

비섬유탄수화물과 반추위분해단백질의 다른 비율이 *In Vitro* 발효와 젖소의 산유성적에 미치는 영향

서인준*, 이도형**, 이성훈***

우텍(주)*, 드림피드텍(주)**, 건국대학교 동물생명과학부***

Effects of Different Ratios of Nonfibrous Carbohydrate to Ruminally Degradable Protein on *In Vitro* Fermentation and Lactation Performance of Dairy Cows

I. J. Seo*, D. H. Lee** and S. H. Lee***

Woo Tech Co., Yongin 102-104, Korea*, Dream Feed Tech Co., Seoul 137-876, Korea**, Faculty of Animal Life Science, Konkuk University, Seoul 143-701, Korea***

ABSTRACT

This study was conducted to determine effects of different ratios (3.5, 3.0 and 2.5) of nonfibrous carbohydrate (NFC) to ruminally degradable protein (RDP) on *in vitro* fermentation and lactation performance of dairy cows and optimum ratio of NFC to RDP in dairy rations. *In vitro* trial was conducted up to 12 hr with ruminal fluid taken from ruminally cannulated Holstein cows. The level of dietary NFC did not affect ruminal pH. The ammonia-N concentration was not significantly different among treatments until 6 hr incubation, however, it was significantly ($P < 0.05$) decreased as the ratio of dietary NFC to RDP increased on 9 and 12 hr incubation. For volatile fatty acids, concentrations of both acetate and propionate were significantly ($P < 0.05$) increased on 3 hr incubation as dietary NFC contents of treatments increased, in other incubation times, they had no significant differences among treatments. Valerate and A:P ratio were not affected by the ratio of NFC to RDP. Isoacids and total VFAs were significantly ($P < 0.05$) increased with increasing dietary NFC contents and their values were highest in the treatment of 3.0 ratio.

Meanwhile, for *in vivo* trial, 18 Holstein lactating cows were allotted to treatments in three groups of 6 cows. They were employed for 24 weeks to investigate nutrient intakes, and milk yield and composition according to different ratios of dietary NFC to RDP. Intakes of dry matter and energy were significantly ($P < 0.01$) increased, but NDF intake was significantly ($P < 0.01$) decreased as the ratio of dietary NFC to RDP increased. Milk yield for the ratio of 3.5 (32.7 kg) was significantly ($P < 0.05$) higher than those of other treatments. Milk fat (%) was significantly ($P < 0.05$) higher for the treatments of 3.0 (3.79%) and 2.5 (3.79%) than that (3.48%) for the ratio of 3.5, but milk fat yield was not different among treatments. Contents and yields for milk protein and solids-not fat were linearly ($P < 0.01$) increased as the ratio of dietary NFC to RDP increased. However, milk urea nitrogen concentration was significantly ($P < 0.05$) decreased with increasing dietary NFC levels.

Our results showed that the increasing level of NFC in the diet of dairy cows enhanced ruminal fermentation, N utilization and milk production and suggested that maximal fermentation and lactation performance were achieved when the dietary ratio of NFC to RDP was more than 3.0 in dairy rations.

(Key words : Nonfibrous carbohydrate, Ruminally degradable protein, Optimum ratio, *In vitro* fermentation, Lactation performance)

Corresponding author : S. H. Lee, Department of Animal Science, Korea National Agricultural College, RDA, Suwon 445-893, Korea. (present address). Tel : +82-11-9639-5037, Fax : +82-31-229-5055. E-mail : sh5037@hanmail.net

I. 서 론

젖소에 있어 반추위내 미생물의 효율적인 성장은 하부장관에 더 많은 아미노산을 공급하여 숙주동물이 필요로 하는 단백질요구량을 만족시킬 뿐만 아니라, 반추위내 발효가 보다 원활하게 이루어져 휘발성지방산의 생산이 증가하여 산유량 및 유지지방합성에 긍정적인 영향을 미친다(Casper 등, 1999). 반추미생물단백질은 젖소의 십이지장으로 이행하는 총 단백질의 59~81%를 공급하고(Klusmeyer 등, 1990; Stern 등, 1994), 미생물의 총 질소 중 평균 82.5%가 아미노산 형태의 질소로 이루어져 있다(Storm과 Ørskov, 1983).

젖소에게 공급되는 영양소의 이용효율을 높이고, 십이지장으로 이행하는 미생물단백질량을 증가시키기 위해서는 반추위내 미생물성장을 최대화시키는 것이 중요하다. 일반적으로 반추위 미생물성장 및 단백질합성은 사료내 단백질과 탄수화물의 적절한 비율 및 양에 의하여 영향을 받는다(Hoover와 Stokes, 1991; Majeesh 등, 1997). 또한 사료의 반추위내 탄수화물과 단백질의 분해속도에 따라, 특히 반추위내에서 빠르게 분해되는 탄수화물인 비구조탄수화물(NSC, nonstructural carbohydrate) 및 비섬유탄수화물(NFC, nonfibrous carbohydrate)의 수준에 따라 젖소의 영양소 이용효율이 달라진다(Mertens, 1992). 사료단백질 중 반추위분해단백질(RDP, ruminally degradable protein)은 반추위 미생물에 질소를 공급하여 미생물단백질합성에 기여하는 것으로 나타나 있다(Stokes 등, 1991). Nocek과 Russell (1988)은 일반적으로 고능력젖소의 사료 중에는 총탄수화물이 78%로 이 중 반추위분해탄수화물이 53%이고, 조단백질은 16%이며, 반추위분해단백질은 조단백질의 66%를 함유한다고 하였고, Hoover와 Stokes (1991)는 미생물단백질생산이 10~13%의 RDP와 56%의 NSC를 함유할 때 최대화된다고 보고하였다. Lykos 등(1997)은 젖소사료내 NFC가 35~42%를 함유할 때 사료내 에너지 밀도를 증가시킬 뿐만 아니라, 산유량을 증가시킨다고 보고하였다.

한편, NSC와 RDP에 대한 연계성 연구를 살펴보면, Stokes 등(1991)은 사료내 NSC 및 RDP 함량이 증가함에 따라 미생물합성효율이 유의하게 증가하였다고 보고하였다. 그러나 Varga 등(1988)은 과도한 양의 NSC는 오히려 반추위내 pH를 저하시켜 섬유소 및 단백질소화율이 감소될 뿐만 아니라, 미생물성장이 감소한다고 보고하여, NSC 및 RDP비율의 중요성을 강조하였다. 또한, Stokes 등(1991)은 연속배양장치에서 사료내 NSC가 37%이상이고, NSC:RDP비율이 3이하일 때 미생물합성효율, 영양소소화율 및 총 휘발성지방산생산량이 최고로 유지된다고 보고하였으나, Majeesh 등(1997)은 RDNSC (ruminally degradable nonstructural carbohydrate)와 RDP에 의하여 하부장관으로 이행하는 미생물단백질생산량이 달라지고 낮은 수준의 RDP 및 높은 수준의 RDNSC를 함유할 때 미생물효율이 향상되었고, 이때 RDNSC:RDP의 비율은 3.7이라고 보고하여 다소 상반된 결과를 나타내었다. 이상과 같이 반추위 미생물성장의 최적화는 반추위내 탄수화물과 단백질의 분해정도에 따라 달라지므로, 이들에 의한 반추위내 효율적인 분해동기화(synchronization)는 미생물성장을 자극할 뿐만 아니라 반추위 발효 안정화를 도모함에도 불구하고(Stokes 등, 1991; Khorasani 등, 1994), 보다 정확한 분해탄수화물과 단백질에 대한 비율평가 연구가 이루어져 있지 않다.

따라서 본 연구에서는 반추위내에서 빠른 속도로 분해되는 탄수화물인 비섬유탄수화물과 반추위분해단백질을 젖소사료에 다른 수준으로 배합하여 NFC:RDP의 비율을 3.5, 3.0 및 2.5로 조정하였을 때, *in vitro* 발효성상 및 젖소의 산유성에 미치는 영향을 조사하여 적정 NFC:RDP비율을 결정하고자 실시하였다.

II. 재료 및 방법

본 연구는 젖소사료에 비섬유탄수화물과 반추위분해단백질의 비율을 달리 하였을 때, *in vitro* 배양시험을 통하여 pH, 암모니아질소농도 및 휘발성지방산생성량을 조사하였고, 그

후 착유우 사양시험을 거쳐 사료섭취량, 산유량 및 유성분 함량에 미치는 영향을 조사하였다.

1. 실험설계 및 실험사료

본 연구는 젖소사료의 NFC:RDP비율을 다양하게 하여 *in vitro* 발효성상과 산유성적에 미치는 영향을 규명한 것으로 실험사료는 *in vitro*와 사양시험에서 동일하게 사용되었으며, 실험사료의 배합 및 화학적 조성은 Table 1에 나타내었다. 실험처리군은 3처리군으로 나누었

고, 이들은 3.5, 3.0 및 2.5의 NFC:RDP비율을 갖도록 배합하였다. 실험처리군의 NFC 및 RDP함량을 살펴보면, 3.5비율군은 38% NFC와 10.8% RDP를, 3.0비율군은 34% NFC와 11% RDP를, 그리고 2.5비율군은 28% NFC와 11.4% RDP를 함유하였다. 그리고 모든 실험사료는 NRC(2001)에서 제시한대로 조단백질 및 정미에너지 함량을 각각 약 17%와 1.7 Mcal/kg으로 처리군간에 유사하도록 하였다. 다만, NDF(neutral detergent fiber)함량은 NFC:RDP의 비율이 증가함에 따라 감소하였다.

Table 1. Ingredients and chemical compositions of experimental diets

Item	NFC : RDP		
	3.5	3.0	2.5
Ingredient composition % of dry matter		
Cracked corn	17.89	13.77	10.67
Corn gluten feed	7.16	4.58	4.62
Beet pulp	8.21	7.59	5.45
Lupin hull	1.03	2.17	11.98
Corn bran	11.15	10.71	6.46
Soybean meal	10.03	6.36	3.20
Brewers' grain	8.13	8.25	8.26
Sesame meal	2.12	5.60	9.00
Whole cottonseed	6.22	10.96	11.01
Hay mixture ¹⁾	22.47	23.75	22.82
Sugarcane molasses	3.24	3.42	3.44
Vitamin/mineral mixture ²⁾	2.36	2.85	3.10
Chemical composition			
Dry matter	74.45	74.56	74.49
Crude protein (CP)	16.77	16.96	17.53
Nonfibrous carbohydrate (NFC) ³⁾	38.05	33.73	28.31
Neutral detergent fiber (NDF)	35.13	37.53	40.50
Ether extract (EE)	4.66	5.96	6.66
Crude ash	7.35	7.65	7.82
Calcium	0.61	0.66	0.76
Phosphorus	0.44	0.46	0.48
NE _L ⁴⁾ , Mcal / kg	1.71	1.70	1.72
RDP ⁵⁾	10.77	11.00	11.43
NFC : RDP ⁶⁾	3.53	3.07	2.48

¹⁾ Contained tall fescue straw, oat hay, and bermuda hay; ²⁾ contained 2.85% Ca, 1.31% P, 1.18% Na, 0.4% Mg, 2.63% K, 238,000 IU vitamin A, and 57,000 IU vitamin D; ³⁾ nonfibrous carbohydrate was calculated as 100 - (CP + EE + NDF + ash); ^{4),5)} net energy for lactation (NE_L) and ruminally degradable protein (RDP) were calculated according to NRC (2001); ⁶⁾ ratio calculated with data from NFC and RDP.

2. *In vitro* 배양

배양에 사용된 rumen inoculum은 반추위 canulae가 장착된 Holstein cow로부터 얻어 실험실로 운반하였다. 운반하는 동안은 39 °C로 유지된 보온병에 잘 보관하였고, 운반 후 즉시 반추위내용물은 사료입자를 제거하기 위해 2겹 cheesecloth에 여과하였고, 20 L 용량의 Pyrex병에 39 °C로 유지하여 보관하였다. 여과된 반추위내용물은 CO₂로 bubbling한 rumen buffer용액과 1:1로 혼합하여 이를 rumen inoculum으로 사용하였다. Rumen buffer용액은 Maeng 등(1976)의 방법으로 제조하여 사용하였다. 배양은 Tilley와 Terry(1963)의 방법을 개량한 Maeng 등(1976)의 방법에 따라 실시하였으며, 1 L용 narrow-mouth bottle(Nalgen Co., USA)에 500 mL의 rumen inoculum을 천천히 주입시키며 39 °C ± 0.5로 설정된 항온 교반기(Sangwoo Co., Korea)에서 100 rpm으로 교반하면서 배양하였으며, 배양시간은 3, 6, 9, 12시간으로 하였고, 기질은 배합된 실험사료를 60 °C 48시간동안 건조하여 1mm sieve가 장착된 Wiley mill로 분쇄한 후, ruminal fluid volume(300 mL)의 2%를 공급하여 처리구별로 3반복하였다. 각 배양시간이 끝나면 배양병 각각의 반추위액을 시료로 채취하고 rumen parameter인 pH, 암모니아질소농도 및 휘발성지방산농도를 분석하여 NFC:RDP비율에 따른 반추위내 발효성상을 평가하였다.

3. 착유우의 사양관리

착유우는 경기도 소재 착유우 농장에서 산차수, 유량, 비유일수가 비슷한 젖소 18두를 공시하여 처리군별로 6두씩 완전임의배치하였고, 예비시험기간을 14일간 설정하여 실험사료에 적응시켰고, 본 실험기간은 22주간 지속되었다. 실험사료는 일일 2회(07:00 a.m., 18:00 p.m.) 자유채식시켰고, 물 또한 자유로이 음수할 수 있도록 하였으며, 사료섭취량은 본 실험기간동안 매일 잔여량을 수거하여 계산하였다. 착유는 개체별로 아침(06:00 a.m.), 저녁(17:00 p.m.)으로 일일 2회 착유하였으며, 일일 산유량

은 개체별로 아침 착유량과 저녁 착유량을 합하여 기록하였다.

그리고 처리군 간의 유성분을 비교하기 위하여 각 개체별로 본실험 실시 후 2주, 4주, 8주, 16주 및 22주째에 아침과 저녁 착유한 우유의 같은 양을 합쳐서 채취하였으며, 분석 시까지 냉동고(-20 °C)에 보관하였다. 각 개체에 대한 유성분의 결과는 2주, 4주, 8주, 16주 및 22주의 결과를 평균값으로 환산하여 각 개체의 대표값을 산출하였다.

4. 분석방법

실험사료의 영양성분은 AOAC(1995)의 방법에 따라 건물, 조단백질, 에테르추출물, 조회분, 칼슘 및 인 함량을 분석하였고, NDF함량은 Van Soest 등(1991)의 방법에 따라 분석하였다. 배양한 후에 각 배양물은 pH meter(WTW Co., Germany)를 사용하여 pH를 측정 후 시료를 -20 °C에서 분석 시까지 냉동보관하였고, rumen parameter의 측정 시 냉동보관해 두었던 시료를 5 °C에서 녹인 즉시 약 10 mL의 위액을 취하여 1,500 × g로 15분간 원심 분리하여 상층액과 pellet으로 분리한 후 상층액으로 암모니아 질소농도와 휘발성지방산분석에 사용하였다. 암모니아질소의 분석은 Chaney와 Marbach(1962)의 방법에 따라 phenol과 alkali를 동량으로 발색시킨 후 spectrophotometer(Shimadzu, Japan)를 이용하여 630 nm에서 흡광도를 측정하여 계산하였다. 휘발성지방산은 Erwin 등(1961)의 방법에 따라 상층액 1mL에 25% metaphosphoric acid 100 µL를 첨가한 후 3,000 rpm에서 15분간 원심 분리한 후 상층액을 gas chromatography (Hewlett Packard 6890, Hewlett Packard Co.)에 주입하여 분석하였다. 한편, 사양시험 기간동안 채취한 우유의 성분 분석은 Milko-Scan 4,000 Series(FOSS Electric Co., Denmark)를 이용하여 유지방, 유단백질, 무지고형분 및 MUN(milk urea nitrogen) 함량을 조사하였다.

5. 통계분석

본 연구에서 얻어진 결과는 SAS package

program(2000, release. 8.1 version)의 GLM(general linear model) procedure를 이용하여 분산분석을 하였고, 처리구간의 평균비교는 Duncan 다중검정에 의해 probability(P)값 5%(0.05) 수준에서 유의성을 검정하였다(Steel과 Torrie, 1980).

III. 결과 및 고찰

NFC 및 RDP의 다양한 비율이 반추위 pH 및 암모니아질소농도에 미치는 영향은 Table 2에 나타난 바와 같다. 반추위내 pH는 NFC함량이 증가함에 따라 유의한 영향을 받지 않았고, 각 처리구는 배양시간이 지속됨에 따라 pH는 낮아졌다. 배양 9시간 이후에는 실험처리구 모두 pH가 6이하로 내려갔다. 일반적으로 사료내 NFC비율의 증가는 반추위내 전분의 급격한 발효로 pH가 낮아지는 것으로 알려져 있고 (Valadares 등, 1999), Sievert와 Shaver(1990)는 34%의 NFC를 함유하는 사료보다는 42%의 NFC를 함유하는 사료가 반추위내 pH를 감소시킨다고 보고하였다.

하지만, 본 실험에서는 NFC : RDP비율이 증가함에 따라 pH는 영향을 받지 않았고, 본 실험처리구에서 나타난 NFC함량은 28~38% (Table 1)로 이 범위에서는 민감하게 반응하지 않는 것으로 보인다. Feng 등(1993)은 빠른 분

해를 나타내는 NSC함량이 39%와 29%일 때 반추위내 pH는 NSC함량에 의하여 영향을 받지 않았고, 오히려 섬유질의 분해속도(low fill vs. high fill)에 의해 pH가 영향을 받는다고 보고하였으며, Elliott 등(1995)도 NSC의 수준(37.3%와 27.2%)에 의해 pH는 변화하지 않는다고 보고하여 본 실험에서 나타난 결과와 일치하였다.

그리고 본 실험에서 배양시간 지속에 따른 모든 처리구의 pH감소는 정상적인 반추위발효를 나타내었고, 배양 6시간까지는 섬유소분해에 적합한 pH인 6이상을 나타내었으나, 배양 9시간 이후에는 pH 6이하의 감소로 섬유소분해균에 의한 섬유소의 분해가 감소될 수 있음을 보여주었다(Mertens, 1979).

암모니아질소농도는 배양 6시간까지 처리구간에 유의한 차이가 나타나지 않았으나, 9시간과 12시간에서는 NFC : RDP비율이 증가함에 따라 유의하게 감소하였고(P < 0.05), 3.5비율구에서 가장 낮은 암모니아질소농도를 나타낸데 반하여, 가장 높은 값은 2.5비율구에서 나타났다. 일반적으로 반추위내 암모니아질소농도는 사료내 단백질분해도 및 에너지의 이용성을 나타내는 지시물질로서 반추위 미생물성장 및 단백질합성과 밀접한 관계를 갖는다(Satter와 Slyter, 1974). 즉, 미생물성장은 반추위내에서 에너지와 암모니아간의 상호동기화에 의해 영향을 받

Table 2. Effects of different ratios of NFC to RDP on *in vitro* ruminal pH and ammonia-N concentration

Incubation time (hr)	NFC : RDP			SEM ¹⁾	Sig. ²⁾
	3.5	3.0	2.5		
..... pH					
3	6.34 ^{b3)}	6.32 ^{bb)}	6.32 ^{b)}	0.01	ns
6	6.07 ^{b3)}	6.06 ^{bb)}	6.05 ^{b)}	0.01	ns
9	5.80 ^{b3)}	5.78 ^{bb)}	5.83 ^{b)}	0.02	ns
12	5.66 ^{b3)}	5.67 ^{bb)}	5.70 ^{b)}	0.02	ns
..... NH ₃ -N, mg/dL					
3	7.56 ^{b3)}	9.23 ^{bb)}	8.71 ^{b)}	0.39	ns
6	14.00 ^{b3)}	18.94 ^{bb)}	16.02 ^{b)}	0.87	ns
9	23.15 ^{b3)}	27.39 ^{ab)}	31.51 ^{a)}	1.02	*
12	35.89 ^{c3)}	38.54 ^{bb)}	40.68 ^{a)}	0.30	**

¹⁾ Standard error of the mean; ²⁾ significance (i.e., ns: no significance, *: P < 0.05, **: P < 0.01); ³⁾ a,b,c means in the same row with different superscripts differ significantly.

고(Arieli 등, 1996), 사료내 더 많은 분해성 전분 및 NSC함량을 함유할 때, 반추위내 암모니아질소농도가 감소하면서, 십이지장으로 이행하는 미생물질소량이 증가하는 것으로 보고되고 있다(Windschitl과 Schingoethe, 1984; McCarthy 등, 1989). 본 실험에서 나타난 NFC비율이 증가함에 따른 암모니아질소농도의 감소는 미생물단백질량의 증가로 연계된다고 추정할 수 있으며, 그 결과로서 3.5비율구에서 유의하게 낮았던 것으로 생각된다. 그러나 사료중 RDP함량이 Table 1에서 보는 바와 같이 NFC:RDP의 비율이 증가함에 따라 각각 11.4, 11 및 10.8%로 감소하여 나타난 결과일 수도 있다는 점을 배제할 수 없다.

한편, Elliott 등(1995)은 NSC 및 NFC비율이 증가함에 따라 반추위내 암모니아질소농도가 감소하여 미생물성장량의 증가 및 혈중 및 우유중 요소태질소가 감소한다고 보고하였고, 이 등(2001)은 연속배양장치에서 반추동물사료에 NFC급원을 급여하였을 때, 단백질의 분해로 생성된 암모니아가 미생물체단백질로 효과적으로 전환되었고, 반추위내 암모니아질소농도가 유의하게 감소하였다고 보고하였으며, Stokes 등(1991)은 NSC:DIP의 비율이 증가함에 따라 암모니아질소농도가 감소하였다고 보고하여 본 실험결과를 뒷받침해 주었다. 그러나 일부 연구자의 *in vivo* 연구에서는 NSC비율이 증가함에 따라 암모니아질소농도가 오히려 증가하여 비효율적인 질소이용성을 보고하기도 하였는데, 이와 같은 결과는 recycling urea가 반추위로 되돌아왔을 때 반추위내 에너지함량의 부족 또는 미생물단백질합성을 위한 선호질소대사산물(ammonia vs. amino acid 및 peptides)에 의한 차이에 기인한다고 설명함으로써(Feng 등, 1993; Majeesh 등, 1997), 본 실험결과와 상반된 결과를 보여주었다.

NFC 및 RDP의 다양한 비율이 반추위 휘발성지방산생산량에 미치는 영향을 살펴보면(Table 3), acetate농도는 발효 3시간에 NFC함량이 증가함에 따라 유의하게 증가하였으나($P < 0.05$), 그 외 시간대에서는 NFC:RDP비율이 증가함에 따라 acetate농도가 비례적으로 감소하는 경향

을 나타내었다. Propionate농도는 acetate와 마찬가지로 배양 3시간에서 NFC:RDP비율이 증가함에 따라 유의하게 증가하였고, 9시간대를 제외한 나머지 배양시간에서도 동일한 경향을 나타내었다.

한편 butyrate농도는 배양 3시간에 NFC함량이 증가함에 따라 9.05, 9.38 및 9.90 mM로 유의하게 증가하였고($P < 0.01$), 9시간 이후에는 3.0이상의 비율구가 2.5비율구보다 유의하게 높았다($P < 0.05$). 하지만, valerate 및 A:P비율은 NFC:RDP비율에 의하여 영향을 받지 않았다. Isoacids농도는 전반적으로 NFC함량이 증가함에 따라 유의하게 증가하였고($P < 0.05$), NFC:RDP비율이 3이상일 때 2.5비율구보다 높았다($P < 0.05$). 결과적으로 총 휘발성지방산생산량은 NFC함량이 증가함에 따라 유의하게 증가하였고($P < 0.05$), 배양 9시간 이후에는 3.0비율구에서 가장 높은 값을 나타내었다($P < 0.01$).

NFC함량이 증가함에 따라 초기발효시간에 유의한 acetate의 증가는 일반적으로 알려진 사실과 일치하지 않았다(Valadares 등, 1999). 하지만, 본 실험에서는 NFC함량을 조절하기 위하여 실험처리구의 NFC:RDP비율이 증가함에 따라 사료내 옥수수과 비트펄프함량을 증가시켰는데, 비트펄프는 반추위내 분해속도가 빠른 pectin을 다량으로 함유하고 있다(Ben-Ghedalia 등, 1989; 이 등, 2001). 따라서 비트펄프내 pectin은 반추위내 발효가 일어나면 반추위내에서 acetate를 형성하는 것으로 보고되고 있고(Hatfield와 Weimer, 1995), 이는 본 실험결과와 일치한다. 또 다른 측면에서 살펴보면, 배양 3시간의 양호한 pH 및 증가된 isovalerate농도는 섬유소분해균의 성장에 필요한 환경을 제공하여 섬유소분해균의 활력이 높아져 acetate농도가 증가한 것으로 보인다. 유사한 연구에서 Stokes 등(1991)은 사료에 NSC함량이 높은 사료에서 섬유소소화율이 증가하였으며, 이는 NSC함량 증가에 따른 isoacids의 증가로 섬유소분해미생물의 성장을 촉진하여 일어난 결과라고 보고하였다. 하지만, 일반적으로 NSC함량이 높을수록 반추위내 pH는 급격히 낮아지고, 섬유소소화율 및 acetate농도가 감소하며(Murphy 등, 1982;

Table 3. Effects of different ratios of NFC to RDP on *in vitro* volatile fatty acids production

Incubation time (hr)	NFC : RDP			SEM ¹⁾	Sig. ²⁾
	3.5	3.0	2.5		
..... Acetate(A), mM					
3	47.21 ^{a 3)}	45.21 ^b	44.29 ^b	0.42	*
6	56.12 ^{a 3)}	56.25	56.66	1.30	ns
9	71.94 ^{a 3)}	72.33	72.44	1.54	ns
12	79.04 ^{a 3)}	81.48	79.06	0.89	ns
..... Propionate(P), mM					
3	17.11 ^{a 3)}	16.30 ^{ab}	15.77 ^b	0.21	*
6	20.57 ^{a 3)}	19.83	19.86	0.56	ns
9	26.55 ^{a 3)}	28.92	26.08	0.59	ns
12	29.18 ^{a 3)}	28.75	27.20	0.40	ns
..... Butyrate, mM					
3	9.90 ^a	9.38 ^b	9.05 ^c	0.06	**
6	12.34 ^{a 3)}	11.79	11.72	0.34	ns
9	16.19 ^b	17.62 ^a	15.70 ^b	0.34	*
12	18.36 ^a	18.21 ^a	16.71 ^b	0.26	*
..... Valerate, mM					
3	1.68 ^{a 3)}	1.64	1.58	0.01	ns
6	1.89 ^{a 3)}	1.88	1.87	0.05	ns
9	2.29 ^{a 3)}	2.51	2.29	0.06	ns
12	2.64 ^{a 3)}	2.68	2.46	0.15	ns
..... Isobutyrate, mM					
3	1.37 ^{a 3)}	1.33	1.30	0.02	ns
6	1.49 ^{a 3)}	1.46	1.48	0.04	ns
9	1.82 ^b	2.00 ^a	1.86 ^b	0.03	*
12	2.10 ^a	2.13 ^a	2.04 ^b	0.02	*
..... Isovalerate, mM					
3	2.90 ^a	2.82 ^{ab}	2.69 ^b	0.03	*
6	3.04 ^{a 3)}	2.98	2.92	0.06	ns
9	3.56 ^b	3.90 ^a	3.59 ^b	0.06	*
12	3.99 ^a	3.99 ^a	3.66 ^b	0.03	**
..... Total VFAs, mM					
3	80.17 ^a	76.68 ^b	74.67 ^b	0.73	*
6	95.45 ^{a 3)}	94.18	94.51	2.30	ns
9	122.34 ^b	134.28 ^a	121.95 ^b	2.52	**
12	135.31 ^{ab}	137.24 ^a	131.12 ^b	1.60	*
..... A : P					
3	2.76	2.77	2.81	0.02	ns
6	2.73	2.84	2.85	0.06	ns
9	2.71	2.74	2.78	0.03	ns
12	2.71	2.83	2.91	0.09	ns

¹⁾ Standard error of the mean; ²⁾ significance (i.e., ns: no significance, *: P < 0.05, **: P < 0.01); ³⁾ a,b means in the same row with different superscripts differ significantly.

Elliott 등, 1995), 본 실험에서도 6시간 이후에는 NFC : RDP비율이 증가할수록 낮아지는 경향을 나타내었다. 사료내 옥수수 수증기에 의하여 NFC 및 전분 함량이 증가되고 이는 반추위내 발효에 의하여 propionate생성이 증가하게 되는데, Valadares 등(1999)은 사료내 농후사료비율을 20, 35, 50 및 65 %로 증가시켰을 때, propionate비율이 증가하는 반면에 acetate, A : P 비율 및 pH가 감소한다고 보고하여 본 실험결과와 일치하였다.

NFC : RDP비율의 증가에 따른 butyrate와 isoacids의 증가는 많은 연구자들에 의하여 보고된 바 있고(Stokes 등, 1991; Elliott 등, 1995), 본 실험에서 나타난 결과는 이들의 결과와 일치하였다. 이상과 같이 NFC함량 및 NFC : RDP비율이 증가함에 따라 발효가 향상되었고, NFC : RDP의 비율이 3.0이상이었을 때 유리하게 작용하는 것으로 나타났다.

한편, 다양한 NFC 및 RDP비율에 따른 착유우의 영양소섭취량에 미치는 영향은 Table 4에 나타내었다. 표 4에서 나타난 바와 같이, 건물 및 에너지섭취량은 NFC : RDP비율이 증가함에 따라 유의하게 증가하였고($P < 0.01$), 3.0 및 2.5 비율구간에는 서로 유사하였으며, 이들은 3.5비율구에 비하여 유의하게 낮았다. 또한 NFC섭취량은 NFC : RDP비율이 증가함에 따라 직선적으로 유의하게 증가하였다($P < 0.05$). 반면, NDF섭취량은 NFC : RDP비율이 감소함에 따라 직선적으로 증가하였고($P < 0.01$), 조단백질섭취량은 처

리구간에 유사하였다. 반추위분해단백질섭취량은 NFC : RDP비율이 가장 낮은구가 나머지 처리구에 비하여 유의하게 높았다($P < 0.01$).

건물섭취량은 일반적으로 사료내 높은 NDF함량 및 NDF의 느린 분해속도에 의하여 감소되고, NDF함량이 유사한 조건에서는 건물섭취량의 차이가 나타나지 않는 것으로 알려져 있다(Miller 등, 1990; Feng 등, 1993). 본 실험에서는 사료내 NFC함량이 높을수록 NDF함량이 낮아졌고(Table 1), 이에 따라 NFC함량이 높은 처리구에서 건물섭취량이 증가한 것으로 판단되며, 그 결과로서 에너지섭취량이 함께 증가한 것으로 사료된다. 하지만, 고능력우사료에 과도한 양의 분해탄수화물은 반추위내 pH를 감소시킬 뿐만 아니라 2차적으로 사료섭취감소 현상으로 이어질 수 있다(Arieli 등, 1996).

Valadares Filho 등(2000)은 최대 건물 및 유기물섭취량을 나타내기 위해서는 사료내 NFC함량이 건물기준 34~43%를 함유할 때 최대화된다고 보고하였으며, 본 실험에서도 3.5비율구에서 NFC함량이 38%를 함유하여 가장 높은 섭취량을 나타내었다. 아울러 NFC, NDF 및 RDP섭취량은 건물섭취량에 비례하여 사료중 성분결과를 반영해 주었으나, 조단백질섭취량은 처리구간에 차이를 나타내지 않았는데, 이는 사료내 배합에 따른 조단백질의 함량상에 있어서 약간의 차이로 인하여 나타난 것으로 사료된다(Table 1).

다양한 NFC 및 RDP비율에 따른 착유우의

Table 4. Effects of different ratios of NFC to RDP on nutrients intakes in dairy cows

Items	NFC : RDP			SEM ¹⁾	Sig. ²⁾
	3.5	3.0	2.5		
..... Intakes, kg/d					
Dry matter	23.10 ^{a3)}	21.66 ^b	21.57 ^b	0.29	**
NE _L , Mcal/d	40.23 ^{a 3)}	38.01 ^b	37.79 ^b	0.54	**
Nonfibrous carbohydrate	8.96 ^{a 3)}	7.54 ^b	6.49 ^c	0.10	*
Neutral detergent fiber	7.72 ^{a 3)}	8.13 ^b	8.95 ^c	0.10	**
Crude protein	3.95 ^{b 3)}	3.82 ^b	3.92 ^b	0.06	ns
Rumen degradable protein	2.53 ^{a 3)}	2.44 ^a	2.69 ^b	0.04	**

¹⁾ Standard error of the mean; ²⁾ significance (i.e., ns: no significance, * : $P < 0.05$, ** : $P < 0.01$); ³⁾ a,b,c means in the same row with different superscripts differ significantly.

Table 5. Effects of different ratios of NFC to RDP on milk yield and composition in dairy cows

Items	NFC : RDP			SEM ¹⁾	Sig. ²⁾
	3.5	3.0	2.5		
Milk yield, kg/d	32.69 ^{a4)}	30.40 ^b	30.79 ^b	0.93	*
Milk fat					
%	3.48 ^b	3.79 ^a	3.79 ^a	0.09	*
kg/d	1.14	1.15	1.16	0.04	ns
Milk protein					
%	3.13 ^a	3.12 ^a	2.83 ^b	0.06	**
kg/d	1.02 ^a	0.95 ^a	0.86 ^b	0.03	**
Solids-not-fat					
%	8.71 ^a	8.44 ^b	8.27 ^b	0.09	**
kg/d	2.85 ^a	2.56 ^b	2.53 ^b	0.07	**
MUN ³⁾ , mg/dL	13.39 ^b	16.96 ^a	17.48 ^a	0.51	*

¹⁾ Standard error of the mean; ²⁾ significance (i.e., ns: no significance, *: P < 0.05, **: P < 0.01); ³⁾ milk urea nitrogen; ⁴⁾ ^{a,b} means in the same row with different superscripts differ significantly.

산유성적에 미치는 영향은 Table 5에 나타내었다. 일일 산유량은 3.5비율구가 32.7 kg으로 다른 처리구보다 유의하게 높았다(P < 0.05). 유지방율은 3.0 및 2.5비율구에서 공히 3.79%를 나타내었고, 이들은 3.5비율의 3.48%보다 유의하게 높았고(P < 0.05), 유지방생산량은 처리구간에 차이가 나타나지 않았다. 유단백질과 무지고형분의 비율 및 생산량은 NFC : RDP비율이 증가함에 따라 직선적으로 증가하였다(P < 0.01). 하지만, 우유중 요소태질소(MUN)농도는 NFC함량이 증가함에 따라 유의하게 감소하였다(P < 0.05). 본 연구에서는 사료섭취량이 가장 높은 처리구인 3.5비율구가 기타 처리구보다 유의하게 높았다. 많은 연구에서 사료내 NFC함량 및 탄수화물의 분해속도가 증가함에 따라 산유량이 유의하게 증가한다고 보고하였고(Casper 등, 1999; Valadares Filho 등, 2000), 이는 NFC의 발효로 생성되는 propionate가 산유량에 관여하기 때문인 것으로 사료된다. 또한 NFC : RDP비율이 감소함에 따라 유지방율의 증가는 NDF섭취량의 증가로 인한 반추위내에서 acetate생성이 증가하여 유지방합성원료를 제공하였기 때문인 것으로 사료된다(Murphy 등, 1982). 높은 NFC함량은 유단백질을 증가시켰고, 이와 같은 결과는 일반적으로 사료중 분해

탄수화물의 증가 및 조농비율의 감소가 반추위내 미생물합성량을 증가시킬 뿐만 아니라 소장에서 흡수되는 아미노산공급량을 증가시키므로 유선에서의 유단백질합성이 향상되는 것으로 보고되고 있고(Sutton, 1989), 본 실험에서도 일치된 결과를 나타내었다.

또한 무지고형분의 대부분은 유단백질과 유당으로 구성되어 있고, 본 결과는 유단백질결과와 일치하였다. Danfaer(1994)는 젖소에 있어 유당을 합성하기 위해서는 포도당신생과정(gluconeogenesis)을 거친 다량의 포도당을 필요로 하고, 사료중 NFC의 분해로 반추위내에서 생성된 propionate는 포도당신생경로를 거쳐 유당이 합성된다고 보고하였는데, 본 실험에서는 사료중 NFC함량의 증가에 의하여 증가된 propionate가 유당합성에 관여한 것으로 사료된다. 그리고 본 실험에서 나타난 NFC : RDP비율 증가에 따른 MUN농도의 감소는 에너지와 단백질간의 동기화에 의해 반추위내 질소이용효율이 증가하여 나타난 것으로 판단된다.

이상의 결과로부터 사료내 증가하는 수준의 NFC는 반추위발효, 질소이용효율 및 산유량을 향상시켰다. 그리고, 본 연구에서 사료중 NFC : RDP비율이 3.0이상일 때 반추위발효뿐만 아니라 산유성적이 최대화되는 것으로 나타났는데,

Stokes 등(1991)은 사료내 NFC 및 RDP함량보다는 그 비율에 의하여 비례적으로 반추위발효 및 미생물성장이 결정된다고 제안하였다.

IV. 요약

본 연구는 비섬유탄수화물(NFC)과 반추위분해단백질(RDP)을 젖소사료에 다양하게 배합하여 NFC : RDP의 비율을 3.5, 3.0 및 2.5로 다양하게 조정하였을 때, *in vitro* 발효성상 및 젖소의 산유성에 미치는 영향을 조사하여 적정 NFC : RDP비율을 결정하고자 실시하였다. *In vitro* 발효시험은 반추위 cannulae가 장착된 Holstein 젖소로부터 반추위액을 얻어 3, 6, 9, 12시간 동안 배양하였다. 반추위내 pH는 NFC비율이 증가함에 따라 유의한 영향을 받지 않았고, 암모니아질소농도는 배양 6시간까지 처리군 간에 유의한 차이가 나타나지 않았으나, 9시간과 12시간에서는 NFC : RDP비율이 증가함에 따라 유의하게 감소하였다($P < 0.05$). 휘발성지방산생산량은 acetate 및 propionate농도가 발효 3시간에 NFC함량이 증가함에 따라 유의하게 증가하였으나($P < 0.05$), 나머지 시간대에서는 유의차가 나타나지 않았다. Valerate 및 A : P비율은 NFC : RDP비율에 의하여 영향을 받지 않았고, isoacids 및 총 휘발성지방산은 전반적으로 NFC함량이 증가함에 따라 유의하게 증가하였으며($P < 0.05$), 3.0비율구가 가장 높은 값을 나타내었다($P < 0.01$).

한편, 사양시험은 18 두의 착유우를 공시하여 처리구당 6 두씩 배치하여 총 24주간 실시하였다. 건물 및 에너지섭취량은 NFC : RDP비율이 증가함에 따라 유의하게 증가하였고($P < 0.01$), 섬유소섭취량은 NFC : RDP비율이 감소함에 따라 직선적으로 증가하였다($P < 0.01$). 산유량은 3.5 (32.7 kg)비율구가 다른 처리구보다 유의하게 높았다($P < 0.05$). 유지방율은 3.0(3.79%) 및 2.5 (3.79%)비율구가 3.5(3.48%)비율구보다 유의하게 높았고($P < 0.05$), 유지방생산량은 처리구간에 차이가 나타나지 않았다. 유단백질과 무지 고형분은 NFC : RDP비율이 증가함에 따라 직선적으로 증가하였다($P < 0.01$). 그러나 우유중 요

소태질소농도는 NFC함량이 증가함에 따라 유의하게 감소하였다($P < 0.05$).

이상의 결과로부터 사료내 증가하는 수준의 NFC는 반추위발효, 질소이용효율 및 산유량을 향상시켰고, 사료중 NFC : RDP비율이 3.0이상일 때 반추위발효뿐만 아니라 산유성이 최대화 되는 것으로 나타났다.

V. 인용 문헌

1. AOAC. 1995. Official Methods of Analysis. 16th ed. Association of Official Analytical Chemists, Washington, DC.
2. Arieli, A., Shabi, Z., Bruckental, I., Tagari, H., Aharoni, Y., Zamwell, S. and Voet, H. 1996. Effect of the degradation of organic matter and crude protein on rumen fermentation in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 79:1774-1780.
3. Ben-Ghedalia, D., Yosef, E., Miron, J. and Est, Y. 1989. The effects of starch- and pectin-rich diets on quantitative aspects of digestion in sheep. *Anim. Feed Sci. Technol.* 24:289-298.
4. Casper, D. P., Maiga, H. A., Brouk, M. J. and Schingoethe, D. J. 1999. Synchronization of carbohydrate and protein sources on fermentation and passage rate in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 82:1779-1790.
5. Chaney, A. L. and Marbach, E. P. 1962. Modified reagents for determination of urea and ammonia. *Clin. Biochem.* 8:130-132.
6. Danfaer, A. 1994. Nutrient metabolism and utilization in the liver. *Livest. Prod. Sci.* 39:115-127.
7. Elliott, J. P., Drackley, J. K., Fahey, Jr. G. C. and Shanks, R. D. 1995. Utilization of supplemental fat by dairy cows fed diets varying in content of non-structural carbohydrates. *J. Dairy Sci.* 78:1512-1525.
8. 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.
9. Feng, P., Hoover, W. H., Miller, T. K. and Blauwiel, R. 1993. Interactions of fiber and non-structural carbohydrates on lactation and ruminal function. *J. Dairy Sci.* 76:1324-1333.
10. Hatfield, R. D. and Weimer, P. J. 1995. Degradation characteristics of isolated and *in situ* cell wall lucerne pectic polysaccharides by mixed ruminal microbes. *J. Sci. Food Agric.* 69:185-196.

11. Hoover, W. H. and Stokes, S. R. 1991. Balancing carbohydrates and proteins for optimum rumen microbial yield. *J. Dairy Sci.* 74:3630-3644.
12. Khorasani, G. R., Boer, G. D., Robinson, B. and Kennelly, J. J. 1994. Influence of dietary protein and starch on production and metabolic responses of dairy cows. *J. Dairy Sci.* 77:813-824.
13. Klusmeyer, T. H., McCarthy, R. D., Clark, Jr., J. H. and Nelson, D. R. 1990. Effects of source and amount of protein on ruminal fermentation and passage of nutrients to the small intestine of lactating cows. *J. Dairy Sci.* 73:3526-3537.
14. 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.
15. Mabjeesh, S. J., Arieli, A., Bruckental, I., Zamwell, S. and Tagari, H. 1997. Effect of ruminal degradability of crude protein and nonstructural carbohydrates on the efficiency of bacterial crude protein synthesis and amino acid flow to the abomasum of dairy cows. *J. Dairy Sci.* 80:2939-2949.
16. Maeng, W. J., Van Nevel, C. J., Baldwin, R. L. and Morris, J. G. 1976. Rumen microbial growth rates and yields : Effect of amino acids and protein. *J. Dairy Sci.* 59:68-79.
17. McCarthy, R. D., Klusmeyer, Jr., T. H., Vicini, J. L., Clark, J. H. and Nelson, D. R. 1989. Effects of source of protein and carbohydrate on ruminal fermentation and passage of nutrients to the small intestine of lactating cows. *J. Dairy Sci.* 72:2002-2016.
18. Mertens, D. R. 1979. Effects of buffers upon fiber digestion. Page 65 in *Regulation of Acid-Base Balance*. W. H. Hale and P. Meinhardt, ed. Church and Dwight Co., Inc., Nutley, NJ.
19. Mertens, D. R. 1992. Nonstructural and structural carbohydrates. Pages 219 to 235 in *Large Dairy Herd Management*. H. H. Van Horn and C. J. Wilcox, ed. American Dairy Science Association, Champaign, IL.
20. Miller, T. K., Hoover, W. H., Poland, W. W., Wood, Jr., R. W. and Thayne, W. V. 1990. Effects of low and high fill diets on intake and milk production in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 73:2453-2459.
21. Murphy, M. R., Baldwin, R. L. and Koong, L. J. 1982. Estimation of stoichiometric parameters for rumen fermentation of roughage and concentrate diets. *J. Anim. Sci.* 71:411-421.
22. Nocek, J. E. and Russell, J. B. 1988. Protein and energy as an integrated system. Relationship of ruminal protein and carbohydrate availability to microbial synthesis and milk production. *J. Dairy Sci.* 71:2070-2107.
23. NRC (National Research Council). 2001. *Nutrient Requirements of Dairy Cattle*. 7th rev. ed. Natl. Acad. Sci., Washington, DC.
24. SAS. 2000. *SAS/STAT® User's guide* (Release 8.1 ed.). Statistics, SAS Inst, Inc., Cary, NC.
25. Satter, L. D. and Slyter, L. L. 1974. Effect of ammonia concentration on rumen microbial protein *in vitro*. *Br. J. Nutr.* 32:199-208.
26. 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).
27. Steel, R. G. D. and Torrie, J. H. 1980. *Principles and procedures of statistics. A Biometrical approach* (2nd eds.). McGraw-Hill, Inc.
28. Stern, M. D., Varga, G. A., Clark, J. H., Firkins, J. L., Huber, J. T. and Palmquist, D. L. 1994. Evaluation of chemical and physical properties of feeds that affect protein metabolism in the rumen. *J. Dairy Sci.* 77:2762-2786.
29. Stokes, S. R., Hoover, W. H., Miller, T. K. and Manski, R. P. 1991. Impact of carbohydrate and protein levels on bacterial metabolism in continuous culture. *J. Dairy Sci.* 74:860-870.
30. Storm, E. and Ørskov, E. R. 1983. The nutritive value of rumen micro-organism in ruminants. I. Large scale isolation as chemical composition of rumen micro-organism. *Br. J. Nutr.* 50:463.
31. Sutton, J. D. 1989. Altering milk composition by feeding. *J. Dairy Sci.* 72:2801-2814.
32. Tilley, J. M. A. and Terry, R. A. 1963. A two-stage technique for the *in vitro* digestion of forage crops. *J. Br. Grassl. Soc.* 18:104-111.
33. Valadares Filho, S. C., Broderick, G. A., Valadares, R. F. D. and Clayton, M. K. 2000. Effect of replacing alfalfa silage with high moisture corn on nutrient utilization and milk production. *J. Dairy Sci.* 83:106-114.
34. 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.
35. Van Soest, P. J., Roberts, J. B. and Lewis, B. A. 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and non-starch polysaccharides in relation to animal nutrition. *J. Dairy Sci.* 74:3583-3597.
36. Varga, G. A., Hoover, W. H., Junkins, L. L. and Shriver, B. J. 1988. Effects of urea and isoacids on *in vitro* fermentation of diets containing formaldehyde-treated or untreated soybean meal. *J. Dairy Sci.* 71:737.
37. Windschitl, P. M. and Schingoethe, D. J. 1984. Microbial protein synthesis in rumens of cows fed dried whole whey. *J. Dairy Sci.* 67:3061-3068.
38. 이성훈, 김현진, 조익환, 안종호, 장문백, 맹원재. 2001. 가용성 탄수화물이 반추위 발효특성과 미생물 성장에 미치는 영향. *한국동물자원과학회지* 43(5):695-706. (접수일자 : 2005. 5. 20. / 채택일자 : 2005. 7. 11.)