

## 호밀 건초 급여하의 By-pass 전지종실을 첨가한 알코올 발효사료의 *in vitro* 발효특성

신종서 · 박병기\* · 오진석 · 김병완 · 홍병주

### Effects of Supplementing Whole Oilseeds to Alcohol-Fermented Feedstuff Based on Rye Hay on *in vitro* Rumen Fermentation Characteristics

Jong Seo Shin, Byoung Ki Park\*, Jin Seok Oh, Byong Wan Kim and Byong Ju Hong

#### ABSTRACT

This study was conducted to determine the effects of supplementing whole oilseeds to the alcohol fermented feedstuff based on rye hay on *in vitro* rumen fermentation of Hanwoo steers. Experiments were arranged with four treatment groups, T1 (without any oilseeds), T2 (supplemented with cottonseed), T3 (supplemented with linseed) and T4 (supplemented with soybean). The pH decreased at 6 and 12h *in vitro* incubation in T2 and at 3 and 12h *in vitro* incubation in T4 ( $p<0.05$ ). However, no decrease of the pH was observed at any *in vitro* incubation in T3 ( $p>0.05$ ). Ammonia concentration increased at 6h *in vitro* incubation in T2 and at 6 and 9 h *in vitro* incubation in T4 ( $p<0.05$ ). Concentrations of acetate, butyrate and propionate increased at 3, 9 and 12h *in vitro* incubation in T4 and at 3h *in vitro* incubation in T3 ( $p<0.05$ ). This study indicates that the supplementation of whole oilseeds to alcohol fermented feedstuff based on rye hay can improve the *in vitro* rumen fermentation.

(Key words : Whole oilseeds, Rye hay, Alcohol-fermented feedstuff)

#### I. 서 론

우리나라는 한우와 젖소의 조사료 급여원으로 사료가치가 낮은 벗짚을 가장 많이 이용하고 있는 실정이다. 최근 축산산업은 국내에서 생산할 수 있는 벗짚 대치용 조사료 생산에 관심을 가지고 있다. 또한 국가적으로 국토의 효율성을 높이고 축산농가의 조사료 수급의 어려움을 해결하고자 경작지, 휴농지 및 유휴지 등

에 반추가축용 양질의 조사료 생산을 장려하고 있으며, 현재 많은 농가에서 총체보리와 호밀을 생산하여 이용하고 있다. 특히, 강원도는 지리적 여건상 호밀을 휴농지 또는 유휴지 등에 경작하고 있으며, 매년 호밀 건초 및 사일리지 생산량이 증가하고 있다. 현재 이렇게 생산된 호밀은 벗짚대신 젖소 및 한우의 조사료 공급 원으로 활용되고 있다.

한편, 산업 부산물과 단미사료(옥수수)를 이

이 연구는 강원대학교 학술연구조성비로 연구하였음.

강원대학교 동물생명과학대학(College of Animal Life Sciences, Kangwon National University)

\* 농촌진흥청 축산과학원(National Institute of Animal Science, RDA)

Corresponding author : Byoung Ju Hong, Department of Animal Resources Science, Kangwon National University, Chuncheon 200-701, Korea.

Tel : +82-33-250-8622, Fax : +82-33-244-2532, E-mail : bhong@kangwon.ac.kr

용하여 알코올 발효사료를 생산하고 있는데, 이를 한우 비육우에 급여하면 육성성적 및 도체성적이 개선되었다고 보고하고 있다(박 등, 2003; 박 등, 2006). 김 등(2005)은 맥주박을 이용하여 알코올 발효사료를 제조하는 최적의 조건은 당밀 5% 및 yeast 1%를 첨가하여 30°C에서 24시간 동안 발효하는 것이 바람직하다고 보고하고 있으며, 맥주박에 *aspergillus oryzae* 및 *saccharomyces cerevisiae* 을 첨가하여 제조한 맥주박 발효사료는 pH가 감소하고, 조지방 함량이 증가하며, alcohol, lactate 및 dextrose와 같은 발효 대사산물 등이 생성된다고 보고하고 있다(신 등, 2005). 박 등(2003)은 이런 대사산물들을 급여하면 한우 비육우의 육성성적 및 도체등급을 개선하는 것으로 보고하였다. 또한 알코올 및 발효사료를 처리하면, 반추위내 총 휘발성 지방산, propionic acid 및 butyric acid 함량이 개선되고, 반추위액의 암모니아 함량이 감소되며, 반추위내 미생물 단백질 합성량이 향상된다고 보고하였다(엄 등, 2002; 신과 박, 2006). 이와 같이 미생물을 이용하여 제조한 알코올 발효사료는 한우 비육우의 생산성을 향상시키는 것으로 밝혀지고 있는데, 상기에서 보고된 연구는 조사료 급여원으로 벗짚을 급여 하여 얻은 결과들이다. 또한 대부분 젖소와 한우의 생산성에 대한 연구들은 조사료원으로 벗짚을 급여하면서 첨가제 및 미생물제 등 다양한 사양기술을 적용하는 것이 주종을 이루고 있어 양질 조사료 공급원에 따른 별도의 연구가 필요하다. 다행이도 매년 우리나라는 총체보리 및 호밀 등의 조사료 생산량이 증가하고 있고, 조사료 공급원으로 벗짚대신 총체보리 및 호밀 등의 양질 조사료를 반추기축에 활용하고 있다. 따라서 반추기축의 생산성과 연관하여 국내에서 생산되는 양질 조사료와 첨가제 등 다양한 사양기술을 접목한 연구결과들에 대한 자료 축적이 필요하다.

최근, 한우 비육우의 생산성 향상 및 고급육 생산을 목적으로 주로 에너지 공급원으로 동물

성 및 식물성 유지가 이용되어 왔는데, 동물성 유지는 안전성 문제로 사용의 자체가 불가피하고, 식물성 유지는 불포화지방산 함량이 높아 반추위 발효를 저해시킬 수 있으며(Jenkins, 1993), 반추위 protozoa의 수를 감소시킬 뿐만 아니라 소화율을 저해시키는 것으로 알려져 있다(Sutton 등, 1983; Broudiscou 등, 1994). 그러나 전지종실은 반추기축의 불충분한 저작으로 인해 종실의 지방이 전량 유리되어 나오지 못하여 다량의 지방이 반추위에서 변화를 받지 않고 소장으로 이행되어 흡수 및 이용될 수 있다. 또한 전지종실 중 면실은 건물 1kg당 net energy for lactation(NE<sub>L</sub>)이 9.2 MJ이며, 조단백질, 조지방 및 NDF 함량은 각각 23, 20 및 44% 정도이며(NRC, 1989), 조사료 대체효과도 있을 뿐 만 아니라 by-pass ingredient로서의 가치도 높다고 하였다(Arieli, 1998). 한편 아마 종실의 조단백질, 조지방 및 NDF 함량이 각각 20, 40 및 18% 정도이며(Mustafa 등, 2002), linoleic acid와 같은 불포화지방산을 다량 함유하고 있어(Dhiman 등, 2000), 칙유우 및 비육우에서 에너지와 유용하게 이용될 수 있다(Mustafa 등, 2003; Gonthier 등, 2004). 대두종실은 에너지, 단백질, 필수 아미노산, 필수 지방산 및 무기물이 풍부한 사료자원으로서 단백질 및 지방 함량이 각각 36 및 19% 정도이고(와이젠버거, 1988), 특히 linoleic acid 및 oleic acid와 같은 불포화지방산 함량이 풍부한 것으로 알려져 있다(최, 1995). 이와 같이 반추기축의 생산성을 높이기 위해 양질의 조사료와 전지종실 첨가에 대한 기초적인 연구가 필요할 것으로 판단된다.

이상에 살펴본 바와 같이 면실, 아마 및 대두 전지종실의 사료적 가치는 높지만, 양질 조사료 급여하에 반추위내 by-pass가 가능한 종실들의 사료가치를 평가한 연구는 상대적으로 적다. 한가지 종실의 첨가수준별 중체량 및 사료 섭취량을 검토한 연구가 대부분이며, 반추위내 성상에 관한 연구도 전무한 실정이다. 또한 양

질 조사료 급여에 따른 알코올 발효사료내 이들 전지종실의 첨가가 *in vitro* 반추위 발효특성에 미치는 영향을 비교한 연구결과를 찾아보기 힘든 실정이다.

따라서 본 연구는 기초사료로 호밀 전초를 급여하는 조건하에 반추위내 by-pass 단백질으로 이용하는 전지종실인 면실, 아마 및 대두를 첨가하여 발효한 알코올 발효사료(발효사료)의 *in vitro* 반추위 발효특성에 미치는 영향을 구명하고자 실시하였다.

## II. 재료 및 방법

### 1. 공시동물, 실험장소 및 실험기간

*In vitro* 반추위 발효특성 조사는 반추위 cannula가 장착된 한우 2두(400 및 420 kg)를 공시하여 강원대학교 부속 동물사육장에서 실시하였다.

### 2. 시험사료 제조 및 사양관리

시험사료는 맥주박, 파쇄옥수수, 소맥피, 루핀, 알팔파 펠렛, 당밀 및 yeast를 혼합한 후 발효시켜 제조한 알코올 발효사료(alcoholic-fermented feed; AFF)와 여기에 면실을 첨가하여 제조한 알코올발효사료(AFF supplemented with cottonseed; AFFC), 아마종실을 첨가하여 제조한 알코올 발효사료(AFF supplemented with linseed; AFFL) 및 대두를 첨가하여 제조한 알코올 발효사료(AFF supplemented with soybean; AFFS)의 4종

류로 하였다. 알코올 발효사료(이하 발효사료)에 대한 면실, 아마 및 대두종실의 첨가량은 발효사료와 전지종실의 지방과 단백질 함량을 고려하여 결정하였다. 발효사료는 혼기적인 조건을 위해 25 kg 용량의 비닐백에 담고 밀봉하여 30°C의 대형발효장치에서 48시간 동안 발효를 실시하였다. 발효사료 제조를 위한 배합비와 시험사료의 화학적 조성(AOAC, 1995)은 Table 1 및 2와 같다. *In vitro* 반추위 발효특성 조사를 위한 시험에서 시험사료는 시판배합사료, 발효사료 및 호밀 전초를 이용하였다. 시험사료는 1일 2회(오전 9시 및 오후 18시) 급여하였고, 사료급여량은 공시축 체중의 1.5%로

Table 1. Formulation percentage of experimental diets

Items (%)	FF <sup>1)</sup>	FFC <sup>2)</sup>	FFL <sup>3)</sup>	FFS <sup>4)</sup>
Cottonseed	-	11	-	-
Linseed	-	-	9	-
Soybean	-	-	-	10
Cracked corn	60	53	55	54
Brewers grain	20	18	18	18
Molasses	6	6	6	6
Rupin	4	3	3	3
Alfalfa pellet	4	3	3	3
Wheat bran	4	4	4	4
Live yeast	2	2	2	2

<sup>1)</sup> FF: fermented feedstuff;

<sup>2)</sup> FFC: fermented feed supplemented with cottonseed

<sup>3)</sup> FFL: fermented feed supplemented with linseed;

<sup>4)</sup> FFS: fermented feed supplemented with soybean.

Table 2. Chemical compositions of experimental diets(dry matter basis)

Items (%)	FF	FFC	FFL	FFS	CF <sup>1)</sup>	Rye hay	Rice straw
Dry matter	69.56	71.11	72.22	72.21	91.46	95.13	90.57
Crude protein	11.88	15.21	15.08	15.26	13.75	8.16	4.19
Ether extract	1.73	3.36	3.54	3.25	3.24	1.00	1.55
Crude ash	3.69	3.99	4.12	4.40	6.77	7.69	11.92

<sup>1)</sup> CF : commercial feed for beef cattle.

하였으며, 조농 비율은 50:50으로 하였다.

### 3. 시험구 배치 및 사양관리

*In vitro* 반추위 발효특성 조사는 DAISY<sup>II</sup> incubator(Ankom, USA)를 이용하여 실시하였는데, 시험기간 동안 incubator의 온도는 항상  $39.5 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ 로 유지하였다. 4개의 jar에 배합사료 7 g(DM)와 호밀 건초 4 g(DM)을 건조 후 분쇄기를 이용하여 입자크기를 1mm로 분쇄하여 미생물의 기초 영양소로 동일하게 첨가한 후 AFF 20 g 첨가구(T1), AFFC 20 g 첨가구(T2), AFFL 20 g 첨가구(T3) 및 AFFS 20 g 첨가구(T4)의 4처리로 구분하여 실시하였다.

### 4. 실험 방법 및 조사항목

*In vitro* 반추위 발효특성 조사를 위한 반추위액의 채취는 반추위 cannula가 장착한 한우에서 오전 사료 급여 전에 채취하여 4겹의 cheese cloth로 여과한 후 미리 예열된  $39^{\circ}\text{C}$  보온병에 담고, O<sub>2</sub> free-CO<sub>2</sub> gas를 30초간 주입하여 보온병내의 공기를 제거한 후 30분내로 실험실로 운반하여 시험에 이용하였다.

*In vitro* 배양액은 반추위액 400 ml를 미리 제조한 buffer solution(A+B) 1,600 ml에 첨가하여 제조하였다. Buffer solution A(KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 10.0 g; MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O, 0.5 g; NaCl, 0.5 g; CaCl<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O, 0.1 g; Urea, 0.5 g/L)와 B(Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, 15.0 g 및 Na<sub>2</sub>S·9H<sub>2</sub>O, 1.0 g/L)는 별도로 제조한 후 buffer solution A 1,330 ml와 buffer solution B 266 ml를 동시에 배양 jar에 넣어 혼합한 후 pH가 6.8이 되도록 조정하였으며,  $39^{\circ}\text{C}$ 까지 예열시켰다. Buffer solution에 반추위액의 첨가 즉시 O<sub>2</sub> free-CO<sub>2</sub> gas를 30초간 주입하여 배양 jar내의 공기를 배제하였으며, 그 후  $39^{\circ}\text{C}$ 에서 1시간 동안 안정시킨 후 본 시험에 이용하였다.

*In vitro* 발효특성 조사를 위해 배양 0, 3, 6,

9 및 12시간별로 각각 배양액을 채취하여 pH meter(Corning 445, USA)로 pH를 측정하였다. Ammonia 및 휘발성 지방산을 분석하기 위해 시간대 별로 각각 3개의 15 ml 원심분리 tube에 5 ml의 배양액을 각각 분주한 후 휘발성 지방산을 분석하기 위해 HgCl<sub>2</sub>(0.5 ml)와 25% HPO<sub>3</sub>(1 ml)를 첨가하여  $-25^{\circ}\text{C}$ 에서 냉동 보관하였다. 그리고 ammonia 및 휘발성 지방산을 분석하기 위해 3,000 g에서 15분 동안 원심분리 후 상층액 1 ml를 채취하여 gas chromatography (Shimadzu Model GC-17A Ver. 3, Japan)를 이용하여 휘발성지방산 농도를 측정하였으며, ammonia 농도는 자동수질 분석기(QuikChem 8000, USA)를 이용하여 측정하였다.

### 5. 통계분석

본 연구에서 얻어진 결과들은 SAS package (1999)를 이용하여 분산분석 및 Duncan의 multiple range test를 실시하여 처리구간의 유의성( $p < 0.05$ )을 검증하였다.

## III. 결과 및 고찰

### 1. pH 및 암모니아 농도에 미치는 효과

배양액의 pH는 전지종실을 첨가하지 않은 발효사료(T1)에 비해 면실 첨가(T2)로 인해 *in vitro* 배양 6~12시간 동안 배양액의 pH가 감소되었으며( $p < 0.05$ ), 대두 첨가(T4)로 인해서는 배양 3~12시간 동안 pH가 감소되었다( $p < 0.05$ ). 그러나 배양 9시간까지 pH는 T1구와 아마종실을 첨가한 T3구간에는 차이가 없었으나( $p > 0.05$ ), 배양 12시간에는 T3구의 pH가 T1구보다 감소하였다( $p < 0.05$ ). 한편, 처리에 관계없이 배양시간이 경과함에 따라 pH는 지속적으로 낮아지는 경향을 보였다( $p < 0.05$ , Table 3). 이와 같이 본 연구의 결과는 아마종실(Gonthier 등, 2004) 혹은 아마종실유(Ueda 등, 2003)의 첨가가 반추

Table 3. Effects of whole oilseeds on pH of *in vitro* ruminal fluid

Items	Times	T1 <sup>1)</sup>	T2 <sup>2)</sup>	T3 <sup>3)</sup>	T4 <sup>4)</sup>	SEM <sup>5)</sup>
pH	0	6.87 <sup>A</sup>	6.86 <sup>A</sup>	6.87 <sup>A</sup>	6.88 <sup>A</sup>	0.01
	3	6.60 <sup>bB</sup>	6.59 <sup>bB</sup>	6.64 <sup>aB</sup>	6.45 <sup>cB</sup>	0.02
	6	6.27 <sup>aC</sup>	6.25 <sup>bC</sup>	6.28 <sup>aC</sup>	6.24 <sup>bC</sup>	0.01
	9	6.17 <sup>aD</sup>	6.14 <sup>cD</sup>	6.16 <sup>abD</sup>	6.15 <sup>bcD</sup>	0.00
	12	6.08 <sup>aE</sup>	6.04 <sup>cE</sup>	6.05 <sup>bE</sup>	6.00 <sup>dE</sup>	0.01

<sup>a,b,c,d</sup> Means with different superscripts in the same row differ significantly ( $p<0.05$ ).

<sup>A,B,C,D,E</sup> Means with different superscripts in the same column differ significantly ( $p<0.05$ ).

<sup>1)</sup> T1: basal diets+AFF; <sup>2)</sup> T2: basal diets+AFFC; <sup>3)</sup> T3: basal diets+AFFL; <sup>4)</sup> T4: basal diets+AFFS; <sup>5)</sup> SEM: standard error of the mean.

Table 4. Effects of whole oilseeds on ammonia concentrations of *in vitro* ruminal fluid

Items	Times	T1 <sup>1)</sup>	T2 <sup>2)</sup>	T3 <sup>3)</sup>	T4 <sup>4)</sup>	SEM <sup>5)</sup>
Ammonia (mg/dl)	0	5.97 <sup>bD</sup>	6.61 <sup>aD</sup>	5.81 <sup>bcD</sup>	5.52 <sup>ce</sup>	0.13
	3	16.32 <sup>A</sup>	16.56 <sup>A</sup>	16.50 <sup>A</sup>	16.95 <sup>A</sup>	0.13
	6	14.55 <sup>bB</sup>	15.11 <sup>aB</sup>	14.88 <sup>abB</sup>	15.08 <sup>aB</sup>	0.08
	9	13.29 <sup>bC</sup>	13.82 <sup>abC</sup>	14.05 <sup>abC</sup>	14.28 <sup>aC</sup>	0.10
	12	13.26 <sup>C</sup>	13.52 <sup>C</sup>	13.88 <sup>C</sup>	13.67 <sup>D</sup>	0.13

<sup>a,b,c,d</sup> Means with different superscripts in the same row differ significantly ( $p<0.05$ ).

<sup>A,B,C,D,E</sup> Means with different superscripts in the same column differ significantly ( $p<0.05$ ).

<sup>1)</sup> T1: basal diets+AFF; <sup>2)</sup> T2: basal diets+AFFC; <sup>3)</sup> T3: basal diets+AFFL; <sup>4)</sup> T4: basal diets+AFFS; <sup>5)</sup> SEM: standard error of the mean.

위 pH에 미치는 영향을 미치지 않았다는 연구 결과와 유사한 경향을 보였으나, 면실 첨가가 반추위 pH에 영향을 미치지 않았다는 연구결과 (Pires 등, 1997; Malcolm과 Kiesling, 1990)나 면실 첨가로 반추위 pH가 증가되었다는 Zinn과 Plascencia(1993)의 결과와는 차이를 보였다. 또한 extrusion 처리한 대두 첨가가 반추위 pH에 영향을 미치지 않았다는 Madison-Anderson 등 (1997)의 결과나 대두의 첨가로 반추위 pH가 증가했다는 Howlett 등(2003)의 결과와도 차이를 보였다.

배양액의 ammonia 농도는 전지종실을 첨가하지 않은 발효사료(T1)에 비해 면실을 첨가한 T2구에서 배양 6시간의 ammonia 농도가 증가하였으며( $p<0.05$ ), 대두를 첨가한 T4구가 배양 6~9시간 동안 T1구에 비해 ammonia 농도가 증가하였다( $p<0.05$ ). 그러나 전지종실 첨가구들간의 배양 3~12시간 동안 배양시간별 ammonia 농도의 차이는 없었다( $p>0.05$ , Table 4). 한편,

처리에 관계없이 ammonia 농도는 배양 3시간에 가장 높았으며( $p<0.05$ ), 이후 배양시간이 경과함에 따라 감소되는 경향이었다( $p<0.05$ ). 이와 같이 본 연구의 결과는 면실 첨가가 반추위 ammonia 농도에 미쳤다는 연구결과들(Howlett 등, 2003; Pires 등, 1997)과 유사한 경향을 보였으나, 면실 첨가로 인해 반추위 ammonia 농도가 증가했다는 Malcolm과 Kiesling (1990) 및 Horner 등(1988)의 결과와는 차이를 보였다. 그러나 반추위 ammonia 농도는 아마종실 첨가에 영향을 받지 않았다는 Gonthier 등(2004)의 결과와 일치하였지만, extrusion 처리한 대두의 급여가 반추위 ammonia 농도에 영향을 미치지는 않았다는 Madison-Anderson 등(1997)의 결과와는 차이를 보였다.

이상에서 살펴본 바와 같이 본 연구에서 면실 혹은 대두의 첨가에 따른 *in vitro* 배양액의 pH 및 ammonia 농도 변화가 다른 연구자들이 결과와 일부 차이를 보였는데, 이는 다른 연구

자들은 농후사료 위주의 사양 조건에서 이들 전지종실을 첨가하였지만, 본 연구에서는 발효 사료의 제조과정에서 이들 전지종실을 첨가하여 제조하였으므로 굽여 사료원, 전지종실 첨가 방법과 첨가량 혹은 발효사료의 발효과정에서 생성되는 발효산물의 차이와 양질의 조사료를 처리에 의해 비롯된 것으로 판단된다. 특히, 대조구인 알코올 발효사료구 보다 면실, 아마 및 대두 종실을 혼합하여 발효한 알코올 발효 사료구가 배양시간에 따른 pH의 떨어지는 결과를 보였다. 이는 양질의 조사료인 호밀전초 및 알코올 발효사료를 처리함으로서 by-pass 단백질원인 면실, 아마 및 대두종실의 영양소(특히 에너지원) 분해율을 증가시키므로 배양액의 산도가 저하된 것으로 판단된다. 즉, 양질 조사료를 굽여함으로서 면실, 아마, 대두종실을 첨가한 알코올 발효사료는 *in vitro* 발효에서 이들의 영양소 발효율을 개선시키므로 pH 변화에 영향을 미친 것으로 판단된다. 그러나 ammonia 농도는 배양시간이 경과함에 따라 by-pass 전지종실원인 면실, 아마 및 대두종실 처리는 배양내 ammonia 농도는 증가하는 경향을 보였다. 이는 양질 조사료인 호밀 전초 및 알코올 발효사료를 굽여함으로서 반추위내 미생물들의 활성의 증가로 면실, 아마 및 대두종실내의 단백질의 분해율을 증가시킴으로서 ammonia 농도를 높인 것으로 판단된다.

본 연구에서 면실 혹은 대두의 첨가는 대부분의 *in vitro* 배양시간에서 배양액의 pH를 감소시키는 반면에 아마종실은 *in vitro* 배양액의 pH에 대한 영향이 거의 없었는데, 이는 면실 혹은 대두에 비해 아마종실이 상대적으로 외피가 단단하고 입자의 크기가 작은 물리적인 특성과도 관련이 있는 것으로 판단된다.

결과적으로 양질의 조사료인 호밀 전초를 굽여하는 조건에서 면실은 배양 6시간을 제외한 나머지 배양시간, 아마종실은 전체 배양시간에서 ammonia 농도에 영향을 미치지 않았으며, 대두 첨가는 6~9시간 동안 영향을 미치는 것으

로 나타나 3가지 전지종실 중에서 대두가 *in vitro* 배양액의 ammonia 농도에 가장 많은 영향을 미치는 것을 알 수 있었다. 또한 반추위 ammonia 농도는 사료의 소화속도와 어느 정도 일정한 경향을 나타내므로(Church, 1988) 3 가지 전지종실 중에서 대두 단백질이 미생물에 의한 분해가 가장 높은 것으로 판단된다.

## 2. 휘발성 지방산 농도에 미치는 효과

*In vitro* 배양 3시간의 acetate, butyrate 및 propionate 농도는 전지종실을 첨가하지 않은 발효사료구에 비해 아마종실(T3) 및 대두종실(T4)을 첨가한 발효사료구가 증가하였으며 ( $p<0.05$ ; Table 5), 배양 9~12시간에는 T4구의 acetate, butyrate 및 propionate 농도가 증가되었다( $p<0.05$ ). A/P 비율은 배양 3시간에는 T3구가, 9시간에는 T4구에서 대조구(T1)보다 높아지는 결과를 보였다( $p<0.05$ ).

By-pass 단백질원으로 이용되는 전지종실중에서 면실은 acetate(Malcolm과 Kiesling, 1990), propionate(Horner 등, 1988), butyrate(Malcolm과 Kiesling, 1990) 및 A/P 비율(Zinn과 Plascencia, 1993)에 영향을 미치는 것으로 보고하고 있으나, 전반적으로 면실의 첨가가 휘발성지방산 농도 변화에 영향은 미치는 것은 미흡한 것으로 보고되어 왔다(Pires 등, 1997; Zinn과 Plascencia, 1993). 또한 아마종실 및 아마종실 유의 처리도 반추위내 휘발성지방산 농도는 대조구와 처리구간에 차이가 없는 것으로 보고하고 있다(Gonthier 등, 2004; Ueda 등, 2003). 그리고 대두종실 처리는 반추위내 propionate 농도는 증가시키고(Schauff 등, 1992), acetate 농도는 차이는 없으며(Howlett 등, 2003), butyrate 농도(Howlett 등, 2003)와 A/P 비율(Schingoethe 등, 1988)은 감소시키는 것으로 보고된 바 있다. 이와 같이 면실이나 아마종실 등과 같은 전지종실의 반추위 휘발성지방산 농도를 크게 변화시키지 않는 이유는 반추위에서 서서히 분

Table 5. Effects of whole oilseeds on volatile fatty acid concentrations of *in vitro* ruminal fluid

Items	Times	T1 <sup>1)</sup>	T2 <sup>2)</sup>	T3 <sup>3)</sup>	T4 <sup>4)</sup>	SEM
Acetate (mg/dl)	0	9.38 <sup>bE</sup>	9.38 <sup>bD</sup>	9.81 <sup>aC</sup>	9.86 <sup>aE</sup>	0.07
	3	13.65 <sup>bD</sup>	14.41 <sup>bC</sup>	20.01 <sup>aB</sup>	18.56 <sup>aD</sup>	0.85
	6	23.08 <sup>c</sup>	23.09 <sup>B</sup>	19.98 <sup>B</sup>	21.34 <sup>C</sup>	0.52
	9	25.39 <sup>bb</sup>	23.70 <sup>cB</sup>	21.73 <sup>BB</sup>	27.42 <sup>aB</sup>	0.64
	12	29.57 <sup>bA</sup>	27.05 <sup>bA</sup>	30.27 <sup>bA</sup>	37.07 <sup>aA</sup>	1.22
Butyrate (mg/dl)	0	1.11 <sup>bD</sup>	1.12 <sup>bE</sup>	1.19 <sup>aE</sup>	1.20 <sup>aE</sup>	0.01
	3	1.88 <sup>cc</sup>	1.98 <sup>bD</sup>	2.44 <sup>aD</sup>	2.43 <sup>aD</sup>	0.08
	6	3.92 <sup>aB</sup>	2.87 <sup>cC</sup>	3.15 <sup>bcC</sup>	3.32 <sup>bC</sup>	0.12
	9	3.98 <sup>bB</sup>	3.98 <sup>bB</sup>	3.81 <sup>bB</sup>	4.69 <sup>aB</sup>	0.11
	12	4.53 <sup>cA</sup>	4.71 <sup>cA</sup>	5.21 <sup>bA</sup>	6.37 <sup>aA</sup>	0.22
Propionate (mg/dl)	0	2.04 <sup>bD</sup>	2.05 <sup>bE</sup>	2.14 <sup>aD</sup>	2.17 <sup>aE</sup>	0.02
	3	3.82 <sup>bC</sup>	4.02 <sup>bD</sup>	5.24 <sup>aC</sup>	5.13 <sup>aD</sup>	0.2
	6	6.85 <sup>aB</sup>	5.82 <sup>bC</sup>	5.87 <sup>bBC</sup>	6.19 <sup>bC</sup>	0.13
	9	7.76 <sup>bA</sup>	7.00 <sup>cB</sup>	6.62 <sup>dB</sup>	8.44 <sup>aB</sup>	0.21
	12	7.83 <sup>cA</sup>	8.41 <sup>cA</sup>	9.36 <sup>bA</sup>	11.58 <sup>aA</sup>	0.45
A/P <sup>5)</sup>	0	4.60 <sup>A</sup>	4.57 <sup>A</sup>	4.58 <sup>A</sup>	4.55 <sup>A</sup>	0.02
	3	3.57 <sup>bC</sup>	3.59 <sup>bBC</sup>	3.81 <sup>aB</sup>	3.62 <sup>bB</sup>	0.04
	6	3.37 <sup>D</sup>	3.98 <sup>B</sup>	3.40 <sup>C</sup>	3.45 <sup>C</sup>	0.10
	9	3.27 <sup>bD</sup>	3.39 <sup>aC</sup>	3.28 <sup>bCD</sup>	3.25 <sup>bD</sup>	0.02
	12	3.78 <sup>aB</sup>	3.21 <sup>bc</sup>	3.23 <sup>bd</sup>	3.20 <sup>bd</sup>	0.08

a,b,c,d Means with different superscripts in the same row differ significantly ( $p<0.05$ ).

A,B,C,D,E Means with different superscripts in the same column differ significantly ( $p<0.05$ ).

1) T1: basal diets+FF; 2) T2: basal diets+FFC; 3) T3: basal diets+FFL; 4) T4: basal diets+FFS; 5) A/P: Acetate/propionate.

해되고 반추위를 통과해 하부소화기관에서 분해되기 때문인 것으로 보고하고 있다(Arieli, 1998).

양질의 조사료인 호밀 건초를 급여하는 조건 하에서 본 연구의 결과는 배양 6시간을 제외한 모든 배양시간에서 면실, 아마 및 대두종실 처리는 acetate, butyrate 및 propionate 농도가 T1 구보다 증가하였으며, 발효사료에 첨가한 3가지 종실 중에서 면실과 아마종실에 비해 대두종실 처리구(T4구)가 휘발성지방산 농도에 가장 높게 증가하는 것으로 나타났다. 따라서 호밀 건초를 급여하는 조건 하에서 본 연구는 전반적으로 면실 혹은 아마종실을 첨가한 것보다 대두종실을 처리하면 휘발성 지방산 농도에 미치는 영향은 클 것으로 판단된다. 이는 대두

종실이 면실 및 아마종실보다 반추위내에서 반추미생물들에 의해 분해되는 영양소 물질이 많기 때문으로 판단된다.

이상에서 양질의 조사료인 호밀 건초를 급여하는 조건하의 면실, 아마 및 대두를 첨가하여 발효한 알코올 발효사료의 반추위내 발효특성에서 면실, 아마 및 대두 전지종실을 첨가한 알코올 발효사료구가 전지종실을 첨가하지 않는 대조구보다 배양시간에 따른 pH는 감소하는 결과를 보였다. 이는 양질의 조사료인 호밀 건초 및 알코올 발효사료를 처리함으로서 반추위내 유기산 발효를 개선하고 면실, 아마 및 대두종실의 영양소(특히 에너지원) 분해율을 증가시킴으로서 배양액의 산도가 저하된 것으로 판단된다. 또한 배양액의 암모니아 농도에

서 면실첨가는 배양 6시간을 제외한 배양 3, 9 및 12시간에서, 아마종실의 ammonia 농도는 전 배양시간에서 영향을 미치지 않았으며, 대두첨가는 배양 6 및 9시간에서 영향을 미치는 것으로 나타났다. 이는 양질 조사료를 급여하는 조건에서 면실, 아마 및 대두 전지종실 첨가구 중 대두첨가구가 *in vitro* 배양액의 ammonia 농도 변화에 가장 민감하게 영향을 미치는 것을 알 수 있었다. 또한 반추위 ammonia 농도는 사료의 소화속도와 어느 정도 일정한 경향을 나타내므로 면실, 아마 및 대두 전지종실 중에서 대두 단백질이 미생물에 의한 분해가 가장 높은 것으로 판단된다. 한편 호밀 건초를 급여하는 조건하에서 전반적으로 면실 혹은 아마종실을 첨가한 것보다 대두종실을 처리하면 acetate, propionate 및 butyrate 농도가 현저하게 증가하는 것으로 보아 대두종실 첨가는 반추위내 휘발성지방산 합성에 영향이 클 것으로 판단된다. 따라서 양질의 조사료인 호밀 건초를 급여하는 조건의 본 연구는 면실, 아마 및 대두 등의 전지종실을 첨가하여 발효한 알코올 발효사료는 pH를 다소 감소시키며, ammonia 및 휘발성지방산 농도를 증가시키는 것으로 나타났다. 특히, 전지종실 처리구중에서 대두종실 처리구는 면실 및 아마 종실 처리구보다 ammonia 및 휘발성 지방산 함량이 높은 결과를 보였다. 이는 양질 조사료를 급여하는 조건하에서 대두 종실 뿐만 아니라 면실 및 아마종실을 첨가하여 발효한 알코올 발효사료는 반추위내 발효에 긍정적인 영향을 미칠 것으로 판단된다.

#### IV. 요 약

본 연구는 호밀 건초를 급여하는 조건하에 알코올 발효사료에 대한 면실, 아마 및 대두종실의 첨가가 *in vitro* 반추위 발효특성에 미치는 영향을 구명하고자 실시하였다. 시험구 처리는 전지종실을 첨가하지 않고 발효한 알코올 발효사료구(대조구: T1), 면실종실을 첨가하여

발효한 면실 알코올 발효사료구(T2), 아마종실을 첨가하여 발효한 알코올 발효사료구(T3) 및 대두종실을 첨가하여 발효한 알코올 발효사료구(T4)의 4처리로 하였다. 배양시간에 따른 pH는 면실 종실을 첨가한 T2구는 대조구에 비해 배양 6시간에서 12시간까지 감소하는 결과를 보였으며( $p<0.05$ ), 대두종실을 첨가하는 T4구의 pH는 대조구보다 배양 3시간에서 12시간까지 감소하는 것으로 나타났다( $p<0.05$ ). 그러나 아마종실을 첨가하는 T3구의 pH는 배양 초기부터 배양 9시간까지 대조구에 비해 차이가 없는 결과를 보였다( $p>0.05$ ). 배양액의 ammonia 농도는 T2구가 대조구에 비해 배양 6시간경에 현저하게 증가하는 것으로 나타났으며( $p<0.05$ ), T4구의 ammonia 농도는 대조구에 비해 배양 6 및 9시간에서 유의적으로 높은 결과를 보였다 ( $p<0.05$ ). 배양시간에 따른 반추위액 배양액의 휘발성 지방산 농도는 대조구에 비해 전지종실 처리구들이 전반적으로 증가하는 경향을 보였으며, 배양 3시간경에서 면실, 아마 및 대두종실을 첨가하는 T2, T3 및 T4구의 acetate, butyrate 및 propionate 농도가 대조구에 비해 유의적으로 증가하는 결과를 보였다( $p<0.05$ ). 특히, 대두 종실을 첨가한 T4구의 휘발성지방산은 배양초기부터 12시간까지 전체 배양시간 동안 대조구에 비해 현저하게 증가하는 결과를 보였다( $p<0.05$ ). 이상의 결과에서 면실, 아마 및 대두의 전지종실을 첨가하여 발효한 알코올 발효사료는 반추위 배양액의 pH를 다소 감소시키며, ammonia 및 휘발성지방산 농도를 증가시키는 것으로 밝혀졌다. 따라서 호밀 건초를 급여하는 조건에서 면실, 아마 및 대두 종실 처리하는 알코올 발효사료는 반추위내 발효양상을 개선할 수 있는 처리임을 알 수 있었다.

#### V. 사 사

본 연구는 강원대학교 동물자원연구소의 실험기자재를 이용하여 실험분석을 하였기에 이

에 감사드립니다.

## VI. 인 용 문 헌

1. AOAC. 1995. Official Methods of Analysis. 16th Ed. Association of Official Analytical Chemists, Washington DC.
2. Arieli, A. 1998. Whole cottonseed in dairy cattle feeding: a review. *Anim. Feed Sci. Technol.* 72: 97-110.
3. Broudiscou, L., S. Pochet and C. Poncet. 1994. Effect of linseed oil supplementation on feed degradation and microbial synthesis in the rumen of ciliate-free and refaunated sheep. *Anim. Feed Sci. Technol.* 49:189-202.
4. Church, D.C. 1988. The ruminant animal. Digestive physiology and nutrition. Prentice Hall. Englewood Cliffs. New Jersey.
5. Dhiman, T.R., L.D. Satter, M.W. Pariza, M.P. Galli, K. Albright and M.X. Tolosa. 2000. Conjugated linoleic acid (CLA) content of milk from cows offered diets rich in linoleic and linolenic acid. *J. Dairy Sci.* 83:1016-1027.
6. Gonthier, C., A.F. Mustafa, R. Berthiaume, H.V. Petit, R. Martineau and D.R. Ouellet. 2004. Effects of feeding micronized and extruded flaxseed on ruminal fermentation and nutrient utilization by dairy cows. *J. Dairy Sci.* 87:1854-1863.
7. Horner, J.L., C.E. Coppock, J.R. Moya, J.M. Labore and J.K. Lanham. 1988. Effect of niacin and whole cottonseed on ruminal fermentation, protein degradability, and nutrient digestibility. *J. Dairy Sci.* 71:1239-1247.
8. Howlett, C.M., E.S. Vanzant, L.H. Anderson, W.R. Burris, B.G. Fieser and R.F. Bapst. 2003. Effect of supplemental nutrient source on heifer growth and reproductive performance, and on utilization of corn silage-based diets by beef steers. *J. Anim. Sci.* 81:2367-2378.
9. Jenkins, T.C. 1993. Lipid metabolism in the rumen. *J. Dairy Sci.* 76:3851-3863.
10. Madison-Anderson, R.J., D.J. Schingoethe, M.J. Brouk, R.J. Baer and M.R. Lentsch. 1997. Response of lactating cows to supplemental unsaturated fat and niacin. *J. Dairy Sci.* 80:1329-1338.
11. Malcolm, K.J. and H.E. Kiesling. 1990. Effect of whole cottonseed and live yeast culture on ruminal fermentation and fluid passage rate in steers. *J. Anim. Sci.* 68:1965-1970.
12. Mustafa, A.F., P.Y. Chouinard and D.A. Christensen. 2003. Effects of feeding micronised flaxseed on yield and composition of milk from Holstein cows. *J. Sci. Food Agric.* 83:920-926.
13. Mustafa, A.F., J.J. McKinnon, D.A. Christensen and T. He. 2002. Effects of micronization of flaxseed on nutrient disappearance in the gastrointestinal tract of steers. *Anim. Feed Sci. Technol.* 95: 123-132.
14. National Research Council. 1989. Nutrient Requirements of Dairy Cattle. 6th rev. edn. Natl. Acad. Sci., Washington, DC.
15. Pires, A.V., M.L. Eastridge, J.L. Firkins and Y.C. Lin. 1997. Effects of heat treatment and physical processing of cottonseed on nutrient digestibility and production performance by lactating cows. *J. Dairy Sci.* 80:1685-1694.
16. SAS. 1999. SAS/STAT Software for PC. Release 6.11, SAS Institute, Cary, NC.
17. Schauff, D.J., J.P. Elliot, J.H. Clark and J.K. Drackley. 1992. Effects of feeding lactating dairy cows diets containing whole soybeans and tallow. *J. Dairy Sci.* 75:1923-1935.
18. Schingoethe, D.J., D.P. Casper, C. Yang, D.J. Illig, J.L. Sommerfeldt and C.R. Mueller. 1988. Lactational response to soybean meal, heated soybean meal, and extruded soybeans with ruminally protected methionine. *J. Dairy Sci.* 71: 173-180.
19. Sutton, J.D., R. Knight, A.B. McAllan and R.H. Smith. 1983. Digestion and synthesis in the rumen of sheep given diets supplemented with free and protected oils. *Br. J. Nutr.* 49:419-432.
20. Ueda, K., A. Ferlay, J. Chabrot, J.J. Loor, Y. Chilliard and M. Doreau. 2003. Effect of linseed oil supplementation on ruminal digestion in dairy cows fed diets with different forage:concentrate ratios. *J. Dairy Sci.* 86:3999-4007.
21. Zinn, R.A. and A. Plascencia. 1993. Interaction of whole cottonseed and supplemental fat on digestive

- function in cattle. *J. Anim. Sci.* 71:11-17.
22. 김창혁, 박병기, 오상집, 성경일, 김현숙, 홍병주, 신종서. 2005. 맥주박을 이용한 알코올 발효사료의 최적 발효조건 규명. *한국동물자원과학회지* 47(4):607-614.
23. 박병기, 길준민, 김종복, 홍병주, 라창식, 신종서. 2003. 맥주박 발효사료 및 대두의 급여가 한우 거세우의 육성성격 및 도체등급에 미치는 영향. *한국동물자원과학회지*. 45(3):397-408.
24. 박병기, 성대경, 김창혁, 권웅기, 오상집, 신종서. 2006. 맥주박과 옥수수 위주의 발효사료에 대한 coated vitamin C+E 및 면실의 첨가가 한우거세우의 육조성분, 육색 및 도체등급에 미치는 영향. *한국동물자원과학회지*. 48:227-236.
25. 박병기, 신종서. 2006. Alcohol 사료가. *In vitro* 반추위내 pH, ammonia, alcohol 및 volatile fatty acids 농도에 미치는 영향. *한국동물자원과학회지*. 48(1):91-100.
26. 신종서, 박병기, 김병완. 2005. *Aspergillus oryzae* 및 *Saccharomyces cerevisiae*를 첨가하여 제조한 맥주박 위주 발효사료의 발효특성 및 영양학적 특성. *한국초지학회지*. 25(4):297-306.
27. 엄창국, 박병기, 박재인, 김창혁, 고용근, 김종복, 홍병주, 신종서. 2002. 알코올발효사료 급여가 반추위내 발효성상 및 미생물 단백질 합성에 미치는 영향. *강원대학교 동물자원연구*. 13:207-219.
28. 와이젠버거. 1988. 동물사료로서 전지대두의 이용효과. *한영사지. 영양사료기술 세미나교재*. pp. 59-61.
29. 최영선. 1995. 식이지방급원으로서의 대두유의 영양학적인 평가. *한국영양학회지*. 28:946-947.