



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2020-0054902
(43) 공개일자 2020년05월20일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A23K 20/142 (2016.01) A23K 50/10 (2016.01)
- (52) CPC특허분류
A23K 20/142 (2016.05)
A23K 50/10 (2016.05)
- (21) 출원번호 10-2019-0144520
- (22) 출원일자 2019년11월12일
심사청구일자 2019년11월12일
- (30) 우선권주장
1020180138459 2018년11월12일 대한민국(KR)

- (71) 출원인
씨제이제일제당 (주)
서울특별시 중구 동호로 330 (쌍림동)
- (72) 발명자
박진승
서울특별시 중구 동호로 330 (쌍림동)
전진우
서울특별시 중구 동호로 330 (쌍림동)
(뒷면에 계속)
- (74) 대리인
특허법인한일

전체 청구항 수 : 총 12 항

(54) 발명의 명칭 N-아세틸-L-트립토판을 유효성분으로 포함하는 축우용 사료첨가제

(57) 요약

본 출원은 N-아세틸-L-트립토판(N-acetyl-L-tryptophan; NALT)을 포함하는 축우용 사료첨가제 조성물에 관한 것으로, 구체적으로 N-아세틸-L-트립토판을 유효성분으로 포함하는 축우의 온도 스트레스 저감용, 일당증체량 증가용, 사료섭취량 증가용 사료첨가제 조성물; 상기 축우용 사료첨가제 조성물을 포함하는 사료; 및 N-아세틸-L-트립토판을 유효성분으로 포함하는 축우용 사료첨가제 조성물 또는 사료를 축우에 급여하는 단계를 포함하는 축우의 온도 스트레스 저감 방법, 일당증체량 증가 방법, 사료섭취량 증가 방법;에 관한 것이다.

(72) 발명자

문준욱

서울특별시 중구 동호로 330 (쌍림동)

이주영

서울특별시 중구 동호로 330 (쌍림동)

이홍구

서울특별시 강동구 동남로79길 26 고덕아이파크아파트 102동503호

이재성

서울특별시 강남구 논현로18길 10-13 101호

명세서

청구범위

청구항 1

N-아세틸-L-트립토판을 유효성분으로 포함하는, 축우용 사료첨가제 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 사료첨가제 조성물은 온도 스트레스 저감용인 것인, 축우용 사료첨가제 조성물.

청구항 3

제1항에 있어서, 상기 사료첨가제 조성물은 일당증체량 증가용인 것인, 축우용 사료첨가제 조성물.

청구항 4

제1항에 있어서, 상기 사료첨가제 조성물은 사료섭취량 증가용인 것인, 축우용 사료첨가제 조성물.

청구항 5

제2항에 있어서, 상기 온도 스트레스는 낮은 스트레스 또는 높은 스트레스인 것인, 축우용 사료첨가제 조성물.

청구항 6

제5항에 있어서, 상기 낮은 스트레스는 10℃ 이하의 낮은 스트레스인 것인, 축우용 사료첨가제 조성물.

청구항 7

제5항에 있어서, 상기 높은 스트레스는 15℃ 이상의 높은 스트레스인 것인, 축우용 사료첨가제 조성물.

청구항 8

제1항에 있어서, 상기 N-아세틸-L-트립토판은 사료 총 건조중량 대비 0.01 내지 3.0% (w/w)포함되는 것인, 축우용 사료첨가제 조성물.

청구항 9

제1항 내지 제8항 중 어느 한 항의 축우용 사료첨가제 조성물을 포함하는 사료.

청구항 10

N-아세틸-L-트립토판을 유효성분으로 포함하는 축우용 사료첨가제 조성물 또는 사료를 축우에 급여하는 단계를 포함하는, 축우의 온도 스트레스 저감 방법.

청구항 11

N-아세틸-L-트립토판을 유효성분으로 포함하는 축우용 사료첨가제 조성물 또는 사료를 축우에 급여하는 단계를 포함하는, 축우의 일당증체량 증가 방법.

청구항 12

N-아세틸-L-트립토판을 유효성분으로 포함하는 축우용 사료첨가제 조성물 또는 사료를 축우에 급여하는 단계를 포함하는, 축우의 사료섭취량 증가 방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 출원은 N-아세틸-L-트립토판(N-acetyl-L-tryptophan; NALT)을 포함하는 축우용 사료첨가제 조성물에 관한 것으로, 구체적으로 N-아세틸-L-트립토판을 유효성분으로 포함하는 축우의 온도 스트레스 저감용, 일당증체량 증가용, 사료섭취량 증가용 사료첨가제 조성물; 상기 축우용 사료첨가제 조성물을 포함하는 사료; 및 N-아세틸-L-트립토판을 유효성분으로 포함하는 축우용 사료첨가제 조성물 또는 사료를 축우에 급여하는 단계를 포함하는 축우의 온도 스트레스 저감 방법, 일당증체량 증가 방법, 사료섭취량 증가 방법;에 관한 것이다.

배경 기술

[0003] 열 환경은 온혈동물인 소의 항상성에 직접적으로 영향을 주기 때문에 다른 환경과 비교하여 매우 중요하다. 소에 있어서 열 환경이라 함은 기온, 풍속, 태양 복사에너지, 상대습도, 산열, 우사 바닥의 재료 및 상태, 지붕의 단열도, 사육밀도 등을 의미한다. 국립축산과학원의 보고에 따르면 이 중에서 가장 중요한 요소는 기온으로, 축우의 대표적인 예로, 한우의 생산 환경 임계 저온도는 -10℃로 알려져 있다.

[0004] 알려진 축우의 적온 영역 내의 기온에서, 산열량은 거의 일정한 수준으로 최저를 나타내고, 생산성은 거의 일정한 수준으로 높게 유지된다. 반면, 기온이 적온 영역에서 많이 벗어나면 벗어날수록 생산성은 더욱 저하되며, 생산 환경 임계온도 범위를 벗어난 기온에서는 생산성이 현저하게 저하된다. 지구온난화의 영향으로 온대기후 지역의 기온은 하절기는 무덥고 동절기는 추워지는 기후의 양극화 현상이 심해지고 있다. 이와 같은 이유로 겨울의 저온 환경, 여름의 고온 환경으로 인한 반추동물의 생산성 저하는 계속해서 가속화될 전망이다.

[0005] L-트립토판(L-Tryptophan)은 반추동물에 있어서 영양적으로 중요한 필수아미노산(essential amino acid; EAA) 중 하나로 단백질 합성의 필수 구성요소이다. 일반적으로 대사적, 생리적, 성장능력, 기관발달 등에 중요한 역할을 한다. 이러한 L-트립토판이 부족하게 되면 사료 섭취량과 성장 성적에 악영향을 줄 수 있다. 한편, 저온 및 고온의 온도 스트레스 환경에서 축우의 생산성이 저하되므로, 이와 같은 생산성 저하를 최소화 하기 위해 필수아미노산인 L-트립토판이 보충되어야 할 필요가 있다.

[0006] L-트립토판을 반추동물에게 보충 급여하면 반추위 내 미생물에게 이용되어 미생물체 단백질의 합성량은 증가하지만, 결과적으로 다량 생성된 암모니아를 이용하지 못할 뿐 아니라 사료 단백질의 이용률이 감소하게 된다. 따라서, 반추위에서 미생물의 분해를 피할 수 있고, 반추동물의 소장에서 분해 및 흡수 가능한 반추위 미분해(rumen-bypass) 아미노산 형태로 급여하는 것이 필요하다. 일반적으로, 반추위 내 미생물로부터 사료 단백질을 보호하기 위하여 열처리, 포름알데히드(formaldehyde) 처리(Subuh, et al., Animal Feed Science and Technology. Vol 57(3), 257-265), 탄닌(tannin) 처리, 에탄올(ethanol) 처리, 리그노설포네이트(lignosulfonate) 등 다양한 물리화학적 처리 방법 및 지방산/pH에 민감한 고분자 혼합물로 표면을 코팅하거나, 불포화 지방산과 광물질 혼합물로 코팅하는 방법들이 연구되고 있다.

[0007] 이러한 배경하에, 본 발명자들은 축우의 생산성 저하를 최소화하기 위한 사료첨가제를 개발하고자 예의 노력연구한 결과, 아세테이트(acetate)와 L-트립토판(L-tryptophan)의 컨주게이션(conjugation) 형태인 N-아세틸-L-트립토판(N-acetyl-L-tryptophan)을 첨가하여 급여하는 경우, 축우의 온도 스트레스를 저감시키고, 일당증체량 및 사료섭취량을 증가시키는 것을 확인하여, 본 출원을 완성하였다.

발명의 내용

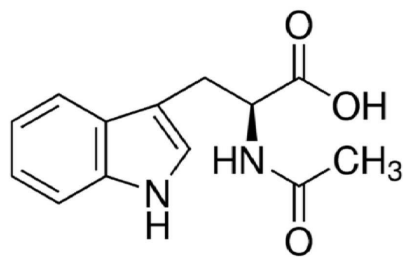
해결하려는 과제

- [0009] 본 출원의 하나의 목적은 N-아세틸-L-트립토판(N-acetyl-L-tryptophan)을 유효성분으로 포함하는 축우용 사료첨가제 조성물을 제공하는 것이다.
- [0010] 본 출원의 다른 하나의 목적은 상기 축우용 사료첨가제 조성물을 포함하는 사료를 제공하는 것이다.
- [0011] 본 출원의 또 다른 하나의 목적은 N-아세틸-L-트립토판을 유효성분으로 포함하는 사료첨가제 조성물 또는 사료를 축우에 급여하는 단계를 포함하는 축우의 온도 스트레스 저감 방법, 일당증체량 증가 방법, 사료섭취량 증가 방법을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

- [0013] 이를 구체적으로 설명하면 다음과 같다. 한편, 본 발명에서 개시된 각각의 설명 및 실시형태는 각각의 다른 설명 및 실시 형태에도 적용될 수 있다. 즉, 본 발명에서 개시된 다양한 요소들의 모든 조합이 본 발명의 범주에 속한다. 또한, 하기 기술된 구체적인 서술에 의하여 본 발명의 범주가 제한된다고 볼 수 없다.
- [0015] 상기 목적을 달성하기 위하여, 본 출원의 하나의 양태는 N-아세틸-L-트립토판(N-acetyl-L-tryptophan; NALT)을 유효성분으로 포함하는 축우용 사료첨가제 조성물을 제공한다.
- [0016] 구체적으로, 본 출원의 축우용 사료첨가제 조성물은 N-아세틸-L-트립토판 또는 이의 염을 포함할 수 있다.
- [0018] 본 출원의 용어, "N-아세틸-L-트립토판(N-acetyl-L-tryptophan; NALT)"은 하기 화학식 1의 구조를 갖는 화합물을 의미한다. N-아세틸-L-트립토판은 황산마그네슘과 함께 뇌, 척수 및 신경 손상 치료 효과 및 단백질 산화 방지 효과 등의 다양한 특성을 가지고 있다고 알려져 있으나, 이를 포함한 사료 급여 시 축우의 온도 스트레스 저감, 일당증체량 증가 및 사료섭취량 증가 효과 등은 알려진 바 없었으며, 본 발명자에 의하여 최초로 규명되었다.

[0020] [화학식 1]



- [0021]
- [0023] 본 출원의 목적상 상기 N-아세틸-L-트립토판은 그 출처에 제한 없이 사용할 수 있으며, 상기 N-아세틸-L-트립토판의 제조는 당업계에 공지된 다양한 방법을 이용하여 수행될 수 있다.
- [0025] 상기 용어, 'L-트립토판(L-tryptophan)'은 반추동물에 있어서 영양적으로 중요한 필수아미노산(essential amino acid; EAA) 중 하나로 단백질 합성의 필수 구성요소이다. L-트립토판의 대사 산물은 영양 대사를 조절하여 기관들의 항상성을 유지하도록 영향을 주며, 동물의 성장과 발달, 번식 및 건강에 영향을 준다. 또한, L-트립토판은

신경 전달 물질로 작용하는 세로토닌(serotonin)의 전구체로서, 뇌 혈관 장벽(blood-brain barrier)을 통과한 후 정서적 행동을 조절하여, 스트레스를 완화할 수 있다. 또한, 멜라토닌(Melatonin), 니아신(Niacin)의 전구체로 항산화 효과를 나타내기도 하며, 소장에서 장관호르몬인 콜레시스토키닌(cholecystokinin; CCK)의 분비를 촉진시키고, 췌장(pancreas) α-아밀라아제의 분비 및 활성을 통해 전분소화율을 증가시킨다고 알려져 있다.

[0026] 본 출원에서, 상기 N-아세틸-L-트립토판은 반추위-보호(rumen-protected)되는 것일 수 있다. 본 출원의 용어, "반추위-보호(rumen-protected)"는 반추위 내에서 미생물 효소에 의한 분해 작용이 일어나지 않고, 소장에서 분해 및 흡수가 가능하도록 처리된 것을 의미하며, 반추위-바이패스(rumen-bypass)라고도 한다. 상기 용어, '반추위'는 소목의 일부 동물에서 볼 수 있는 특수한 소화관으로, 일명 되새김을 하기 위해 위해 혹위, 별집위, 겹주름위, 및 주름위의 4개의 방으로 나뉘어 있다. 되새김위라고도 불리며, 한번 삼킨 음식을 다시 입안으로 토하여 잘 씹은 후에 삼키는 것을 반추라고 하고, 이런 반추를 가능하게 하는 위를 반추위라고 한다. 반추위에는 미생물이 공생하고 있어서 일반적인 동물들이 소화하지 못하는 식물의 셀룰로스를 분해하여 에너지화할 수 있는 능력을 갖게 된다.

[0027] 본 출원의 N-아세틸-L-트립토판은 아세테이트(acetate)와 L-트립토판(L-tryptophan)의 컨주게이션(conjugation) 형태로, 반추위 내에서 미생물 효소에 의해 분해되지 않고, 소장에서 L-트립토판이 흡수될 수 있도록 반추위-보호(rumen-protected)된 것이다.

[0029] 본 출원의 N-아세틸-L-트립토판은 급여 대상, 급여 대상의 종, 체중, 급여 시기, 급여 사료의 종류, 급여 목적 등을 고려하여 당업자가 그 함량을 결정할 수 있다. 구체적으로, N-아세틸-L-트립토판은 사료 총 건조중량 대비 0.01 내지 3.0%, 0.01 내지 2.0%, 0.01내지 0.1%, 0.05 내지 3.0%, 0.05 내지 2.0%, 0.05% 내지 1.5%, 보다 구체적으로 0.05 내지 1.0%(w/w) 포함되는 것일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0031] 본 출원의 용어, "축우(cattle)"는 가축으로 사육되는 소를 의미한다. 본 출원의 용어, "비육우(beef cattle)"는 가축으로 사육되는 소 중에서 고기 생산을 목적으로 하는 소를 의미한다. 본 출원에서의 비육우는 고기 생산이 가능한 소에 해당하며, 품종, 성별 등과 관계없이 모두 본 출원의 범주에 포함된다. 보다 구체적으로 한우(Korean native cattle)일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0033] 본 출원의 용어, "사료첨가제"는 사료에 첨가되는 물질을 의미하며, 상기 사료첨가제는 대상 개체의 생산성 향상이나 특정 용도 개선 또는 건강을 증진시키기 위한 것일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다. 또한, 상기 사료첨가제는 사료 관리법상의 보조사료에 해당할 수 있다.

[0034] 본 출원의 사료첨가제 조성물은 N-아세틸-L-트립토판 또는 이의 염 이외에도 대상 개체의 생산성 또는 건강 증진을 위한 뉴클레오티드류, 아미노산, 칼슘, 인산, 유기산 등의 영양소를 추가로 포함할 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.

[0036] 본 출원의 용어, "염"은 양이온과 음이온이 정전기적 인력에 의해 결합하고 있는 물질인 염을 의미하며, 통상적으로 금속염, 유기염기와의 염, 무기산과의 염, 유기산과의 염, 아미노산과의 염 등이 될 수 있다. 예를 들어, 금속염으로는 알칼리 금속염(나트륨염, 칼륨염 등), 알칼리 토금속염(칼슘염, 마그네슘염, 바륨염 등), 알루미늄염 등이 될 수 있고; 유기염기와의 염으로는 트리에틸아민, 피리딘, 피롤린, 2,6-루티딘, 에탄올아민, 디에탄올아민, 트리에탄올아민, 시클로헥실아민, 디시클로헥실아민, N,N-디벤질에틸렌디아민 등과의 염이 될 수 있으며; 무기산과의 염으로는 염산, 브롬화수소산, 질산, 황산, 인산 등과의 염이 될 수 있고; 유기산과의 염으로는 포름산, 아세트산, 트리플루오로아세트산, 프탈산, 푸마르산, 옥살산, 타르타르산, 말레인산, 시트르산, 숙신산, 메탄술폰산, 벤젠술폰산, p-톨루엔술폰산 등과의 염이 될 수 있으며; 아미노산과의 염으로는, 대표적인 예를 들어, 염기성 또는 산성 아미노산과의 염일 수 있는데, 염기성 아미노산과의 염으로는 아르기닌, 라이신, 오르니틴 등과의 염이 될 수 있고; 산성 아미노산과의 염으로는 아스파르트산, 글루탐산 등과의 염이 될 수 있다.

[0038] 본 출원에서, 상기 사료첨가제 조성물은 온도 스트레스 저감용일 수 있다. 상기 사료첨가제 조성물은 비육우용 사료첨가제 조성물일 수 있으며, 온도 스트레스 저감용일 수 있다.

[0040] 본 출원의 용어, "온도 스트레스"는 온도 변화에 따라 축우의 생산성이 저하되는 것을 의미하며, 구체적으로는 적온 영역 외의 기온 또는 급작스러운 기온변화에 의해 축우의 생산성이 저하되는 것을 의미할 수 있으며, 예를 들어, 저온 스트레스 또는 고온 스트레스일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다. 구체적으로, 상기 저온 스트레스는 적온 영역 이하의 온도, 저온 임계 이하의 온도, 또는 급작스럽게 저하된 온도에서의 스트레스, 상기 고온 스트레스는 적온 영역 이상의 온도, 고온 임계 이상의 온도, 또는 급작스럽게 상승된 온도에서의 스트레스 일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다. 상기 저온은 +10℃ 이하, -50℃ 내지 +10℃, -40℃ 내지 +10℃, -30℃ 내지 +10℃, -20℃ 내지 +10℃, -10℃ 내지 +10℃, -10℃ 내지 0℃일 수 있으나 이에 제한되는 것은 아니다. 상기 고온은 10℃ 이상, 15℃ 이상, 20℃ 이상, 10℃ 내지 50℃, 15℃ 내지 50℃, 20℃ 내지 50℃, 30℃ 내지 50℃, 10℃ 내지 40℃, 15℃ 내지 40℃, 20℃ 내지 40℃, 30℃ 내지 40℃, 15℃ 내지 35℃, 20℃ 내지 35℃이 일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다. 온도 스트레스 저감은 축우의 일당증체량 증가 및 사료섭취량 증가 여부로 판단할 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0041] 국립축산과학원의 보고에 따르면, 한우의 적온영역과 임계온도는 표 1과 같다. 한우의 생산 환경 임계 저온도는 -10℃로 알려져 있다.

표 1

한우의 적온 영역과 임계온도

[0043]

구분		적온 영역, ℃	임계온도, ℃	
			저온	고온
한우	송아지	13~25	5	30
	육성우	4~20	-10	30
	비육우	10~20	-10	30
	번식우	0~20	-10	32

[0045] 본 출원의 구체적인 일 실시예에서는, 축우, 대표적인 예를 들어 비육우를 온도 스트레스 환경에 노출시켜 일당 증체량 증가량 및 사료섭취량 증가량을 확인하였다. 저온 스트레스 환경의 기온은 적응기(D 0 - 6) 평균 4.3℃, 시험기 평균 -6.2 내지 4.2℃, 시험기(D 7 - 48) 전체 평균 -1.0℃로, 적응기와 비교하여 시험기에 낮은 수준의 평균 온도를 나타냈다(표 4).

[0046] 고온 스트레스 환경의 기온은 고온 스트레스 기준 지표인 온습도지수(Temperature-Humidity index; THI)가 초기 3주 평균 80 이상, 이후 4주 72 이상으로 나타났다(표 10).

[0048] 본 출원에서, 상기 사료첨가제 조성물은 일당증체량 증가용일 수 있다. 상기 사료 첨가제 조성물은 비육우용 사료첨가제 조성물일 수 있으며, 일당증체량 증가용일 수 있다. 상기 사료 첨가제 조성물은 고온 또는 저온 스트레스 환경에서 비육우의 일당증체량 증가용 사료 첨가제 조성물일 수 있다. 구체적으로 사료 첨가제 조성물은, 사료요구율(평균 증체량을 사료 섭취량으로 나눈 값)이 3 내지 10인 비육우의 일당증체량 증가용 사료 첨가제 조성물일 수 있다. 보다 구체적으로, 고온 또는 저온 스트레스 환경에서 상기 사료 첨가제 조성물은, 사료요구율이 3 내지 10인 비육우의 일당증체량 증가용 사료 첨가제 조성물일 수 있다. 구체적으로 사료 첨가제 조성물은, 사료요구율이 NALT 비급여 비육우 대비 50 내지 80% 저감된 일당증체량 증가용 사료 첨가제 조성물일 수 있다. 보다 구체적으로 사료 첨가제 조성물은, 고온 또는 저온 스트레스 환경에서 사료요구율이 NALT 비급여 비육우 대비 80 내지 50% 저감된 일당증체량 증가용 사료 첨가제 조성물일 수 있다.

[0050] 본 출원의 구체적인 일 실시예에서는, 저온 스트레스 환경에서 본 출원의 NALT를 유효성분으로 포함하는 사료첨

가제 조성물을 급여하는 경우 NALT 처리구의 총 체중 변화는 대조구의 총 체중 변화와 비교하여 통계적으로 유의한 차이가 나타나지 않았으나, 시험개시일(0주)로부터 시험중간일(4주)까지 및 시험중간일(4주)로부터 시험종료일(7주)까지의 일당증체량(ADG)를 비교한 결과, NALT 처리구의 일당증체량은 각각 0.753(p = 0.0301) 및 0.766(p = 0.0003)로 대조구와 비교하여 통계적으로 유의한 차이를 나타냄을 확인하였다(표 5).

[0051] 본 출원의 구체적인 일 실시예에서는, 고온 스트레스 환경에서 본 출원의 NALT를 유효성분으로 포함하는 사료첨가제 조성물을 급여하는 경우 대조구와 비교하여 NALT 처리구에서 증체 효과가 나타났다. 특히, THI 지수가 80 수준, 즉 고온 스트레스가 높은 기간 동안에 NALT 처리구의 일당증체량은 대조구의 일당증체량과 비교하여 현저히 증가함을 확인하였다(표 11).

[0052] 이로부터 본 출원의 온도 스트레스 환경에서 본 출원의 NALT를 유효성분으로 포함하는 사료첨가제 조성물을 급여하는 경우 평균 증체량을 사료 섭취량으로 나눈 값인 사료요구율은 1 내지 13, 1 내지 10, 1 내지 8, 1 내지 6, 1 내지 5, 2 내지 10 2 내지 8, 2 내지 6, 2 내지 5, 3 내지 10, 3 내지 8, 3 내지 6, 3 내지 5일 수 있다. 한편, 이로부터 본 출원의 온도 스트레스 환경에서 본 출원의 NALT를 유효성분으로 포함하는 사료첨가제 조성물을 급여하는 경우, NALT 비급여 비육우 대비 사료요구율이 80% 내지 40%, 70% 내지 40%, 80% 내지 50%, 70% 내지 50%, 70% 내지 60% 저감된 것일 수 있다.

[0054] 본 출원에서, 상기 사료첨가제 조성물은 사료섭취량 증가용일 수 있다. 상기 사료 첨가제 조성물은 비육우용 사료첨가제 조성물일 수 있으며, 사료섭취량 증가용일 수 있다. 상기 사료 첨가제 조성물은 고온 또는 저온 스트레스 환경에서 비육우의 사료 섭취량 증가용 사료 첨가제 조성물일 수 있다. 구체적으로, 상기 사료 첨가제 조성물은 고온 또는 저온 스트레스 환경에서, NALT 비급여 비육우 대비 적어도 3 내지 8% 이상의 사료 섭취량 증가용 사료 첨가제 조성물일 수 있다.

[0056] 본 출원의 구체적인 일 실시예에서는, 저온 스트레스 환경에서 본 출원의 NALT를 유효성분으로 포함하는 사료첨가제 조성물을 급여하는 경우 NALT 처리구의 적응기(D 0 - 6) 사료섭취량은 대조구의 적응기 사료섭취량과 비교하여 통계적으로 유의한 차이(p = 0.0883)를 나타내지 않았다. 또한, NALT 처리구의 시험기(D 7 - 41) 사료섭취량은 대조구의 시험기 사료섭취량과 비교하여 통계적으로 유의한 차이를 나타내지 않았으나, NALT 처리구의 시험기(D 42 - 48) 사료섭취량은 대조구의 시험기 사료섭취량과 비교하여 약 1.02 kg 증가하여 통계적으로 유의한 차이(p = 0.0384)를 나타냈다. 아울러, 시험기 전체(D 7 - 48)의 두당 평균 사료섭취량을 산출한 결과 NALT 처리구(9.86 kg/day/head)의 경우 대조구(9.43 kg/day/head)와 비교하여 약 4.6% 증가(p = 0.0119)하여 통계적으로 유의한 차이를 나타냄을 확인하였다(표 6).

[0057] 본 출원의 구체적인 일 실시예에서는, 고온 스트레스 환경에서 본 출원의 NALT를 유효성분으로 포함하는 사료첨가제 조성물을 급여하는 경우 대조구의 사료섭취량은 평균 13.38 kg/d, NALT 처리구의 사료섭취량은 평균 13.62 kg/d로 통계적으로 유의한 차이를 나타내지 않았으나, THI 80 이상에서는 NALT 처리구의 사료섭취량이 대조구의 사료섭취량과 비교하여 유의미하게 증가함을 확인하였다(표 12). 이로부터 본 출원의 온도 스트레스 환경에서 본 출원의 NALT를 유효성분으로 포함하는 사료첨가제 조성물을 급여하는 경우 적어도 2 내지 10%, 2 내지 8%, 4 내지 10%, 3 내지 8%, 4 내지 10%, 3 내지 7%, 4 내지 7%의 사료 섭취량이 증가할 수 있다.

[0058] 본 출원에서 비육우의 사료섭취량은 총 사료급여량과 잔량을 조사하여 측정할 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0060] 본 출원에서, 상기 사료첨가제 조성물은 등심조직 내 지방대사 관련 단백질 발현 저감용일 수 있다. 상기 사료 첨가제 조성물은 비육우용 사료첨가제 조성물일 수 있으며, 등심조직 내 지방대사 관련 단백질 발현 저감용일 수 있다. 상기 사료 첨가제 조성물은 고온 또는 저온 스트레스 환경에서 비육우의 등심조직 내 지방대사 관련 단백질 발현 저감용 사료 첨가제 조성물일 수 있다. 구체적으로 축우의 등심조직 지방대사 관련 유전자들(PPARr, CEBPa, FABP4 중 하나 이상)의 발현 저감용 사료 첨가제 조성물일 수 있다. 보다 구체적으로는, 고온 또는 저온 스트레스 환경에서 축우의 등심조직 지방대사 관련 유전자들(PPARr, CEBPa, FABP4 중 하나 이상)의 발현 저감용 사료 첨가제 조성물일 수 있다.

- [0062] 본 출원의 구체적인 일 실시예에서는, 저온 스트레스 환경에서 본 출원의 NALT를 유효성분으로 포함하는 사료첨가제 조성물을 급여하는 경우 NALT 처리구의 등심조직 근육대사 관련 유전자들(MYF6, MyoD, Desmin)의 발현은 대조구의 등심조직 근육대사 관련 유전자들의 발현과 비교하여 통계적으로 유의한 차이를 나타내지 않았으나, NALT 처리구의 등심조직 지방대사 관련 유전자들(PPAR α , CEBP α , FABP4)의 발현은 대조구의 등심조직 지방대사 관련 유전자들과 비교하여 낮은 수준을 나타냄을 확인하였다(표 8).
- [0064] 본 출원의 다른 하나의 양태는 상기 축우용 사료첨가제 조성물을 포함하는 사료를 제공한다.
- [0065] 구체적으로, 본 출원의 사료는 N-아세틸-L-트립토판 또는 이의 염을 포함하는 축우용 사료첨가제 조성물을 포함할 수 있다.
- [0066] 이때, 상기 "N-아세틸-L-트립토판", "축우", "비육우", "사료첨가제" 및 "반추위-보호"에 대한 설명은 전술한 바와 동일하다.
- [0068] 본 출원의 용어, "사료"는 개체가 먹고, 섭취하며, 소화시키기 위한 또는 이에 적당한 임의의 천연 또는 인공 규정식, 한끼식 등 또는 상기 한끼식의 성분을 의미한다.
- [0069] 상기 사료의 종류는 특별히 제한되지 아니하며, 당해 기술 분야에서 통상적으로 사용되는 사료를 사용할 수 있다. 상기 사료의 비제한적인 예로는, 곡물류, 근과류, 식품 가공 부산물류, 조류, 섬유질류, 제약 부산물류, 유지류, 전분류, 박 류 또는 곡물 부산물류 등과 같은 식물성 사료; 단백질류, 무기물류, 유지류, 광물성류, 유지류, 단세포 단백질류, 동물성 플랑크톤류 또는 음식물 등과 같은 동물성 사료를 들 수 있다. 이들은 단독으로 사용되거나 2종 이상을 혼합하여 사용될 수 있다.
- [0071] 본 출원의 또 다른 하나의 양태는 N-아세틸-L-트립토판을 유효성분으로 포함하는 축우용 사료첨가제 조성물 또는 사료를 축우에 급여하는 단계를 포함하는 축우의 온도 스트레스 저감 방법을 제공한다. 구체적으로, N-아세틸-L-트립토판을 유효성분으로 포함하는 비육우용 사료첨가제 조성물 또는 사료를 비육우에 급여하는 단계를 포함하는 비육우의 온도 스트레스 저감 방법을 제공한다.
- [0072] 또한, 본 출원의 축우의 온도 스트레스 저감 방법은 N-아세틸-L-트립토판 또는 이의 염을 포함하는 축우용 사료첨가제 조성물 또는 사료를 급여하는 단계를 포함할 수 있다.
- [0074] 본 출원의 또 다른 하나의 양태는 N-아세틸-L-트립토판을 유효성분으로 포함하는 축우용 사료첨가제 조성물 또는 사료를 축우에 급여하는 단계를 포함하는 축우의 일당증체량 증가 방법을 제공한다. 구체적으로, N-아세틸-L-트립토판을 유효성분으로 포함하는 비육우용 사료첨가제 조성물 또는 사료를 비육우에 급여하는 단계를 포함하는 비육우의 일당증체량 증가 방법을 제공한다.
- [0075] 또한, 본 출원의 축우의 일당증체량 증가 방법은 N-아세틸-L-트립토판 또는 이의 염을 축우에 급여하는 단계를 포함할 수 있다.
- [0077] 본 출원의 또 다른 하나의 양태는 N-아세틸-L-트립토판을 유효성분으로 포함하는 축우용 사료첨가제 조성물 또는 사료를 축우에 급여하는 단계를 포함하는 축우의 사료섭취량 증가 방법을 제공한다. 구체적으로, N-아세틸-L-트립토판을 유효성분으로 포함하는 비육우용 사료첨가제 조성물 또는 사료를 비육우에 급여하는 단계를 포함하는 비육우의 사료섭취량 증가 방법을 제공한다.
- [0078] 또한, 본 출원의 축우의 사료섭취량 증가 방법은 N-아세틸-L-트립토판 또는 이의 염을 축우에 급여하는 단계를 포함할 수 있다.
- [0080] 본 출원에서, N-아세틸-L-트립토판을 유효성분으로 포함하는 축우용 사료첨가제 조성물 또는 사료를 축우에 급여하는 단계를 포함하는 축우의 등심조직 내 지방대사 관련 단백질 발현 저감 방법을 제공할 수 있다. 구체적으로

로, N-아세틸-L-트립토판을 유효성분으로 포함하는 비육우용 사료첨가제 조성물 또는 사료를 비육우에 급여하는 단계를 포함하는 비육우의 등심조직 내 지방대사 관련 단백질 발현 저감 방법을 제공할 수 있다.

[0081] 또한, 본 출원의 축우의 등심조직 내 지방대사 관련 단백질 발현 저감 방법은 N-아세틸-L-트립토판 또는 이의 염을 포함하는 축우용 사료첨가제 조성물 또는 사료를 급여하는 단계를 포함할 수 있다.

[0083] 이때, 상기 "N-아세틸-L-트립토판", "비육우", "축우", "사료첨가제", "반추위-보호" 및 "사료"에 대한 설명은 전술한 바와 동일하다.

[0085] 상기 축우용 사료첨가제 조성물에 포함된 N-아세틸-L-트립토판의 함량은 전술한 바와 동일하다.

[0087] 상기 방법은 일반적인 사양관리 방법에 따라 급여될 수 있으며, 구체적으로 매일 일정한 시각에 급여될 수 있으나, 이에 제한되지 않는다. 또한, 급여량은 특별히 제한되지 않는다.

발명의 효과

[0089] 본 출원의 N-아세틸-L-트립토판(N-acetyl-L-tryptophan; NALT)은 축우의 온도 스트레스를 저감시키고, 일당증체량 및 사료섭취량을 증가시키므로, 사료첨가제 조성물 또는 사료에 유효성분으로 포함되어 유용하게 사용될 수 있다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0091] 이하, 하기 실시예에 의하여 본 출원을 더욱 상세하게 설명하고자 한다. 단, 하기 실시예는 본 출원을 예시하기 위한 것일 뿐 본 출원의 범위가 이들만으로 한정되는 것은 아니다.

[0093] N-아세틸-L-트립토판(NALT)을 축우, 예를 들어, 축우에 사료로 이용하였을 때의 효능에 대하여 저온 스트레스 환경 및 고온 스트레스 환경으로 나눠 확인하고자 한다.

[0095] 가. 저온 스트레스 환경에서의 MALT 효능 확인

[0097] 실시예 1. 실험동물, 실험사료 및 실험방법

[0099] 실시예 1-1. 실험동물의 사용

[0100] 본 출원은 평균 8.3 ± 0.72 개월령 거세 한우 총 8두를 선발하여 사용하였다.

[0101] 표 2에 나타난 바와 같이, 공시동물의 개시체중을 측정하여 그룹 간 통계의 유의적 차이를 나타내지 않도록 대조구(Control) 및 실험구(0.1% NALT) 당 4두씩 각각 배치하였다.

표 2

초기 체중 비교

[0103]

Treatments ¹		SEM ²	P-value
Control	0.1% NALT		

278.5	279.7	7.69	0.9505
-------	-------	------	--------

[0105] 실시예 1-2. 실험사료의 급여

[0106] 항생제가 포함되지 않는 완전배합사료(Total Mixed Ration, TMR; Nonghyup Feed Co., Ltd., Yangju-si, Korea)를 기초사료로 배급하였다. 기초사료를 -20℃에서 보관 후 기초사료 내 일반성분(수분, 조단백, 조지방, 조회분 등)과 아미노산(19종) 함량을 분석하였으며, 그 결과는 표 3에 나타난 바와 같다.

표 3

[0108] 기초사료의 일반성분 및 아미노산 성분

	TMR
Chemical composition, % of kg dry matter basis	
Dry matter	86.82
Crude protein	15.05
Ether extract	2.49
Crude fiber	25.90
Crude ash	6.75
Acid detergent fiber	32.87
Neutral detergent fiber	52.26
Amino acids, % of dry matter basis	
Tryptophan	0.09
Methionine	0.09
Niacin	0.00
Lysine	0.54
Aspartic acid	1.20
Threonine	0.48
Serine	0.57
glutamic acid	2.04
Glycine	0.61
Alanine	0.79
Valine	0.67
Isoleucine	0.47
Leucine	0.97
Tyrosine	0.29
Phenylalanine	0.55
Histidine	0.29
Arginine	0.71
Cystine	0.12
Proline	0.91

[0110] 실시예 1-3. 실험방법의 설계 및 통계

[0111] 개체별 개시체중의 통계적 분석을 통한 그룹화 작업 후, 1.0 x 1.5 m²의 개별 펜(Pen)에서 시험기간 동안 사육하였다. 사료 급여는 두당 일일 완전배합사료(TMR) 건물 급여량을 기준으로 7일간 N-아세틸-L-트립토판(NALT) 적응기를 거쳐, 0.1%의 N-아세틸-L-트립토판(NALT)을 완전배합사료와 혼합하여 이를 매일 오전 8시 개체별로 6주간 급여하였으며, 물은 자유섭취하도록 하였다. 상기 NALT의 급여를 통해 섭취된 총 L-트립토판의 함량은 대조구와 NALT처리구가 각각 7.37 및 16.26 g/day/head으로, 실험구인 NALT처리구가 대조구에 비해 8.89 g/day/head의 L-트립토판을 더 섭취하도록 실험을 진행하였다.

[0113] 한편, 성장 성적(체중 및 평균 사료섭취량) 및 등심조직 유전자 분석 결과는 대조구 대비 NALT 처리구의 유의적 차이를 통계적으로 비교 분석하였으며, 혈액성상 분석 결과는 NALT 처리 유무(Treatment)와 시험기간(Days) 및 교차(Interaction, Treatment x Days)을 통해 통계적으로 비교 분석하였다. 이들 수치값들은 평균값으로 표현하였고, JMP 5.0 software package(SAS Institute Inc., Cary, NC, USA)를 이용하여 Student's *t* test로 5% 수준에서 유의성 검정을 실시하였다.

[0115] **실시예 2. 온도 및 상대습도 분석**

[0116] 휴대용 온습도 측정기(MHT-381SD, Lutron Co., LTD., Taiwan)를 이용하여 1주간의 적응기와 6주간의 시험기의 온도(°C) 및 상대습도(%)를 매일 기록하였다. 총 시험기간 동안 기록한 온도 및 상대습도 자료를 가지고 1주일 간격으로 나누어 평균 온도 및 상대습도를 계산하였다.

[0117] 평균 온도 및 상대습도 변화는 표 4에 나타난 바와 같다. 적응기(D 0 - 6)의 평균온도는 4.3°C를 나타냈으며, 이후 시험기의 평균온도는 적응기와 비교하여 낮은 수준의 평균온도인 -6.2 내지 4.2°C를 나타냈다. 또한 시험기(D 7 - 48) 동안의 평균온도는 -1.0°C를 나타냈다.

표 4

[0119] 총 시험기간 동안의 평균 온도 및 평균 상대습도 변화

Period	Temp _{avg} , °C	SEM	RH _{avg} , %	SEM
D 0 - 6	4.3	1.48	69.9	5.75
D 7 - 13	-6.2	1.74	48.8	4.34
D 14- 20	-2.5	1.21	49.4	2.11
D 21 - 27	-3.5	1.05	45.0	1.32
D 28 - 34	0.3	1.16	50.8	4.45
D 35 - 41	2.3	1.27	50.3	4.79
D 42 - 48	4.2	0.36	55.7	5.59
D 7 - 48	-1.0	0.73	49.9	1.59

[0121] **실시예 3. 체중 분석**

[0122] 공시동물의 개시체중(0일), 중간체중(27일) 및 종료체중(48일), 즉 총 3회의 체중을 아침사료 급여 전에 측정하였다. 공시동물의 일당증체량(Average Daily Gain; ADG)은 중간체중 대비 개시체중과 종료체중 대비 중간체중 측정일의 생체중 차이를 시험일수로 각각 나눈 값으로 산출하였다.

[0123] 대조구 및 NALT 처리구의 체중 변화 분석 결과는 표 5에 나타난 바와 같다. 시험중간일(27일)과 시험종료일(48일)에 각각 공시동물의 체중변화를 측정된 결과, NALT 처리구의 총 체중 변화는 대조구의 총 체중 변화와 비교하여 통계적으로 유의한 차이가 나타나지 않았으나, 시험개시일(0일)로부터 시험중간일(27일)까지 및 시험중간일(27일)로부터 시험종료일(48일)까지의 일당증체량(ADG)을 비교한 결과, NALT 처리구의 일당증체량은 각각 0.753(p = 0.0301) 및 0.766(p = 0.0003)로 대조구(NALT 미첨가구)와 비교하여 통계적으로 유의한 차이를 나타냈다. 또한 동일 실험 기간에서의 사료요구율(Feed Conversion Rate; FCR)을 비교한 결과, 대조구와 NALT처리구는 각각 13.3(p=0.035) 및 4.82(p < 0.001)가 확인되었으며, 이는 NALT의 공급을 통해 사료 이용률이 개선된 것을 확인하였다. 이는 대조구 대비 NALT처리구의 사료요구율이 37%로, 63% 저감되어 개선된 것이다. (사료요구율은 평균 증체량을 사료 섭취량으로 나눈 값으로써, 낮은 수치의 사료요구율일수록 높은 사료 이용률을 의미함)

표 5

[0125] NALT 급여 유무에 따른 체중 변화

	Control	NALT	SEM	P-value
Day 0				
Body weight, kg	278.5	279.7	7.69	0.950
Day 27				
Body weight, kg	285.1	301.5	8.30	0.360
ADG, kg/day	0.224	0.753	0.130	0.030
Feed conversion ratio ⁵	44.4	13.3	13.25	0.035
Day 48				
Body weight, kg	290.9	315.7	4.72	0.194
ADG, kg/day	0.262	0.766	0.1	<0.001
Feed conversion ratio	13.03	4.82	1.18	<0.001

[0127] 실시예 4. 사료섭취량 분석

[0128] 공시동물 개체별로 매일 총 사료급여량과 잔량을 조사하여 사료섭취량을 산출하였다.

[0129] 대조구 및 NALT 처리구의 사료섭취량 변화 분석 결과는 표 6에 나타난 바와 같다. NALT 처리구의 적응기(D 0 - 6) 사료섭취량은 대조구의 적응기 사료섭취량과 비교 하여 통계적으로 유의한 차이(p = 0.0883)를 나타내지 않았다. 또한, NALT 처리구의 시험기 중 D 7 - 41의 사료섭취량은 대조구의 시험기 사료섭취량과 비교하여 통계적으로 유의한 차이를 나타내지 않았으나, NALT 처리구의 시험기중 D 42 - 48의 사료섭취량은 대조구의 시험기 사료섭취량과 비교하여 약 1.02 kg 증가하여 통계적으로 유의한 차이(p = 0.0384)를 나타냈다. 아울러, 시험기 전체(D 7 - 48)의 두당 평균 사료섭취량을 산출한 결과 NALT 처리구(9.86 kg/day/head)의 경우 대조구(9.43 kg/day/head)와 비교하여 약 4.6% 증가(p = 0.0119)하여 통계적으로 유의한 차이를 나타냈다.

표 6

[0131] NALT 급여 유무에 따른 사료섭취량 변화

Treatments ¹				
Period	Control	0.1% NALT	SEM ²	P-value
kg of feed intake				
D 0 - 6	8.93	8.56	0.108	0.0883
D 7 - 13	9.24	9.21	1.647	0.9483
D 14- 20	9.41	9.56	1.171	0.6232
D 21 - 27	9.60	9.68	1.200	0.7910
D 28 - 34	9.68	10.22	1.557	0.2013
D 35 - 41	9.15	10.02	1.743	0.0632
D 42 - 48	9.54	10.56	1.725	0.0384
D 7 - 48	9.43	9.86	1.533	0.0119

[0133] 실시예 5. 혈액성상 분석

[0134] 공시동물 개체별로 시험개시일(0주), 시험중간일(4주) 및 시험종료일(7주)에 사료 급여 전 목 경정맥에서 채혈 하여, 전혈튜브(Vacutainer, Becton Dickinson, Franklin Lakes, NJ, USA)에 옮겨 담았다. VetScan HM2(Abaxis, Union City, CA, USA) 분석기를 통해 혈액 샘플의 혈액성상을 분석하였다.

[0135] 대조구 및 NALT 처리구의 혈액성상 변화 분석 결과는 표 7에 나타난 바와 같다. 단핵구(Monocyte)를 제외한 모든 혈액성상 지표에서 대조구 및 NALT 처리구 사이에 통계적으로 유의한 차이를 나타내지 않았으며, 모든 수치

는 정상범위에 속해 있는 것으로 나타났다.

표 7

NALT 급여 유무에 따른 혈액성상 변화

	Treatments ¹						SEM ²	P-value		
	Control			0.1% NALT				treatment (T)	days (D)	T x D
	0 wks	4 wks	7 wks	0 wks	4 wks	7 wks				
WBC3	9.28	9.44	8.92	8.66	8.70	9.34	0.335	0.6815	0.9841	0.7830
LYM	6.07	6.25	5.26	5.55	6.55	5.98	0.234	0.7329	0.5086	0.3023
MON	0.24	0.24	0.23	0.10	0.06	0.08	0.043	0.0047	0.0002	0.0019
GRA	2.98	2.94	3.44	3.01	2.09	3.29	0.214	0.4665	0.3074	0.4322
RBC	10.33	9.97	9.00	10.70	10.34	10.08	0.266	0.2118	0.2050	0.6769
HGB	13.33	13.73	12.65	13.60	14.20	13.68	0.237	0.2449	0.9520	0.4339
HCT	34.57	34.12	31.66	35.00	34.64	33.88	0.584	0.3946	0.3787	0.7956
MCH	13.03	13.85	14.10	12.83	13.80	13.70	0.248	0.6806	0.2577	0.9625
PLT	398.5	455.8	367.5	378.0	476.8	379.5	15.389	0.8862	0.0360	0.8263

실시에 6. 등심조직의 조직 발달 관련 유전자 발현 분석

시험종료일(48일)에 공시동물 개체별 등심조직을 대동물용 생검 Biopsy gun (TNT Research Co., Ltd., Gyeonggi-do, Korea)으로 샘플링하여, 2 mL 튜브에 옮겨 담고 액체질소가스에 보관하였다. 각 조직 샘플에서 RNA를 추출한 후 실시간 PCR(real-time PCR) 분석을 통해 개체별 등심조직의 근육대사(MYF6, MyoD, Desmin) 및 지방대사(PPARr, CEBPa, FABP4) 관련 유전자 발현 수준을 분석하였다.

대조구 및 NALT 처리구의 등심조직의 조직 발달 관련 유전자 발현 수준 분석 결과는 표 8에 나타난 바와 같다. NALT 처리구의 등심조직 근육대사 관련 유전자들(MYF6, MyoD, Desmin)의 발현은 대조구의 등심조직 근육대사 관련 유전자들의 발현과 비교하여 통계적으로 유의한 차이를 나타내지 않았다. 그러나, NALT 처리구의 등심조직 지방대사 관련 유전자들(PPARr, CEBPa, FABP4)의 발현은 대조구의 등심조직 지방대사 관련 유전자들과 비교하여 낮은 수준을 나타냈다. 이는 NALT를 통해 추가로 공급된 트립토판이 저온환경에서 지방대사를 억제시킴으로써 기존 지방 대사에 필요한 에너지를 체내 항상성(체온, 등) 유지 및 개선시키는 방향으로 유도하는 효과가 있음을 의미하며, 이로 인해 일평균 증체량 및 사료 요구율이 개선된 것으로 판단된다.

표 8

NALT 급여 유무에 따른 등심조직 근육대사 및 지방대사 관련 유전자 발현 수준

	Treatments ¹		SEM ²	P-value
	Control	0.1% NALT		
PPARr	1.000	0.274	0.2302	< 0.000
CEBPa	1.000	0.293	0.2714	< 0.000
FABP4	1.000	0.233	0.2618	< 0.000
MYF6	1.000	0.834	0.1667	0.071
MyoD	1.000	0.857	0.1822	0.676
Desmin	1.000	0.871	0.1902	0.140

[0145] 나. 고온 스트레스 환경에서의 NALT 효능 확인

[0147] 실시예 1. 실험동물, 실험사료 및 실험방법

[0149] 실시예 1-1. 실험동물의 사용

[0150] 본 출원은 평균 15.9 ± 0.16 개월령 거세 한우 총 8두를 선발하여 사용하였다. 실험 절차는 건국대학교 동물 관리 및 이용 위원회(Institutional Animal Care and Use Committee at Konkuk University)로부터 승인받았다 (KU17136).

[0151] 표 9에 나타난 바와 같이, 공시동물의 개시체중을 측정하여 그룹 간 통계의 유의적 차이를 나타내지 않도록 대조구(Control) 및 실험구(0.1% NALT) 당 4두씩 각각 배치하였다.

표 9

초기 체중 비교

[0153]

Treatments		SEM	P-value
Control	0.1% NALT		
420.5	428.8	14.91	0.8058

[0155] 실시예 1-2. 실험사료의 급여

[0156] 항생제가 포함되지 않는 완전배합사료(Total Mixed Ration, TMR; Nonghyup Feed Co., Ltd., Yangju-si, Korea)를 기초사료로 배급하였다. 기초사료를 -20℃에서 보관 후 기초사료 내 일반성분(수분, 조단백, 조지방, 조회분 등)과 아미노산(19종) 함량을 분석하였으며, 그 결과는 표 3에 나타난 바와 같다.

[0158] 실시예 1-3. 실험방법의 설계 및 통계

[0159] 개체별 개시체중의 통계적 분석을 통한 그룹화 작업 후, 1.0 x 1.5 m²의 개별 펜(Pen)에서 시험기간 동안 사육하였다. 사료 급여는 두당 일일 완전배합사료(TMR) 건물 급여량을 기준으로 7일간 N-아세틸-L-트립토판(NALT) 적응기를 거쳐, 0.1%의 N-아세틸-L-트립토판(NALT)을 완전배합사료와 혼합하여 이를 매일 오전 8시 개체별로 6주간 급여하였으며, 물은 자유섭취하도록 하였다. 상기 NALT의 급여를 통해 섭취된 총 L-트립토판의 함량은 대조구와 실험구(NALT처리구)가 각각 6.0 및 18.2 g/day/head으로 대조구에 비해 NALT처리구가 12.2 g/day/head의 L-트립토판을 더 섭취하도록 실험을 진행하였다.

[0161] 한편, 성장 성적(체중 및 평균 사료섭취량) 및 등심조직 유전자 분석 결과는 대조구 대비 NALT 처리구의 유의적 차이를 통계적으로 비교 분석하였으며, 혈액성상 분석 결과는 NALT 처리 유무(Treatment)와 시험기간(Days) 및 교차(Interaction, Treatment x Days)을 통해 통계적으로 비교 분석하였다. 이들 수치값들은 평균값으로 표현하였고, JMP 5.0 software package(SAS Institute Inc., Cary, NC, USA)를 이용하여 Student's *t* test로 5% 수준에서 유의성 검정을 실시하였다.

[0163] 실시예 2. 온도 및 상대습도 분석

[0164] 휴대용 온습도 측정기(MHT-381SD, Lutron Co., LTD., Taiwan)를 이용하여 1주간의 적응기와 6주간의 시험기의 온도(℃) 및 상대습도(%)를 매일 기록하였다. 총 시험기간 동안 기록한 온도 및 상대습도 자료를 가지고 1주일 간격으로 나누어 평균 온도 및 상대습도를 계산하였다. 또한, 다음과 같은 식을 이용하여 온도와 습도를 이용한

온습도지수(Temperature-Humidity index; THI)를 계산하였으며, 상기 온습도지수는 열부하(heat load)의 지표 형질로 이용하면 고온스트레스 상태의 진단이 가능하다.

[0165] $THI=(1.8 \times T+32)-[0.55-0.0055 \times RH] \times (1.8 \times T-26.8)$

[0166] 이때, T는 해당 지역의 검정일 최고온도(°C)를, RH는 해당지역의 검정일 평균상대습도(%)를 의미한다.

[0167] 평균 온도, 최고 온도, 상대습도 및 온습도지수 변화는 표 10에 나타난 바와 같다. 초기 3주간 THI는 평균 80 이상을 나타냈으며, 이후 4주간 THI는 고온 스트레스 기준 지표인 72 이상을 나타냈다.

표 10

[0169] 총 시험기간 동안의 평균 온도, 최고 온도, 평균 상대습도 및 온습도지수

Period	Temp _{avg} , °C	Temp _{max} , °C	RH _{avg} , %	THI
Day 0	34.6	45.3	62.5	85.0
1 주	32.8	41.7	62.0	84.8
2 주	41.3	58.4	54.1	84.3
3 주	30.3	42.4	59.8	80.3
4 주	29.6	40.1	64.9	77.8
5 주	29.5	37.7	71.1	76.6
6 주	22.4	32.2	59.9	72.1
7 주	21.8	30.7	65.6	72.2
8 주	20.7	30.7	63.7	68.3
9 주	19.1	29.6	62.7	65.3
10 주	16.8	24.7	65.9	62.0
평균	27.1	37.6	62.9	75.3

[0171] 실시예 3. 체중 분석

[0172] 공시동물의 개시체중(0주), 중간체중(5주) 및 종료체중(10주), 즉 총 3회의 체중을 아침사료 급여 전에 측정하였다. 공시동물의 일당증체량 (Average Daily Gain; ADG)은 중간체중 대비 개시체중과 종료체중 대비 중간체중 측정일의 생체중 차이를 시험일수로 각각 나눈 값으로 산출하였다.

[0173] 대조구 및 NALT 처리구의 체중 변화 분석 결과는 표 11에 나타난 바와 같다. 시험중간일(5주)과 시험종료일(10주)에 각각 공시동물의 체중변화를 측정된 결과, 대조구와 비교하여 NALT 처리구에서 증체 효과가 나타났다. 특히, THI 지수가 80 수준, 즉 고온 스트레스가 높은 기간 동안에 NALT 처리구의 일당증체량은 대조구의 일당증체량과 비교하여 현저히 증가하였다.

표 11

[0175] NALT 급여 유무에 따른 체중 변화

	Treatments		SEM
	Control	0.1% NALT	
0 wks, kg	420.5	428.8	14.91
5 wks, kg	457.0	480.8	18.84
ADG, kg/days	1.04	1.49	0.19
10 wks, kg	493.8	510.5	17.93
ADG, kg/days	1.05	0.85	0.05
Total ADG, kg/d	1.05	1.17	0.12

[0177] 실시예 4. 사료섭취량 및 음수섭취량 분석

[0178] 공시동물 개체별로 매일 총 사료급여량과 잔량을 조사하여 사료섭취량을 산출하였으며, 총 음수급여량과 잔량을 조사하여 음수섭취량을 산출하였다. 또한 사료 잔량을 Pen 단위로 측정하였으므로 Pen 당 2마리씩 있어 개체 별 데이터를 산출하기 위해 $DMI/BW \% = 1.2425 + 1.9218 \times NEm - 0.7259 \times (NEm)^2$ 계산한 뒤에 본 실험에 실질적 데이터로 보정을 하였다. 대조구 및 NALT 처리구의 사료섭취량 및 음수섭취량 변화 분석 결과는 표 12에 나타난 바와 같다. 총 시험기간 동안 사료섭취량은 대조구의 경우 평균 13.38 kg/d, NALT 처리구의 경우 평균 13.62 kg/d로 통계적으로 유의한 차이를 나타내지 않았다. 그러나, THI 80 이상에서는 NALT 처리구의 사료섭취량이 대조구의 사료섭취량과 비교하여 8kg(6.23%) 증가하여 유의미하게 증가하였다. 반면, 음수섭취량의 경우 THI의 조건과 상관 없이 NALT 처리구의 경우 통계적으로 유의하게 감소한 결과를 나타냈다. 이로부터, NALT를 섭취한 축우의 경우, 고온의 환경에서도 음수 섭취량이 증가하지 않으면서, 사료섭취량이 저하되지 않고 대조구대비 증가될 수 있음을 해석할 수 있다.

표 12

[0180] NALT 급여 유무에 따른 사료섭취량 및 음수섭취량 변화(THI 80 기준)

THI _{avg} > 80		SEM	p-value	THI _{avg} < 80		SEM	P-value
대조구	0.1% NALT			대조구	0.1% NALT		
사료 섭취량 (kg)							
12.7	13.5	0.33	0.0096	13.8	13.7	0.2	0.6240
음수 섭취량, kg							
55.0	44.6	2.15	<0.0001	47.1	35.3	1.73	<0.0001

[0182] 실시예 5. 혈액 분석

[0183] 공시동물 개체별로 시험개시일(0주), 시험중간일(5주) 및 시험종료일(10주)에 사료급여 전 공시동물 개체별 목경정맥에서 채혈 후 전혈튜브(Vacutainer, Becton Dickinson, Franklin Lakes, NJ, USA)에 보관하였다. 전혈을 이용하여 VetScan HM2(Abaxis, Union City, CA, USA) 분석기를 통해 전혈구 검사(CBC)를 분석하였으며, 혈청을 대상으로 biochemical autoanalyzer, FUJI DRI-CHEM 7000(Fujifilm, Tokyo, Japan)을 이용하여 혈액 성상을 확인하였다. 또한 혈액 단백질 대사와 관련된 총 단백질(TP), 알부민(ALB), 크레아티닌 포스포키나아제(CPK)와 혈청 요소 질소(BUN)를 분석하였고, 에너지 대사와 관련된 중성지방(TG)과 비에스테르화 지방산(NEFA)을 분석하였으며, 혈액 내 전해질인 나트륨(Na), 염소(Cl), 칼륨(K)을 분석하였다.

[0185] 대조구 및 NALT 처리구의 전혈구 분석은 다음과 같다(표 13). 모든 전혈구 검사 지표에서 0.1% NALT 처리에 의한 유의적인 차이를 보이지 않았으며, RBC, HGB, MCV, MCH, GRA은 샘플링 일자에 따른 유의적 차이를 보였으나, 모든 혈액성상 지표 수치는 정상범위에 속해 있는 것으로 확인되었다.

표 13

[0187] NALT 급여 유무에 따른 전혈구 분석

items	Treatments						SEM	P-value		
	Control			0.1% NALT			SEM ²	P-value		
	D0	D35	D70	D0	D35	D70	SEM ²	TRT (T)	days (D)	T x D
RBC (5.0-10.0, 106/μL)	7.92	9.25	8.71	9.13	8.04	8.83	0.42	0.216	0.019	0.112
HGB (8.0-15.0, g/dL)	12.4	14.0	13.2	13.4	11.7	13.8	0.38	0.025	0.002	0.058

MCV (40-60, fL)	42.8	41.3	42.0	38.8	40.0	42.5	2.07	0.826	<0.001	0.564
MCHC (30-36, g/dL)	36.7	37.1	36.5	38.3	37.1	37.1	0.55	0.209	0.504	0.668
HCT (23-33, %)	8.10	6.80	6.98	6.95	6.58	9.80	6.46	0.298	0.053	0.372
MCH (14-18, pg)	15.7	15.3	15.3	14.8	14.7	15.7	0.71	0.994	0.026	0.873
RDW (16-20, %)	24.5	23.0	23.5	23.6	22.7	23.6	0.71	0.892	0.135	0.248
PLT (100-800, 103/ μ L)	302	436	413	332	371	196	47.6	0.362	0.053	0.501
MPV (4.5-7.6, fL)	8.10	6.80	6.98	6.95	6.58	9.80	6.46	0.298	0.053	0.372
PCT (0.15-0.40, %)	0.25	0.31	0.29	0.24	0.24	0.24	0.06	0.988	0.194	0.933
PDW (56-80, %)	36.2	34.2	32.4	34.1	31.5	29.5	2.26	0.730	0.812	0.352
WBC (4.0-12.0, 103/ μ L)	9.76	10.4	11.3	9.60	9.74	9.38	0.98	0.732	0.175	0.815
LYM(2.5-7.5, 103/ μ L)	4.80	6.56	6.29	6.08	5.67	4.91	0.69	0.742	0.145	0.946
MON (0-0.84, 103/ μ L)	0.58	0.43	0.83	0.22	0.46	0.81	0.21	0.575	0.323	0.259
GRA(0-2.4, 103/ μ L)	4.38	3.37	4.20	3.16	3.61	3.66	0.66	0.450	0.008	0.167

[0189] 대조구 및 NALT 처리구의 혈액성상 변화 분석 결과는 다음과 같다(표 14). 분석 결과 모든 혈액성상 지표 결과에서 0.1% NALT 처리에 의한 유의적인 차이를 보이지 않았으며, TP, ALB, BUN, GLU, Na, Cl은 다음과 같다.

표 14

[0191] NALT 급여 유무에 따른 혈액 성상 분석

items	Treatments						SEM	P-value		
	Control			0.1% NALT			SEM ²	P-value		
	D0	D35	D70	D0	D35	D70	SEM ²	TRT (T)	days (D)	T x D
TP	6.0	6.4	6.2	6.1	6.5	6.3	0.13	0.558	0.010	0.852
ALB	3.1	3.3	3.4	3.3	3.6	3.5	0.10	0.224	<0.001	0.330
GLO	2.9	3.1	2.9	2.8	2.9	2.9	0.07	0.319	0.129	0.471
CPK	150	144	189	112	267	276	60.9	0.264	0.075	0.163
BUN	18.2	19.0	21.7	16.7	19.8	18.5	1.08	0.421	0.006	0.031
GLU	49.5	42.8	52.6	49.6	39.1	56.3	2.29	0.928	0.009	0.356
NEFA	178	177	137	139	167	168	12.6	0.684	0.387	0.019
TG	21.0	18.5	22.4	25.5	19.1	22.1	4.15	0.721	0.383	0.893
Na	141.4	141.4	141.5	141.3	142.6	141.1	0.31	0.598	0.029	0.027
K	4.7	4.5	4.7	4.7	4.8	4.9	0.16	0.321	0.482	0.710
Cl	102.5	100.1	102.8	102.3	101.4	103.0	0.43	0.458	0.009	0.290

[0192] TP : Total protein; ALB : Albumin; GLO : globulin (= TP-ALB); CPK : ; BUN: blood urea nitrogen; GLU : glucose; NEFA : nonester fatty acid; TG: triglyceride; Na: sodium; K : potassium; Cl : Chlorine

[0194] 실시예 6. 등심조직의 조직 발달 관련 유전자 발현 분석

[0195] 시험종료일(10주)에 공시동물 개체별 등심조직을 채취하였다. 대동물용 생체검사기(TNT Research Co., Ltd., Gyeonggi-do, Republic of Korea)를 이용하여 등심 조직을 샘플링 후 2 mL 튜브에 옮겨 담은 후 액체 질소가스

에 보관하였다. 각 조직 샘플에서 RNA를 추출한 후 실시간 PCR 분석을 통해 개체별 등심조직의 지방(PPAR α , CEBP α , FABP4, LPL, SCD) 및 근육 분화 관련 유전자(MYF6, MyoD, MyoG) 발현을 분석하였다. Total RNA는 TRIzol RNA 분리법을 이용하였으며, RNA의 양은 NanoDrop 1000(Thermo Scientific, Seoul, Republic of Korea)을 이용하여 측정하였다. RNA의 품질은 RNA Nano 6000 Assay Kit를 사용하여 Agilent Bioanalyzer 2100 system(Agilent Technologies, Richardson, USA)을 이용하여 RNA integrity number (RIN)의 값이 6.5 \pm 0.27로 측정되었으며, mRNA를 cDNA로 합성 후 Real time PCR을 이용하여 유전자 발현량을 측정하였다.

[0196] 대조구 및 NALT 처리구의 등심조직의 조직 발달 관련 유전자 발현 수준 분석 결과는 다음과 같다(표 15). 0.1% NALT 처리구의 근육 분화 관련 유전자(MyoD)와 지방분화 관련 유전자(C/EBP α , PPAR γ)의 발현은 대조구 대비 통계적으로 유의적 차이를 보이지 않았다($P > 0.05$). 하지만, 0.1% NALT 처리구의 등심조직 내 근육 분화 관련 유전자(MYF6, MyoG)와 지방 분해 및 운송 관련 유전자들(FABP4, LPL)의 발현은 대조구와 비교하여 높은 수준을 나타내는 것으로 보이며($P > 0.05$), 유전자 SCD의 발현량은 0.1% NALT 처리구에서 대조구보다 높은 발현의 경향을 보였다. 이는 NALT 첨가로 인해 고온 환경에서 지방 분해과정이 촉진됨과 동시에 분해된 지방을 운송하는 대사가 촉진되고 근육과 관련된 유전자들이 발달하였기 때문에 일평균 증체량이 증가(표 11)한 것으로 판단된다.

표 15

[0198] ALT 급여 유무에 따른 등심조직 근육대사 및 지방대사 관련 유전자 발현 수준

Gene	Treatments		SEM	P-value
	Control	0.1% NALT	SEM ²	P-value
C/EBP α	1.00000	0.80533	0.185	0.279
FABP4	1.00000	1.50083	0.227	0.031
LPL	1.00000	1.77365	0.177	0.014
MyoD	1.00000	1.04500	0.189	0.229
MYF6	1.00000	1.09295	0.175	0.006
MyoG	1.00000	2.08629	0.311	<0.001
PPAR γ	1.00000	1.30108	0.359	0.199
SCD	1.00000	1.44823	0.233	0.086

[0200] 이상의 설명으로부터, 본 출원이 속하는 기술분야의 당업자는 본 출원이 그 기술적 사상이나 필수적 특징을 변경하지 않고서 다른 구체적인 형태로 실시될 수 있다는 것을 이해할 수 있을 것이다. 이와 관련하여, 이상에서 기술한 실시예들은 모든 면에서 예시적인 것이며 한정적인 것이 아닌 것으로서 이해해야만 한다. 본 출원의 범위는 상기 상세한 설명보다는 후술하는 특허 청구범위의 의미 및 범위 그리고 그 등가 개념으로부터 도출되는 모든 변경 또는 변형된 형태가 본 출원의 범위에 포함되는 것으로 해석되어야 한다.