

In Vitro에 의한 硫黃被覆尿素와 Diuredio Isobutane의 利用效果 判定

李浩一 · 李宰求 · 崔仁赫

全北大學校 農科大學

緒 論

著者 등은 現在 市販되고 있는 제올라이트 尿素合劑에 의하여 飼料利用效果가 增進되지 않음을 *in vivo* 試驗^{8,9)}에서 그리고 제올라이트에 1~5%에 該當되는 尿素를 添加하여야 비로소 效果가 增進됨은 *in vitro* 試驗⁷⁾에 의하여 確認한바 있다.

結局 1~5% 尿素添加 제올라이트 合劑에는 莫大한 量의 제올라이트가 含有되어야 하므로 反芻獸에 實用化될 수 없다는 것이 確實하다. 따라서 著者 등은 飼料利用效果가 높은 尿素添加劑를 開發하기 위하여 植物에 使用되는 緩効性 肥料인 硫黃被覆尿素⁴⁾와 diuredio isobutane⁵⁾에 대한 NH₃-N의 發生實驗을 *in vitro*에서 實施하였다.

材料 및 方法

供試動物: 全北大學校 附屬動物飼育場에서 飼育하고 있는 20個月齡 體重 551kg의 Holstein種 牝牛 1頭를 使用하였다.

飼料: 前報⁷⁾에서와 같은 方法으로 飼料를 給與하였다.

尿素: 前報⁷⁾에서와 같음.

硫黃被覆尿素(sulfur coated urea: SCU): 美國 Tennessee Valley Authority社⁴⁾로서 硫黃으로 尿素를 被覆(尿素 70%, 硫黃 27%, 왁스 3%)한 것을 使用하였다.

diuredio isobutane (DUIB): 窒素 32.18%를 含有한 尿素誘導體(日本 Mitsubishi化成株式會社)⁵⁾를 使用하였다.

胃液採取: 前報⁷⁾와 같음.

第一胃 內容液의 人工培養: 500ml의 廣口瓶에 300ml의 胃內容液을 넣어 Table 1과 같이 4個區로 區分, 1個區當 3回反復 實驗을 實施하였다. 各 培養瓶에 포도당, 질분, 요소 SCU 및 DUIB를 Table 1에서와 같이 添加

한 후 N₂와 CO₂가스를 95:5의 比率로 注入하여 39°C 恒溫器內에서 前報⁷⁾에서와 같은 方法으로 培養하였다.

培地의 pH值 測定: 前報⁷⁾에서와 같음.

NH₃-N值 測定: 前報⁷⁾에서와 같이 測定하여 標準直線 $Y = 0.0267x - 0.00456$ 을 얻었다.

纖毛虫數: 前報⁷⁾에서와 같이 李의 方法⁶⁾에 準하였다.

纖毛虫의 活性度: 5ml程度의 培養液을 비이커에 取하여 立體顯微鏡으로 觀察하여 2/3의 運動性 卍, 1/2은 卍, 1/3은 + 表示하였다.

結果 및 考察

培養液의 pH: 培養前과 培養 9時間後의 pH變化는 Table 2에서와 같다. 培養前에 比하여 培養 9時間後에 있어서 尿素를 전혀 添加하지 않은 Control I은 尿素로부터 由來한 암모니아 發生이 전혀 없으므로 pH가 가장 많이 低下된데 反하여 尿素를 添加한 Control II는 거의 變化를 관찰할 수 없었으며 SCU區와 DUIB區는 NH₃-N가 서서히 發生되므로 pH가 약간 低下되는 傾向이었다.

纖毛虫의 活性度: 培養前과 培養 9時間後의 纖毛虫 活性度を 觀察한 바 全區에서 卍로서 활발한 運動性을 보였다.

纖毛虫數: 1ml當 纖毛虫數는 Table 3에 表示한 바와 같이 培養前에 比하여 培養 9時間後에 모든 實驗區에서 약간 增加하는 傾向이었다.

培養液의 NH₃-N值: 培地內에 發生한 NH₃-N值의 經時的 變化는 Fig. 1 및 2에서와 같다. 尿素를 添加하지 않은 Control I에서는 培養前에 418μg/ml이었던 것이 時間이 經過해도 거의 變化하지 않고 培養 9時間後에도 458μg/ml이었는데, 尿素만을 添加한 Control II에서는 培養 30分後에 1,314μg/ml까지 올라가 그 후부터 9時間까지 繼續的으로 그 水準을 維持하고 있었다.

그리고 DUIB를 添加한 實驗區에서는 培養 30分後에

Table 1. Amount of Nutrient, Urea, Sulfur Coated Urea and DUIB Added to Fermenter (300ml)

Group	Nutrient (g)				
	Dextrose	Starch	Urea	DUIB*	Sulfur Coated Urea**
Control I	0.2	0.2			
Control II	0.2	0.2	0.162		
DUIB	0.2	0.2		0.232	
SCU	0.2	0.2			0.232

* Equivalent to 0.162g urea in nitrogen amount

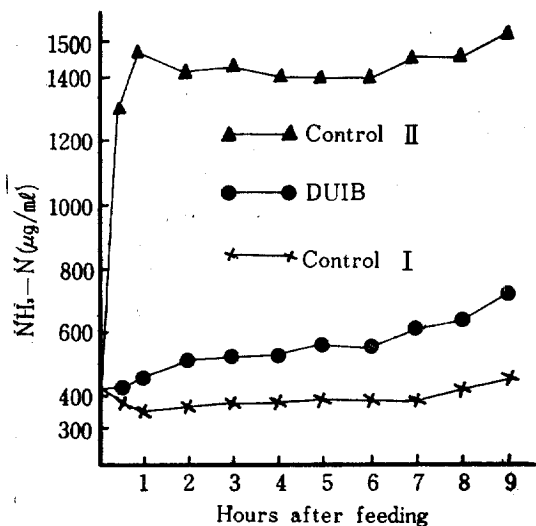
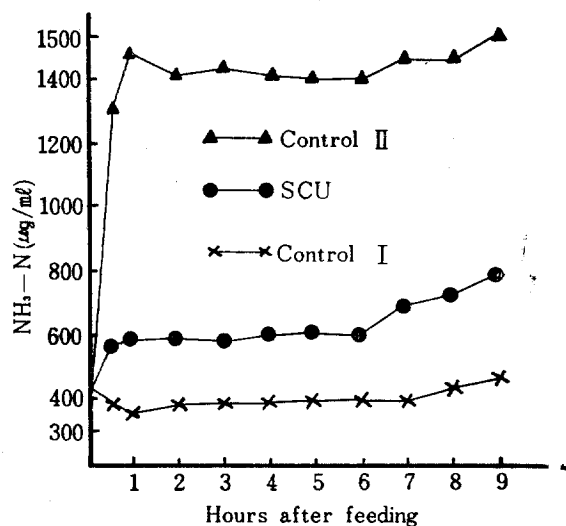
** Containing 70% urea (0.162g)

Table 2. Changes of pH in the Ruminal Juice

Replication	Before incubation	Nine hours after incubation			
		Control I	Control II	DUIB	SCU
1st Experiment	7.35	7.10	7.34	7.18	7.20
2nd Experiment	7.30	7.00	7.20	7.20	7.05
3rd Experiment	7.30	7.00	7.20	7.00	7.00
Mean±SE	7.32±0.017	7.03±0.034	7.25±0.047	7.13±0.064	7.08±0.060

Table 3. Changes of the Number of Ruminal Ciliates (per ml)

Before incubation	119,467±2,947 (Mean±SE)	
Nine hours after incubation	Control I	136,133±3,428
	Control II	171,700±24,279
	SCU	146,167±1,490
	DUIB	183,500±1,550

**Fig. 1.** Change of mean value of NH₃-N in ruminal juice (control I, control II and DUIB).**Fig. 2.** Change of mean value of NH₃-N in ruminal juice (control I, control II and SCU).

431 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 이었던 것이 시간이 경과함에 따라 그 값도 점점 증가하여 9시간 후에는 627 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 까지 이르렀으며, SCU를添加한 實驗區에서도 培養 30分後에 569 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 로 증가하여 시간이 경과함에 따라 점점 증가하여 9시간 후에는 792 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 에 이르렀다.

房 및 全⁵⁾은 韓國在來山羊에 대한 *in vivo*試驗에서 DUIB와 尿素를 投與하여 第一胃 內容液의 $\text{HN}_3\text{-N}$ 值를 測定한 바 投與 1時間後에 高度로 增加하여 시간이 經過함에 따라 점점 그 값이 低下되었다고 報告하였는데 本 實驗結果와는 相異하다. 이는 *in vivo*에서는 尿素로부터 發生된 $\text{NH}_3\text{-N}$ 가 胃壁의 乳頭에 의하여 血液內로 吸收되기 때문인데 *in vitro*에서는 吸收機轉이 없으므로 漸進적인 增加趨勢를 나타낸 것으로 생각된다.

本 實驗의 Control II에서는 尿素탄을 添加하였기 때문에 培養 30分後에 $\text{NH}_3\text{-N}$ 가 高度로 上昇하였는데 反하여 DUIB와 SCU 處置區에서는 尿素가 培養基內의 urease에 의하여 서서히 암모니아로 分解되기 때문에 서서히 약간 增加되었다고 생각된다.

Goto 등¹⁾은 DUIB와 蛋白質源으로 大豆粕을 投與한 山羊에서 窒素化合物値는 差異點을 認定할 수 없었다고 하였으며, Goto 등²⁾은 山羊에 乾草와 DUIB를 蛋白質 代置飼料로서 投與하여 穀類와 大豆粕을 投與한 對照群과 比較한 바 體重增加에 差異가 없었다고 報告하였다. Takahashi 및 Goto³⁾는 蛋白質飼料를 DUIB로 代置했던 바 纖毛虫의 增殖에 異常이 없었다고 하였으며, 그 밖에 DUIB에 대한 飼料利用效率에 관한 試驗結果는 많으나¹⁰⁻¹²⁾ SCU에 대한 試驗報告는 전혀 없다.

따라서 *in vivo*試驗과 中毒實驗을 거쳐서 判定을 내려야 하겠지만 第一胃內의 性狀診斷에 指標微生物인 纖毛虫이 培養前에 比하여 培養 9時間後에 있어서 그 活力이 卽ち 正常이었을 뿐만 아니라 그 수도 增加하였고 DUIB區보다 SCU區가 높은 $\text{NH}_3\text{-N}$ 를 生成하였기 때문에 前者보다도 後者が 飼料利用 效果面으로 良好할 것으로 생각된다.

結 論

飼料利用效果가 높은 非蛋白態窒素化合物을 開發하기 위하여 SCU와 DUIB를 使用한 *in vitro*實驗을 통하여 얻은 結果를 要約하면 다음과 같다.

1. 培養液의 pH는 SCU와 DUIB區에서 培養前에 比하여 培養 9時間後에 약간 低下되는 傾向이었으나 尿素處置區는 거의 變化하지 않았다.
2. 培養液의 纖毛虫數는 培養前에 比하여 培養 9時間後에 全實驗區에서 약간 增加하는 傾向이었다.
3. DUIB處置區의 $\text{NH}_3\text{-N}$ 值는 培養前에 418 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 이

었으나, 培養 30分後에 431 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 이었고 시간이 經過함에 따라 점점 增加하여 9時間後에는 627 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 에 이르렀다. SCU處置區의 $\text{NH}_3\text{-N}$ 值는 培養前에 역시 418 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 이었던 것이 培養 30分後에는 569 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 이었고 시간이 經過함에 따라 점점 增加하여 9時間後에는 792 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 에 이르렀다.

參 考 文 獻

1. Goto, M., Okamoto, K. and Takahashi, N.: On the conversion of nitrogenous compound and the formation of amino acid and protein in the rumen of the goat fed with the protein-free diet containing 1,1-Diuredio isobutane. Bull. Faculty Agr. Meiji Univ. (1973) 30 : 7.
2. Goto, M., Okamoto, K., Kawamura, S. and Takahashi, N.: On the formation of vitamin B group and the amino acid pattern of microbial protein in the rumen of the goat given the protein-free-diet containing uredio compound and hay. Bull. Faculty Agr. Meiji Univ. (1975) 33 : 7.
3. Takahashi, N. and Goto, M.: Influence of phytosterol of the grass on the biochemical action of the rumen microorganisms. Bull. Faculty Agr. Meiji Univ. (1973) 31 : 1.
4. 權恒光, 李薰, 朴英善: IR 667의 收量 및 窒素吸收에 미치는 緩効性 窒素肥種別 效果. 韓國土壤肥料學會誌. (1973) 6 : 213.
5. 房極勝, 全榮吉: 新蛋白質飼料의 開發 및 利用效率에 관한 研究. I. 在來山羊에 有用한 非蛋白態窒素의 開發에 관한 研究. 東亞大學校 石堂論叢. (1977) 2 : 263.
6. 李宰求: 韓牛의 第一胃內에 棲息하는 纖毛虫類出現率의 季節的 變化에 관한 研究. 全北大學校 農大論文集. (1975) 6 : 51.
7. 李宰求, 李浩一: *In vitro*에 의한 제올라이트 尿素合劑의 飼料效率判定. 大韓獸醫學會誌. (1981) 21 : 117.
8. 李宰求, 李浩一, 李相福: *In vivo*에 의한 제올라이트 尿素合劑의 飼料效率判定. 全北大學校 農大論文集 (1981) 12 : 88.
9. 李宰求, 李浩一, 李相福. 白秉杰: 飼料給與後 時間經過에 따른 糞소의 第一胃內 纖毛類의 動態. 大韓獸醫學會誌. (1979) 19 : 143

10. 後藤正幸, 春日政夫, 高橋豊三郎, 高橋直身: ウレイド添加無蛋白合成飼料給與山羊の泌乳ならびに乳汁中の蛋白質量とそのアミノ酸組成について. 明治大學農學部 研究報告. (1976) 35:1
11. 上世田一夫: 據點農場が實施したダイブ給與の事例. 技術と普及. (1973) 73(1):52.
12. 小丸孝也, 渡邊實, 早川秀輝, 宇佐見登: 開放追込方式による若令肥育に関する試験(非蛋白態窒素 DUIB給與について). 試験成績報告. (1974) 47:1

An Estimation on the Efficiency of Utilization of Sulfur Coated Urea and Diuredio Isobutane *in Vitro*

Ho-Il Lee, D. V. M., M. S., Ph. D., Jae-Ku Rhee, D. V. M., M. S., Ph. D. and In-Hyuk Choi, D. V. M., M. S.

Department of Veterinary Medicine, College of Agriculture, Jeonbug National University

Abstract

In order to explore more efficient protein substitutes by improving the utilization of non-protein nitrogen compounds in ruminants, the experiment was undertaken. The effects of sulfur coated urea (SCU) and diuredio isobutane (DUIB) in the ruminal fluid on the concentration of $\text{NH}_3\text{-N}$, the total count of the ruminal ciliates and pH value were estimated *in vitro*.

The results obtained from the experiment were as follows:

1. The pH of the media of the group added diuredio isobutane and sulfur coated urea tends to decrease slightly at 9 hours after the incubation, but no pH changes were observed in the media added urea alone.
2. The number of the ciliates in the ruminal fluid was slightly increased 9 hours after the incubation in all groups.
3. The concentrations of $\text{NH}_3\text{-N}$ in the ruminal fluid were gradually increased according to the incubation *in vitro* showing 418, 431 and 627 $\mu\text{g/ml}$ in the group added diuredio isobutane and 428, 569 and 792 $\mu\text{g/ml}$ in the group added sulfur coated urea at 0, 0.5 and 9 hours after the incubation, respectively.