

식용유 정제 폐백토(Spent Bleaching Clay)의 급여가 반추위 발효특성과 사료 이용률에 미치는 영향

전 해 열* · 손 장 호**

Effects of Spent Bleaching Clay Supplementation on Ruminal Fermentation and Digestibility in Holstein Dairy Cows

Jeon, Hae-Yeol · Son, Jang-Ho

These studies were conducted to evaluate the feasibility of spent bleaching clay (SBC) as a feed resource for ruminants. Three Holstein dairy cows, surgically fitted with ruminal cannula, were used in a 3 × 3 Latin Square design. Dietary treatments were 1) basal diet, 2) basal diet plus 2% of SBC and 3) basal diet plus 4% of SBC. Rumen fluid was sampled at 0, 3, 6, 9 and 12 hours following the start of the morning feeding. Nylon bags containing experimental diets were used to determine ruminal nutrient disappearance at 0, 3, 6, 12 and 24 hours. The values of ruminal pH in cows receiving 4% of SBC was lower than those of the control and 2% SBC supplement. The NH₃-N concentration in the rumen was higher at the 3 hour than for cows of control and 2% of SBC supplement. Total VFA concentrations in the rumen were not affected by the addition of SBC. Dry matter and organic matter disappearance in the rumen was lower at the 6 hours than the control and 2% SBC treatment, but no difference at the end of the 24 hour.

Key words : Spent bleaching clay, ruminal fermentation and digestibility, Holstein dairy cows

I. 서 론

반추동물의 소화 생리 특성상 외부로부터 섭취한 사료가 소화 이용되기 위해서는 반추위 내에서 서식하고 있는 각종 미생물, 즉 섬유소 분해균, 전분 분해균, 단백질 분해균, 지

* 밀양대학교 동물자원학과

** 대표저자, 대구교육대학교 실과교육과 교수

방 분해균과 메탄 생성균 등의 미생물에 의하여 발효되는데(Hungate, 1966), 이때 합성된 발효생산물과 분해된 영양소가 장내에서 흡수 이용됨으로써 체유지, 우유 및 육생산에 이용되고 있다(Van Soest, 1982). 반추위내에 존재하는 미생물을 생화학적 특성에 따라 분류하면 먼저 탄수화물을 분해하는 미생물로 탄수화합물을 분해해서 저급 휘발성지방산(VFA)을 생성하여 반추동물의 에너지원으로 사용하는 것(Latham and Wolin, 1977)과 단백질분해 및 합성작용에 관여하는 미생물로 이는 비단백태 질소화합물인 암모니아를 이용하여 증식된 미생물이 반추동물의 단백질 원으로 직접 이용되는 것(Allison, 1970)이 있다. 뿐만 아니라 반추동물에서의 지방대사는 반추위 내에 존재하는 지방 분해균의 작용으로 사료지방이 glycerol 및 glyceride 등으로 분해되어 propionic acid를 생성하며, 생성된 propionic acid는 탄수화물이나 아미노산과 같이 축쇄지방산 등을 합성하여 최종 흡수 이용되는 것으로 연구되어졌다(Garton, 1965).

이와 같이 반추위내 미생물의 증식 과정에서 일어나는 대사작용은 반추동물 영양생리에 직접 관련되어있으며 섬유소 분해균과 탄수화물이용에 관하여(Bryant, 1973), 질소원으로 암모니아와 유기질소에 관하여(Bryant와 Robinson, 1962), 그리고 비타민 요구량에 대해서(Bryant와 Robinson, 1962) 이미 보고되어 있다. 한편 반추동물에 있어서 여러 가지 광물질 급여에 따른 효과에 대한 연구가 보고(Reddy, 1996)되었지만, 활성백토, 산성백토, 규조토 등을 정유과정 흡착제로 사용한 정유부산물인 spent bleaching clay를 반추동물에 급여하여 반추위내의 변화와 사료적 가치에 대하여서는 아직 보고된 바 없다.

따라서 본 시험은 정유부산물인 spent bleaching clay의 첨가에 따라 반추위내 발효특성과 이용율을 조사하여 지방 공급사료로의 가능성을 검토하였다.

II. 재료 및 방법

1. 공시축 및 사양관리

본 시험에 사용된 공시축으로는 rumen fistula(Robinson과 Kennelly, 1990)가 장착된 평균 체중이 550kg인 Holstein 건유우 암소 3두로 하였다. 공시축의 사양관리는 성균관대학교 부속농장사양관리기준에 준하여 두당, 1일 건물기준으로 농후사료 3kg과 조사료로서 볏짚 4.2kg을 2회(08:00, 18:00)로 나누어 급여하였으며, 물은 24시간 음수토록 하였다.

2. 실험사료의 성분분석

시험기간 동안 공시축에 급여한 농후사료와 조사료인 볏짚의 조성분 및 세포막 구성성

분 함량은 A.O.A.C(1990) 방법과 Goering과 Van Soest 방법(1970)으로 분석하여 Table 1과 2에 나타내었다. 한편 spent bleaching clay 함유된 대두유의 지방산 함량은 Folch 등(1957)의 방법을 기초로 하여 지질을 분리하여 methylation 과정을 거치고 hexane에 용해시킨 후 gas chromatograph(Shimadzu-2010)로 분석하여 Table 4에 나타내었으며 분석을 위한 GC의 조건은 Table 3에 나타내었다.

Table 1. Formula of experimental diet (%)

Item	%
Corn	55.0
Wheat bran	23.0
Soybean meal	20.0
Salt	0.7
Calcium + Phosphate(Ca, 25% + P, 18%)	0.5
Limestone	0.5
Vitamin premix	0.3
Total	100.0

Table 2. Chemical composition of concentrate ration and rice straw (%)

Item	Concentrate ration	Rice straw
Dry matter	84.2	89.7
Organic matter	79.9	78.2
Nitrogen free extract	52.6	35.1
Crude protein	19.2	4.8
Crude fat	2.7	1.2
Crude fiber	4.7	35.8
Crude ash	5.1	12.8

Table 3. Instrumental condition of gas chromatography for fatty acids analysis

Column	Capillary 30m × 0.25mm ID, 0.32µm film
Detector	FID

Column	Capillary 30m × 0.25mm ID, 0.32 μ m film
Temperature	
Oven	200 $^{\circ}$ C
Injector	260 $^{\circ}$ C
Detector	260 $^{\circ}$ C
Carrier gas	N ₂
Flow rate	50ml/min

3. 실험설계

본 실험은 건유우용 젖소 3두를 이용하여 시판 배합사료 급여구(0%, 대조구)와 SBC를 2% 및 4%를 첨가한 총 3처리구로 구분하여 Table 4에 나타난 것과 같이 3×3라틴방각법으로 설계하였다.

Table 4. Fatty acid composition of soybean oil in spent bleaching clay

Fatty acid	Soybean oil (%)
Myristic acid C14:0	0.07
Palmitic acid C16:0	9.46
Stearic acid C18:0	4.86
Archieidic acid C20:0	0.46
Behenic acid C22:0	0.50
Lignoceric acid C24:0	0.16
Palmitoleic acid C16:1	0.09
Oleic acid C18:1	21.90
Eicosenic acid C20:1	0.19
Linoleic acid C18:2	52.6
Olinolenic acid C18:3	7.94

Table 5. Experimental design for rumen fermentation by dairy cows

Item	Spent bleaching clay (%)		
	0	2	4
Commercial concentrate (%) ^a	100	98	96
Spent bleaching clay (%) ^a	-	2	4

Item	Spent bleaching clay (%)		
	0	2	4
No. of replication	3	3	3
Head/replication	1	1	1

^a All values are expressed on as fed basis.

각 실험기간은 20일로 시험사료 적용기간 15일, 측정을 위한 반추위액 채취는 5일로서 총 60일(3×20)로 하였다.

반추위액은 하루에 3시간 간격으로 처리 당 200~250ml씩 채취하여 4겹의 cheese cloth로 여과한 후 분석 목적에 따라 사용하였다.

4. 조사항목

1) 반추위액의 pH 변화 측정

시험사료 급여 후 3시간 간격, 즉 0, 3, 6, 9, 12시간에 반추위액을 채취하였으며 반추위액을 잘 혼합한 후 곧 바로 pH meter(DMS DP-880)로 pH를 측정하였다.

2) 반추위액의 NH₃-N 함량 측정

반추위 NH₃-N 함량은 phenol color reagent와 alkali-hypochlorite reagent의 indophenol reaction을 이용한 Chaney와 Marbach(1962) 방법에 의하여 측정하였다. 즉, 채취한 반추위액을 3,200rpm에서 15분간 원심분리한 후 상등액 0.02mL를 취하여서 phenol color reagent와 alkali-hypochloride reagent를 각각 1mL씩 첨가하여 37°C의 water bath에서 15분간 발색시킨다. 이후 발색된 용액에 8mL 또는 16mL의 증류수를 첨가하여 혼합하고 630nm에서 흡광도를 측정하였다.

3) 반추위액의 휘발성지방산 함량 측정

반추위액내 휘발성지방산의 함량 측정은 반추위액내에 존재하는 미생물 대사를 억제하기 위해 100mL당 saturated HgCl₂ 2mL를 첨가하였으며, 분석시까지 -20°C에서 냉동 보관하였다. 그리고 metaphosphoric acid 용액(25%)을 첨가한 후, 4°C에서 3,000rpm 30분간 원심분리과정을 거쳐 상등액을 분석 전까지 냉동실에 보관하였다가 Gas Chromatography(Varian 3800)를 이용하여 휘발성지방산 함량을 분석하였다. 분석에 사용한 기기의 분석조건은 Table 6에 나타내었다.

Table 6. Instrumental condition of gas chromatography for determination of volatile fatty acid

Columnn	2m×2mm ID glass column
Packing material	80/120 cabopack B-DA/4% carbowax 20m
Column temperature	180℃
Injector	200℃
Dectecter	200℃
Flow rate(Carrier) H ₂	40ml/min
Air	400ml/min
N ₂	24ml/min
Detector	FID
Attenuation	4×10 ⁻¹⁰
Sample volume	0.5ul

4) Nylon bag방법에 의한 반추위내 건물 및 유기물 소실율(%) 측정

반추위 내에 투입된 nylon bag은 pore size가 40 μm인 nylon(Nybolt, Swiss)을 이용하여 80×130mm의 규격으로 제조하였으며, nylon 실로 이중으로 재봉하여 완전 밀봉함과 더불어서 시료가 밑부분에 뭉치는 것을 방지하기 위하여 둥글게 만들었다. 3×3 라틴방각법으로 각각의 실험동물에 6개의 nylon bag을 넣고 시간대별(3, 6, 12 및 24시간)로 해당시간의 소실율을 이하의 순서대로 측정하였다.

- ① Nylon bag을 60℃에서 72시간 건조 후 칭량하고 시료 4~5g을 투입하여 시료 mg당 18.2~24.0cm³의 nylon bag 표면적을 제공하였다.
- ② Nylon bag을 linen망에 넣어 39~40℃ 온수에 약 30분간 침지한 후 rumen cannula를 통해 투입한 후 시간대별로 회수하였다.
- ③ 회수된 nylon bag을 흐르는 물로 맑은 물이 나올 때까지 행군다.
- ④ 세척된 nylon bag을 60℃에서 72시간 건조 후 칭량하고 내용물 중 건물 소실율 측정하였다.
- ⑤ 내용물을 600℃에서 2시간 회화하여 유기물 소실율을 측정하였다.

6. 통계분석

실험결과는 분산분석을 이용한 Duncan's multiple range test(1955)에 의하여 처리구 평균

간의 유의성을 검정한다.

Ⅲ. 결과 및 고찰

1. 반추위액의 pH 변화

SBC 첨가에 따른 반추위 내 pH 변화는 Table 7에 나타내었다. 3처리 모두 사료급여 후 3~6시간에 낮은 pH를 나타내었다, 이후 사료급여 9시간부터는 점차적으로 증가하여 12시간에 정상 pH에 도달하였다. 처리구간 비교를 해보면 SBC 4% 첨가구의 pH는 대조구 및 SBC 2% 첨가구보다 모든 측정치간대에 걸쳐서 낮아지는 경향이 인정되었다. 이와 같은 결과는 양(sheep)에 있어서 반추위내 pH는 사료급여 후 2~6시간에 가장 낮았다(Reid 등, 1957)는 보고와 젖소에 있어서 사료급여 후 3~5시간에 가장 낮았다(Smith 등, 1981)는 결과와 일치하는 것이며, 또한 SBC 4% 첨가구가 대조구 및 SBC 2% 첨가구에 비하여 상대적으로 낮은 pH를 나타낸 이유는 사료 내 지방함량이 증가하면서 조섬유 등의 이용률이 낮아졌기 때문으로 판단된다. 일반적으로 젖소사료중의 지방의 함량은 건물기준으로 3~7% 정도를 유지해야하는데, 기존의 농후사료에 이미 3% 정도에 해당하는 지방이 포함(Table 1)되어 있기 때문에 SBC 4% 첨가는 지방의 과잉섭취로 이어져 일순간 반추위내 미생물 활동이 저하에 따른 섬유소 소화율의 감소로 이어질 수 있을 가능성이 생각되어진다(Doreau 등, 1991).

Table 7. Effects of different levels of SBC supplement on the ruminal pH by dry dairy cows

Hours after feeding (h)	Spent bleaching clay (%)		
	0	2	4
0	6.88 ± 0.10 ^a	6.68 ± 0.10	6.33 ± 0.25
3	6.25 ± 0.01	6.26 ± 0.50	6.11 ± 0.13
6	6.15 ± 0.57	6.24 ± 0.45	6.10 ± 0.15
9	6.68 ± 0.28	6.56 ± 0.14	6.37 ± 0.10
12	6.67 ± 0.23	6.78 ± 0.05	6.70 ± 0.30

^a Means±SE.

2. 반추위액의 NH₃-N 함량

Table 8에서는 반추위 내 암모니아태 질소(NH₃-N) 함량을 나타내었다. SBC 4% 처리구가 대조구와 SBC 2% 처리구에 비하여 사료 급여 후 3시간째까지 높은 NH₃-N 함량을 나타냈으나 이후 유사한 경향을 보였다. 일반적으로 지방 급여량이 많은 경우 반추위내 단백질의 분해 및 흡수율이 저하되는 것으로 보고되어(DelCurto 등, 1990; Doreau 등, 1991), 본 결과를 간접적으로 설명하고 있다. SBC 4% 첨가구는 반추위내 지방함량을 증가시켜서 단백질의 소화율을 저하시키기 때문에 순간적으로 반추위내 NH₃-N의 농도가 높아졌다고 사료되나, 반추위내에 무수히 많은 종류의 반추미생물이 존재하므로 미생물의 생화학적 특성에 따라 구분하여 고려할 필요도 있을 것이다(Bryant와 Robinson, 1962 ; Bryant, 1973).

Table 8. Effects of different levels of SBC supplement on the ruminal NH₃-N by dry dairy cows(mg/100ml)

Hours after feeding (h)		Spent bleaching clay (%)		
		0	2	4
	0	8.51 ± 0.04 ^a	14.31 ± 0.24	19.69 ± 0.18
	3	14.39 ± 0.58	15.42 ± 0.26	25.01 ± 0.14
	6	11.72 ± 0.01	11.88 ± 0.10	10.56 ± 0.09
	9	13.31 ± 0.25	14.74 ± 0.18	13.40 ± 0.06
	12	13.30 ± 0.08	15.62 ± 0.05	16.99 ± 0.04

^a Means±SE.

3. 반추위액의 휘발성지방산 함량

SBC 첨가에 의한 반추위내 휘발성지방산(VFAs) 함량은 Table 9에 나타내었다. 반추위내의 Acetic acid의 농도는 측정 전 시간대에 걸쳐서 SBC 2% 및 4% 첨가구 간에는 차이가 인정되지 않았지만, SBC 2% 및 4% 첨가구 모두 대조구보다 높아지는 경향이 인정되어, 특히 사료급여 6시간째는 SBC 2% 및 4% 첨가구 모두 대조구보다 유의하게 높았다(P<0.05). VFAs는 반추위내 미생물의 대사산물로써 이들의 농도는 사료의 형태 및 발효 시간에 따라서 많은 영향을 받는다(Owens 등, 1998). Choi 등(2004)은 아마종실오일을 젖소의 십이지장에 일일 500g씩 넣는 것에 의해서 반추위내의 A:P 비율의 증가를 보고하여 본 연구와 닮은 결과를 제시하였다. 반추동물 사양에 있어서 사료 중 지방의 함량이 적어도 5%를 넘게 되면 반추위내의 조섬유 소화의 저하와 반추미생물에 직간접적으로 나쁜 영향을 미쳐서

A:P의 비율 감소 및 VFAs의 생산량을 감소시킬 가능성이 있다고 보고되어있다(Boggs 등, 1987). 본 연구의 결과로 SBC 4% 이하의 첨가는 순간적으로 pH(Table 7)의 저하 및 암모니아태질소(Table 8) 농도 증가의 가능성이 생각되지만, 종합적으로 판단해보면 SBC 4% 이하의 첨가는 반추위내의 이상 발효는 일어나지 않은 것으로 판단된다. 한편 Propionic 및 Butyric acid는 SBC 첨가수준에 관계없이 변화가 없는 것으로 나타났다.

Table 9. Effects of different levels of SBC supplement on the ruminal VFA by dry dairy COWS

Hours after feeding (h)	SBC (%)	Volatile fatty acid (mM)			
		Acetic acid	Propionic acid	Butyric acid	A:P ratio
3	0	39.00±6.14 ¹	13.90±3.10	9.91±2.60	2.81
	2	47.76±3.70	13.81±5.02	10.41±4.02	3.46
	4	46.45±4.27	13.77±3.34	10.08±2.40	3.37
6	0	44.43±2.47 ^a	15.21±2.20	11.98±2.36	2.92
	2	50.29±1.00 ^b	15.83±5.04	11.94±5.47	3.18
	4	49.33±0.27 ^b	14.09±2.18	10.35±0.55	3.50
9	0	34.74±7.36	12.89±2.66	9.38±2.46	2.70
	2	37.79±8.18	11.03±5.38	8.19±3.70	3.43
	4	37.35±5.47	10.07±3.02	7.63±2.31	3.70
12	0	30.77±6.96	9.31±2.44	6.81±2.94	3.31
	2	43.18±12.20	11.38±3.29	7.52±2.52	3.79
	4	44.53±15.33	12.27±7.63	9.58±6.06	3.63

¹ Means±SE ; ^{a,b} P<0.05.

4. Nylon bag 방법에 의한 반추위내 건물 및 유기물 소실율(%)

SBC 첨가에 따른 시험사료의 반추위내 건물 및 유기물 소실율은 Table 10과 11에 나타내었다. 건물 및 유기물 손실율은 같이 배양초기 6시간까지는 SBC 4% 첨가구가 대조구와 SBC 2% 첨가구보다 낮은 경향을 보였으나, 이후 SBC 첨가수준에 관계없이 3처리구 같은 경향을 나타냈다. 반추동물의 영양생리상 반추위내의 높은 NH₃-N의 농도는 반추위내의 고 영양 상태를 나타내는 것으로 생각할 수 있다. 따라서 SBC 4% 첨가는 배양초기 반추위내

의 높은 $\text{NH}_3\text{-N}$ (Table 7)의 농도를 유지시켜 결과적으로 건물과 유기물 손실율의 감소로 이어졌다고 사료된다.

결론적으로 반추동물의 사료 지방의 공급원으로 적당 수준의 식용유 정제 폐백토의 이용이 가능할 것으로 판단된다.

Table 10. Dry matter degradability in the rumen of dry dairy cows

Incubation Time (h)	Spent bleaching clay (%)		
	0	2	4
3	45.90±2.74 ¹⁾	48.74±4.83	41.67±3.83
6	50.98±0.98	50.93±0.83	46.07±1.07
12	62.93±2.28	67.11±2.25	60.24±3.06
24	77.87±4.51	82.32±0.67	79.08±2.30

¹⁾ All values are expressed as mean±S.E.

Table 11. Organic matter degradability in the rumen of dry dairy cows

Incubation Time (h)	Spent bleaching clay (%)		
	0	2	4
3	47.61±2.66 ¹⁾	48.17±4.89	38.31±4.05
6	52.54±0.95	50.40±0.84	43.51±1.13
12	66.01±2.09	68.52±2.15	60.19±3.06
24	78.64±4.36	82.18±0.67	78.21±2.12

¹⁾ All values are expressed as mean±S.E.

IV. 요약

본 시험은 Spent bleaching clay(SBC) 첨가에 따라 반추위내의 발효특성과 이용율을 조사하기 위하여 Fistula가 장착된 홀스타인 3두를 공시하여 반추위내 발효성상을 조사하였다. 반추위내 pH 변화는 대조구와 SBC 2% 첨가구간에는 차이가 없었으나, SBC 4% 첨가에 의하여 낮아지는 경향이 인정되었다. 반추위내 $\text{NH}_3\text{-N}$ 의 함량은 SBC 4% 첨가구가 대조구와 SBC 2% 첨가구에 비하여 사료 급여 후 3시간째까지 높은 경향을 나타냈으나 이후 3처리

구는 유사한 경향을 나타내었다. 한편 SBC의 첨가수준에 관계없이 반추위내 VFA의 함량은 변화가 없는 것으로 나타났다. 반추위내 건물 및 유기물 손실율은 SBC 4% 첨가구가 대조구 및 SBC 2% 첨가구에 비해서 배양초기에는 낮아지는 경향을 보였으나 이후 4처리간 차이는 인정되지 않았다.

[논문접수일 : 2006. 1. 5. 최종논문접수일 : 2006. 3. 2.]

참 고 문 헌

1. Allison, M. J. 1970. Nitrogen metabolism of ruminal microorganisms. Ln : E. F. Annison (Ed) Third international symposium on the physiology of digestion in the ruminant. Newcastle upon Tyne, England.
2. A.O.A.C. 1990. Official Methods of Analysis(14th Ed.). Association of Official Agricultural Chemists. Washington, D.C.
3. Boggs, D. L., W. G. Bergen and D. R. Hawkins 1987. Effects of tallow supplementation and protein withdrawal on ruminal fermentation, microbial synthesis and site of digestion. J. Anim. Sci. 64 : 907-914.
4. Bryant M. P. and I. M. Robinson, 1962. Some nutritional characteristics of predominant culturable ruminal bacteria. J. Bacteriol. 84 : 605-614.
5. Bryant, M. P. 1973. Nutritional requirements of the predominant rumen cellulolytic bacteria. Fed. Proc. 32 : 1809-1813.
6. Chaney, A. L. and E. P. Marbach. 1962. Modified reagents for determination of urea and ammonia. Clin. Chem. 8 : 130-132.
7. Choi, N. J., W. J. Maeng, H. J. Kim, H. G. Lee and J. K. Ha 2004. Effects of different fat sources on fermentative characteristics and microbial efficiency in the rumen, and nutrients digestibility of dairy cows. J. Anim. Sci. & Technol. (Kor.). 46(3) : 347-354.
8. DelCurto, T., R. C. Cochran., D. L. Harmon., A. A. Beharka., K. A. Jacques., G. Towne. and E. S. Vanzent. 1990. Supplementation of dormant Tallgrass-prairieforage: 1. Influence of varying supplemental protein and(or) energy levels on forage utilization characteristics of beef steers in confinement. J. Animal Sci. 46 : 225-234.
9. Doreau., F. Legay. and D. Bauchart. 1991. Effect of source and level of supplement fat on total and ruminal organic matter and nitrogen digestion in dairy cows. J. Dairy Sci. 74(7) :

2233-2242.

10. Duncan, D. B. 1955. Multiple range and multiple F tests. *Biometrics* 11 : 1-42.
11. Folch, J., M. Lees, G. H. S. Sloan-Stanlet. 1957. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J. Biol. Chem.* 226 : 497-509.
12. Goering H. K. and P. J. Van Soest. 1970. Forage fiber analysis (apparatus, reagents, procedures, and some applications). *Agric. Handbook No. 379.* ARS USDA, Washington, DC.
13. Garton, G. A. 1965. The digestion and assimilation of lipids. In: R. W. Dougherty (Ed.) *Physiology of Digestion in the Ruminant* Washington, DC. *Batterworths.* p. 390.
14. Hungate, R. E. 1966. *The rumen and its microbes.* Academic Press. New York. Huntington, G. B., R. A.
15. Latham, M. J. and M. J. Wolin. 1977. Fermentation of cellulose by *ruminococcus flavefaciens* in the presence and absence of *metanobacterium ruminantium*. *Appl. Environ. Microbial.* 34 : 297-302.
16. Owens, F. N., D. S. Secrist, W. J. Hill and D. R. Gill. 1998. Acidosis in cattle; A Review. *J. Anim. Sci.* 96 : 275-286.
17. Reddy, B. S. 1996. Micronutrients as chemopreventive agents, *IARC Sci. Publ.* 139 : 221-235.
18. Robinson, P. H. and J. J. Kennelly. 1990. Evaluation of a duodenal cannula for dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 73 : 3146-3157.
19. Reid, R. L., J. P. Hogan. and P. K. Briggs. 1957. the effect of diet on individual volatile fatty acids in the rumen of sheep with particular reference to the effect of low rumen pH and adaption on high starch diet *Aust. F. Agr. Res.* 6 : 691-710.
20. Smith, N. E., L. S. Collar., D. L. Bath., W. L. Dunkely. and A. A. Franke. 1981. Digestibility and effect of whole cottonseed fed to lactating cows. *J. Dairy Sci.* 64 : 2209-2215.
21. Van Soest, P. J. 1982. *Nutritional ecology of the ruminant.* O & B Books Inc. Corvallis OR.