

In Vitro에 의한 제올라이트·尿素合劑의 飼料效率 判定

李宰求·李浩一

全北大學校, 農科大學 獸醫學科

緒 論

前報⁹⁾에서는 우리 나라에서 市販되고 있는 제올라이트·尿素合劑의 飼料的 效率를 檢討하기 위하여 *in vivo*에서 암모니아態窒素의 動態를 관찰하였던 바 尿素 單一投與群과 제올라이트·尿素合劑 投與群 사이에 有意性 있는 差異點을 認定할 수 없었기 때문에 이번에는 어느 程度의 제올라이트를 尿素에 混合시킴으로써 尿素의 飼料價値를 增進시킬 수 있는가를 究明하고 尿素中毒效果를 檢討하기 위하여 *in vitro*에서 本 實驗을 試圖하게 되었다.

材料 및 方法

供試動物: 全北大學校 農科大學 附屬動物 飼育場에서 飼育하고 있는 Holstein 杼乳牛, 體重 535kg.

飼料: 1日 濃厚飼料(Table 1 參照) 6.5Kg을 아침 저녁 2회로 나누어 給與하였으며, 바랭이青草를 自由給食시켰다.

尿素: 前報¹⁰⁾와 같음.

제올라이트: 한두交易製 Clinoptilolite [Ca, Na₂(Al₂Si₇O₁₃) 6H₂O, 陽이온 交換能力(CEC): 100me/100g以上]

胃液採取: 朝食給與前인 上午 6時에 經鼻式 胃液採取器를 利用하였다.

胃液의 人工培養: 500ml 廣口瓶에 300ml의 胃液을 넣어 7個區로 處理, 1個 處理區 當 3反復實驗을 試圖하였다. 各 培養瓶에 營養素, 尿素, 제올라이트를 Table 2. 와 같이 添加한 후 N₂와 CO₂ 가스를 95:5로 注入하여 39°C 恒溫器內에서 培養하였다(Fig. 1 및 2 參照).

培地의 pH測定: 培養直前과 培養終了 후 2회에 걸쳐 TOA MH5A를 사용하여 胃液의 pH를 測定하였다.

NH₃-N測定: 培養直前, 培養開始 후 30분에 胃液의 NH₃-N을 江藤 및 大森의 方法¹²⁾에 따라 1時間후 부터는 1時間 間隔으로 9時間까지 625nm로 調整한 Baush

& Lomb Spectronic 20을 사용하여 測定하였다. NH₃-N 基準液은 特級(NH₄)₂SO₄를 사용하여 保存用으로서 1mg/ml로 調整하였고 測定時에는 1μg~30μg/ml로 희석하여 標準直線 $\hat{Y} = 0.0389x - 0.0383$ 을 얻었다.

各屬 纖毛虫 出現率 및 推定纖毛虫數: 李의 方法⁹⁾에 準하였다.

纖毛虫의 活性度: 5ml 程度의 試料를 비이커에 取하여 立體顯微鏡으로 40倍率에서 관찰하였다.

Table 1. Formular, DCP and TDN of the Concentrates

Item	Formular (%)	DCP (%)	TDN (%)
Formulated Feed	6.94	13.00	72.00
Barly Bran	60.00	9.90	67.60
White Flaked Rice	30.00	3.70	77.40
Calcium Phosphate	0.83		
Common Salt	0.83		
Urea	0.83		
All Mix C	0.56		
Total	100.00	7.95	68.78

Table 2. Amount of Nutrient, Urea and Zeolite

Group	Dextrose (g)	Starch (g)	Urea (g)	Zeolite (g)
Control I	0.2	0.2		
Control II	0.2	0.2	0.162	
40% Urea	0.2	0.2	0.162	0.243
20% Urea	0.2	0.2	0.162	0.648
10% Urea	0.2	0.2	0.162	1.458
5% Urea	0.2	0.2	0.162	3.078
1% Urea	0.2	0.2	0.162	16.038

結果 및 考察

培地の pH: 培養 전과 培養 후 9시간의 pH 변화는 Table 3에 나타난 바와 같다. 즉, 尿素를 添加하지 않은 control I에서는 培養 전이나 培養 후 9시간의 pH는 별로 變化하지 않았는데 尿素를 添加한 1% 尿素區를 除外한 全區는 培養 전에 비하여 培養 후 9시간의 pH가 다소 알칼리쪽으로 기우는 傾向이었다. 이는 尿素로부터 生成된 암모니아가 *in vitro*에서는 揮發性 脂肪酸의 生産이 不振하므로 암모니아를 제대로 中和시킬 수 없었기 때문이 아닌가 생각된다. 그리고 1% 尿素區는 다른 尿素區에 비하여 pH가 다소 낮은 傾向이었는데 이는 多量의 ゼ올라이트 添加에 의한 암모니아의 吸着에 의한 것으로 본다.

纖毛虫의 活性度: 培養 전과 培養 후 9시간의 纖毛虫 活性度を 調査한 바 全區에서 활발한 運動性을 관찰할 수 있었다.

推定 纖毛虫數: 1ml 당 推定 纖毛虫數는 Table 4에 나타난 바와 같이 培養前에 비하여 培養 후 9시간에 全區 모두 약간 增加하는 傾向이었다.

各屬 纖毛虫 出現率: 培養 전과 培養 후 9시간에 各區의 出現率은 Table 5에 나타난 바와 같이 거의 變化하지 않았다.

培地の NH₃-N值: 培地內에 발생한 NH₃-N值는 Fig. 4 및 5에 나타난 바와 같다. 즉 尿素를 添加하지 않은 control I에 있어서는 培養 전에 408 μg/ml이었던 것이 時間이 경과함에 따라 基質內의 蛋白質 分解에 의하여 生成된 암모니아 때문에 그 值가 약간 增加되어 培養 후 9시간에는 496.5 μg/ml이었는데 尿素만을 添加한 control II에 있어서는 培養 후 30분에 1452 μg/ml

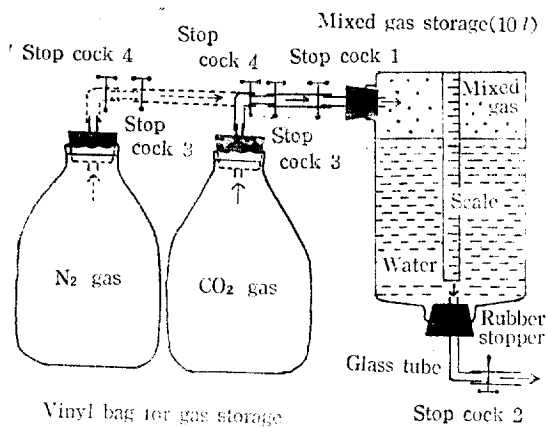


Fig. 1. Apparatus for mixing CO₂ and N₂ gases.

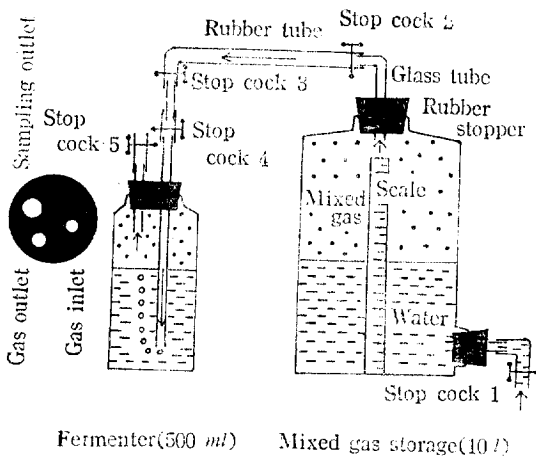


Fig. 2. Apparatus for anaerobic fermentation system.

Table 3. Change of pH in the Ruminal Juice

Replication	Before Incubation	Nine Hours after Incubation						
		Control I	Control II	40% Urea	20% Urea	10% Urea	5% Urea	1% Urea
1st Experiment	6.60	6.55	6.85	6.85	6.90	6.90	6.85	6.70
2nd Experiment	6.85	6.90	7.15	7.10	7.15	7.15	7.15	6.95
3rd Experiment	7.05	6.95	7.20	7.25	7.25	7.20	7.20	7.00

Table 4. Change of the Number of Ruminal Ciliates (Mean±SE/ml)

Replication	Before Incubation	Nine Hours after Incubation
1st Experiment	232,500±162	251,668±1,880
2nd Experiment	221,335±1,333	231,478±3,063
3rd Experiment	226,333±1,333	235,762±2,176

Table 5. Change of Appearance Rate of Ruminal Ciliates Following Incubation

Genus	Before Incubation	Nine Hours after Incubation						
		Control I	Control II	40% Urea	20% Urea	10% Urea	5% Urea	1% Urea
<i>Isotricha</i>	0.14	0.13	0.03	0.19	0.06	0.17	0.05	0.08
<i>Dasytricha</i>	0.01						0.03	
<i>Entodinium</i>	94.47	96.33	96.02	95.94	95.68	95.78	96.78	95.83
<i>Diplodinium</i>		0.03	0.08	0.03				0.03
<i>Eudiplodinium</i>	4.65	2.88	3.03	3.05	3.31	3.19	2.63	3.15
<i>Polyplastron</i>	0.74	0.63	0.85	0.79	0.95	0.86	0.51	0.86
<i>Ostracodinium</i>								0.06

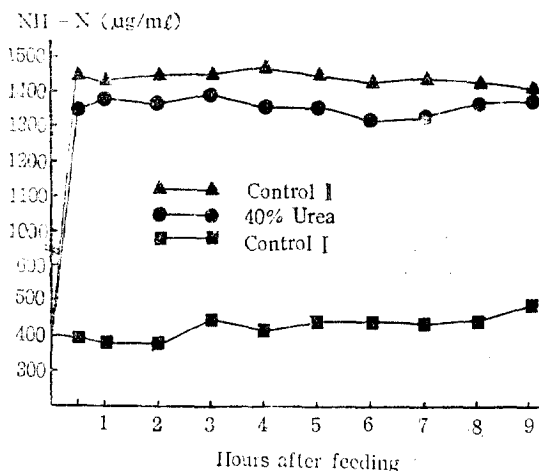


Fig. 3. Change of NH₃-N in ruminal juice (control I, control II and 40% urea).

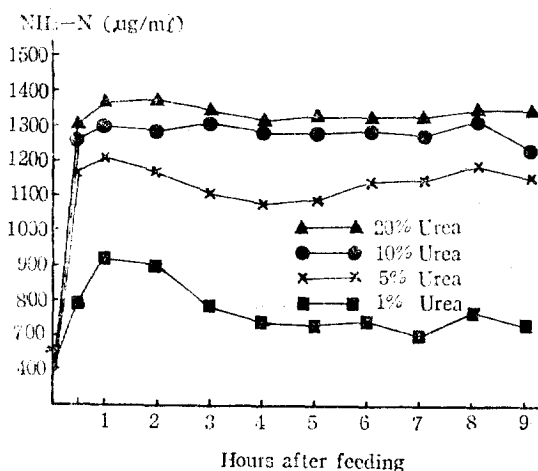


Fig. 4. Change of NH₃-N in ruminal juice (20% urea, 10% urea, 5% urea and 1% urea).

까지 올라가 그 이후부터 9시간까지 계속하여 그水準을維持하고 있었다.

그리고 尿素에다 제올라이트를 添加한 全區에 있어서 암모니아値는 제올라이트의 添加量에 反比例하였다. 즉 培養 후 30분에 40% 尿素區 1349 $\mu\text{g}/\text{ml}$, 20% 尿素區 1298 $\mu\text{g}/\text{ml}$, 10% 尿素區 1255 $\mu\text{g}/\text{ml}$, 5% 尿素區 1164 $\mu\text{g}/\text{ml}$, 1% 尿素區 786 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 이었으며 그 후부터 9時間까지 全區에 있어서 거의 一定한 水準의 암모니아値가 維持되었으며, 尿素단을 添加한 區를 基準으로 할 때 40% 尿素區 7%; 20% 尿素區 11%, 10% 尿素區 14%, 5% 尿素區 20%, 1% 尿素區 46%의 암모니아値를 제올라이트가 吸着하였다고 볼 수 있다.

尿素를 反芻獸에 投與하였을 때 第一胃內의 암모니아 濃度의 極期는 飼料의 種類에 따라 다르나 一般적으로 飼料 給與 후 1~3時間이라고 하며¹⁾ Mills 등²⁾은 쉽게 利用될 수 있는 炭水化物的 供給源이 없을 때 서서히 加水分解한다고 하였다.

Satter를 主軸으로 하는 Wisconsin 大學의 研究팀^{4,5)}은 *in vitro*와 *in vivo*에서 第一胃 內容液 100ml當 5mg의 NH₃-N가 微生物叢이 蛋白質을 合成하는데 利用할 수 있는 최대의 濃度라고 하였으며, 그 5mg은 飼料 中の 粗蛋白質 含量이 13%인 때라고 하였으므로 第一胃 內容液의 NH₃-N가 100ml當 5mg 以上 發生하게 飼料를 給與하는 것은 飼料의 浪費인 것이다.

그러므로 尿素를 反芻獸에 投與하여 第一胃 內容液의 NH₃-N의 發生量에 대한 研究結果를 보면 李 등⁹⁾은 것소를 2群으로 나누어 尿素와 제올라이트·尿素合劑(40% 尿素含有)를 投與한 후 第一胃 內容液의 암모니아値를 測定한 바 1時間에 極期(140mg/100ml)에 달하며 2時間부터 점점 떨어져 6~7時間에는 완전히 正常으로 回復하여 兩群 사이에 차이가 없었다고 하며, 房 및 金⁷⁾은 在來山羊에 尿素와 제올라이트·尿素合劑를 投與하여 兩群間에 第一胃內 NH₃-N發生量에 差異點이 없었

다고 하였으며, White 및 Ohlrogge⁸⁾는 第一胃 容積이 50%인 암소에 약 500g의 合成제올라이트를 投與함으로써 尿素에서 生成되는 암모니아의 15%를 吸着시킬 수 있다고 하였다.

本 實驗 結果에서 1% 尿素區만이 암모니아 發生曲線이 完滿하게 나타난 점을 考慮할 때 많은 細孔을 지니고 있는 제올라이트의 構造로 보아^{3,11)} 尿素와 제올라이트를 單純하게 混合하였을 때는 제올라이트의 이온交換 능이나 吸着性的 機能이 제대로 발휘될 수 없기 때문에 多量의 제올라이트를 混合하였을 때만 그 效果가 나타난다고 생각된다.

反芻獸에 있어서 尿素中毒을 豫防하기 위해서는 제올라이트의 強力한 암모니아 吸着作用이 隨伴되어야 하는데 本 實驗結果로 미루어 보아 제올라이트의 吸着作用이 매우 弱하기 때문에 尿素에 비해 大體한 量을 混合하여야 하므로 제올라이트·尿素合劑의 尿素中毒 豫防效果는 거의 기대할 수 없다고 생각된다.

結 論

어느 程度의 제올라이트를 尿素에 混合시키므로써 尿素的 飼料價値를 增進시킬 수 있는가를 究明하고 尿素中毒豫防效果를 檢討하기 위하여 *in vitro*에서 몇가지 實驗을 實施한 바 다음과 같은 成績을 얻었다.

1. 培地에 尿素를 添加하던 1% 尿素區를 除外한 全區에 있어서 pH가 다소 알칼리 쪽으로 기우는 傾向이 었다.

2. 尿素에 제올라이트를 添加한 全區에 있어서 암모니아値는 제올라이트의 添加量에 反比例하였다. 즉 培養 후 30분에 40% 尿素區 1349 $\mu\text{g}/\text{ml}$, 20% 尿素區 1298 $\mu\text{g}/\text{ml}$, 10% 尿素區 1255 $\mu\text{g}/\text{ml}$, 5% 尿素區 1164 $\mu\text{g}/\text{ml}$, 1% 尿素區 786 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 이었으며 그 후부터 9時間까지 全區에 있어서 거의 一定한 水準의 암모니아値가 維持되었다.

3. 現在 市販되고 있는 40% 尿素添加劑는 $\text{NH}_3\text{-N}$ 의 吸着效果가 거의 없었으며, 1%~5% 尿素添加劑를 投與하여야만 效果의인대 이는 막대한 量의 제올라이트가 들어있기 때문에 實用化될 수가 없다.

參 考 文 獻

1. Davis, G.V. and Stallcup, T.: Effect of soybean meal, raw soybeans, corn gluten feed,

and urea on the concentration of rumen fluid components at intervals after feeding. J. Dairy Sci. (1967) 50 : 1638.

2. Mills, R.C., Booth, A.N., Bohstedt, G. and Hart, E.B.: The utilization of urea by ruminants as influenced by the presence of starch in the ration. J. Dairy Sci. (1942) 25 : 925.

3. Munson, R.A.: Properties of natural zeolite. U.S. Bureau of Mines. (1973).

4. Satter, L.D. and Roffer, R.E.: Symposium: Protein and amino acid nutrition in the high producing cow-Nitrogen requirement and utilization in dairy cattle. J. Dairy Sci. (1975) 58 : 1219.

5. Satter, L.D. and Slyter, L.L.: Effect of ammonia concentration on rumen microbial protein production *in vitro*. Br. J. Nutr. (1974) 32 : 199.

6. White, J.L. and Ohlrogge, A.J.: Ion exchange materials to increase consumption of non-protein nitrogen in ruminants. Can. Patent 939186. (1974) Jan. 2, 1974.

7. 房極勝, 金榮吉: 新蛋白質 飼料의 開發 및 利用效率에 관한 研究. I. 在來山羊에 有用한 非蛋白質, 窒素의 開發에 관한 研究. 東亞大學校. 石堂論叢 (1977) 2 : 263.

8. 李宰求: 韓牛의 第一胃內에 棲息하는 纖毛虫類 出現率의 季節的 變化에 관한 研究. 全北大 農大論文集 (1975) 6 : 51.

9. 李宰求, 李浩一, 李相福: *In vivo*에 의한 제올라이트·尿素合劑의 飼料效率判定. 全北大 農大論文集 (1981) 12 : 88.

10. 李宰求, 李浩一, 李相福, 白秉杰: 飼料給與後 時間經過에 따른 糞소의 第一胃內 纖毛虫類의 動態. 大韓獸醫學會誌 (1979) 19 : 143.

11. 하백현: 제올라이트의 구조와 성질. 화학공학 (1978) 16 : 1.

12. 江藤哲雄, 大森昭一郎: 第一胃內 アンモニア의 定量法について. 日本畜産學會 關東支部 會報 (1971) 12 : 4.

An Estimation on the Feeding Values of Urea-mixed Zeolite *In Vitro*

Jae Ku Rhee, D.V.M., M.S., Ph.D. and Ho Il Lee, D.V.M., M.S.

Department of Veterinary Medicine, College of Agriculture, Jeonbug National University

Abstract

In order to estimate the efficiency of feed added urea-mixed zeolite the experiment was carried on *in vitro*.

The results obtained were as follows:

1. The pH of all media added urea were inclined toward alkali, except 1% urea (included 99% zeolite) medium.
2. The concentration of ammonia in all media added urea-mixed zeolite was inversely proportional to added volume of zeolite; 1,349, 1,298, 1,255, 1,164 and 786 $\mu\text{g/ml}$ in 40%, 20%, 10%, 5% and 1% urea media respectively for 30 minutes incubation, and the concentration of ammonia in all media was increased steadily as incubation time proceeded until 9 hours.
3. The efficiency of adsorption of ammonia to zeolite of the feed added 40% urea mixture (dealing in the feed store) was hardly recognized. Accordingly, it is efficient to utilize the feed added 1~5% urea mixture, but it is of no use practically because they need much amount of zeolite.