

환경친화적 섬유질 배합사료의 발효와 반추위 발효특성 변화*

류채화** · 박명선** · 박철*** · 최낙진**** · 조상범*****

Fermentation of Environmental Friend Total Mixed Ration and Alteration of Rumen Fermentation Characteristics

Ryu, Chae-Hwa · Park, Myung-Sun · Park, Chul · Choi, Nag-Jin · Cho, Sang-Buem

Total mixed ration (TMR) including concentrate diet and roughage together have been used for the ruminant animal. Relatively high concentrations of moisture and water soluble carbohydrate are representative feature of TMR. Those moisture and water can also provide a niche for bacterial growth. Therefore, a possible fermentation of TMR induced by micro-organism is generally accepted. The present study hypothesized that different lactic acid bacteria could alter fermentation of TMR and subsequently rumen fermentation. Three lactic acid bacteria, *Lactobacillus paracasei* (A), *L. plantarum* (B) and *L. parabuchneri* (C), were employed and 7 treatments under full factorial design were compared with control without inoculation. TMR for dairy cow was used. Significant alterations by treatments were detected at lactic acid and butyric acid contents in TMR ($p < 0.05$). Treatment AC (mixture of A and C) and BC (mixture of B and C) showed great lactate production. Great butyrate production was found at treatment C. At in vitro rumen fermentation, treatments B, C and AB (mixture of A and B) showed significantly great total gas production ($p < 0.05$). All treatments except treatments B and AB, showed less dry matter digestibility, significantly ($p < 0.05$). Total volatile fatty acid production at treatment AC was significantly greater than others ($p < 0.05$). In individual volatile fatty acid production, treatment AB and AC showed great

* 본 논문은 농림축산식품부의 재원으로 농림수산식품기술기획평가원(한우의 생산성 제고를 위한 비육기간 단축 프로그램 개발)의 지원을 받아 연구되었음(315017-5).

** 전북대학교 축산학과

*** 전북대학교 수의학과

**** Co-corresponding author, 전북대학교 동물자원과학과(nagjin@jbnu.ac.kr)

***** Corresponding author, (주)칼스엔비티 순환농축산연구소, 전북대학교 동물자원과학과(chosb73@outlook.kr)

acetate and propionate productions, significantly ($p < 0.05$). This study investigated correlation between organic acid production in TMR and rumen volatile fatty acid production. And it was found that butyric acid in TMR had significant negative correlation with acetate, propionate, total volatile fatty acid, AP ratio and dry matter digestibility.

Key words : dairy cow, lactic acid bacteria, organic acids, rumen fermentation, TMR

I. 서 론

반추동물은 단위동물과 다르게 다양한 미생물들이 공존하는 반추위를 가지고 있다. 초식 동물인 반추동물의 반추위는 그 기능이 매우 중요하다. 따라서 섬유질사료는 반추위발달, 기능유지, 생산성 향상뿐만 아니라 다양한 대사성 질병 예방에 그 역할을 하며, 또한 반추 위 기능 유지 목적의 항생제 사용을 대체 할 수 있어 유기 축산업을 위한 중요한 요인이다 (Cho 등, 2012).

반추동물은 필요한 에너지의 70%를 반추위에서 생성된 휘발성지방산을 통하여 공급받는다. 따라서 반추위의 기능은 반추동물의 생존과 에너지 대사에 있어 중요하다(Seymour 등, 2005). 정상적인 반추위 기능 수행에 있어 조사료의 역할이 매우 크다. 하지만 가축, 즉 경제동물로 분류되는 비육우와 착유우의 경우, 정상적인 반추위 기능의 유지뿐만 아니라 생산성도 동시에 고려되어야 한다. 경제적인 관점에서 축우사료를 살펴보면 농후사료와 조사료로 구분된다. 곡류사료와 지방질 사료로 구성된 농후사료는 생산성 향상을 위한 에너지 공급의 의미를 가지고 있다. 건초와 청초 그리고 사일리지 등의 섬유성 사료 자원들은 조사료로 구분되고, 반추위 발달 및 기능 유지의 의미를 가지고 있다. 따라서 농후사료와 조사료의 적절한 공급은 축우 생산성과 생명유지에 있어 중요하다(Cho 등, 2012).

일반적으로 농후사료와 조사료는 각각 개별적으로 급여되거나, 혼합된 상태로 급여된다. 두 번째 방법, 즉 농후사료와 조사료를 미리 혼합하여 급여하는 사료를 섬유질완전배합사료(Total mixed ration, TMR)라고 한다. TMR의 특징은 적절한 조사료를 농후사료와 미리 혼합함으로써 에너지와 반추위 기능이라는 두 가지 목적으로 동시에 충족시킬 수 있을 뿐만 아니라, 축산 농가의 사용상의 편의성까지 고려되었다고 할 수 있다(Lee 등, 2009).

TMR은 제조하는 주체를 기준으로 다시 자가 배합형 TMR과 기업형 TMR로 구분될 수 있다. 농장에서 자체적으로 농후사료와 조사료를 각각 구매하여 TMR을 제조하는 경우, 상대적으로 신선한 TMR을 축우에게 공급 할 수 있는 장점이 있다. 기업형 TMR 공장에서 생산된 TMR의 경우, 대량 구매와 전문적이고 과학적인 배합비 프로그램이 적용되어 있어 경제적이고 효율성이 높은 사료라고 할 수 있다.

기업형 TMR은 제조와 농가에서의 사용시점 사이에는 일정한 시간이 존재한다. 물론, 그 일정시간은 농장사정에 따라서 차이가 날 수 있다. TMR은 상대적으로 높은 수분과 곡류 및 조사료에서 유래되는 수용성 탄수화물을 많이 함유하고 있다. 적절한 수분과 수용성 탄수화물은 미생물 성장에 유용한 영양소로 이용 될 수 있기 때문에 기업형TMR의 제조와 급여 사이의 일정시간, 수분 그리고 수용성 탄수화물은 TMR내 미생물 성장개시의 요인이 될 수 있다(Lee 등, 2009).

발효란 미생물이 적정량의 수분(수분활성도)과 영양소가 존재하는 환경에서 성장하며 다양한 대사산물들을 생산해가는 과정을 말하며, TMR의 발효는 TMR 자체의 품질과 반추위 내 그 이용성에도 영향을 미치고 궁극적으로 축우의 생산성에도 영향을 미치게 된다(Cho 등, 2014).

발효 과정의 생물학적 변화는 주도적인 역할은 미생물이 담당한다. 따라서 미생물의 종류에 따라서 발효의 진행과정 및 결과가 다르게 나타날 수 있고, 이러한 변화는 TMR의 반추위 내 소화 형태 및 축우 생산성 등을 변화 시킬 수 있다. 본 연구는 젖산균의 종류와 젖산균들의 조합형태(혼합비율)가 TMR 발효에 영향을 미칠 수 있고, 더 나아가 반추위 휘발성지방산 생산도 영향을 미칠 수 있다는 점에 가설을 설정하였다. 그리고 *in vitro* 반추위 발효 특성 조사를 통하여 설정된 가설의 검정을 시도하였다.

II. 재료 및 방법

1. 균주의 준비

본 연구에서는 총 3가지 젖산균(*Lactobacillus paracasei*, *Lactobacillus plantarum* 및 *Lactobacillus parabuchneri*)을 사용하였다. 동결건조된 분말상태의 균주를 사용하였고, 모든 균주 분말은 각 균주들은 1.0×10^7 CFU/g의 농도로 제작되었다. 각 균주들은 주식회사 한남바이오(대전)에서 제공받아 사용하였다.

2. 섬유질완전배합사료

본 연구에서 사용된 TMR은 착유우용 TMR로서 그 조성과 영양성분은 Table 1에서 보는 것과 같다. 조단백질, 조지방 및 조회분 함량은 AOAC (1995)방법에 따라 분석하였으며, NDF (Neutral detergent fiber)와 ADF (Acid detergent fiber)는 Van Soest 등(1991)법으로 분석하였다.

Table 1. Ingredients and chemical compositions of total mixed ration

Ingredients	Contents, %
Concentrate diet	37.20
Beet pulp	7.20
Cotton seed meal	11.20
Ground corn meal	6.40
Barely	13.20
Alfalfa	12.00
Timothy	12.80
Total	100.00
Chemical composition	Content, %
Moisture	33.00
..... % DM	
Organic matter	92.65
Crude protein	14.95
Ether extract	5.26
Neutral detergent fiber	36.52
Acid detergent fiber	20.11

3. 실험설계

총 8개의 시험구를 설정하였고 다음과 같다. 시험구 1: 아무런 균주분말을 첨가하지 않은 시험구(대조구), 시험구 2: 균주 A (*Lactobacillus paracasei*)를 TMR 총 중량의 0.1%(w/w)로 혼합한 시험구(처리구 A), 시험구 3: 균주 B (*Lactobacillus plantarum*)를 TMR 총 중량의 0.1%(w/w)로 혼합한 시험구(처리구 B), 시험구 4: 균주 C (*Lactobacillus parabuchneri*)를 TMR 총 중량의 0.1%(w/w)로 혼합한 시험구(처리구 C), 시험구 5: 균주 A와 균주B를 1:1의 비율로 혼합한 균주조성물을 TMR 총 중량에 0.1%(w/w)로 혼합한 시험구(처리구 AB), 시험구 6: 균주 A와 균주 C를 1:1의 비율로 혼합한 균주조성물을 TMR 총 중량에 0.1%(w/w)로 혼합한 시험구(처리구 AC), 시험구 7: 균주 B와 균주 C를 1:1의 비율로 혼합한 균주조성물을 TMR 총 중량에 0.1%(w/w)로 혼합한 시험구(처리구 BC), 시험구 8: 균주 A, 균주 B 그리고 균주 C를 1:1:1의 비율로 혼합한 균주조성물을 TMR 총 중량에 0.1%(w/w)로 혼합한 시험구(처리구 ABC).

4. 시험용 TMR 의 발효

착유우 TMR 1kg과 균주조성물을 시험설계에 따라 혼합한 후에 비닐재질의 용기에 담고, 진공장치를 사용하여 밀봉하였다. 그리고 준비된 TMR을 상온(25°C)에서 3일간(72시간) 발효시켰다.

5. 발효된 TMR의 유기산 성상 분석

발효가 완료된 후에, 밀폐된 용기를 개봉하였다. 개봉 후, 시료중량의 10배에 해당하는 멸균 식염수(0.8% NaCl)를 가하고 균질기(Stomacher, Wisemix, Daihan, Korea)를 이용하여 균질화 작업을 진행하였다. 균질화 작업 후, 다시 현탁액의 액상(liquid phase)과 고상(solid phase)을 여과과정을 통하여 분리하였고, 액상 부분은 유기산 성상 분석에 사용되었다. 유기산 조성으로는 젖산, 초산, 프로피온산 및 뷰틸산을 분석하였다. 유기산분석은 C18 컬럼과 UV/VIS 검출기가 장착된 HPLC(High performance liquid chromatography, Prostar, Varian, USA)를 이용하여 분석하였다.

6. 인공반추위발효시험

인공 반추위 발효시험은 홀스타인 착유우 반추위액을 채취하여 수행하였다. 반추위액은 반추위에 누관(cannula)이 장착된 홀스타인 암소에서 채취하였다. 채취된 반추위액은 질소가스가 충전된 보온병에 담아, 1시간 이내에 실험실로 이송하였다. 이송된 반추위액은 8겹의 거즈를 이용하여 사료입자와 반추위 미생물을 포함하는 반추위액을 분리하였다. 분리된 반추위액은 다시 반추동물전용 인공타액(McDougall, 1948)과 1(반추위액):4(인공타액)의 비율로 혼합하여 인공 반추위 발효시험을 위한 최종 반추위액을 준비하였다. 반추위액 준비의 모든 과정은 이산화탄소를 주입하며 수행함으로써 반추위액으로의 산소유입을 최대한 배제시켰다. 인공 반추위 발효의 기질로는 발효가 완료된 TMR을 사용하였다. 발효가 완료된 TMR은 60°C에서 3일간 건조한 후에 2 mm screen이 장착된 분쇄기(Cutter miller, IKA MF10.1, Staufen, Germany)로 분쇄하였다. 약 125 mL 용량의 유리병에 준비된 반추위액 50 mL와 TMR 시료 0.1g을 혼합하고 이산화탄소 주입 및 알루미늄 뚜껑밀봉을 진행함으로써 반추위 발효실험을 개시하였다. 준비가 완료된 인공 반추위 발효 시험용 용기는 39°C 항온기에 넣고 24시간 동안 배양하였다. 배양 완료된 후, 반추위액과 소화되지 않고 남은 사료를 원심분리방법(10,000 rpm, 10분)과 여과방법을 사용하여 분리하였다. 회수된 사료입자는 60°C에서 항량에 이를 때까지 건조하였다. 건조 후, 그 무게를 측정하고 반추위 발효 전 무게와의 차이를 이용하여 건물소화율을 계산하였다. 원심분리 상등액으로 회수된

반추위액은 암모니아태 질소 및 휘발성지방산 분석에 사용하였다. 반추위액 암모니아태 질소와 휘발성지방산 함량은 Lee 등(2016)의 방법에 따라서 분석하였다.

7. 통계분석

일련의 실시 예를 통하여 얻어진 결과들의 분석은 일반선형모형을 이용한 일원분산분석 방법으로 처리효과에 대한 유의성을 검정하였다. 시험구별 다중비교는 덩컨다중비교분석법을 이용하여 유의성을 판단하였다. 유의성 판단은 95% 신뢰성을 기준으로 수행하였다. 통계분석은 SPSS 프로그램을 이용하여 수행하였다. TMR 유기산 조성과 반추위 발효 특성에 대한 상관성 조사 및 상관성 도표의 작성은 통계프로그램 R을 사용하였고, 각각 'Hmisc'와 'corrgram' packages를 사용하였다(Team, 2010).

Ⅲ. 결 과

본 연구에서는 총 3 종류의 젖산균을 서로 다른 조합으로 착유우용 TMR에 접종하였다. 발효된 TMR의 유기산 조성은 Table 2에서 보는 것과 같다. 총 유기산 함량에서는 처리에 따른 유의적인 효과가 관찰되지 않았다($p > 0.05$). 즉 서로 다른 젖산균 그리고 젖산균 조합들은 TMR의 총 유기산 조성에는 영향을 미치지 않았다. 개별 유기산 조성에서의 유의적인 차이는 젖산과 뷰틸산에서 관찰되었다($p < 0.05$). TMR의 젖산함량은 BC 처리구(*L. plantarum* + *L. parabuchneri*)에서 가장 높게 나타났다($p < 0.05$). 반면 뷰틸산의 경우, C 처리구(*L. parabuchneri*)에서 가장 높게 나타났으며($p < 0.05$), AB 처리구(*L. paracasei* + *L. plantarum*)와 AC 처리구(*L. paracasei* + *L. plantarum*)에서 낮게 나타났다($p < 0.05$). TMR의 총 유기산 생성량과 각 유기산들의 조성에 미치는 처리의 효과를 통하여, 본 연구에서 사용된 젖산균들은 전체 유기산 생성량보다는 유기산 조성 비율에 미치는 효과가 더욱 큰 것을 알 수 있었다.

서로 다른 젖산균 및 다양한 젖산균들 조합으로 발효시킨 TMR들의 반추위 내 발효특성은 Table 3에서 보는 것과 같다. 발효 가스 생성량은 처리구 B, AB 그리고 C에서 유의적으로 높게 나타났다($p < 0.05$). 반추위 pH는 처리구 B를 제외한 모든 처리구들이 대조구와 유의적인 차이를 나타내지 않았다($p > 0.05$). 반추위 암모니아태 질소 생성량에서는 모든 시험구들간의 큰 차이는 관찰되지 않으나, 처리구 AB와 AC를 제외한 모든 처리구들에서 대조구보다 유의적으로 낮은 암모니아태 질소생성량이 관찰되었다($p < 0.05$). 총 휘발성지방산의 경우, 처리구 AB와 AC가 대조구에 비하여 유의적으로 높게 나타났으며($p < 0.05$), 나머지 처리구들은 대조구에 비하여 같거나 낮게 나타났다. 반추위건물소화율(IVDMD, in vitro dry matter digestibility)의 경우, 처리구 B와 AB를 제외한 모든 처리구들이 대조구에 비하여 유의적으로 낮았다($p < 0.05$).

Table 2. Effect of lactic acid bacteria on organic acid production (mg/kg) from TMR

	Lactic acid	Acetic acid	Propionic acid	Butyric acid	Total organic acid
Control	76.28 ^a	11.96	41.40	7.42 ^{abc}	137.06
A	74.42 ^a	11.73	40.31	7.61 ^{abc}	134.08
B	74.77 ^a	12.19	41.59	5.52 ^{abc}	134.07
C	81.02 ^a	12.67	41.04	10.59 ^d	145.32
AB	75.23 ^a	12.23	36.82	5.06 ^a	129.34
AC	85.37 ^{ab}	13.11	34.73	5.47 ^{ab}	138.69
BC	91.57 ^b	15.20	39.39	8.13 ^{bcd}	154.29
ABC	82.95 ^a	12.35	37.10	8.46 ^{cd}	140.86
SEM	1.96	0.31	0.89	0.45	2.75
P value	0.276	0.111	0.459	0.007	0.465

Treatments: Control, without inoculant; A, *Lactobacillus paracasei*; B, *L. plantarum*; C, *L. parabuchneri*; AB, *L. paracasei* + *L. plantarum*; AC, *L. paracasei* + *L. parabuchneri*; BC, *L. plantarum* + *L. parabuchneri*; ABC, *L. paracasei* + *L. plantarum* + *L. parabuchneri*

SEM, standard error of mean

^{abc} Different superscripts at same column mean significantly different (p<0.05).

Table 3. Effect of different TMR fermented with different lactic acid bacteria on rumen fermentation characteristics

	Total gas production, mL	pH	Ammonia nitrogen, mg/100mL	Total volatile fatty acid production, mM	IVDMD, %
Control	81.67 ^c	6.50 ^b	5.53 ^c	84.52 ^c	42.23 ^d
A	80.67 ^c	6.48 ^{ab}	5.03 ^a	85.04 ^c	35.91 ^{abc}
B	89.33 ^e	6.46 ^a	5.18 ^{ab}	85.20 ^c	41.63 ^d
C	77.33 ^d	6.50 ^b	5.21 ^{ab}	81.05 ^b	33.76 ^{ab}
AB	84.00 ^d	6.51 ^b	5.30 ^{bc}	92.04 ^e	39.94 ^{cd}
AC	78.00 ^b	6.51 ^b	5.46 ^c	88.89 ^d	36.89 ^{bc}
BC	80.00 ^c	6.50 ^b	5.16 ^{ab}	79.42 ^b	36.13 ^{abc}
ABC	75.33 ^a	6.51 ^b	5.18 ^{ab}	73.31 ^a	32.01 ^a
SEM	0.88	0.00	0.04	1.14	0.81
P value	<0.001	0.060	0.004	<0.001	<0.001

Treatments: Control, without inoculant; A, *Lactobacillus paracasei*; B, *L. plantarum*; C, *L. parabuchneri*; AB, *L. paracasei* + *L. plantarum*; AC, *L. paracasei* + *L. parabuchneri*; BC, *L. plantarum* + *L. parabuchneri*; ABC, *L. paracasei* + *L. plantarum* + *L. parabuchneri*

IVDMD, in vitro dry matter digestibility

SEM, standard error of mean

^{abc} Different superscripts at same column mean significantly different (p<0.05).

처리구에 따른 반추위 내 휘발성지방산들의 생성량은 Table 4와 같다. 초산과 프로피온산 생성량은 처리구 AB와 AC에서 유의적으로 높게 나타났으며($p < 0.05$). 뷰틸산의 경우, 처리구 AB에서 유의적으로 높게 나타났으며($p < 0.05$), 처리구 C에서는 유의적으로 높은 발러릭산이 관찰되었다($p < 0.05$). 초산과 프로피온산의 비율(AP ratio, acetate to propionate ratio)의 경우, 처리구 C와 ABC에서 유의적으로 낮게 나타났으며($p < 0.05$).

Table 4. Effect of different TMR fermented with different lactic acid bacteria on rumen individual volatile fatty acids productions (mM)

	Acetic acid	Propionic acid	Butyric acid	Valeric acid	AP ratio
Control	51.31 ^c	20.10 ^d	10.31 ^{bc}	3.03 ^{ab}	2.52 ^b
A	51.80 ^c	20.18 ^d	10.15 ^b	2.92 ^a	2.57 ^b
B	51.45 ^c	19.91 ^{cd}	10.66 ^{cd}	3.18 ^{ab}	2.58 ^b
C	47.59 ^b	19.34 ^{bc}	10.23 ^{bc}	3.31 ^b	2.44 ^a
AB	55.91 ^d	21.89 ^e	11.07 ^d	3.18 ^{ab}	2.55 ^b
AC	55.21 ^d	21.33 ^e	9.36 ^a	2.98 ^a	2.59 ^b
BC	47.57 ^b	18.82 ^b	10.08 ^b	3.07 ^{ab}	2.53 ^b
ABC	42.22 ^a	17.39 ^a	9.64 ^a	4.06 ^c	2.43 ^a
SEM	0.88	0.28	0.11	0.08	0.01
P value	0.000	0.000	0.000	0.000	0.005

Treatments: Control, without inoculant; A, *Lactobacillus paracasei*; B, *L. plantarum*; C, *L. parabuchneri*; AB, *L. paracasei* + *L. plantarum*; AC, *L. paracasei* + *L. parabuchneri*; BC, *L. plantarum* + *L. parabuchneri*; ABC, *L. paracasei* + *L. plantarum* + *L. parabuchneri*

SEM, standard error of mean

^{abc} Different superscripts at same column mean significantly different ($p < 0.05$).

본 연구에서는 젖산균들의 종류와 조합을 달리함으로써 TMR의 발효성상에 변화가 나타나도록 하였고, 각각 다른 조건(젖산균종류 및 조합)으로 발효된 TMR들의 *in vitro* 반추위 발효 특성을 조사하였다. 그리고 발효된 TMR들의 유기산 조성구분과 반추위 발효 특성간의 상관성을 분석하였다. 그 결과는 Fig. 1에서 보는 것과 같다. 우선 TMR내 유기산 생성량간의 상관성에서는 젖산과 초산 그리고 프로피온산과 뷰틸산간의 유의적인 정(positive)적 상관관계가 관찰되었다($p < 0.05$). 즉, 본 연구에서 사용된 TMR의 경우, 발효과정 중에 젖산 생성량이 증가할수록 초산 생성량도 증가하고, 프로피온산 생성량이 증가할수록 뷰틸산의 생성량도 증가하는 것을 알 수 있었다. 다음으로 반추위 발효 특성과 TMR의 유기산 조성구분간의 상관성을 조사하였다. 그 결과, TMR에 포함된 뷰틸산이 반추위 발효 특성과 유의적인 상

관성을 가지고 있는 것으로 나타났다($p < 0.05$). TMR의 뷰틸산은 반추위 발효 특성들 중에서 총 가스발생량, 초산 생성량, 프로피온산 생성량, 총 휘발성지방산, AP ratio, IVDMD 등에 대하여 유의적인 부(negative)의 상관관계를 가지고 있는 것으로 나타났다($p < 0.05$). 반추위 내 휘발성지방산들간의 상관성에서는 초산이 프로피온산, 총 휘발성지방산, AP ratio 및 건물 소화율과 유의적인 정의 상관관계를 가진 것으로 나타났다($p < 0.05$). 프로피온산은 발리릭산과는 부의 상관관계 그리고 나머지 발효인자들과는 정의 상관관계를 가진 것으로 나타났다($p < 0.05$). 뷰틸산은 총 휘발성지방산과 IVDMD 간의 유의적인 정적 상관관계가 나타났다($p < 0.05$). 발리릭산은 총 휘발성지방산, AP ratio, IVDMD와 유의적인 부의 상관관계가 나타났다($p < 0.05$). 총 휘발성지방산은 AP ratio와 IVDMD 간의 유의적인 정의 상관관계가 나타났다($p < 0.05$). AP ratio와 IVDMD 간에는 유의적인 정적 상관관계가 나타났다($p < 0.05$).

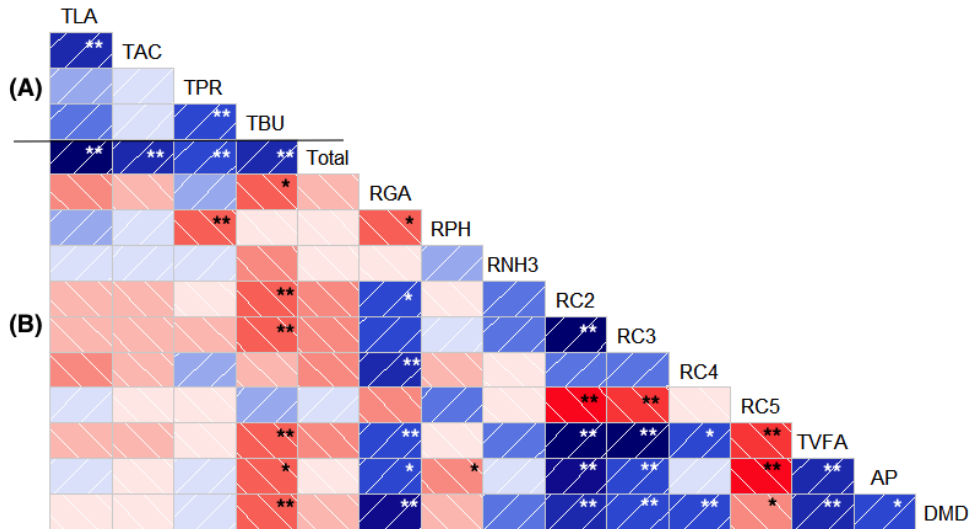


Fig. 1. Correlation between organic acid production in TMR and rumen fermentation characteristics. (A) TMR and (B) rumen fermentation characteristics. TLA, lactic acid in TMR; TAC, acetic acid in TMR; TPR, propionic acid in TMR; TBU, butyric acid in TMR; Total, total organic acid in TMR; RGA~DMD were parameters for rumen; RGA, gas production; RPH, pH; RNH3, ammonia nitrogen; RC2, acetate; RC3, propionate; RC4, butyrate; RC5, valerate; TVFA, total volatile fatty acid; AP, acetate to propionate ratio; DMD, in vitro dry matter digestibility. Blue and red colors indicate positive and negative correlation, respectively. Color intensity means intensity of correlation. For significance,

*, ** mean $p < 0.05$ and $p < 0.01$, respectively.

IV. 고 찰

일반적으로 축우용 TMR의 발효 성상을 나타내는 인자로서 미생물상과 유기산함량이 사용된다. 발효된 TMR의 미생물 구성은 젖산균, 일반세균 및 유해균의 밀도로 표현된다. 그리고 각 미생물의 밀도는 미생물상이 표현에 있어 중요한 수단이 된다(Liu 등, 2016). 하지만 밀도 뿐만 아니라 그 밀도를 구성하는 미생물의 종류가 더욱 중요한 요인이 될 수 있다. 본 연구에서는 미생물의 밀도와 종류를 분석하지 않았고, 미생물상에 대한 일종의 표현형(phenotype)이라고 할 수 있는 유기산 조성을 분석하였다. 국내에서 생산된 축우용 TMR이 포함하는 유기산 조성에 관한 문헌은 쉽게 찾아보기 어려웠으나, Lee 등(2009)의 논문에서 설명되어 있다. 본 연구에서는 처리조건에 관계없이 총 유기산의 50% 이상이 젖산으로 구성되었다. 하지만 Lee 등(2009)의 연구에서는 초산이 젖산과 유사하거나 2배 이상 높게 나타났다. 이러한 차이는 TMR의 영양소 구성형태와 접종된 미생물의 종류에서 기인할 것으로 생각된다. Lee 등(2009)의 연구에 사용된 TMR의 주요 조사료 자원은 벣짚인 반면, 본 연구에서는 보리, 알팔파 및 티모시 등이 사용되었다. 즉, 조사료 자원의 차이가 이러한 유기산 조성 비율의 차이를 나타낸 것으로 판단되었다.

축우가 섭취한 사료의 영양소들은 반추위 내에서 다양한 미생물들에 의해 이용(분해)되어 대사되고, 그 산물로서 휘발성지방산이 생성된다. 이렇게 생성된 휘발성지방산은 반추동물이 생명을 유지하고 축산물(고기, 우유)을 생산하는데 필요한 에너지의 70%를 공급하게 된다(Seymour 등, 2005). 초산은 반추위 내에서 생산되는 휘발성지방산의 대부분을 차지한다. 반추동물은 초식동물이다. 그리고 반추위 내 휘발성지방산의 상당한 부분은 초산이다(Reynal과 Broderick, 2005). 따라서 초산은 섬유소, 즉 조사료 자원의 분해를 통하여 얻어진 것으로 유추할 수 있으며, 반추위 내 섬유소 분해 세균의 활력을 대표하고 있다. 두 번째로 많은 비율을 차지하고 있는 휘발성지방산은 프로피온산이다. 초산이 섬유소 분해의 산물이라고 한다면 프로피온산은 비구조탄수화물(non-structural carbohydrate, NSC)의 분해 산물이라 할 수 있다(Dijkstra 등, 2005). 초산과 프로피온산이 반추위 내 휘발성지방산의 대부분을 나타내고 섬유소와 NSC의 분해를 대표하고 있는 이유에서 이 두 유기산의 비율은 별도의 지표로 사용되며, AP ratio라고 한다. 초산과 프로피온산 외에 뷰틸산과 발러릭산이 있으나, 그 생산량이 초산과 프로피온산에 비하여 상대적으로 낮아서 자칫 간과될 수 있다. 하지만 뷰틸산의 경우, 프로피온산과 공존능력이 매우 우수하며, 착유우의 생산성 예측에 있어 중요한 지표가 된다. 또한 뷰틸산은 프로피온산을 이용한 당신생합성(gluconeogenesis) 과정의 에너지 생산 효율성을 향상시키는 역할을 하며, 착유우 유량과의 긍정적 상관관계(positive correlation)를 가지고 있다(Seymour 등, 2005).

반추위 내에서 생산되는 각각의 휘발성지방산들은 매우 복잡한 과정과 다양한 상호 관계 조건에서 생산된다. 이러한 휘발성지방산의 생성을 이해하는 것은 궁극적으로 축우의

생산성을 이해하기 위한 수단으로 사용될 수 있다. 휘발성지방산들간의 상관관계의 이해는 반추위 내 휘발성지방산들의 생성을 이용하는 방법으로도 이용될 수 있다. 앞에서 언급한 것과 같이 초산은 구조탄수화물(structural carbohydrate, SC) 그리고 프로피온산은 NSC에서 각각 생산되었다. 사료 내 SC와 NSC의 구성 비율은 상호 반비례의 구조를 가지게 된다. 섭취된 SC와 NSC가 동시에 같이 증가하거나 감소한다는 것은, 결국 건물 섭취량이 증가하거나 감소하는 것을 의미하는 것이다. 따라서 반추위 내 초산과 프로피온산도 서로 부의 상관관계를 갖고 있다고 할 수 있다. 실제 많은 연구에서 초산과 프로피온산의 부적 상관성을 보고하고 있다(Bannink 등, 2006). 본 연구에서는 초산과 프로피온산의 기존의 부적 상관관계와는 다르게, 상호 간의 유의적인 정적 상관관계가 관찰되었다. 본 연구에서 나타난 상호관계에 대한 상이한 결과를 해석하기 위해서는 좀 더 면밀한 분석이 필요할 것으로 사료된다. 뷰틸산의 경우, 초산 그리고 프로피온산과 부적 상관관계가 보고된 바 있다(Bannink 등, 2006; Morvay 등, 2011). 그러나 본 연구에서는 유의성은 없었으나 정적 상호관계가 관찰되었다. 특히 초산과 프로피온산은 반추위 총 휘발성지방산 생성량과 건물 소화율간의 유의적인 정적 상관성이 관찰되었다. 반추위 내에서 생성되는 휘발성지방산의 조성과 각 개별적인 지방산들간의 상호관계는 반추위 미생물들이 가지고 있는 기질 분해효소의 활성, 기질의 조성 및 형태 그리고 휘발성지방산의 흡수율과 관계가 있으며, 이러한 요인들은 상관성에 대한 변수로 작용할 수 있다(Bannink 등, 2006). 즉, 각 휘발성지방산들간의 상호관계의 예측 및 반추위 기능적 의미부여에는 매우 다양한 요인들이 다각적으로 고려되어야 한다고 볼 수 있다. 따라서 본 연구의 단편적인 결과를 통하여 휘발성지방산들간의 관계에 대한 단정적 결론을 얻기는 힘들 것이다. 다시 TMR의 유기산 조성과 반추위 휘발성지방산들간의 상관성 결과로 돌아가면, 유의적인 관계는 TMR의 뷰틸산에서 관찰되었다. 본 연구 결과에서 반추위 초산과 프로피온산 생성량은 총 휘발성지방산 및 건물 소화율과 유의적인 정적 관계를 가지고 있었다. 그리고 TMR 유기산들 중 뷰틸산은 반추위 초산 및 프로피온산과 부적 관계를 가지고 있다. 따라서 TMR 내 뷰틸산의 증가는 반추위 총 휘발성지방산 생성량을 감소시키고, 또한 건물 소화율을 저하시키는 인자로 해석될 수 있다.

본 연구는 TMR의 발효를 위한 우수한 스타터 균주 혹은 균주 조합을 도출하기 위한 목적으로 수행되었다. 젖산균 균주 및 균주들의 조합으로 서로 다른 발효 조건들을 설정하였고, 각 실험별로 TMR내 다양한 유기산 조성들이 관찰되었다. 그리고 이에 따른 반추위 휘발성지방산 생성량과 건물 소화율도 다양하게 나타났다. 발효된 TMR의 유기산 조성과 반추위 발효 특성간의 상관성에 기초하여, TMR의 뷰틸산 생성량을 감소시키는 것이 반추위 발효 특성에 보다 바람직하다는 결론을 얻을 수 있었다. 결론적으로 본 연구에서 사용된 균주 *L. paracasei*와 *L. plantarum*의 적용이 가장 우수한 조합으로 나타났다.

References

1. AOAC. 1995. Official methods of analysis. Association of Official Analytical Chemists, Washington DC.
2. Bannink, A., J. Kogut, J. Dijkstra, J. France, E. Kebreab, A. M. Van Vuuren, and S. Tamminga. 2006. Estimation of the stoichiometry of volatile fatty acid production in the rumen of lactating cows. *J. Theor. Biol.* 238(1): 36-51.
3. Cho, S.-B., S.-M. Lee, and E.-J. Kim. 2012. Effect of Different Forages on Growth Performance, Meat Production and Meat Quality of Hanwoo Steers: Meta-analysis. *J. Kor. Grassl. Forage Sci.* 32(2): 175-184.
4. Cho, S., J. S. Kang, K. J. Cho, K. H. Lee, C. H. Kwon, J. Song, K. Lee, S. Y. Kim, and E. J. Kim. 2014. Effect of homofermentative and heterofermentative lactic acid bacteria on the quality and aerobic stability of silage: Meta-analysis. *J. Kor. Grassl. Forage Sci.* 34(4): 247-253.
5. Dijkstra, J., T. M. Forbes, and J. France. 2005. Quantitative aspects of ruminant digestion and metabolism. Second edition. CABI Publishing, Cambridge, MA 02139. pp. 159-160.
6. Lee, A. L., S.-J. Shin, J. Yang, S. Cho, and N.-J. Choi. 2016. Effect of Lactic acid bacteria and Enzyme Supplementation on Fermentative Patterns of Ensiling Silages, Their *In vitro* Ruminal Fermentation, and Digestibility. *J. Kor. Grassl. Forage Sci.* 36(1): 7-14.
7. Lee, S. J., N. H. Shin, J. H. Hyun, T. W. Kang, J. J. An, H. S. Jung, Y. H. Moon, and S. S. Lee. 2009. Effects of supplementation of symbiotic co-cultures manufactured with anaerobic microbes on *in vitro* fermentation characteristics and *in situ* degradability of fermented TMR. *J. Life Sci.* 19(11): 1538-1546.
8. Liu, Q., X. Li, S. T. Desta, J. Zhang, and T. Shao. 2016. Effects of *Lactobacillus plantarum* and fibrolytic enzyme on the fermentation quality and *in vitro* digestibility of total mixed rations silage including rape straw. *J. Integrative Agric.* 15(9): 2087-2096.
9. McDougall, E. 1948. Studies on ruminant saliva. 1. The composition and output of sheep's saliva. *Biochem. J.* 43:99-109.
10. Morvay, Y., A. Bannink, J. France, E. Kebreab, and J. Dijkstra. 2011. Evaluation of models to predict the stoichiometry of volatile fatty acid profiles in rumen fluid of lactating Holstein cows. *J. Dairy Sci.* 94(6): 3063-3080.
11. Reynal, S. M. and G. A. Broderick. 2005. Effect of dietary level of rumen-degraded protein on production and nitrogen metabolism in lactating dairy cow. *J. Dairy Sci.* 88: 4045-4046.
12. Seymour, W. M., D. R. Campbell, and Z. B. Johnson. 2005. Relationships between rumen

- volatile fatty acid concentrations and milk production in dairy cows: a literature study. *Anim. Feed Sci. Tech.* 119(1-2): 155-169.
13. Team, R. D. C. 2010. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing. Retrived from <http://www.R-project.org>, Vienna, Austria.
 14. Van Soest, P. V., J. Robertson, and B. Lewis. 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysacchrides in relation to animal nutrition. *J. Dairy Sci.* 74: 3583-3597.