

최 중
연구보고서

Propylene Glycol (PG)을 이용한
고급 한우육 생산법 개발

High marbled beef production in Korean native
steers using propylene glycol

연구기관

전 남 대 학 교
농촌진흥청 축산연구소

농 립 부

최 중
연구보고서

Propylene Glycol (PG)을 이용한
고급 한우육 생산법 개발

High marbled beef production in Korean native
steers using propylene glycol

연구기관

전 남 대 학 교
농촌진흥청 축산연구소

농 립 부

제 출 문

농림부 장관 귀하

본 보고서를 “Propylene Glycol (PG)을 이용한 고급 한우육 생산법 개발” 과제 의 최종보고서로 제출합니다.

2004 년 10 월 일

주관연구기관명 : 전남대학교

총괄연구책임자 : 명 규 호

협동연구기관명 : 축산연구소

협동연구책임자 : 김 영 근

요 약 문

I. 제 목

Propylene Glycol (PG)을 이용한 고급 한우육 생산법 개발

II. 연구개발의 목적 및 필요성

1999년 현재 총 쇠고기 수급량 중 국내 증당분은 24만 톤이고 수입에 의한 증당분은 19.2만 톤이다. 이와 같이 전체 쇠고기 수급량 중 44% 이상을 수입에 의존하고 있는 주 요인은 다름 아닌 가격차 때문이다. 이와 관련하여 수많은 종류의 브랜드 들 이 개발 되어왔고 그 생산 방법 들 역시 기본적으로 거세에 의한 한우 체내 호르몬 변화와 장기 육성 방법의 성장생리 및 소위 특수 약제들의 첨가사료 급여에 의한 고급육생산을 그 근간으로 하고 있다. 그러나 엄밀한 의미에서 냉철히 생각해 보면 과연 그러한 첨가 제제 들이 과연 얼마나 큰 효과가 있는지는 이를 과학적으로 검증해 볼 필요가 있으며, 이러한 사실이 과학적으로 검증되지 못하면 오히려 소비자들로부터 외면당할 소지가 충분히 있다. 따라서 보다 과학적으로 검증 될 수 있는 방법으로 고급 한우육을 생산 하려는 노력이야말로 장기적으로 소비자의 호응을 지속적으로 얻을 수 있는 방법이라 생각된다.

우리나라와 일본에서는 쇠고기 중 기호성과 연도를 좋게 하는 근육내 지방(marbling)이 많이 포함되어 있는 것을 선호하며 이를 특상품으로 간주하여 높은 가격에 판매되고 있다. 따라서 한우의 성장기간 중 체부위별 지방축적 생리를 이해하고, 체내 생화학적 지방합성 경로와 내분비적 특성을 파악하여 사료내 성분으로 이를 조절함으로써 소비자가 원하는 특정부위의 지방(marbling)함량만을 선택적으로 증가시키는 것이 가능하리라 생각된다. 한우의 근내지방을 증가시키는 방법은 유전력(0.37)을 이용하거나 도체중을 증가시키는 것이다. 따라서 도체중을 증가시켜 사양기간을 오래 할 경우 생산비가 증가되므로 사양기간을 짧게 하면

서 근내지방을 향상시키는 방법에 관해 관심이 고조되고 있다. 실제로 위에서 언급 한바와 같이 전체 축적 지방중 근내지방이 차지하는 비율은 매우 낮으므로 축체내 지방 분배를 근내지방 쪽으로 약간만 변경 시켜도 그효과는 매우 크게 나타날 것이다. 그러나 불행히도 현재까지는 이에 관한 보고가 거의 없는 실정이다.

육우의 근육내 지방(marbling)조직은 acetate 보다 glucose와 lactate를 지방산 합성원료로 더 많이 사용하고 있음이 밝혀졌다. PG는 낙농 선진국에서 분만 직후 비유 초기에 사료섭취 제한으로 인한 ketosis 발생 예방을 위해 glucose 공급 원으로 급여시 체내에서 직접 흡수 되거나 극히 일부는 반추위에서 popionate 생성을 증가시켜 결국 체내 glucose 공급량을 증가시켜 줄 뿐만 아니라 혈중 인슐린 함량도 증가시켜준다. 따라서 미국등 낙농 선진제국에서 고능력우의 비유초기 영양성 대사 장애를 예방하기위한 목적으로 주로 사용 될뿐. 육우의 성장생리 및 각 지방부위별 축적 기질 특성을 이용한 고급육 생산에는 전혀 이용되고 있지 않는 실정이다.

이미 알려진 바와 같이 우리의 경쟁 대상국인 구미의 축산 선진국들에 비해 너무 낮은 비육우의 생산성을 극복할 수 있는 유일한 길은 품질향상 뿐이며 이는 우리가 기필코 해결해야 할 절대절명의 과제이다. 따라서 이를 해결하기 위한 하나의 수단으로 현재 그 과학적 실현 가능성과 식품으로서의 안정성 효과가 가장 크게 기대되는 PG 사용 프로그램을 우리 실정에 맞게 개발하고 이의 작용원리를 밝혀 냄으로서 앞으로 한우육의 육질을 획기적으로 향상시키고 따라서 한우의 국제적 경쟁력과 농가의 수익성을 극대화 할 수 있는 대안을 찾고자 본 연구를 실시하였다.

III. 연구개발 내용 및 범위

PG를 이용한 고급 한우육 생산법을 개발하기 위하여 2과제로 구분하여 연구를 수행하였다.

1. PG를 이용한 육질증진 한우 사육 프로그램 개발

연구계획서 상 설정 된 PG 급여량과 급여시기가 타당한가를 규명하기 위하여 거세 한우를 이용하여 사양시험을 실시 하면서,

- 가. 사양시험 기간중 대조구와 PG 급여구간의 사료섭취량, 증체량, 사료효율 비교
- 나. 사양 시험 종료 후 대조구와 PG 급여구간의 도체성적 조사 비교
- 다. 대조구와 PG 급여구간 도체고기의 기호성 조사
- 라 대조구와 PG 급여구간 경제성 분석 비교 등을 실시하였다.

2. PG 사용시 근육내 단백질 및 지방축적 기작 규명

PG 급여에 의해 발생 할 수 있는 체내 단백질 및 지방 축적 기작의 차이를 생리 및 분자 생물학적 수준에서 규명하기 위해 사양 시험을 수행하면서 또는 도체로부터 시료들을 확보 하여,

- 가. 초음파를 이용한 대조구와 PG 급여구간 비육 말기 육질변화 상태 관찰
- 나. 대조구와 PG 급여구간 반추위액내 휘발성 지방산 생성 패턴 비교
- 다. 대조구와 PG 급여구간 혈액 내 글루코스 및 인슐린 함량 차이 비교
- 라 대조구와 PG 급여구간 배최장근 내 IGF-1 mRNA 와 등지방 및 배최장근 내 지방의 leptin mRNA 발현을 차이 조사 비교 등을 실시하였다.

IV. 연구개발 결과 및 활용에 대한 건의

1, 연구개발 결과

가. PG를 이용한 육질증진 한우 사육 프로그램 개발

1) 사양시험 기간중 대조구와 PG 급여구간의 사료섭취량, 증체량, 사료효율 비교 사양 시험 기간중 2 처리구간의 사료섭취량, 증체량에 차이가 없었고, 다만

대조구 와 PG 급여구의 사료효율이 10.62 및 9.94 이었는데 이는 PG를 급여한 만큼 농후사료를 급여치 않았기 때문이다.

2) 사양 시험 종료 후 대조구와 PG 급여구간의 도체성적 조사 비교 PG 급여에 의해 배최장근단면적이 11% 증가하였고, 두처리의 평균 marbling score는 대조구 와 PG 급여구가 각각 4.3 과 4.8로 증가 되는 듯한 경향을 보였다.

3) 대조구와 PG 급여구간 도체고기의 기호성 조사 한우 거세우 비육 최후기에 PG를 급여하여도 고기의 다즙성, 연도 및 풍미에 전혀 영향을 미치지 않았다.

4) 대조구와 PG 급여구간 경제성 분석 비교 비육 최후기 4 개월간 한우 거세 비육우에 PG를 급여 하므로써 수익성이 46% 증가 되었다.

나. PG 사용시 근육내 단백질 및 지방축적 기작 규명

1) 초음파를 이용한 대조구와 PG 급여구간 비육 말기 육질변화 상태 관찰 생후 26 및 28개월령의 초음파 관찰상으로는 PG 급여구의 육질 등급이 낮았다.

2) 대조구와 PG 급여구간 반추위액내 휘발성 지방산 생성 패턴 비교 PG 급여에 의해 반추위내 프로피온산 함량은 유의적 ($p=0.044$)으로 증가 하였고, 따라서 아세트산 : 프로피온산의 비율도 유의적 ($p=0.042$)으로 증가 되었다.

3) 대조구와 PG 급여구간 혈액 내 글루코스 및 인슐린 함량 차이 비교 PG 급여에 의해 혈청내 글루코스 함량은 수치상 증가 하는 경향을 보였으며, 인슐린 함량은 유의적 ($p=0.047$)으로 증가 하였다.

4) 대조구와 PG 급여구간 배최장근 내 IGF-1 mRNA 와 등지방 및 배최장근 내 지방의 leptin mRNA 발현을 차이 조사 비교 PG 급여에 의해 배최장근 내 IGF-1 mRNA 발현을 에는 차이가 없었으며, 등지방 조직내 leptin mRNA 발현율은 유의적 ($p<0.01$)으로 감소 한 반면 배최장근 내 지방 조직내 leptin mRNA 발현율은 유의적 ($p<0.01$)으로 75% 정도 증가 되었다.

2. 연구개발 결과의 활용

- ◆ 현재 규명 된 PG급여 수준 보다 더 세분화 된 급여 방법, 수준 및 급여기간의 시험 완료 후,

 - ⇒ 축산연구소의 영농기술 상담 창구를 이용하여 한우 농가에 기술보급 실시

 - ⇒ 전북익산 죽림농장을 시범농장으로 하여 각 한우 농가 및 농촌진흥청, 각시, 군 농업기술센터를 통한 PG 급여 기술 보급 및 방법 지도

 - ⇒ 선도 PG사료 생산 업체로 광주광역시 축산농협 목포배합사료공장을 지정하여 PG첨가 비육후기 배합사료 생산 시범판매 유도 후 국내 전 배합사료공장에 기술 무상 이전 추진

- ◆ 현재 까지 밝혀진 PG의 육우내 작용 기작을 근거로,

 - ⇒ PG 급여 방법과 한우에 대한 국제적 공인을 받기 위한 수단의 일환으로 SCI 급 논문에 투고 게재

 - ⇒ 국내 외 세미나 등을 통한 PG 급여 작용원리 강연을 통한 타 연구자들의 추가 시험 유도 등에 활용하고자 한다.

SUMMARY

I. Title

High marbled beef production in Korean native steers using propylene glycol

II. Object and Significance

Beef producers continuously try to decrease carcass fatness while at the same time aiming to increase intramuscular adipose (marbled fat) levels to meet consumer preferences. This can be accomplished only if the factors regulating lipid deposition in intramuscular adipose tissue and other fat depots differ substantially. Ruminants represents a special case with respect to *de novo* lipogenesis since most dietary carbohydrate is extensively fermented in the rumen, and even when grains are fed there is little absorption of glucose from the small intestine (Rowe and Pethick, 1994). As a consequence, acetate derived from fermentation in the rumen is thought to be the main source of carbon for fatty acid synthesis (Vernon, 1981). However, there is also evidence for some synthesis from glucose, especially via lactate (Prior, 1978; Smith, 1995).

Studies by Smith and Crouse (1984) have shown that adipocytes associated with the intramuscular depot have a higher reliance on glucose and/or lactate as a substrate than lactate. Administration of glucogenic precursors such as propylene glycol (PG) is effective in reducing plasma NEFA to prevent ketosis through early lactation in dairy cows (Christensen et al., 1997).

Two reports have demonstrated at least two enzymatic pathways in animals for the conversion of PG to glucose via lactaldehyde and lactic acid (Gupta and Robinson, 1960; Miller and Bazzano, 1965).

Circulating concentrations of leptin may provide an indicator of fat content in live cattle (Geary et al., 2003) and the increased IGF-1 mRNA level in muscle of steer was associated with an increased rate and efficiency of muscle deposition in steers (Pampusch et al., 2003). So both leptin and IGF-1 could be used as predictors of carcass composition in beef cattle.

The objective of this experiment was to evaluate the efficacy of propylene glycol feeding once a day for the 4 months pre-slaughter at marketlive weights to increase marbling scores in Korean native steers.

III. Research Contents and Scope

This study was divided into 2 sub projects to evaluate PG effects on better marbled beef production in Korean native steers.

1. A development for PG feeding program for Korean native steers

This feeding trial was conducted to evaluate PG feeding effect on performance, carcass traits, palatability and economic analysis when the PG was fed 2.5ml/ BW^{0.75} kg/d for 160 days just prior to market.

2. Mechanisms of PG in protein and fat depositions of beef steers

This study was conducted to trace muscle and fat deposition mechanisms in the body of beef steers when PG was fed by

- ♦ Pre-evaluation of carcass traits with ultrasound tester
- ♦ Rumen VFA fermentation pattern comparison
- ♦ Glucose and insulin concentration comparison
- ♦ Leptin and IGF-1 mRNA expressions comparison in tissues

IV. Results and Suggestion on Utilization of Results

1. Results

1) A development for PG feeding program for Korean native steers

- *Performance*

No significant treatment response to body weight gain was found to dietary PG supplementation for the duration of the trial. Daily dry matter intake also did not differ between control and PG steers. The results suggest that PG had almost the same nutritive values as the concentrate ration in this study as there was no difference in final body weights between the two groups.

- *Carcass characteristics*

Feeding PG to the steers tended to increase longissimus muscle area by 11% (84.5 vs. 89.9 cm²). The averages of marbling scores were 4.3 and 4.8 for control and PG fed steers, respectively. The increased tendency for marbling in PG fed steers may be due to the enhanced glucose supply derived from PG in the late fattening phase without altering 13th rib fat depth.

- *Panel test and Economic analysis*

There was no PG fed effect on the juiciness, tenderness and flavor of beef from Korean native steers. The beef of Korean native steers can be more economically produced with PG feeding by 46%.

2) Mechanisms of PG in protein and fat depositions of beef steers

● *Rumen Fermentations and Blood Metabolites*

The propionate concentration increased significantly ($P=0.044$) while acetate concentration decreased ($P=0.032$) as a result of PG feeding. The ratio of acetate to propionate was therefore also increased significantly ($P=0.042$). Blood glucose was not affected ($P=0.161$) by PG. Although blood glucose concentration was not significantly altered, serum insulin was increased significantly ($P=0.047$) in steers receiving PG. This result reflects increased ruminal propionate production and the subsequent stimulation of insulin secretion from the pancreas.

● *Leptin and IGF-1 mRNA Expressions in Tissues*

The back fat of steers offered the PG supplement over the 160 d contained less ($P<0.01$) leptin mRNA levels than control steers. In contrast, longissimus intramuscular fat leptin mRNA levels in PG fed steers were increased ($P<0.01$) relative to those of control steers by 75%. This result seems to reflect the quantitative increase in marbling scores of PG fed steers. Longissimus muscle IGF-1 mRNA levels were not affected by PG feeding. In the current study, as steers of both treatments were provided almost the same amount of energy, resulting in equivalent average daily gain, it was not surprising that muscle IGF-1 mRNA levels did not differ between the 2 treatment groups.

2. Suggestion on Utilization of Results

- ♦ After conducting more specified delivery method, feeding level and duration of PG,

⇒ Spread the PG feeding program through National Livestock Research Institute to every Hanwoo farm household.

⇒ Spread the PG feeding program through Rural Development Administration and Agricultural Development and Technology Centers to every Hanwoo farm household after the Bamboo farm as a leader farm.

⇒ Spread PG formulation technology to all commercial mixed feed companies in Korea after Gwangju Livestock Co-op feed company as a guide feed company.

◆ Mainly based on the mechanism of PG in the body of beef steers with this experiment,

⇒ Publish the data harvested on an international journal.

⇒ Actively take part in interantinal and domestic meetings as a speaker to evangelize the benefit of PG feeding to beef steers in the late growth stage.

CONTENTS

Chapter 1. Overview of project -----	16
Section 1. The aim of research -----	16
(1) Aims -----	16
(2) Scope -----	16
(3) Necessity -----	16
Chapter 2. Status of development -----	21
Section 1. Status of development in domestic and abroad -----	21
Section 2. Prospect of the development -----	21
Chapter 3. Research contents and Results -----	22
Section 1. A development for PG feeding program for Korean native steers -----	22
(1) Introduction -----	22
(2) Materials and methods -----	22
(3) Results and discussion -----	24
Section 2. Mechanisms of PG in protein and fat depositions of beef steers -----	29
(1) Introduction -----	29
(2) Materials and methods -----	29
(3) Results and discussion -----	38
Chapter 4. Implementation and contribution to its related field -50	
Chapter 5. Application of results -----	51
Chapter 6. References -----	53

목 차

제 1 장	연구개발과제의 개요 -----	16
제1절	연구개발의 필요성 -----	16
1.	목적 -----	16
2.	범위 -----	16
3.	필요성 -----	16
제 2 장	국내·외 기술개발 현황 -----	21
제1절	국내·외 관련기술의 현황과 문제점 ---	21
제2절	전 망 -----	21
제 3 장	연구개발수행 내용 및 결과 -----	22
제1절	PG 급여에 의한 육질증진 사양 프로그램 개발 -----	22
1.	서설 -----	22
2.	재료 및 방법 -----	22
3.	결과 및 고찰 -----	24
제2절	PG 급여시 단백질 및 지방축적 기작 규명 -----	29
1.	서설 -----	29
2.	재료 및 방법 -----	29
3.	결과 및 고찰 -----	38
제 4 장	목표달성도 및 관련분야에의 기여도 -----	50
제 5 장	연구개발결과의 활용계획 -----	51
제 6 장	참고문헌 -----	53

제 1 장 연구개발과제의 개요

제1절 연구개발의 필요성

1. 목적

본 연구의 목적은 **propylene glycol(PG)** 을 이용하여 **확실한 영양대사적 이론에 근거한 근내지방도가 향상된 고급 한우육**을 생산 하는데 그 최종 목적이 있다.

이러한 목적을 달성하기 위해

- 가. PG를 이용한 육질 증진 사양 프로그램을 개발하고,
- 나. PG급여시 근육내 단백질 및 지방축적을 규명 하는 데 그 목표가 있다.

2. 범위

따라서, 본 연구의 범위는

- 가. PG 급여시 성장률 및 사료효율
- 나. PG급여시 초음파 측정에 의한 등급변화 관찰
- 다. PG 급여시 도체의 등급판정
- 라 PG 급여시 도체의 기호성
- 마. PG급여시 한우육 생산의 경제성
- 바. PG급여시 반추위액의 발효양상 변화 측정
- 사. PG 급여시 혈중 glucose 및 인슐린 변화
- 아 PG 급여시 도체 부위별 leptin 및 IGF-1 mRNA 발현 조사 등을 조사 분석하여 PG를 이용한 육질증진 프로그램 과 PG급여시 조직내 단백질 과 지방 침착 기작을 규명하고자 한다.

3. 필요성

가. 기술적 측면

1) 서 론

근육식품 중 지방을 기피하고 단백질을 선호하는 소비자들의 취향과 경제적으로 이를 생산코자하는 생산자들의 노력에 의해 돼지고기, 쇠고기, 양고기 등의

육류 구성성분 중 근육의 함량을 최대화하고 지방의 함량을 최소화하려는 많은 연구들이 진행되어왔다. 그러나, 생산되는 모든 고기 중 지방함량 최소화만이 바람직한 것은 아니며, 우리나라와 일본에서는 쇠고기 중 기호성과 연도를 좋게 하는 근육내 지방(marbling)이 많이 포함되어 있는 것을 선호하며 이를 특상품으로 간주하여 높은 가격에 판매되고 있다.

따라서 한우의 성장기간 중 체부위별 지방축적 생리를 이해하고, 체내 생화학적 지방합성 경로와 내분비적 특성을 파악하여 사료내 성분으로 이를 조절함으로써 소비자가 원하는 특정부위의 지방(marbling)함량만을 선택적으로 증가시키는 것이 가능하리라 생각된다.

2) 소의 각 지방 조직별 성장특성

대부분의 식품 생산 동물의 지방 축적 부위는 대개 비슷하여 복강, 근간, 근내, 피하 지방으로 구분된다. 그러나 각 부위별 지방 축적 비율은 종과 연령에 따라 서로 다른 양상을 나타낸다. 예를들면 돼지는 전체 축체 내 지방 함량중 70%가 피하에 축적되며 소나 양에 복부 지방 축적량이 훨씬 작다. 일반적으로 체내 지방 축적 순서는 복부, 근간, 피하, 근내이며 소의 경우 figure 1 에서와 같이 복강지방은 체중에 따라 완만히 증가하는 반면 기타 부위의 지방들은 체중이 증가함에 따라 급격히 증가한다.

Thomson 등(1987)이 측정한 자료에 의하면 메리노종양의 총 축체 지방중 7%가 근내지방이며 피하지방은 24%, 근간지방은 20%, 신장 지방은 11%, 복강지방은 16%, 장간지방은 6% 정도이다 따라서 근내 지방 함량은 다른부위의 지방에 비해 상대적으로 매우 작은량이다. 또한 근내지방의 축적은 비육 최후기에 급격히 증가하고 있음을 알 수 있다.

한우의 근내지방을 증가시키는 방법은 유전력(0.37)을 이용하거나 figure 1 (Rowe 와 Pethick,1994) 에서와 같이 도체중을 증가시키는 것이다. 따라서 도체중을 증가시켜 사양기간을 오래 할 경우 생산비가 증가되므로 사양기간을 짧게 하면서 근내지방을 향상시키는 방법에 관해 관심이 고조되고 있다. 실제로 위에서 언급한 바와 같이 전체 축체 지방중 근내지방이 차지하는 비율은 매우 낮으므로 축체내 지방 분배를 근내지방 쪽으로 약간만 변경 시켜도 그 효과는 매우 크게 나타날 것이다. 그러나 불행히도 현재까지는 이에 관한 보고가 거의 없는 실정이다.

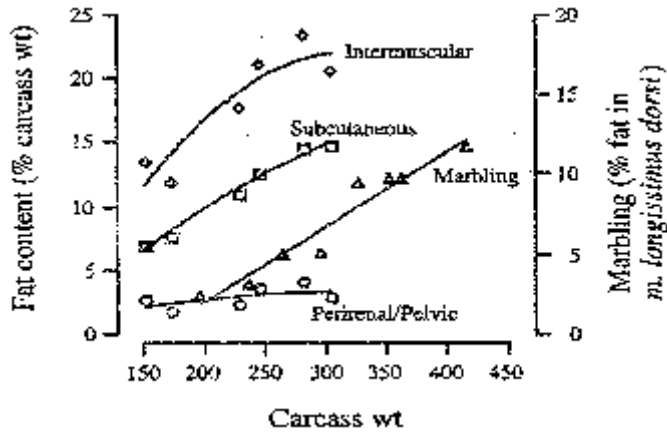


Figure 1 도체중에 따른 각 지방부위별 성장도. (Rowe 와 Pethick,1994)

3) 체내 지방 합성 과정(de novo synthesis)

돼지와 반추동물은 성장 시간보다는 지방조직에서 지방을 합성하므로 체내 지방 축적량의 대부분은 이에 의해 조절된다(Bauman 과 Davis,1975). 그러나 반추동물의 경우 섭취한 대부분의 탄수화물은 반추위에서 발효되어 소장에서의 glucose 흡수량은 매우 작다(Rowe와 Patrick, 1994). 따라서 반추위 탄수화물 주 대사물인 acetate가 지방산 합성의 주원료로 사용되며 반추위에서 형성된 lactate도 체내에서 glucose로 전환된 후 지방산 합성에 쓰이고 있다(Smith,1995).

그러나, 한편으로 Smith와 Crouse(1984)보고에 의하면 근육내 지방(marbling) 조직은 acetate 보다 glucose와 lactate를 지방산 합성원료로 더 많이 사용하고 있음이 밝혀졌다 (figure 2). 따라서 한우 체내 glucose 전구물로서 PG를 급여하면 이는 대부분 체내에 흡수된 후 간에서 lactaldehyde reductase에 의해 lactaldehyde로 산화 되고 이어서 계속적으로 aldehyde dehydrogenase에 의해 lactate 및 glucose를 합성 하며(Gupta 와 Robinson,1960), 극히 일부는 반추위내 propionate 생성량을 증가시켜 이 또한 최종적으로는 혈중 glucose함량을 높히는 데 기여할 수 있을것이고, 따라서 혈중 인슈린의 함량도 증가시켜, 이의 급여시기를 근내지방 집중 형성시기와 적절히 동기화 시켜주면 매우 효율적으로 근내 지방 합성력을 증가시킬 수 있을 것이라고 사료된다.

또 한편으로는 전체 축체내 근내 지방의 지방 합성력은 상대적으로 매우 낮고 그 절대량도 작아 다른 지방조직들에 비해 지방세포의 크기가 작다 (Vernon,1981). 따라서, 이러한 체내 지방합성 과정을 잘 이해함으로써 효과적으

로 고급 한우육을 생산할 수 있으리라 생각된다.

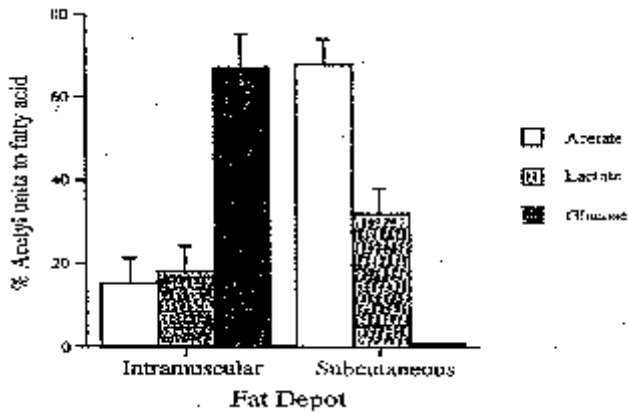


Figure 2 각 지방부위별 지방합성 원료 이용도. Smith와 Crouse(1984)

4) PG, IGF-1 및 leptin 유전자 발현간의 상호관계

PG투여에 의해 혈중 glucose가 증가 되고 따라서 결과적으로 혈중 인슐린 함량이 증가 되면, 이는 체내 somatic axis에 변화를 주어, 혈중 IGF-I의 농도에 변화를 주리라 예상 되며, 한층 더 나아가 PG 급여에 의한 근내 지방 합성량 증가는 아마도 비육우의 배최장근과 배최장근 지방조직에서 leptin 과 IGF-1 mRNA 발현에 어떤 영향을 미칠 것으로 생각되나, 아직 이에 관한 보고가 전무한 실정이다.

나. 경제·산업적 측면

1999년 현재 총 쇠고기 수급량 중 국내 충당분은 24만톤이고 수입에 의한 충당분은 19.2만톤이다. 이와 같이 전체 쇠고기 수급량 중 44% 이상을 수입에 의존하고 있는 주 요인은 다름 아닌 가격차 때문이다. 이러한 가격차를 극복할 수 있는 가장 큰 지름길은 고급육 생산에 의한 수익성 증대가 중요하다. 따라서 우체내 영양대사 생리 변화 유도에 의한 고급육 생산 방법이야말로 가장 매력적인 수단이 될 수 있을 것이다.

다. 사회·문화적 측면

최근 고급 한우육 생산과 관련하여 수많은 종류의 브랜드들이 개발 되어왔고 그 생산 방법들 역시 기본적으로 거세에 의한 한우 체내 호르몬 변화와 장기 육성방법의 성장생리 및 소위 특수 약제들의 첨가사료 급여에 의한 고급육 생산을 그 근간으로 하고 있다. 그러나 엄밀한 의미에서 냉철히 생각해보면 과연 그러한 첨가 제제들이 과연 얼마나 큰 효과가 있는지는 이를 과학적으로 검증해 볼 필요가 있으며, 이러한 사실이 과학적으로 검증되지 못하면 오히려 소비자들로부터 외면당할 소지가 충분히 있다.

따라서 보다 과학적으로 검증 될 수 있는 방법으로 고급 한우육을 생산 하려는 노력이야 말로 사회문화적 측면에서 장기적으로 소비자의 호응을 지속적으로 얻을 수 있는 방법이라 생각된다.

제 2 장 국내 · 외 기술개발 현황

제1절 국내 · 외 관련기술의 현황과 문제점

PG 는 낙농 선진국에서 분만 직후 비유 초기에 사료섭취 제한으로 인한 ketosis 발생 예방을 위해 glucose 공급원으로 급여시 체내에서 직접 흡수 되거나 극히 일부 는 반추위에서 popionate 생성을 증가시켜 결국 체내 glucose 공급량을 증가시켜줄 뿐만 아니라 혈중 인슐린 함량도 증가시켜준다(Christensen 등, 1997).

따라서 미국등 낙농 선진제국에서 고능력우의 비유초기 영양성 대사 장애를 예방하기위한 목적으로 주로 사용 될뿐. 육우의 성장생리 및 각 지방부위별 축적 기질 특성을 이용한 고급육생산에는 전혀 이용되고 있지 않는 실정이다.

제2절 전망

이미 알려진 바와 같이 우리의 경쟁 대상국인 구미의 축산 선진국들에 비해 너무 낮은 비육우의 생산성을 극복 하는 길은 품질향상 뿐이며 이는 우리가 기필코 해결해야할 절대절명의 과제이다.

따라서 이를 해결하기 위한 하나의 수단으로 본 연구에서 밝혀진 바와 같이 그 과학적 실현 가능성과 식품으로서의 안정성 효과가 가장 크게 기대되는 PG 사용 프로그램을 사용함은 물론 밝혀진 작용원리를 응용함으로서 앞으로 한우육의 육질을 획기적으로 향상시키는 기초 자료로 사용함은 물론, 한우의 국제적 경쟁력과 농가의 수익성을 극대화 하는데 크게 기여 할 수 있으리라 확신한다.

제 3 장 연구개발 수행 내용 및 결과

제 1 절 PG 급여에 의한 육질증진 사양 프로그램 개발

1. 서 설

육우에서는 한번도 시도된 적이 없는 PG를 비육 최후기에 급여하여 기 제시된 축체내 영양 대사적 기작에 의해 실제 근내지방도가 향상된 고급육을 생산할 수 있는지를 in vivo 시험을 통해 증명 하고자한다. 따라서 본 시험을 통해 PG 급여가 사양성적, 육질등급, 기호성 및 경제성에 미치는 영향을 규명코자 하였다.

2. 재료 및 방법

가. 공시 동물 및 시험구 배치

체중 510kg 내외의 3개월령에 거세된 22개월령 한우 20마리를 공시하여 2달간의 시험구 배치 적응기간을 거쳤다. 이후 24개월령에 10마리는 대조구(PG 미처리구), 10 마리는 처리구(PG 투여구)에 체중이 고르게 분포 되도록 완전임의 배치법에 의하여 배치하여 28개월령 까지 4개월간 본 시험을 실시하였다.

나. 사양 관리 및 PG 투여방법

공시동물의 사료 급여는 조사료원으로 볏짚은 완전 자유채식 하도록 하고 농후사료는 시판 비육우 비육후기 배합사료(농협사료,김제; Table 1) 를 22-28개월령까지는 월령에 따라 건물 중으로 체중의 약 1.8% 수준인 9-10 kg/마리를 급여하였다.

PG 처리구는 농후 사료급여시 1일 대사체중(체중^{0.75})kg당 2.5ml의 식용급 PG(SK Co., Ltd.; 약 300-340ml/일)를 급여하였으며 이때 농후사료 급여량은 PG를 급여하는량 만큼 제외 하고 혼합 급여하였다. 한편, 대조구는 PG 급여량만큼의 농후사료를 더 급여하였다.

급여한 사료의 화학적 성분은 AOAC (1995), NDF 및 ADF Van Soest 등 (1991)의 방법에 의해 분석하였다.

Table 1. Ingredient and chemical composition of concentrate diet fed to steers during experimental period (as-fed basis)

Ingredients	Concentrate diet ----- (%) -----
Corn grain, cracked	36.74
Wheat grain, cracked	20.00
Beet molasses	5.00
Wheat bran	7.80
Rapeseed cake	3.48
Coconut palm seed cake	9.00
Palm seed cake	5.00
Mixed roughage feed	4.00
Lupine	4.50
Tallow	0.20
Protected calcium salt fat	0.26
Salt	0.50
Tricalcium phosphate	0.06
Limestone	1.40
Vitamin and mineral premix ^a	2.06
Crude protein, %	12.17
Fat, %	3.74
Ash, %	4.86
Crude fiber, %	4.18
TDN ^b , %	72.39

^aPremix provided the following per kilogram of diet: vitamin A 3,800 KIU; vitamin D 3 400 KIU; vitamin E 20 KIU; Fe 50,000 mg; Cu 7,000 mg; Mn 24,000mg; Zn 30,000 mg; Co 150 mg; I 600 mg; Se 150 mg.

^bCalculated value.

다. 조사 항목

- 1) 사료섭취량 - 일일 사료 섭취량을 농후사료와 조사료로 나누어 급여한 양에서 잔량을 구하여 계산하였다.
- 2) 증체량 - 시험기간 중 매 한달 간격으로 우형기를 이용하여 오전 10시에 측정하였다.
- 3) 사료 요구율 - 일일 사료 섭취량을 일일 증체량으로 나누어 구하였다.
- 4) 도체등급 판정 - 처리구 및 대조구는 공히 28개월령 (체중 640 kg)에 도축하여 농림부 고시 소 도체등급 판정방법 (KMAF, 2003)에 의해 육량 및 육질등급을 기준으로 최종 등급을 판정하였다.
- 5) 우육의 소비자 기호성 조사 - 잘 훈련된 5검사원에 의해 대조 및 PG 처리구의 배최장 근육을 다즙성, 연도, 풍미 등을 매우 나쁘다(1) - 매우좋다(5)까지의 5 단계로 구별하여 비교 구분 판단하였다.
- 6) 경제성 분석 - 처리구별로 사양시험 기간 동안 소요된 시험우 구입비, 사료비, PG 투여비 등 제경비를 마리당 총수입에서 제한 값을 구하여 비교 하였다.

라. 통계 분석

수집 된 자료는 SAS-PC 프로그램을 이용하여 조사 항목간 2 처리 평균간 차이를 t 검정에 의해 분석하였다.

3. 결과 및 고찰

가. 사료 성분함량, 성장률 및 사료효율

본 시험 중 급여 한 볏짚의 화학적 성분은 건물 중으로 조단백질 5.00%, 칼슘 0.32%, 인 0.12%, NDF 66.14% 및 ADF 44.74% 이었다 (데이터는 제시 되지 않았슴). 그리고 시험기간 중 급여한 농후 사료의 화학적 성분은 조단백질 12.17% 및 TDN 이 72.37%로 한국사양표준(KMAF,2002) 의 거세한우 비육후기 영양소 요구량을 충족시키기에 충분한 양질의 농후 사료였다.

Table 2에서와 같이 PG급여 기간 4개월 기간 중 성장률이나 사료 효율 공히

대조구에 비해 차이가 나타나지 않았으며 2 구 공히 비육후기의 정상적인 한우 거세우의 성장률 및 사료 효율을 기록 하였다.

PG 급여구의 시험 개시시 체중 과 종료시 체중은 각각 572.3 과 677.5 kg 이었다. 따라서 비육 후기에 2.5ml/BW^{0.75}kg/일 수준의 PG를 급여했으므로 시험 기간 중 1일 급여량은 296에서 333 ml를 급여했다. 시험기간 중 1일 농후 사료 섭취량은 PG 급여량의 26 배정도 되며 이는 PG 1 ml 당 25.9 g 의 농후사료를 섭취한 셈이 된다. 시험 기간 중 PG 혼합 사료의 섭취 패턴을 관찰한바, 모든 시험우가 PG혼합 사료 급여 후 90분 이내에 거의 모든 사료를 섭취하였다. Christensen 등 (1997)의 보고에 의하면 비육초기 착유우의 경우 PG 1 ml 당 1.036g의 농후 사료를 급여해도 섭취에 아무런 문제가 없다고 한바 있다. 따라서 본 실험에서 급여한 수준의 PG를 비육후기 거세한우에 급여하여도 사료의 섭취 또는 성장에 아무런 문제가 없다고 생각된다. PG 급여시 대조구에 비해 사료 섭취량이 7.3% 정도 감소하였고, 결과적으로 사료요구율 이 대조구는 10.62, PG구는 9.94 이었는데 이는 PG급여구는 PG를 급여한 만큼 농후 사료를 급여하지 않았기 때문이다. 결론적으로 PG 는 비육후기 농후 사료와 대동소이한 영양적 가치가 있는 것으로 사료 된다.

Table 2. Effect of propylene glycol on performance of Korean native steers

Items ^a	Control	Treated ^b	SEM	p-value ^c
Initial body wt.	562.0	572.3	28.94	0.436
Final body wt.	665.5	677.5	39.92	0.630
Body wt, gain	103.5	105.2	71.70	0.891
Average daily gain, kg	0.855	0.869	0.145	0.8912
Feed intake/DM, kg	9.32	8.64	-	-
Feed:gain	10.62	9.94	-	-

^a Least square means

^b 2.5ml/ BW^{0.75} kg/d of PG

^c n=10

나. 도체특성 등급 판정

PG 급여가 도체의 등급판정에 미치는 영향은 table 3에서와 같다. 사양 시험

결과에서 예상했던 대로 PG 급여는 냉·온도체 체중에 영향을 미치지 않았다. 다만 수치상으로 PG 급여구의 냉도체중과 13 늑골 피하 지방의 두께가 더 높게 나타나 있으며, 배최장근 면적 역시 대조구의 84.5 cm²에서 89.9 cm² 으로 11% 정도 증가 된 것으로 나타나있다.

두 처리 구간의 평균 육질 등급은 각각 4.3 과 4.8 로 PG 급여에 의한 marbling score의 유의적 증가는 없었다. 다만 PG급여에 의해 1+ 와 1등급 육우가 각각 3 마리와 4마리로서 대조구의 1마리와 4 마리에 비해 좋은 육질등급으로 판정 된 개체수가 증가 하는 경향을 나타내고 있음은 매우 고무적인 현상이라 말할 수 있다. 유감스럽게도 평균 육질 등급에서 유의적 차이가 없었던 점은 아마도 시험 수행시 철저한 계획 사양에 의해 전체 시험우의 60% 이상이 상위등급인 1+ 와 1 등급으로 발현된 것도 그 원인의 일부일 것으로 생각 된다.

반추 동물 체지방 조직의 축적 순서는 복부, 근간, 피하 및 근내 지방의 순이며 (Vernon,1981), Smith 와 Crause (1984)는 근내축적 지방의 원료로 glucose 와 lactate가 우선적으로 사용될 수 있다고 보고한 바있다. 따라서 PG 급여우의 table 8 에서와 같이 증가된 반추위내 propionate 함량 과 table 9에서 증가된 혈중 glucose 및 insulin 농도가 본 실험에서 PG 급여우의 상위 육질 등급 출현을 증가에 기여하지 않았을까 생각된다. 이는 결국 비육말기 거세한우에 PG 급여가 근내지방 함성량을 증가 시킬 것 이라는 가설을 어느 정도 입증했다고 사료 된다.

Table 3. Effect of propylene glycol on carcass traits of Korean native steers

Items ^a	Control	Treated ^b	SEM	p-value ^c
Final wt, kg	644.5	656.0	37.60	0.599
Cold carcass wt, kg	375.1	384.3	27.68	0.429
Longissimus muscle area, cm ²	84.5	89.9	10.48	0.147
Backfat thickness, mm	10.5	11.4	5.05	0.8613
Meat quantity grade(A:B:C)	5:4:1	4:5:1		
Marbling score ^d	4.3	4.8	1.73	0.7864
Meat quality grade(1+ :1:2:3)	1:4:4:1	3:4:3:0		

^a Least square means

^b 2.5ml/ BW^{0.75} kg/d of PG

^c n=10

^d Grading ranges are 1 to 7, higher numbers for better quality

다. 기호성

PG는 다른 화학명으로는 1,2-propanediol, methyl glycerol 또는 1,2-dihydroxypropane으로 불리는 석유정제 과정에서 생성 되는 MW; 70.06, 빙점 - 59 °C, 비등점 119.9 °C의 물질로 무독, 무취한 끈적끈적한 액체로 무미하며 인체에 무해하다. 또한 물, 아세톤, 크로르포름에 잘 섞이고 에테르에 녹으며, 상온에 서 안전한 물질이다. 따라서 당연히 사료 첨가제로 사용해도 그 생산물에 아무런 영향을 미치지 않을 것으로 추측 되었으나, 육류 소비자의 안정성 확보를 위해 PG급여 생산육의 기호성을 대조구와 비교 조사하였다.

PG급여가 최종 생산된 우육의 다즙성, 연도 및 풍미에 미치는 영향은 table 4 에서와 같이 대조구에 비해 아무런 영향을 미치지 않았다. 따라서 비육 최후기 4개월 간 거세한우에 육질향상을 위해 1일 대사체중 1kg 당 2.5 ml의 PG를 농후 사료와 함께 급여하여도 최종 생산된 우육의 소비자 기호성에 나쁜 영향을 미치지 않는 것으로 생각된다. 또한 이러한 결과는 PG를 1일 1.2 kg 씩 3주간 산유 우에 급여하여도 설사나 중독증상이 전혀 없었으며, 우유로의 PG 분비량은 0.1% 이하였으며 (Emery 등, 1964), 흰쥐의 사료내 25%씩 혼합하여 24주간 급여하여도 흰쥐의 건강에 아무런 문제가 없었다 (Hanzlik 등, 1939) 는 보고와도 일맥상 통 한다고 볼 수 있다.

Table 4. Effect of propylene glycol on consumer sensory ratings of steaks from Korean native steers

Consumer sensory ^a resonponse	Treatments			p-value ^d
	Control	Treated ^b	SEM	
Juiciness ^c	4.2	4.2	0.157	0.672
Tenderness	4.2	4.3	0.088	0.768
Flavor	4.2	4.5	0.116	0.469

^a Least square means

^b 2.5ml/ BW^{0.75} kg/d of PG

^cGrading ranges are 1 to 5, higher numbers for better rating

^d n=10

라. 경제성

비육 최후기 4개월간 한우 거세우에 PG 급여가 한우육 생산비에 미치는 영향은 table 5 에서와 같다. 즉 대사 체중 1 kg 당 2.5ml의 PG 급여로 인해 사료비에서는 약 5만원 정도가 더 소요 됐으나, table 2 에서와 같이 육질 등급 향상으로 인해 두 당 약 50여만원 정도 수입이 증가 되어 최종적으로 대조구 한우에 비해 약 46% 정도의 두당 수입 증가가 기록 되었다. 따라서 본 시험 당시의 환경 즉 밀소 구입가 및 생산비와 판매가가 보장 되는 환경 하에서는 한우 사육 농가에 PG 급여를 적극 추천 할 수 있다. 그러나 본 연구에서 분석한 경제성 분석은 순 생산비와 순도체 판매액만을 계상한 단순 경제성 분석으로 생산 및 판매 여건 변화에 대한 보다 자세한 예측이 있는 후, 본 사양방법의 적용여부를 신중히 결정해야 되리라 사료 된다.

Table 5. Economic analysis for control and treated Korean native steers
(unit: 1,000won)

Items	Control	Treated ^a
Total cost per head	4,848	4,977
- Animal ^b	4,496	4,578
- Feed ^c	297	344
- Other expenses ^d	55	55
Total income per head	5,876	6,476
- Animal	5,859	6,459
- By products ^e	17	17
Gross income per head	1,028	1,499
Index	100	146

^a 2.5ml/ BW^{0.75} kg/d of PG.

^b Animal purchase cost : 8,000won/live wt.kg.

^c Feed cost/kg : PG 1,904won, Concentrate 237.2won, Rice straw 180won.

^d Other expenses : sowdust and other materials.

^e By products : compost and empty warehouse sack.

제2절 PG 급여시 근육내 단백질 및 지방축적 기작 규명

1. 서 설

Smith와 Crouse(1984)보고에 의하면 근육내 지방(marbling)조직은 acetate 보다 glucose와 lactate를 지방산 합성원료로 더 많이 사용하고 있음이 밝혀졌다. 따라서 한우 체내 glucose 전구물로서 PG를 급여 하면 이는 대부분 체내에 흡수된 후 간에서 lactaldehyde reductase에 의해 lactaldehyde로 산화 되고 이어서 계속적으로 aldehyde dehydrogenase에 의해 lactate 및 glucose를 합성 하며 (Gupta 와 Robinson, 1960), 극히 일부는 반추위내 propionate 생성량을 증가시키 이 또한 최종적으로는 혈중 glucose함량을 높히는데 기여할 수 있을 것이다. 결과적으로 이러한 현상들이 혈중 인슐린의 함량도 증가시켜, 이의 급여시기를 근내지방 집중 형성시기와 적절히 동기화 시켜주면 매우 효율적으로 근내지방 합성력을 증가시킬 수 있을 것이라는 가설이 성립된다. 따라서 본시험에서는 근내지방이 집중적으로 형성되는 비육 최후기에 PG 급여시 실제 반추위 발효 패턴, 혈중 glucose 와 insulin, 및 초음파 측정에 의한 등급변화 관찰과 최종적으로 도체의 근육 및 지방조직내 육질관련 유전자 mRNA의 변화를 조사하여 체 조직내 단백질 및 지방축적 기작 규명의 기초자료를 제공코자 실시하였다.

2. 재료 및 방법

가. 초음파 측정에 의한 등급 변화 관찰 및 예측

26, 28개월령 체중측정시 13 갈비 와 1요추 사이를 초음파 측정기를 이용하여 등지방 두께, 배최장근내 근내지방 형성도 등을 측정하여 경시적 육질 등급변을 관찰하고, 28개월령 출하시의 예상 도체등급을 예비 판정하였다.

나. 시료채취 및 반추위액과 혈액 분석

반추위액 - 농후사료 급여 4 시간 후 위관(stomach tube) 으로 마리당 50ml 의 위액을 채취하여 50%황산(v/v) 1ml를 가하여 산화 시킨 후 분석시까지 냉동 보관 하였다. 분석시는 시료를 해동후 4 °C, 20,000 x g에서 15분간 원심분리 후 1 ml 의 상등액에 0.2 ml의 25% metaphosphoric acid를 가한 후 상온에서 30분

간 방치 후 시료내 각 휘발성 지방산의 발효양상 차이는 gas chromatography(3400 CX, Varian, Walnut Creek, CA, USA)에서 60 m x 내경 0.25 mm fused-silica capillary column (SP-2380, Supelco, Bellefonte, PA, USA) 으로 분석하였다.

혈액-PG급여에 의한 혈중 대사물의 변화를 측정하기 위해 PG 급여 후 10일째 PG 급여 90분 후 전혈 15 ml를 채혈 후 glucose는 Accu-Check Active (Roche, UK) 현장 glucose tester로 인슐린은 3,000 rpm에서 15분 원심분리로 혈청을 분리 후 -70°C 냉동고에 보관 하면서 double antibody sandwich enzyme immunoassay 방법(Diagnostic Systems Laboratories, Webster, TX)으로 분석하여 PG 미 투여군 과의 차이를 비교 분석하였다.

인슐린 분석시 intraassay 및 interassay 내 변이는 각각 7.8 및 6.5%로 매우 신뢰 할만한 수준이었다.

근육 및 지방- 시험 종료시 근육, 지방에서 시료를 채취하여, 근육내 단백질 및 지방 축적에 미치는 영향을 규명하기 위하여, PG급여 성장시험이 종료되는 28 개월령에 각 처리당 4 마리씩의 배최장근,과 13 늑골 상단부의 피하지방 조직 부분을 각각 따로 채취하여 액체질소에 보관하면서 추후 분석에 사용하였다.

다. Real time RT-PCR 방법에 의한 근육 조직내 IGF-1 mRNA 농도 조사

Ribonuclease protection assay 또는 Northern blot 방법 보다 더 간편하면서 정확한 방법의 일환으로 근육중 IGF-1 mRNA 차이를 측정하였다.

1) 배최장근 RNA 추출

사양시험 직후 도축시 채취하여 액체 질소 보관 되어있는 배최장근 조직 약 600 mg에서 Chomczynski 와 Sacchi 방법(1987)을 응용한 trizol 용액으로 용해 하여 homegenizer에서 1 분씩 2번에 걸쳐 15,000 rpm에서 균질화 한후 실온에서 (15-30°C)방치 하였다. 이후 시료를 1.5 ml effendorf tube에 옮긴후 200 ul의 chloroform을 가하여 손으로 매우 세게 교반 후 다시 5 °C, 15,000 rpm에서 15 분간 원심분리 과정을 거쳐 최상층에 무색의 RNA를 추출하였다. 추출한 RNA를 1.5 ml effendorf tube에 옮긴 후 0.5 ml의 isopropyl alcohol을 가하여 손으로 세게 흔든 후, 5°C, 15,000 rpm에서 15 분간 원심분리하여 RNA를 침전 시켰다. 상 등액을 제거후 약 1 ml의 75% 에타놀을 가하여 voltexing 한후 5°C, 10,000 rpm

에서 15 분간 원심분리하여 RNA를 세척 하였다. 세척된 RNA를 상온에서 약 5 분간 방치 하여 잔존 알콜을 증발시킨 후 약 210 ul의 TE버퍼 (pH 7.5) 에 재 용해하였다. 재 용해 된 RNA를 260 nm의 spectrophotometer 에서 농도를 정량 한 다음 다시 1% agarose gel 100 v에서 25분간 전기영동하여 integrity 이상유 무를 확인한 후, -70°C 에 보관하면서 추후 실험에 사용하였다.

2) Real time RT-PCR

① Primer 제조

Real time RT-PCR에 필요한 IGF-1(Accession # X15726) primer는 사용하 고자 하는 PCR machine 제조사의 요구 사항에 맞게 Forwad 및 Reverse 두 primer의 Tm값을 58 - 65 °C 사이에 두 값의 차이를 2°C 이하가 되고, GC 비율 을 50-60%, 길이를 120-150 mer가 되도록 Gene Runner version 3.04 (Hastings Software, Inc, 1944) 프로그램을 이용하여 디자인 (table 6)한 후 다시 blast search에서 homology (figure 3-2)를 확인 후 Bioneer 사에 제조를 의뢰구입 후 real time RT-PCR에 사용 하였다.

② Real time RT-PCR

250 ul의 PCR 튜브에 200ng의 추출된 배최장근 RNA, QuantiTect SYBR Green RT-PCR Master mix(Qiagene,USA) 25ul, Forward 와 Reverse primer를 각각 0.5uM 씩 넣고, QuantiTect RT Mix를 0.5ul 첨가한 후 RNase free 증류 수를 사용하여 최종 반응액이 50 ul가 되도록 하였다. 이 반응액을 Rotar-Gene 2000 Real time Cyler (Corbett Research, Sydney, Australia)에서 cyler 제조 회사에서 권장한 94 °C에서 15초, 55 °C에서 30초의 반응을 40 회 반복 RT-PCR하여 처리 구간의 IGF-1 mRNA의 차이를 비교하였다. 이때 house keeping gene 으로는 cyclophline (Assession # Y00052) (figure 3-3)을 사용하여 두 처리의 결과를 normlization 하는데 사용하였으며, 두 처리 간의 차이는 take off cyle을 IGF-1의 nucleotide 길이 (462 bp)를 기준으로 미리 구해놓은 표준식을 이용하여 발현율을 구한 다음 이를 다시 대조구 발현율을 100으로 한 처리구 의 상대적 발현율로 표현 하였다 (figure 3-1).

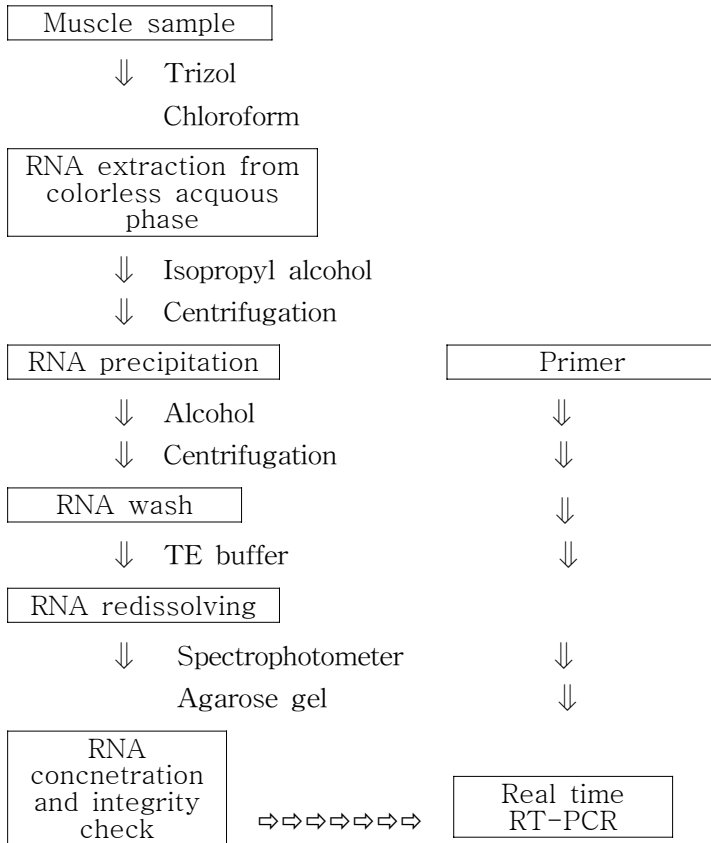


Figure 3-1, 비육우 근육에서 IGF-I mRNA 측정



results of BLAST

gi 1993 emb X17492.1 SS1LGF1M	Porcine mRNA for insulin-like...	48	2e-04	L U
gi 1260 emb X51358.1 OA1GF1EX3	Ovine IGF-I gene for insulin...	48	2e-04	
gi 1158 emb X69474.1 MG1LGF1C	O.aries gene for insulin-like...	48	2e-04	
gi 454 emb X15726.1 BT1LGF1A	Bovine mRNA for insulin-like g...	48	2e-04	L U
gi 165932 gb M31734.1 SHP1GFI A21	Sheep insulin-like growth ...	48	2e-04	U
gi 165929 gb M30653.1 SHP1GFI A1	Sheep insulin-like growth f...	48	2e-04	U

[>gi|454|emb|X15726.1|BT1LGF1A](#) [L](#)[U](#) Bovine mRNA for insulin-like growth factor 1
Length = 1284

Score = 48.1 bits (24), Expect = 2e-04
Identities = 24/24 (100%)
Strand = Plus / Plus

```
Query: 1   ctgcttcggagctgcatctgag 24
          |||
Sbjct: 285 ctgcttcggagctgcatctgag 308
```

Figure 3-2, The result of blast search for IGF-1 primer.

gi 12709876 emb AL160400.20 	Human DNA sequence from clone ...	<u>48</u>	2e-04	L
gi 16972970 emb AL392111.12 	Human DNA sequence from clone ...	<u>48</u>	2e-04	
gi 18614049 emb AL592492.10 	Human DNA sequence from clone ...	<u>48</u>	2e-04	
gi 1483514 emb Z78021.1 HSU85A3	Human DNA sequence from clo...	<u>48</u>	2e-04	
gi 30308 emb Y00052.1 HSCYCR	Human mRNA for T-cell cyclophilin	<u>48</u>	2e-04	LU
gi 1359712 emb X94359.1 HSACES	H.sapiens gene 5' region of ...	<u>48</u>	2e-04	G
gi 30167 emb X52851.1 HSCPH70	Human cyclophilin gene for cy...	<u>50</u>	7e-05	LU
gi 48145530 emb CR456707.1 	Homo sapiens full open reading ...	<u>50</u>	7e-05	

[>gi|30308|emb|Y00052.1|HSCYCR](#) **LU** Human mRNA for T-cell cyclophilin
Length = 723

Score = 50.1 bits (25), Expect = 7e-05
Identities = 25/25 (100%)
Strand = Plus / Minus

```
Query: 1  aaataccaggaccgatatactttag 25
          |||
Sbjct: 306 aaataccaggaccgatatactttag 282
```

Figure 3-3, The result of blast search for cyclophilin primer.

다. Real time RT-PCR 방법에 의한 지방 조직내 leptin m RNA 농도 조사

1). 지방 조직 RNA 추출

사양시험 직후 도축시 13 늑골 상단부의 극돌기 상단부에서 채취한 피하지방 조직과 채취된 배최장근 내의 가시적 근내지방을 액체 질소 증기 하에서 정형 후 액체 질소 보관 되어있는 각 지방조직 약 1,000 mg에서 효율적으로 RNA를 추출하기 위해 Chomczynski 와 Sacchi 방법(1987)을 응용한 phenol/guanidine 용해 및 silical gel membrane 정제 방법을 사용하여 RNA를 추출 하였다. 추출된 RNA를 260 nm의 spectrophotometer 에서 농도를 정량한 다음 다시 1% agarose gel에서 100 v에서 25분간 전기 영동하여 이상 유무를 확인한 후, -70°C 에 보관하면서 추후 실험에 사용하였다.

2) Real time RT-PCR

① Primer 제조

Real time RT-PCR에 필요한 Leptin(Accession # U43943) primer는 사용하고자 하는 PCR machine 제조사의 요구 사항에 맞게 Forward 및 Reverse 두 primer의 Tm값을 58 - 65 °C 사이에 두 값의 차이를 2°C 이하가 되고, GC 비율을 50-60%, 길이를 120-150 mer가 되도록 Gene Runner version 3.04 (Hastings Software, Inc, 1944) 프로그램을 이용하여 디자인(Table 6)한 후 다시 blast search에서 homology (figure 4-2)를 확인 후 Bioneer 사에 제조를 의뢰 후 real time RT-PCR에 사용 하였다.

② Real time RT-PCR

250 ul의 PCR 튜브에 200ng의 추출된 배최장근 RNA, QuantiTect SYBR Green RT-PCR Master mix(Qiagene,USA) 25ul, Forward 와 Reverse primer를 각각 0.5uM 씩 넣고, QuantiTect RT Mix를 0.5ul 첨가한 후 RNase free 증류수를 사용하여 최종 반응액이 50 ul가 되도록 하였다. 이 반응액을 Rotar-Gene 2000 Real time Cycler (Corbett Research, Sydney, Australia)에서 cycler 제조 회사에서 권장한 94 °C에서 15 초, 55 °C에서 30 초의 반응을 40회 반복 RT-PCR하여 처리 구간의 Leptin mRNA의 차이를 비교하였다. 이때 house keeping gene 으로는 cyclophline (Assession # Y00052)을 사용하여 두 처리의 결과를 normlization 하는데 사용하였으며, 두 처리간의 차이는 take off cyle을 Leptin의 nucleotide 길이 (504 bp)를 기준으로 미리 구해놓은 표준식을 이용하여 발현율을 구한 다음 이를 다시 대조구 발현율을 100으로 한 처리구의 상대적 발현율로 표현 하였다 (figure 4-1).

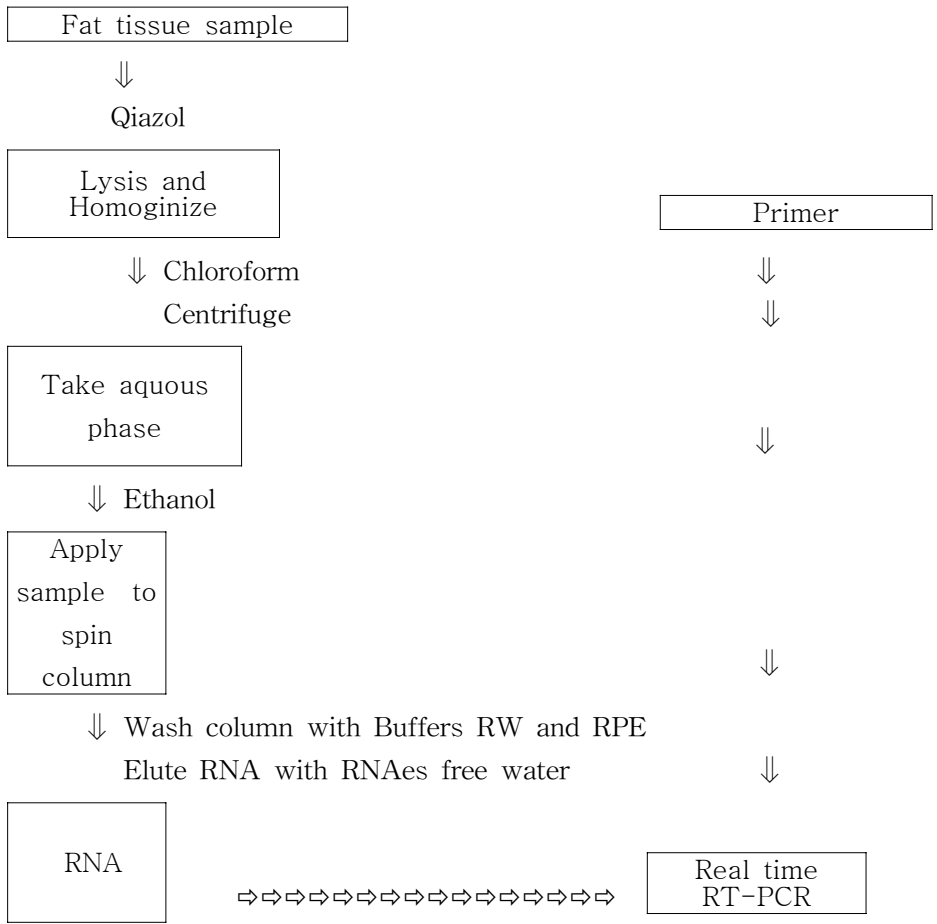


Figure 4-1, 비육우의 지방조직에서 Leptin mRNA 측정



results of BLAST

Sequences producing significant alignments:	Score (bits)	E Value
gi 2196855 gb U50365.1 BTU50365 Bos taurus leptin (obese) g...	<u>46</u>	7e-04
gi 23505698 gb AY138588.1 Bos taurus leptin gene, exon 2 a...	<u>46</u>	7e-04 L
gi 24526545 emb AJ512638.1 BTA512638 Bos taurus partial ob ...	<u>46</u>	7e-04 L
gi 4567043 gb AF120500.1 AF120500 Bos taurus leptin (obese)...	<u>46</u>	7e-04
gi 4468135 emb AJ236854.1 BTA236854 Bos taurus obese gene (...)	<u>46</u>	7e-04
gi 40536775 ref NM_173928.1 Bos taurus leptin [obesity] [e...	<u>46</u>	7e-04 LU
gi 1167989 gb U43943.1 BTU43943 Bos taurus OBESE mRNA, comp...	<u>46</u>	7e-04 LU

Get selected sequences

Select all

Deselect all

[>gi|1167989|gb|U43943.1|BTU43943](#) **LU** Bos taurus OBESE mRNA, complete cds
Length = 504

Score = 46.1 bits (23), Expect = 7e-04
Identities = 23/23 (100%)
Strand = Plus / Plus

```
Query: 1 tctgtcttacgtggaggctgtgc 23
      |||
Sbjct: 45 tctgtcttacgtggaggctgtgc 67
```

Figure 4-2, The result of blast search for leptin primer

Table 6. Forward and reverse primers for real-time PCR for leptin, IGF-1 and Cyclophilin mRNAs

Item	Primer
Leptin	
Forward	5'-TCTGTCTTACGTGGAGGCTGTGC-3'
Reverse	5'-TCTGTTTGGAGGAGACGGACTGC-3'
IGF-1	
Forward	5'-CTGCTTCCGGAGCTGTGATCTGAG-3'
Reverse	5'-TCCTTCTGAGCCTTGGGCATGTC-3'
Cyclophilin	
Forward	5'-CAGGGTTTATGTGTCAGGGTGGTG-3'
Reverse	5'-AGATGCCAGGACCCGTATGCTTTAG-3'

3. 결과 및 고찰

가. 초음파 측정에 의한 등급 변화 관찰

본시험 개시 2개월후(26개월령), 본 시험 개시 4개월후(28개월령) 체중 측정 시 13 갈비와 1요추 사이를 초음파 측정기를 이용하여 등지방 두께, 배최장근내 근내지방 형성도를 측정하여 경시적 육질 등급변화를 관찰하고, 28개월령 출하시의 도체등급을 예비 판정하였으며 그 결과는 table 7과 같다.

Table 7 에서와 같이 동일 연령의 2 처리구간 유의적 차이는 없었으나 PG 급여에 의해서도 근내 지방 침착도는 증가 되지 않았으며, 28개월령에는 오히려 대조구의 근내지방도가 더 높았으며, 피하지방 두께는 PG 급여구가 훨씬 높게 나타났다. 이는 본 시험 시작 시 세운 실험 가설과 크게 어긋나는 결과 일뿐만 아니라, table 3의 실제 도축 후 판정된 육질 및 육량 등급과 상반된 경향을 보여주었다. 추측컨데 그 주된 이유는 비육 한우 농가에서 보편화 된 육질등급 예비 판정 방법으로 초음파 측정법을 널리 사용하고 있음에도 불구하고 측정자의 교육에 좀더 신경을 쓸 여지가 있음을 보여준다 하겠다. 다만 본 초음파상의 결과로만 보면 전체 시험우들은 평균 1 등급정도의 상위 등급으로 판정 되었는데 이는 철저한 계획사양에 의해 시험중 사양 관리가 매우 양호했음을 보여준다고 볼 수 있다.

Table 7. Effect of propylene glycol on carcass trait of Korean native steers using ultra sound

Item ^a	Control		Treated ^b		SEM	P-value ^c
	26	28	26	28 ^e		
Body wt,kg	632.3	673.6	629.1	674.3	37.40	0.613
Backfat thickness, mm	7.5	7.8	7.0	8.5	0.215	0.9314
Marbling score ^d	5.8	6.3	5.5	5.5	0.98	0.473

^a Least square means

^b 2.5ml / BW^{0.75} kg/d of PG

^c n=10

^d Grading ranges are 1 to 7, higher number for better quality

^e Age(month)

나. 반추위 발효 양상

본 시험 개시 후 8주째 사료 급여 90분 후 위관(stomach tube)으로 마리당 50ml의 위액을 채취 하여 gas chromatography로 분석한 휘발성지방산의 발효양상 차이는 table 8과 같다. PG 급여에 의해 acetate는 유의적(p=0.032)으로 감소한 반면, propionate는 유의적(p=0.0044)으로 증가하여 결과적으로 A:P 비율이 유의적(p=0.0042)으로 감소하여 결과적으로 PG 급여에 의해 반추위내 propionate의 생산이 상대적으로 많이 생산되었음을 알 수 있으며 이는 Emery 등 (1964)의 비유 초기 젖소에서의 시험 결과와 매우 유사하다. 이와 같이 증가 된 반추위 propionate는 glucose 전구물질로 비육후기 거세우의 근내지방 합성에 미량이나마 기여 했으리라 생각된다.

Table 8. Effect of propylene glycol ruminal VFA and the acetate to propionate ratio of Korean native steers (mol/100mol)

Items ^a	Control	Treated ^b	SEM	p-value ^c
Acetate(A)	65.0	58.1	0.81	0.032
Propionate(P)	19.3	25.3	0.73	0.044
Isobutyrate	1.3	1.6	0.14	0.275
Butyrate	9.5	9.8	0.21	0.739
Isovalerate	2.4	1.9	0.18	0.070
Valerate	2.5	3.3	0.19	0.057
A : P	3.4	2.3	0.20	0.042

^a Least square means

^b 2.5ml/ BW^{0.75} kg/d of PG

^c n=10

다. 혈중 glucose 및 insulin 농도

PG 급여에 의한 혈중 대사물의 변화를 측정하기 위해 PG 급여 후 2주째 PG 급여 90분 후 채혈한 혈액내 glucose 와 인슐린 농도는 table 9과 같다. glucose 함량은 PG 급여구가 수치상으로는 높았으나, 유의적으로 증가하지 못했다. 이는 PG 급여에 의해 혈당치 와 인슐린 농도가 90분 이내 유의적으로 증가했다는 Grummer 등(1994) 의 보고와 일치하지는 못하나, PG급여에 의해 인슐린 분비량은 유의적(p=0.047) 으로 증가하였으므로 그들의 보고와 일치한 결과를 보여주고 있다.

이렇게 부분적으로 다른 결과를 보여준 이유는 본 시험의 경우는 비육 시험으로 항상 축체를 유지하고도 table 2에서와 같이 1일 평균 800g 이상의 증체가 이루어질 정도로 충분한 영양소를 공급 받는 상태이고 Grummer 등(1994) 의 PG 시험은 절대 에너지 음의 균형 상태인 분만 직후 비육초기의 산유우를 대상으로 한 시험이었기 때문으로 생각 된다.

Emery 등 (1964) 은 반추위내 유입된 PG는 10분 이내 혈중에서 측정이 가능하며, 반추위내 PG 의 반감기는 1 시간 정도로 매우 빠르다고 하였다. 이는 반추

동물의 체내 섭취된 PG의 99% 이상이 반추위 이외의 조직에서 대사됨을 의미한다. 따라서 PG를 급여하므로써 육우 체내에서 매우 효율적으로 glucose 전구물질로 사용되었음은 물론 상승된 혈당으로 인해 인슐린 분비량이 증가되어 (Grummer 등, 1994 ; Studer 등, 1993) 체지방 합성에도 큰 기여를 했을 것으로 생각된다.

Table 9. Effect of propylene glycol serum metabolites of Korean native steers

Items ^a	Control	Treated ^b	SEM	p-value ^c
Glucose, mg/dl	75.4	86.2	6.31	0.161
Insulin, uIU/ml	30.6	40.5	2.23	0.047

^a Least square means

^b 2.5ml/ BW^{0.75} kg/d of PG

^c n=10

라. 배최장근내 근육 및 지방조직 내 leptin 및 IGF-1 mRNA 농도조사

1) 시료확보 및 시험준비

시험 종료시 근육, 지방에서 시료를 채취하여, 근육내 단백질 및 지방 축적에 미치는 영향을 규명하기 위하여, PG급여 성장시험이 종료되는 28개월령에 각 처리당 4 마리씩의 등지방, 배최장근 근육 과 근내지방 조직 부분을 각각 따로 채취하여 액체질소에 보관하여 추후 분석에 사용하기 위해 보관하였다. 대조구 역시(PG 무급여구) 시험이 종료되는 28 개월령에 4 마리에서 처리구에서와 같은 방법으로 보관하면서 분석에 사용하였다. 한편 시험우 각 조직 내 leptin 및 IGF-1 mRNA 농도조사를 위한 Total RNA의 추출 결과 Figure 5-1, 5-2 및 5-3 과 같이 배최장근, 등지방 및 배최장근내 지방의 농도 와 intgrety가 매우 우수한 Total RNA가 추출 되었음을 확인하였다.

bovine IGF-1 및 leptin의 real time PCR take off cycle에 따른 1 ng의 total RNA 당 특정 gene의 발현수(No. of copy) 계산식은 공히 $y = 7 \times 10^{-7} e^{-0.6762 \times x}$ (y = 1 ng의 total RNA 당 특정 gene의 발현수, x= take off cycle) 이었는데, 이는 take off cycle이 1회전이 빠를수록 약 2.5 배정도의 발현수가 높

음을 의미 한다. 본 식을 계산하기 위하여 본 시험에서 사용한 RNA 시료들과 동일한 크기의 DNA를 5회 희석하여, 각 희석 농도내 특정 gene의 예상 발현수를 동일 농도DNA에서 실제측정된 take off cycle 과의 관계로 계산식을 구하였다.

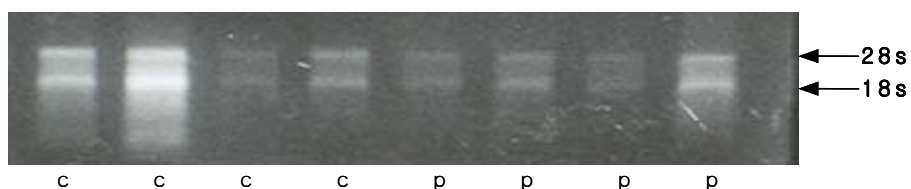


Figure 5-1. Total RNA of longissimus muscles of control (C) and PG fed(P) steers.

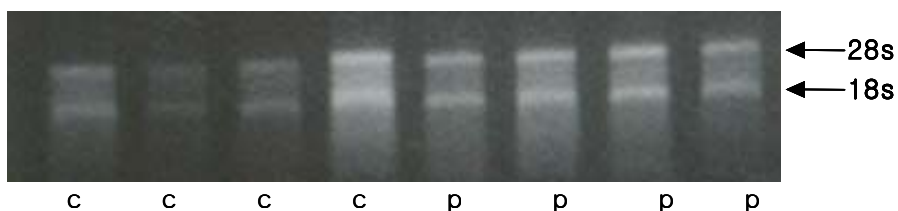


Figure 5-2. Total RNA of back fat tissue of control (C) and PG fed (P) steers.

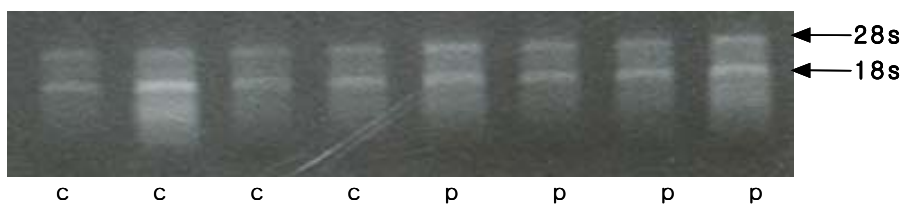


Figure 5-3. Total RNA of intramuscular fat tissue of control(C) and PG fed (p) steers.

2) 시험 결과

가) 배최장근내 IGF-1 mRNA

위에서 기술된 방법으로 과 재료 및 방법에 기술된 real time RT-PCR 측정방법에 의해 조사한 비육 최후기에 160 일간 PG를 급여한 거세 한우의 배최장근내 IGF-1 mRNA 발현율은 figure 6-1 과 figure 6-2에서와 같다. Figure 6-1 에서와 같이 real time RT-PCR을 실제 모니터 한 결과를 보면 PG 급여우의 IGF-1(I-PG)의 take off cycle 은 23.9 에서 발생한 반면 대조구 우(I-C) 의 take off cycle은 30.2 정도에서 발생하였으며, house keeping gene 인 cyclophilin 의 take off cycle은 대조구가 약간 늦기는 하였으나, 두 구 공히 29 cycle 근방에서 발생하였음을 알 수 있다. 이를 정량화 하기위하여 재료 및 방법에서 구한 표준식을 이용 하여 계산한 후, 다시 대조구를 100으로 하여 상대적으로 비교할 때 PG 급여구는 약 125 정도로 약간 증가 되는 경향을 보였으나, 통계적으로는 아무런 유의차를 보이지 못했다.

이는 table1 의 시험기간중 성장률이나 table2 의 배최장근면적 조사에서와 같이 PG 처리에 의한 효과가 없었음과 일치 하는 결과를 보여주고 있다. 스테로이드 성장 호르몬 투여시 거세육우의 성장률이 약 37% 정도 향상 되고 이 경우 근내 IGF-1 mRNA 발현율이 매우 유의적으로 증가된다고 보고한 바 있다 (Pampusch 등, 2003). 즉 본 실험에서는 전 시험 기간 중 동량의 에너지를 공급하였고 따라서 결과적으로 성장률 의 차이가 없어, IGF-1 mRNA 발현율에 차이가 없음은 당연한 결과라고 생각 된다. 다만 추후로도 약간의 배최장근면적과 배최장근 IGF-1 mRNA 발현에 PG급여에 의해 약간의 수치적 증가가 일치하게 나타나는 점은 추후 기회가 있을 때 더욱 면밀히 조사할 만한 가치가 있다고 생각된다.

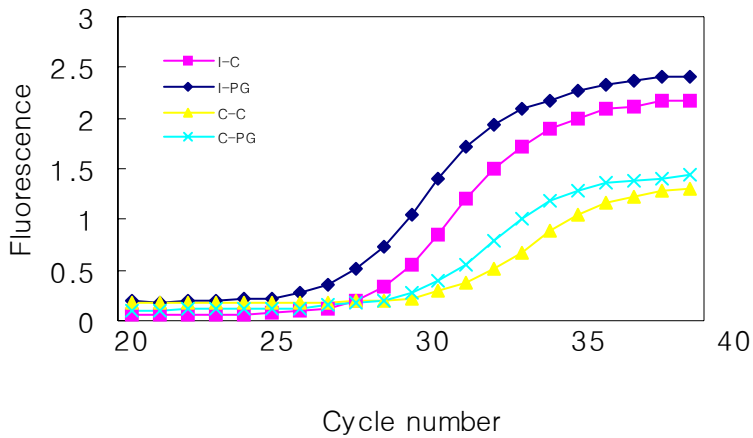


Figure 6-1. Measurement of the IGF-1 mRNA by real time RT-PCR. Total RNA were isolated from longissimus muscle of non-treated (C) and 2.5ml/ $BW^{0.75}$ kg/d of propylene glycol fed (PG) Korean native steers, and 200ng of total RNA was used for real time RT-PCR. The mRNA levels of IGF-1(I) and cyclophilin(C), which was used to normalize the IGF-1 concentration were plotted, and each plot monitors the amounts of the genes; For IGF-1 of C steer(I-C;square), IGF-1 of PG steer(I-PG:diamond), cyclophilin of C steer(C-C;triangle) or cyclophilin of PG steer(C-PG;cross).

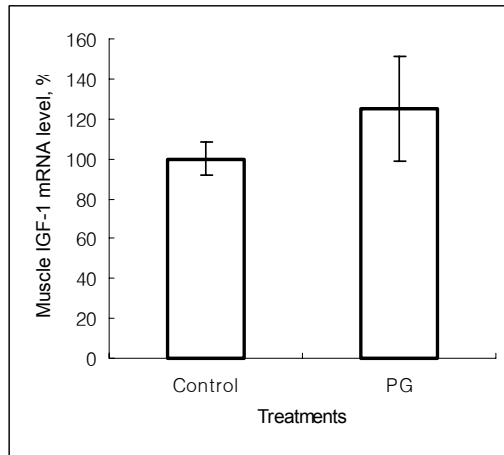


Figure 6-2. Relative longissimus muscle IGF-1 mRNA level in non-treated (control) and 2.5ml/ BW^{0.75} kg/d of propylene glycol fed (PG) Korean native steers over 120 days at the end of fattening period. The data are expressed as a percentage of the value observed in the control. The value of mRNA was 100 and 125% for control and PG groups, respectively. The bar graph indicates the mean \pm SEM of 4 steers.

나) 등지방내 leptin mRNA

위에서 기술된 재료 및 방법에 기술된 real time RT-PCR 측정방법에 의해 조사한 비육 최후기에 160 일간 PG를 급여한 거세 한우 등지방 내 leptin mRNA 발현율은 figure 7-1 과 figure 7-2에서와 같다. Figure 7-1 에서와 같이 real time RT-PCR을 실제 모니터 한 결과를 보면 PG 급여우 등지방 조직내 leptin(L-PG)의 take off는 13.7 cycle에서 발생한 반면 대조구 우(L-C)의 take off cycle은 14.4 정도에서 발생하였으며, house keeping gene 인 cyclophilin의 take off cycle은 두 구 공히 23 cycle 부근에서 발생하였음을 알 수 있다. 이를 정량화 하기위하여 재료 및 방법에서 구한 표준식을 이용 하여 계산한 후, 다시

대조구를 100으로 하여 상대적으로 비교할 때 즉 PG 급여에 의해 등지방내 leptin mRNA 발현이 유의적($P<0.01$) 으로 감소하였다. 이는 figure 9-2에서 보여 주는 바 와 같이 대조구에 비해 등지방내 leptin mRNA 발현율이 약 75% 감소했음을 보여주고 있다. 그러나 실제 table 2의 도체성적 측정시 등지방 두께를 보면 대조구 와 PG급여구가 각각 10.5 및 11.4 mm로 유의적이지는 못하지만 PG 급여에 의해 등지방 두께가 10 % 정도 증가한 것과는 상반된 결과를 보여 주고 있다. 따라서 이 부분 역시 추후 더 밝혀져야 할 여지가 있다고 사료 된다.

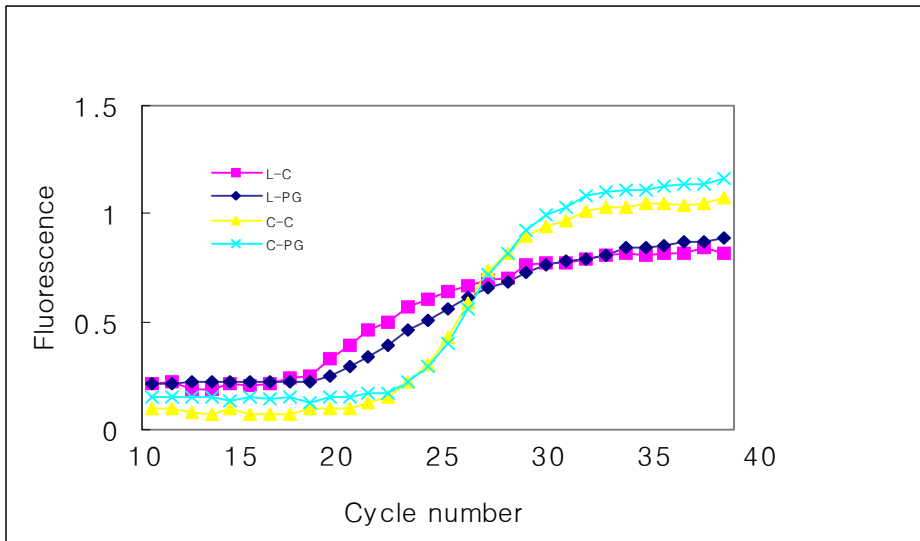


Figure 7-1. Measurement of the back fat leptin mRNA by real time RT-PCR. Total RNA were isolated from back fat tissue of non-treated (C) and 2.5ml/BW^{0.75} kg/d of propylene glycol fed (PG) Korean native steers, and 200ng of total RNA was used for real time RT-PCR. The mRNA levels of leptin and cyclophilin, which was used to normalize the leptin concentration were plotted, and each plot monitors the amounts of the genes; For leptin of C steer(L-C;square), leptin of PG steer(L-PG;diamond), cyclophilin of C steer(C-C;triangle) or cyclophilin of PG steer(C-PG;cross).

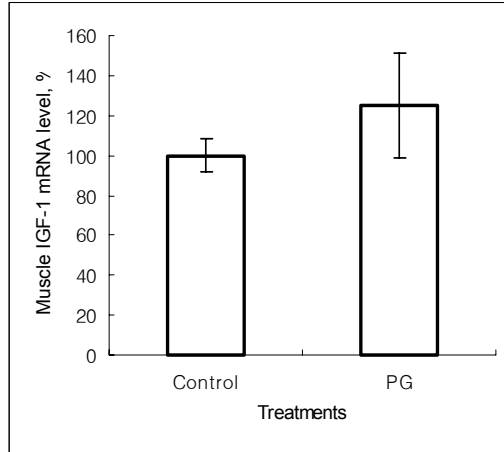


Figure 7-2. Relative subcutaneous back fat tissue leptin mRNA level in non-treated (Control) and 2.5ml/ BW^{0.75} kg/d of propylene glycol fed (PG) Korean native steers over 120 days at the end of fattening period. The data are expressed as a percentage of the value observed in the control. The value of mRNA was 100 and 75% for control and PG groups, respectively. The bar graph indicates the mean \pm SEM of 4 steers. ** means significantly different from control ($p < 0.01$).

다) 배최장 근내지방 leptin mRNA

위에서 기술된 방법으로 확보된 bovine leptin clone을 이용하여, 재료 및 방법에 기술된 real time RT-PCR 측정방법에 의해 조사한 비육 최후기에 160일간 PG를 급여한 거세 한우의 배최장근 지방 내 leptin mRNA 발현율은 figure 8-1 과 figure 8-2에서와 같다. Figure 8-1 에서와 같이 real time RT-PCR을 실제 모니터한 결과를 보면 PG 급여우 배최장근내 지방조직 내 leptin(L-PG)의 take off는 13.4 cycle에서 발생한 반면 대조구 우(L-C)의 take off cycle은 13.7 정도에서 발생하였으며, house keeping gene 인 cyclophilin의 take off cycle은

두 구 공히 20.0 cycle 부근에서 발생하였음을 알 수 있다. 이를 정량화 하기 위하여 재료 및 방법에서 구한 표준식을 이용 하여 계산한 후, 즉 PG급여에 의해 배 최장근내 지방의 mRNA 발현율이 75% 높게 유의적 ($p < 0.01$)으로 증가 발현되었음을 보여주고 있다. 이는 table 2의 도체성적의 marbling score와 비교해 보면, 비록 유의적 차이는 아니었지만 대조구 4.3에서 PG급여시 4.8로 향상 되는 듯한 경향을 보인 것과 연관이 있어 상당히 고무적인 결과라 할 수 있다.

또한 이는 본 실험에서 조사하지는 않았지만 혈청 leptin 농도와 marbling score간 에 정의 상관관계가 존재 한다고 보고한 Geary 등(2003) 의 보고와 일치 하는 경향을 잘 보여주고 있다 하겠다. 실제로 table 2 에서의 성적을 보면 PG 급여구의 marbling score 평균 4.8은 엄밀한 의미에서 보면 육질 1등급 에서도 상당히 상위 등급이다. 즉 판단자의 주관에 따라 차상위 등급으로 판정 될 수도 있는 score이다. 실제 table 2 의 등급 출현 마리수를 비교해 보면 PG 급여구의 1⁺ 발현수는 3 마리이고 대조구는 1 마리에 지나지 않는다. 또 다른 관점에서 보면 table 4와 5에서와 같이 PG 섭취에 의한 반추위내 propionate 및 혈중 insulin 농도 증가에 의해 근내지방 합성이 가장 활발한 시기인 비육 최후기(Rowe와 Patrick, 1994)에 유효 지방합성 원료인 glucose를 효율적으로 공급해줌으로써 근 내지방 leptin mRNA 발현이 증가 되었고, 따라서 근내 지방도 도 증가 되는 경향을 보였다고 사료 된다.

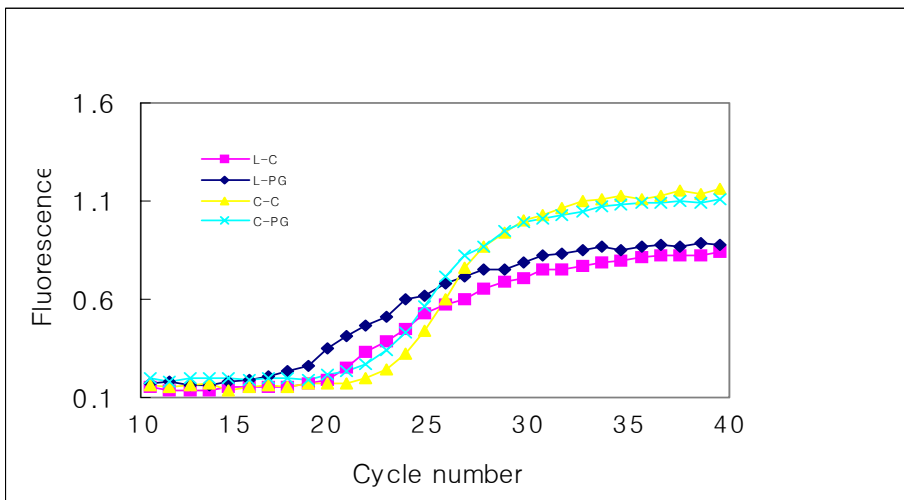


Figure 8-1. Measurement of the longissimus intramuscular fat leptin mRNA by real time RT-PCR. Total RNA were isolated from longissimus intramuscular fat tissue of non-treated (C) and 2.5ml/ BW^{0.75} kg/d of propylene glycol fed (PG) Korean native steers, and 200ng of total RNA was used for real time RT-PCR. The mRNA levels of leptin and cyclophilin, which was used to normalize the leptin concentration were plotted, and each plot monitors the amounts of the genes; For leptin of C steer(L-C;square), leptin of PG steer(L-PG;diamond), cyclophilin of C steer(C-C;triangle) or cyclophilin of PG steer(C-PG;cross).

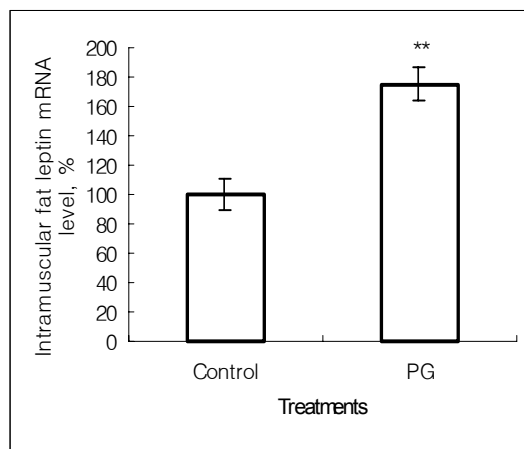


Figure 8-2. Relative longissimus intramuscular fat leptin mRNA level in non-treated (control) and 2.5ml/ BW^{0.75} kg/d of propylene glycol fed (PG) Korean native steers over 120 days at the end of fattening period. The data are expressed as a percentage of the value observed in the control. The value of mRNA was 100 and 175% for control and PG groups, respectively. The bar graph indicates the mean \pm SEM 4 steers. ** means significantly different from control ($p < 0.01$).

제 4 장 목표달성도 및 관련분야에 의 기여도

우리나라는 전체 쇠고기 수급량 중 44% 이상을 수입에 의존하고 있는 주요인은 다름 아닌 가격차 때문이다. 이를 극복하기 위하여 수많은 종류의 브랜드들이 개발 되어왔고 그 생산 방법들 역시 기본적으로 거세에 의한 한우 체내 호르몬 변화와 장기 육성 방법의 성장생리 및 소위 특수 약제들의 첨가사료 급여에 의한 고급육생산을 그 근간으로 하고 있다. 그러나 생산 근거가 과학적으로 검증되지 못하면 오히려 소비자들로부터 외면당할 소지가 충분히 있다.

따라서 한우의 성장기간 중 체 부위별 지방축적 생리를 이해하고, 체내 생화학적 지방합성 경로와 내분비적 특성을 파악하여 사료내 성분으로 이를 조절함으로써 소비자가 원하는 특정부위의 지방(marbling)함량만을 선택적으로 증가시키는 것이 가능하리라 생각된다. 그러나 불행히도 현재까지는 이에 관한 보고가 거의 없는 실정이다.

PG 는 낙농 선진국에서 분만 직후 비유 초기에 사료섭취 제한으로 인한 ketosis 발생 예방을 위해 glucose 공급원으로 급여시 체내에서 직접 흡수 되거나 극히 일부 는 반추위에서 popionate 생성을 증가시켜 결국 체내 glucose 공급량을 증가시켜줄 뿐만 아니라 혈중 인슐린 함량도 증가시켜준다. 따라서 미국 등 낙농 선진제국에서 고능력우의 비유초기 영양성 대사 장애를 예방하기 위한 목적으로 주로 사용될 뿐, 육우의 성장생리 및 각 지방부위별 축적 기질 특성을 이용한 고급육생산에는 전혀 이용되고 있지 않는 실정이다.

그 과학적 실현 가능성과 식품으로서의 안정성 효과가 가장 크게 기대되는 PG 사용 프로그램을 우리 실정에 맞게 개발하고 이의 작용원리를 밝혀냄으로서 앞으로 한우육의 육질을 획기적으로 향상시키고 따라서 한우의 국제적 경쟁력과 농가의 수익성을 극대화 할 수 있는 대안을 찾고자 본 연구를 수행하였다.

축산 연구소의 한우 핵심 농가 중에 하나인 전북 익산군 죽림 농장에서 한우 거세우 20여 마리를 이용한 비육 최후기 PG 급여 사양 시험을 통해 성장률 및 도체 특성과 소비자 기호도 및 경제성을 분석 하였다.

전남대학교에서는 사양 시험이 진행 되는 동안 PG의 체내 작용 기전을 밝히 고자, 반추위액, 혈액 및 도체의 배최장근 및 등지방을 채취하여 생리 대사적 및 분자생물학적 수준에서의 분석을 실시하였다.

본 연구과정을 통해 거세한우 비육 최후기에 PG를 통상적인 방법으로 급여 하여도 육질이 향상 될 수 있음을 확인할 수 있었고, 생산된 고기의 소비자 기호도에 아무런 문제가 없으며, 생산자의 수익에도 도움이 됨을 알 수 있었다. 또한 본 연구를 통해 비육 최후기 PG 급여에 의해 근내지방 함성도를 증가 시켜 주는 기질 및 호르몬 함량이 증가 할 뿐만 아니라, 근내지방 함성에 관여 하는 유전자의 발현도 도 획기적으로 증가됨을 발견 하였다. 따라서 본연구에 대한 목표달성도 및 한우육 생산 분야에 대한 기여도는 대단히 높다고 판단 된다.

제 5 장 연구개발결과의 활용계획

- ◆ 현재 규명된 PG급여 수준 보다 더 세분화된 급여 방법, 수준 및 급여기간의 시험 완료 후,
 - ⇒ 축산 연구소의 영농기술 상담 창구를 이용하여 한우 농가에 기술보급 실시
 - ⇒ 전북익산 죽림농장을 시범농가로 하여 각 한우 농가 및 농촌진흥청, 각 시, 군 농업기술센터를 통한 PG 급여 기술 보급 및 방법 지도

⇒ 선도 PG사료생산 업체로 광주광역시 축산농협 목포배합사료공장을 지정 하여 PG첨가 비육후기 배합사료 생산 판매 유도 후 국내 전 배합사료공장에 기술 무상 이전을 추진 할 계획이며,

◆ 현재 까지 밝혀진 PG의 육우내 작용 기작을 근거로,

⇒ PG 급여 방법과 한우에 대한 국제적 공인을 받기 위한 수단의 일환으로 SCI 급 논문에 투고 게재

⇒ 국내 외 세미나 등을 통한 PG 급여 작용원리 강연을 통한 타 연구자들의 추가 시험 유도 등이 되도록 활용할 계획이다.

제 6 장 참고문헌

1. AOAC. 1995. Official methods of analysis (16th Ed.). Association of official analytical chemist, Arlington, VA.
2. Bauman, D. E. and C. L. Davis. 1975. Regulation of lipid metabolism. In: Digestion and metabolism in the ruminant. pp.496-509. University of New England Publishing Unit. Amidale, Austrlia.
3. Chomezynski, N. and Sacchi, N. 1987. Single step method of RNA isolation by acid guanidium thiocyanate phenol-chloroform extraction. Anal. Biochem. 161: 156-159.
4. Christensen, J. O., R. R. Grummer, F. E. Rasmussen, and S. J. Berdics. 1997. Effect of method of delivery of propylene glycol on plasma metabolites of feed-restricted cattle. J. Dairy Sci. 80:563-568.
5. Emery, R. S., N. Burg, L. D. Brown, and G. N. Blank. 1964. Detection, occurance, and prophylactic treatment of borderline ketosis with propylene glycol feeding. J. Dairy. Sci. 47:1074-1079.
6. Geary, T. W., E. L. McFaden, M. D. MacNeil, E. E. Grings, R. E. Short, R. N. Funston, and D. H. Keisler. 2003. Leptin as a predictor of carcass composition in beef cattle. J. Anim. Sci. 81:1-8.
7. Grummer, R. R., J. C. Winkler, S. J. Berdics, and V. A. Studer. 1994. Effect of propyleneglycol dosage during feed restriction on metabolites in blood of parturum Holstein heifers. J. Dairy Sci. 77:3618-3623.

8. Gupta, N.K., and W. G. Robinson. 1960. The enzymatic conversion of lactaldehyde to propanediol. *J. Biol. Chem.* 235:1609-1612.
9. Hanzlik, P. J., A. J. Lehmann, W. van Winke, Jr., and N. K. Kennedy. 1939. *J. Phamacol. Exp. Ther.* 68: 194.
10. KMAF. 2002. Korean Feeding Standard for Korean Cattle (Hanwoo). Korean Ministry of Agriculture and Forestry, Seoul, Korea.
11. KMAF. 2003. Korea Animal Products Grading System for Beef Carcasses. Korean Ministry of Agriculture and Forestry, Seoul, Korea.
12. Miller, O. N., and G. Bazzano. 1965. Propanediol metabolism and its relation to lactic acid metabolism. *Annal. N. Y. Acad. Sci.* 119:957-973.
13. Pampusch, M. S., B. J. Johnson, M. E. White, M. R. Hathaway, J. D. Dunn, A. T. Waylan, and W. R. Dayton. 2003. Time course of changes in growth factor mRNA levels in muscle of steroid-implanted and nonimplanted steers. *J. Anim. Sci.* 81:2733-2740.
14. Prior, R. L. 1978. Effect of level of feed intake on lactate and acetate metabolism and lipogenesis in vivo in sheep. *J. Nutr.* 108:926-935.
15. Rowe, J. B., and Pethick, D. W. 1994. Starch digestion in ruminants—problems, solutions and opportunities. *Proc. Nutr. Soc. Aust.* 18:40-52.
16. Smith, S. B. 1995. Pages 166-188 in Substrate utilization in ruminant adipose tissue. *Biology of fat in meat animals.* American Society of Animal Sciences, Champaign, IL.

17. Smith, S. B., and Crouse, J. D. 1984. Relative contributions of acetate, lactate and glucose to lipogenesis in bovine intramuscular and subcutaneous adipose tissue. *J. Nutr.* 114:792-800.
18. Studer, V. A., R. R. Grummer, S. J. Berdics, and C. K. Reynold. 1993. Effect of preparum propylene glycol administration on periparturient fatty liver in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 76:2931-2939.
19. Van Soest, P. J., J. B. Robertson and B. A. Lewis. 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *J. Dairy Sci.* 74:3583-3597.
20. Vernon, G. R. 1981. pp. 279-362 in *Lipid metabolism in the adipose tissue of ruminants*. Pergamon Press, Oxford, UK.

주 의

1. 이 보고서는 농림부에서 시행한 농림기술개발사업의 연구 보고서입니다.
2. 이 보고서 내용을 발표할 때에는 반드시 농림부에서 시행한 농림기술개발사업의 연구결과임을 밝혀야 합니다.
3. 국가과학기술 기밀유지에 필요한 내용은 대외적으로 발표 또는 공개하여서는 아니됩니다.