기술부고시 제2009-37호(2009년)에 따라 연구책임자의 관리 하에 연구실 안전에 관한 계획을 수립하고 이행하였음.
- 본 연구실은 연구실 안전을 위한 아래와 같은 기본적인 연구 안전장비 및 장치를 보유하고 있음.

장비명	용도	수량
후드	유기용매 실험 및 배기	1
용매 안전 캐비닛 및 잠금장치	분리 보관	1
소화기	화재 시 소화용	2
화재경보기	화재 경보용	1

- 대학 내 안전관리위원회 안전관리규정에 따라 연구책임자의 지도하에 안전점검계획을 수립하고 이행할 것임. 일상점검은 매일 실시하고 주간, 월간 및 연간 정기점검으로 내용을 달리 하여 실시하였음.
- 본 연구실은 기본적으로 화학물질(약품) 대장, 물질안전보건자료(MSDS), 보관 장소 기록서, 보호 장구 목록 및 관리대장, 기계기구·설비장비 명세서 및 이력카드, 안전방호 장치 목록 등을 제작하여 비치 및 수시 관리하였음.
- 실험실 안전 보호구 및 관리모습





제 10장. 연구개발과제의 대표적 연구실적

번호	구분 (논문/ 특허/ 기타)	논문명/특허명/기타	소속 기관명	역할	논문게재지/ 특허등록국 가	Impact Factor	논문게재일 /특허등록일	사사여부 (단독사사 또는 중복사사)	특기사항 (SCI여부/인 용횟수 등)
1	특허	우유의 제조방법	(주)삼양 식품		대한민국		2014.12.2 6		출원번호: 10-2014 -0191147
2	특허	우유 및 이를 포함하는 식품 조성물	(주)삼양 식품		대한민국		2014.12.2 6		출원번호: 10-2014 -0191151
3	논문	High Pressure Processing for Dark-Firm-Dry Beef: Effect on Physical Properties and Oxidative Deterioration during Refrigerated Storage	강원대학 교	제1저 자, 교신저 자, 참여저 자	Asian-Au stralasian Journal of Animal Sciences	0.756	2016.06.03	단독사사	SCIe
4	논문	Changes of Lactic Acid Bacteria and Physicochemical Properties of Yogurt Made with High Pressure Processing Treated Milk	(주)삼양 식품	제1저 자, 교신저 자, 참여저 자	한국식품영 양과학회	1.292	2016.06	단독사사	

제 11장. 참고문헌

제 1 세부: 친환경 젖소 및 육우 사양기술을 통한 건강기능성 육우고기 및 유제품의 상품화

- AOAC (1995). Official Methods of Analysis, 16th edition. Association of Official Analytical Chemists International, Washington, DC.
- Avendano-Perez, G., Nueno-Palop, C., Narbad, A., George, S. M., Baranyi, J., and Pin, C. 2015. Interactions of *Salmonella enterica* subspecies *enterica* serovar *Typhimurium* with gut bacteria. *Anaerobe*. 33:90-97.
- Beharka, A. A., Nagaraja, T. G., and Morrill, J. L. 1991. Performance and Ruminant Function Development of Young Calves Fed Diets with *Aspergillus oryzae* Fermentation Extract 1, 2. *Journal of dairy science*. 74(12):4326-4336.
- Benjamin, M. M., and Datta, A. R. 1995. Acid tolerance of enterohemorrhagic *Escherichia coli*. *Applied and Environmental Microbiology*. 61(4):1669-1672.
- Bourne, M. C. 1978. Texture profile analysis. *Food Technol*. 32:62-66, 72.
- Brennand, C. P. (1989). Factors affecting contributions of volatile branched-chain fatty acids to the species-related flavors of lamb and mutton (Doctoral dissertation, University of Wisconsin-Madison).
- Buffa, M. N., Trujillo, A. J., Pavia, M., & Guamis, B. (2001). Changes in textural, microstructural, and colour characteristics during ripening of cheeses made from raw, pasteurized or high-pressure-treated goats' milk. *International Dairy Journal*, 11(11), 927-934.
- Capellas, M., Mor-Mur, M., Sendra, E., & Guamis, B. (2001). Effect of high-pressure processing on physico-chemical characteristics of fresh goats' milk cheese (Mato). *International Dairy Journal*, 11(3), 165-173.
- Chameber, J. V. (1979). Culture and processing techniques important to the manufacture of good quality yogurt. *Cult. Dairy Prod. J*, 14, 28-34.
- Chaucheyras-Durand, F., Faqir, F., Ameilbonne, A., Rozand, C., and Martin, C. 2010. Fates of acid-resistant and non-acid-resistant Shiga toxin-producing *Escherichia coli* strains in ruminant digestive contents in the absence and presence of probiotics. *Appl. Environ. Microbiol*. 76(3):640-647.

- Chawla, R., Patil, G. R., & Singh, A. K. (2011). High hydrostatic pressure technology in dairy processing: a review. *Journal of food science and technology*, 48(3), 260–268.
- Chicon R, Lopez–Fandino R, Alonso E, Belloque J (2008) Proteolytic pattern, antigenicity, and serum immunoglobulin E binding of β –lactoglobulin hydrolysates obtained by pepsin and high pressure treatments. *J Dairy Sci* 91:928938
- Chilliard, Y., Ferlay, A., & Doreau, M. (2001). Effect of different types of forages, animal fat or marine oils in cow's diet on milk fat secretion and composition, especially conjugated linoleic acid (CLA) and polyunsaturated fatty acids. *Livestock Production Science*, 70(1), 31–48.
- Chiquette, J. 1995. *Saccharomyces cerevisiae* and *Aspergillus oryzae*, used alone or in combination, as a feed supplement for beef and dairy cattle. *Canadian Journal of Animal Science*. 75(3):405–415.
- Cho, S., Kang, G., Seong, P. N., Park, B., & Kang, S. M. (2014). Effect of age on the contents of carnitine, free amino acid, and nucleotide–related compound in ribeye and top round from Holstein calf. *Korean Journal of Agricultural Science*, 41(4), 433–440.
- Choe, J. S., Chun, H. K., Hwang, D. Y. and Nam, H. J. 2005. Consumer perceptions of food–related hazards and correlates of degree of concerns about food. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 34: 66–74.
- Chung, E. G. 2014. Studies on Comparison of Meat Quality and Development of Processed Meat Products in Hanwoo and Holstein Calves.
- Da Cruz, A. G., Faria, J. D. A. F., Saad, S. M. I., Bolini, H. M. A., Sant, A. S., & Cristianini, M. (2010). High pressure processing and pulsed electric fields: potential use in probiotic dairy foods processing. *Trends in food science & technology*, 21(10), 483–493.
- Davis, J. G. (1970). Laboratory control of yoghurt. *Dairy Industries*, 35(3), 139–44.
- Dhiman, T. R., Anand, G. R., Satter, L. D., & Pariza, M. W. (1999). Conjugated linoleic acid content of milk from cows fed different diets. *Journal of Dairy Science*, 82(10), 2146–2156.
- Diez–Gonzalez, F., Callaway, T. R., Kizoulis, M. G., and Russell, J. B. 1998. Grain feeding and the dissemination of acid–resistant *Escherichia coli* from cattle. *Science*. 281(5383):1666–1668.

- Dowd, S. E., Callaway, T. R., Wolcott, R. D., Sun, Y., McKeehan, T., Hagevoort, R. G., & Edrington, T. S. (2008). Evaluation of the bacterial diversity in the feces of cattle using 16S rDNA bacterial tag-encoded FLX amplicon pyrosequencing (bTEFAP). *BMC microbiology*, 8(1), 125.
- Drake, M. A., Harrison, S. L., Asplund, M., Barbosa-Canovas, G., & Swanson, B. G. (1997). High pressure treatment of milk and effects on microbiological and sensory quality of Cheddar cheese. *Journal of Food Science*, 62(4), 843–860.
- Duckett, S. K., Wagner, D. G., Yates, L. D., Dolezal, H. G., and May, S. G. 1993. Effects of time on feed on beef nutrient composition. *J. Anim. Sci.* 71(8):2079–2088.
- DurrsCHAEVER, C. L., Arnott, D. R., & Bullock, D. H. (1972). Quality evaluation of yogurt produced commercially in Ontario. *Journal of Milk and Food Technology (JMFT)*, 35(3), 173–175.
- Evert-Arriagada, K., Hernandez-Herrero, M. M., Juan, B., Guamis, B., & Trujillo, A. J. (2012). Effect of high pressure on fresh cheese shelf-life. *Journal of Food Engineering*, 110(2), 248–253.
- Ferragut, V., Martínez, V.M., Trujillo, A.J., & Guamis, B. (2000). Properties of yoghurts made from whole ewe's milk treated by high hydrostatic pressure. *Milchwissenschaft*, 55(5), 267–269.
- Folch, J. M., Lee, M., Sloan, G. H. (1957). A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J. Biol. Chem.* 226, 497–514.
- Gao, Y. L., Wang, Y. X., & Jiang, H. H. (2005). Effect of high pressure and mild heat on *Staphylococcus aureus* in milk using response surface methodology. *Process Biochemistry*, 40(5), 1849–1854.
- Garrett, H. E., Kerley, M. S., Ladyman, K. P., Walter, W. D., Godsey, L. D., Van Sambeek, J. W., & Brauer, D. K. (2004). Hardwood silvopasture management in North America. In *New Vistas in Agroforestry* (pp. 21–33). Springer Netherlands.
- Gervilla R, Ferragut V, Guamis B (2001) High hydrostatic pressure effects on colour and milk-fat globule of ewes' milk. *J Food Sci* 66:880885
- Goddik, L. M. (2002). Sensory, compositional and texture profile analysis of high-pressure treated fresh renneted cheese—Queso Fresco style.
- Goering, H. D., & Van Soest, P. J. (1970). Forage fiber analysis (apparatus, reagents, procedures and some applications). *Agricultural Handbook No. 379*. Washington DC:

ARS, USDA.

- Gola, S., Mutti, P., Manganelli, E., Squarcina, N., & Rovere, P. (2000). Behaviour of *E. coli* O157: H7 strains in model system and in raw meat by HPP: microbial and technological aspects. *International Journal of High Pressure Research*, 19(1–6), 91–97.
- Goyal, A., Sharma, V., Upadhyay, N., Sihag, M., & Kaushik, R. (2013). High pressure processing and its impact on milk proteins: a review. *Res Rev: J. Dairy Sci. Tech*, 2(1), 1–9.
- Grappin R, Beuvier E. 1997. Possible implications of milk pasteurization on the manufacture and sensory quality of ripened cheese. *Int Dairy J* 7:75161.
- Grauke, L. J., Wynia, S. A., Sheng, H. Q., Yoon, J. W., Williams, C. J., Hunt, C. W., and Hovde, C. J. 2003. Acid resistance of *Escherichia coli* O157: H7 from the gastrointestinal tract of cattle fed hay or grain. *Veterinary microbiology*, 95(3):211–225.
- Grunert, K. G., Bredahl, L., & Bruns ϕ , K. (2004). Consumer perception of meat quality and implications for product development in the meat sector: a review. *Meat science*, 66(2), 259–272.
- Hekmat, S., & Reid, G. (2006). Sensory properties of probiotic yogurt is comparable to standard yogurt. *Nutrition research*, 26(4), 163–166.
- Hinrich J. 2001. Incorporation of whey proteins in cheese. *Int Dairy J* 11:495503.
- Hite, B. H. (1899). The effect of pressure in the preservation of milk: a preliminary report (Vol. 58). West Virginia Agricultural Experiment Station.
- Horie, Y., Kimura, K., Ida, M., Yosida, Y., & Ohki, K. (1991). Jam preparation by pressurization. *Journal of the Agricultural Chemical Society of Japan (Japan)*.
- Horrigan, L., Lawrence, R. S., and Walker, P. 2002. How sustainable agriculture can address the environmental and human health harms of industrial agriculture. *Environ. Health Persp.* 110(5):445.
- Huppertz T, Kelly AL, Fox PF (2006) High pressure induced changes in ovine milk: effects on casein micelles and whey proteins. *Milchwissenschaft* 61:394397
- Huppertz, T., Hinz, K., Zobrist, M. R., Uniacke, T., Kelly, A. L., & Fox, P. F. (2005). Effects of high pressure treatment on the rennet coagulation and cheese-making properties of heated milk. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 6(3),

279–285.

- Jacobson, L. H., Nagle, T. A., Gregory, N. G., Bell, R. G., Le Roux, G., and Haines, J. M. 2002. Effect of feeding pasture–finished cattle different conserved forages on *Escherichia coli* in the rumen and faeces. *Meat Sci.* 62(1):93–106.
- Jin, L., Wang, Y., Iwaasa, A. D., Li, Y., Xu, Z., Schellenberg, M. P., Liu, X. L., McAllister, T. A. and Stanford, K. 2015. Purple prairie clover (*Dalea purpurea Vent*) reduces fecal shedding of *Escherichia coli* in pastured cattle. *J Food Prot.* 78(8):1434–1441.
- Johnston, D. E., & Darcy, P. C. (2000). The effects of high pressure treatment on immature Mozzarella cheese. *Milchwissenschaft*, 55(11), 617–620.
- Johnston, D. E., Murphy, R. J., & Birksl, A. W. (1994). Stirred–style yoghurt–type product prepared from pressure treated skim–milk. *International Journal of High Pressure Research*, 12(4–6), 215–219.
- Kang, S. M., Lee, I. S., & Lee, S. K. (2011). The quality characteristics of *M. longissimus* from Hanwoo (Korean cattle) steer with different raising altitudes and slaughter seasons. *Livestock Science*, 136(2), 240–246.
- Keogh, M. K., & O'kenedy, B. T. (1998). Rheology of stirred yogurt as affected by added milk fat, protein and hydrocolloids. *Journal of Food Science*, 63(1), 108–112.
- Kim, C., Tanaka, H., & Ogura, M. (1996). Metabolism of lysine, threonine, and leucine in growing rats on gluten or zein diets at various dietary protein levels. *Bioscience, biotechnology, and biochemistry*, 60(10), 1580–1585.
- Kim, H. C. and Kim, M. R. 2011. Concerns about Hazardous Elements on Foods and Recognition of the Roles of Government, Food Producers, and Consumers in Securing Food Safety. *J. East Asian Soc. Dietary Life.* 21(3):401–417.
- Kolver, E., Muller, L. D., Varga, G. A., & Cassidy, T. J. (1998). Synchronization of ruminal degradation of supplemental carbohydrate with pasture nitrogen in lactating dairy cows. *Journal of dairy science*, 81(7), 2017–2028.
- Krause, D. O., Smith, W. J., Conlan, L. L., Gough, J. M., Williamson, M. A., and McSweeney, C. S. 2003. Diet influences the ecology of lactic acid bacteria and *Escherichia coli* along the digestive tract of cattle: neural networks and 16S rDNA. *Microbiology.* 149(1):57–65.
- Kroger, M., & Weaver, J. C. (1973). Confusion about yogurt–compositional and otherwise. *Journal of Milk and Food Technology (JMFT)*, 36(7), 388–391.

- Lau KY, Barbano DM, Rasmussen RR. 1990. Influence of pasteurization on fat and nitrogen recoveries and Cheddar cheese yield. *J Dairy Sci* 73:56170.
- Law, A. J., Leaver, J., Felipe, X., Ferragut, V., Pla, R., & Guamis, B. (1998). Comparison of the effects of high pressure and thermal treatments on the casein micelles in goat's milk. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46(7), 2523–2530.
- Lee, J. L., Huh, C. S., & Baek, Y. J. (1999). Utilization of fermented milk and it's health promotion. *Korean Dairy Technol*, 17, 58–71.
- Lim CM, Joo TW, Hong SH, Park SY, Park JH, Jeon GY, Jung WS, Kim GY, Jhoo JW. 2015. Effect of high pressure processing on quality characteristics of grass fed cow's milk. *Ann. Anim. Resour. Sci.* 26(1): 29–41.
- Lim, Y. S., & Lee, S. K. (2009). Characteristics of exopolysaccharide produced in goat milk yogurt cultured with *Streptococcus thermophilus* LFG isolated from kefir. *Korean Journal for Food Science of Animal Resources*, 29(2), 143–150.
- Loveday, S. M., Sarkar, A., & Singh, H. (2013). Innovative yoghurts: Novel processing technologies for improving acid milk gel texture. *Trends in food science & technology*, 33(1), 5–20.
- Mainville, I., Montpetit, D., Durand, N., & Farnworth, E.R. (2001). Deactivating the bacteria and yeast in kefir using heat treatment, irradiation and high pressure. *International Dairy Journal*, 11(12), 45–49.
- Malone, A. S., Wick, C., Shellhammer, T. H., & Courtney, P. D. (2003). High pressure effects on proteolytic and glycolytic enzymes involved in cheese manufacturing. *Journal of Dairy Science*, 86(4), 1139–1146.
- Masuda, N. and Church, G. M. 2003. Regulatory network of acid resistance genes in *Escherichia coli*. *Mol. Microbiol.* 48:699712.
- McCluskey, J. J., Wahl, T. I., Li, Q., and Wandschneider, P. R. 2005. US grass-fed beef: marketing health benefits. *J. Food Distrib Res.* 36(3):1.
- Mohacsi-Farkas C, Kisko G, Meszaros L, Farkas J (2002) Pasteurization of tomato juice by high hydrostatic pressure treatment or by its combination with essential oils. *Acta Aliment* 31:243252
- Moraes, P. M., Vicoso, G. N., Yamazi, A. K., Ortolani, M. B. T., & Nero, L. A. (2009). Foodborne pathogens and microbiological characteristics of raw milk soft cheese produced and on retail sale in Brazil. *Foodborne pathogens and disease*, 6(2),

245–249.

- Morrow–Tesch, J. 2000. Farm Animal Behavior Becoming More Critical to the Bottom Line. In Beltsville Symposium, Beltsville, Maryland.
- National Research Council. 2001. Nutrient requirements of dairy cattle. 7th rev. ed. Natl. Acad. Sci., Washington, DC.
- Needs, E.C., Capellas, M., Bland, P., Manoj, P., MacDougal, D.B., & Gopal, P. (2000). Comparison of heat and pressure treatments of skimmed milk, fortified with whey protein concentrate, for set yoghurt preparation: effects on milk proteins and gel structure. *Journal of Dairy Research*, 67, 329–348.
- Nuernberg, K., Dannenberger, D., Nuernberg, G., Ender, K., Voigt, J., Scollan, N. D., ... & Richardson, R. I. (2005). Effect of a grass–based and a concentrate feeding system on meat quality characteristics and fatty acid composition of longissimus muscle in different cattle breeds. *Livestock Production Science*, 94(1), 137–147.
- Oakley, B. B., Lillehoj, H. S., Kogut, M. H., Kim, W. K., Maurer, J. J., Pedroso, A., Lee, M. D., Collett, S. R., Johnson, T. J., Cox, N. A. 2014. The chicken gastrointestinal microbiome. *FEMS Microbiology Letters*. 130: 100–112.
- Okpala, C. O., Piggott, J. R., & Schaschke, C. J. (2010). Influence of high–pressure processing (HPP) on physico–chemical properties of fresh cheese. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 11(1), 61–67.
- Oksuz, O., Arici, M., Kurultay, S., & Gumus, T. (2004). Incidence of *Escherichia coli* O157 in raw milk and white pickled cheese manufactured from raw milk in Turkey. *Food Control*, 15(6), 453–456.
- Park, J. Y., Na, S. Y., & Lee, Y. J. (2010). Present and future of non–thermal food processing technology. *Food Sci. Ind*, 43(1), 2–20.
- Patrignani, F., Burns, P., Serrazanetti, D., Vinderola, G., Reinheimer, J., Lanciotti, R., & Guerzoni, M. E. (2009). Suitability of high pressure–homogenized milk for the production of probiotic fermented milk containing *Lactobacillus paracasei* and *Lactobacillus acidophilus*. *Journal of dairy research*, 76(01), 74–82.
- Reps, A., Warminska Radyko, I., Krzyzewska, A., & Tomasik, J. (2001). Effect of high pressures on *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus*. *Milchwissenschaft*, 56(3), 131–133.
- Robinson, C. J., Bohannon, B. J. M., Young, V. B. 2010. From structure to function: the

ecology of host-associated microbial communities. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*. 74: 453-476.

Russell, J. B., Diez-Gonzalez, F., and Jarvis, G. N. 2000. Invited review: effects of diet shifts on *Escherichia coli* in cattle. *J. Dairy Sci.* 83(4):863-873.

Rynne, N. M., Beresford, T. P., Guinee, T. P., Sheehan, E., Delahunty, C. M., & Kelly, A. L. (2008). Effect of high-pressure treatment of 1 day-old full-fat Cheddar cheese on subsequent quality and ripening. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 9(4), 429-440.

Saldo, J., Sendra, E., & Guamis, B. (2000). High hydrostatic pressure for accelerating ripening of goat's milk cheese: proteolysis and texture. *Journal of Food Science*, 65(4), 636-640.

Saldo, J., Sendra, E., & Guamis, B. (2002). Colour changes during ripening of high pressure treated hard caprine cheese. *International Journal of High Pressure Research*, 22(3-4), 659-663.

San Martin-Gonzalez, M. F., Rodriguez, J. J., Gurram, S., Clark, S., Swanson, B. G., & Barbosa-Canovas, G. V. (2007). Yield, composition and rheological characteristics of cheddar cheese made with high pressure processed milk. *LWT-Food Science and Technology*, 40(4), 697-705.

Sandra, S., Stanford, M. A., & Goddik, L. M. (2004). The Use of High-pressure Processing in the Production of Queso Fresco Cheese. *Journal of food science*, 69(4), FEP153-FEP158.

Schwab, C. G., & Ordway, R. S. (2004). Balancing diets for amino acids: Implications on production efficiency and feed costs. In *Proc. Penn State Dairy Cattle Nutrition Workshop*, Grantville, PA (pp. 1-16).

Seo, S., & Yook, W. B. (2002). Studies on the forage production and utilization on paddy field in Korea. In *Int'l Symposium on Forage Production and Environment C* (Vol. 21, pp. 3-56).

Sheehan, J. J., Huppertz, T., Hayes, M. G., Kelly, A. L., Beresford, T. P., & Guinee, T. P. (2005). High pressure treatment of reduced-fat Mozzarella cheese: Effects on functional and rheological properties. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 6(1), 73-81.

Sheng, H., Nguyen, Y. N., Hovde, C. J., and Sperandio, V. 2013. SdiA aids

- enterohemorrhagic *Escherichia coli* carriage by cattle fed a forage or grain diet. *Infection and immunity*, 81(9):3472–3478.
- Smelt, J. P. P. M. (1998). Recent advances in the microbiology of high pressure processing. *Trends in food science & technology*, 9(4), 152–158.
- Trujillo, A. J., Capellas, M., Buffa, M., Royo, C., Gervilla, R., Felipe, X., ... & Guamis, B. (2000). Application of high pressure treatment for cheese production. *Food Research International*, 33(3), 311–316.
- Trujillo, A.J., Royo, C., Guamis, B., & Ferragut, V. (1999). Influence of pressurisation on goat milk and cheese composition and yield. *Milchwissenschaft*, 54(4), 197–199.
- Udabage, P., Augustin, M. A., Versteeg, C., Puvanenthiran, A., Yoo, J. A., Allen, N., ... & Kelly, A. L. (2010). Properties of low-fat stirred yoghurts made from high-pressure-processed skim milk. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 11(1), 32–38.
- Van Kessel, J. S., Nedoluha, P. C., Williams–Campbell, A., Baldwin, R. L., and McLeod, K. R. 2002. Effects of ruminal and postruminal infusion of starch hydrolysate or glucose on the microbial ecology of the gastrointestinal tract in growing steers. *J. Anim. Sci.* 80(11):3027–3034.
- Van Soest, P. J., & Robertson, J. B. (1985). *Analysis of forages and fibrous foods*. Cornell University.
- Van Soest, P. V., Robertson, J. B., & Lewis, B. A. (1991). Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *Journal of dairy science*, 74(10), 3583–3597.
- Vasta, V., Luciano, G., Dimauro, C., Rohrle, F., Priolo, A., Monahan, F. J., & Moloney, A. P. (2011). The volatile profile of longissimus dorsi muscle of heifers fed pasture, pasture silage or cereal concentrate: Implication for dietary discrimination. *Meat science*, 87(3), 282–289.
- White, S. L., Bertrand, J. A., Wade, M. R., Washburn, S. P., Green, J. T., & Jenkins, T. C. (2001). Comparison of fatty acid content of milk from Jersey and Holstein cows consuming pasture or a total mixed ration. *Journal of Dairy Science*, 84(10), 2295–2301.
- Yoo, D. K. 2007. A Task and Valuation on Farm Animal Welfare for Organic Livestock. *Korean J. org. agric.* 15(3):237–256.

- (사)육류유통수출입협회. 2015. 육류유통실태조사(15년1월)
- 강선문, 정재경, 판조노, 강창기, & 이성기. (2008). 보문: 비육전 방목 및 육내사육한 한우육의 품질 비교. 한국축산식품학회지, 28(5), 629-636.
- 강원대학교. 2013. 산지의 생태축산 활성화를 위한 심포지엄 및 현지견학
- 강원대학교. 2014. 토지이용중심의 축산부활-에코그린캠퍼스
관세청, 2015. '15년1월농축수산물수입가격동향.
http://customs.go.kr/kcshome/cop/bbs/selectBoard.do;jsessionid=ZjXwX02c1CGs3qp vqKJFtvbMvzvTy7kcG1L2h7CfRNc4RTl3dpLX!95503422?bbsId=BBSMSTR_1018&nttId=3018&layoutMenuNo=16422&siteId=jeju&searchCtgr=&searchCnd=&searchWrd=&bcode=&pcode=&recordCountPerPage=10 accessed 2016.1
- 국가통계포털사이트.
http://kosis.kr/statHtml/statHtml.do?orgId=101&tblId=DT_1E0099# accessed 2015.8.
- 김동준. 2001. 반추위 생리와 조사료의 중요성(왜 양질의 건초는 꼭 필요한가?). 젓소개량, 6(12), 40-44.
- 김정년. 2013. 동물복지 인증제의 효율성 분석 : 양돈 임신스톨을 중심으로. 경북대학교 대학원. 학위논문
- 노동조. 2006. SWOT 분석을 통한 도서관의 경쟁력 제고 방안에 관한 연구. 한국문헌정보학회지. 40(1): 335-351.
- 농림축산검역본부. 2014. 동물복지 축산농장 인증기준 및 인증 등에 관한세부실시요령(농림축산 검역본부 고시 제2014-25호)
- 농민신문. [기획]'낙농 선진국' 영국·네덜란드를 가다-행복한 젓소, 맛있는 우유 그리고 낙농협 동조합. 2014.06.09. http://www.nongmin.com/article/ar_detail.htm?ar_id=232925 accessed 2016.1
- 농촌진흥청. 2011. 조사료 품질평가 기준설정 및 사양프로그램 개발연구(주관연구기관: 천안연암 대학), 농업현장실용화기술개발사업 완결보고서(과제번호:PJ906934)
- 농촌진흥청. 2014. 산지축산 활성화를 위한 기술개발전략 수립
- 농축산업진흥기구(일본). 2011. 공공목장에서 방목으로 증두를 실현 축산의 정보
- 박민수, & 한인규. (1995). 논문: 젓소 조사료급여의 경제성 및 최적 사료급여 결합비율 설정. 한국축산경영학회지, 11(1), 74-86.
- 박종국. 2007. 고농도 농후사료 급여에 따른 홀스타인 젓소의 유단백질 합성에 대한 제1 제한 아미노산 공급 효과. 환경대학교 대학원. 학위논문.

- 여성중앙. 오클라호마초원, 아미티지 가족의 목장길따라. 2013.12.
<http://news.joins.com/article/13621357> accessed 2016.1
- 우병준, 허덕, & 김현중. (2010). 동물복지형 축산의 동향과 정책과제. 한국농촌경제연구원 기본 연구보고서, 1-166.
- 유덕기. (2007). 유기축산을 위한 농장동물복지의 과제와 평가. 한국유기농업학회지, 15(3), 237-256.
- 윤상기. 1998. 조사료 위주 소 사양관리 요령. 낙농·육우, 18(2), 90-93.
- 이병오, & 허국동. (2014). 중국 육우산업의 잠재력과 대중 한우고기 수출전략. 강원 농업생명환경연구, 26(2), 42-55.
- 정의강. 2013. 한우와 육우 송아지육의 품질특성 비교 및 육가공품 개발에 관한 연구. 상지대학교 대학원. 학위논문.
- 지일성. 1993. 조사료 사양체계가 좋은우유 생산의 기본이다. 낙농육우, 13(11), 42-45.
- 최명구. (2011). 초지법의 주요내용과 과제. 東北亞細亞文化學會 第 22 次 國際學術大會, 235-238.
- 최순호, 김태일, 기광석, 이현준, 임동현, 박수범, 이상민, 조수현, 권응기, 황보순. 2013. 육우의 출하월령이 도체특성 및 경제성에 미치는 영향. 동물자원연구, 24(2), 157-163.
- 축산물품질평가원 축산유통종합정보센터 eKAPEPIA. 등급판정통계.
<http://www.ekapepia.com/user/priceStat/gradeCowBody.do> accessed 2015.8.
- 축산물품질평가원 축산유통종합정보센터 eKAPEPIA. 소도체 기간별 경락가격.
<http://www.ekapepia.com/user/priceStat/periodCowAuctionPrice.do> accessed 2015.8.
- 한국농어촌공사. 2013. 캄보디아 농업환경조사 보고서.(해외농업투자환경조사보고서 기업시리즈 36)
- 한인규, 이상철, 문여황, 고영곤, & 정연후. (1996). 반추영양 (反芻營養): 조사료의 품질과 농후 사료에 대한 급여비율이 HOLSTEIN 젖소의 반추위 발효성상 및 질소와 에너지 대사에 미치는 영향. 한국영양사료학회지, 20(3), 283-295.
- 현창백, 이용준, 이신애, 이승곤, 이성기, 김종택, & 송영한. (2007). 고도별 한우의 혈액학, 혈액 생화학적 및 호르몬 수치의 변화. 한국임상수의학회지, 24(1), 1-4.

위탁: 비가열살균방법 (HPP)의 가공적성 연구

- Barbosa-Canovas, G. V., & Juliano, P. (2008). Food sterilization by combining high pressure and thermal energy. In *Food engineering: Integrated approaches* (pp. 9–46). Springer New York.
- Butz, P., Edenharder, R., Garca, A. F., Fister, H., Merkel, C., & Tauscher, B. (2002). Changes in functional properties of vegetables induced by high pressure treatment. *Food Research International*, 35(2), 295–300.
- Galindo, F. G., Sjöholm, I., Rasmussen, A. G., Widell, S., & Kaack, K. (2007). Plant stress physiology: opportunities and challenges for the food industry. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 47(8), 749–763.
- Hara, A., Nagahama, G., Ohbayashi, A., & Hayashi, R. (1990). Effects of high pressure on inactivation of enzymes and microorganisms in non-pasteurized rice wine (namazake). *Journal of the Agricultural Chemical Society of Japan (Japan)*.
- Hayashi, R., Kawamura, Y., Nakasa, T., & Okinaka, O. (1989). Application of high pressure to food processing: pressurization of egg white and yolk, and properties of gels formed. *Agricultural and Biological Chemistry*, 53(11), 2935–2939.
- Horie, Y., Kimura, K., Ida, M., Yosida, Y., & Ohki, K. (1991). Jam preparation by pressurization. *Journal of the Agricultural Chemical Society of Japan (Japan)*.
- Huppertz, T., Smiddy, M. A., Upadhyay, V. K., & Kelly, A. L. (2006). High-pressure-induced changes in bovine milk: a review. *International Journal of Dairy Technology*, 59(2), 58–66.
- Juliano, P., Koutchma, T., Sui, Q., Barbosa-Canovas, G. V., & Sadler, G. (2010). Polymeric-based food packaging for high-pressure processing. *Food Engineering Reviews*, 2(4), 274–297.
- Knorr, D. (1993). Effects of high-hydrostatic-pressure processes on food safety and quality. *Food technology (USA)*.
- Laidler, K. H. (1951). The influence of pressure on the rates of biological reactions. *Archives of biochemistry*, 30(2), 226–236.
- Lambert, Y., Demazeau, G., Largeteau, A., Bouvier, J. M., Laborde-Croubit, S., & Cabannes, M. (2000). New packaging solutions for high pressure treatments of food.

- International Journal of High Pressure Research, 19(1–6), 207–212.
- Larkin, K. J., & Reddy, N. R. (1999). Some of effects of high pressure on bacteria. *Journal of Cell Comp. Physio*, (15), 75–83.
- Mastwijk, H. C., & Groot, N. (2010). Use of cold plasma in food processing.
- Mertens, B. (1992). Developments of nonthermal processes for food preservation. *Food Technol.*, 46(5), 124–133.
- Messens, W., Dewettinck, K., Van Camp, J., & Huyghebaert, A. (1998). High pressure brining of Gouda cheese and its effect on the cheese serum. *LWT–Food Science and Technology*, 31(6), 552–558.
- Moreau, M., Orange, N., & Feuilloley, M. G. J. (2008). Non–thermal plasma technologies: new tools for bio–decontamination. *Biotechnology advances*, 26(6), 610–617.
- Morild, E. (1981). The theory of pressure effects on enzymes. *Advances in protein chemistry*, 34, 93–166.
- Patterson, M. F., Quinn, M., Simpson, R., & Gilmour, A. (1995). Sensitivity of vegetative pathogens to high hydrostatic pressure treatment in phosphate–buffered saline and foods. *Journal of Food Protection*, 58(5), 524–529.
- San Martin, M. F., Barbosa–Canovas, G. V., & Swanson, B. G. (2002). Food processing by high hydrostatic pressure. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 42(6), 627–645.
- Seyderhelm, I., S. Bogusalwaki, G. Michaelis and D. Knorr, 1996. Pressure induced inactivation of selected food enzymes. *J. Food Sci.*, 61, 308~310.
- Shimada, S., Andou, M., Naito, N., Yamada, N., Osumi, M., & Hayashi, R. (1993). Effects of hydrostatic pressure on the ultrastructure and leakage of internal substances in the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 40(1), 123–131.
- Suzuki, C., & Suzuki, K. (1962). The protein denaturation by high pressure. *The Journal of Biochemistry*, 52(2), 67–71.
- Torres, J. A., & Velazquez, G. (2005). Commercial opportunities and research challenges in the high pressure processing of foods. *Journal of Food Engineering*, 67(1), 95–112.
- Ueno, Y., Ikeuchi, Y., & Suzuki, A. (1999). Effects of high pressure treatments on intramuscular connective tissue. *Meat science*, 52(2), 143–150.

- Ulmer, H. M., Ganzle, M. G., & Vogel, R. F. (2000). Effects of high pressure on survival and metabolic activity of *Lactobacillus plantarum* TMW1. 460. Applied and Environmental Microbiology, 66(9), 3966–3973.
- Yen, G.C. and H.T. Lin. 1996. Comparison of high pressure treatment and thermal pasteurization effects on the quality and shelf-life of guava puree. Int. J. Food Sci. Technol., 31, 205~213.
- Yuge, N., Mieda, H., Mutsushika, O., & Tamaki, Y. (1993). Bitterness inhibition in grapefruit juice by high pressure treatment. High Pressure Bioscience and Food Science,” ed. by R. Hayashi. San-Ei Publishing Co., Japan, 350–354.
- 김봉오. 2002. 초고압처리에 따른 고추장의 품질 변화. 제주대학교 대학원. 학위논문
- 김성수, 조형용, 김병철. 2010. 산업용 초고압살균시스템을 이용한 신선 사과주스의 상품화. 식품 기술. 23(4), 502–515.
- 박지용, 나상열, 이연정. (2010.3). 비가열 식품가공기술의 현재와 미래. 식품과학과 산업, 43(1), 2–20.
- 신정규, 김보라, 김애진. (2010.3). 전기 에너지를 이용한 비가열 식품가공기술. 식품과학과 산업, 43(1), 21–34.
- 안태희, 1996. 레토르트식품의 살균기술, 식품기술 9(4), 48–55.
- 정관재. 2000. 고전압 펄스 전기장을 이용한 우유의 살균. 연세대학교 대학원. 학위논문
- 조형용. 2014. High pressure processing. CHA의과학대학교 식품생명공학과.
- 좌미경. 2001. 초고압처리에 의한 좁쌀 약·탁주의 저장성 향상. 제주대학교 대학원. 학위논문

제 1 협동: 자연친화적 건강기능성 젓소(육우)고기 제품 연구

- Aebi, H. (1984). Catalase in vitro. *Meth. Enzym.* 105: 121126.
- AOAC (1995). *Official Methods of Analysis*, 16th edition. Association of Official Analytical Chemists International, Washington, DC.
- Bajovic, B., Bolumar, T., & Heinz, V. (2012). Quality considerations with high pressure processing of fresh and value added meat products. *Meat Science* 92 (3): 280–289.
- Bak, K. H., Lindahl, G., Karlsson, A. H., & Orlien, V. (2012). Effect of high pressure, temperature, and storage on the color of porcine longissimus dorsi. *Meat Science* 92: 374381.
- Bonanome, A., Grundy, S.M. (1988). Effect of dietary stearic acid on plasma cholesterol and lipoprotein levels. *N. Eng. J. Med.* 318:1244–1248.
- Chan, J. T. Y., Omana, D. A., & Betti, M. (2011). Application of high pressure processing to improve the functional properties of pale, soft, and exudative (PSE)–like turkey meat. *Innovative Food Science and Emerging Technologies* 12 (3): 216225
- Cheftel, J. C. & Culiolo, J. (1997). Effects of high pressure on meat: A review. *Meat Science* 46: 211236.
- Chevalier, D., Le Bail, A., Ghoul M. (2001). Effects of high pressure treatment (100–200 MPa) at low temperature on turbot (*Scophthalmus maximus*) muscle. *Food Res. Int.* 34(5): 425429.
- Cho YM, Kwon EK, Chang SS, Kim TI, Park BK, Kang SW and Paek BH. 2008. Effect of total mixed rations on growth performance and carcass characteristics of Hanwoo steers. *Kor. J. Anim Sci. & Technol.* 50(3): 363–372.
- Deisingh, A. K., Stone, D. C. & Thompson, M. (2004). Application of electronic noses and tongues in food analysis. *Intl. J. Food Sci.* 39: 587–604.
- DeVore, V. R. & Greene, B. E. (1982). Glutathione–peroxidase in post–rigor bovine semi–tendinosus muscle. *Journal of Food Science* 47 (5): 14061409.
- Folch, J. M., Lee, M., Sloan, G. H. (1957). A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J. Biol. Chem.* 226, 497–514.
- French, P., Stanton, C., Lawless, F., O'Riordan, E. G., Monahan, F. J., Caffrey, P.J., Moloney, A. P. (2000). Fatty acid composition, including conjugated linoleic acid, of

- intramuscular fat from steers offered grazed grass, grass silage or concentrate-based diets. *Journal of Animal Science*, 78:2849-2855
- Harris WS, Connor WE, Inkeles SB, Illingworth DR. 1984. Dietary omega-3 fatty acids prevent carbohydrate-induced hypertriglyceridemia. *Metabolism* 33:1016-1019
- Hendrickx, M., Ludikhuyze, L., Van den Broeck, I., Weemaes, C. (1998). Effects of high pressure on enzymes related to food quality. *Trends in Food Science and Technology* 9: 197-203.
- Jonnalagadda, S. S., Thye, F. W., & Robertson, J. L. (1993). Plasma total and lipoprotein cholesterol, liver cholesterol and fecal cholesterol excretion in hamsters fed fiber diets. *The Journal of nutrition*, 123(8), 1377-1382.
- Jung, Y., Jung, S., Lee, H. J., Kang, M., Lee, S. K., Kim, Y. J., & Jo, C. (2012). 식물성 유지 첨가 후 초고압 처리가 우육의 안전성 및 육질에 미치는 영향. *Korean J. Food Sci. Ani. Resour*, 32(1), 68-76.
- Kang, G., Cho, S., Seong, P., Park, B., Kim, S. Kim, D., Kim, Y., Kang, S., Park, K. (2013). Effects of high pressure processing on fatty acid composition and volatile compounds in Korean native black goat meat. *Meat Science* 94 (4): 495-499
- Kim, Y. J., Lee, E. J., Lee, N. H., Kim, Y. H., & Yamamoto, K. (2007). Effects of hydrostatic pressure treatment on the physiochemical, morphological, and textural properties of bovine semitendinosus muscle. *Food Science and Biotechnology* 16: 4954.
- Krzywicki, K. (1982). The determination of haem pigments in meat. *Meat Science* 7 (1): 29-36.
- Lee SJ, Lee MJ. 1977. Composition of fatty acid in the edible oils. *J Korean Soc Food Nutr* 6:47-53
- Lee, Y. M., & Chin, K. B. (2012). Effects of phosphate addition alone or in combined with dipping in trisodium phosphate solution on product quality and shelf-life of low-fat sausages during refrigerated storage. *Korean Journal for Food Science of Animal Resources*, 32(1), 84-90.
- Ma, H. J., Ledward, D. A., Zamri, A. I., Frazier, R. A., & Zhou, G. H. (2007). Effects of high pressure/thermal treatment on lipid oxidation in beef and chicken muscle. *Food Chemistry* 104 (4): 1575-1579
- Ma, H., & Ledward, D. A. (2013). High pressure processing of fresh meat Is it worth it?.

Meat Science 95 (4): 897–903.

- Mandava, R.; Fernandez, I.; Juillerat, M. (1994). Effect of high hydrostatic pressure on sausage batters. In Proceedings 40th Int. Congr. Meat Sci. Technol. (pp. 1–6), Aug. 28–Sept. 2 1994, Den Haag, Netherlands.
- Miyagawa, K., Sannoe, K., Suzuki, K. (1964). Studies on Taka–amylase A under high pressure treatment: II. Recovery of enzymic activity of pressure inactivated Taka–amylase A and its enhancement by retreatment at moderate pressure. Archives of Biochemistry and Biophysics 106: 467–474.
- Mohri, M., Sharifi, K., Eidi, S. (2007). Hematology and serum biochemistry of Holstein dairy calves: Age related changes and comparison with blood composition in adults. Research in Veterinary Science 83 (1): 30–39.
- Mohri, M., Sharifi, K., & Eidi, S. (2007). Hematology and serum biochemistry of Holstein dairy calves: age related changes and comparison with blood composition in adults. Research in veterinary science, 83(1), 30–39.
- Moloney, A. P., Mooney, M. T., Kerry, J. P., Troy, D. J. (2001). Producing tender and flavorsome beef with enhanced nutritional characteristics. Proceedings of the Nutrition Society, 60: 221229.
- Newton, K. G., & Gill, C. O. (1981). The microbiology of DFD fresh meats: A review. Meat Science 5 (3): 223–232.
- Pietrasik, Z., Gaudette, N. J., & Johnston, S. P. (2016). The use of high pressure processing to enhance the quality and shelf life of reduced sodium naturally cured restructured cooked hams. Meat science, 116, 102–109.
- Renerre, M., Dumont, F., Gatellier, P. (1996). Antioxidant enzyme activities in beef in relation to oxidation of lipid and myoglobin. Meat Science 43 (2): 111–121.
- Roberfroid, M. (1993). Dietary fiber, inulin, and oligofructose: a review comparing their physiological effects. Critical Reviews in Food Science & Nutrition, 33(2), 103–148.
- Sinhuber, R. O., & Yu, T. C. (1977). The 2–thiobarbituric acid reaction, an objective measure of the oxidative deterioration occurring in fat and oil. J. Jap. Soc. Fish. Sci. 26: 259–267.
- Tarrant, P. V. (1989). Animal behaviour and environment in the dark–cutting condition in beef—a review. Irish Journal of Food Science and Technology, 1–21.
- Trius, A., Sebranek, J. G., Rust, R. E., & Carr, J. M. (1994). Carrageenans in beaker

- sausage as affected by pH and sodium tripolyphosphate. *Journal of Food Science*, 59(5), 946–951.
- Warris, P. D. (2000). *Meat Science*. New York: CABI Publishing.
- Yang, H., Han, M., Bai, Y., Han, Y., Xu, X., & Zhou, G. (2015). High pressure processing alters water distribution enabling the production of reduced-fat and reduced-salt pork sausages. *Meat science*, 102, 69–78.
- Zhang, W., Xiao, S., Samaraweera, H., Lee, E. J., & Ahn, D. U. (2010). Improving functional value of meat products. *Meat Science* 86 (1): 15–31.
- Zock, P.L., de Vries, J.H., Katan, M.B. (1994). Impact of myristic acid versus palmitic acid on serum lipid and lipoprotein levels in healthy women and men. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 14:567–575.
- 국민건강영양조사(2015). 2014 국민건강통계. <https://knhanes.cdc.go.kr/knhanes/index.do>. Accessed Aug. 30, 2016
- 김기훈, & 송만강. (2013). 복합생균발효사료 급여수준이 젖소 수송아지 육성우의 증체에 미치는 효과. *동물생명과학연구*, 5, 1–9.
- 박광진, & 지설하. (1977). 논문 한우에 있어서 농후사료 급여 수준이 비육효과에 미치는 영향. *한국동물자원과학회지*, 19(5), 375–379.
- 박상오, 박병성, 여인서, 황보중, & 방한태. (2014). 아마씨앗 첨가 한우사료가 등심 지방의 n-6/n-3 변화 및 이를 섭취한 사람의 혈중 콜레스테롤 함량에 미치는 영향. *韓國油化學會誌*, 31(2), 265–276.
- 식품의약품안전처 (2014). <http://www.mfds.go.kr/index.domid=675&seq=24741&cmd=v>. Accessed Aug. 30, 2016.
- 안병홍, 송성철, & 류재숙. (2002). 반추가축영양: 조사료와 농후사료의 급여비율이 한우거세우의 성장 및 도체특성에 미치는 영향. *한국동물자원과학회지*, 44(6), 747–756.
- 이춘식. (2011). 최상급 한우 건조숙성육과 습식숙성육의 이화학적 특성과 관능품질에 관한 연구. 석사학위논문, 경기대학교, 1–103.
- 전병태, 박재현, 조원모, 김상우, 장세영, & 문상호. (2015). TMR 사료의 물리적 유효 NDF 함량이 한우 거세비육우의 생산성과 도체특성에 미치는 영향. *한국초지조사료학회지*, 35(1), 12–16.
- 정연국, 이현정, 강보석, & 조철훈. (2010). 초고압 처리한 닭가슴육의 품질특성. *한국가금학회 제 27 차 정기총회 및 학술발표회*, 159–160.
- 정태영, 김종민, 이왕열, & 선우훈희. (1994). 조사료원과 급여수준이 한우의 비육능력 및 도체 성

적에 미치는 영향. 한영사지, 18(1), 67-76.

조수현, 성필남, 강선문, 강근호, 김영춘, & 최순호. (2016). 농산부산물 TMR 사료의 에너지 급여 조건에 따른 홀스타인 육우육의 이화학적 육질 및 관능특성. 농업생명과학연구, 50(1), 211-222.

최은옥 (2010). 기능성지질과 오메가-3 지방산의 식품 적용. 식품과학과 산업, 43(4), 2-13.

축산유통종합정보센터. (2016).
<http://www.ekapepia.com/user/distribution/distDetail.do?nd96512>. Accessed Aug. 30, 2016.

제 2 협동: 자연친화적 건강기능성 우유제품 연구

Antioxidant Defense System in High Fat Diet Induced Obese C57BL/6 Mice. Korean Soc Food Sci Nutr. 36, 1537-1543

Bae, IH. 2010. Current Status and Prospect of Environmental friendly Farmstead Milk Processing in Korea. Korean Journal of Organic Agriculture 18(2):155-176.

Ban, H.J., Park, D.I., Kang, K.H., 2012. Inhibitory Effect of Artemisiae Asiaticae Herba on Degranulation, Production of Cytokine, and Fc ϵ RI Expression in RBL-2H3 Cells. Korean J. Oriental Physiology & Pathology. 26, 915-921

Beran, M., Klubal, R., Molik, P., Strohmalm, J., Urban, M., Klaudyova, A.A., Prajzlerova, K., 09. Influence of high-hydrostatic pressure on tryptic and chymotryptic hydrolysis of milk proteins. High pressure research. 29, 23; 23-27; 27

Carolina, M. P., Marc, P., Ana, I. C. and M. Carmen L. S. 2011. Effects of pasteurization and high-pressure processing on vitamin C, tocopherols and fatty acids in mature human milk. J. Food Chemistry 124:697-702

Cho, Y., Jang, E., Jang, S., Chun, M.C., Shon, M., Kim, M., Lee, M., 2007. Effect of Grape Seed Water Extract on Lipid Metabolism and Erythrocyte

Cho, Y., Shon, M.S., Lee, M.L., 2007. Lipid Lowering Action of Powder and Water Extract of Mulberry Leaves in C57BL/6 Mice Fed High-Fat Diet. Korean Soc Food Sci Nutr. 36, 405-410

Chung, K., Barnes, P., 1999. Cytokines in asthma. Thorax. 54, 825-857.

- Considine, K. M., Kelly, A. L., Fitzgerald, G. F., Hill, C. and Sleator, R. D. 2008. High-pressure processing-effects on microbial food safety and food quality. *FEMS Microbiol. Lett.* 281(1):1-9.
- Couvreur, S., Hurtaud, C., Lopez, C., Delaby, L. and Peyraud, J. L. 2006. The linear relationship between the proportion of fresh grass in the cow diet, milk fatty acid composition, and butter properties. *J. Dairy Sci.* 89:1956-1969.
- El-Alfy, A., Ahmed, A., Fatani, A., 2005. Protective effect of red grape seeds proanthocyanidins against induction of diabetes by alloxan in rats. *PHARMACOLOGICAL RESEARCH.* 52, 264-270
- Erika, I. and Kristiina, T. 1996. Combined skin prick and patch testing enhances identification of food allergy in infants with atopic dermatitis. *J. Allergy Clin. Immun.* 97(1):9-15.
- Fonberg-Broczek, M., Windyga, B., Szczawinski, J., Szczawinska, M., Pietrzak, D. and Prestamo, G. 2005. High pressure processing for food safety. *Acta Biochim. Pol.* 52(3):721-724.
- FRIDOVICH, I., 1989. SUPEROXIDE DISMUTASES - AN ADAPTATION TO A PARAMAGNETIC GAS. *J. Biol. Chem.* 264, 7761-7764
- Gordon, J.R., Burd, P.R., Galli, S.J., 1990. Mast cells as a source of multifunctional cytokines. *Immunology Today.* 11, 458-464
- He, H., Adams, R. M., Farkas, D. F. and Morrissey, M. T. 2002. Use of high-pressure processing for oyster shucking and shelf-life extension. *J. Food Sci.* 67(2):640-645.
- Iametti, S., Transidico, P., Bonomi, F., Vecchio, G., Pittia, P., Rovere, P., Dall'Aglio, G., 1997. Molecular modifications of beta-lactoglobulin upon exposure to high pressure. *J. Agric. Food Chem.* 45, 23-29
- Isolauri, E., Turjanmaa, K., 1996. Combined skin prick and patch testing enhances identification of food allergy in infants with atopic dermatitis. *J. Allergy Clin. Immunol.* 97, 9-15
- Jang, J. B. and Jeon, H. M. 2011. Mid to long-term development strategy for milk processing industry. Korea Rural Economic Institute, R633-2. pp 1-169.
- Jwa, M. G., Im, S. B. and Mog, C. G. 2003. Inactivation of microorganisms and enzymes in foxtail millet yakju by high hydrostatic pressure treatment. *J. Korean Soc. Food Sci.*

- Nutr. 32(8):1221–1226.
- Kim, P. J. 2005. Development of Korean dairy industry–market milk. *J. Korean Dairy Technol. Sci.* 23(2):143–148.
- Ko, Y., Lee, G., Ry, C., 2013. Anti-inflammatory Effect of Polysaccharide Derived from Commercial Kanjang on Mast Cells. *Journal of Life Science.* 23, 569–577
- Lee, J. E., Choi, E. J., Park, S. Y., Jeon, G. Y., Jang, J. Y., Oh, Y. J., Lim, S. K., Kim, T. W., Lee, J. H., Park, H. W., Kim, H. J., Jeon, J. T. and Choi, H. J. 2014. Effects of high pressure treatment on the microbiological and chemical properties of milk. *Korean J. microbiol. Biotechnol.* 42(3):267–274.
- Lee, S. S. 2007. Current status and prospects of Korean dairy industry. *J. Korean Dairy Technol. Sci.* 25(2):33–40.
- Lee, S.Y., 2014. The antigenicities of heat treated and hydrolyzed cow's milk protein. *Allergy Asthma & Respiratory Disease.* 2, 227
- Lim, C., Joo, T., Hong, S., Park, S., Park, J., Jeon, G., Jung, W., Jeon, J., Kim, G., Jhoo, J., 2015. Effect of High Pressure Processing on Quality Characteristics of Grass–FedCow's Milk. *Ann. Anim. Resour. Sci.* 26, 29–41
- Lopez–Exposito, I., Chicon, R., Belloque, J., Lopez–Fandi no, R., Berin, M.C., 2012. In vivo methods for testing allergenicity show that high hydrostatic pressure hydrolysates of β –lactoglobulin are immunologically inert. *J. Dairy Sci.* 95, 541–548
- Mastuda, H., Morikawa, T., Ueda, K., Managi, H., Yoshikawa, M., 2002. Structural requirements of flavonoids for inhibition of antigen–induced degranulation, TNF–alpha and IL–4 production from RBL–2H3 cells. *Bioorg. Med. Chem.* 10, 3123–3128
- Mekori, Y., Metcalfe, D., 2000. Mast cells in innate immunity. *Immunol. Rev.* 173, 131–140
- Moon, J., Sung, J., Choi, I., Kim, Y., 2010. Anti–Obesity and Hypolipidemic Activity of Taro Powder in Mice Fed with High Fat and Cholesterol Diets. *KOREAN J. FOOD SCI. TECHNOL.* 42, 620–626
- Nam, M.S., 2010. Milk Proteins and Allergy. *Journal of Korean Dairy Technology and Science Association.* 28, 35–41
- Park, J. Y. 2009. High–pressure processing technology, *Korea Food Industry* 210(0):9–23

- Park, S., Sung, K., Chung, S., 2005. *Euonymus alatus* prevents the hyperglycemia and hyperlipidemia induced by high-fat diet in ICR mice. *J. Ethnopharmacol.* 102, 326–335
- Sampson, H.A., 2003. 9. Food allergy. *J. Allergy Clin. Immunol.* 111, S540–S547
- Slots, T., Butler, G., Leifert, C., Kristensen, T., Skibsted, L. H. and Nielsen, J. H. 2009. Potentials to differentiate milk composition by different feeding strategies. *J. Dairy Sci.* 92:20056–2066.
- Thom, H., Mary, A. S., Vivek, k. U. and Alan, L. K. 2006. High-pressure-induced changes in bovine milk : a review. *Int. J. Dairy Technol.* 589(2):58–66.
- Yunginger, J.W., 1997. In *Food allergy: adverse reactions to food and food additives*. Blackwell Scientific Publications, 50–53