

항생제 대체제로서 Dicarboxylic Acid 급여가 *in vitro* 반추위 발효성상, 착유우의 유량 및 유성분에 미치는 영향

남인식* · 안용대* · 정기환** · 안종호***

Effects of Dicarboxylic Acid as an Alternative to Antibiotic on *in vitro* Rumen Parameters, Milk yield and Milk Compositions in Lactating Cows

Nam, In-Sik · Ahn, Yong-Dae · Jeong, Ki-Hwan · Ahn, Jong-Ho

This study was undertaken to investigate the effects of dicarboxylic acid supplementation, as replacement antibiotics, of on *in vitro* ruminal parameters and milk yield and milk composition in lactating cows. *in vitro* treatments were 1) Con (4 g of basal diet), 2) CM (4 g of basal diet + 0.05 ml of monensin), 3) CR (4 g of basal diet + 0.1 ml of dicarboxylic acid) and *in vivo* treatments were 1) Con (25 kg of basal diet/head/day), and 2) CR (25 kg of basal diet + 5 g of dicarboxylic acid/head/day), respectively. A total 10 lactating dairy cows (649±19 kg average body weight, 99±65 average milking days) were divided in to two groups according to mean milk yield and number of days of postpartum. The cows fed a basal diet during adaptation (2 wk) and experimental diets during the treatment periods (4 wk). In the first *in vitro* experiment, there were no statistical differences between treatments in pH, gas production, and ammonia-N and lactic acid concentration during incubation. However, dry matter digestibility was significantly higher in CR treatment compared to control or CM treatment ($P<0.05$). Total VFA was tended to higher in CR treatment than those of control and CM treatment ($P>0.05$). In the second experiment, milk yield was significantly higher in treatment (40.39 kg) compared to control (35.19 kg), ($P<0.05$). Milk composition and MUN were not changed by dietary supplementing dicarboxylic acid. Therefore the present results reporting that supplementation of dicarboxylic acid might enhance the stabilization of ruminal fermentation and increase the milk yield of lactating cows.

Key words : dicarboxylic acid, rumen parameters, milk production, milk composition

* 국립 환경대학교 동물생명환경과학과

** (주)네스텍

*** Corresponding author, 환경대학교 동물생명환경과학과(jhahn@hknu.ac.kr)

I. 서 론

반추동물에게 에너지를 대량으로 공급할 목적으로 농후사료를 과량 급여하면, 반추위내 미생물의 발효와 그 생산물에 대한 흡수의 불균형이 생기게 되며, 타액의 분비량이 감소한다(Looper et al., 2001). 이는 결국 급격한 pH 저하에 의하여 Acetate 생성량이 감소되고 Lactic acid 농도가 증가하여 유산중독(Lactic Acidosis)을 일으키며, 폐사하기도 하는데 폐사 전 전체 산의 96%를 Lactic acid가 차지하게 된다(James, 1997). 또한 d-Lactic acid가 체내에 축적되어 H⁺ 이온이 완전 해리된 상태로 존재하기 때문에 혈액 또는 세포액의 HCO₃를 고갈시키어 체액의 pH 유지를 어렵게 한다(Owens et al., 1998). 특히, 우리나라와 같이 조사료 급여량이 적고 농후사료 급여 위주의 사양체계에서는 젖소의 비유 초/중기 고능력우의 20% 이상에서 준임상형 유산중독이 발생하여 사료섭취량 감소, 섬유소소화율 저하, 유지율 저하, 제염염 증가 및 간농양 증가 등의 발생으로(Stone, 1999) 인한 축산농가의 손실이 증가하고 있다. 따라서 반추위내 발효를 안정화시키고 유생산을 극대화하기 위한 연구가 많이 진행되어 왔다.

Dicarboxylic acid는 자연에 존재하는 물질로 2개의 카르복실기를 가지고 있는 유기물질로 알려져 있다. Dicarboxylic acid는 인체, 식물 등에 존재하는 물질로 알려져 있다.

한편, Wanapat과 Khampa (2007)는 Dicarboxylic acid를 반추동물에 급여할 경우 반추위내 비교적 급격한 발효로 인하여 pH의 증가 후 감소, Ammonia-Nitrogen의 최적화, Methane 농도 감소, 미생물체 단백질 합성을 증가 및 Volatile fatty acid (VFA) 농도가 증가한다고 보고하였다. 이러한 효과는 Ionophore계 항생제를 반추위에 첨가한 효과와 유사하다(Newbold et al., 1996). 그러나 Ionophore계 항생제를 반추동물에 급여할 경우 특정 반추위 미생물인 *Streptococcus Bovis*의 증식을 억제하여 젖산 생성균의 증식을 인위적으로 감소시키며 현재에는 사료용 첨가제로 사용이 금지되어 있다. 반면에 Dicarboxylic acid는 반추위 미생물인 *Selenomonas ruminantium*의 생육을 촉진하여 젖산을 Propionate로 전환하도록 유도하고 반추위 발효환경을 안정화시켜 소화기 질병을 예방한다(Nisbet and Martin, 1993). 또한 Russell과 Van Soest (1984)는 Dicarboxylic acid에 함유된 유기산은 반추위 박테리아에게 탄소를 에너지원으로 제공하므로 박테리아의 발효에 영향을 미친다고 보고하였으며, Martin과 Streeter (1995)는 반추위 혼합 미생물의 발효를 촉진하는 동시에 Propionate, Total VFA 생성량 및 최종 pH를 증가시킨다고 하였다. 아울러 Dicarboxylic acid는 반추위에 존재하는 *Selenomonas ruminantium*에 의해서 Lactate 흡수율을 촉진한다고 하였다(Nisbet and Martin, 1993; Strobel and Russell, 1986). 이처럼 Dicarboxylic acid에 대한 많은 연구가 진행되어 왔으나 대부분 송아지 또는 비육우를 대상으로 연구가 진행되었으며 착유우를 대상으로 한 연구는 아직까지 보고된 것은 없다.

따라서, 본 연구는 Ionophore계열 항생제 대체제로서 Dicarboxylic acid 혼합물의 급여가

착유우의 반추위 발효안전화와 유생산성 등에 미치는 영향을 조사하기 위한 목적으로 실시하였다. 이를 위하여, 먼저 Dicarboxylic acid 혼합물의 첨가가 *in vitro* 발효성상에 미치는 영향을 조사하였으며, 둘째로 Dicarboxylic acid 혼합물을 착유우에 급여하여 유생산 및 유성분에 미치는 영향을 조사하였다.

II. 재료 및 방법

1. 실험사료 준비 및 *in vitro* 반추위 발효성상 조사

본 시험은 사료 내 Dicarboxylic acid를 첨가하여 반추위 내 위액성상의 변화, 착유우의 산유성적을 평가하기 위하여 실시하였으며 시험에 사용한 사료 원료 및 화학적 조성은 Table 1에 나타내었다. 본 시험에 사용된 Dicarboxylic acid (Nextec, Korea)와 Monensin (Bio-Agri, Canada)은 시중에서 시판되는 제품을 구입하여 사용하였다. *in vitro* 반추위 발효성상 조사를 위하여 설계된 사료로는 대조구(Control)로 시험사료 4 g에 0.05 ml의 ETOH 그리고 증류수 0.1 ml를 첨가하여 사용하였다. 처리구 1(CM)은 시험사료 4 g에 Monensin 0.05 ml 그리고 증류수 0.1 ml를 첨가하였다. 처리구 2(CR)는 시험사료 4 g에 Dicarboxylic acid 0.1 ml 그리고 0.05 ml의 ETOH를 첨가하였다.

반추위액은 반추위 누관이 장착된 Holstein 경산우에서 반추위 내용물을 채취하여 보존병에 담아 CO₂ gas를 충전 후 실험실로 운반하였으며, 내용물은 4겹의 Cheese cloth로 2번 여과하였고, 이를 buffer 용액(McDougall, 1948)과 1:1로 혼합하여 반추위 배양액으로 사용하였다. 반추위 배양액의 회석 및 여과 전 과정을 Nitrogen free CO₂ 를 분사하여 위액이 O₂에 노출되지 않도록 유지하였으며, CO₂ bubbling으로 pH 6.4로 보정하였다. 배양 전 반추위 배양액을 40°C로 유지할 수 있도록 배양기내에서 보관하였다.

반추위 내 발효성상을 조사하기 위하여 사용된 공시 사료는 2 mm Wiley mill로 분쇄하여 Pore size 250 µm sieve를 통과시켜 미세입자를 제거하였고, 배양은 Tilly와 Terry (1963)의 방법에 따라 실시하였으며, 시료가 함유되어 있는 250 ml의 flask에 200 ml의 반추위 배양액(100 ml 반추위액 + 100 ml buffer)을 주입하고, Nitrogen free CO₂ gas를 주입하면서 gas 조절기가 장착된 Butyl-rubber Stoppers를 이용하여 배양용기를 혐기적으로 밀봉하였으며, 이를 39±0.5°C로 설정된 항온 교반기(Vision Co, Ltd)에서 150 rpm으로 교반 배양하였다.

배양 후 pH 측정은 먼저 각 처리구별 sample을 시간별로 꺼내어 즉시 Digital pH meter (ORION 290A)로 pH를 측정하였으며, 건물소화율은 Moore (1970)의 방법에 의하여, 가스발생량은 Waghorn과 Stafford (1993)의 방법에 의하여, Ammonia-N은 Chaney와 Marbach (1962) 방법으로 측정하였다. VFA는 Gas Chromatography (HP 6890, USA)를 이용하여 분석하였는

데, Column은 HP-FFAP ($\phi 0.53 \text{ mm} \times 30 \text{ m}$)이었으며 Detector는 Flame ionization detector (FID)를 이용하였다. Injector 온도와 Detector 온도는 각각 235°C , 240°C 로 설정하였으며, Oven 온도는 120°C 에서 시작하여 분당 22.75°C 씩 상승시킨 후 160°C 에서 3분간 유지하였다. Lactate는 Lactate assay kit (K607-100, BioVison)시약을 혼합시켜 실온에서 30분간 반응하게 배양한 후 O.D. 570 nm 파장으로 Microplate reader에서 분석하였다. 공시 사료의 분석은 AOAC (1990)의 방법에 준하여 사료의 조성을 분석하였고, Goering과 Van Soest (1970)의 분석 방법에 따라 Neutral detergent fiber (NDF)와 Acid detergent fiber (ADF)를 분석하였다. 반추위액의 pH 측정은 pH meter (HM-30G)를 사용하여 측정하였다.

2. Dicarboxylic acid 급여가 유생산에 미치는 영향

본 시험은 착유우의 Dicarboxylic acid 급여가 유량 및 유성분의 변화를 알아보기 위하여 평균체중 $649 \pm 19 \text{ kg}$ 으로 일일 산유량이 $38 \pm 3.95 \text{ kg}$, 유지방 $3.22 \pm 0.23\%$, 유단백 $2.70 \pm 0.15\%$, 산유일수 99 ± 65.93 일, 평균 2.5 ± 1.43 산차인 Holstein 착유우 10두를 산차 및 산유량 등을 고려하여 시험사료에 따른 2개 군(대조구 5두, Dicarboxylic acid 첨가구 5두)으로 나눈 후 군사시켜 사양시험을 실시하였다. 공시동물은 2주간 기초사료를 급여하여 사료적응기를 두었으며, 그 후 전 기간 동안 시험농장의 관행에 의하여 Table 1에 나타난 농후사료와 조사료를 4:6비율로 1일 2회(05:00와 17:00)에 걸쳐 동일한 양(25 kg/head/day , DM basis)으로 나

Table 1. Ingredient and Chemical composition of experimental diets for lactating cows (*in vitro* and *in vivo* %, DM basis)

Chemical composition (%)	Ingredients							
	Concentrate mix ¹⁾	Cracked corn	Beet pulp	Cotten seed	Oat	Timothy hay	Alfalfa hay	Mineral mix ²⁾
Dry matter	88.20	88.40	89.66	89.46	91.32	88.70	88.70	Free choice
Crude protein	17.90	7.79	9.48	18.13	7.42	6.40	15.80	
Crude fat	4.45	3.56	0.78	22.06	3.11	1.20	1.80	
Crude fiber	10.34	2.21	25.80	34.06	35.43	30.10	41.11	
Crude ash	5.80	1.36	6.51	6.01	5.21	4.50	9.70	
NDF ³⁾	29.55	10.07	56.42	41.36	71.29	69.50	56.20	
ADF ⁴⁾	15.40	3.00	28.77	54.97	44.88	42.40	43.10	

¹⁾ Commercial concentrate which was manufactured for lactating cows producing 35~45 kg milk for day.

²⁾ Containing 200 mg manganese, 100 mg cobalt, 4,000 mg sulfur, 150 mg iodine, 2,000 iron, 100 mg zinc, 100 mg copper, 50 mg nickel, 2,000 mg calcium, 3,000 mg magnesium, 40 μg selenium.

³⁾ Neutral detergent fiber, ⁴⁾ Acid detergent fiber.

누어 급여하였으며, Dicarboxylic acid는 사료급여량의 2%를 첨가하여 1일 2회 오전과 오후 착유 시 급여하였다.

원유시료는 주 2회 착유 시 채취하였고, 산유량은 Milkmeter (Waikato mark 5)로 4주간 측정하여 평균을 구하고, 우유 내 지방과 단백질 그리고 Milk urea nitrogen (MUN) 등의 유성분 분석은 Milkoscan (Fossmatic 5000)으로 분석하였다. 유성분 함량은 오전에 채취한 우유 시료의 유량 및 유성분을 기준으로 계산하였으며 4% 유지율 Fat corrected milk (FCM)는 Gaines와 Davidson (1923)의 방법에 의한 공식으로 측정하였다. 아울러 개체별 산유량과 유성분 분석결과를 처리구와 대조구간 비교하기 용이하도록 실험 개시 전과 후 성적의 차이를 100으로 보정하여 제시하였다.

3. 통계분석

In vitro 실험의 결과로 얻어진 대조구와 Dicarboxylic acid 첨가구의 반추위 발효성상에 대한 통계처리는 SAS (Statistical Analysis System, 2002) package의 GLM (General Linear Model)을 이용하여 분산분석(ANOVA)을 실시하였으며 유의한 차이가 있는 항목에 대해서는 다중검정분석을 이용하여 유의한 차이를 검증하였다. *In vivo* 실험의 결과로 얻은 대조구와 처리구간 유량 및 유성분에 대한 통계처리는 항목에 대해서는 T-test를 이용하여 유의성 차이를 검증하였다($P < 0.05$).

Ⅲ. 결과 및 고찰

1. Dicarboxylic acid 급여가 *in vitro* 반추위 발효성상에 미치는 영향

Dicarboxylic acid 첨가가 *in vitro* 반추위 pH, gas 생산량, 건물소화율, 암모니아농도 및 젖산생산에 미치는 영향은 Table 2와 같다. 배양한 반추위 발효에 따른 평균 pH는 대조구에서 6.38, CM구 6.36, CR구 6.19를 나타내어 처리구간 유의성은 나타나지 않았으나 대조구에서 가장 높았고, 반대로 CR구가 가장 낮은 경향을 나타냈다. Dicarboxylic acid는 네 개의 탄소원자로 구성되었으며 많은 생물세포에 존재하고 있다(Lehninger, 1975). 또한 Dicarboxylic acid는 유기산형태로 존재하고 있어 사료와 함께 반추동물에 급여할 경우 반추위 pH는 일 반사료 급여 시 보다 낮아진 것으로 판단된다. 이러한 결과는 반추위내 건물소화율과 깊은 연관성이 있는 것으로 보인다. 본 연구의 건물소화율을 보면 Dicarboxylic acid를 첨가하지 않은 대조구(9.12%)나 CM처리구(12.48%)에 비하여 Dicarboxylic acid를 0.1 ml씩 첨가한 CR 처리구(15.70%)에서 유의적으로 증가하였다($p < 0.05$). Callaway와 Martin (1996)의 보고에 의

하면 사료에 Dicarboxylic acid 또는 Monensin을 단독으로 급여하였을 때보다 Dicarboxylic acid와 Monensin을 혼합급여 할 경우 건물소화율이 증가한다고 보고하였는데 이는 본 연구 결과와 유사하였다. 따라서 반추동물에 Dicarboxylic acid가 첨가된 사료를 급여할 경우 반추위내 pH가 안정화 되면서 건물소화율을 효율적으로 향상시킬 수 있을 것으로 판단되는데 이러한 결과는 송아지에게 Dicarboxylic acid를 급여한 결과 사료섭취량이 증가하고 증체량이 향상되었다고 보고한 Sanson과 Stallcup (1984)의 연구결과와 일치하였다.

Table 2. Effects of supplementation of dicarboxylic acid on pH, gas production, DM digestibility, ammonia-N concentration and lactic acid concentration, *in vitro*

Items	Dietary treatments ¹⁾			SEM ²⁾	P-values
	C	CM	CR		
pH	6.38	6.36	6.19	0.08	0.29
DM ³⁾ digestibility (%)	9.42 ^b	12.48 ^b	15.70 ^a	2.69	0.03
Gas production (ml/0.1 g)	16.09	13.55	17.96	3.21	0.80
Ammonia-N (mg/100 ml)	0.13	0.17	0.16	0.10	0.65
Lactic acid (nmol/ul)	0.85	0.74	0.72	0.09	0.17

^{a, b}: mean in the same row with different superscript differ significantly (P<0.05). ¹⁾ C: corn (0.2 g) + ETOH (0.05 ml) + D.W (0.1 ml), CM: corn (0.2 g) + monensin (5 ppm, 0.05 ml) + D.W (0.1 ml), CR: corn (0.2 g) + dicarboxylic acid (0.1 ml) + ETOH (0.05 ml), ²⁾ Pooled standard error of mean. ³⁾ Dry matter.

암모니아 농도는 대조구에서 0.13 mg/100 ml, CM처리구에서 0.17 mg/100 ml, CR처리구에서 0.16 mg/100 ml로 나타나 CM처리구와 CR처리구가 대조구보다 높게 나타났으나 통계적으로 유의한 차이는 발견되지 않았다. 반추위내 Lactic acid농도는 대조구에서 0.85 nmol/ul로 가장 높았고 CR처리구에서 0.72 nmol/ul로 가장 낮았으나 통계적 유의성은 없었다. Monensin과 같은 Ionophore계열의 항생제를 비육우 사료에 첨가하면 생산성이 증가되며 반추위 내 Lactate생산량을 감소시킨다(Russell and Stroble, 1989). 또한 Callaway와 Martin (1996)의 보고에 의하면 Dicarboxylic acid를 반추위액과 배양하면 Lactate의 농도가 감소한다고 보고하였는데 이는 본 연구 결과와 일치하였다. Dicarboxylic acid의 첨가는 반추위 내 존재하는 *Selenomonas ruminantium*에 의해서 Lactate의 흡수가 촉진되기 때문인 것으로 (Nisbet and Martin, 1994) 반추위 내 Lactic acid의 농도를 낮추고 효과적인 반추위 발효를 위해서는 사료에 Dicarboxylic acid를 함께 급여하는 것이 효과적일 것으로 판단된다.

Dicarboxylic acid 첨가가 *in vitro* 반추위내 VFA 농도에 미치는 영향은 Table 3에 나타내었다. Monensin과 같은 Ionophore계열의 항생제는 반추위 미생물인 *Streptococcus bovis*를 억제하여 Lactic acid 생성균을 인위적으로 감소시키는 반면 Dicarboxylic acid는 *Selenomonas*

*ruminantium*의 생육을 촉진시켜 Lactic acid를 Propionic acid로 전환하도록 유도한다(Nisbet and Martin, 1993). 또한 Dicarboxylic acid는 Propionic acid 생성을 증가시킬 뿐만 아니라 총 VFA의 생성량을 증가시켜 가축의 생산성을 향상시키는데 도움을 주는 것으로 보고되고 있다(Martin et al., 1999). 본 연구도 선행 연구자들의 결과와 유사한 결과를 나타내고 있는데 반추위 내 VFA와 관련된 주요 결과를 종합해 보면 다음과 같다. 총 VFA 생성량은 CR 처리구(62.63 mM), CM처리구(58.42 mM) 그리고 대조구(56.12 mM) 순으로 높았으나 통계적으로 유의한 차이는 발견하지 못하였다($P>0.05$). Acetate 생성량도 Dicarboxylic acid가 첨가된 CR처리구(35.34 mM)가 대조구(32.63 mM)와 CM처리구(30.02 mM)보다 유의성 없이 높게 나타나 총 VFA생성량과 유사한 경향을 보여주었다. Propionic acid는 CM처리구(22.75 mM)에서 CR처리구(17.81 mM) 그리고 대조구(14.21 mM)에 비하여 유의성 없이 증가하였다. Butyric acid 생성량은 CR처리구에서 7.93 mM로 나타나 대조구(7.05 mM)보다 유의적으로 높게 생성되었으며, 반대로 Monensin이 첨가된 CM처리구(3.70 mM)는 가장 낮은 수치를 보여주었다($P<0.05$).

Table 3. Effects of supplementation of dicarboxylic acid on VFA concentration, *in vitro*

Items (mM)	Dietary treatments ¹⁾			SEM ²⁾	P-values
	C	CM	CR		
Total VFA ³⁾	56.12	58.42	62.63	9.77	0.88
Acetate	32.63	30.02	35.34	4.04	0.81
Propionic acid	14.21	22.75	17.81	5.25	0.43
Butyric acid	7.05 ^{ab}	3.70 ^b	7.93 ^a	0.83	0.04
Isovaleric acid	0.60	0.31	0.58	0.10	0.13
Valeric acid	0.55	0.43	1.11	0.18	0.18

^{a, b}: mean in the same row with different superscript differ significantly ($P<0.05$). ¹⁾ C: corn (0.2 g) + ETOH (0.05 ml) + D.W (0.1 ml), CM: corn (0.2 g) + monensin (5 ppm, 0.05 ml) + D.W (0.1 ml), CR: corn (0.2 g) + dicarboxylic acid (0.1 ml) + ETOH (0.05 ml), ²⁾ Pooled standard error of mean. ³⁾ Volatile fatty acid.

2. Dicarboxylic acid 급여가 유량 및 유성분에 미치는 영향

Dicarboxylic acid 급여가 유량 및 유성분에 미치는 영향은 Table 4에 나타내었다. Dicarboxylic acid를 급여한 처리구의 산유량은 40.39 kg으로 대조구(35.19 kg) 대비 약 14% 증가하였다($P<0.05$). 산유량을 실험 전과 후의 차이를 100으로 보정하면 대조구에서 11.95%가 감소한 반면 처리구에서는 4.50%가 감소하여 통계적 유의성을 나타내었다($P<0.05$). 4% FCM은 처리구에서 37.85 kg 그리고 대조구에서 30.52 kg으로 나타났다. 이를 100으로 보정

한 결과 대조구에서 9.15%가 감소한 반면 처리구에서는 5.03%가 감소하여 대조구 대비 감소율이 낮았으나 통계적 유의성은 나타나지 않았다($P>0.05$). 실험 전과 후를 100으로 보정한 유지방함량은 대조구에서 4.66% 증가하였으나 처리구에서 0.93% 감소하는 경향을 나타내었다. 유단백질과 MUN 함량도 대조구와 처리구간 서로 유의성 없이 증가 또는 감소하는 경향을 나타내어 Dicarboxylic acid의 급여는 유단백질이나 유지방에 영향을 미치지 않은 것으로 판단된다. 무지고형분은 대조구에서 8.71% 그리고 처리구에서 8.81%로 나타났으며 이를 100으로 보정한 결과, 대조구에서 5.04% 증가하였고 처리구에서 5.72% 증가하는 것으로 조사되었다. Dicarboxylic acid를 급여하면 반추위내 발효 환경이 안정화되어 총 VFA가 증가하고 착유우의 유량이 증가하여 궁극적으로는 목장의 생산성에 긍정적인 영향을 준다고 Callaway와 Martin (1996)이 보고하였는데 이는 본 연구결과와 일치하였다.

Table 4. Effects of supplementation of dicarboxylic acid on milk yield and milk compositions in lactating cows

Items	Dietary treatments ¹⁾		SEM ²⁾	P-values
	Control	Treatment		
Milk yield (kg)	35.19 ^b	40.39 ^a	0.49	0.04
4% FCM ⁴⁾ (kg)	30.52	37.85	0.49	0.11
Fat (%)	3.11	3.45	0.10	0.39
SNF ⁵⁾ (%)	8.71	8.81	0.06	0.47
Protein (%)	2.89	3.07	0.08	0.39
MUN ⁶⁾ (mg/dl)	15.80	15.11	0.24	0.40
	Index against 0 week (%) ³⁾			
Milk yield (kg)	-11.95 ^b	-4.50 ^a	0.42	0.05
4% FCM (kg)	-9.15	-5.03	1.73	0.49
Fat (%)	4.66	-0.93	2.64	0.56
SNF (%)	5.04	5.72	0.67	0.66
Protein (%)	8.33	10.48	2.51	0.72
MUN (mg/dl)	-6.44	-7.72	1.59	0.73

^{a, b}: mean in the same row with different superscript differ significantly ($P<0.05$). ¹⁾ Control: without supplementation of dicarboxylic acid, Treatment: 2% dicarboxylic acid supplementation ²⁾ Pooled standard error of mean. ³⁾ - : decrease rates, + : increase rates. ⁴⁾ Fat corrected milk. ⁵⁾ Solids non fat. ⁶⁾ Milk urea nitrogen.

정상 원유의 무지고형분 함량은 평균 8.7% 수준으로 보고되고 있는데(Higginbothan et al., 1994) 본 연구결과에서도 유사한 수치는 나타내었으며 Dicarboxylic acid 급여에 따른 영향

은 없는 것으로 판단된다. 본 연구의 대조구와 처리구의 평균 MUN 농도는 15.11~15.80 mg/dl로 나타나 Dicarboxylic acid급여에 따른 영향은 찾아볼 수 없었다. 또한 본 연구 결과는 Moon등(2000)이 보고한 국내 착유우의 평균 MUN 농도인 12~18 mg/dl 범주 내에 속하고 있는 것으로 나타났다.

IV. 적 요

본 연구는 항생제 대체제로서 Dicarboxylic acid가 *in vitro* 반추위 발효성상, 착유우의 유량 및 유성분에 미치는 영향을 조사하기 위한 목적으로 실시하였다. 반추위 발효성상을 조사하기 위하여 batch culture 방법을 이용하였으며, Dicarboxylic acid의 급여가 착유우의 유량 및 유성분에 미치는 영향을 조사하기 위하여 평균체중 649±19 kg으로 일일 산유량 38±3.95 kg, 유지방 3.22±0.23%, 산 차 2.5±1.43차인 홀스타인 착유우 10두를 산 차 및 산유량 등을 고려하여 시험사료에 따른 2개 군(대조구 5두, Dicarboxylic acid 급여구 5두)으로 나누어 실험을 실시하였다. Dicarboxylic acid는 사료급여량의 2%를 첨가하여 1일 2회 오전과 오후 착유 시 급여하였다. Dicarboxylic acid는 반추위내 pH에 긍정적인 영향을 주어 건물소화율이 유의적으로 증가하였다. 따라서 Dicarboxylic acid는 반추위 발효환경에 긍정적인 영향을 미치는 것으로 판단된다. 건물소화율은 Dicarboxylic acid를 단독 급여할 때 가장 높았다. 또한 Dicarboxylic acid를 추가 급여하면 반추위 내 총 VFA 함량이 증가하는 경향을 나타내었다. Acetic acid 농도는 Dicarboxylic acid 단독 처리구에서 높게 생성되는 경향을 나타내었다.

착유우의 유량은 Dicarboxylic acid를 급여한 처리구에서 대조구 대비 약 14%의 유량이 증가하였다. Dicarboxylic acid는 유성분 및 MUN에는 영향을 미치지 않는 것으로 판단된다. 따라서 항생제 대체제로서 Dicarboxylic acid 첨가는 반추위 내 발효환경을 안정화하여 건물소화율을 향상시키고 착유우의 유량을 높일 수 있을 것으로 판단된다.

[Submitted, April. 12, 2016; Revised, June. 2, 2016; Accepted, August. 3, 2016]

References

1. A. O. A. C. 1990. Official Methods of Analysis (15th ed.) Association of Official Agricultural Chemists Washington, D. C.

2. Callaway, T. R. and S. A. Martin. 1996. Effect of organic acid and monensin treatment on *in vitro* mixed ruminal microorganisms fermentation of cracked corn. J. Anim. Sci. 74: 1982-1989.
3. Chaney, A. L. and E. P. Marbach. 1962. Modified reagent for determination of urea and ammonia. Clinical Chemistry. 8: 130-132.
4. Gaines, W. L. and F. A. Davidson. 1923. Relation between percentage fat content and yield of milk. Correction of milk yield for fat content. Illinois Agr. Expt. Sta. Bull. No. 245.
5. Goering, H. K. and P. J. Van Soest. 1970. Forage fiber analysis (apparatus, reagents, procedure and application). Agric. Handbook 379. ARS. Washington D. C.
6. Higginbotham, G. E., C. A. Collar., M. S. Aseltine, and D. L. Bath. 1994. Effect of yeast culture and aspergillus oryzae extract on milk yield in a commercial dairy herd. J. Dairy Sci. 77: 343-348.
7. James, E. N. 1997. Bovine acidosis: Implication on laminitis. J. Dairy Sci. 80: 1005-1028.
8. Lehninger, A. L. 1975. Biochemistry (2nd Ed.), Worth Publishers, New York.
9. Looper, M. L., S. R. Stokes., D. N. Waldner, and E. R. Jordan. 2001. Managing milk composition: evaluating herd potential. New Mexico State University Extension Service. Guide D-104. pp. 1-4.
10. Martin, C., E. Devillard, and B. Michalet-Doreau. 1999. Influence of sampling site on concentrations and carbohydrate degrading enzyme activity of protozoa and bacteria in the rumen. J. Anim. Sci. 77: 979-987.
11. Martin, S. A. and M. N. Streeter. 1995. Effect of malate on *in vitro* mixed ruminal microorganisms fermentation. J. Anim. Sci. 73: 2141-2145.
12. McDougall, E. J. 1948. Studies of ruminant saliva. 1. The composition of output of sheep's saliva. Biochem. J. 43: 99-109.
13. Moon, S. J., Y. S. Joo., G. C. Jang., Y. D. Yoon., B. K. Lee., Y. H. Park, and C. H. Son. 2000. Interpretation of protein-energy balance of feeding by milk urea nitrogen and protein contents in lactating Holstein cow. Kor. J. Anim. Sci and Tech. 42: 499-510.
14. Moore, G. A. and S. A. Martin. 1991. Effect of growth conditions on the *Streptococcus bovis* phosphoenol pyruvate glucose phosphotransferase system. J. Anim. Sci. 69: 4967-4973.
15. Newbold, C. J., R. J. Wallace, and F. M. McIntosh. 1996. Mode of action of the yeast *Saccharomyces cerevisiae* as a feed additive for ruminants. Br. J. Nutr. 76: 249-261.
16. Nisbet, D. J. and S. A. Martin. 1993. Effect of fumarate, L-malate and *Aspergillus oryzae* fermentation extract on D-lactate utilization by the rumen *Selenomonas ruminantium*. Curr.

- Microbiol. 26: 133-136.
17. Nisbet, D. J. and S. A. Martin. 1994. Factors affecting L-lactate utilization by *Selenomonas ruminantium*. J. Anim. Sci. 72: 1355-1361.
 18. Owens, F. N., D. S. Secrist., W. J. Hill, and D. R. Gill. 1998. Acidosis in cattle : a review. J. Anim. Sci. 76: 275-286.
 19. Russell, J. B. and S. A. Martin. 1984. Effects of various methane inhibitions on the fermentation of amino acids by mixed rumen microorganisms *in vitro*. J. Anim. Sci. 59: 1329-1338.
 20. Russell, J. B. and H. J. Strobel. 1989. Effect of ionophore on ruminal fermentation. Appl. Environ. Microbiol. 55: 1-6.
 21. Sanson, D. W. and O. T. Stallcup. 1984. Growth response and serum constituents of Holstein bulls fed malic acid. Nutr. Rep. Int. 30: 1261-1267.
 22. SAS. 2002. SAS User's Guide. Statistics, Version 8.0 Edition. SAS Institute. Inc. Cary, NC.
 23. Stone, W. C. 1999. The effect of subclinical rumen acidosis on milk component. pp 40-46. Cornell nutrition conference. Cornell University, Ithaca, NY.
 24. Stroble, H. J. and J. B. Russell. 1986. Effect of pH and energy spilling on bacterial protein synthesis by carbohydrate-limited cultures of mixed rumen bacteria. J. Dairy Sci. 69: 2941-2947.
 25. Tilly, J. M. A and R. A. Terry. 1963. A two stage technique for *in vitro* digestion of forage crop. J. Brit. Grass. Soc. 18: 104-111.
 26. Waghorn, G. C. and K. J. Stafford. 1993. Gas production and nitrogen digestion by rumen microbes from deer and sheep. New Zealand J. Agri. Res. 36: 493-497.
 27. Wanapat, M. and S. Khampa. 2007. Manipulation of rumen fermentation with organic acids supplementation in ruminants raised in the tropics. Pakis. J. Nutr. 6: 20-27.