

천연 사료첨가제 Nattokinase 공급에 따른 젖소의 산유능력 및 혈액성상에 미치는 영향

임동현* · 박종국* · 김현섭* · 기광석* · 이현준* · 권응기* · 김창현** · 김상범***

Effects of Feeding Nattokinase as Natural Feed Additives on Milk Production and Blood Metabolites in Lactating Dairy Cows

Lim, Dong-Hyun · Park, Joong-Kook · Kim, Hyeon-Shup · Ki, Kwang-Seok ·
Lee, Hyun-June · Kwon, Eung-Gi · Kim, Mi-Kyoung · Kim, Chang-Hyun · Kim, Sang-Bum

This experiment was conducted to determine the effect of nattokinase (NK) additives on milk production and composition, and blood metabolites in dairy cows. The two kinds of nattokinase with high fibrinolytic activity were produced by two strains of bacteria, *Bacillus amyloliquefacines* (NK1) and *Bacillus subtilis* (NK2). Total fifteen Holstein cows (average 1.83±0.37 parity; average milk yield 23.2±3.2 kg/d) were randomly assigned to three treatments (5 animals per treatment). Cows were fed TMR supplemented with 0g, 100g and 100g for control, NK1 and NK2 treatment, respectively for 4 weeks. Milk yield was significantly higher ($p<0.05$) for NK1 (22.89 kg/d) than for control (21.07 kg/d) and NK2 (21.36 kg/d). Somatic cell counts in NK treatments were significantly lower than that in control group (58,000 vs. 21,000 and 35,000 cells/ml, control vs. NK1 and NK2). Serum ALT levels in all treatment were similar to the range of 32.00~35.83 IU/L, but AST levels in NK1 (85.67 IU/L) was significantly decreased compared with those in control and NK2 (121.67 and 117.67 IU/L respectively). Serum T-CHO levels in NK1 (145.33 mg/dl) was significantly decreased ($p<0.05$) compared with that in control (179.00 mg/dl) and NK2 (176.17 mg/dl). This finding showed that NK1 additives could possibly have a positive effect in lactation performance of mid-lactation dairy cows by increasing milk yield, reducing somatic cell count, improving liver function and decreasing cholesterol in blood.

Key words : Dairy cows, Nattokinase (NK), Milk production, Blood metabolites, *Bacillus amyloliquefacines*

* 국립축산과학원

** 환경대학교 동물생명환경과학부

*** 교신저자, 국립축산과학원(sangbkim@korea.kr)

I. 서 론

최근 낙농업 현황을 살펴보면 젖소 사육규모의 대형화, 농후사료의 과다 급여 및 고능력화 등으로 인해 대사성질병 증가와 번식기능 저하의 경향이 더욱 증가되고 있다(이 등, 2007). 이에 따라 관행사육에서 벗어나 유기낙농으로 전환하려는 농가가 증가하고, 더불어 유기축산물에 대한 소비자들의 관심이 증가하고 있는 추세이다.

유기축산에서는 환축을 제외한 일반 가축 사육시 항생물질을 사용하지 않고 질병을 예방한다는 개념으로, 가축의 면역성을 증진시킬 수 있는 약용 식물 추출물, 생균제, 효소제 등을 이용한 천연 항균물질의 개발이 강조되고 있다(안, 2003).

최근 전통발효식품에 대한 새로운 인식과 관심이 높아짐에 따라 장류에서 생리활성 물질과 항암효과에 대한 많은 연구 결과가 있으며(Lee 등, 1991; Bernard 등, 2004), 발효과정 중 미생물이 생산하는 2차 대사산물은 단백질 분해 활성과 혈전용해능, 항산화능, 항암활성의 면역증가와 혈압강하 및 항균효과 등 각종 생리활성이 보고되고 있다(Ahn 등, 2006; Oh 등, 2009).

특히 1987년 일본식 전통 콩발효식품의 발효과정에서 *Bacillus natto*에 의해 혈전분해효소인 nattokinase이 생산되고(Sumi 등, 1987), 경구투여에 의해서도 생체 내 혈전용해능을 증가시키는 효과가 있으며(Sumi, 1987; Sumi 등, 1987; 須見洋行, 1991), 토끼와 쥐 등의 동물시험을 통해 저밀도지방단백질(Low Density Lipoprotein, LDL) 산화와 지방 대사에 영향을 미쳐 triglyceride 수치를 저하시키는 효과가 있다는 연구결과가 있다(Yokota 등, 1996; Iwai 등, 2002). 최근 젖을 떼기 전의 송아지에 대한 *Bacillus subtilis natto*의 영향을 측정한 결과 일당 증체량과 사료효율성을 개선하고 이유시기를 앞당기며, 혈청 내 IgG와 IFN- γ 수준이 증가하는 등 유익하다고 보고되었다(Sun 등, 2010). 또한 *Bacillus subtilis natto* 발효첨가제를 급여한 비유 초기 젖소에서 반추위 발효성상에 긍정적으로 작용하여 산유량이 증가하는데 효과가 있다고 하였다(Peng 등, 2011).

오(2003)는 천연사료첨가물질의 효능이 기존의 인공합성 사료첨가제보다 일반적으로 떨어질 수 있으나 유기축산과 같은 동물에게 양호한 사육환경 하에서는 그 효능으로도 대체가 가능하다고 보았으며, 유기축산의 경쟁력을 제고하기 위해 다양한 천연물질로부터 효과적인 사료첨가물질의 개발이 필요하다고 하였다.

따라서 nattokinase의 다양한 생리활성 효능에 대한 연구결과를 토대로 천연사료첨가제로서의 활용가능성을 확인하고자 본 실험을 수행하였으며, 이를 위해 본 실험에서는 효소생성능이 우수한 *Bacillus*속 균주 2종으로부터 유래한 nattokinase 사료첨가제를 비유중기 젖소에 급여함에 따라 각 균주별 nattokinase에 의한 유량, 유성분, 체세포수 등 산유특성 및 혈액 내 영양성분의 변화를 살펴보고자 실시하였다.

II. 재료 및 방법

1. 시험균주 및 배양

본 연구에 사용된 균주는 토양으로부터 분리하여 효소활성도가 높은 균주를 선별한 후 16S rDNA 염기서열 분석 결과 *Bacillus amyloliquefacines*(Accession No. FJ436406)와 99.8% (1429bp/1432bp)의 유사도를 가진 NK1(1464 bp)과, *Bacillus subtilis*(Accession No. FJ237281)와 99.8%(1440bp/1443bp)의 유사도를 가진 NK2를 사용하였다.

100ml/500ml baffled culture flask에 LB(Luria-Bertani) broth(Tryptone 10g/l, Yeast extract 5g/l, NaCl 5g/l)를 이용하여 균을 접종하고 37°C, 120rpm에서 15시간 배양하여 종균으로 사용하였다. 균주배양의 최적화를 위해 배지 성분은 Table 1에 따라 제조하여 사용하였으며, 본 실험의 발효 조건은 37°C에서 150rpm으로 교반하고, 통기량은 0.75vvm이며, pH는 제한하지 않았다.

Table 1. Composition of culture medium for mass production of nattokinase

Item	Dextrin	Soybean meal	Yeast extract	K ₂ HPO ₄	MgSO ₄ · 7H ₂ O	Na ₂ HPO ₄	CaCl ₂	MnCl ₂
Contents(g/l)	20	20	5	2	0.2	0.02	0.02	0.2

2. Nattokinase 활성 분석 및 제조

Japan Food Research Laboratories Assay법(JFFRA, 1999)으로 NK의 fibrinolytic activity를 분석하였다. 0.05M boric buffer solution(pH 8.5) 1.4ml에 0.72% fibrinogen solution 0.4ml을 test tube에 넣고 37°C에서 5분간 반응시킨 후 thrombin solution(20 U/ml) 0.1ml을 첨가하여 37°C에서 10분간 반응한 다음 혼합해 주었다. 또한 sample solution 0.1ml을 첨가하여 37°C에서 60분 반응시켰다. 반응을 정지시키기 위하여 blank를 제외한 sample solution은 2ml의 0.2M trichloroacetic acid을 첨가하고 37°C에서 20분간 반응시켰으며, 10,770g에서 10분간 원심분리 후 275nm에서 상층액의 흡광도를 측정하였다.

NK1과 NK2 효소분말은 (주)더멋진바이오텍에서 발효를 통해 생산하고, 생산된 발효액은 dextrin과 함께 혼합하여 급속 동결 건조 후 분말화 하였다. 효소 분말 내 효소활성은 5,000 FU/g이며, 보통 권장되는 성인의 섭취량인 1,000~2,000 FU/day을 기준으로 젓소의 섭취량은 소의 체중을 감안하여 하루 5,000 FU로 산정하였다. 본 실험에 사용한 NK 효소분말은 동결 건조된 분말 10g과 부형제로 사용한 옥수수주정박 990g과 혼합하여 20kg 지대포

장 단위로 제조하였다. 사용한 옥수수주정박(DDGS, Dried Distillers Grain with Solubles)의 일반성분 분석결과는 Table 2와 같다.

Table 2. Chemical composition of DDGS and TMR used during experiment(%)

Item	Chemical composition ¹⁾						
	Moisture	Ash	EE	CP	CF	ADF	NDF
NK carrier % DM.....						
DDGS ²⁾	10.00	5.51	8.07	29.89	7.66	15.88	34.75
TMR ingredients % DM.....						
Concentrate ³⁾	11.04	6.38	3.68	24.11	7.03	9.25	22.68
Corn silage	8.19	3.86	2.43	7.52	20.67	24.09	52.31
Hay mixture ⁴⁾	9.44	7.34	1.42	9.14	28.57	35.62	61.32

¹⁾ EE: ether extract, CP: crude protein, CF: crude fiber, ADF: acid detergent fiber, NDF: neutral detergent fiber.

²⁾ Distillers dried grains with solubles.

³⁾ Contained corn flake 26.2%; DDGS 15.0%; corn gluten feed 15.0%; copra meal 11.5%; wheat bran 8.9%; rapeseed meal 5.0%; molasses 7%; sugar beet pulp 6.0%; limestone 3%; vitamin mixture 1.4%; mineral 1.0%.

⁴⁾ Contained tall fescue hay and orchardgrass hay.

3. 시험동물 및 사양관리

다른 군중에서 유래한 NK1과 NK2 효소에 의한 산유특성 및 혈액성상에 미치는 영향을 조사하기 위해 국립축산과학원에서 산차수(평균 1.83 ± 0.37 산)와 유량(평균 23.2 ± 3.2 kg/d)이 비슷한 비유중기의 젖소 15두를 공시하였다.

실험군은 대조구과 NK 효소분말을 급여한 처리구(NK1과 NK2)로 구분하여 배치하고, 처리구는 각 NK 효소를 5,000 FU/g으로 조제하여 그 분말을 각 처리구에 두당 100g 씩 1일 1회(10:00) 급여하였으며, 실험기간은 적응기간 2주와 본 실험기간 4주로 총 6주간 지속되었다.

본 실험에 사용된 공시사료는 Table 2에서 보는 바와 같이 옥수수 사일리지, 농후사료 및 혼합건초를 이용하여 공시동물의 체중과 유량 및 유성분을 고려해 총 건물섭취량 22kg, NEL 32 Mcal/d, CP 17%, NDF 및 ADF를 각각 34, 19%로 배합비를 작성하였다. 물은 자유로이 섭취할 수 있도록 하였으며, 착유는 개체별로 1일 2회(06:00, 17:00)하였다.

4. 시료채취

본 실험은 2주간의 적응기간을 제공한 후 유량은 실험 개시일부터 매일 유량을 측정하고, 우유의 일반성분 분석 및 체세포수는 실험 개시 1일, 14일 및 28일에 측정하였다.

혈액은 실험개시 전일과 종료일에 목 부위의 경정맥으로부터 혈액을 채취하였고, 원심분리하여 plasma를 분리한 후 다음 분석을 위해 -20°C 에서 보관하였다.

5. 조사항목 및 분석방법

기초사료의 일반성분은 AOAC법(1995)으로 분석하였으며, NDF(Neutral Detergent Fiber)와 ADF(Acid Detergent Fiber)는 Van Soest(1982)의 방법으로 분석하였다.

원유의 일반성분 분석은 LactoScope(MK2, Delta Instruments, Netherlands)를 이용하여 측정하였으며, 산유량은 개체별로 매일 오전과 오후 착유량을 합하여 기록하였다.

채취한 혈액시료는 혈청을 분리한 후 혈청 내 영양성분은 Blood Autoanalyzer(Hitachi, 7180, JP)를 이용하여 시약반응 후 340~800nm에서 glucose, asparatate transminase(AST), alanime transminase(ALT), 콜레스테롤(T-CHO), 총단백질(T-PRO) 및 blood urea nitrogen (BUN)을 분석하였다.

6. 통계분석

본 실험에서 얻어진 젖소의 산유량, 유성분 및 혈액내 영양성분의 결과는 대조구, NK1 및 NK2로 구분하여 SAS package program(2000, release. 8.1 version)의 GLM(General Linear Model)를 이용하여 분산분석을 실시하였으며, Duncan's Multiple range test에 의해 처리 평균 간 유의성($p<0.05$)을 검증하였다.

III. 결과 및 고찰

서로 다른 군중에서 유래한 NK1과 NK2 효소에 의한 산유특성에 미치는 영향을 측정하기 위해 각 NK 효소분말을 시험축에 급여하면서 유량, 유성분 및 체세포수의 변화를 측정 한 결과는 Table 3과 같다.

1일 유량에 있어서 대조구 21.07 kg/d에 비하여 NK 효소분말을 급여한 처리구에서 다소 증가하였으며, NK1 처리구의 유량이 22.89 kg/d으로 NK2 처리구의 21.36 kg/d보다 유의적으로 높았다($p<0.05$). Peng 등(2011)에 의하면 *Bacillus subtilis natto* 발효첨가제를 급여한 비

유초기 젖소에서 급여전보다 첨가량에 따라 산유량이 3.2 kg/d까지 증가했다고 보고하였다. 이 첨가제의 급여가 사료섭취량에 영향을 미치지 않는 않지만, 9주간의 실험기간 중 5~9주 동안 사료효율성을 상당히 증가시키는 결과를 나타냈다.

Table 3. Effects of feeding nattokinase additives on milk production in dairy cows

Items	Control	NK1 ¹⁾	NK2 ²⁾	SEM ³⁾
Milk yield, kg/d	21.07±0.55 ^b	22.89±0.34 ^a	21.36±0.49 ^b	0.195
Milk composition				
Fat, %	4.11±0.09	4.02±0.15	4.14±0.13	0.096
Protein, %	3.15±0.08	3.13±0.07	3.16±0.06	0.047
Lactose, %	4.72±0.05	4.76±0.11	4.79±0.15	0.053
Total solids, %	12.49±1.01	11.55±0.84	11.69±0.76	0.086
Somatic cell count(×10 ³ /ml)	58±12 ^b	21±11 ^a	35±15 ^a	8.634

^{a, b} Means in the same row with different superscripts differ significantly(p<0.05).

¹⁾ Nattokinase produced by the strain with similarity to the *Bacillus amyloliquefacines*.

²⁾ Nattokinase produced by the strain with similarity to the *Bacillus subtilis*.

³⁾ SEM, standard error of means.

유지방, 유단백질 및 유당 함량은 대조구에서 각각 4.11%, 3.15% 및 4.72%이고, NK1 처리구의 경우 각각 4.02%, 3.13% 및 4.76%이었으며, NK2 처리구의 경우 각각 4.14%, 3.16% 및 4.79%이었다. 또한 우유 내 총고형분 함량도 대조구, NK1과 NK2 처리구에서 각각 12.49%, 11.55% 및 11.69%이었다. 이상의 결과를 통해 NK 효소분말 급여가 유성분에는 영향을 미치지 않는 것으로 보인다. 이에 대해 Peng 등(2011)은 *B. subtilis* natto 발효제 첨가시 유지방 비율과 단백질 함량에는 영향이 없었지만, 유지방 함량과 유당 비율은 증가하였고(p<0.05) 유단백 비율은 감소하는 경향이 있다(p=0.06)고 하였다. 또한 우유의 체세포수(SCC)를 측정된 결과 대조군의 58,000 cells/ml 보다 NK 효소를 급여한 처리구에서 유의적으로 감소하였는데, NK1의 경우 21,000 cells/ml이고, NK2의 경우 35,000 cells/ml이었다.

본 실험에서 대조구에 비하여 NK 처리구에서 체세포수가 감소되고 유량이 증가하였는데, 이 결과를 통해 NK 효소를 급여함으로써 산유능력 및 우유의 품질에 긍정적인 영향을 미치며, 특히 NK2 효소보다는 NK1 효소의 급여가 더 유효할 것으로 판단된다.

다른 군중에서 유래한 NK1과 NK2 효소를 각각 젖소에 급여하여 젖소의 혈액 내 영양성분을 측정된 결과는 Table 4와 같다. 가축에서 영양물 섭취 및 대사는 번식에 매우 중요한 영향을 미치게 되고 혈액 내 여러 대사산물의 농도를 변화시키는 것으로 관찰되었으며

(Carroll 등, 1988; Lammoglia 등, 1996; 박 등, 1997), 혈중 대사산물의 변화를 통해 축군의 영양상태 및 번식상태를 확인하는데 오래전부터 이용되어 왔다(Kappel 등, 1984; Ferguson 등, 1993; Hawkins 등, 1995).

Table 4. Effects of feeding nattokinase additives on blood metabolites in dairy cows

Items	Control	NK1 ¹⁾	NK2 ²⁾	SEM ³⁾
Glucose, mg/dl	72.33±8.39	67.00±11.67	70.67±7.19	0.485
AST, IU/L	121.67±29.60 ^a	85.67±6.54 ^b	117.67±8.02 ^a	7.592
ALT, IU/L	35.33±3.02	35.83±3.80	32.00±2.37	1.057
T-CHO, mg/dl	179.00±22.73 ^a	145.33±20.51 ^b	176.17±19.14 ^{ab}	3.241
T-PRO, g/dl	10.35±0.79	8.95±0.41	9.68±0.46	0.583
BUN, mg/dl	19.23±4.14	15.40±4.71	15.37±2.93	1.097

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

¹⁾ Nattokinase produced by the strain with similarity to the *Bacillus amyloliquefacines*.

²⁾ Nattokinase produced by the strain with similarity to the *Bacillus subtilis*.

³⁾ SEM, standard error of means.

혈액 내 glucose의 경우 개체의 영양상태를 판정하는 중요한 지표로 활용되는데(Blowey 등, 1973), 대조구, NK1 및 NK2 처리구가 각각 72.33, 67.00 및 70.67 mg/dl로 통계적 유의성은 나타나지 않았지만 수치적으로 감소하는 경향을 보였다.

혈청 내 aspartate transaminase(AST)는 근육과 간에 주로 분포하고, alanime transminase(ALT)는 근육에 주로 분포하는 효소로 알려져 있다. 따라서 AST수치가 높아지고 ALT수치가 변화하지 않는다면 간이 손상된 것으로 예측할 수 있다(Lumeij, 1997; Diaz 등, 1999). 본 실험 결과에서 AST 수준은 대조구의 121.67 IU/L와 NK2 처리구의 117.67 IU/L보다 NK1 처리구에서 85.67 IU/L으로 유의적인 수준에서 저하되었고, ALT는 대조구와 NK 처리구에서 32.00~35.83 IU/L의 범위로 비슷한 수준을 유지했다. 이러한 결과를 통해 NK1 효소는 간 보호능이 있음을 알 수 있고, 이것은 우유를 생산하는 과정에서 영양대사 장애로 발생하는 간 손상을 개선하는데 도움이 될 수 있을 것으로 판단된다.

혈중 콜레스테롤(Total cholesterol, T-CHO) 수치는 분만 후 질병발생 및 번식과의 관련성이 높은 성분이며(Kweon 등, 1986), 특히 젖소에서 혈액 내 cholesterol의 수준은 지질 수준의 지표로서 이용되고 있다(Grummer와 Carroll, 1991). 또한 Harms와 Simpson(1979)에 의하면 T-CHO는 높은 수준의 지방과 간질환 발생 시 상승하는 항목이라고 하였다. 본 실험에서 T-CHO는 대조구의 179.00 mg/dl보다 NK1 처리구에서 145.33 mg/dl로 유의적으로 저

하되었다.

이와 관련하여 cholesterol을 급여한 토끼와 쥐 실험에서 nattoxinase가 LDL 산화능력 증가, 지방대사 활성 증가, 그리고 triglyceride 수준 저하에 관여하지만, HDL-C의 수준에는 영향이 없었다는 연구결과가 보고된 바 있다(Yokota 등, 1996; Iwai 등, 2002). 이 결과를 바탕으로, 본 실험의 측정 결과와 비교하여 젓소에서 NK1 효소의 급여를 통해 지방대사에 긍정적 영향을 미칠 수 있을 것으로 판단된다.

그리고 혈청 내 단백질(Total Protein, T-Pro)은 대조구와 처리구 간에 통계적 유의성은 보이지 않았지만, 수치적으로 감소하는 경향을 보였다.

고수준의 단백질 사료를 급여하게 되면 자궁내 암모니아의 농도를 높이고(Jordan 등, 1983), 혈장 내 progesterone의 농도를 저하시키고(Sonderman과 Larson, 1989), 혈장과 번식기관 내의 요소태 질소의 수치를 상승시킨다(Carroll 등, 1988). 또한 혈중 요소태 질소(Blood Urea Nitrogen, BUN)가 20 mg/dl를 초과하면 수태율이 저하된다는 보고가 있다(Ferguson 등, 1993). 이와 같이 BUN은 단백질 대사와 소의 번식 상태를 파악할 수 있는 유용한 지표로서 이용되고 있다(Roseler 등, 1993). 본 실험에서 통계적 유의성은 없지만, BUN이 대조구의 19.23 mg/dl에 비하여 NK1과 NK2 처리구에서 각각 15.40 mg/dl와 15.37 mg/dl로 낮아지는 경향을 보였는데, 이러한 결과는 NK 효소의 급여를 통해 단백질 대사와 번식능력에 긍정적인 효과를 줄 수 있는 가능성을 제시하고 있다. 본 실험에서 혈액 내 각종 지표들에 대한 분석결과, 대부분의 지표들에서 생리학적으로 긍정적인 결과를 보였다.

다양한 생리활성 효능이 알려진 nattoxinase가 천연사료첨가제로서의 활용가능성을 확인하기 위해 효소생성능이 우수한 *Bacillus*속 균주 2종으로부터 유래한 NK1과 NK2를 젓소의 사료첨가제로 각각 급여하였다. 그 결과 대조구보다 nattoxinase를 급여한 처리구에서 유량 및 체세포수가 개선되었으며, 특히 *B. amyloliquefacines*와 유사한 균주에서 유래한 NK1를 천연사료첨가제로 급여할 경우 산유능력과 간기능의 개선 및 cholesterol 저하 등의 가능성을 제시하였다. 이후 연구에서는 nattoxinase의 효과에 대한 분자생물학적인 분석을 통한 메커니즘에 대한 연구가 수행되어야 할 것이다.

IV. 적 요

본 실험은 비유중기 젓소에 천연 사료첨가제로써 혈전용해효소인 nattoxinase(NK)를 급여함에 따라 산유특성 및 혈액성상에 미치는 영향에 대하여 연구하고자 실시하였다. 평균 산차(1.83)와 유량(23.2 kg)이 비슷한 공시축 15두를 선정하여 각 처리당 5두씩 무작위로 배정하였다. 4주간 대조구, NK1 및 NK2 처리구에 TMR 사료를 급여하면서 각각 0g, 100g NK1 및 100g NK2을 첨가하였다. 유량의 경우 대조구의 21.07 kg/d와 NK2의 21.36 kg/d에 비하

여 NK1의 유량이 22.89 kg/d으로 유의적으로 높았고, 체세포수(SCC)에 있어서도 대조구의 58,000cells/ml 보다 NK1의 21,000 cells/ml과 NK2의 35,000 cells/ml에서 유의적으로 감소하였다. 또한 혈청 내 ALT는 대조구와 처리구가 비슷한 수준이었으나, AST 수준은 대조구의 121.67 IU/L와 NK2의 117.67 IU/L보다 NK1에서 85.67 IU/L으로 유의적인 수준에서 저하되었는데, 이를 통해 NK1에서 간보호능이 있음을 알 수 있었으며, T-CHO는 대조구의 179.00 mg/dl보다 NK1 처리구에서 145.33 mg/dl으로 유의적으로 저하되었다. 본 실험결과로부터 젖소에 급여한 nattokinase 첨가물이 산유특성, 간기능 개선 및 cholesterol 저하 등 지방대사에 긍정적인 효과를 미칠 것으로 기대된다.

[논문접수일 : 2011. 10. 18 논문수정일 : 2011. 10. 26. 최종논문접수일 : 2011. 12. 21.]

인 용 문 헌

1. 박수봉·김현섭·김창근·정영채·이종완·김천호. 1997. 젖소의 수태율과 혈장 요소태질소의 관계. 한국가축번식학회지 21: 185-189.
2. 안종호·조익환·이주삼. 2003. 유럽의 유기축산 사례 및 우리나라 유기축산의 발전 방안. 한국유기농업학회지 11: 75-92.
3. 오상집. 2003. 친환경 축산물 생산을 위한 사료의 이용 효과. 제4회 국제심포지엄, 친환경 축산물 생산을 위한 사료의 이용, 개발. 사단법인 한국단미사료협회.
4. 이종완·정영채·김창근·김명희·최선호. 2007. 젖소에 있어서 분만 후 혈액 및 우유의 성분 변화와 성분 간의 상관관계. 한국수정란이식학회지 22: 127-135.
5. 須見洋行. 1991. ナットウキナーゼと線溶系. 化学と生物 29: 119-123.
6. Ahn, Y. S., Y. S. Kim, and D. H. Shin. 2006. Isolation, identification and fermentation characteristics of *Bacillus* sp. with high protease activity from traditional cheonggukjang. Kor. J. Food Sci. Technol. 38: 82-87.
7. AOAC. 1995. Official Methods of Analysis. 16th Ed. Association of Official Analytical Chemist, Washington DC., USA.
8. Bernard, F. G., Z. Alexandre, M. Robert, and M. Catherine. 2004. Production and characterization of bioactive peptides from soy hydrolysate and soy-fermented food. Food Res. International 37: 123-131.
9. Blowey, R. W., D. W. Wood, and Davis, Jr. 1973. A nutritional monitoring system for dairy herds based on blood glucose, urea and albumin levels. Vet. Rec. 92: 691-696.

10. Carroll, D. J., B. A. Barton, G. W. Anderson, and R. D. Smith. 1988. Influence of protein intake and feeding strategy on reproductive performance of dairy cows. *J. Dairy Sci.* 71: 3470-3481.
11. Diaz, G. J., E. J. Squires, and R. J. Julian. 1999. The use of selected plasma enzyme activities for the diagnosis of fatty liver-hemorrhagic syndrome in laying hens. *Avian Disease.* 43: 768-773.
12. Ferguson, J. D., D. T. Galligan, T. Blanchard, and N. Reeves. 1993. Serum urea nitrogen and conception rate: The usefulness of test information. *J. Dairy Sci.* 76: 3742-3746.
13. Grummer, R. R. and D. J. Carroll. 1991. Effects of dietary fat on metabolic disorders and reproductive performance of dairy cattle. *J. Anim. Sci.* 69: 3838-3852.
14. Harms, R. H. and C. F. Simpson. 1979. Serum and body characteristics of laying hens with fatty liver syndrome. *Poult. Sci.* 58: 1644-1646.
15. Hawkins, D. E., K. D. Niswender, G. M. Oss, C. L. Moeller, K. G. Odde, H. R. Sawyer and G. D. Niswender. 1995. An increase serum lipids increases luteal lipid content and alters the disappearance rate of progesterone in cows. *J. Anim. Sci.* 73: 541-545.
16. Iwai, K., N. Nakaya, Y. Kawasaki, and H. Matsue. 2002. Antioxidative functions of natto, a kind of fermented soybeans: effect on LDL oxidation and lipid metabolism in cholesterol-fed rats. *J. Agric. Food Chem.* 50: 3597-3601.
17. Japan Functional Food Research Association. 1999. "Fibrinolytic Activator of Nattokinase (in Japanese)", ART Co. Ltd., Tokyo.
18. Jordan, E. R., T. E. Chapman, P. E. Hoitan, and L. V. Swanson. 1983. Relationship of dietary crude protein to composition of uterine secretion and blood in high-producing postpartum dairy cows. *J. Dairy Sci.* 66: 1854-1862.
19. Kappel, L. C., R. H. Ingraham, E. B. Morgan, L. Zeringue, D. Wilson, and D. K. Babcock, 1984. Relationship between fertility and blood glucose and cholesterol concentrations in Holstein cows. *Anim. J. Vet. Res.* 45: 2607-2612.
20. Kweon, O. K., H. Ono, K. Osasa, M. Onda, K. Oboshi, H. Uchisugi, S. Kurosawa, H. Yamashina, and H. Kanagawa. 1986. Factors affecting serum total cholesterol level of lactating Holstein cows. *Nippon Juigaku Zasshi.* 48: 481-486.
21. Lammoglia, M. A., S. T. Willard, J. R. Oldham, and R. D. Randel. 1996. Effects of dietary fat and season on steroid hormonal profiles before parturition and on hormonal, cholesterol, triglycerides, follicular patterns, and postpartum reproduction in Brahman cows. *J. Anim. Sci.* 74: 2253-2262.
22. Lee, Y. N., M. J. Sin, and B. N. Kim. 1991. A study on the present state of traditional

- food. Kor. J. Dietary Culture. 6: 71-81.
23. Lumeij J. T. 1997. Avian clinical biochemistry. Pages 857-883 In: Clinical Biochemistry of Domestic Animals, 5th Ed. Kaneko JJ, Harvey JW, Bruss ML Ed. Academic Press, San Diego, CA.
 24. Oh, J. H., B. J. Lee, H. R. Paik, S. C. Jung, K. S. Baik, and S. K. Choi. 2009. Isolation of bacteria from chuggukjang prepared by rice straw and identification of protease secreted. J. Life Sci. 19: 397-402.
 25. Peng, H., J. Q. Wang, H. Y. Kang, S. H. Dong, P. Sun, D. P. Bu, and L. Y. Zhou. 2011. Effect of feeding *Bacillus subtilis* natto fermentation product on milk production and composition, blood metabolites and rumen fermentation in early lactation dairy cows. J. Anim. Physiol. Anim. Nutr(Berl). Jun 3. 21635575.
 26. Roseler, D. K., J. D. Ferguson, C. J. Sniffen, and J. Herrema. 1993. Dietary protein degradability effects on plasma and milk urea nitrogen and milk nonprotein nitrogen in Holstein cows. J. Dairy Sci. 76: 525-530.
 27. SAS. 2000. SAS/STAT® Software for PC. SAS Institute Inc., Cary, NC, USA.
 28. Sonderman, J. P. and L. L. Larson. 1989. Effect of dietary protein and exogenous gonadotropin releasing hormone on circulating progesterone concentrations and performance of Holstein cows. J. Dairy Sci. 72: 2179-2184.
 29. Sumi, H. 1987. Development of nattokinase and healthy natto (in Japanese). Bioindustry. 7: 725-731.
 30. Sumi, H., H. Hamada, H. Tsushima, H. Mihara, and H. Muraki. 1987. A novel fibrinolytic enzyme (Nattokinase) in the vegetable cheese Natto: A typical and popular soybean food in the Japanese diet. Experimentia. 43: 1110-1111.
 31. Sun, P., J. Q. Wang, and H. T. Zhang. 2010. Effects of *Bacillus subtilis* natto on performance and immune function of preweaning calves. J. Dairy Sci. 93: 5851-5855.
 32. Van Soest P. J. 1982. Nutritional ecology of the ruminant. Cornell University Press, Ithaca, NY., USA.
 33. Yokota, Y., T. Hattori, H. Ohishi, K. Hasegawa, and K. Watanabe. 1996. The effect of antioxidant-containing fraction from fermented soybean food on atherosclerosis development in cholesterol-fed rabbits. Lebensm. Wiss. u. Technol. 29: 751-755.