

ANIMAL

# Changes in *in vivo* ruminal fermentation patterns and blood metabolites by different protein fraction-enriched feeds in Holstein steers

Chang Weon Choi\*

Department of Animal Resources, Daegu University, Gyeongsan, Gyeongbuk 38453, Korea

\*Corresponding author: changchoi@daegu.ac.kr

## Abstract

The present study was conducted to investigate the effects of different dietary proteins as fraction-enriched protein, defined by Cornell net carbohydrates and protein system (CNCPS), on *in vivo* ruminal fermentation pattern and blood metabolites in Holstein steers fed total mixed ration (TMR) containing 17.2% crude protein. Four ruminally cannulated Holstein steers in a 4 × 4 Latin square design consumed TMR only (control) and TMR with rapeseed meal (AB1), soybean meal (B2), and perilla meal (B3C). Each protein was substituted for 23.0% of crude protein in TMR. Rumen digesta were taken through ruminal cannula at 1 h interval during the feeding cycle in order to analyze ruminal pH, ammonia-N, and volatile fatty acids (VFA). Plasma metabolites in blood taken via the jugular vein after the rumen digesta sampling were analyzed. Feeding perilla meal significantly ( $p < 0.05$ ) decreased mean ruminal pH compared with control and the other protein feeding groups. Compared with control, feeding protein significantly ( $p < 0.05$ ) increased ruminal ammonia-N concentration except for AB1. Statistically ( $p > 0.05$ ) similar total VFA appeared among control and the supplemented groups. However, control, AB1, and B2 showed higher ( $p < 0.05$ ) acetate concentrations than B3C, and propionate was *vice versa*. CNCPS fractionated protein significantly ( $p < 0.05$ ) affected concentrations of albumin and total protein in blood; i.e. plasma albumin was lower for control and B2 groups than AB1 and B3C groups. Despite lack of significances ( $p > 0.05$ ) in creatinine and blood urea nitrogen, AB1 and B2 groups were numerically higher than the others.

**Keywords:** blood metabolites, protein fraction, ruminal fermentation, steer, total mixed ration

## Introduction

반추동물에 있어서 보다 정확한 단백질 가치 평가는 학문적으로 평가법 발전이라는 측면과 더불어 사료비 절감 등 생산비 개선이라는 측면에서도 매우 중요한 영역이라 할 수 있다(Choi, 2016). 이러한 부분들을 고려해서 미국에서는 수십 년에 걸쳐 Cornell net protein and carbohydrate system (CNCPS)을 개발 및 발전시켰고 현재에서 그 방법을 업그레이드하고 있다(Licitra et al., 1996; Fox et al., 2004). 특히 최근 CNCPS는 미국의 National Research Council (NRC) 사양표준


 CrossMark  
 click for updates

## OPEN ACCESS

**Citation:** Choi CW. 2017. Changes in *in vivo* ruminal fermentation patterns and blood metabolites by different protein fraction-enriched feeds in Holstein steers. Korean Journal of Agricultural Science 44:392-399.

**DOI:** <https://doi.org/10.7744/kjoas.20170038>

**Editor:** Jung Min Heo, Chungnam National University, Korea

**Received:** June 9, 2017

**Revised:** July 25, 2017

**Accepted:** August 3, 2017

**Copyright:** © 2017 Korean Journal of Agricultural Science.



This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

에 적용하고 있어(Higgs et al., 2015), 그 시스템의 중요도를 높게 평가 받고 있다(Lanzas et al., 2007; Higgs et al., 2015). 한편, 한국사양표준 젖소에서 CNCPS법을 적용하여 영양소 요구량을 제시하고 있는데(RDA, 2012), 실제 농장단위의 적용을 위해서는 국내 자료를 토대로 한 개선된 시스템이 필요하며 이는 국내 동물실험 결과의 확보가 필수적이다(Choi, 2016). 최근 본 연구팀은 CNCPS 에서 용해성 단백질로 분류되는 A 및 B<sub>1</sub> fraction이 높은 채종박을 추가 급여 시 기초사료의 조단백질(CP)의 수준에 따라 반추위 발효 패턴 및 생리적 대사작용이 다를 수 있음을 보고하였다(Choi, 2015; Choi, 2016). 따라서, 화학적 분석에 의해 분획된 단백질의 급여는 그 fraction으로 인한 예측 결과와 실제 동물의 생리적 반응은 다를 수 있으며, 이것은 다양한 사료 조건에서 생체 시험 결과의 축적이 선행되어야만 CNCPS법에 의한 결과의 국내 적용이 가능함을 의미한다(Choi, 2015). 따라서, 본 연구에서는 17.2% 수준의 CP가 함유된 섬유질배합사료(TMR)를 기초사료로 급여한 거세우를 대상으로 각 CNCPS 단백질 fraction (A, B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, B<sub>3</sub> 및 C fractions)별로 단백질이 높은 수준으로 함유된 사료를 급여한 후 *in vivo* 반추위 발효 패턴 및 혈액대사물질의 변화에 미치는 영향을 조사하였다.

## Materials and Methods

### 단백질 사료

단백질 사료는 이전 연구(Choi, 2016)에서 사용한 fraction별 동일한 단백질 사료로 선정하여 사용하되, 본 연구에서 사용된 사료는 사료회사를 통해 새로 구입하였고, Licitra et al. (1996)이 제안한 분석방법에 의거하여 N fraction을 분석하였다(Table 1). 국내 통용되고 있는 단백질 사료 중 CNCPS fraction이 A와 B<sub>1</sub> fraction 및 B<sub>3</sub>와 C fraction을 특이적으로 높고 동시에 다른 N fraction은 낮은 사료를 선발하기는 현실적으로 불가능하다. 따라서, A와 B<sub>1</sub> fractions 사료로 채종박, B<sub>2</sub> fraction 사료로 대두박, 그리고 B<sub>3</sub>와 C fractions 사료로 임자박을 사용하였다(Choi, 2015).

**Table 1.** Nitrogen fractionation (% of CP) of experiment feeds.

Fraction <sup>z</sup>	TMR	Rapeseed meal	Soybean meal	Perilla meal
A fraction	20.2	23.6	9.6	19.5
B1 fraction	5.5	11.0	7.7	6.1
B2 fraction	47.3	35.3	62.8	15.6
B3 fraction	6.1	12.3	4.7	18.6
C fraction	20.9	17.9	15.3	40.3

<sup>z</sup>Fraction was analyzed according to the method of Licitra et al. (1996).

### *In vivo* 시험 및 분석

반추위 cannula를 장착한 홀스타인 거세우 4두(BW 478.5 ± 32.8 kg)를 이용하였다. 대가축의 대사시험 결과해석의 정확성을 위해 적응기간(28일)동안 사료섭취량을 측정 한 후 본 시험에서는 이보다 낮은 수준으로 급여하여 급여사료의 전량섭취를 유도하였다. 중수준의 CP가 함유(CP 17.2%)된 TMR을 이용하여 체중대비 대조구는 1.6%로, 처리구는 1.4%가 유지되도록 급여하되, 대조구의 CP 23%를 각 CNCPS fraction별 단백질 사료로 대체하여 TMR + 채종박 처리구(AB1), TMR + 대두박 처리구(B2), TMR + 임자박 처리구(B3C)로 구분하였다. 전체 대사시험은 4 × 4 Latin square법으로 설계하여 총 시험기간은 112일(각 period 당 21일 + 적응기간 28일)이었다. 기타 사양관리는 이전 연구(Choi, 2015)와 동일하게 수행되었다. 사료의 화학적 성분은 Choi (2015)에 설명한 바와 같이 분석하였고, 그 결과는 Table 2와 같다. 각 피리어드 21일째 오전 사료 급여 후 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 및 8 h에 반추위 소

**Table 2.** Chemical composition of experimental feeds (% of DM basis)<sup>x</sup>.

Composition	TMR	Rapeseed meal	Soybean meal	Perilla meal
Dry matter (DM)	62.8	87.4	88.4	99.0
Crude protein	17.2	41.8	52.8	46.6
Ether extract	5.9	3.8	4.1	17.3
Crude fiber	13.9	14.1	5.1	11.4
Crude ash	7.9	7.0	6.4	9.7
Ca	0.62	0.47	0.31	1.35
P	0.53	1.11	0.75	1.41
NDF <sup>y</sup>	32.3	26.6	10.2	22.1
ADF <sup>z</sup>	15.8	18.4	4.8	12.4

<sup>x</sup>All experimental steers had free access to water and a mineral block during the entire experiment.

<sup>y</sup>Neutral detergent fiber.

<sup>z</sup>Acid detergent fiber.

화물을 채취하였다. 반추위 소화물은 8겹의 cheesecloth으로 filtering하여 액상부분을 채취한 후 pH를 측정하고, 암모니아-N와 휘발성지방산(VFA) 측정을 위해 전 처리하였다. 암모니아-N 및 VFA 분석은 각각 Choi and Oh (2011) 및 Erwin et al. (1961)의 방법에 의거하여 실시하였다. Albumin, blood urea nitrogen (BUN) 등 혈액대사물질은 각 period별 반추위 소화물 채취 직후 경정맥을 통해 1회 채취한 10 mL의 혈액을 통해 분석하였고, 전 처리와 분석은 Choi (2016)에 설명한 바와 같이 분석하였다.

## 통계분석

혈액대사물질 결과는 SAS package의 MIXED procedure를 이용하여 통계분석 하였고, 시간대별 채취한 반추위 소화액의 pH, 암모니아 및 VFA는 MIXED procedure를 이용하여 repeated measure로 분석하였다(SAS, 2002).

## Results and Discussion

### 단백질 fractionation

CNCPS 법에 의거한 단백질 사료 분석 결과, 채종박은 A와 B<sub>1</sub> fraction이 34.6%로 용해성 단백질이 가장 높았고, 대두박은 B<sub>2</sub> fraction (62.8%), 임자박은 B<sub>3</sub>와 C fraction이 58.9 %로 각 fraction별로 가장 높은 비율을 보이는데 (Table 1), 이는 기존 연구에서 보고된 각 단백질의 N 분획과 전체적으로 유사하였다(Licitra et al., 1996; Jin, 2011; Choi, 2016). 채종박의 B<sub>2</sub> fraction이 A와 B<sub>1</sub> fraction의 합계보다 높게 나타났는데, 이것은 일반적으로 나타나는 채종박의 특성이다(Choi, 2016).

### 반추위 내 발효패턴

CNCPS N fraction별 단백질 급여에 의한 반추위 pH 평균 및 feeding cycle동안의 pH 패턴 변화는 B3C구를 제외 ( $p < 0.05$ )하고는 통계적인 유의성은 나타나지 않았다( $p > 0.05$ ; Table 3 및 Fig. 1). 전체적으로 반추위 pH의 패턴은 사료 급여 후 1 h에 가장 낮은 pH를 보인 후 점차 회복되었고, pH 6.0 이하로 떨어지지 않는 것으로 미루어 볼 때 정상적인 발효가 일어났을 것으로 판단된다(Choi and Oh, 2011). 특이한 점은 B3C 구의 pH 패턴이 사료 급여 후 2 h까지는 다른 시험구와 유사하였으나 이 후로는 다른 시험구보다 낮은 수준으로 천천히 증가되었다. 현재 연구 결과와 상이하게 반추위 pH는 공급되는 탄수화물 수준의 영향을 받고 단백질의 영향은 거의 없다고 보고된 바 있

**Table 3.** Effect of protein fraction-enriched feeds on ruminal fermentation of steers fed 17.2% crude protein-contained TMR.

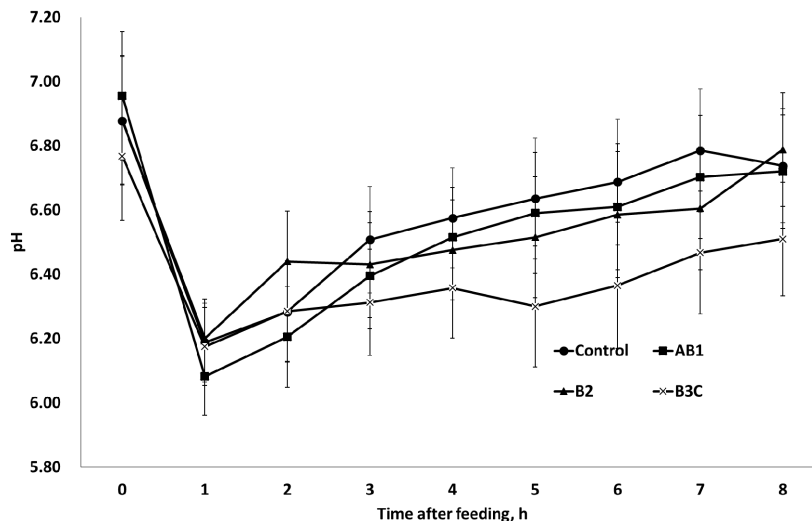
Items	Treatments <sup>x</sup>				SEM <sup>y</sup>
	Control	AB1	B2	B3C	
Ruminal pH	6.59a	6.53a	6.55a	6.39b	0.113
Ammonia N (mg/L)	31.7b	31.4b	38.7ab	34.7ab	2.98
Total VFA <sup>z</sup> (mmoles/100 mL)	96.0	94.3	102.1	95.3	8.75
Individual VFA (mmoles/100 mL)					
Acetate	58.5a	57.0a	57.2a	54.9b	1.04
Propionate	18.9b	19.6b	19.3b	21.8a	0.98
Iso-butyrate	1.36bc	1.47ab	1.53a	1.30c	0.092
Butyrate	16.3	16.6	16.4	16.4	1.08
Iso-valerate	2.22c	2.46b	2.68a	2.26c	0.165
Valerate	2.02c	2.21b	2.24ab	2.38a	0.121
Caproic acid	0.68b	0.64b	0.68b	0.97a	0.121
Acetate/Propionate	3.32a	3.08a	3.16a	2.71b	0.164

a, b, c: Means in a row with different letters are significantly different ( $p < 0.05$ ).

<sup>x</sup>Treatments were TMR only (control), TMR with rapeseed meal (AB1), TMR with soybean meal (B2), and TMR with perilla meal (B3C).

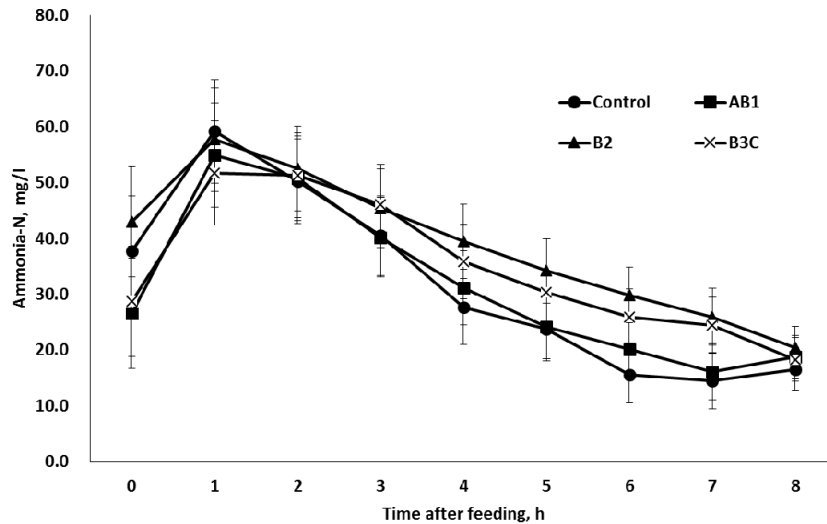
<sup>y</sup>Standard error of the mean.

<sup>z</sup>Volatile fatty acid.



**Fig. 1.** Changes in ruminal pH of steers fed 17.2% crude protein-contained TMR with various proteins. Treatments were TMR only (Control, ●), TMR with rapeseed meal (AB1, ■), TMR with soybean meal (B2, ▲), and TMR with perilla meal (B3C, ×).

나(Wallace et al., 1988; Reynal and Broderick, 2003), 다른 연구에서는 단백질 공급 수준의 증가나 분해 수준의 증가가 반추위 미생물의 단백질 분해에 의한 유기물 생산이 많아져 반추위 pH에 영향을 줄 수 있다고 하였다(Lee, 2006). 이는 동일한 단백질을 이용하여 실시한 최근 연구결과에서도 유사하게 나타났는데, 기초사료의 CP가 낮은 수준(9.6%)일 때 임자박을 급여한 젖소의 반추위 pH가 수치적으로 다른 단백질 처리구에 비해서 천천히 회복되었다(Choi, 2015). 반면에, CP가 11.7%일 때는 채종박 처리구와 임자박 처리구에서 수치적으로 낮은 수준의 pH를 보였다(Choi, 2016). 이러한 반추위 pH의 변화를 볼 때 CNCPS방법에 의한 화학적인 분획이 실질적인 생체 적용 시



**Fig. 2.** Changes in ruminal ammonia N of steers fed 17.2% crude protein-contained TMR with various proteins. Treatments were TMR only (Control, ●), TMR with rapeseed meal (AB1, ■), TMR with soybean meal (B2, ▲), and TMR with perilla meal (B3C, ×).

예상되는 분획별 대사패턴과는 달라질 수 있음을 의미하는 것이다(Choi, 2015).

반추위 암모니아-N 농도는 대조구와 AB1구(각 31.7 및 31.4 mg/L)와 비교 시 대두박을 급여한 B2구(38.7 mg/L), B3C구(34.7 mg/L) 순으로 높았다( $p < 0.05$ ; Table 3). 시험구 간 반추위 암모니아-N 농도는 0 h를 제외하고는 사료 급여 후 3-4 h 시간까지는 큰 차이가 나타나지 않았다(Fig. 2). 전체적인 시험구 간 패턴에서는 사료급여 후 1 h에서 가장 높은 농도값을 보이고 이후로 감소한다는 면에서는 반추위 pH 패턴과 비교적 유사하게 나타났다가 할 수 있다. 그러나 사료급여 후 1-2 h 동안 수치적으로 AB1구의 pH가 가장 낮았던 것과 비교할 때(Fig. 1), 암모니아-N 농도는 시험구 간 거의 유사하였고, 수치적으로는 대조구와 B2구가 더 높았다. 또한, 3 h 이후에도 AB1구보다는 B2와 B3C구의 암모니아-N 농도가 지속적으로 높게 유지되었다. 이것은 CP가 11.7%인 기초사료 급여 시 용해성 단백질 fraction이 많은 AB1구에서 암모니아-N 농도가 사료급여 후 1-2 h에 가장 높았던 기존 연구의 결과와는 상이하며(Choi, 2016), 일반적으로 용해성 단백질 농도가 반추위 암모니아-N 농도가 증가한다는 보고와도 일치하지 않는다(Lee, 2006). 그러나, 암모니아-N 농도는 사료의 용해성 단백질의 수준과 더불어 사료 내 비용해성 단백질에서 분해된 펩타이드의 수준에도 영향을 받을 수 있다는 결과(Choi et al., 2016)와 펩타이드 구조, 반추위 미생물의 아미노산 이용성, 단백질의 친·소수성에 의한 영향(Wallace et al., 1990; Williams and Cockburn, 1991) 등 CNCPS 방법의 사료 N fractionation만으로 설명하기에는 한계가 있다. 따라서, 반추위 pH와 암모니아-N 패턴을 볼 때, 기초사료의 CP 수준이나 단백질의 펩타이드 구조 등 다양한 사료 또는 생체 내 요인이 고려된 추가 연구가 지속적으로 이루어져야 할 것으로 생각된다.

반추위 내 total VFA는 처리구간 유의적인 차이를 나타내지 않았다( $p > 0.05$ ; Table 3). 일반적으로 단백질 사료의 종류가 VFA 농도 변화에 영향을 주지 않는다고 알려져 있다(Pritchard and Males, 1985). 그러나, 각각의 VFA 결과를 보면 다소 상이한데, B3C구의 acetate가 통계적으로 낮고 propionate의 농도는 높았다. 이러한 영향으로 A:P 비율 역시 B3C구가 다른 시험구에 비해 낮았다. 이것은 현재 연구와 기초사료의 CP 수준만 달랐던 Choi (2015, 2016)의 결과와는 상반되는 것으로 직접적인 해석을 하기에는 한계가 있다고 판단된다. 그러나, 비록 본 연구에서 각 시험구별 사료의 CP 수준은 동일하게 설정하였지만, 단백질의 용해 수준과 친·소수성에 따른 반추위 분해도는 반추위 미생물의 종류와 활성에 영향을 줄 수 있음(Wallace, 1988; Wallace et al., 1990; Williams and Cockburn, 1991)을 고려할 때 향후 단백질의 성상과 VFA 생산과의 정확한 기전 연구가 요구될 것으로 생각된다.

## 혈액대사생리

CNCPS 단백질 fraction별 고함유 사료 첨가 시 albumin 및 total protein 농도에 유의적으로 영향을 주었고( $p < 0.05$ ; Table 4), creatinine 및 BUN에는 영향을 미치지 않는 것으로 나타났다. 혈중 albumin의 경우 대조구와 B2구가 AB1구 및 B3C구에 비해서 낮았는데, 이 경우 혈중 albumin의 감소는 체내 단백질 합성과 관련이 있어(Gentry et al., 1999), 체내 근육량의 index인 creatinine의 함량의 증가를 예측할 수 있다(Eisemann et al., 1989). 하지만, 현재 혈중 creatinine 농도는 통계적 유의성을 찾을 수 없어 이러한 해석에는 한계가 있다. 다만, B2의 creatinine 농도가 수치적으로 가장 높은 것으로 나타나 albumin 결과와의 연계를 통한 체내 단백질 합성에 대한 기전 파악이 일부 가능하다고 생각된다. Creatinine농도와 유사하게 BUN에서도 통계적 유의성은 없었지만 B2구의 높은 농도값을 보이는데, 이것은 단백질의 체내 이용성이 개선되어 단백질의 흡수율이 증가된 것으로 해석할 수 있다(Enright et al., 1990). 아울러, 용해성 단백질이 많이 함유된 채종박 급여구인 AB1구에서도 BUN농도는 수치적으로 높았는데, Lee (2006)는 용해성 단백질 급여가 반추위 암모니아-N 농도 증가를 통해 BUN 농도를 증가시킬 수 있다고 보고하였다. 이 경우 AB1구의 통계적으로 낮은 반추위 암모니아-N 농도의 해석에 제한이 생기는데, 사료의 용해성 단백질은 반추위에서 모두 이용되지 않고 반추위 분해를 벗어날 수 있는 점을 고려할 때(Reynal and Broderick, 2003), 사료의 용해성 N fraction 농도와 반추위 암모니아-N 수준 및 BUN 농도는 반드시 비례적이지 않을 수 있다. 한편, Choi (2016)는 사료 내 CP 수준이 유사할 경우 급여 단백질사료의 fraction별 차이가 체내 단백질 합성에는 영향을 미치지 않을 수 있음을 지적한 바 있다. 따라서, 전술한 바와 같이 보다 다양한 사료의 단백질 성상 및 수준별 N fraction에 따른 생체생리대사 연구가 필요할 것으로 생각된다.

**Table 4.** Effect of protein fraction-enriched feeds on blood metabolites of steers fed 17.2% crude protein-contained TMR.

Items	Treatments <sup>y</sup>				SEM <sup>z</sup>
	Control	AB1	B2	B3C	
Albumin (g/dL)	3.53 b	3.83 a	3.65 ab	3.85 a	0.075
Creatinine (mg/dL)	0.82	0.84	0.86	0.80	0.049
Blood urea nitrogen (mg/dL)	16.8	18.1	18.1	17.0	0.72
Total protein (g/dL)	7.25 a	7.38 a	6.98 b	7.30 a	0.066

a, b: Means in a row with different letters are significantly different ( $p < 0.05$ ).

<sup>y</sup>Treatments were TMR only (control), TMR with rapeseed meal (AB1), TMR with soybean meal (B2), and TMR with perilla meal (B3C).

<sup>z</sup>Standard error of the mean.

## Conclusion

본 연구는 CNCPS에 의거 분획된 단백질 fraction이 다량 함유된 단백질의 급여가 CP 17.2%의 TMR을 섭취하는 홀스타인 거세우의 생체 반추위 발효 패턴과 혈액대사물질에 미치는 영향을 조사하기 위해 수행되었다. 임자박 급여는 대조구와 다른 단백질 처리구와 비교 시 평균 반추위 pH를 감소시켰다. 대조구와 비교했을 때 AB1구를 제외하고는 단백질 급여 시 반추위 암모니아-N 농도를 유의적으로 증가하였다( $p < 0.05$ ). 시험구 간 total VFA는 유의성을 보이지 않았다( $p > 0.05$ ). 하지만, 대조구, AB1구 및 B2구는 acetate농도가 B3C구보다 높았으며, propionate는 반대로 낮게 나타났다. CNCPS 단백질 fraction별 고함유 단백질 사료 첨가 시 albumin 및 total protein 농도에 유의적으로 영향을 주었는데( $p < 0.05$ ), 혈중 albumin의 경우 대조구와 B2구가 AB1구 및 B3C구에 비해서 낮게 나타났다. Creatinine 및 BUN은 통계적 유의성은 없었지만 AB1구와 B2구가 수치적으로 높게 나타났다.

## Acknowledgements

본 연구는 농촌진흥청 공동연구사업(PJ011904032017)의 지원에 의해 이루어졌습니다.

## References

- Choi CW, Oh YK. 2011. Effects of feeding whole crop rice silage harvested at different stages on rumen fermentation and blood metabolites in Hanwoo steers. *Journal of the Korean Society of Grassland and Forage Science* 31:191-200. [in Korean]
- Choi CW. 2015. Effects of CNCPS fraction-enriched proteins on ruminal fermentation and plasma metabolites in Holstein steers fed TMR containing low protein. *CNU Journal of Agricultural Science* 42:237-244. [in Korean]
- Choi CW. 2016. Changes in ruminal fermentation and blood metabolism in steers fed low protein TMR with protein fraction-enriched feeds. *Korean Journal of Agricultural Science* 43:379-386. [in Korean]
- Eisemann JH, Hammond AC, Rumsey TS, Bauman DE. 1989. Nitrogen and protein metabolism and metabolites in plasma and urine of beef steers treated somatotropin. *Journal of Animal Science* 67:105-115.
- Enright WJ, Quirke JF, Gluckman PD, Breier BH, Kennedy LG, Hart IC, Rochecoert JF, Allen P. 1990. Effects of long-time administration of pituitary-derived bovine growth hormone and estradiol on growth in steers. *Journal of Animal Science* 68:2345-2356.
- Erwin ES, Marco GT, Emery EM. 1961. Volatile fatty acid analysis of blood and rumen fluid by gas chromatography. *Journal of Dairy Science* 44:1768-1771.
- Fox DG, Tedeschi LO, Tylutki TP, Russell JB, Van Amburgh ME, Chase LE, Pell AN, Overton TR. 2004. The Cornell net carbohydrate and protein system model for evaluating herd nutrition and nutrient excretion. *Animal Feed Science and Technology* 112:29-78.
- Gentry LR, Fernandez JM, Ward TL, White TW, Southern LL, Bidner TD, Thompson Jr DL, Horohov DW, Chapa AM, Sahlou T. 1999. Dietary protein and chromium tripicolinate in Suffolk wether lambs: Hormonal responses, and immune status. *Journal of Animal Science* 77:1284-1294.
- Higgs RJ, Chase LE, Ross DA, Van Amburgh ME. 2015. Updating the Cornell Net Carbohydrate and Protein System feed library and analyzing model sensitivity to feed inputs. *Journal of Animal Science* 98:6340-6360.
- Jin GL. 2011. Effect of protein fractionation and buffer solubility of various feed stuffs on *in vitro* fermentation characteristics, degradability and gas production by rumen microbes. Ph. D. dissertation, Chungbuk National University. Chungju, Korea.
- Lanzas C, Tedeschi LO, Seo S, Fox DG. 2007. Evaluation of protein fractionation systems used in formulating rations for dairy cattle. *Journal of Animal Science* 90:507-521.
- Lee SC. 2006. Effects of CP contents and levels of RDP and RUP in diets on ruminal fermentation and protein digestion in Hanwoo steers. Master thesis, Chungnam National University. Daejeon, Korea. [in Korean]
- Licitra G, Hernandez TM, Van Soest PJ. 1996. Standardization of procedures for nitrogen fractionation of ruminant feeds. *Animal Feed Science and Technology* 57:347-358.
- Pritchard RH, Males JR. 1985. Effect of crude protein and ruminal ammonia-N on digestibility and ruminal outflow in beef cattle fed wheat straw. *Journal of Animal Science* 60:822-831.
- RDA. 2012. Korean feeding standard for dairy cattle. 3rd Edition. National Institute of Animal Science. Rural Development Administration. [in Korean]
- Reynal SM, Broderick GA. 2003. Effects of feeding dairy cows protein supplements of varying ruminal degradability. *Journal of Dairy Science* 86:835-843.

- SAS. 2002. SAS User's Guide. Statistics. Version 9.1. SAS Institute. Inc. Cary, NC.
- Wallace RJ, Newbold CJ, McKain N. 1990. Patterns of peptide metabolism by rumen microorganisms. In *The Rumen Ecosystem, the Microbial Metabolism and Its Regulation* edited by Hoshino S, Onodera R, Itabashi H. pp. 43-50. Springer-Verlag, Tokyo.
- Wallace RJ. 1988. Ecology of rumen micro-organisms: Protein use. In *Aspects of digestive physiology in ruminants* edited by Dobson A, Dobson MJ. pp. 99-122. Cornell University Press, Ithaca.
- Williams AP, Cockburn JE. 1991. Effect of slowly and rapidly degraded protein sources on the concentrations of amino acids and peptides in the rumen of steers. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 56:303-314.