

ANIMAL

Nutritional evaluation of total mixed rations containing rice grain in an *in vitro* rumen fermentation system

Sung Jae Yang¹, Han Been Kim¹, Joon Beom Moon¹, Na Eun Kim¹, Joong Kook Park², Byung Ki Park³, Se Young Lee⁴, Jakyoom Seo^{1*}

¹Life and Industry Convergence Research Institute, Department of Animal Science, Pusan National University, Miryang 50463, Korea

²Institute of Livestock, Nonghyup Co., Ltd., Ansong 17558, Korea

³Nonghyup Feed Co., LTD., Seoul 05398, Korea

⁴Department of Animal Science, Yonam College, Cheonan 31005, Korea

*Corresponding author: jseo81@pusan.ac.kr

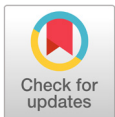
Abstract

This study was conducted to evaluate the nutritional value of total mixed rations (TMR) containing rice grain in an *in vitro* rumen fermentation system. Three types of grains (corn, wheat, and rice), timothy, and soybean meal (SBM) were used to prepare the experimental TMR: Corn TMR, Wheat TMR, and Rice TMR. The rumen fermentation characteristics of all the experimental TMRs were evaluated by an *in vitro* anaerobic system using rumen fluid for 24 and 48 h. The digestibility of the nutrients (dry matter [DM], crude protein [CP], and neutral detergent fiber [NDF]), pH, ammonia (NH₃-N), and volatile fatty acids (VFA) were determined. Rice TMR showed a higher DM digestibility than that of the Corn TMR at 48 h ($p < 0.05$). In all treatments, the CP digestibility was more than 80% at 48 h, but no significant differences were observed among the treatments. The NDF digestibility tended to be the lowest in the Wheat TMR ($p = 0.06$), and the pH tended to be the lowest in the Rice TMR ($p = 0.09$) among the treatments for the 48 h incubation. The Wheat TMR had the highest NH₃-N concentration among the treatments ($p < 0.01$). Rice TMR had a lowest total VFA concentration among the treatments ($p = 0.05$) at 24 h, but no significant differences were observed at 48 h. Based on this *in vitro* result, it was considered that a rice grain has the potential to replace conventional grain ingredients when the TMR was formulated.

Keywords: *in vitro*, rice grain, rumen fermentation, total mixed ration

Introduction

Total mixed ration (TMR)은 조·농 완전혼합사료로서 조사료와 농후사료의 균형적 섭취, 사료 섭취량 및 영양소 이용효율의 향상, 반추위내 발효를 안정시키는 등 여러 장점을 가지고 있다(Kleiber et al., 1952; Mcgilliard et al., 1983; Nocek et al., 1985). 또한 국내연구에서 TMR의 급여가 산육성 및 육



OPEN ACCESS

Citation: Yang SJ, Kim HB, Moon JB, Kim NE, Park JK, Park BK, Lee SY, Seo JK. 2018. Nutritional evaluation of total mixed rations containing rice grain in an *in vitro* rumen fermentation system. Korean Journal of Agricultural Science. <https://doi.org/10.7744/kjoas.20180082>

DOI: <https://doi.org/10.7744/kjoas.20180082>

Received: August 10, 2018

Revised: October 10, 2018

Accepted: October 22, 2018

Copyright: © 2018 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.

질등급을 높이는 데 효과가 있는 것으로 보고되면서(Kim et al., 2003) 한우농가에서의 TMR 급여량이 증가하고 있으며 최근에는 한우 비육우 전체사료 급여량의 20%를 차지하는 것으로 보고되었다(KOSTAT, 2018). 한편, 최근 축우 사양기술 및 신규 원료 탐색에 대한 지속적인 노력에도 불구하고 한우사양에서 사료비는 생산비의 40% 정도로 여전히 많은 부분을 차지하고 있으며(KOSTAT, 2017), 이는 국내 사료산업에서 사료원료의 높은 해외 의존도 때문인 것으로 보인다. 특히 사료곡물에 대한 국내 사료산업의 해외 의존도는 매우 높는데, 예를 들어 가축의 주 에너지 공급원인 옥수수의 경우 우리나라가 세계에서 2번째로 많은 양을 수입하고 있다(FBOCNU, 2015; Kim et al., 2017). 따라서 향후 안정적인 TMR의 제조와 보급을 위해서는 국내 자급 가능한 사료 원료를 찾기 위한 지속적인 연구가 필요하다.

2015년 정부의 정책으로(MAFRA, 2015) 3년 이상 저장된 현미 형태의 재고미를 사료용 원료로 사용할 수 있게 됨에 따라 반추가축용 원료로서의 현미의 사료가치평가에 대한 필요성이 대두되었고, 이에 따라 수행된 현미의 영양적 가치평가 연구에서는 반추위 발효성상과 경제성 측면에서 무처리 분쇄 현미가 사료원료로 적절하다고 보고된 바 있다(Yang et al., 2018). 그러나 기존 국내에서 수행된 TMR 연구들을 살펴보면 인진쑥을 사용하거나(Moon et al., 2011), 동계사료작물 사일리지를 사용하는 등(Jung et al., 2009) 국내 조사료원료를 TMR에 적용하는 단계에서 연구가 주로 이루어져 왔고, 곡물원료로서 재고미를 TMR 사료원료로 사용한 연구는 수행된 적이 없었던 것으로 추정된다.

따라서 본 연구의 목표는 현미를 곡류 원료로 사용한 실험용 TMR을 제조하고 그 영양적 가치를 일반성분분석과 *in vitro* 반추위 발효성상 변화로 평가하는데 있으며, 최종적으로 TMR 배합의 주요 곡류 원료인 옥수수와 소맥의 대체 가능성을 평가하는데 있다.

Materials and Methods

공시 재료 및 공시동물

본 연구를 수행하기 위해 사용된 현미, 소맥, 옥수수, 티모시, 대두박은 국내 배합사료회사 중 한 곳(AT Immune Inc., Ochang, Korea)로부터 제공받았다. 현미와 대두박은 균일하게 파쇄된 형태로, 소맥과 옥수수는 파쇄하지 않은 형태로 제공받았고, 티모시는 절단되지 않은 형태로 제공받았다. 모든 원료들은 실험에 사용되기 전, 각각 1 mm체가 부착된 cyclone mill (Foss, Hillerød, Denmark)로 분쇄되었고, 이후 0.3 mm의 체를 통해 입자크기가 0.3 - 1 mm 것만을 이용하였다. 실험에 사용된 TMR은 건물(dry matter, DM) 기준으로 다음과 같은 배합비로 제조되었으며, 가소화영양소 총량(TDN) 75%를 충족시킬 수 있도록 하였다.

곡류원료(현미, 소맥, 옥수수): 70%

조사료원료(티모시): 23%

단백질 원료(대두박): 7%

본 연구에서 사용된 시험용 TMR은 주원료에 따라 Rice TMR, Wheat TMR, Com TMR의 세 처리구로 구분하였다. 실험에 사용된 공시동물은 반추위 케놀라가 장착된 건유기 홀스타인 젖소로(450 ± 30 kg), 6:4의 조농비율을 만족시키는 사료를 1일 2회 급여 받았으며, 조사료원료로는 티모시를, 농후사료원료로는 상용 배합사료(Hafeed, Co., Ltd., Busan, Korea; 12% 조단백질[crude protein, CP], 3.5% 조지방[ether extract, EE], 26% 중성세제불용섬유소[neutral detergent fiber, NDF], 10% 조회분[Ash])를 사용하였다. 공시동물은 자동급수기와 mineral block을 이용하여 물과 광물질을 자율 섭취하였다.

영양소 분석

공시 사료 원료 5종의 DM (#934.01), 조단백질(CP, #976.05), 조지방(EE, #920.39), 조회분(Ash, #942.05)은 AOAC (2005)

에 제시된 방법에 따라 분석되었다. CP는 총 질소 함량의 6.25 배로 계산된 값을 측정하였고, 사료의 총 질소 함량은 Nitrogen Combustion Analyzer (Leco FP-528 Leco, MI, USA)를 이용하여 측정되었다. 섬유소 함량 평가를 위한 중성세제불용섬유소(NDF)와 Lignin은 Van Soest et al. (1991)에 의해 분석되었으며, NDF 분석을 위해 heat stable α -amylase를 사용하여 분석하고, 잔여 ash를 포함하여 표현하였다. 또한 상기의 분석항목을 이용하여 사료의 에너지를 TDN으로 평가하기 위해 NRC (2001)의 젖소사양표준을 사용하였다. 본 연구에서 사용된 원료 및 시험용 TMR의 성분분석은 Table 1에 나타내었다.

in vitro 발효 실험

배양액을 분주하기 전, 각각의 공시사료는 1 g씩 Nylon bag (R510, Ankom Technology, NY, USA)에 처리구 별로 10개씩 담겨 처리구 당 2개씩 5개의 500 mL duran bottle에 보관되었다. 반추위액은 당일 오전 사료급여 전 캐놀라를 통해 채취되었으며, 2 L 보온병에 보관되어 즉시 연구실로 옮겨졌다. 이후 8겹의 cheese cloth에 걸러진 뒤 1 : 3의 비율로 *in vitro* buffer (Goering and Van Soest, 1970)에 희석되었고, O₂ free-CO₂에 bubbling시켜 완전 혐기 상태를 유지한 상태로 유지되었다. 이를 nylon bag이 담긴 500 mL duran bottle에 240 mL씩 분주하고 bottle cap을 이용하여 완전 sealing 처리하였다. sealing된 duran bottle은 39°C incubator에서 24, 48 h 동안 배양 처리를 거친 다음 해당 시간에 개봉하여 DM 소화율, pH, ammonia nitrogen (NH₃-N), 휘발성지방산(volatile fatty acid, VFA) 발생량을 각각 측정하였다.

배양이 종료된 후, 소화물이 포함된 반추위액은 3000 rpm \times 15 min의 원심분리 과정을 거친 다음, 상등액의 각 1 mL씩을 NH₃-N와 VFA 측정을 위해 분리 채취하였다. NH₃-N 측정용 배양액에는 0.2 M H₂SO₄ 200 μ L를, VFA 측정용 배양액에는 25% metaphosphoric acid 200 μ L를 각각 첨가하여 vortexing 후 분석 전까지 -80°C에 냉동 보관하였다. 시료가 담긴 nylon bag은 증류수를 이용하여 6 - 7회 깨끗이 씻은 후 55°C dry oven에서 48시간 건조, 방랭 후 무게를 측정하여 DM 소화율을 측정하였다(Goering and Van Soest, 1970). DM 소화율을 측정하고 난 뒤, 소화 잔량의 CP, NDF 함량을 측정하여 CP, NDF 소화율을 측정하였다.

pH는 3000 rpm \times 15 min의 원심분리 과정을 거친 반추위액을 pH meter (FP20, Mettler toledo, OH, USA)를 이용하여 측정하였다. NH₃-N 측정은 Chaney and Marbach (1962)가 제시한 방법을 이용하여 측정하였다. 냉동 보관해둔 배양액 Sample을 4°C에서 녹이고, 20,000 rcf \times 15 min의 원심분리과정을 후 상층액 200 μ L를 1.5 mL tube에 분주하였다. NH₃-N standard와 각각의 시료 2 μ L씩을, phenol color reagent (phenol 50 g, sodium nitroferrocyanide 0.25 g, distilled water 1 L)와 alkali-hypochlorite (sodium hydroxide 25 g, sodium hypochlorite 16.8 mL, distilled water 1 L) 각 100 μ L씩을 96 well cell plate에 분주 하고, 항온 수조(37°C)에서 15분간 반응시켜 microplate reader (iMARK, Biorad, CA, USA)를 이용하여 630 nm의 파장에서 흡광도를 측정하였다.

VFA의 측정은 Erwin et al. (1961)이 제시한 방법에 따라 측정하였다. 보관해둔 sample을 4°C에서 녹이고, 20,000 rcf \times 15

Table 1. Chemical composition (%DM or as fed basis) of feed ingredient and experimental TMR.

Items	Rice	Wheat	Corn	Timothy	Soybean meal	Rice TMR	Wheat TMR	Corn TMR
DM, as fed	88.5	90.1	89.2	93.4	89.6	89.7	90.8	90.2
CP	9.00	12.7	8.60	6.40	53.4	11.5	14.1	11.2
NDF	2.70	14.1	8.20	69.2	10.8	18.6	26.5	22.4
Lignin	0.97	1.54	2.78	7.30	1.28	2.40	2.80	3.70
EE	2.13	1.75	3.62	1.12	1.99	1.89	1.62	2.93
Ash	1.85	1.83	2.04	6.72	6.41	3.29	3.28	3.42
TDN	88.0	83.2	85.9	52.1	81.6	79.3	75.9	77.8

TMR, total mixed rations; DM, dry matter; CP, crude protein; NDF, neutral detergent fiber; EE, ether extract; TDN, total digestible nutrients.

min의 원심분리과정 후 상층액 200 μ L를 D.W 800 μ L로 희석하여 VFA 분석을 위한 flame ionization detector와 capillary column (Nukol™ Fused silica capillary column 30 m \times 250 μ m \times 0.25 μ m, Supelco Inc., PA, USA)이 장착된 gas chromatograph (Agilent 7890A, Agilent Technology, CA, USA)를 이용하여 측정하였다. 측정을 위한 oven, injector, detector의 온도는 각각, 90, 90 - 200, 230°C로 유지되었고, 질소는 이동상 gas로 30 mL/min의 flow rate를 유지하며 사용되었다.

통계 분석

in vitro 실험에서 측정된 모든 data는 SAS package 9.3 (SAS Institute Inc., Carey, NC, USA)의 GLM procedure에 의해 분석되었다. TMR의 따른 처리구 간 유의적 차이는 Tukey 검정에 의해 95% 유의수준으로 분석되었다.

Results & Discussion

원료사료 및 TMR의 영양소 성분 분석

본 연구에서 사용된 공시사료의 및 원료사료의 영양소 성분분석 결과는 Table 1에 나타내었다. 세 가지 TMR 처리구에 대한 영양소 성분분석은 주원료(현미, 소맥, 옥수수)와 티모시, 대두박의 배합비율(주원료 70%, 티모시 23%, 대두박 7%)에 따라 계산되었다.

Rice, Wheat, Corn TMR 각각의 건물 함량은 89.7, 90.8, 90.2%로 세 처리구 모두 비슷한 수치를 나타내었고, CP함량은 Wheat TMR (14.1% DM)에서 Rice TMR (11.5% DM), Corn TMR (11.2% DM) 보다 상대적으로 높았다. NDF와 lignin의 경우에는 Rice TMR이 18.6% DM, 2.40% DM으로 세 가지 TMR 처리구 중 가장 낮은 수치를 보였다. TDN은 Rice TMR (79.3%DM) > Corn TMR (77.8% DM) > Wheat TMR (75.9% DM) 순서로 높게 나타났다. 이는 원료로 사용된 현미의 낮은 CP, NDF, lignin 함량이 소맥과 옥수수를 TMR 원료에서 대체함에 따라 나타난 결과로 사료되며, 각 원료의 일반성분분석을 고려해볼 때(Table 1), 현미는 소맥보다 옥수수와 유사한 양의 각각의 영양소를 함유하고 있는 것으로 보인다.

Table 2. *In vitro* fermentation of TMR with different treatments.

Items	Rice TMR	Wheat TMR	Corn TMR	SEM	p-value
DM digestibility (%)					
24 h	65.0	71.2	62.6	4.623	0.19
48 h	79.2a	76.1ab	72.3b	1.944	< 0.05
CP digestibility (%)					
24 h	75.7ab	81.7a	73.3b	2.933	< 0.05
48 h	84.9	87.3	82.8	3.931	0.53
NDF digestibility (% NDF)					
24 h	23.4b	23.2b	29.9a	2.154	< 0.05
48 h	32.7	26.5	31.7	2.522	0.06
pH					
24 h	6.20	6.25	6.14	0.096	0.53
48 h	5.62	5.87	5.73	0.105	0.09
NH ₃ -N (mg/dL)					
24 h	25.8b	32.7a	27.1b	0.940	< 0.01
48 h	31.1b	38.0a	31.7b	0.929	< 0.01

TMR, total mixed rations; SEM, Standard error of the mean; DM, dry matter; CP, crude protein; NDF, neutral detergent fiber.

a, b: Means within a row with different superscript letters indicate significant differences between treatments ($p < 0.05$).

공시 재료의 *in vitro* 발효 평가

공시재료의 *in vitro* 발효 성장 결과는 Table 2와 Table 3에 제시하였다. 세 TMR 처리구의 건물 소화율은 배양시간이 지남에 따라 증가하였다(Table 2). 24 h의 소화율은 Rice TMR (65.0%), Wheat TMR (71.2%), Com TMR (62.6%) 간 유의적 차이를 나타내지 않았다. 배양 48 h에서는 Rice TMR의 소화율(79.2%)이 Com TMR의 소화율(72.3%)에 비해 유의적으로 높았다($p < 0.05$). 이는 Oh et al. (2006)이 *in situ* 연구에서 현미가 옥수수에 비해 높은 소화율을 나타냈다고 보고한 결과와 동일한 경향으로서, 주원료인 현미와 옥수수의 소화율이 각각 Rice TMR과 Com TMR 소화율에 직접적인 영향을 미친 것에 따른 결과로 보인다. 또한 반추위 환경에서 다른 곡류들에 비해 상대적으로 빠르게 분해되는 소맥의 특성이(Herrera-Saldana et al., 1990; Opatpatanakit et al., 1994) 24 h Wheat TMR 소화율의 유의적 차이에 영향을 줄 것으로 예상하였으나, 실제 측정된 값에는 유의적 차이가 없었으며, 상기의 유의적 차이를 확인하기 위하여 24 h 이전의 초기 배양 시간(e.g., 3, 6 h)의 소화율 측정이 필요할 것으로 사료된다. 또한 Rice TMR과 Com TMR의 건물소화율은 Miyaji et al. (2012)의 현미와 옥수수를 이용한 TMR연구와 동일한 경향을 보였으나 다른 발효성장들은 다소 차이를 보였다. 이는 측정방법의 차이 이외에도 TMR의 농후사료(옥수수 또는 현미) 대 조사료 비율, 원료에 대한 silage, flake 처리 등 TMR의 구성성분 및 제조방법의 차이에 의한 것으로 생각된다.

CP 소화율은 배양 24 h에서 Rice TMR이 75.7%, Wheat TMR이 81.7%, Com TMR이 73.3%로 Wheat TMR이 가장 높은 결과를 보였고($p < 0.05$), Rice TMR과 Com TMR 간의 유의적 차이는 나타나지 않았다. 48 h에서는 Rice TMR, Wheat TMR, Com TMR의 CP 소화율이 모두 80% 이상이었으나 처리구 간 유의적 차이는 보이지 않았다. 기존 연구에서 보고된 TMR의 CP 소화율은 *in situ* 상에서 Rice TMR이 약 90% (24 h), Wheat, Com TMR이 90% 이상(48 h)이었고(Herrera-Saldana et al., 1990; Miyaji et al., 2010), 이에 비해 본 연구의 CP 소화율은 전반적으로 낮았는데, 이는 본 연구에서 사용된 분해율 평가법(*in vitro*)과 기존연구의 평가법(*in situ*)의 차이에 의한 것으로 추정된다.

시험용 TMR의 NDF 소화율은 배양 24 h에서 Com TMR이 29.9% NDF로 가장 높은 결과를 보였다($p < 0.05$). 또한 배양 48 h에서는 세 TMR 처리구간 NDF 소화율이 유의적 차이는 보이지 않았지만, Rice TMR (32.7% NDF)이 Wheat TMR

Table 3. Volatile fatty acids production of TMR with different treatments.

Item	Rice TMR	Wheat TMR	Corn TMR	SEM	p-value
TVFA (mM)					
24 h	70.6	77.8	78.1	3.183	0.05
48 h	99.4	102.2	94.8	3.550	0.16
Acetate (mmol/mol)					
24 h	574.8	578.6	578.0	6.195	0.79
48 h	547.2	563.4	555.4	9.898	0.30
Propionate (mmol/mol)					
24 h	231.6	229.0	227.5	6.021	0.79
48 h	248.2	232.6	237.2	7.893	0.17
Butyrate (mmol/mol)					
24 h	143.0a	135.8b	143.8a	1.638	< 0.01
48 h	155.2	145.9	155.0	4.713	0.12
A : P ratio					
24 h	2.48	2.53	2.55	0.090	0.77
48 h	2.21	2.43	2.34	0.116	0.19

TMR, total mixed rations; SEM, Standard error of the mean; TVFA, total volatile fatty acid; A : P ratio, acetate : propionate ratio.

a, b; Means within a row with different superscript letters indicate significant differences between treatments ($p < 0.05$).

(26.5% NDF)보다 NDF 소화율의 높은 경향을 나타내었다($p = 0.06$).

pH는 일반적으로 반추위에서 발생하는 소화에 의해 감소하게 되는데(Russell, 2002), 본 연구에서도 배양시간이 증가함에 따라 모든 TMR 처리구의 pH가 감소한 수치를 보였다. 48 h에서 Rice TMR이 Wheat TMR 보다 낮은 경향을 보였으나($p = 0.09$), 그 외에 두 배양시간 모두에서 처리구 간 유의적 차이는 나타나지 않았다.

$\text{NH}_3\text{-N}$ 발생량은 시간이 지남에 따라 모두 증가하였다. 24, 48 h 모두에서 Wheat TMR의 $\text{NH}_3\text{-N}$ 발생량이 가장 높았고($p < 0.01$), Rice TMR과 Com TMR은 처리구 간 유의적 차이를 보이지 않았다. $\text{NH}_3\text{-N}$ 발생량이 소맥에서 가장 높았던 것은 건물소화율과 조단백질 소화율을 고려해 보았을 때, 소화율에 의한 차이보다는 Wheat TMR의 조단백질 함량이 Rice TMR과 Com TMR보다 높았기 때문으로 여겨진다.

총 VFA 발생량(Table 3)은 24 h에서 Rice TMR이 Wheat TMR과 Com TMR에 비해 낮은 경향성을 보였으나($p = 0.05$), 배양 48 h에서 총 VFA의 유의적 차이는 발견되지 않았다($p > 0.05$). 모든 배양 시간에서 acetate, propionate의 비율은 처리구간 유의적인 차이를 나타내지 않았으며, 배양 24 h에서 Wheat TMR의 butyrate 비율은 다른 처리구에 비해 유의적으로 낮았다($p < 0.01$). 현미를 단일원료로 사용한 기존의 *in vitro* 연구에 비해 본 연구에서 측정된 Rice TMR 처리구의 acetate 발생 비율은 높고, propionate 비율은 낮았다(Yang et al., 2018). acetate의 발생비율은 섬유질 사료가 acetate 생산 박테리아 종을 성장시켜 증가하고, propionate는 농후사료에 의해 propionate 생산 박테리아종이 발달하여 증가하므로(France and Dijkstra, 2005), 본 연구에서 TMR 제조 시 섬유질 공급원인 티모시를 일정 함량(23%) 공급한 것이 기존 연구와 본 연구간, acetate, propionate 비율에 차이를 가져온 것으로 보인다.

Conclusion

본 연구에서는 현미를 이용한 TMR의 사료가치 평가 및 TMR에서의 곡류사료원료의 대체 가능성 평가를 위해 Rice TMR, Wheat TMR, Com TMR의 영양소 분석 및 *in vitro* 소화율을 분석하였다. 건물소화율은 48 h에서 Rice TMR이 Com TMR에 비해 높은 결과를 보였으나($p < 0.05$) CP 소화율과 NDF 소화율은 세 TMR 처리구 간 유의적 차이가 없었고, VFA 생성량, acetate, propionate의 비율에서도 처리구 간 유의적 차이를 나타내지 않았다. 상기의 결과를 바탕으로 현미는 TMR 제조 시 사용되는 주요 곡물 원료인 옥수수과 소맥을 충분히 대체 가능할 것으로 사료되며 현미 대체 TMR을 적용한 사양실험이 필요할 것이다. 옥수수를 현미로 대체한 TMR을 사용한 기존 사양 평가에서(Miyaji et al., 2014) 현미의 40% 이상 사용은 건물 섭취량과 유생산량에 부정적인 영향을 미친 것으로 보고하고 있으므로, 비육우를 대상으로 한 사양실험에서 TMR 내 현미의 적정 사용비율에 대한 추가적인 연구가 필요할 것으로 사료된다.

Acknowledgements

본 연구는 부산대학교 자유학술과제 연구비(2년)에 의하여 연구되었습니다.

References

- AOAC (Association of Official Analytical Chemists). 2005. Official methods of analysis of AOAC International. AOAC international, Gaithersburg, MD, USA.
- Chaney AL, Marbach EP. 1962. Modified reagents for determination of urea and ammonia. Clinical chemistry 8:130-132.

- Erwin ES, Marco GJ, Emer EM. 1961. Volatile fatty acid analyses of blood and rumen fluid by gas chromatography. *Journal of dairy science* 44:1768-1771.
- FBOCNU (Foundation of research and Business of Chungnam National University). 2015. Development of program for calculating the retail price of Hanwoo's formulated feed and plan of cost reduction. p. 2. FBOCNU, Daejeon, Korea.
- France J, Dijkstra J. 2005. Volatile fatty acid production. In *Quantitative aspects of ruminant digestion and metabolism* (2nd) edited by Dijkstra J, Forbes JM, France J. p 159. CABI Publishing, Cambridge, MA.
- Goering HK, Van Soest PJ. 1970. Forage fiber analysis: (apparatus, reagents, procedures, and some applications). Agricultural Research Service, U.S. Department of Agriculture, Maryland, USA.
- Herrera-Saldana RE, Huber JT, Poore MH. 1990. Dry matter, crude protein, and starch degradability of five cereal grains¹. *Journal of Dairy Science* 73:2386-2393.
- Jung GW, Jo IH, Hwangbo S, Lee SH. 2009. Effects of feeding total mixed rations containing different winter forage crop silages on feed intake, nutrient digestibility and blood characteristics in Korean black goats. *Journal of The Korean Society of Grassland and Forage Science* 29: 389-398. [in Korean]
- Kim DH, Park HY, Choi CW. 2017. Comparison of in vitro ruminal fermentation between different originated corn grains. *Korean Journal of Agricultural Science* 44:541-548. [in Korean]
- Kim KH, Kim KS, Lee SC, Oh YG, Chung CS, Kim KJ. 2003. Effects of total mixed rations on ruminal characteristics, digestibility and beef production of Hanwoo steers. *Journal of Animal Science and Technology* 45:387-396. [in Korean]
- Kleiber M, Smith AH, Black AL, Brown MA, Tolbert BM. 1952. Acetate as a precursor of milk constituents in the intact dairy cow. *Journal of Biological Chemistry* 197:371-379.
- KOSTAT (Statistics Korea). 2017. Survey on production cost of agricultural and livestock products in 2016. Statistics Korea, Daejeon, Korea. [in Korean]
- KOSTAT (Statistics Korea). 2018. Current state of Hanwoo beef cattle breeding. Statistics Korea, Daejeon, Korea. [in Korean]
- MAFRA (Ministry of Agriculture, Food and Rural Affairs). 2015. Mid to long term supply-demand stability measures of rice. MAFRA, Sejong, Korea. [in Korean]
- McGilliard ML, Swisher JM, James RE. 1983. Grouping lactating cows by nutritional requirements for feeding. *Journal of Dairy Science* 66:1084-1093.
- Miyaji M, Nonaka K, Matsuyama H, Hosoda K, Kobayashi R. 2010. Effects of cultivar and processing method of rice grain on ruminal disappearance characteristics. *Japanese Journal of Grassland Science* 56:13-19. [in Japanese]
- Miyaji M, Matsuyama H, Hosoda K, Nonaka K. 2012. Effect of replacing corn with brown rice grain in a total mixed ration silage on milk production, ruminal fermentation and nitrogen balance in lactating dairy cows. *Animal Science Journal* 83:585-593.
- Miyaji M, Matsuyama H, Hosoda K. 2014. Effect of substituting brown rice for corn on lactation and digestion in dairy cows fed diets with a high proportion of grain. *Journal of dairy science* 97:952-960.

- Moon YH, Yang JB, Jung IC. 2011. Effect of feeding mugwort (*artemisia capillaris*) TMR fodder on physicochemical and sensory characteristics of Hanwoo rump meat. *Journal of the East Asian Society of Dietary Life* 21:345-352. [in Korean]
- Nocek JE, Steele RL, Braund DG. 1985. Effect of mixed ration nutrient density on milk of cows transferred from high production group. *Journal of Dairy Science* 68:133-139.
- NRC (National Research Council). 2001. Nutrient requirements of dairy cattle (7ed). National Academic Press, Washington D.C., USA.
- Oh YK, Kim KH, Choi CW, Kang SW, Chung IB, Nho WG. 2006. Evaluation of feeding value of brown rice in Korean native beef steers (Hanwoo). *Journal of Animal Science and Technology* 48:393-400. [in Korean]
- Opatpatanakit Y, Kellaway RC, Lean IJ, Annison G, Kirby A. 1994. Microbial fermentation of cereal grains *in vitro*. *Australian Journal of Agricultural Research* 45:1247-1263.
- Russell JB. 2002. Rumen microbiology and its role in ruminant nutrition. p. 10. Cornell University, Ithaca, NY, USA.
- Van Soest PJ, Robertson JB, Lewis BA. 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *Journal of dairy science* 74:3583-3597.
- Yang SJ, Jung ES, Kim HB, Shin TS, Cho BW, Cho SK, Kim BW, Seo JK. 2018. Nutritional evaluation of rice with different processing treatments on in vitro rumen fermentation characteristics and *in situ* degradation. *Korean Journal of Organic Agriculture* 26:281-296. [in Korean]