

농산부산물을 이용한 *In Vitro* 반추위발효 특성 및 적정 배합수준을 통한 옥수수 및 대두박 대체 효과

박중국^{1*} · 임동현¹ · 김상범¹ · 기광석¹ · 이현준¹ · 권응기¹ · 조원모¹ · 김창현²

¹농촌진흥청 국립축산과학원, ²한경대학교 동물생명환경과학부

Effects of Partial Replacement of Corn Grain and Soybean Meal with Agricultural By-Product Feeds on *In Vitro* Rumen Fermentation Characteristics and Optimum Levels of Mixing Ratio

Joong Kook Park^{1*}, Dong Hyun Lim¹, Sang Bum Kim¹, Kwang Seok Ki¹, Hyun June Lee¹, Eung Gi Kwon¹, Won Mo Cho¹ and Chang-Hyun Kim²

¹National Institute of Animal Science, R.D.A., #9 Eoryong-ri, Seonghwan-eup, Cheonan-si, Chungcheongnam-do, 331-801, Rep. of Korea, ²School of Animal Life and Environment Science, Hankyong National University, 327 Chungang-no, Anseong-si, Kyonggi-do, 456-749, Rep. Korea

ABSTRACT

This study was conducted to determine the effects of partial replacement of corn grain and soybean meal with agricultural by-product feeds on *in vitro* rumen fermentation characteristics and optimum levels of mixing ratio. The agricultural by-products to examine the effectiveness of the partial replacement of concentrate were wheat bran, corn gluten feed, bakery waste, soybean curd, rice bran, green kernel rice, soybean hull, distillers' grain, and mushroom substrate. In the first experiment, *in vitro* ruminal fermentation characteristics of feedstuffs were evaluated at 0, 3, 6, 12, 24, and 48 hours after incubation. In the second experiment, fermentation characteristics were investigated with green kernel rice and soybean curd which replaced corn grain or soybean meal. Feed were formulated with 40% corn grain + 20% soybean meal (T1), 40% corn grain + 17.5% soybean meal + 2.5% soybean curd (T2), 25% corn grain + 20% soybean meal + 15% green kernel rice (T3), and 30% corn grain + 15% soybean meal + 6% green kernel rice + 9% soybean curd (T4), respectively, with forage source of 10% alfalfa hay, 20% timothy hay, and 10% corn silage as fed-basis. In 24 and 48 hour cultivations, T4 showed significantly lower pH compared to T1, whereas in 3 and 24 hour cultivations, T4 showed significantly higher DM degradation compared to T1. In addition, the gas production of T3 was also higher than T1 ($p < 0.05$). Overall results of the present experiments indicated that green kernel rice and soybean curd as agricultural by-products have the possibility of partial replacements of corn grain and soybean meal.

(Key words : Rumen, By-product, Concentrate, Soybean curd, Green kernel rice)

서 론

축산농가의 사료비는 축산물 생산비의 60% 이상으로 높은 비중을 차지하고 있으며, 이에 따라 사료비를 절감하는 연구는 과거부터 현재까지 꾸준히 진행되고 있다. 국내에서 가축의 사료로 사용되는 농후사료의 경우, 2009년 기준 국내산 3,954천 톤과 비교하여 수입산이 22,599천 톤으로 자급률이 24%에 불과하며, 수입액은 약 30억 달러에 이르고 있다(Ministry for Feed, Agriculture, Forestry and Fisheries, 2010). 그러므로 축산농가의 사료비 절감

은 외화절약은 물론 농가의 소득증대에 직접적인 이익을 줄 수 있다.

한편, 반추가축을 대상으로 사료화가 가능한 국내 부존자원은 농산부산물, 유박류, 질류, 임산부산물, 산야초류 및 수염류 등이 있는 것으로 알려져 있다(Ministry for Food, Agriculture, Forestry and Fisheries, 2009b). 농산부산물 중에서 쌀의 도정 부산물인 미강, 청치 등과 대두의 가공과정에서 발생하는 대두피와 비지, 소맥의 가공과정에서 발생하는 소맥피 등이 농산부산물로 활용될 수 있다(McDonnel, 1982; Farrell, 1994; Goh 등, 2002). 이러한 농

* Corresponding author : Joong Kook Park, Dairy Science Division, National Institute of Animal Science, RDA, #9 Eoryong-ri, Seonghwan-eup, Cheonan-si, Chungcheongnam-do, 331-801, Rep. of Korea. Tel: +82-41-580-3399, Fax: +82-41-580-3419, E-mail: jkpark203@korea.kr

업 부산물의 사료자원으로써 이용은 환경오염 방지와 자원재활용이라는 차원에서 큰 역할을 담당하고 있다(Kwak and Yoon, 2003).

활용 가능한 농산부산물은 사료의 영양적 특성, 급여에 따른 가축의 증체효과 및 도체특성 등이 조사되어 있지만, 가장 많이 사용되는 농후사료인 옥수수 및 대두박과 비교하여 대체 수준에 관한 연구는 대두피(Ipharraguerre and Clark, 2003), 완두콩(Vander Pol 등, 2008), 주정박(Ranathunga 등, 2010)에 대해서 일부 연구보고가 있을 뿐, 국내에서는 다양한 연구가 진행되고 있지 않은 실정이다.

따라서 본 연구는 각각의 국내 농산부산물을 이용하여 *in vitro* 반추위 발효 특성을 조사하고 에너지 사료인 옥수수와 단백질 사료인 대두박과 유사한 반추위 발효특성을 나타내는 농산부산물을 선정하여 배합수준을 통한 적정 농후사료 대체 효과를 규명하기 위하여 수행하였다.

재료 및 방법

1. 실험사료 및 실험설계

본 연구를 수행하기 위하여 에너지원의 옥수수, 단백질원인 대두박과 비교하여 영양적 가치가 높다고 인정되는 9점의 원료사료(소맥피, 단백질, 제빵부산물, 비지, 미강, 청치, 대두피, 주정박 및 벼서부산물)를 선발하였으며, 성분은 Table 1과 같다. 각각의 원료사료는 전국 TMR 생산공장 편람(National Institute of Animal

Science, 2009)을 참고하여 천안에 위치한 TMR 공장 및 아산의 푸른들 영농조합법인으로부터 구입하여 사용하였다.

1차 실험에서는 *in vitro* 배양을 통해 각각 원료사료의 시간대별 반추위 발효특성을 평가하였으며, 옥수수 및 대두박과 유사한 발효 특성을 나타내는 원료사료 2종류를 선발하였다. 원료사료의 샘플 수, 에너지 및 단백질 함량을 고려하여 2회에 걸쳐 *in vitro* 배양 실험을 실시하였으며, 최종적으로 선발된 2종류의 원료사료는 다른 원료사료와 혼합한 조합구를 만들어 *in vitro* 배양을 통한 옥수수와 대두박의 대체효과를 조사하였다(Table 2). 2차 실험에서 옥수수와 대두박을 기본배합으로 하여, 알팔파, 티머시 건초 및 옥수수 사일리지를 조사료로 사용하였다(T1). T2구는 대두박을 비지로 2.5% 대체, T3구는 옥수수를 청치로 15% 대체하였으며, T4구는 옥수수와 대두박을 청치와 비지로 각각 10 및 5% 대체하여 *in vitro* 반추위 발효특성을 평가하였다.

2. *In vitro* 배양

반추위액 채취는 반추위 캐놀라가 장착된 Holstein 경산우(평균 체중 650 kg) 1두를 공시하였다. 공시축은 하루에 2회, 오전(08:00)과 오후(17:30)에 시판중인 농협사료 5 kg과 옥수수사일리지 5 kg를 급여하였으며 오차드그라스(*Dactylis glomerata* L.)를 무제한 급여하였다. 위액 채취는 실험당일 오전에 농후사료 급여 30분 전 채취하였으며, 채취된 위액은 4겹의 거즈로 여과 후 2ℓ 보온병(39℃)에 head space가 없도록 하여 bottle내 산소의 침입을 차단하였다. 채취된 위액은 외부온도에 따른 변화를 최소화하

Table 1. Chemical composition of feedstuffs in the experiment

Feedstuffs	Items ¹⁾							
	DM	CP	EE	CF	CA	NDF	ADF	NFC ²⁾
 % DM							
Corn grain	88.32	7.43	3.51	2.50	1.32	10.52	2.82	77.22
Soybean meal	90.33	45.30	1.95	6.00	7.01	14.03	8.09	31.71
Wheat bran	88.04	15.14	2.85	8.13	4.04	38.07	10.20	39.90
Corn gluten feed	92.64	19.33	1.35	9.83	8.26	35.38	11.69	35.68
Bakery waste	77.92	7.20	17.95	0.32	0.76	3.14	0.47	70.95
Soybean curd	13.44	22.30	4.34	15.60	3.47	33.86	19.45	36.03
Rice bran	87.14	13.62	19.47	7.37	9.19	23.82	10.78	33.90
Green kernal rice	84.75	7.35	2.86	1.66	1.57	7.46	2.30	80.76
Soybean hull	91.85	11.43	1.24	29.69	5.97	56.01	38.08	25.35
Distillers grain	24.06	24.55	2.75	15.27	15.27	43.00	23.42	14.43
Mushroom substrate	25.50	10.49	0.92	27.27	11.61	58.47	38.60	18.51

¹⁾ DM: dry matter, EE: ether extract, CP: crude protein, CF: crude fiber, CA: crude ash, NDF: neutral detergent fiber, ADF: acid detergent fiber, NFC: non fiber carbohydrate.

²⁾ NFC: nonfiber carbohydrates calculated as 100-(CP+EE+CA+NDF).

Table 2. Formulas and chemical composition of experimental diets

	T1	T2	T3	T4
..... Ingredient composition, % DM				
Corn grain	40.0	40.0	25.0	30.0
Soybean meal	20.0	17.5	20.0	15.0
Green kenneled rice	0.0	0.0	15.0	6.0
Soybean curd	0.0	2.5	0.0	9.0
Alfalfa hay	10.0	10.0	10.0	10.0
Timothy hay	20.0	20.0	20.0	20.0
Corn silage	10.0	10.0	10.0	10.0
..... Chemical composition, % DM				
Crude protein	15.94	15.37	15.93	15.38
Ether extract	2.42	2.48	2.33	2.54
Non fiber carbohydrate ¹⁾	45.04	45.14	45.57	43.82
Neutral detergent fiber	29.02	29.51	28.56	30.74
Acid detergent fiber	18.89	18.15	17.81	19.05
Rumen degradable protein ²⁾	9.97	9.57	10.00	9.54
NE _L ³⁾ , Mcal/d	15.76	15.85	15.71	15.80

¹⁾ Non fiber carbohydrates calculated as $100 - (CP + EE + CA + NDF)$.

^{2),3)} Rumen degradable protein and net energy for lactation were calculated according to NRC (2001).

기 위하여 신속하게 실험실로 운반하였다.

실험에 사용된 원료사료는 Wiley mill에서 1 mm 분쇄 후 각각 사용하였다. 1차 실험에서는 원료사료를 35 ml serum bottle에 0.2 g씩 3반복으로 하였으며, 2차 실험에서는 각 원료사료를 조합하여 시간대 별 0.4 g씩 3반복으로 사용하였다. 각 시간대 별 blank를 포함한 serum bottle을 준비 후, 배양개시 30분전 반추위액을 CO₂로 bubbling하여 pH를 6.5로 보정하고 McDougall's buffer solution (Troelsen and Donna, 1966)과 반추위액을 4:1로 혼합하여 rumen inoculum으로 사용하였다. 또한 위액의 회석 및 여과 전 과정동안 O₂ free CO₂를 분사하여 위액이 산소에 노출되지 않도록 혐기 상태를 유지하였다. 반추위액 주입 전 원료사료는 전자 저울에 소수점 넷째자리 까지 칭량하여 serum bottle에 투입하였다. Serum bottle에 buffer와 혼합된 위액을 20 ml 주입하고, 39 ± 0.5°C로 설정된 항온 배양기(DS-10, Dasol Scientific Co., Korea)에서 3, 6, 12, 24 및 48시간 배양 하였다.

3. 조사항목 및 실험방법

(1) 가스 발생량의 측정

발효가스 발생량 측정은 Williams 등(1996)과 Beuvinck 등(1992)의 방법을 이용하여 각 시간대별 모든 serum bottle을 항온

배양기에서 제거하여 약 5분 동안 실온에서 냉각시킨 후 발생된 가스의 압력에 의해 발생되는 뷰렛(burette)내 증류수의 이동부피를 눈금으로 측정하였다. 기질이 분해되면서 발생된 가스발생량을 ml/g substrate DM 단위로 환산하였다.

(2) 배양액의 pH 측정

가스발생량 측정이 종료된 serum bottle을 개봉하여 원심분리용 micro tube에 상층액을 회수하였으며 회수된 상층액은 원심분리기(3000 × g)에서 15분간 원심분리한 후 pH meter (Gmbh8603, Mettler-Toledo, Switzerland)를 이용하여 pH를 측정하였다.

(3) 배양액내 암모니아태 질소 측정

배양액 내 암모니아 측정은 Chaney와 Mabach (1962)의 방법으로 3, 6, 12, 24 및 48시간 동안 배양한 serum bottle에서 상층액을 각각 채취하였다. 채취한 배양액을 원심분리기(13,000 rpm)에서 5분 동안 원심분리 하여 얻어진 상층액과 NH₃ standard를 각각 0.02 ml 씩 20 ml 시험관에 넣고, blank tube에는 멸균 증류수를 넣어주었다. 각각의 sample, standard 및 blank를 넣은 시험관에 phenol 50 g과 sodium nitroferrocyanide [Na₂Fe(CN)₅NO · 2H₂O] 0.25 g를 증류수 1L에 혼합 제조한 phenol color reagent를 1 ml씩 첨가하였다. 1 ml의 phenol color reagent를 첨가한 후

각각의 시험관에 (NaOH) 25 g과 sodium hypochloride (4~6% NaCl) 16.8 ml를 멸균 증류수 1 L를 넣어서 제조한 alkali-hypochlorite를 1 ml씩 첨가하였다. 첨가 후 37°C 항온 수조에서 15분간 배양하여 발색 시킨 후 증류수를 8 ml 씩을 넣어 희석하였다. 이후 spectrophotometer를 이용하여 640 nm에서 흡광도 (optical density)를 측정하였다.

(4) VFA 분석

배양액내 VFA는 Erwin 등 (1961)의 방법에 의해 수행 되었다. pH 측정 후 VFA를 측정할 배양액은 microtubes (MCT-175-C, Axygen, USA)에 1 ml씩 회수한 후 미생물의 작용을 정지하기 위해 0.1 ml의 포화 HgCl₂ 용액과 25% HPO₃ 용액 0.2 ml를 첨가하여 혼합 후 실온에서 30분간 정치시켰다. 실온에서 정치시킨 배양액은 -20°C의 냉동고에 보관 하였다가 분석 시 13,000 rpm에서 10분간 4°C의 원심분리 튜브를 이용하여 원심분리 한 후 상층액을 채취하였으며, gas chromatography (GC-14A, Shimadzu, Japan)를 이용하여 측정하였다.

(5) 건물 분해율의 측정

배양이 완료된 serum bottle의 가스측정을 완료한 후 개봉하여 상층액을 회수하였다. 회수된 상층액의 남아있는 잔유물을 glass microanalysis filter holder assembly (No. 097531C, Fisher Scientific, USA)에 filter paper (Whatman No. 1, Whatman, UK)로 여과한 후 80°C의 drying oven에서 48시간 건조 및 칭량하여 건물 분해율을 측정하였다.

4. 통계분석

시간대별 (0, 3, 6, 12, 24 및 48시간) 배양액을 이용한 처리간 3반복을 통해 얻어진 모든 결과들은 SAS package (SAS Institute, Cary, NC)의 GLM (General Linear Model)을 이용하여 분석하였으며, Duncan's multiple range test에 의해 처리 평균간 유의성 ($p < 0.05$)을 검증하였다.

결과 및 고찰

1. 일반성분, NDF 및 ADF

실험에 사용한 원료사료의 화학적 성분 분석결과는 Table 1과 같다. 조단백질 함량은 대두박 (45.30%), 주정박 (24.55%), 비지 (22.30) 순으로 높았으며, 비섬유성 탄수화물 함량은 청치 (80.76%), 옥수수 (77.22%), 제빵부산물 (70.95%) 순으로 높은 함량을 나타냈다. 특히, 제빵부산물은 조지방 함량이 17.95%로 높은 특성을 나타냈다.

부산물 발생량의 경우, 연중 일정하게 이용할 수 있을 정도의 부산물도 있지만 대부분의 부산물 특성상 계절적인 발생량 차이로 인

해 안정적인 사용이 불가능하다. 또한 사료원료로 이용할 경우 연 속성이 떨어져 원료 변동 시 다른 원료로의 대체가 필요로 하게 되고 매번 사용원료의 성분분석 및 사양프로그램의 조정이 필요하게 된다. 그 밖에도 영양적 변이가 큰 부산물 또한 사료배합에 문제가 될 수 있다. 따라서 본 실험에 사용한 농산부산물은 사료이용의 편의를 위해 지역적 고른 생산, 생산량 및 영양소 함량을 고려하여 곡물사료를 일부 대체할 수 있는 부산물을 선별하였다.

쌀 생산량은 2010년 기준 약 430만 톤이며 (Statistics Korea, 2010), 그 중 도정 부산물 (미강, 청치, 싸라기)은 약 6~7% 수준이 발생된다. 우리나라와 같이 쌀을 주식으로 하는 아시아 지역에서 가장 많이 발생되며, 그 부산물 생산량은 국내에서 생산되는 농산 부산물 중 높은 비중을 차지하고 있다. 특히, 미강은 현미를 백미로 도정하는 과정에서 분리되는 부산물로 그 중 일부는 사료 원료로 이용되고 있다. Farrell (1994)은 미강에 지방과 전분 함량이 많아 에너지 함량이 높다고 보고하였으며, White와 Hembry (1985)는 미강이 가축의 사료로서 단백질, 에너지 및 무기물 공급 원료로 우수하다고 하였다. 또한 청치는 현미에 섞여 덜 여물어 푸른 빛깔을 띤 쌀알로 최근 친환경 경종업을 통해 미강 및 싸라기와 더불어 다량 배출된다. 이러한 농산부산물은 일부 유기사료의 원료로 TMR 배합사료에 이용되기도 한다 (Ministry for Food, Agriculture, Forestry and Fisheries, 2009a; Park and kim, 2010).

소맥피, 단백피 및 대두피는 소화가 용이한 섬유질로 구성되어 있고 특히, 대두피의 경우 고능력을 대상으로 많은 양의 우유를 생산하기 위해 비유초기에 급여하는 것이 바람직하다고 보고된 바 있다 (Vendramini and Arthington, 2009). 또한 단백질 함량이 높은 비지를 혼합한 사료를 급여하면 주정박 또는 대두박 함유사료에 비하여 산유량 및 비효율이 더 우수하며, 사료의 대체수준은 최대 15~20% 까지 가능하다고 하였다 (Chiou 등, 1998). 본 연구에서 NFC 함량은 대표적 에너지원인 옥수수 (77.22%)와 비교하여 청치 (80.76%)는 오히려 높았으며, 제빵부산물이 70.95%로 높은 함량을 나타냈다. 또한 조단백질 함량은 단백질원인 대두박 (45.30%)과 비교하여 주정박 (24.55%), 비지 (22.30%), 단백피 (19.33%) 및 소맥피 (15.14%) 순으로 조단백질 함량이 15% 이상을 나타냈다.

2. 원료사료의 *in vitro* 발효특성

원료사료의 시간대별 pH와 가스발생량은 Table 3 및 4와 같다. 대두피의 경우, 배양 후 6시간부터 다른 원료사료와 비교하여 pH 변화가 완만하게 감소하였으며, 미강 역시 24시간부터 48시간까지 완만한 감소를 나타내었다. 배양 후 48시간에 대두피, 미강, 비지 순으로 pH가 높았으며, 옥수수와 청치는 다른 원료사료와 비교하여 유의하게 낮은 pH를 나타내었다 ($p < 0.05$). 또한, 대두박과 비교하여 버섯배지를 제외하고 단백피, 소맥피, 주정박 및 제빵부산물에서 유의하게 낮은 pH를 나타내었다 ($p < 0.05$). Sievert와 Shaver

Table 3. Effects of feedstuffs on *in vitro* ruminal pH value in experiment 1

Incubation time	CG	GKR	RB	SH	SC	SEM ¹⁾	
0 hr	7.03 ^a	7.04 ^a	7.03 ^a	7.02 ^{ab}	7.00 ^b	0.005	
3 hr	6.97 ^b	7.01 ^a	6.93 ^c	7.04 ^a	6.98 ^b	0.010	
6 hr	6.89 ^c	6.93 ^b	6.87 ^d	6.97 ^a	6.92 ^b	0.009	
12 hr	6.76 ^{bc}	6.78 ^b	6.74 ^c	6.92 ^a	6.66 ^d	0.023	
24 hr	6.52 ^d	6.56 ^c	6.68 ^b	6.83 ^a	6.58 ^c	0.030	
48 hr	6.28 ^e	6.34 ^d	6.61 ^b	6.67 ^a	6.39 ^c	0.041	
Incubation time	SM	CGF	WB	DGS	MS	BW	SEM ¹⁾
0 hr	6.95 ^{bc}	6.93 ^c	7.00 ^a	6.99 ^a	6.99 ^a	6.97 ^{ab}	0.007
3 hr	6.93 ^b	6.90 ^c	6.87 ^d	6.92 ^{bc}	6.98 ^a	6.84 ^c	0.010
6 hr	6.88 ^b	6.88 ^b	6.81 ^c	6.89 ^b	6.97 ^a	6.66 ^d	0.024
12 hr	6.77 ^b	6.72 ^c	6.66 ^d	6.77 ^b	6.95 ^a	6.56 ^e	0.031
24 hr	6.74 ^b	6.56 ^d	6.56 ^d	6.69 ^c	6.87 ^a	6.37 ^e	0.039
48 hr	6.79 ^b	6.43 ^e	6.48 ^d	6.68 ^c	6.84 ^a	6.39 ^f	0.043

Abbreviated CG; corn grain, GKR; green keneled rice, RB; rice bran, SH; soybean hull, SC; soybean curd, SM; soybean meal, CGF; corn gluten feed, WB; wheat bran, DGS; distillers grain with soluble, MS; mushroom substrate, BW; bakery waste.

¹⁾ SEM, standard error of means.

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

Table 4. Effects of feedstuffs on *in vitro* gas production (mL/g DM) in experiment 1

Incubation time	CG	GKR	RB	SH	SC	SEM ¹⁾	
3 hr	5.45 ^{ab}	4.50 ^{cd}	6.05 ^a	4.00 ^d	5.00 ^{bc}	0.292	
6 hr	9.50 ^a	7.80 ^d	8.60 ^c	5.80 ^e	8.90 ^b	0.485	
12 hr	14.90 ^b	14.80 ^b	11.65 ^c	9.00 ^d	19.50 ^a	1.274	
24 hr	26.15 ^b	27.50 ^a	14.30 ^d	15.80 ^c	27.20 ^{ab}	2.430	
48 hr	29.70 ^a	30.50 ^a	15.75 ^c	17.00 ^c	27.00 ^b	2.675	
Incubation time	SM	CGF	WB	DGS	MS	BW	SEM ¹⁾
3 hr	6.50 ^b	6.77 ^b	8.50 ^a	5.43 ^c	4.00 ^d	8.03 ^a	0.372
6 hr	12.63 ^b	10.80 ^c	14.00 ^a	8.80 ^d	4.67 ^c	13.70 ^a	0.791
12 hr	19.37 ^c	17.63 ^d	21.47 ^a	14.40 ^e	7.90 ^f	20.10 ^b	1.109
24 hr	26.87 ^a	26.17 ^{ab}	26.83 ^a	18.20 ^c	13.53 ^d	25.77 ^b	1.255
48 hr	36.00 ^c	37.53 ^b	38.73 ^a	24.93 ^e	22.07 ^f	35.33 ^d	1.568

Abbreviated CG; corn grain, GKR; green keneled rice, RB; rice bran, SH; soybean hull, SC; soybean curd, SM; soybean meal, CGF; corn gluten feed, WB; wheat bran, DGS; distillers grain with soluble, MS; mushroom substrate, BW; bakery waste.

¹⁾ SEM, standard error of means.

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

(1990)의 보고에 의하면 사료내 비섬유성탄수화물(NFC, non fiber carbohydrate) 함량이 34% 보다 42%에서 반추위 pH를 감소시킨다고 하였으며, 사료내 NFC 비율의 증가는 반추위내 전분의 급격한 발효로 인해 pH가 낮아지는 것으로 알려져 있다(Valadares 등, 1999). 본 연구에서도 pH 변화는 원료사료내 NFC 함량의 영향이 가장 큰 것으로 판단되며, 앞선 연구와 일치하였다.

In vitro 가스 발생량 분석은 사료의 발효 특성 즉, 분해율을 평가하는 간접적 지표로 알려져 있고(Theodorou 등, 1994; 1998), 기질의 발효정도에 따라 가스 발생량이 변화하여 건물분해율과 가스발생량의 상관관계가 높은 것으로 보고되었다(Beuvink 등, 1992). 1차 실험의 첫 번째 실험에서 가스발생량은 배양 후 12시간까지 비지, 옥수수, 청치 순으로 높았으며, 24시간 후 청치, 비지

및 옥수수에서 미강 및 대두피와 비교하여 유의하게 증가하였다 ($p<0.05$). 두 번째 실험에서는 소맥피가 전체 배양시간 동안 다른 원료와 비교하여 가장 증가하였으며, 주정박과 벼서배지는 가스발생량이 가장 낮았다 ($p<0.05$). 건물분해율 또한 가스발생량과 동일한 결과로 1차 첫 번째 실험에서 비지가 12시간에서 48시간

까지 가장 높았으며 (Table 5), 두 번째 실험에서는 대두박이 전체 배양시간 동안 건물분해율이 가장 높았다. 따라서 본 실험에서도 가스발생량과 건물분해율의 상관관계가 높은 것으로 나타났다 (Table 6).

암모니아태 질소 농도는 첫 번째 실험에서 배양 후 6시간을 제

Table 5. Effects of feedstuffs on *in vitro* DM degradation (%) in experiment 1

Incubation time	CG	GKR	RB	SH	SC	SEM ¹⁾	
0 hr	14.75 ^c	4.85 ^d	32.43 ^a	22.41 ^b	22.89 ^b	2.496	
3 hr	10.55 ^c	13.07 ^c	38.85 ^a	24.93 ^b	25.18 ^b	2.724	
6 hr	20.53 ^c	16.70 ^c	49.70 ^a	31.33 ^b	25.70 ^{bc}	3.478	
12 hr	39.66 ^{bc}	34.61 ^c	55.00 ^a	41.64 ^b	50.78 ^a	2.172	
24 hr	63.80 ^{ab}	67.31 ^a	56.49 ^b	54.49 ^b	70.34 ^a	2.140	
48 hr	84.68 ^a	83.25 ^a	63.59 ^b	53.32 ^c	79.58 ^a	3.352	
Incubation time	SM	CGF	WB	DGS	MS	BW	SEM ¹⁾
0 hr	28.92 ^{bc}	34.63 ^b	24.85 ^c	10.79 ^e	18.12 ^d	43.91 ^a	2.695
3 hr	43.95 ^a	34.84 ^b	32.77 ^b	26.23 ^b	27.92 ^b	45.30 ^a	2.096
6 hr	51.79 ^a	40.51 ^b	41.61 ^b	25.74 ^c	30.11 ^c	46.69 ^{ab}	2.432
12 hr	63.91 ^a	54.23 ^b	62.45 ^a	35.06 ^c	31.80 ^c	58.95 ^{ab}	3.205
24 hr	86.95 ^a	78.42 ^b	76.32 ^b	55.35 ^c	44.41 ^d	76.68 ^b	3.706
48 hr	96.77 ^a	91.55 ^b	86.78 ^c	61.76 ^d	52.85 ^e	84.03 ^c	3.914

Abbreviated CG; corn grain, GKR; green kernal rice, RB; rice bran, SH; soybean hull, SC; soybean curd, SM; soybean meal, CGF; corn gluten feed, WB; wheat bran, DGS; distillers grain with soluble, MS; mushroom substrate, BW; bakery waste.

¹⁾ SEM, standard error of means.

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

Table 6. Effects of feedstuffs on *in vitro* ammonia-N concentration (mg/dl) in experiment 1

Incubation time	CG	GKR	RB	SH	SC	SEM ¹⁾	
0 hr	5.08	5.36	5.23	5.74	4.98	0.181	
3 hr	5.39 ^d	6.84 ^{cd}	11.12 ^b	7.56 ^c	19.87 ^a	1.316	
6 hr	1.37 ^d	2.50 ^{cd}	21.21 ^a	6.32 ^c	14.93 ^b	2.103	
12 hr	1.40 ^c	1.45 ^c	13.63 ^a	4.92 ^b	11.77 ^a	1.415	
24 hr	3.50 ^d	2.47 ^d	18.41 ^b	10.31 ^c	24.51 ^a	2.320	
48 hr	15.61 ^d	16.74 ^d	32.60 ^b	22.42 ^c	50.82 ^a	3.516	
Incubation time	SM	CGF	WB	DGS	MS	BW	SEM ¹⁾
0 hr	11.22 ^b	18.70 ^a	11.78 ^b	10.88 ^{bc}	6.34 ^d	8.20 ^{cd}	0.988
3 hr	13.66 ^c	9.12 ^d	24.54 ^b	16.94 ^c	30.00 ^a	8.87 ^d	2.051
6 hr	41.18 ^a	38.82 ^a	26.02 ^b	10.36 ^c	26.48 ^b	5.00 ^d	3.270
12 hr	57.07 ^a	28.31 ^b	28.21 ^b	17.71 ^c	29.26 ^b	12.00 ^c	3.522
24 hr	139.79 ^a	55.57 ^b	45.81 ^c	42.55 ^{cd}	35.89 ^d	14.74 ^c	9.646
48 hr	205.10 ^a	88.88 ^b	80.64 ^b	80.88 ^b	48.82 ^c	38.75 ^d	13.235

Abbreviated CG; corn grain, GKR; green kernal rice, RB; rice bran, SH; soybean hull, SC; soybean curd, SM; soybean meal, CGF; corn gluten feed, WB; wheat bran, DGS; distillers grain with soluble, MS; mushroom substrate, BW; bakery waste.

¹⁾ SEM, standard error of means.

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

외하고 비지에서 가장 높았으며 ($p < 0.05$), 그 다음으로 미강, 대두 피 순으로 높게 나타났다. 반면, 암모니아태 질소가 가장 낮은 청치와 옥수수는 단백질 함량이 7.35 및 7.43%로 비슷하였다. 이러한 결과는 원료내 조단백질 함량에 따라 암모니아태 질소 농도가 일치하는 것으로 반추위내 미생물 활성의 증가로 인해 사료 단백질 분해가 증가하여 암모니아태 질소 농도가 증가했다는 보고 (Hristov 등, 1998; 2000)와 일치하였다. 두 번째 실험에서는 배양 후 3시간에 버섯배지의 암모니아태 질소 농도가 가장 높았으나, 6시간 이후 대두박의 암모니아태 질소 농도가 크게 증가하였다 ($p < 0.05$). 전체적으로 버섯배지와 제빵 부산물이 가장 낮은 반면, 대두박이 가장 높았다 ($p < 0.05$). 따라서 본 실험에서 각 원료사료와 농산부산물의 *in vitro* 반추위 발효 특성을 조사한 결과, 옥수수 및 대두박과 비교하여 반추위 pH, 가스발생량, 건물분해율에서 청치와 비지가 유사한 발효특성을 나타냈다.

3. 배합사료의 *in vitro* 발효특성

각 원료사료의 배합수준에 따른 *in vitro* 반추위 pH, 가스발생량, 암모니아태 질소 및 건물 분해율은 Fig. 1과 같다. 반추위내

pH는 평균 6.94 (0 h)에 개시되어 24시간에 모든 처리구에서 6.0 이하로 낮아졌다. 또한 12시간 까지 모든 처리구에서 유의한 차이를 나타내지 않았지만, 24시간과 48시간에 T4구 (5.80~5.70)에서 T1구 (5.90~5.76)와 비교하여 유의하게 낮은 pH를 보였다 ($p < 0.05$). 연구 보고에 의하면 미생물단백질 생산은 사료내 10~13%의 RDP (Hoover and Stokes, 1991)와 35~42% NFC (Lykos 등, 1997)를 함유할 때 증가되며 또한, 사료내 에너지 밀도를 증가시켜 산유량 및 유단백질 향상을 증가시킨다고 하였다. 하지만, 생산성이 높은 고능력우의 경우, 분해속도가 높은 곡류사료의 비율이 높아 반추위내 pH가 6.0 이하로 낮아져 산중독증을 유발하는 것으로 보고되고 있다 (Slyter, 1976).

가스발생량은 6시간 까지 T4구에서 가장 높았으며, 24 및 48시간에서는 T3구가 가장 높았다 ($p < 0.05$). 한편, 암모니아태 질소 농도는 12시간 이후 모든 처리구에서 급격히 증가하였으며 12 및 24시간까지 T2구 (2.62~18.80)에서 T1구 (4.91~21.09)와 비교하여 유의하게 감소하였다 ($p < 0.05$). 하지만 48시간에서는 모든 처리구에서 유의한 차이를 나타내지 않았다. 건물분해율은 배양초기 (3 h)에 T1구에서 가장 낮았으며, 배양후기 (24 h)에 T4구에서 가장 높았다 ($p < 0.05$).

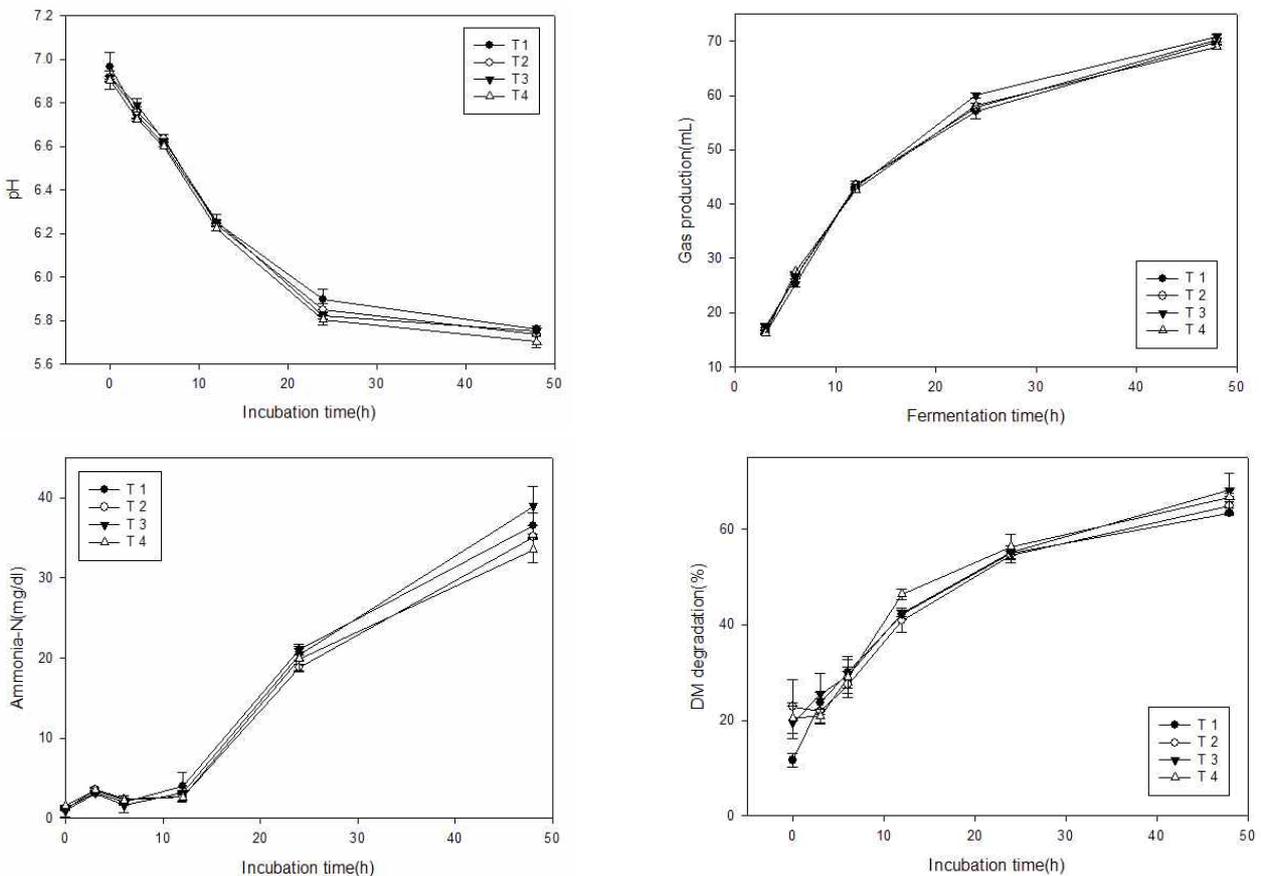


Fig. 1. Effects of substitution levels of concentrate with by-products on *in vitro* pH, gas production, ammonia-N, and DM degradation in experiment 2
Treatments are the same as describe in Table 2.

Table 7. Effects of substitution levels of concentrate with by-products on *in vitro* volatile fatty acid production (mM) in experiment 2

Incubation time	Treatments ¹⁾				SEM ²⁾
	T1	T2	T3	T4	
 Acetic acid				
0 hr	30.90	33.07	33.10	32.93	0.443
3 hr	47.59 ^a	47.96 ^a	47.16 ^a	46.02 ^b	0.256
6 hr	52.03 ^c	53.36 ^{bc}	55.11 ^{ab}	56.39 ^a	0.559
12 hr	67.90	66.77	66.07	68.04	0.445
24 hr	78.34 ^{ab}	74.93 ^b	86.51 ^a	83.70 ^{ab}	1.898
48 hr	91.22 ^{ab}	88.01 ^b	92.71 ^a	92.14 ^a	0.722
 Propionic acid				
0 hr	6.78	7.40	7.29	7.11	0.109
3 hr	11.84	11.94	11.82	11.79	0.042
6 hr	13.87 ^c	14.39 ^{bc}	14.76 ^b	15.55 ^a	0.206
12 hr	19.89 ^a	19.39 ^{bc}	19.13 ^c	19.60 ^{ab}	0.103
24 hr	23.77	22.93	25.59	25.14	0.475
48 hr	27.74	27.85	27.97	28.28	0.152
 Butyric acid				
0 hr	4.25 ^b	4.59 ^a	4.61 ^a	4.40 ^{ab}	0.062
3 hr	6.69	6.68	6.56	6.45	0.047
6 hr	8.44 ^c	8.86 ^{bc}	9.11 ^{ab}	9.35 ^a	0.115
12 hr	14.72 ^a	14.06 ^b	14.17 ^b	13.45 ^c	0.142
24 hr	19.71 ^b	19.35 ^b	22.30 ^a	20.09 ^{ab}	0.464
48 hr	24.59	25.26	25.46	24.20	0.245

¹⁾ Treatments are the same as describe in Table 2.

²⁾ SEM, standard error of means.

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

청치 및 비지 첨가비율에 따른 휘발성지방산 농도는 Table 7과 같다. Acetate 농도는 3시간에 T4구에서 가장 낮았으나, 배양시간이 지날수록 T2구에서 T3구 또는 T4구와 비교하여 유의하게 낮았다 ($p < 0.05$). 반추위 acetate 농도는 사료중 섬유질 사료가 섬유소 박테리아에 의한 발효작용으로 생성되는 최종산물이다 (Hutjens, 1998). 비록 배양시간대별 유의한 차이는 있었지만, 전체 배양시간에서 높은 농도차이가 나타나지 않은 이유는 모든 처리구에서 조사료로 사용한 알팔파 건초, 티머시 건초 및 옥수수 사일리지 함량을 동일하게 조정해 주었기 때문이라 판단된다. 한편, propionate와 butyrate 농도는 6시간에 T1구가 가장 낮았지만, 12시간에는 가장 높았다 ($p < 0.05$). 또한 48시간에는 모든 처리구에서 유의한 차이를 보이지 않았다.

결과적으로 농산부산물인 청치와 비지의 사용은 옥수수과 대두박을 일부 대체하기 위해 사용가능할 것으로 판단되며, 앞으로 사양 실험을 통해 추가적인 연구가 필요할 것으로 생각된다.

요 약

본 연구는 국내 농산부산물을 이용하여 *in vitro* 반추위 발효 특성을 조사하고 에너지 사료인 농후사료와 유사한 반추위 발효특성을 나타내는 농산부산물을 선정하여 최적배합수준을 통한 농후사료 대체 효과를 규명하기 위하여 수행하였다. 본 연구를 수행하기 위하여 국내에서 다량 생산되는 9점의 부산물(소맥피, 단백피, 제빵 부산물, 비지, 미강, 청치, 대두피, 주정박, 버섯배지)을 선발하였다. 1차 실험에서는 *in vitro* 배양을 통해 각각 원료사료의 시간대별 (0, 3, 6, 12, 24, 48 h) 반추위 발효특성을 평가하였으며, 옥수수 및 대두박과 유사한 발효특성을 나타내는 원료사료 2종류를 선발하였다. 최종적으로 선발된 2종류의 원료사료는 다른 원료사료와 혼합한 조합구를 만들어 *in vitro* 배양을 통한 옥수수와 대두박의 대체효과를 평가하였다. 실험설계는 옥수수와 대두박을 기본배합으로 하여, 알팔파, 티머시 건초 및 옥수수수일리지를 조사료로 사용

하였다(T1). T2구는 대두박을 비지로 2.5% 대체, T3구는 옥수수를 청치로 15% 대체하였으며, T4구는 옥수수와 대두박을 청치와 비지로 각각 10 및 5% 대체하여 *in vitro* 반추위 발효특성을 평가하였다. 각 원료사료와 농산부산물의 *in vitro* 반추위 발효 특성을 조사한 결과, 옥수수 및 대두박과 유사한 발효특성을 나타내는 농산부산물로 청치와 비지를 선정하였다. 2차 실험에서는 pH의 경우, T4구에서 T1구와 비교하여 유의하게 낮았으며, 가스발생량은 T3구에서 T1구와 비교하여 유의하게 높았다($p<0.05$). 또한 건물 분해율은 3 및 24시간에 T4구에서 T1구와 비교하여 높았다($p<0.05$). 결과적으로 농산부산물인 청치와 비지의 사용은 옥수수와 대두박을 일부 대체하기 위해 사용가능할 것으로 판단된다.
(주제어: 반추위, 부산물, 농후사료, 청치, 비지)

사 사

본 연구는 2011년도 농촌진흥청 국립축산과학원 박사후 연수과정 지원사업에 의해 이루어진 것으로 연구비 지원에 감사드립니다.

인 용 문 헌

- Beuvink, J. M., Spoelstra, S. F. and Hogendorp, R. J. 1992. An automated method of measuring the time course of gas production of feedstuffs incubated with buffered rumen fluid. *Neth. J. Agri. Sci.* 40:401-407.
- Chaney, A. L. and Marbach, E. P. 1962. Modified reagents for determination of urea and ammonia. *Clin. Biochem.* 8:130-132.
- Chiou, P. W. S., Chen, C. R., Chen, K. J. and Yu, B. 1998. Wet brewer's grains or bean curd pomace as partial replacement of soybean meal for lactating cows. *Anim. Feed Sci. Technol.* 74:123-134.
- Erwin, E. S., Marco, S. J. and Emery, E. M. 1961. Volatile fatty acid analysis of blood and rumen fluid by gas chromatography. *J. Dairy Sci.* 44:1768-1771.
- Farrell, D. J. 1994. Utilization of rice bran in diets for domestic fowl and duckling. *World's Poult. Sci. J.* 50:115-131.
- Goh, B. D., Song, Y. H., Nakanishi, Y. and Manda, M. 2002. Effects of partial replacement of concentrate with soybean curd residue and Korean medical herb waste and feeding regime on nutrient digestibility and eating/resting behavior in sheep. *Jpn. J. Livest. Management.* 37:1342-1131.
- Hoover, W. H. and Stokes, S. R. 1991. Balancing carbohydrates and proteins for optimum rumen microbial yield. *J. Dairy Sci.* 74:3630-3644.
- Hristov, A. N., McAllister, T. A. and Cheng, K. J. 1998. Effect of dietary or abomasal supplementation of exogenous polysaccharide-degrading enzymes on rumen fermentation and nutrient digestibility. *J. Anim. Sci.* 76:3146-3156.
- Hristov, A. N., McAllister, T. A. and Cheng, K. J. 2000. Intraruminal supplementation with increasing levels of exogenous polysaccharide-degrading enzymes: effects on nutrient digestion in cattle fed a barley grain diet. *J. Anim. Sci.* 78:477-487.
- Hutjens, M. 1998. Feeding guide. Hoard's dairy man, W. D. Hoards & Sons Co.
- Ipharraguerre, I. R. and Clark, J. H. 2003. Soyhulls as an Alternative Feed for Lactating Dairy Cows: a review. *J. Dairy Sci.* 86:1052-1073.
- Kwak, W. S. and Yoon, J. S. 2003. On-site output survey and feed value evaluation in agro-industrial by-products. *J. Anim. Sci. & Technol. (kor).* 45:251-264.
- Lykos, T., Varga, G. A. and Casper, D. 1997. Varying degradation rates of total non-structural carbohydrates: Effects on ruminal fermentation, blood metabolites, and milk production and composition in high producing Holstein cows. *J. Dairy Sci.* 80:3341-3355.
- McDonnell, M., Klopfenstein, T. and Merrill, J. 1983. Soybean hulls can replace corn in growing rations. *Beef cattle Report.* University of Nebraska. MP. 44:17-18.
- Ministry for Food, Agriculture, Forestry and Fisheries. 2009a. Establishment of a feeding system and forage production technology for dairy goats in organic farming. pp. 65-71.
- Ministry for Food, Agriculture, Forestry and Fisheries. 2009b. Exploitation of organic feedstuffs in Korea and their data-base construction and development of both optimum organic feed processing and their feeding methods for organic animals. pp. 28-30.
- Ministry for Feed, Agriculture, Forestry and Fisheries. 2010. Statistics of Food, Agriculture, Forestry and Fisheries. pp. 362-364.
- National Institute of Animal Science, RDA. 2009. Handbook of TMR(total mixed ration) manufacturing plant in Korea.
- Park, J. K. and Kim, C. -H. 2010. Effects of organic feed containing rice bran and soybean hull on milk production of mid-lactation dairy goats. *Kor. J. Organ. Agric.* 18:599-612.
- Ranathunga, S. D., Kalscheur, K. F., Hippen, A. R. and Schingoethe, D. J. 2010. Replacement of starch from corn with nonforage fiber from distillers grains and soyhulls in diets of lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 93:1086-1097.
- SAS. 2000. SAS/STAT[®] Software for PC. SAS Institute Inc., Cary, NC, USA.
- Sievert, S. J. and Shaver, R. D. 1990. Effects of nonfiber carbohydrate level and *Aspergillus oryzae* fermentation extract on intake, milk production, and digestion in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 73(Suppl, 1):127.(Abstr).

- Statistics Korea. 2010. <http://kostat.go.kr>
- Theodorou, M. K., Daivies, D. R., Nielsenm, B. B., Lawrence, M. I. G. and Trinci, A. P. J. 1998. Principles of techniques that rely on gas measurement in ruminant nutrition. In: *In vitro* Techniques for Measuring Nutrient Supply to Ruminants. (Ed. Deaville, E. R., Owen, E., Adesogan, A. T., Remyer, C., Huntington, J. A. and Lawrence, T. L. J). Occasional publication, No. 22. British Society of Animal Science, UK. pp. 55-63.
- Theodorou, M. K., Williams, B. A., Dhanoa, M. S., McAllan, A. B. and France, J. 1994. A simple gas production method using a pressure transducer to determine the fermentation kinetics of ruminant feeds. *Anim. Feed Sci. Technol.* 48:185-197.
- Troelsen, J. E. and Donna, H. J. 1966. Ruminant digestion *in vitro* as affected by inoculum donor collection day, and fermentation time. *Can. J. Anim. Sci.* 46:149-156.
- Valadares, R. F. D., Broderick, G. A., Valadares Filho, S. C. and Clayton, M. K. 1999. Effect of replacing alfalfa silage with high moisture corn on ruminal protein synthesis estimated from excretion of total purine derivatives. *J. Dairy Sci.* 82:2686-2696.
- Vander Pol, M., Hristov, A. N., Zaman, S. and Delano, N. 2008. Peas can replace soybean meal and corn grain in dairy cow diets. *J. Dairy Sci.* 91:698-703.
- Vendramini, J. M. B. and Arthington, J. D. 2009. Effects of soybean hull additions to molasses supplements on performance of primiparous beef cows. *Prof. Anim. Sci.* 25:118-123.
- White, T. W. and Hembry, F. G. 1985. Rich by-products in ruminant rations. Louisiana Agricultural Experiment Station. *Bull.* 771:1-18.
- Williams, A., Amat-Marco, M. and Collins, M. D. 1996. Pylogenetic analysis of *Butyrivibrio* strains reveals three distinct groups of species within the Clostridium subphylum of the Gram-positive bacteria. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 46:195-199.

(Received May 27, 2011; Revised Oct. 20, 2011; Accepted Oct. 21, 2011)