

최 종  
연구보고서

한우 산육성 증진을 위한 단백질과  
전분질사료의 이용성 조절기술 개발

Technology development of manipulating  
protein and starchy feed for improving meat  
production in Hanwoo

주관연구기관  
축산연구소

농림부

# 제 출 문

농림부 장관 귀하

본 보고서를 “한우 산육성 증진을 위한 단백질과 전분질사료의 이용성 조절기술 개발” 과제의 최종보고서로 제출합니다.

2006 년 7 월 14 일

주관연구기관명 : 축산연구소  
총괄연구책임자 : 오 영 균  
세부연구책임자 : 김 경 훈  
연 구 원 : 강 수 원  
연 구 원 : 김 정 훈  
연 구 원 : 김 도 형  
세부연구책임자 : 오 영 균  
연 구 원 : 최 창 원  
연 구 원 : 남 인 식  
연 구 원 : 이 선 업  
연 구 원 : 이 승 철  
협동연구기관명 : 충북대학교  
협동연구책임자 : 송 만 강  
연 구 원 : 김 광 립  
연 구 원 : 임 근 우  
연 구 원 : 최 성 호  
연 구 원 : 최 퇴 광

# 요 약 문

## I. 제 목

한우 산육성 증진을 위한 단백질과 전분질사료의 이용성 조절기술 개발

## II. 연구개발의 목적 및 필요성

한우 고급육 생산을 위한 에너지사료의 급여량 증가로 사료 내 전분량이 더욱 증가하고 있다. 섭취 사료 내 전분은 반추위에서 amylolytic bacteria에 의해 1차적으로 분해되기 때문에, 반추위에서의 전분 이용성 높이기 위한 가공방법 등에 대한 많은 결과들(Qrskov 등, 1969; McAllister 등, 1993; Philippeau 등, 1999; Joy 등, 1997; Cooper 등, 2002)이 보고되었다. 그러나 반추위에서 미분해 되어 소장으로 유입되는 전분량은 최저 18%, 최고 42%에 이르며(Owens 등, 1986), 이들이 소장에서 분해되는 정도도 17~96%의 큰 차이가 있다(Streeter 등, 1991; Zinn, 1991).

반추가축이 섭취한 에너지는 반추위에서 이용되기 보다는 소장 흡수에 의한 에너지 이용이 더 효율적이다(Black, 1971; Waldo, 1973; Qrskov, 1986). Owens 등(1986)은 전체 사료 중 곡류의 비율 및 전분의 소화 부위에 대한 자료들을 분석하여 반추위에서 분해된 전분의 에너지 이용효율은 소장에서 분해된 전분의 에너지 이용효율의 약 70%라고 하였고, 이러한 연구결과를 기초로 하여 소장으로 유입된 전분의 분해와 흡수율 증진을 위한 연구가 수행되었다. 현재까지 반추가축에서 소장으로 유입된 전분의 분해율 증가를 보고한 논문은 많지 않다. Taniguchi 등(1993, 1995)은 소장 내 단백질 공급이 면양의 소장 내 전분 분해율을 향상시켰고, 거세우의 glucose 순 흡수량이 증가하였다고 보고하여, 소장 내 가용 단백질의 증가가 췌장의 효소 분비와 소장 내 전분 분해율을 높일 수 있다는 가설을 뒷받침하였다. 그 후 소장으로 유입되는 반추위 미분해 단백질에 의해 췌장의  $\alpha$ -amylase 분비가 촉진되며, 그 결과 소장에서의 전분 이용성이 증진된다는 연구가 계속 보고되었다(Wang과 Taniguchi, 1998; Richards 등, 2002; 2003).

이상의 연구결과를 종합하면, 한우 비육에서도 에너지원인 전분의 소장 내 이용성을 향상시키기 위해서는 반추위내 단백질 사료의 분해율이 함께 고려되어야 함을 시사하고 있다. 즉, 반추위에서 단백질 이용성은 반추위내 탄수화물의 발효패턴에 의해 영향을 받고, 그 결과 소장으로 유입되는 peptide나 amino acid의 양이 결정되어, 이들이 소장 내 전분 이용성에 영향을 미칠 것이다. 따라서 반추위에서의 단백질 분해와 소장으로 유입되는 단백질의 profile에 대한 연구와 단백질을 포함한 소장내 전

분 분해율에 미치는 요인들에 대한 해석을 통해 소장내 전분 이용성을 증진시키는 기술 개발을 목적으로 본 연구를 수행하였다.

### Ⅲ. 연구개발 내용 및 범위

본 연구는 한우가 섭취한 전분의 소장 내 이용성이 소장내로 유입되는 단백질의 특성 차이와 깊은 관련이 있다는 외국의 일부 연구 결과들에 대한 확인 실험과 함께, 그 기전 해석 그리고 단백질 이외의 요인들을 구명함으로써 한우의 산육성 증진을 위한 전분 이용성 향상 기술을 개발하고자 다음과 같은 연구 내용과 범위에서 실험을 수행하였다.

#### 1. 본 과제 수행을 위해 국내 처음으로 적용된 실험 기법

○ 연구의 수행을 위해 반추위와 소장에 캐놀라를 동시에 장착하는 외과 시술을 국내에서 처음으로 실시하였고, 1차년도에 12두, 2차년도 말에 12두, 총 24두를 수술하여 본 연구에 이용하였다.

○ 2세부과제의 단백질 이용성 향상 연구를 위해서 3위에서 시료를 채취할 뿐 아니라 시료를 주입할 수 있는 특수 device를 국내 최초로 개발 적용함으로써 반추위를 떠나서 3위로 들어온 소화액 시료를 얻을 수 있었고, 반추위 발효가 완료된 시료를 평가함으로써 반추위내 단백질 분해양상을 보다 정확히 해석할 수 있는 길을 열었다.

#### 2. 본 연구 수행을 위한 분석법의 재확립

○ 소화관 내용물 및 분 시료의 Cr 분석법(1세부과제)

- 세부과제와 협동과제의 소화관내 전분 이용성 연구는 Cr<sub>2</sub>O<sub>3</sub>를 marker로 이용하여 영양소의 장관별 소실율을 조사하였고, 2년차 3년차에서도 같은 방법이 적용될 계획이었다.
- 그러나 예비실험에서 십이지장 내용물 및 분 중 Cr 분석 농도가 급여 사료중 농도 보다 낮게 분석되는 문제점이 도출되었고, Cr 분석법에 대한 재검토가 없이는 추후 계획된 모든 In vivo 대사실험 수행의 의미가 없게 되기 때문에,
- 1년차 1세부과제에서는 Cr 분석법을 재확립하는 연구를 수행하고, 분석법을 재확립함에 따라, 기 수행된 연구자료는 물론 2, 3년차 연구도 동일 방법으로 수행할 수 있었다.

- 소화관 내용물 및 분 시료의 전분 분석법(협동과제)
  - 본 실험에서는 사료 전분 분석에서 가장 많이 사용되는 glucoamylase 가수분해 방법을 사용하고자 하였으나, 아직 장관 벽을 통해 흡수되지 않았거나, 미생물균총에 의해 사용되지 않은 전분 분해물이 함유되어 있을 장관 소화물과분의 전분 분석에는 적합하지 않을 수 있다고 판단.
  - 따라서 식물조직중의 전분을 분석하는 방법으로 80% ethanol로 식물체에 존재하는 유리당을 용해 제거한 후에 전분을 분석하는 방법인 perchloric acid 추출법을 비교 분석하였다.

### 3. 단백질 이용성 평가 연구

- 사료의 단백질 평가방법 재확립
  - 반추동물에 있어 사료의 단백질 평가는 반추위내 소화율과 하부장기의 소화율을 측정하기 위하여 나일론백과 모바일백 시험을 통해 이루어졌으나, 이러한 시험방법은 반추위와 십이지장에 캐놀라가 장착된 소가 필요하고, 시험수행에 시간이 많이 소요되며, 비용이 많이 소요되는 어려움이 있어왔다.
  - 따라서 본 연구에서는 이러한 in situ 방법을 비교적 간단한 in vitro 방법인 CNCPS 단백질 평가 시험을 수행하여 대체하려는 시도를 하였다.
- 제3위액 채취 및 단백질 profile 비교
  - 지금까지 소장으로 유입되는 단백질 분해물의 profile 및 함량은 반추위액을 분석하여 판단하였으나, 반추위는 지속적인 분해와 합성이 진행되는 곳이기 때문에 이 방법에 대한 정확성에 의문이 제기 되어왔다.
  - 본 연구에서 이용된 제3위액 채취 장치를 국내에서 최초로 이용하여 한우의 단백질 대사, 특히 반추위 발효가 완료되어 반추위를 떠나 3위로 들어오는 단백질의 profile과 양을 정확히 측정하고자 하였다.

### 4. 소장내 전분 분해율 향상 연구

- 단백질 및 탄수화물의 제4위 infusion이 소장내 전분 분해율에 미치는 효과
  - Casein, glucose, starch를 제4위로 infusion하여 소장내 전분 분해율 향상에 미치는 효과를 비교하였고, casein이 효과가 있다는 결과를 얻었다(협동과제).
  - 따라서 raw casein과 효소 가수분해 casein을 제4위로 infusion하여 단백질 profile 차이가 소장내 전분 분해 미치는 효과를 비교하였고, raw casein의 효과를 증명하였다(1세부과제).
  - Raw casein의 제4위 infusion 양의 차이가 소장내 전분 분해에 미치는 효과를

비교하였다(1세부과제)

- 사료가공 방법이 소장내 전분 분해율에 미치는 효과(협동과제)
  - 제1세부과제에서는 4위로 infusion된 casein이 소장내 전분 분해율을 향상시킨다는 결과를 얻었다. 따라서 급여사료에서 유래된 소장내 UDP 공급이 소장내 전분 분해율 향상에도 효과가 있는지 알아보기 위해 열처리 대두박 급여효과 시험을 수행하였다.
  - 또한 비육후기에는 전분 공급량은 증가하지만 단백질요구량은 낮다. 따라서 대두피나 소맥피와 같은 가공부산물로도 단백질 사료를 대체할 수 있기 때문에 대두피 또는 소맥피 급여가 소장내 전분 분해율에 미치는 효과를 조사하기 위한 실험을 수행하였다.
- 전분 사료와 단백질 사료의 조합이 소장내 전분 분해율에 미치는 효과
  - 반추위 내에서의 에너지 및 단백질의 분해속도가 각기 다른 사료의 조합이 소장내 전분 분해율에 미치는 효과를 조사하였다(1세부과제)

## 5. 사양실험

- 1세부과제:
  - 대사시험을 통해 얻어진 반추위 내에서의 에너지 및 단백질의 분해속도 동기화와 소장내 전분 분해율과의 관계를 확인하기 위해 2처리 7반복의 사양실험을 calan gate를 이용하여 개체별 사료급여 관리를 하면서 수행하였다.
- 협동과제:
  - 대사시험을 통해 얻어진 대두피와 소맥피의 급여효과를 확인하기 위해 2처리 8반복의 사양실험을 calan gate를 이용하여 개체별 사료급여 관리를 하면서 수행하였다.

## IV. 연구개발 결과 및 활용에 대한 건의

### 1. 한우에 있어서 소장내 전분 소화율 향상을 위한 단백질 급여기술개발 (1세부과제)

#### 가. Cr 분석법 재검토 및 개량방법 개발

십이지장 내용물을 기존 분석법과 개량방법으로 비교한 결과, 기본 분석법은

급여사료 중 Cr 농도 보다도 적게 검출되는 문제점이 있었다. 그러나 개량법에 의하면 총 16개 시료 중 3개 시료를 제외하면 모든 시료가 섭취사료의 ppm 보다 높게 분석되었다. 분을 기존 분석법과 개량방법으로 비교한 결과에서도 기존 분석법은 섭취사료는 물론 십이지장 내용물 시료의 Cr 농도보다도 낮게 검출되었다. 따라서 기존의 분석법과 달리, 십이지장 내용물이나 분 시료 중 Cr 분석을 위해서는  $K_3PO_4$ 를 첨가량을 다르게 해야 할 필요성이 제기되었고, 이에 대한 보다 표준화된 방법이 차후 제시되어야 한다고 판단된다.

#### 나. Casein의 종류에 따른 하부소화기관 내 전분 분해 효과

반추위와 십이지장 케놀라가 장착된 한우 거세우( $378.3 \pm 27.7\text{kg}$ )를 이용하여 3x3 Latin square design 방법으로 제 4위에 서로 다른 단백질 profile의 주입이 소화관내 전분 소실에 미치는 영향을 조사하였다. 처리구로는 옥수수전분 1,000g/d당 0(대조구), 141.5g/d (미가공 casein: RC) 및 150g/d (효소로 가수분해한 casein: EHC)를 사용하였다. RC구는 100% protein nitrogen으로 구성하였고, EHC구는 3:7 구성 비율의 amino acid nitrogen 과 peptide nitrogen으로 구성하였다. 모든 공시축은 기초사료로 옥수수를 기초로 한 농후사료와 혼합목건초를 일일 2회 급여하였다(체중의 1.8%급여). 장내 casein 주입은 유기물과 조단백질 소실율에 있어서 어떠한 영향을 주지 못하였다. 그러나 RC처리구는 다른 처리구와 비교하였을 때 소장과 대장 및 전 소화관내의 전분 소실율은 증가하는 경향을 나타내었다( $p = 0.11, 0.08$ ). 이는 제 4위내 RC 주입은 EHC 주입과 비교하여 장내 전 단백질 이동이나 전분 소실율이 증가하는 것 때문인 것으로 사료된다.

#### 다. Casein의 주입량에 따른 하부소화기관내 전분 분해 효과

반추위와 십이지장 케놀라가 장착된 한우 거세우( $471.8 \pm 29.8\text{kg}$ )를 이용하여 4x4 Latin square design 방법으로 제 4위에 수준별 단백질 주입이 소화관내 전분 소실에 미치는 영향을 조사하였다. 처리구로는 옥수수전분 1,000g/d당 0(대조구), 75, 150, 그리고 225g/d를 사용하였다. 모든 공시축은 기초사료로 옥수수를 기초로 한 농후사료와 혼합목건초를 일일 2회 급여하였다(체중의 1.8%급여). Casein 주입으로 인한 십이지장에서의 조단백질 flow는 선형적으로 증가하는 경향으로 보여주었다( $p = 0.02$ ). Casein 주입으로 인한 장내 조 단백질 소실율 및 양은 유의적으로 증가하는 것으로 보여 주었다( $p < 0.01, p < 0.05$ ). Casein 주입으로 인한 총 장관 내 조 단백질 소실율 및 양은 증가하는 경향을 나타내었다( $p < 0.01$ ).

#### 라. 반추위내 분해속도가 다른 단백질 및 전분질 사료의 조합이 소장내 전분 분해율에 미치는 효과

반추위와 십이지장 케놀라가 장착된 한우 거세우(274.8±4.6kg)를 이용하여 4x4 Latin square design 방법으로 반추위내 다양한 단계의 에너지의 조합과 질소의 방출이 소화관내 전분 소실에 관한 연구를 진행하였다. 시험에 사용된 사료는 ground corn과 soybean meal(CS), ground corn과 corn gluten meal(CC), ground barley와 soybean meal(BS) 그리고 ground barley와 corn gluten meal(BC)을 기초로 한 농후 사료로 구성되었다. CC는 천천히 발효과정을 거쳐야 하며, BS는 빠른 발효과정을 거친다. 모든 공시축은 3.4kg의 농후사료와 1.6kg의 볏짚(사료기준)을 일일 2회 정량 급여하였다. 높은 UDP 함량과 단백질 함량이 높은 corn gluten meal의 공급으로 인하여 십이지장으로의 단백질 flow는 CS나 BS처리구(696g/d)보다 CC나 BC처리구(평균 1010g/d)에서 유의적으로 높았다. 그러나 장내 전분 소실율은 사료단백질 공급이나 UDP 수준에 따라 영향을 미치지 않는다고 나타났다. 이러한 장내 전분소실율은 반추위내의 단백질조합이나 전분분해정도에 따라 유의적인 영향을 미치는 것으로 밝혀졌다.

#### 마. 반추위 발효동기화 속도에 따른 소장내 전분 소화율 변화

반추위와 십이지장 케놀라가 장착된 한우 거세우 4두(274.8±41.2kg)를 이용하여 반추위 분해가 빠른 보리와 대두박구, 분해가 느린 옥수수과 옥글루텐구 2처리구로 대사시험을 수행하였다.

반추위 발효성상에서 pH는 처리구간 차이를 보이지 않았으나 암모니아 농도는 대두박을 급여한 구에서 사료 급여후 8시간까지 유의적으로 높게 나타났다. 가축 체내 소화기관별 영양소 소화율에 있어 전 소화기관의 단백질과 전분 소화율이 보리와 대두박을 급여한 구에서 높은 경향을 보였다(P<0.1)

#### 바. 반추위 발효동기화 속도차이가 육성기 사료섭취량과 증체에 미치는 영향 육성기 사양시험

본 시험은 앞 시험에서와 같이 반추위 분해가 빠른 보리와 대두박구, 분해가 느린 옥수수과 옥글루텐구 2처리구로 나누어 거세한우 수송아지 14두(260.0±40kg)를 이용하여 사양시험을 3개월간 수행하여 사료섭취량과 증체율을 측정하였다.

옥수수 급여구에 비하여 보리급여구가 수치적으로 건물섭취량이 높게 나타났고 일당증체량은 낮게 측정되어, kg 증체당 건물섭취량이 옥수수-옥글루텐 급여구 즉, 빠른 반추위 발효동기화구에서 유리하게 나타났다.

## 2. 한우 반추위 및 소장내 단백질 이용성 향상 기술개발(2세부과제)

### 가. CNCPS와 나일론백, 모바일백 방법을 통한 N의 비교평가

국내 배합사료 공장에서 사용하고 있는 대표적인 단백질 사료 13종(대두박, 채종박, 옥글루텐박, 옥배아박, 면실박, 대두피, 소맥피, 단백피, 루핀, 해바라기씨박, 팜박, 야자박, 호마박)을 이용하여 반추위 및 하부장기에서의 건물 및 단백질의 분해율을 nylon bag과 mobile bag 방법을 이용하여 측정하였다. 또한 Licitra 등(1996)의 방법에 의해 NPN, 수용성 질소 단백질(buffer-soluble nitrogen), NDIN과 ADIN을 구하여 각 사료원료의 nitrogen fraction을 in vitro 방법인 CNCPS 방법에 의해 구하였다.

In situ 방법에 의하여 구한 RDP, UDP, UDIN과 in vitro 방법인 CNCPS에 의해 구한 각 N fraction을 비교하여 단백질 사료가치 평가의 in vitro 대체를 검토하였다.

RDP와 CNCPS의 nitrogen fraction의 비교에서는 A+B1 fraction이  $[Y = 0.66X - 12.87]$ 의 관계식으로 P value가 0.02로 유의수준을 갖지만 A+B1+B2 fraction과는 상관관계가 존재하지 않았다. RUP와 CNCPS의 nitrogen fraction의 비교에서는 B1+B2+B3 혹은 B2+B3 fraction 모두 상관관계가 존재하지 않는 것으로 나타났다. 한편 UDIN과 CNCPS의 C nitrogen fraction간에 상관관계가 존재하지 않는 것으로 나타났다.

### 나. 반추위내 soluble N 분해패턴 측정 시험

반추위 케놀라가 장착된 거세한우 5두를 이용하여 반추위액의 soluble non-ammonia nitrogen(SNAN)에 단백질의 수준과 분해율이 미치는 영향을 연구하였다. 처리구는 단백질 함량이 8%인 대조구와 단백질원으로 옥글루텐과 대두박, 단백질 수준을 12, 16%로 나누어 총 5개 처리구로 하여 5×5 Latin square design으로 수행하였다.

반추위 발효성상에 있어서 일일 평균 pH와 휘발성지방산 함량은 처리구간 차이를 보이지 않았으나 암모니아 농도는 단백질 함량이 높고 반추위 분해율이 높을수록 증가하였다. 반추위내 SNAN fraction에 있어서 펩타이드 함량이 가장 높게 나타났으며, 아미노산, 펩타이드 및 수용성 단백질함량 공히 옥수수글루텐에 비하여 반추위 분해율이 높은 대두박에서 높게 나타났다. 한편 혈중 단백질 대사물질농도는 BUN이 단백질함량과 반추위분해율에 비례하여 유의적인 증가를 나타냈으나 알부민, 총단백질과 크레아티닌 함량은 처리구간에 차이를 보이지 않았다. 반추위미생물단백질 합성량도 단백질함량과 반추위 분해율에 비례하여 증가하였으나, 체내 nitrogen balance에 있어서는 처리구간 유의적인 차이를 보이지 않았다.

#### 다. 반추위액과 제 3위액의 soluble N fraction (soluble protein, peptide bound AA, free AA) 분해패턴 측정 및 비교분석

반추위와 소장에 캐놀라가 장착된 거세한우 4두를 이용하여 반추위액과 3위액의 SNAN의 농도, 반추위발효 및 혈액성상에 단백질 수준과 반추위내 소화율이 미치는 영향을 연구하였다. 단백질 수준은 12, 16%로 하였으며 반추위 분해율을 달리하기 위하여 옥글루텐과 대두박을 이용하여 처리구를 정하였다.

3위액의 SNAN이 반추위액보다 유의적으로 높았으며( $P<0.05$ ), 반추위액과 3위액 공히 펩타이드를 제외한 SNAN 농도가 조단백질 함량이 높은 구에서 증가하였다( $P<0.05$ ). 펩타이드 농도에 있어서는 대두박 급여구가 옥글루텐에 비하여 증가하였다( $P<0.01$ ). 반추위 발효에서 암모니아의 농도는 저단백 옥글루텐구, 고단백 옥글루텐구, 저단백 대두박구와 고단백 대두박구에서 각각 40.5, 74.8, 103.4 and 127.0mg L<sup>-1</sup>로서 단백질수준과 분해율이 높을수록 높은 수치를 나타냈다. 혈중 단백질대사물질의 농도는 BUN만 단백질 수준과 비례하여 증가하였으나 다른 성분에는 차이를 보이지 않았다.

#### 라. Peptide와 AA의 조성비가 다른 casein의 소장내 이용을 측정 시험

반추위 cannula와 십이지장 cannula가 동시에 장착된 13개월령 한우 거세우 (평균체중 : 378.3±27.7kg) 3두를 공시하여 1) 대조구(기초사료6kg/일 + 옥수수전분 1kg/일); 2) RC구(기초사료 6kg/일 + 옥수수전분 1kg/일 + raw casein 141.51g/일); 3) EHC구(기초사료 6kg/일에 옥수수전분 1kg/일 + enzyme hydrolysed casein 150g/일)로 총 3시험구로 설계하였으며, 옥수수전분과 casein은 물 7L에 혼합하여, 수용액 상태로 만들어 23시간 동안 교반하면서 제 4위 주입도관을 통해 주입(약 290g/h)하였으며, 사료 급여 직전에 주입을 시작하였다.

하부소화관 내 CP 소실량과 소실율에서는 casein 주입구가 대조구에 비해 수치상으로는 증가하였지만, 처리 간에 유의적인 차이는 없었으며, 전 소화관 내 소실량과 소실율에서도 처리 간에 차이는 없었다. 질소 섭취량과 분뇨내 질소함량을 이용해 구한 질소 축적율에서 질소 섭취량은 4위 주입한 casein의 양에 따라 유의적인 차이가 났으나 분뇨내 질소 배출 및 질소 축적율에서는 처리구간 차이가 없었다.

#### 마. 반추위내 단백질 분해패턴 및 미생물 단백질 합성량 측정 시험

공시축은 3두의 반추위 및 십이지장 캐놀라가 동시 장착된 거세한우 3두를 이용하여 단백질 급원을 포함시키지 않은 대조구 사료와 반추위 분해율이 높은 소맥피 첨가구 및 반추위 분해율이 낮은 대두피 첨가구의 3개 처리구를 3×3 Latin square design으로 설계하여 수행하였다.

반추위 발효성상에서 암모니아 농도는 분해율이 빠른 소맥피에서 유의적으

로 높게 나타났으나( $P < 0.01$ ), pH와 휘발성지방산함량은 처리구간 유의적 차이를 보이지 않았다. 혈중 단백질대사물질에 있어서도 소맥피 급여구에서 BUN 농도가 높게 나타났으나 다른 대사물질에 있어서는 차이를 보이지 않았다. 앞의 시험에서와 같이 반추위액과 3위로 주입되는 시료의 SNAN 비교 시 펩타이드 함량이 공히 가장 높았으며, 3위로 주입되는 총 SNAN 함량에 있어서 소맥피 급여구가 대두피에 비하여 유의적으로 높게 나타났다( $P < 0.05$ ). 체내 단백질 이용성에 있어서는 반추위미생물단백질 합성량이 분해율이 빠른 소맥피구에서 높게 나타났으나( $P < 0.05$ ), 체내 nitrogen balance에 있어서는 처리구간에 차이를 보이지 않았다. 소화기관별 영양소(유기물, 단백질, 전분) 소실율에 있어서도 처리구간 차이를 보이지 않았다.

### 3. 한우 반추위 및 소장내 전분 이용성 증진을 위한 가공처리의 효과 (협동과제)

#### 가. 사료 전분의 분석방법 비교검토

전분질 사료의 전분함량을 perchloric acid 추출법(Method 1)과 효소분해법(Method 2)으로 비교한 결과, oat 시료를 제외한 모든 시료에서 perchloric acid 추출법이 효소분해법보다 높았으나, 십이지장 내용물에서 보여주는 차이보다는 작았다. 십이지장 내용물을 perchloric acid 추출법과 효소분해법으로 비교한 결과는, 전분질 곡류사료의 분석과 다르게, 효소분해법에 의한 전분 분석법이 모두 높은 함량을 보였고, 그 차이는 시료에 따라 약 4배나 높게 평가되었다. 분 중 전분 분석을 perchloric acid 추출법과 효소분해법으로 비교한 결과에 의하면 십이지장 내용물 분석 결과에서와 같이 효소분석법이 모든 시료에서 높은 전분함량을 보였고, 그 차이는 더 커서 약 14배나 높게 평가된 시료도 있었다.

본 실험을 종합하면, 전분분석법은 전분만을 함유한 시료의 분석에서는 적합하지만, 십이지장 내용물과 같은 시료를 분석하는 데는 적합하지 않다는 결론을 얻었다. 현재까지 대가축의 소화관 내용물에 대한 전분 분석 결과를 보여주는 국내 연구 논문은 찾아볼 수 없다. 따라서 본 연구와 같이 소화관 내용물의 전분 이용성과 관련한 연구가 수행되는 경우, 전분 분석법은 실험 결과에 아주 많은 영향을 미칠 수 있기 때문에, 전분 분석법에 대해 유의해야 할 것으로 판단된다.

#### 나. 전분질 사료의 in vitro 분해율

사료급여 1시간 전과 사료급여 후 2시간 경과 후에 채취한 반추위액을 이용한 in vitro 발효실험 결과, 옥수수 가공처리(미가공, flake, expanded)간 그리고 전분질 사료(옥수수, 귀리, 소맥, 보리)간 pH 변화는 특징적인 차이가 없었다. 사료급여 1시간 전과 급여 2시간 후에 채취한 반추위액을 이용한 in vitro 가스발생량에서도 옥

수수 가공처리간의 특징적인 차이가 없었다. 그러나 사료급여 1시간전과 급여 2시간 후에 채취한 반추위액을 이용한 in vitro 가스발생량에서는 전분질 사료간의 차이가 있었다. 귀리의 발효속도가 가장 빨랐고, 그 다음이 보리, 그리고 옥수수과 밀의 순이었다

#### 다. 소장내 주입물질이 혈중 glucose 및 insulin 농도에 미치는 영향

본 시험은 평균체중이 559(SE,  $\pm 41.9$ )kg의 반추위 케놀라가 장착된 홀스타인 착유우 4두를 4 $\times$ 4 Latin square design 방법을 이용하여 대사 cage 내에서 진행되었다. 처리구는 기초사료 구(Control), 기초사료 + 제4위 infusion(sodium caseinate 270g)구, 기초사료 + 제4위 infusion(glucose 300g)구, 기초사료 + 제4위 infusion(starch 243g)구로 하였고, 각 period 구성은 14일로 하였다. 사료섭취량 및 반추위 발효성상에서는 처리간 차이가 없었다. 그러나 혈액 중의 insulin과 glucose 농도에서는 casein 주입구가 다른 처리구 보다 상대적으로 높은 농도를 보였다. 본 연구결과에서 소장내 전분 분해율을 조사하지는 못하였으나, 제1세부과제의 연구 3과 4의 가설과 실험을 뒷받침해 주는 결과로 생각된다.

#### 라. 열처리 대두박의 단백질 이용성 및 소장내 전분 이용성에 미치는 효과

사료급여 직전과 사료급여 후 1시간까지의 반추위 pH는 처리간의 차이가 없었으나, 3시간 후에는 열처리대두박 급여구가 조금 높았고, 그 후에는 다시 차이가 없었다. 암모니아태 질소의 농도는 사료급여 직전과 급여 1시간 후에는 차이가 없었지만, 3시간 후와 5시간 후에는 미처리 대두박 급여구가 약 2배( $P < 0.05$ ) 높았다. 총 VFA 농도는 미처리 대두박구가 사료급여 후 3시간째에 가장 높았고, 열처리 대두박구와 비교하여 유의적( $P < 0.05$ )인 차이를 보였다. 시간별 총 VFA 농도의 평균에서도 미처리 대두박구는 74mM, 열처리대두박구는 68mM로 차이가 있었다. 그러나 총 VFA에 대한 각 VFA의 구성 비율은 사료 급여 후 3시간째의 valeric acid에서 처리간 유의적인 차이( $P < 0.05$ )가 있었을 뿐, 다른 VFA는 처리간 차이가 없었다.

미처리 대두박과 열처리 대두박 급여구의 각 소화관 별 OM 소실량 및 OM 소실을 그리고 각 소화관 별 CP 소실량 및 CP 소실율의 차이가 없었다. 소장으로 유입되는 전분량과 유입된 전분의 소장 소실율은 미처리 대두박 급여구가 조금 높았으나 유의성은 없었다. 그러나 전체 소화관에서의 전분 소실량은 미처리 대두박 급여구가 열처리 대두박 급여구보다 7% 높았고( $P < 0.05$ ), 소실율은 3% 높았다( $P < 0.05$ ). 제1 세부과제의 2개 실험에서는 4위로 주입되는 casein이 소장 내 전분 소화율을 증진시킨다는 결과를 얻었으나, 급여사료에 의해 소장으로 공급되는 단백질의 증가, 즉 사료내 UDP 함량의 증가가 소장 내 전분 소화율 증가에 미치는 효과는 1세부과제의 콘글루텐밀을 급여한 실험과 본 실험에서는 나타나지 않았다.

#### 마. 대두피와 소맥피 급여가 소장내 전분 이용성에 미치는 효과

분쇄옥수수를 급여하면서 대두피를 급여한 구(T1)의 반추위 pH는 분쇄옥수수와 소맥피를 급여한 시험구(T2)와 옥수수 후레이크와 소맥피를 급여한 구(T3) 보다 높았다. 특히 사료급여 후 3, 5시간에서의 반추위 pH는 유의성 있는 차이를 보였다. 그러나 반추위 암모니아태 질소의 농도에서는 처리 간 차이가 없었다. VFA 농도변화에서는 T3구의 propionic acid는 높은 농도를 유지하였고, 사료급여 후 1시간 후의 농도에서는 처리간 유의성( $P<0.05$ )이 있었다. 특히 acetic acid 농도는 모든 조사시간에서 T3구가 유의성 있게( $P<0.05$ ) 높았다.

십이지장 CP는 T1, T2구 보다 T3구가 높은 경향( $P=0.1$ )이 있었고, 하부소화관에서의 CP 소실율과 소실량에서도 T3구는 T1구 보다 높은 경향을 보였다. 총 소화관에서의 CP 소실량과 소실율은 T3구가 T1구보다 유의성( $P<0.05$ ) 있게 높았다. 십이지장 유입 전분량과 소장에서의 소실량은 처리구간에 차이가 없었으나, 소장에서의 소실율은 T2, T3구가 T1구보다 유의성( $P<0.01$ )있게 높았다.

제4위로 casein을 주입하는 제1세부과제의 연구 3과 4에서는 소장으로 유입되는 단백질량이 증가하면 소장내 전분 소화율이 증가한다고 하였으나 제1세부과제 연구 5와 제3세부과제 연구 3에서는 섭취사료로 공급되는 단백질이 소장내 전분소화율 향상에 효과가 없었기 때문에 본 실험은 섭취사료의 CP 수준, 그리고 UDP와 RDP비율을 같게 함으로서 대두피와 소맥피의 효과를 보고자 하였으나, T2구와 T3구의 조단백질 섭취량이 T1구보다 조금 높았다. 그러나 반추위 암모니아 농도는 처리간 차이가 없었기 때문에 단백질의 효과는 없었다고 판단되고, 따라서 대두피 보다 소맥피를 급여하는 것이 그리고 분쇄옥수수보다는 후레이크 옥수수를 급여하는 것이 소장내 전분 소화율을 높이는 효과가 있었다.

#### 바. 비육후기 사양시험

24개월령 한우 비거세우 16두(평균체중  $463\pm 51\text{kg}$ )를 이용하여 소맥피 급여구(T1)와 대두피 급여구(T2)의 2개 처리구를 두어 3개월간 사양시험을 수행하였다.

사료섭취량은 대두피 급여구에서 유의적으로 높게 나타났으며, 증체량도 대두피 급여구에서 수치적으로 높게 나타났다. 반면에 조단백질과 전분의 체내 소화율은 소맥피 급여구에서 유의적으로 높게 나타났다( $P<0.05$ ).

## SUMMARY

### **1. Development of feeding techniques of protein to improve starch utilization in small intestine of Hanwoo**

#### **1) Development and examination of method for Cr analysis**

We have compared the concentration of duodenal Cr by two different methods (currently used method and newly improved method). When Cr analysed by currently used method, the concentration of Cr was lower than the method developed newly improved one. Hence, currently used method may be needed to supplement different levels of  $K_3PO_4$  for analysing duodenal sample and this newly improved method might be presented in the standard method for Cr analysis.

#### **2) Effect of casein profiles infused into abomasum on starch disappearance in gastrointestinal tracts of Hanwoo steers**

Hanwoo steers ( $378.3 \pm 27.7$ kg) with ruminal and duodenal cannulas were used in 3×3 Latin square design trial to examine the effect of different protein profiles infused into abomasum on starch disappearance in gastrointestinal tracts. Treatments were 0 (Control), 141.5 (raw casein; RC), or 150g/d (enzyme hydrolysed casein: EHC) of casein along with 1,000g/d of cornstarch. The RC was composed of 100% protein nitrogen and EHC was composed of amino acid nitrogen and peptide nitrogen with proportion of 3:7. All animals were fed corn-based concentrates and mixed grass hay and fed 2 times per day (1.8% of weight). Casein infusion did not affect the quantity and percentage of organic matter and CP disappearances from intestine. However, The percentages of starch disappeared in the intestine and total tract for RC treatment tended to increase ( $p = 0.11, 0.08$ ) compared to other treatments. This suggests that abomasal RC infusion may be of greater increase in intestinal true protein flow and starch disappearance than for EHC.

### **3) Effect of casein amounts infused into abomasum on starch disappearance in the gastrointestinal of Hanwoo steers**

Hanwoo steers (471.8±29.8kg) with ruminal and duodenal cannulas were used in 4×4 Latin square design trial to examine the effect of protein levels infused into abomasums on starch disappearance in gastrointestinal tracts. Treatments were 0, 75, 150, or 225g/d of casein along with 1,000g/d of cornstarch. All animals were fed corn-based concentrates and mixed grass hay and fed 2 times per day(fed 1.8% of BW). CP flow at the duodenum tended to increase linearly ( $p = 0.02$ ) with increased casein infusion. The quantity and percentage (percent duodenal flow) of CP disappearance in the intestine showed significant increases ( $p < 0.01$ ,  $p < 0.05$ ) with increasing casein infusion. Only the quantity and percentage of total tract starch disappearance in the current study tended to increase ( $p < 0.1$ ) with abomasal casein infusion.

### **4) Effects of various degrees of synchrony of energy and nitrogen release in the rumen on starch disappearance in the gastrointestinal of Hanwoo steers**

Hanwoo steers (274.8±4.6kg) with ruminal and duodenal cannulae were used in a 4×4 Latin square design trial to examine the effect of various degrees of synchrony of energy and nitrogen release in the rumen on starch disappearance in gastrointestinal tracts. Dietary treatments consisted of concentrate that were based on ground corn with soybean meal (CS), ground corn with corn gluten meal (CC), ground barley with soybean meal (BS) and ground barley with corn gluten meal (BC). CC should be a synchrony of slow fermentation and BS is fermented in fast synchrony. All animals were fed concentrates 3.4 kg and rice straw 1.6kg as fed basis, 2 times daily in an equal amount. The higher content of protein supply by corn gluten meal with high UDP content resulted in significant ( $p = 0.0001$ ) higher protein flow to the duodenum for CC and BC (averaged 1010g/d) than for CS and BS (696g/d). However, there were no effects of dietary protein supply with different UDP content on starch disappearances in intestine. Rather protein effect, we found that there was significant ( $p < 0.05$ ) effect of synchronizing protein and starch degradation in the rumen on starch disappearance percentage in the intestine.

**5) Effect of rate of synchrony of energy and nitrogen release in the rumen on starch disappearance in gastrointestinal tracts Hanwoo steers**

Four Hanwoo steers (274.8±41.2kg) with ruminal and duodenal cannulae were used in a duplicate 2×2 Latin square design trial to investigate the effect of rate of synchrony of energy and nitrogen release in the rumen on starch disappearance in gastrointestinal tracts. Dietary treatments consisted of concentrates that were based on ground barley with soybean meal (BS), both fast in synchrony, and ground corn with corn gluten meal (CC), both slow in synchrony.

No difference in ruminal pH between treatments was observed but ruminal ammonia concentration was significantly higher for BS until 8h post-feeding. The disappearance rates of protein and starch in the total tract for BS tended to be higher (P<0.1) than CC.

**6) Effect of rate of synchrony of energy and nitrogen release in the rumen on feed intake and gain of growing Hanwoo steers**

Fourteen growing Hanwoo steers (260.0±40.0kg) were used in a 3-month-feeding trial to investigate the effect of rate of synchrony of energy and nitrogen release in the rumen on feed intake and gain. Dietary treatments consisted of concentrates that were based on ground barley with soybean meal (BS), both fast in synchrony, and ground corn with corn gluten meal (CC), both slow in synchrony.

Dry matter intake was numerically higher for BS than CC but average daily gain was lower. Thus, Dry matter intake per kg of gain was lower for CC, slow in synchrony than BS.

**2. Technique development for improving protein utilization in the rumen and small intestine of Hanwoo**

**1) Estimation and comparison of nitrogen reactions in the rumen using CNCPS, nylon bag and mobile bag methods**

The thirteen types of domestic protein feeds (soybean meal, rapeseed

meal, corn gluten meal, corn germ meal, cotton seed meal, soybean hull, wheat bran, corn gluten feed, lupin, sunflower seed meal, palm oil meal, coconut meal, sesame oil meal) were used to estimate and compare the nitrogen fraction of each feed source using CNCPS, nylon bag and mobile bag methods. The nitrogen fraction of each feed source was calculated to NPN, soluble nitrogen, protein(buffer-soluble nitrogen) NDIN and ADIN using the method of Licitra et al (1996).

Each nitrogen fraction from RDP, UDP, UDIN and CNCPS was compared and examined the alternativivity of in vitro experiment for the estimation of protein feeds.

In comparison of nitrogen fraction of RDP and CNCPS, P value of A+B1 fraction ( $Y=0.66X-12.87$ ) was significant ( $P<0.02$ ) but not participating of A+B1+B2 fraction. In comparison of nitrogen fraction of RUP and CNCPS, B1+B2+B3 or B2+B3 fraction did not have any participation. On the other hand, C nitrogen fraction of UDIN and CNCPS have no participation.

## **2) Estimation of soluble N digesting pattern in the rumen**

Five ruminally cannulaes Hanwoo steers were used to investigate effects of level and degradability of protein on concentrations of soluble non-ammonia nitrogen (SNAN) in the rumen. Treatments in a 5×5 Latin square design consisted of a basal diet containing 8% CP and two protein feeds (corn gluten meal; CGM or soybean meal; SBM) with two levels (12 or 16%) of CP. Average daily pH and VFA were not significant but ammonia concentration was higher when cow fed high protein and digestibility was higher in the rumen. In nitrogen fraction in the rumen, peptide concentration was higher and amino acid, peptide and soluble protein concentrations of soybean meal was higher compared with corn-gluten meal. In plasma metabolites concentrations in blood, BUN, albumin were not significant among treatments. Amount of rumen microbial protein synthesis increased compare to protein content or rumen digestibility, but nitrogen balance did not show any significant among treatments.

## **3) Comparison and measurement of the digestible pattern of soluble N fraction (soluble protein, peptide bound AA, free AA) from the rumen and omasum**

Four ruminal and duodenal cannulaes Hanwoo steers were used to

determine the effects of protein level and degradability on concentrations of soluble non-ammonia nitrogen (SNAN) in ruminal (RD), omasal digesta (OD), rumen fermentation and blood metabolites. Diets were consisted of two protein feeds (corn gluten meal or soybean meal) with two CP levels (12 or 16%). Mean SNAN concentrations in OD were significantly higher ( $P<0.05$ ) than those in RD. Concentrations of each SNAN fraction in RD ( $P<0.01$ ) and OD ( $P<0.05$ ) for high CP diets were higher than those for low CP diets, except for peptide. SBM-supplemented diets increased peptide concentration in RD ( $P<0.01$ ) and OD ( $P<0.05$ ). High level and degradability of CP increased ( $P<0.001$ ) mean concentrations of total SNAN in RD and OD. Mean ruminal ammonia concentrations were 40.5, 74.8, 103.4 and 127.0 mg l<sup>-1</sup> for low CGM, high CGM, low SBM and high SBM, respectively, with significances ( $P<0.01$  for CP level and  $P<0.001$  for CP degradability). In plasma metabolites concentrations in blood, High CP level increased ( $P<0.001$ ) BUN concentrations but CP degradability did not significant.

#### **4) Estimation of the utilization rate of different ratio of peptide and AA of casein in intestine**

Three Hanwoo steers (378.3±27.7kg, 13months) with ruminal and duodenal cannulas were used in this study. Experimental diets were consisted of Control (6kg basal diet/d + 1kg corn starch/d) RC treatment (6kg basal diet/d + 1kg corn starch/d + 141.51g raw casein/d) and EHC treatment (6kg basal diet/d + 1kg corn starch/d + 150g enzyme hydrolysed casein/d). Corn starch and casein were mixed with 7L water and infused(290g/h) into abomasum just before feeding. The quantity and percentage of CP, in the low part digestive track, increased RC treatment without significance when compared with control. The quantity and percentage of CP in total digestive track did not affect among treatments. The rate of nitrogen accumulations from amount of nitrogen intake and nitrogen contents in urine and feces was significantly different according to the amount of casein infusion into abomasum, but excretion of nitrogen level by urine and feces was not significant.

#### **5) Study of protein degradable pattern and the measurement of the rate of microbial protein synthesis in the rumen**

Three Hanwoo steers with ruminal and duodenal cannulas were used in

3×3 Latin square design. Experimental diets consisted of Control (excluded protein source), wheat hull treatment (high degradability) and soy bean hull treatment (low degradability).

Ammonia concentration was higher for wheat hull treatment ( $P<0.01$ ), but pH and VFA did not affected among treatments. Cow fed wheat hull showed higher BUN concentration without any significant of plasma metabolites concentrations in blood compare to other treatments. When compared SNAN of experimental feeds in ruminal and abomasal digesta, wheat hull treatment was significantly higher than thus of soy bean hull treatment or control ( $P<0.05$ ). Protein utilization was higher for wheat hull treatment than other treatments ( $P<0.05$ ). Nitrogen balance or degradability of nutrients (organic matter, protein and starch) did not affect among treatments.

### **3. Effect of processing to improve starch utilization in the rumen and abomasum of Hanwoo steers**

#### **1) Investigation and comparison of analytical methods for starch in feeds**

We have compared the starch contents in starch substance feeds by using perchloric acid extraction method and enzyme-hydrolysis method. Perchloric acid extraction method was higher for all feed samples expect for oat sample, but the rate was lower when the samples compared with duodenal samples. duodenal samples were analysed, using perchloric acid extraction method and enzyme-hydrolysis method to compare the quantity of starch. The results indicated that enzyme-hydrolysis method was four times higher when compared with perchloric acid extraction method.

No paper has been reported about the result of starch analysis with a sample collected from digestive tracks in large animals. According to our results, starch analysis, to measure the quantity, using two different methods (perchloric acid extraction method and enzyme-hydrolysis method) might have different results. Therefore, we suggest that the use of right method depending on which sample you analysis.

#### **2) In vitro degradability of starch substance feeds**

Rumen fermented samples were collected at 1h before feeding and 2h after feeding and compared as follow; There were no changes on rumen pH

among the treatment processed corns (row, flake, expanded) and the starch substance feeds (corn, oats, wheat, barely). Also There were no differences on in vitro gas production by the corn treatments supplementation. However, It was little affected on in vitro gas production among starch substance feeds. The order of fast fermentation was observed for oats, and for corn, wheat.

### **3) Effects of intra-intestinal infusion on glucose and insulin concentrations in blood of Friesian lactating cows**

Friesian lactating cows ( $559 \pm 41.9$ kg) with ruminal cannulae were used in a 4×4 Latin square design. The cows were housed in individual stalls. The four treatments were basal diet alone (Control) and the basal diet + intra-abomasal infusion (sodium caseinate 270g), the basal diet + intra-abomasal infusion (Glucose 300g) the basal diet + intra-abomasal infusion (starch 243g) and four experimental period each of 14 days. No differences have observed on feed intake and rumen fermentation parameters among the treatments. However, insulin and glucose concentrations in blood were higher in the sodium caseinate treatment then thus of the glucose or starch treatments. Current result did not observe the percentage of starch disappearance, however it may support the hypothesis and results from our studies (experiments) in 1-3 and 1-4.

### **4) Effects of heat treated soybean meal on protein utilization and starch utilization in intestine**

No pH was changed in the rumen when compared cows fed between just before and after 1h feeding and increased pH for heat treated soy bean meal treatment until 3h. Ammonia-N concentration was not changed by 1h after feeding, however it was twice higher for low soy bean meal treatment by 3h and 5h after feeding. Total VFA concentration was higher for low soy bean meal treatment (74mM) than heat treated soy bean meal treatment (68mM). Also, there were no difference between treatments on each VFA ratio from total VFA except valeric acid ( $P < 0.05$ ) after 3h feeding.

The treatments did not affect the quantity and percentage of OM disappearance and CP disappearance in each digestive track. Amount of starch flow into intestine and the percentage of starch disappearance was little higher for low soy bean meal treatment without significant. But the quantity and percentage of starch disappearance in total digestive track was 7% and 3%

higher ( $P < 0.05$ ) for low soy bean meal treatment than thus of heat treated soy been meal. We have resulted that intra-abomasum infusion of casein increases the percentage of starch digestibility in intestine. However, effect of increasing UDP content in dietary feed on enhancing the percentage of starch digestibility in intestine was not showed by the corn gluten feeding study (1-4) and current study.

#### **5) Effect of wheat bran and soybean hull feeding on starch utilization in intestine**

The ruminal pH observed significant lower for ground corn with soybean hull diet (T1) than ground corn with wheat bran (T2) and flaked corn with wheat bran (T3) diet for during 3 to 5h post feeding. But, ruminal  $\text{NH}_3\text{-N}$  concentration in among treatments differences were not significant. In variation of VFA concentration, Propionic acid of T3 kept high concentration, concentration following 1h post feeding shown significant ( $< .05$ ). Expressly, an overall acetic acid concentration higher ( $< .05$ ) T3 than T1 and T2.

The duodenum content CP tended lower T1, T2 than T3, percent of and amount disappearance of CP in hind gut in among treatments appeared tendency higher T3 than T1. The percent of and amount disappearance of CP in total tract higher ( $< .01$ ) T3 than T1. Amount of starch flow to the duodenum and disappearance in small intestine were not differ, but percent disappearance in small intestine shown ( $< .01$ ) higher T2 and T3 than T1.

The study of 1-3, 1-4 in infusion of casein to abomasum increased percent of starch disappearance in small intestine which was increased by amount of CP flow to the small intestine , however, the study 1-5, 3-3 was not influence elevation of percent of starch disappearance in small intestine by supply CP to feed intake. Therefore, this experiment was to determine the effect of soybean hull and wheat bran CP level of intake feed and looking at the effect by adjusting UDP and RDP ratio, T2 and T3 were little higher on CP intake than T1, but we have estimated that no protein affect, among treatments, due to no differences on ammonia-N concentrations. Therefore, feeding wheat hull, instead of barley hull and feeding flaked corn than ground corn are more effective on the percentage of starch digestibility in intestine

**6) Effect of wheat bran and soybean hull on feed intake, growth and nutrients digestibility in fattening period of Hanwoo bulls**

Sixteen 24-month-old Hanwoo bulls (463±51kg) were used in a 3-month-feeding trial to investigate effect of feeding wheat bran and soybean hull on feed intake, gain and disappearance of protein and starch in gastrointestinal tracts. Dietary treatments consisted of concentrates that were based on ground corn with wheat bran (T1) and soybean hull (T2).

Dry matter intake was significantly higher for T2 than T1 and average daily gain was also numerically higher for T2. However, The disappearance rates of protein and starch in the total tract were significantly higher ( $P<0.05$ ) for T1 than T2.

# 목 차

제 1 장	연구개발과제의 개요 .....	24
1.	연구개발의 목적, 필요성 .....	24
2.	연구개발의 범위 .....	25
제 2 장	국내외 기술개발 현황 .....	28
1.	전분의 분해와 에너지 이용효율 .....	28
2.	소장 내 전분 소화율 향상 연구 .....	29
제 3 장	연구개발 수행 내용 및 결과 .....	33
제 1 절.	한우에 있어서 소장 내 전분 소화율 향상을 위한 단백질 급여 기술 개발(축산연구소) .....	33
1.	연구제목 : Cr 분석법 재검토 및 개량방법 개발 .....	33
2.	연구제목 : Casein의 종류에 따른 하부소화관 내 전분 분해 효과 .....	36
3.	연구제목 : Casein의 주입량에 따른 하부소화관 내 전분 분해 효과 .....	48
4.	연구제목 : 반추위내 분해속도가 다른 단백질 및 전분질 사료의 조합이 소장 내 전분 분해율에 미치는 효과 .....	55
5.	연구제목 : 반추위 분해 동기화 속도가 소장내 전분 분해율에 미치는 효과 .....	63
6.	연구제목 : 육성기 사양시험 .....	67
제 2 절.	한우 반추위 및 소장 내 단백질 이용성 향상 기술 개발 (제2세부과제: 축산연구소) .....	68
1.	In situ nylon bag 기법에 의한 원료사료의 반추위내 영양소 분해율 측정 .....	68
2.	Mobile nylon bag 기법에 의한 원료사료의 반추위 및 하부 장기 내 영양소 분해율 측정 .....	74
3.	CNCPS 기법에 의한 원료사료의 nitrogen fractionation .....	79
4.	CNCPS와 나일론 백, 모바일 백 방법을 통한 N의 비교평가 .....	81
5.	반추위내 soluble N 분해패턴 측정 시험 .....	82
6.	반추위액과 제 3위액의 soluble N fraction (soluble protein, peptide bound AA, free AA) 분해패턴 측정 및 비교분석 .....	98
7.	Peptide와 AA의 조성비가 다른 casein의 소장 내 이용율 측정 시험 .....	108
8.	반추위내 단백질 분해패턴 및 미생물 단백질 합성량 측정 시험 .....	113

제 3 절. 한우 반추위 및 소장 내 전분 이용성 증진을 위한 가공	
처리의 효과(협동과제; 충북대학교) .....	124
1. 연구제목 : 사료 전분의 분석방법 비교검토 .....	124
2. 연구제목 : 전분질 사료의 in vitro 분해율 .....	130
3. 연구제목 : 소장 내 주입물질이 혈중 glucose 및 insulin 농도에 미치는 영향 .....	136
4. 연구제목 : 열처리 대두박의 단백 이용성 및 소장 내 전분 이용성에 미치는 효과 .....	141
5. 연구제목 : 대두피와 소맥피 급여가 소장 내 전분 이용성에 미치는 효과 .....	148
6. 연구제목 : 비육후기 사양시험 .....	154
제 4 절. 결과 종합 .....	157
1. 십이지장 내용물과 분 중의 전분 및 Cr 분석방법 .....	157
2. 소장 내 전분 분해율 향상에 미치는 단백질 공급효과 .....	158
3. 소장 내 전분 분해율 향상에 영향을 줄 수 있는 사료급여 전략 .....	158
4. 사양 실험 .....	159
제 4 장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도 .....	160
1. 연구개발 목표 및 연구개발 내용과 달성도 .....	160
2. 관련분야의 기술발전예의 기여도 .....	162
제 5 장 연구개발결과의 활용계획 .....	164
제 6 장 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보 .....	165
제 7 장 참고문헌 .....	166

# 제 1 장 연구개발과제의 개요

## 1. 연구개발의 목적, 필요성

한우 고급육 생산을 위한 에너지사료 급여량 증가로 사료 내 전분량이 더욱 증가하고 있다. 섭취 사료 내 전분은 반추위에서 amylolytic bacteria에 의해 1차적으로 분해되기 때문에, 반추위에서의 전분 이용성 높이기 위한 가공방법 등에 대한 많은 결과들(Qrskov 등, 1969; McAllister 등, 1993; Philippeau 등, 1999; Joy 등, 1997; Cooper 등, 2002)이 보고되었다. 그러나 반추위에서 미분해 되어 소장으로 유입되는 전분량은 최저 18%, 최고 42%에 이르며(Owens 등, 1986), 이들이 소장에서 분해되는 정도도 17~96%의 큰 차이가 있다(Streeter 등, 1991; Zinn, 1991).

반추가축이 섭취한 에너지는 반추위에서 이용되기 보다는 소장 흡수에 의한 에너지 이용이 더 효율적이다(Black, 1971; Waldo, 1973; Qrskov, 1986). Owens 등(1986)은 전체 사료 중 곡류의 비율 및 전분의 소화 부위에 대한 자료들을 분석하여 반추위에서 분해된 전분의 에너지 이용효율은 소장에서 분해된 전분의 에너지 이용효율의 약 70%라고 하였고, 이러한 연구결과를 기초로 하여 소장으로 유입된 전분의 분해와 흡수율 증진을 위한 연구가 수행되었다. 현재까지 반추가축에서 소장으로 유입된 전분의 분해율 증가를 보고한 논문은 많지 않다. Taniguchi 등(1993, 1995)은 소장 내 단백질 공급이 면양의 소장 내 전분 분해율을 향상시켰고, 거세우의 glucose 순 흡수량이 증가하였다고 보고하여, 소장 내 가용 단백질의 증가가 췌장의 호소 분비와 소장 내 전분 분해율을 높일 수 있다는 가설을 뒷받침하였다. 그 후 소장으로 유입되는 반추위 미분해 단백질에 의해 췌장의  $\alpha$ -amylase 분비가 촉진되며, 그 결과 소장에서의 전분 이용성이 증진된다는 연구가 계속 보고되었다(Wang과 Taniguchi, 1998; Richards 등, 2002; 2003).

이상의 연구결과를 종합하면, 한우 비육에서도 에너지원인 전분의 소장 내 이용성을 향상시키기 위해서는 반추위내 단백질 사료의 분해율이 함께 고려되어야 함을 시사하고 있다. 즉, 반추위에서 단백질 이용성은 반추위내 탄수화물의 발효패턴에 의해 영향을 받고, 그 결과 소장으로 유입되는 peptide나 amino acid의 양이 결정되어, 이들이 소장 내 전분 이용성에 영향을 미칠 것이다. 따라서 반추위에서의 단백질 분해와 소장으로 유입되는 단백질의 profile에 대한 연구와 단백질을 포함한 소장내 전분 분해율에 미치는 요인들에 대한 해석을 통해 소장내 전분 이용성을 증진시키는 기술 개발을 목적으로 본 연구를 수행하였다.

## 2. 연구개발의 범위

본 연구는 한우가 섭취한 전분의 소장 내 이용성도 소장내로 유입되는 단백질의 특성 차이와 깊은 관련이 있다는 외국의 일부 연구 결과들에 대한 확인 실험과 함께, 그 기전 해석 그리고 단백질 이외의 요인들을 구명함으로써 한우의 산육성 증진을 위한 전분 이용성 향상 기술을 개발하고자 다음과 같은 연구 내용과 범위에서 실험을 수행하였다.

본 연구의 수행을 위해 반추위와 소장에 케놀라를 동시에 장착하는 외과 기술을 국내에서 처음으로 실시하였고, 1차년도에 12두, 2차년도 말에 12두, 총 24두를 수술하여 본 실험에 이용하였다.

또한 2세부과제의 단백질 이용성 향상 연구를 위해서는 3위액 시료를 채취할 수 있는 특수 device를 국내 최초로 개발 적용함으로써 반추위를 떠나서 3위로 들어온 소화액 시료를 얻을 수 있었고, 반추위 발효가 완료된 시료를 평가함으로써 반추위 내 단백질 분해양상을 보다 정확히 해석할 수 있는 길을 열었다.

	제 1세부과제	제 2세부과제	협동과제
	한우에 있어서 소장내 전분 소화율 향상을 위한 단백질 급여기술개발	한우 반추위 및 소장내 단백질 이용성 향상 기술개발	한우 반추위 및 소장내 전분 이용성 증진을 위한 가공처리의 효과
	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ Cr 분석법에 재 확립               <ul style="list-style-type: none"> <li>- 기존 분석법 재검토</li> <li>- 문제점 도출</li> <li>- 새로운 분석법의 적용</li> <li>- 새로운 분석법의 확립</li> </ul> </li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 단백질 이용성 측정방법 비교평가               <ul style="list-style-type: none"> <li>- CNCPS 방법</li> <li>- 나이론백·모바일백 시험</li> </ul> </li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 전분질 사료의 in vitro 분해율 비교               <ul style="list-style-type: none"> <li>- 전분질 사료 6점</li> <li>- 가스발생량</li> <li>- pH 변화</li> <li>- Kd</li> </ul> </li> </ul>
1 년 차	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 소장으로 주입되는 casein 형태에 따른 소장내 전분 소화율 변화 (3×3 Latin square design)               <ul style="list-style-type: none"> <li>- 대조구</li> <li>- raw Casein,</li> <li>- Enzyme hydrolysate Casein</li> </ul> </li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 반추위내 단백질 분해 패턴 구명시험               <ul style="list-style-type: none"> <li>- 제 3위액 채취장치 제작 검증</li> <li>- PAA, AA 분석방법 확립</li> </ul> </li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 전분 분석법의 비교               <ul style="list-style-type: none"> <li>- 공시료:                   <ul style="list-style-type: none"> <li>· 전분질 사료</li> <li>· 십이지장 내용물</li> <li>· 분</li> </ul> </li> </ul> </li> </ul>

※ 1세부과제와 협동과제의 소화관내 전분 이용성 연구는 Cr<sub>2</sub>O<sub>3</sub>를 marker로 이용하여 영양소의 장관별 소실율을 조사하였고, 2년차 3년차에서도 같은 방법이 적용될 계획이었다.

- 그러나 1년차 실험이 끝난 후, 십이지장 내용물 및 분 중 Cr 분석 농도가 급여 사료중 농도 보다 낮게 분석됨으로서 결과의 해석이 불가능하게 되었고, Cr 분석법에 대한 재검토가 없이는 추후 계획된 모든 in vivo 대사실험 수행의 의미가 없게 되기 때문에,
- 2년차 1세부과제에서는 Cr 분석법을 재확립하는 연구를 수행하고, 분석법을 재확립함에 따라, 기 수행된 연구자료는 물론 2, 3년차 연구도 동일 방법으로 수행할 수 있었다.

2 년 차	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 소장으로 주입되는 casein의 양에 따른 소장내 전분 소화율 변화 (4×4 Latin square design)               <ul style="list-style-type: none"> <li>- 0 g/d</li> <li>- 75 g/d</li> <li>- 150 g/d</li> <li>- 225 g/d</li> </ul> </li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 단백질 이용성 측정방법 확립               <ul style="list-style-type: none"> <li>- CNCPS 방법</li> <li>- 나이론백·모바일백 시험</li> <li>- 반추위액과 3위액의 질소원 분석 (PAA, AA, NH<sub>3</sub>N)</li> </ul> </li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>○소장을 주입물질이 혈중 glucose 및 insulin 농도에 미치는 영향 (4×4 Latin square design)               <ul style="list-style-type: none"> <li>- 대조구</li> <li>- casein</li> <li>- glucose</li> <li>- starch</li> </ul> </li> </ul>
	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 반추위 분해속도가 다른 전분질 및 단백질 사료의 조합이 소장내 전분 이용성에 미치는 효과 (4×4 Latin square design)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 반추위미생물단백질 합성 증진을 위한 단백질사료 급여 분해패턴 구명시험</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 열처리 대두박의 단백질 이용성 및 소장내 전분 이용성에 미치는 효과 (Two 2×2 Latin square design)               <ul style="list-style-type: none"> <li>- 미 열처리 대두박</li> <li>- 열처리대두박</li> </ul> </li> </ul>

※ 1 세부과제의 1, 2년차 연구에서 소장으로 직접 infusion 되는 casein의 protein 및 peptide의 양이 증가할수록 그리고 소장내 전분 분해율이 높아진다는 결과를 얻었음

※ 그러나 1세부과제 3년차의 RDP와 UDP 함량이 다른 사료를 직접 급여하는 실험에서는 단백질의 급여효과 보다는 단백질과 탄수화물의 반추위 분해 동기화가 소장내 전분 소화율을 향상시킨다는 결과를 얻게 되어,

- 3년차 실증실험에서는 육성기 한우를 공시하여 단백질과 탄수화물의 반추위 분해 동기화의 속도에 따른 사양시험을 수행하여 반추위 빠른 발효동기화구인 보리급여구가 수치적으로 건물섭취량이 높게 나타났고 일당증체량은 낮게 측정되어, kg 증체당 건물섭취량이 옥수수-옥글루텐 급여구 즉, 느린 반추위 발효동기

화구에서 유리하게 나타났다.

3 년 차	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 반추위 분해 동기화 속도 차이가 소장내 전분 이용성에 미치는 효과               <ul style="list-style-type: none"> <li>- 2처리 3반복</li> </ul> </li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 반추위 미생물단백질 합성 증진을 위한 단백질사료 급여 분해패턴 구명시험               <ul style="list-style-type: none"> <li>- 단백질사료(RDP, UDP원) 급여후 반추위액 및 제 3위액을 채취하여 단백질 분해패턴(PAA, AA, NH<sub>3</sub>-N) 및 미생물단백질 합성량 측정</li> </ul> </li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 곡류 가공 부산물의 단백질 및 단수화물이 소장내 전분 이용성에 미치는 효과               <ul style="list-style-type: none"> <li>(3×3 Latin square design)</li> <li>- 대조구</li> <li>- soybean hull</li> <li>- wheat bran</li> </ul> </li> </ul>
	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 반추위 분해 동기화 속도 차이가 한우 육성우의 증체에 미치는 효과               <ul style="list-style-type: none"> <li>- 2처리 7반복</li> </ul> </li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 반추위내 단백질 분해패턴과 사료의 RDP 및 UDP 급여량의 상관관계 분석               <ul style="list-style-type: none"> <li>- 분석된 사료의 RDP 및 UDP 급여량 data setup</li> <li>- 제 3위 유입 soluble N 함량 data setup</li> </ul> </li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 한우 비육후기               <ul style="list-style-type: none"> <li>- 사료섭취량, 증체량 도체성적</li> </ul> </li> </ul>

※ 협동과제 2년차의 열처리 대두박 급여 실험에서도 1세부과제와 같이 소장내 전분소화율 향상에 미치는 단백질의 급여효과를 입증하지 못하였고, 한우의 비육후기에는 단백질 급여량이 적어지기 때문에 연구의 방향을 에너지 및 단백질 함량이 높은 가공부산물 사료의 급여효과에 맞추어 수행하게 됨

- 가공부산물의 종류가 소장내 전분 분해율에 미치는 효과를 1개의 실험에서 입증하게 됨에 현재 이들 사료의 eNDF 함량 차이에 주목하고, in vivo 대사시험과 한우 비육후기의 실증 시험을 수행한 결과 사료섭취량은 대두피 급여구에서 유의적으로 높게 나타났으며, 증체량도 대두피 급여구에서 수치적으로 높게 나타났다. 반면에 조단백질과 전분의 체내 소화율은 소맥피 급여구에서 유의적으로 높게 나타났다.

## 제 2 장 국내외 기술개발 현황

### 1. 전분의 분해와 에너지 이용효율

소장으로 유입된 전분은 반추위에서 미 분해된 전분이기 때문에 소장 유입 전분량은 일차적으로 반추위 분해율의 영향을 받는다. 따라서 전분 섭취량에 대한 소장 내 전분의 소화율은 반추위 소화율과 부(-)의 관계를 보여주고, 소장 유입량에 대한 소장 내 전분 소화율은 반추위 소화율과 정(+)의 관계에 있다(Theurer 등, 1999). 즉, 소장에서의 전분 소화율은 제한적일 수 있기 때문에 건물 섭취량에 영향을 미치지 않는 범위에서 반추위 전분 소화율을 높이면 전체 소화관 전분 소화율도 높아진다. 이 조건에서 또 다른 이점은 반추위미생물 합성량이 증가한다는 것이다(Firkins 등, 2001). Huntington(1997)은 소장으로 유입되는 전분의 약 45%가 glucose로서 흡수되지 않는 것을 지적하면서 소장으로 유입되는 전분량 증가보다는 반추위에서의 전분분해가 거세우나 유우에게 더 이점이 있다고 하였다.

Fig 1은 섭취한 전분이 반추위에서 분해 흡수되는 과정과 소장에서 소화 흡수되는 과정의 에너지 이용효율을 비교하고 있다(Black, 1971). 유지에너지의 2배인 섭취에너지가 반추위와 소장에서 각각 완전히 소화되었다고 가정하고 예측된 유효 정미에너지는 각각 61%와 81%이었다. 그러나 반추가축의 유지에너지 비용을 감안하면 반추위 에너지 효율이 소장의 에너지 효율의 약 1/3수준으로 낮아진다고 하였다. Harmon과 McLeod(2001)는 Black(1971)의 결과가 과대평가되었음을 지적하면서, 자신들의 연구 결과를 토대로 반추위 분해 전분의 이용효율이 소장의 분해 전분 이용효율의 약 73%라고 하였다.

Owens 등(1986)도 전체 사료 중 곡류의 비율, 전분의 소화부위에 대한 자료를 분석하여 반추위에서 분해된 전분의 에너지 이용효율은 소장에서 소화된 전분의 에너지 이용효율의 약 70% 정도임을 재확인하였다. 전분이 반추위에서 분해되어 생성된 propionic acid는 간에서 glucose로 재합성되며, 반추위 발효와 glucose 합성 과정이 계속 진행될수록 에너지의 손실 또한 계속되기 때문에, 소장에서 glucose의 순 흡수가 반추위 발효에 의한 에너지 이용효율보다 높은 것이다(Black, 1971; Nocek과 Tamminga, 1991). 따라서 건물 섭취량에 영향을 미치지 않는 범위에서 반추위 전분 소화율을 높이고, 미 분해된 전분도 소장에서 소화, 흡수율을 높인다면 생산효율은 극대화 될 것이다.

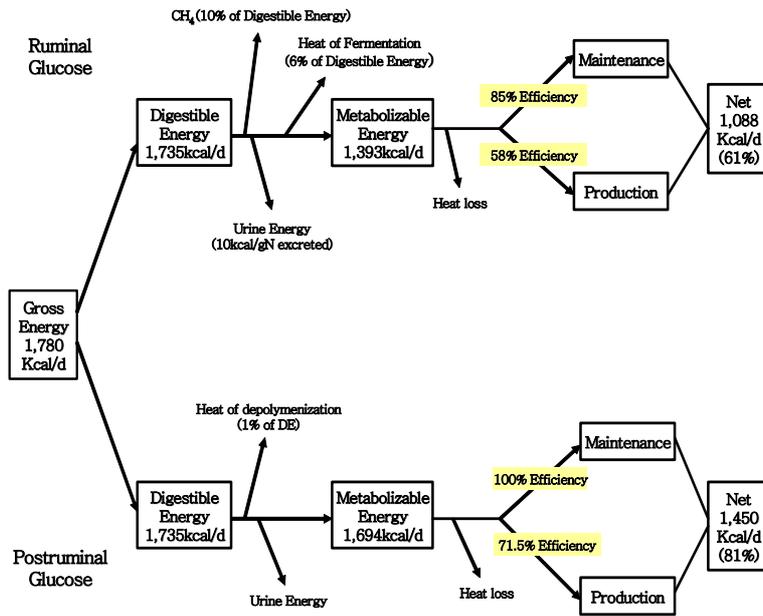


Fig. 1. Energy partitioning as influenced by site of glucose metabolism in ruminants (Black, 1971).

## 2. 소장 내 전분 소화율 향상 연구

### 1) 소장내 탄수화물원 주입

오래전부터 반추가축의 소장 내 전분분해에 영향을 미치는 요인에 관한 시험이 시작되었으며, 주로 반추위나 제 4위로 glucose(Larsen 등, 1956; Huber 등, 1961; Pehrson 등, 1981), maltose(Larsen 등, 1956; Huber 등, 1961), 전분(Larsen 등, 1956; Huber 등, 1961; Little 등, 1968; Mayes와 Qrskov, 1974; Pehrson 등, 1981) 등의 탄수화물원을 주입하는 방법을 시도해 왔으나, 대부분의 연구에서 전분 소화율을 증진시키는 결과를 얻지는 못하였다.

$\alpha$ -Amylase는 소장 내 전분분해에 반응하는 유일한 효소로 분비량이 증가하면 소장 내 전분 이용성 증진에 효과적이지만(Swanson 등, 2002), 실제 탄수화물원을 주입하는 대부분의 시험들에서는 췌장의  $\alpha$ -amylase 분비가 제한되었다. Mayes와 Qrskov(1974)는 제 4위로 옥수수전분 주입시 소장에서 분해되는 전분량이 제한된다

고 하였고, gellatin 처리한 전분을 급여하는 면양에서는  $\alpha$ -amylase 분비는 제한되지 않았지만, 전분분해는 di-, tri-, 그리고 short chain oligosaccharide까지로 제한된다고 하였다. Walker와 Harmon(1995)은 거세우의 반추위로 starch hydrolysate(SH) 주입시 소장으로의 전분 유입량은 증가하였지만,  $\alpha$ -amylase, trypsin, chymotrypsin 분비 및 활력에는 영향을 주지 않기 때문에 전분 분해율은 감소한다고 하였다. 하지만, 반추위와 제 4위로 동시에 SH를 주입할 경우 반추위로 SH만 주입하였을 때보다 췌장액  $\alpha$ -amylase 분비가 증가한다고 하였다. 즉, 반추위 + 제 4위로 SH를 동시 주입한 거세우의 체내로 주입되는 에너지 양이 증가하였으므로 반추위 발효에 의한 에너지 양이 증가하였고, 그로 인한 결과로 소장으로 유입되는 미생물체 단백질 또한 증가하여(Richards 등, 2003), 췌장의  $\alpha$ -amylase 분비에 영향을 준 것이라 하였다.

Kreikemeier 등(1995)은 사료 에너지를 일정하게 유지하였을 때, 고 농후사료를 급여하거나 하부소화관으로 SH 주입 시 췌장의 세포 내용물과  $\alpha$ -amylase 분비가 감소한다고 하였고, Swanson 등(2002)은 제 4위로 glucose와 SH 주입량이 증가하였을 때, 췌장 외분비세포에 있어  $\alpha$ -amylase 농도, 분비율, 그리고 활력이 감소한다고 하였다. 이것은 제 4위로 주입된 glucose로 인해 췌장액 분비량은 증가하지만  $\alpha$ -amylase의 총 분비량에 변화가 없었기 때문에 상대적으로  $\alpha$ -amylase 분비가 감소하는 것이라고 하였으며, Wang과 Taniguchi(1998)는 소장에서 흡수된 glucose로 인해 하부소화관 내 전분 유입량이 증가하여 췌장의  $\alpha$ -amylase 분비가 제한된다고 하였다. Call 등(1975)과 Chittenden 등(1984)도 거세 숫양의 정맥으로 glucose 주입(115g/d, 230g/d)시 췌장의  $\alpha$ -amylase 분비는 감소한다고 하였다. Johnson 등(1986)은 monensin을 급여하는 면양의 십이지장으로 propionate 주입 시 주입 첫날 일시적으로 췌장의  $\alpha$ -amylase 활력이 증가하였을 뿐, 이 후  $\alpha$ -amylase 분비에 아무런 변화가 없다고 하였다. 이들 보고를 종합해보면, 전분 섭취량과 사료 내 전분의 비율에 따라 췌장의  $\alpha$ -amylase 분비에 변화를 줄 수 있으며, 특히 소장으로 공급되는 전분의 증가는 췌장의  $\alpha$ -amylase 분비에 부(-)의 효과를 줄 것으로 생각된다. 따라서 반추위에서 분해되지 않고 소장으로 유입되는 전분은 소장에서 이용성이 제한되어 상당부분 분으로 소실하게 된다(Owens 등, 1986; Kreikemeier 등, 1991; Nocek과 Tamminga, 1991; Huntington, 1997). 반면에, Swanson 등(2004)은 제 4위로 SH 주입시 췌장의  $\alpha$ -amylase 분비가 감소되지 않았는데, 이러한 결과는 이전까지 보고된 거세우 시험에서 나타난 예가 없었으며, 소장으로 유입되는 SH가 췌장에서 어떠한 반응을 유도하여  $\alpha$ -amylase 분비가 증가한 것처럼 보인다고 하였고, Shirazi-Beechey 등(1991)은 하부소화관으로 glucose 주입 시  $\alpha$ -amylase 분비와 glucose transport 활력이 증가하는데, 주입된 glucose와 소장으로 유입된 전분의 가수분해에 의해 생성된 glucose의 특성 차이로 인해 췌장의  $\alpha$ -amylase 분비에 영향을 받았고, glucose의 주입량이 증가할수록 췌장의 내분비물이 제한되어 나타나는

결과라고 하였다. 그러나 현재까지 소장 내 탄수화물원 주입이 췌장의  $\alpha$ -amylase 분비에 미치는 영향에 관한 일련의 대사기전은 명확하게 밝혀진 바가 없다(Swanson 등, 2002).

## 2) 소장내 단백질 주입

탄수화물원보다 사료 단백질이 소장 내 전분 이용성 증진과 관련이 있음을 간접적으로 보여주는 증거는 여러 논문들을 통해 찾아볼 수 있다. 보리와 면실박에 의한 반추위 발효동기화와 보리와 주정박에 의한 비동기화를 비교한 시험(Herrera-Saldana 등, 1990)에서 반추위 전분 소화율은 차이가 없었으나, 면실박이 반추위미생물 합성량 및 하부소화관에서 전분 소화율이 증가한다고 하였다. Christensen 등(1993)은 착유우를 이용한 시험에서 RUP(ruminal undegradable protein) 함량이 높은 사료를 섭취한 착유우는 전분 섭취량, 반추위 전분 소화율, 십이지장 전분 유입량 및 소화율, 전 소화관 소화율에서 RUP 함량이 낮은 사료를 섭취했을 때 보다 유의성 있게 높았다고 보고하였다. Veira 등(1980)은 갓 이유한 송아지에게 고농후사료와 함께 0%에서 15%로 soybean meal의 수준을 달리하여 급여할 경우 전 소화관 내 전분 소실량이 증가한다고 하였다.

현재까지 반추가축의 제 4위로의 단백질 주입 시험을 통해 소장으로 유입되는 전분의 소화율이 증가한다는 결과를 보고한 논문은 많지 않다. Taniguchi 등(1993)은 각각 면양의 제 4위로 casein을 주입하였을 때, 전분만 주입한 처리구에 비해 소장 내 전분 소실율이 55%에서 93%로 증가한다고 하였고, 또한 Taniguchi 등(1995)은 면양의 반추위 또는 제 4위로 casein 200g/d + 옥수수전분 800g/d을 주입하여 정맥 내 영양소 흐름을 측정된 결과, 제 4위로 옥수수전분 주입시 경정맥에서 glucose량이 증가한다고 하였다. 그 후 Richards 등(2002)은 거세우의 제 4위로 옥수수전분 1,050g/d을 주입하였을 때보다는 옥수수전분 1,050g/d + casein 200g/d을 주입하였을 때 소장에서 전분 소실율이 226g/d 정도 더 증가하였고, 단백질 소실율은 227g/d 더 증가한다고 하였다. Richards 등(2003)은 또한 제 4위로 SH + casein 주입시 경정맥에서 나타나는 glucose량이 증가함은 물론 문맥에서 나타나는  $\alpha$ -amino N 역시 증가한다고 보고하면서 이것은 체내로 공급되는 사료 단백질의 증가로 인해 전 소화관 내 전분 소실량이 증가되는 결과라고 하였다 .

하부소화관으로 공급되는 단백질에 의한 소장 내 전분 소화율의 증가가 소장 내 glucose 농도에 어떠한 영향을 미치는지는 확실하게 밝혀져 있지 않다. Guerino 등(1991)은 90% 농후사료를 급여하는 거세우의 제 4위로 150g/d 내지 300g/d의 casein 주입 시, 혈중 glucose 농도는 변하지 않는다고 하였고, Konig 등(1984)은 56% 농후사료를 급여하는 착유우의 제 4위로 casein을 각각 0, 240, 그리고

460g/d씩 주입하였을 때, 처리에 따른 혈중 glucose 농도에 차이가 없다고 하였다. 반면, 약 50% 농후사료를 급여하는 면양(McNeil 등, 1998)이나 젓소(Putnam과 Varga, 1998)의 경우, 사료 단백질이 증가할수록 혈중 glucose 농도가 증가하였다. 또한 Swanson 등(2004)은 제 4위로 casein 주입 시 혈중 insulin 농도가 증가한다고 하였다.

탄수화물원 주입 시험과 마찬가지로 단백질 주입이 췌장의  $\alpha$ -amylase 분비에 미치는 영향에 대해서도 서로 다른 결과들이 보고되고 있다. Kato 등(1986)은 면양의 십이지장으로 대두추출물 주입 시 췌장액과  $\alpha$ -amylase 분비가 증가한다고 하였고, Wang과 Taniguchi(1998)도 소장으로 단백질 주입 시  $\alpha$ -amylase 분비가 증가한다고 하였다. 또한, Richards 등(1998)은 소장으로 옥수수전분 + casein을 주입하였을 때  $\alpha$ -amylase 분비가 증가한다고 하였다. Richards 등(2003)은 거세우의 제 4위 casein 주입 시  $\alpha$ -amylase 농도, 활력, 그리고 분비율이 증가한다고 하였는데, 이는 Swanson 등(2004)의 결과와 유사하였다. 그러나 Wang과 Taniguchi(1998)는 소장으로 옥수수전분 + 단백질 주입 시 대조구에 비해  $\alpha$ -amylase 분비 활력이 감소하지 않는다고 하였고, Richards 등(2003)과 Swanson 등(2002)도 거세우와 면양의 제 4위로 옥수수전분 + casein 주입 시 대조구와 비교하였을 때  $\alpha$ -amylase 분비에 차이가 없다고 하였다. Reynolds와 Heath(1981)는 면양의 하부소화관으로 100, 200ug/min의 peptone(amino acid와 small peptide 함유) 주입 시 췌장액,  $\alpha$ -amylase, trypsin, chymotrypsin 분비 등에 변화가 없다고 하였다.

## 제 3 장 연구개발 수행 내용 및 결과

### 제 1 절. 한우에 있어서 소장내 전분 소화율 향상을 위한 단백질 급여기술 개발(축산연구소)

#### 1. Cr 분석법 재검토 및 개량방법 개발

##### 가. 재료 및 방법

##### 1) 공시 시료

##### 가) 십이지장 내용물

4두의 공시축으로부터 각기 다른 기간에 4회 채취한 십이지장 내용물 시료 16점을 분석법에 따라 분석하였다.

##### 나) 분 내용물

4두의 공시축으로부터 각기 다른 기간에 4회 채취한 분 시료 16점을 분석법에 따라 분석하였다.

##### 2) Cr 분석법

##### 가) Method 1(축산연구소)

1mm 분쇄된 시료 2g을 crucible에 넣고, 크롬산화제인 제 3인산칼륨 용액( $K_3PO_4$ )을 시료에 1ml 첨가하며, 시료와 완전히 혼합하여 회화시킨 다음( $800^{\circ}C$ , 40분), 남은 시료가 담긴 crucible에 증류수를 부어 100ml volumetric flask에 표선까지 채운 다음 24시간 방치하였다. 24시간 후에 시료를 여과하여 ICP로 크롬 농도를 측정하였다.

##### 나) Method 2(개량법)

Method 1과 모든 방법은 동일하지만,  $K_3PO_4$ 를 첨가량을 아래와 같이 달리하면서 결과치를 비교하였다.

##### 나. 결과 및 고찰

십이지장 내용물을 기존 분석법과 개량방법으로 비교한 결과는 Table 1과 같다. 본 시료를 채취한 공시축의 급여사료 중 Cr 농도는 1585ppm이었기 때문에 십이지장 내용물의 건물 중 크롬 농도는, 이론적으로 그 이상의 농도이어야 한다. 본 연구에서

기존 분석법에 의한 십이지장 내용물 시료의 Cr 농도는 모두 섭취사료의 ppm보다 적었다. 그러나 개량법에 의하면 총 16개 시료중 3개 시료를 제외하면 모두 섭취사료의 ppm 보다 높았다.

Table 1. Cr concentration of duodenal digesta analysed by different methods

Sample	Cr concentration(ppm)		Difference (M1-M2)	M2/M1
	Method 1	Method 2		
No. 1	1549.6	1694.5	-144.9	1.1
No. 2	1516.5	1225.4	291.1	0.8
No. 3	1560.0	1801.3	-241.3	1.2
No. 4	1499.4	1600.8	-101.4	1.1
No. 5	652.7	1442.7	-790.0	2.2
No. 6	609.2	1304.5	-695.3	2.1
No. 7	749.2	1881.6	-1132.4	2.5
No. 8	756.5	1730.7	-974.2	2.3
No. 9	1468.7	1978.9	-510.2	1.3
No. 10	1085.6	1406.0	-320.4	1.3
No. 11	1415.3	2028.1	-612.8	1.4
No. 12	1157.0	1650.9	-493.9	1.4
No. 13	1337.5	1849.9	-512.4	1.4
No. 14	1422.8	1925.9	-503.0	1.4
No. 15	1397.3	1664.4	-267.1	1.2
No. 16	1528.0	2024.1	-496.1	1.3

본을 기존 분석법과 개량방법으로 비교한 결과는 Table 2와 같다. 본 시료를 채취한 공시축의 급여사료 중 Cr 농도는 1585ppm이었기 때문에, 본 시료 역시 분 건물 중 크롬 농도는, 이론적으로 그 이상의 ppm이어야 하고, 또한 십이지장 내용물 시료의 Cr 농도보다도 높아야 한다. 그러나 기존 분석법에 의한 본 시료의 Cr 농도는 모두 섭취사료보다도 낮은 것은 물론, 십이지장 내용물 시료보다는 낮게 검출되었다. 따라서 기존의 분석법과 달리, 십이지장 내용물이나 분 시료 중 Cr 분석을 위해서는  $K_3PO_4$ 를 첨가량을 다르게 해야 할 필요성이 제기되었고, 이에 대한 보다 표준화된 방법이 차후 제시되어야 한다고 판단된다.

Table 2. Cr concentration of feces analysed by different methods

Sample	Cr concentration(ppm)		Difference (M1-M2)	M2/M1
	Method 1	Method 2		
No. 1	1146.1	4100.69	-2954.6	3.6
No. 2	1793.0	3872.41	-2079.4	2.2
No. 3	1016.9	3899.57	-2882.6	3.8
No. 4	1426.8	4102.15	-2675.3	2.9
No. 5	461.5	4020.23	-3558.7	8.7
No. 6	659.7	3232.96	-2573.3	4.9
No. 7	741.5	1036.25	-294.8	1.4
No. 8	570.1	3533.04	-2963.0	6.2
No. 9	216.9	3759.67	-3542.7	17.3
No. 10	549.2	4051.24	-3502.1	7.4
No. 11	355.0	4311.33	-3956.3	12.1
No. 12	456.0	3850.25	-3394.2	8.4
No. 13	136.8	4137.06	-4000.3	30.2
No. 14	256.2	3887.43	-3631.3	15.2
No. 15	226.6	4312.34	-4085.7	19.0
No. 16	126.7	3811.18	-3684.5	30.1

## 2. Casein의 종류에 따른 하부소화관 내 전분 분해 효과

시험에서는 ‘반추위에서 미 분해되어 소장으로 유입되는 전분은 단백질의 유입량이 증가할 경우, 하부소화관 내(특히 소장) 분해율이 향상된다는 가설 아래, 반추동물의 체내(반추위와 하부소화관) 분해율이 97% 이상으로 알려져 있는 단백질원인 casein을 이용하여 다음과 같이 두 가지 시험을 하였다. 시험 I에서는 소장으로 공급되는 단백질 형태에 따른 하부소화관 내 전분분해에 미치는 영향을 평가하기 위해서 100% protein N으로 구성된 raw casein과 raw casein을 효소로 가수분해 시켜 amino N : peptide N의 비율이 3 : 7로 구성된 enzyme hydrolysed casein을 제 4위로 주입시켜 하부소화관 내 전분 소실율을 관찰하였고, 이 시험의 결과를 토대로 다음 시험에서 하부소화관 내 전분분해 효과가 우수한 casein을 선정하여, 제 4위로 casein 주입량(0, 75, 150, 225g/d)을 달리하여 주입하였을 때 하부소화관 내 전분 소실율의 변화를 확인하고자 하였다.

### 가. 재료 및 방법

#### 1) 시험동물 및 기초사료

본 시험에서는 13개 월령 한우 거세우(평균체중 :  $378.3 \pm 27.7$ kg) 3두를 공시하였다. 공시축은 반추위 cannula(Bar Diamond, inc.; Komarek, 1981a)와 십이지장 cannula(simple T shaped type; Komarek, 1981a)가 동시에 장착된 것(multi-cannulations; Fig 1)으로 축산연구소 가축보호규정에 준하여 외과시술을 시행하였다.



Figure 1. Both rumen and duodenal cannulated Hanwoo steers.

기초사료는 분쇄 옥수수를 주원료로 하는 배합사료와 축산연구소에서 자체 생산하는 혼합 목건초를 이용하였고(Table 1), 총 급여사료는 6kg(배합사료 2kg + 건초 4kg; 일당 증체량 0.6kg; BW 1.8%)을 일일 2회(08:00, 20:00) 분할 급여하였으며, 특히 건초는 공시축의 일정한 사료섭취량을 유지시키기 위하여 10cm 크기로 절단하여 급여하였다. 또한 물과 미네랄 공급제(축산연구소 자체개발 거세한우 전용 비프블록)는 자유로이 섭취할 수 있도록 하였다. 상·하부소화기관의 내용물 유입량을 알아보기 위한 산화크롬( $Cr_2O_3$ )은 아침·저녁 사료 급여 시 각각 4.7g씩(건물 섭취량 0.25% 수준) 혼합하여 급여하였다. 한편, 기초사료는 단백질 12%(한국 사양표준, 2002)를 기준으로 배합하였다.

## 2) 시험설계

본 시험은 3×3 *Latin square design*으로 하였고, 한 시험기간은 14일로 구성하였다. 14일 중 1일~9일은 주입물질의 전환에 따른 적응기간으로 하였고, 10일~14일은 시료 채취기간으로 하였다. 시료 채취기간 중 10일, 11일은 혈액을, 12일은 반추위액 및 분과 노를, 13일, 14일은 십이지장 액 및 분과 노를 각각 채취하였다.

본 시험의 처리는 다음과 같다. 1) 대조구(기초사료6kg/일 + 옥수수전분 1kg/일); 2) RC구(기초사료 6kg/일 + 옥수수전분 1kg/일 + raw casein 141.51g/일); 3) EHC구(기초사료 6kg/일에 옥수수전분 1kg/일 + enzyme hydrolysed casein 150g/일). 옥수수전분과 casein은 물 7L에 혼합하여, 수용액 상태로 만들어 23시간 동안 교반하면서 제 4위 주입도관(abomasum infusion tubing; Fig 5)을 통해 주입(약 290g/h)하였으며, 사료 급여 직전에 주입을 시작하였다.

한편, 본 시험에서는 100% protein N으로 구성된 raw casein과 효소 가수분해시켜 아미노산 N : peptide N의 비율이 3 : 7인 enzyme hydrolysed casein을 주입물질로 사용하였으며, 이들의 조성과 주입량은 Table 2에서 나타내었다. Raw casein과 enzyme hydrolysed casein의 주입량은 150g/일 으로 결정하였지만, enzyme hydrolysed casein의 경우 산을 중화시키기 위해 NaCl을 사용하였으므로 두 casein의 조건을 동일시하여 계산한 결과를 적용해보면 Table 2와 같이 casein의 주입량이 달라진다.



Figure 2. Abomasum infusion tubing.

Table 1. Ingredients and chemical composition of the basal diet

Item	%, DM basis
Ingredients composition	
Corn	30.5
Soybean hull	6.1
Wheat hull	10.7
Soybean meal	6.1
Calcium phosphate	0.2
Limestone	0.6
Vitamin-mineral mixtures <sup>a</sup>	0.2
Mixed grass	45.6
Total	100
Chemical composition	
DM	90.89
CP	12.14
Starch	16.30
NDF	50.51
ADF	27.28

<sup>a</sup>Vit. A 2,650,000 IU, Vit. D<sub>3</sub> 530,000 IU, Vit. E 1,050 IU, Niacin 10,000 mg, Mn 4,400 mg, Zn 4,400 mg, Fe 13,200 mg, Cu 2,200 mg, I 440 mg, Co 440 mg, B.H.T. 10,000 mg per kg.

Table 2. Composition and amounts of casein infused into the abomasum

Item	Treatments <sup>a</sup>		
	Control	RC	EHC
	----- Compositions, % -----		
Total Nitrogen (TN)	0	13.25	12.5
Amino acid nitrogen (TN basis)			31.2
Peptide nitrogen (TN basis)			68.8
Protein nitrogen (TN basis)		100	
NaCl			0.40
	----- Amounts, g/d -----		
Casein	0	141.51	150
Total Nitrogen		18.75	18.75
Amino acid nitrogen (TN basis)			5.85
Peptide nitrogen (TN basis)			12.90
Protein nitrogen (TN basis)		18.75	
NaCl	6	6	6

<sup>a</sup>RC=raw casein, EHC=enzyme hydrolysed casein.

### 3) 시료의 채취 및 분석항목

#### 가) 기초사료

사료는 각 시험기간 중 2회 500g 정도 채취하였고, 전 시험기간 동안 채취한 시료를 서로 혼합한 후, Wiley mill(Standard Model No3., ARTHUR H.THOMAS Co. PHILADELPHIA. U.S.A.)로 1mm 분쇄하여, 일반성분(AOAC, 1990), 전분, NDF 및 ADF(Mertens, 2002), 그리고 크롬을 분석하였다. 사료 잔량은 매일 측정하였으며, 잔량 시료의 건물 및 영양소 함량을 분석하여 섭취량을 보정하였다.

#### 나) 반추위 내용물

각 시험기간 중 12일째 0730(0), 0900(1), 1100(3), 1300(5), 1500(7), 1700(9)에 총 6회에 걸쳐 300ml 정도씩 채취하였다. 내용물은 채취 즉시 4겹의 거즈로 여과하여 큰 사료입자를 제거한 다음, pH meter(Pinnacle 530 routine, corning)로 pH를 측정하였다. 300ml 중 100ml은 냉장 보관(4°C) 하였고, 나머지는 암모니아 분석에 필요한 전처리를 하여 분석 전까지 냉동 보관(-20°C) 하였다.

#### 다) 십이지장 내용물

각 시험기간 중 13일째 0730(0), 1100(3), 1400(6), 1700(9), 14일째 0730(0), 0930(1.5), 1230(4.5), 1530(7.5), 1830(10.5)에 채취하였다. 내용물은 통풍건조기(70°C,

72시간 이상)에서 건조시킨 다음, disc. mill(BM-D 100, McCoy Corp., serial No. 980812, maximum 1750rpm)을 이용하여 1mm로 분쇄하였다. 분쇄 후, 채취시간 별로 10%씩 혼합(composite)하여, DM, CP, ash, 전분, 그리고 크롬을 분석하였다.

#### 라) 분

분 시료 채취는 두 가지 방법으로 하였다. Time-분은 일정한 시간을 정하여 채취하는 분으로 십이지장 내용물과 동일한 시간에 직장질 법으로 200g 정도씩 채취하였으며, 총분(total collection feces)은 12일, 13일, 14일 3회 채취·혼합하였다. 채취한 모든 분(1kg)은 통풍건조기(70°C, 72시간 이상)에서 건조시켜, 중량을 측정하였다. 건조된 시료는 disc. mill을 이용하여 1mm로 분쇄한 다음, Time-분은 채취시간 별로 10%씩, 총 분은 각 시험기간 별로 혼합하였으며, 모든 시료는 DM, CP, ash, 전분, 그리고 크롬을 분석하였다.

#### 마) 뇨

뇨는 4N 황산 500ml가 들어 있는 용기를 이용하여, 3일간(12일, 13일, 14일) 수거하였으며, N 분석에 이용하였다.

#### 바) 혈액

혈액은 각 시험기간 중 10일, 11일째 16:00에 이틀 동안 공시축의 경정맥을 통하여 채취한 후, sodium heparin(혈액 응고방지제)이 들어있는 2개의 10ml용 vacutainer에 신속히 옮겨 담고, 즉시 원심분리(3,500rpm, 15분)하였다. 원심분리 후 분석용 상층액 1ml을 1.5ml Eppendorf tube에 담고 분석 전까지 냉동 보관하였으며(-20°C), 분석은 혈액가스 ABL 555(생화학 Ciba-coming 회로망 분석기; ABL)를 이용하여 glucose와 urea nitrogen을 측정하였다.

### 4) 분석방법

#### 가) 암모니아 (NH<sub>3</sub>-N)

암모니아 함량은 Chaney와 Marbach(1962)의 방법으로 다음과 같이 분석하였다. 암모니아 분석을 위한 전처리 과정은 우선 10ml 원심분리관에 반추위액 6.2ml을 넣고, HgCl<sub>2</sub>(미생물 작용 정지) 0.06ml을 첨가하여, 원심분리(3,000rpm, 15분)하였다. 원심분리 후, 상층액을 1.5ml Eppendorf tube에 넣고, 냉동 보관(-20°C) 하였다.

분석 직전, 냉동 시료를 상온으로 녹여서 원심분리(12,000rpm, 5분) 하였다. 준비된 상층액 0.02ml과 암모니아 표준 용액(2.5, 5, 10, 20, 그리고 40mg NH<sub>3</sub>-N/100 ml), 그리고 증류수(blank)를 각각 3개의 20ml tube에 넣고, phenol color reagent와

alkali-hypochlorite reagent를 각 tube에 1ml씩 첨가하여 혼합시킨 후, 37°C 항온수조에서 15분 정도 배양하였다(※25°C, 30분). 배양이 끝나면 각 tube에 증류수 8ml을 첨가하여 혼합하고, spectrophotometer(UVIKON 923 Double beam UV/VIS; 630nm)로 OD(optical density)를 측정하였다.

나) 전분

50ml 원심분리관에 1mm 분쇄 시료 0.2g을 넣은 다음, 80% 에탄올 2방울을 떨어뜨리고, 증류수 5ml을 넣어 혼합하였다. 75°C의 80% 에탄올 25ml을 넣어 혼합하여, 5분간 방치한 다음 원심분리(3000rpm, 10분) 하였다. 원심 분리 후, 상층액은 버리고 다시 원심분리관에 75°C의 80% 에탄올 30ml을 넣어 혼합하여, 5분간 방치한 다음, 원심분리 하였다. 원심분리 후, 잔사를 제외하고 상층액은 전부 버린 다음 건조(40~50°C, 60분) 하였다. 건조 후, 증류수 5ml을 넣고 혼합한 다음, 52% perchloric acid reagent 6.5ml을 넣어 5분 간격으로 혼합하되 총 20분간 혼합하였다. 여기에 증류수 20ml을 넣어 혼합하여, 원심분리(3,000rpm, 10분) 하였다. 원심 분리 후, 상층액을 100ml volume metric flask에 여과하면서 담았으며, 건조 이후 과정을 2회 반복하여 100ml을 여과하면서 채웠다. 시료용액(25, 50, 100, 200µg/ml /100ml 증류수) 및 표준용액(2.5, 5, 10, 20ml 표준용액/100ml 증류수)은 필요한 배수로 희석하고, 20ml tube에 1ml씩 넣은 다음, anthrone reagent 5ml을 추가하여 혼합하였다. 100°C의 항온수조에서 12~13분간 발색하고, 발색 후 급속히 상온으로 냉각시킨 다음 spectrophotometer(630nm)에서 측정하였다.

다) 산화크롬 (Cr<sub>2</sub>O<sub>3</sub>) 분석과 장관 별 영양소 소실을 산출

1mm 분쇄된 시료 2g을 crucible에 넣고, 크롬산화제인 제 3인산칼륨 용액 (K<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>)을 시료의 상태에 따라 0.5~1ml 첨가하며, 시료와 완전히 혼합하여 회화시킨 다음(800°C, 40분), 남은 시료가 담긴 crucible에 증류수를 부어 100ml volumetric flask에 표선까지 채운 다음 24시간 방치하였다. 24시간 후에 시료를 여과하여 ICP로 크롬 농도를 측정하였다.

십이지장과 분의 크롬 농도(g/g DM), 즉, 시료 채취 장관 내용물의 영양소 량에 대한 크롬 량의 비율을 이용하여 1일 급여 크롬 량에 대한 1일 유입된 영양소 량(flow, g/d)을 구한다(식 1).

식 1 : g DM flow/d at sample collection site

$$= \frac{\text{marker input (g/d)}}{\text{marker concentration in sample (g/gDM)}}$$

식 1에 의해서 구한 소장 유입량과 분 중 배출량을 아래의 식에 대입하여 반추위, 하부소화관, 그리고 전 소화관 별 영양소 소실량(disappearance, g/d)을 구한 후, 유입량에 대한 소실율(disappearance, %)을 구하였다.

$$\begin{aligned} \text{식 2 : Whole stomach disappearance} \\ &= (\text{Intake} + \text{Infusion}) - \text{Duodenal flow} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{식 3 : Intestine disappearance} \\ &= \text{Duodenal flow} - \text{Fecal flow} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{식 4 : Total tract disappearance} \\ &= \text{Whole stomach disappearance} + \text{Intestine disappearance} \end{aligned}$$

#### 5) 통계 처리

OM, CP, 전분 소실율, 그리고 혈액에 관한 data는 SAS package(version 9.01)의 GLM(general linear models) Program으로 통계처리를 하였으며, 반추위 암모니아 및 pH data는 시간별로 모아 SAS package(version 9.01)의 mixed procedure로 통계처리를 하였다. 이 모델은 period, 공시축, 그리고 casein 주입 처리를 포함하는 것이다.

#### 나. 결과 및 고찰

##### 1) 반추위 및 혈액 정상

제 4위로 주입된 casein의 종류에 따른 혈액 정상과 반추위 정상에 관한 측정값은 Table 3과 같다. 혈액 내 glucose와 BUN 농도는 모든 처리구에서 유의적인 차이는 없었다.

Guerino 등(1991)은 거세우에게 90% 농후사료를 급여하면서, 제 4위로 150g/d 또는 300g/d의 casein을 주입한 시험에서 혈액 내 glucose 농도는 변하지 않는다 하였고, Konig 등(1984)도 착유우에 56% 농후사료를 급여하면서, 제 4위로 0, 240, 460g/d의 casein을 주입한 시험에서 혈액 내 glucose 농도에 차이가 없다고 하였지만, McNeil 등(1998)과 Putnam and Varga(1998)는 약 50% 농후사료를 급여하는 면양과 착유우에서 가소화 단백질이 증가함에 따라 혈액 내 glucose 농도가 증가한다는 상반된 보고를 하였다. 따라서 혈액 내 glucose농도에 있어 하부소화관 내로 공급되는 단백질의 효과는 아직 명확하지 않음을 알 수 있다.

반추위 pH의 경우, 제 4위 주입에 대한 효과를 보정하기 위해 측정된 것으로 시험 전 예상했던 것처럼 처리구간 유의적인 차이는 없었다. 또한 반추위 암모니아 N

농도는 급여 사료와 제 4위로 주입되는 casein 함량을 고려하여, 반추위 미생물 성장에 최소한으로 필요로 하는 요구수준 정도로 사료를 배합하여 급여 또는 주입하였으므로 처리간에 유의적인 차이가 없었던 것으로 보인다. 본 시험에서 반추위 암모니아 N 농도 범위는 6.6~8.3mg/100ml로 Slyter와 Satter(1979)가 제시한 반추위 미생물 성장에 필요한 최소한 농도 수준인 5mg/100ml보다는 다소 높았고, 처리구간 통계적인 차이가 없었으므로 제 4위로의 casein 주입이 반추위 내 환경에 영향을 주었거나, 반추위 발효의 차이가 소장 소화율에 미치는 영향은 없었을 것으로 판단된다.

Table 3. Ruminal and blood characteristics in Hanwoo steers abomasally infused with starch and casein

Item	Treatments <sup>a</sup>				Statistical significance <sup>c</sup>			
	Control	RC	EHC	SEM <sup>b</sup>	C <sub>1</sub>	C <sub>2</sub>	C <sub>3</sub>	C <sub>4</sub>
Ruminal pH	6.56	6.52	6.57	0.04	0.33	0.79	0.26	0.63
Ruminal ammonia N, mg/100ml	7.04	8.32	6.61	0.04	0.32	0.70	0.23	0.67
Blood glucose, mg/dl	77.00	77.17	78.50	1.97	0.96	0.64	0.68	0.76
Blood urea N, mg/dl	8.85	7.17	8.55	1.12	0.40	0.87	0.47	0.54

<sup>a</sup>RC=raw casein, EHC=enzyme hydrolysed casein.

<sup>b</sup>Standard error of the mean, N=3 for 0, 150 (raw casein), and 150 (enzyme casein)g/d of casein infused.

<sup>c</sup>Statistical significance of treatment effect by GLM procedure for mean value; C<sub>1</sub>=control vs. casein; C<sub>2</sub>=control vs. raw. casein; C<sub>3</sub>=control vs. enzyme hydrolysate casein; C<sub>4</sub>=raw casein vs. enzyme hydrolysate casein.

## 2) OM 소실율

제 4위로 주입되는 casein의 종류에 따른 한우의 각 소화관 별 OM 소실량 및 OM 소실율은 Table 4와 같다. OM 주입량은 대조구보다 제 4위 casein 주입 처리구가 14~15% 많았으나, 이에 대한 영향이 십이지장 OM 유입량에서는 나타나지 않았다. EHC구의 반추위 OM 소실량은 대조구에 비해 낮은 경향(P = 0.09)을 보였고, RC구와 비교해서도 EHC구의 반추위 소실량은 유의적(P = 0.04)으로 낮았고, 소실율은 낮은 경향(P = 0.10)을 보였지만, 그 원인은 EHC구의 평균 OM 섭취량이 적었기 때문이며, 제 4위 주입에 의한 소장 내 영양소의 증가가 반추위의 운동성 및 통과율에 미치는 영향이 작다는 보고(Richards 등, 2002)와 같은 결과로 생각된다. 하부소화관에서의 OM 소실량과 소실율은 반추위에서의 결과와는 반대로 EHC구가 가장 높고, RC구, 대조구 순이었지만, 통계적 유의성은 없었다. 전 소화관 OM 소실량과

소실율에서도 처리구간 차이가 없었다.

Table 4. Organic matter (OM) disappearance rates in each segment of gastrointestinal tract in Hanwoo steers

Item	Treatments <sup>a</sup>				Statistical significance <sup>c</sup>			
	Control	RC	EHC	SEM <sup>b</sup>	C <sub>1</sub>	C <sub>2</sub>	C <sub>3</sub>	C <sub>4</sub>
OM intake, g/d	5,642.7	5,664.2	5,344.1	202.2	-	-	-	-
OM infusion, g/d	1,000.0	1,141.5	1,150.0	0	-	-	-	-
Duodenal flow, g/d	3,333.0	3,347.6	3,469.3	155.7	0.73	0.95	0.60	0.64
Fecal flow, g/d	2,116.4	1,991.6	2,019.5	50.3	0.21	0.22	0.31	0.73
Disappearance, g/d								
Whole stomach <sup>d</sup>	3,309.7	3,458.1	3,024.9	66.4	0.49	0.25	0.09	0.04
Intestine	1,216.7	1,355.9	1,449.8	156.1	0.43	0.59	0.40	0.71
Total tract	4,526.3	4,814.1	4,474.7	187.3	0.66	0.39	0.86	0.33
Disappearance, % <sup>e</sup>								
Whole stomach	58.7	61.1	56.3	1.2	0.99	0.29	0.29	0.10
Intestine	36.0	40.6	41.8	3.1	0.30	0.40	0.31	0.82
Total tract	68.1	70.8	68.8	1.0	0.32	0.20	0.70	0.29

<sup>a</sup>RC=raw casein, EHC=enzyme hydrolysed casein.

<sup>b</sup>Standard error of the mean, N=3 for 0(control), 150 (raw casein), and 150 (enzyme casein)g/d of casein infused..

<sup>c</sup>Statistical significance of treatment effect by GLM procedure for mean value; C<sub>1</sub>=control vs. casein; C<sub>2</sub>=control vs. raw. casein; C<sub>3</sub>=control vs. enzyme hydrolysate casein; C<sub>4</sub>=raw casein vs. enzyme hydrolysate casein.

<sup>d</sup>Infused OM was subtracted from duodenal flows before calculation of whole stomach disappearance values.

<sup>e</sup>Disappearance as percent of flow to the segment.

### 3) CP 소실율

제 4위로 주입되는 casein의 종류에 따른 한우 거세우의 각 소화관 별 CP 소실량 및 소실율은 Table 5와 같다. CP의 십이지장 유입량은 casein 주입의 영향으로 대조구에 비해 증가하는 경향(P = 0.13)을 보였다. 이것은 반추위로 재순환되는 N량이 증가하여 나타난 결과로 해석되고 있으며, NRC(1984)에서는 CP 섭취량의 75~120%, Richards 등(2002)은 CP 섭취량의 109~142%가 소장으로 유입된다고 하였고, 본 시험에서는 86~106%의 CP가 소장으로 유입되었다. EHC구에서 반추위로 재순환된 N량이 높았던 이유는 분명하지는 않지만, N 섭취량이 가장 작았던 원인이 N의 재흡수를 촉진하게 한 결과로 나타난 것으로 보인다. 한편, 하부소화관 내 CP 소실

량과 소실율에서는 casein 주입구가 대조구에 비해 수치상으로는 증가하였지만, 처리 간에 유의적인 차이는 없었으며, 전 소화관 내 소실량은 casein 주입구에서 증가한 경향(P = 0.09)을 보였고, 특히 RC구는 대조구와 비교하여 증가하는 경향(P = 0.08)을 보였다.

Table 5. Crude protein (CP) disappearance rates in each segment of gastrointestinal tract in Hanwoo steers

Item	Treatments <sup>a</sup>			SEM <sup>b</sup>	Statistical significance <sup>c</sup>			
	Control	RC	EHC		C <sub>1</sub>	C <sub>2</sub>	C <sub>3</sub>	C <sub>4</sub>
CP intake, g/d	643.8	655.7	626.3	15.4	-	-	-	-
CP infusion, g/d	3.3	121.7	119.5	0	-	-	-	-
Duodenal flow, g/d	556.0	624.2	662.3	27.7	0.13	0.22	0.11	0.43
Fecal flow, g/d	254.9	264.2	280.2	10.5	0.31	0.60	0.23	0.39
Disappearance, g/d								
Whole stomach <sup>d</sup>	91.2	153.2	83.4	13.0	0.23	0.08	0.71	0.06
Intestine	301.1	360.1	382.2	36.0	0.25	0.37	0.25	0.71
Total tract	392.2	513.3	465.6	25.0	0.09	0.08	0.17	0.31
Disappearance, % <sup>e</sup>								
Whole stomach	14.2	23.3	12.6	1.9	0.24	0.08	0.61	0.06
Intestine	54.2	57.5	57.5	3.6	0.53	0.59	0.58	0.99
Total tract	60.7	66.0	62.3	2.4	0.36	0.25	0.69	0.38

<sup>a</sup>RC=raw casein, EHC=enzyme hydrolysed casein.

<sup>b</sup>Standard error of the mean, N=3 for 0(control), 150 (raw casein), and 150 (enzyme casein)g/d of casein infused..

<sup>c</sup>Statistical significance of treatment effect by GLM procedure for mean value; C<sub>1</sub>=control vs. casein; C<sub>2</sub>=control vs. raw. casein; C<sub>3</sub>=control vs. enzyme hydrolysate casein; C<sub>4</sub>=raw casein vs. enzyme hydrolysate casein.

<sup>d</sup>Infused CP was subtracted from duodenal flows before calculation of whole stomach disappearance values.

<sup>e</sup>Disappearance as percent of flow to the segment.

#### 4) 전분 소실율

제 4위로 주입되는 casein의 종류에 따른 한우 거세우의 각 소화관 별 전분 소실량 및 전분 소실율은 Table 6과 같다. RC구의 십이지장으로 유입되는 전분량은 대조구 보다 낮은 경향(P = 0.09)을, 그리고 EHC구 보다 유의성 있게 감소(P = 0.04) 하였다. 즉, RC구의 반추위 전분 분해율이 대조구 보다는 높은 경향을 그리고 EHC구 보다는 유의성 있게 높은 결과를 보여주고 있으나, 제 4위 주입에 의한 소장 내 영양소의 증가가 반추위의 운동성 및 통과율에 미치는 영향이 작다는 보고

(Richards 등, 2002)와는 상반되는 결과이다. 그러나 반추위에서 전분 분해율이 높았던 RC구가 하부소화관에서도 전분 소실량이 높은 경향(P = 0.11, P = 0.13)을 보였고, 전 소화관 내 전분 소실량과 전분 소실율에서도 RC구가 다른 처리구에 비해 높은 경향을 보였다.

Table 6. Starch disappearance rates in each segment of gastrointestinal tract in Hanwoo steers

Item	Treatments <sup>a</sup>				Statistical significance <sup>c</sup>			
	Control	RC	EHC	SEM <sup>b</sup>	C <sub>1</sub>	C <sub>2</sub>	C <sub>3</sub>	C <sub>4</sub>
Starch intake, g/d	910.5	916.2	917.3	3.5	-	-	-	-
Starch infusion, g/d	816.2	816.2	816.2	0	-	-	-	-
Duodenal flow, g/d	859.1	825.8	952.8	18.2	0.31	0.32	0.07	0.04
Fecal flow, g/d	173.8	121.3	185.8	11.7	0.29	0.09	0.54	0.06
Disappearance, g/d								
Whole stomach <sup>d</sup>	867.7	906.6	780.8	20.7	0.44	0.31	0.10	0.05
Intestine	685.3	704.4	766.9	14.2	0.10	0.44	0.06	0.09
Total tract	1,553.0	1,611.1	1,547.7	11.7	0.20	0.07	0.78	0.06
Disappearance, % <sup>e</sup>								
Whole stomach	95.2	99.0	85.1	2.0	0.33	0.32	0.07	0.04
Intestine	79.9	85.3	80.6	1.4	0.21	0.11	0.76	0.13
Total tract	89.9	93.0	89.3	0.7	0.28	0.08	0.57	0.06

<sup>a</sup>RC=raw casein, EHC=enzyme hydrolysed casein.

<sup>b</sup>Standard error of the mean, N=3 for 0(control), 150 (raw casein), and 150 (enzyme casein)g/d of casein infused.

<sup>c</sup>Statistical significance of treatment effect by GLM procedure for mean value; C<sub>1</sub>=control vs. casein; C<sub>2</sub>=control vs. raw. casein; C<sub>3</sub>=control vs. enzyme hydrolysate casein; C<sub>4</sub>=raw casein vs. enzyme hydrolysate casein.

<sup>d</sup>Infused starch was subtracted from duodenal flows before calculation of whole stomach disappearance values.

<sup>e</sup>Disappearance as percent of flow to the segment.

RC구의 하부소화관 소실량 및 소실율이 높았던 원인은 소장으로 유입되는 단백질의 특성으로 설명할 수 있다. 본실험에서 사용된 raw casein은 100% soluble protein N으로 구성되어 있고, enzyme hydrolysate casein은 amino N : peptide N의 비율이 3 : 7인 차이가 있기 때문에 제 4위로 주입된 casein이 4위에서 가수분해 과정을 더 겪게 되는 것을 고려할 때, RC구가 EHC구보다는 소장으로 유입되는 peptide가 더 많았을 것으로 추측된다. Richards 등(2002)은 소장 내 전분분해는 십이지장으로 유입되는 단백질이 많은 수록 증가한다고 보고하고 있고, Christensen 등(1993)은 RUP 함량이 높은 사료를 섭취한 착유우는 전분 섭취량, 반추위 전분소화

을, 십이지장 전분 유입량 및 소화율, 전 소화관 소화율에서 RUP 함량이 낮은 사료를 섭취했을 때 보다 유의성 있게 높았다고 보고하였다. 그러나 전분섭취량에 대한 비율에서는 유의성이 없었다. 따라서 본 연구에서도 제 4위 RC 주입구가 EHC 주입구보다 소장 내 유입되는 RUP 함량 면에서 더 유용한 방법이었을 것으로 추측된다. Richards 등(2003)의 시험에서도 제 4위로 가수분해 전분 + casein을 주입하면서 경정맥의 glucose와 portal vein에서의 a-amino N을 측정하였고, 체내로 공급되는 사료 단백질의 증가로 인해 전 소화관 내 전분 소실량이 증가하는 것이라는 결과를 보고하였다. 또한 갖 이유한 송아지에게 고농후사료와 함께 0%에서 15%로 soybean meal 수준을 달리하여 급여한 Veira 등(1980)의 시험에서도 전 소화관 내 전분 소실량이 증가한다고 하였다.

### 3. Casein의 주입량에 따른 하부소화관 내 전분 분해 효과

#### 가. 재료 및 방법

##### 1) 시험동물 및 사료급여

반추위와 십이지장 cannula가 동시에 장착된 21개 월령 한우 거세우(평균체중 471.8 ± 29.8kg) 4두를 공시하였다. 기초사료의 조성은 이전 시험과 동일하며(Table 1), 사료는 7.4kg(배합사료 2.4kg, 건초 5kg; 일당 증체량 0.6kg; BW 1.8%)을 급여하였고, 급여시간과 물 및 미네랄 공급제 등은 이전 시험과 동일하였다. 상·하부소화기관의 내용물 통과속도를 알아보기 위한 산화크롬은 아침·저녁 사료 급여 시 각각 5.5g씩(건물섭취량 0.25% 수준) 혼합하여 급여하였다.

Table 1. Ingredients and chemical composition of the basal diet

Item	%, DM basis
Ingredients composition	
Corn	30.5
Soybean hull	6.1
Wheat hull	10.7
Soybean meal	6.1
Calcium phosphate	0.2
Limestone	0.6
Vitamin-mineral mixtures <sup>a</sup>	0.2
Mixed grass	45.6
Total	100
Chemical composition	
DM	84.99
CP	13.01
Starch	16.48
NDF	46.06
ADF	29.28

<sup>a</sup>Vit. A 2,650,000 IU, Vit. D<sub>3</sub> 530,000 IU, Vit. E 1,050 IU, Niacin 10,000 mg, Mn 4,400 mg, Zn 4,400 mg, Fe 13,200 mg, Cu 2,200 mg, I 440 mg, Co 440 mg, B.H.T. 10,000 mg per kg.

##### 2) 시험설계

본 시험은 4×4 *Latin square design*으로 하였으며, 한 시험기간은 17일로 구성하였다. 17일 중 1일~10일은 주입물질의 전환에 따른 적응기, 11일~14일은 시료 채취기간, 15일~17일은 휴식기로 하였다. 시료 채취기간 중 11일은 반추위액 및 분과 뇨를, 12일, 13일은 십이지장 액 및 분과 뇨를, 14일은 혈액을 채취하였다.

본 시험의 처리는 다음과 같다. 1) 대조구(기초사료 7.4kg/d + 옥수수전분 1kg/d); 75T구(기초사료 7.4kg/d + 옥수수전분 1kg/d + raw casein 75g/d); 150T구(기초사료 7.4kg/d + 옥수수전분 1kg/d + raw casein 150g/d), 225T구(기초사료 7.4kg/d + 옥수수전분 1kg/d + raw casein 225g/d). 옥수수전분과 casein은 물 7L에 혼합하여, 수용액 상태로 만들어 23시간 동안 교반하면서 제 4위 주입도관을 통해 주입(약 290g/h)하였다.

Table 2. Composition and amounts of raw casein infused into the abomasum

Item	Treatments <sup>a</sup>			
	Control	75T	150T	225T
	----- Compositions, % -----			
Total Nitrogen		13.25	13.25	13.25
Amino acid nitrogen (TN basis)				
Peptide nitrogen (TN basis)				
Protein nitrogen (TN basis)		100	100	100
	----- Amounts, g/d -----			
Total Nitrogen	0	9.38	18.75	28.13
Amino acid nitrogen (TN basis)				
Peptide nitrogen (TN basis)				
Protein nitrogen (TN basis)	0	9.38	18.75	28.13

<sup>a</sup>75T=raw casein 75g/d, 150T=raw casein 150g/d, and 225T=raw casein 225g/d.

### 3) 시료의 채취 및 조사항목

앞 시험과 동일하다.

### 4) 분석방법

앞 시험과 동일하다.

### 5) 통계처리

통계처리는 앞 시험과 같은 방법으로 수행하였고, 다만, period 4의 장관 내용물 건조과정에서 문제가 발생하여 크롬 분석을 수행하지 못하였기 때문에 장관 별 영양소 소실을 결과는 period 4를 모두 결측구로 해서 통계처리 하였다. 따라서 각 처리별 반복수는 3이었다.

나. 결과 및 고찰

1) 반추위 및 혈액 정상

한우 거세우의 제 4위 casein 주입량에 따른 혈중 대사물질과 반추위 발효정상 변화는 Table 3과 같다. 주입 casein 종류 실험과 동일하게 casein 주입량에 따른 혈액 내 glucose농도 및 BUN농도에서 처리구간 통계적인 차이는 없었다. 반추위 pH와 암모니아 농도에서도 casein 주입량에 따른 처리구간에 차이가 없었고, 제 4위로 casein 주입량에 따른 주입이 반추위 환경에 미치는 영향은 없었던 것으로 생각된다.

Table 3. Ruminal and blood characteristics in Hanwoo steers abomasally infused with starch and casein

Item	Treatments <sup>a</sup>					P <	
	0T	75T	150T	225T	SEM <sup>b</sup>	Linear	Quadratic
Ruminal pH	6.60	6.53	6.52	6.48	0.1	0.47	0.66
Ruminal ammonia N, mg/100ml	6.51	5.45	6.99	5.89	7.0	0.46	0.70
Blood glucose, mg/dl	60.0	63.8	62.0	62.8	1.7	0.51	0.41
Blood urea N, mg/dl	12.1	12.0	11.4	11.0	2.0	0.67	0.93

<sup>a</sup>75T=raw casein 75g/d, 150T=raw casein 150g/d, and 225T=raw casein 225g/d.

<sup>b</sup>Standard error of the mean, N=4

2) OM 소실율

Casein 주입량에 따른 한우의 각 소화관 별 OM 소실량 및 OM 소실율은 Table 4과 같다. OM 주입량의 차이가 있었지만, 십이지장으로 유입되는 OM량은 처리 구간에 차이가 없었다. 십이지장 유입 OM량으로부터 OM 주입량을 뺀 량으로부터 계산된 반추위 소실량과 OM 섭취량에 대한 소실율에서도 유의적인 차이가 보이지 않았다. 또한 하부소화관 OM 소실량과 소실율, 그리고 전 소화관 내 OM 소실량이나 OM 소실율에서도 처리구간 유의적인 차이는 없었다. 자동 급이장치를 이용하여 2시간 간격으로 기초사료를 급여한 Richards 등(2002)의 시험에서는 제 4위 OM 주입량이 증가함에 따라 십이지장 OM 유입량이 증가하는 경향을 보였으나, 본 시험은 기초사료를 1일 2회 분할 급여하였고, 개체간 채식속도의 차이와 반추위 미 소화물의 십이지장 유입량이 관여하여 전체 십이지장 유입량에서 유의적인 차이가 나타나지 않은 것으로 판단된다.

반추위 소실율에서 처리구간 차이가 없었던 것은 제 4위 주입에 의한 소장 내 영양

소의 증가가 반추위의 운동성 및 통과율에 미치는 영향은 작다는 보고(Richards 등, 2002)로 설명될 수 있다. 주입 casein 종류 실험에서도 raw casein(150g/d) 4위 주입구의 반추위 OM 소실율은 대조구와 차이가 없었고, raw casein 주입량을 225g/d까지 증가시킨 본 시험에서도 차이가 없었다. 본 시험의 반추위 pH와 암모니아 N 농도에서 처리 간 차이가 없었던 결과(Table 9)도 제 4위로 주입되는 OM이 반추위 발효에 영향을 미치지 않는 것을 뒷받침하고 있다. 반추위 OM 소실량과 하부소화관 소실량의 처리간 차이는 크지 않았고, 반추위 OM 소실율 56~62%, 하부소화관 내 OM 소실율은 45~50%로 나타났고, 전장 소화관 소실율은 73~76%로 나타났다.

Table 4. OM disappearance rates in each segment of gastrointestinal tract in Hanwoo steers

Item	Treatments <sup>a</sup>				SEM <sup>b</sup>	P <	
	0T	75T	150T	225T		Linear	Quadratic
OM intake, g/d	6,947.7	6,745.3	6,953.2	6,957.7	-	-	-
OM infusion, g/d	1,000.0	1,075.0	1,150.0	1,225.0	-	-	-
Duodenal flow, g/d	3,754.7	3,997.1	3,766.7	3,958.0	164.4	0.75	0.88
Fecal flow, g/d	1,922.7	2,110.2	2,068.8	1,972.6	117.1	0.88	0.27
Disappearance, g/d							
Whole stomach <sup>c</sup>	4,193.0	3,823.2	4,336.4	4,224.7	176.7	0.34	0.49
Intestine	1,832.0	1,886.9	1,698.0	1,985.5	130.3	0.78	0.41
Total tract	6,025.0	5,710.2	6,034.4	6,210.2	152.8	0.20	0.16
Disappearance, % <sup>d</sup>							
Whole stomach	60.3	56.3	62.4	60.7	2.3	0.39	0.62
Intestine	49.2	47.2	45.1	50.5	2.6	0.96	0.21
Total tract	75.8	72.9	74.5	75.9	1.5	0.71	0.20

<sup>a</sup>75T=raw casein 75g/d, 150T=raw casein 150g/d, and 225T=raw casein 225g/d.

<sup>b</sup>SEM : Standard error of the mean, N=4

<sup>c</sup>Infused OM was subtracted from duodenal flows before calculation of hole stomach disappearance values.

<sup>d</sup>Disappearance as percent of flow to the segment.

### 3) CP 소실율

한우의 제 4위 casein 주입량에 따른 각 소화관 별 CP 소실량 및 CP 소실율

은 Table 5과 같다. Casein 주입량이 증가함에 따라 십이지장 CP 유입량이 유의적으로 증가하였고(P = 0.02), 십이지장 CP 유입량에서 4위로 주입된 CP량을 빼고 구한 반추위 CP 소실량과 소실율은 처리간의 차이가 없었다. 그러나 반추위 소화율이 모든 처리구에서 21~26%로 낮았던 것은 재순환되는 N량이 증가하여 나타난 결과로 보이며, NRC(1984)에서는 CP 섭취량의 75~120%, Richards 등(2002)은 CP 섭취량의 109~142%가 소장으로 유입된다고 하였고, 본 실험에서는 CP 섭취량의 76~97%가 소장으로 유입된 것으로 나타났다.

Table 5. CP disappearance rates in each segment of gastrointestinal tract in Hanwoo steers

Item	Treatments <sup>a</sup>					P <	
	0T	75T	150T	225T	SEM <sup>b</sup>	Linear	Quadratic
CP intake, g/d	817.4	813.2	818.0	818.4	2.3	0.39	0.36
CP infusion, g/d	3.3	66.1	128.9	171.4	-	-	-
Duodenal flow, g/d	617.6	704.9	729.2	789.8	37.5	0.02	0.73
Fecal flow, g/d	294.3	312.5	322.9	307.9	13.5	0.42	0.27
Disappearance, g/d							
Whole stomach <sup>c</sup>	203.1	174.4	217.6	200.1	37.8	0.77	0.89
Intestine	323.3	392.3	406.4	481.9	28.5	0.01	0.91
Total tract	526.4	566.8	624.0	682.0	14.3	0.01	0.56
Disappearance, % <sup>d</sup>							
Whole stomach	24.8	21.4	26.6	24.5	4.6	0.48	0.55
Intestine	51.7	54.5	55.8	61.2	2.2	0.02	0.56
Total tract	64.1	64.4	65.9	68.9	1.7	0.09	0.47

<sup>a</sup>75T=raw casein 75g/d, 150T=raw casein 150g/d, and 225T=raw casein 225g/d.

<sup>b</sup>SEM : Standard error of the mean, N=4

<sup>c</sup>Infused CP was subtracted from duodenal flows before calculation of hole stomach disappearance values.

<sup>d</sup>Disappearance as percent of flow to the segment.

한편, 하부소화관 내 CP 소실량(P = 0.01)과 CP 소실율(P = 0.02)에서는 대조구에 비해 casein 주입구에서 주입량이 증가할수록 유의적으로 증가하는 경향을 보였다. 이것은 소장으로 유입되는 CP량이 많은 casein주입구에서 CP의 소장 내 이용성이 증가하여 나타난 것으로 생각되며, 이러한 결과로 인해 전 소화관 내 CP 소실량은 유의적으로 증가하였고(P = 0.01), CP 소실율에서는 증가하였다(P = 0.09). 본 시험

의 하부소화관 결과는 소장과 대장에서의 소화를 모두 포함하고 있지만, Richards(2002) 보고에 따르면 대장의 CP 소실율도 부(-)의 값을 보여준다고 하였고, 그 이유는 대장에서의 미생물 발효에 의한 미생물 단백질, 요소, 암모니아 등이 분중 N의 양을 증가시키기 때문이라고 하였다.

#### 4) 전분 소실율

한우의 제 4위 casein 주입량에 따른 각 소화관 별 전분 소실량 및 전분 소실율은 Table 6와 같다. 모든 처리구에서 십이지장으로 유입된 전분량이 제4위로 주입된 전분량 보다도 적은 결과를 얻었고, 따라서 섭취사료 전분의 반추위 소실율이 100%가 넘게 계산되었다. 따라서 100%가 넘는 것은 모두 100%로 표기하였지만, 반추위에서의 전분이 대부분은 분해 이용되었을 것이라는 것을 의미한다고 할 수 있다. 모든 처리구에서 제4위로 주입된 전분의 하부소화관 내 전분 소실율이 85%이상으로 나타났고, 처리간 통계적 차이는 없었다. 그러나 전장 소실량과 소실율은 casein 주입량이 증가하면서 증가하는 경향을 보였다.

Richard 등(2002)의 결과에서는 소장으로 유입되는 단백질의 증가가 소장에서의 전분소실을 증가시켰다고 결론짓고 있다. 본 실험에서는 소장 주입 casein량을 225g 까지 증가시켰지만 하부소화관 전분소실량의 차이가 없었지만, 전체 소화관에서의 전분 소실율은 제4위 casein 주입량이 증가할수록 linear하게 증가하는 경향을 보여주었다. 제 4위로 주입된 casein에 의해 소장 전분분해 량이 증가되었다는 결과는 그리 많지 않지만, 면양(Castlebury와 Preston, 1993; Taniguchi 등, 1993)과 거세우(Taniguchi 등, 1995)에서 소장 내 단백질 공급이 면양의 소장 내 전분 소화율이 증가하였다고 보고되었다. 그 후에는 Wang과 Taniguchi(1998), Richards 등(2002, 2003)이 단백질에 의해 췌장의  $\alpha$ -amylase 분비가 촉진되며, 그 결과 소장에서의 전분 이용성이 증진된다고 보고하여 소장 내 가용단백질의 증가가 췌장 효소 분비와 소장 내 전분 소화율을 높일 수 있다는 가설을 뒷받침하였다

소장으로 유입되는 전분은 반추위에서 미 분해된 전분이기 때문에 소장 유입 전분량은 반추위 분해율에 의해 영향을 받는다. 따라서 전분섭취량에 대한 소장 내 전분의 소화율은 반추위 소화율과 부(-)의 관계를 보여주고, 소장 유입량에 대한 소장 내 전분 소화율은 반추위 소화율과 정(+)의 관계에 있다(Theurer 등, 1999). 즉, 소장에서의 전분 소화율은 제한적일 수 있기 때문에 건물섭취량에 영향을 미치지 않는 범위에서 반추위 전분 소화율을 높이면 전 소화관 전분 소화율도 높아진다. 이러한 조건에서의 또 다른 이점은 반추위미생물 합성량이 증가한다는 것이다(Firkins 등, 2001). Huntington(1997)은 소장으로 유입되는 전분의 약 45%가 glucose로서 흡수되지 않는 것을 지적하면서 소장으로 유입되는 전분량 증가보다는 반추위에서의 전분 분해가 거세우나 유우에게 더 이점이 있다고 하였다. 따라서 건물섭취량에 영향을

미치지 않는 범위에서 반추위 전분 소화율을 높이고, 분해되지 않고 소장으로 넘어온 전분의 소화, 흡수율을 높일 수 있다면 생산효율은 극대화 될 것이다.

시험 I과 II에서 소장으로 유입된 전분은 반추위 미분해 전분(약 500~600g/d)과 제 4위로 주입된 전분(약 800g/d)으로 구성되기 때문에 소장에서의 전분분해 정도는 제 4위로 주입된 단백질 종류와 양에 의해 가장 많은 영향을 받은 것으로 생각한다. 또한 본 시험의 반추위와 하부소화관 내 전분 소실율과 소실량은 십이지장의 소화물의 시료채취의 정확성과 전분 및 크롬 분석의 정확성에 크게 영향을 받는다. 소화관 도관 설치와 표시물질을 이용한 시험에서의 장관별 영양소 유입량 계산과 그에 기초한 장관별 영양소 소실율 계산의 변이(Richards, 2002)는 본 시험은 물론 같은 시험법에 의해 수행된 시험 결과의 해석에서 신중해야 할 필요성을 제기한다.

Table 6. Starch disappearance rates in each segment of gastrointestinal tract in Hanwoo steers

Item	Treatments <sup>a</sup>				SEM <sup>b</sup>	P <	
	0T	75T	150T	225T		Linear	Quadratic
Starch intake, g/d	1,048.3	1,046.8	1,049.0	1,049.3	1.0	0.24	0.40
Starch infusion, g/d	874.0	874.0	874.0	874.0	-	-	-
Duodenal flow, g/d	848.9	896.2	751.0	838.6	40.4	0.24	0.64
Fecal flow, g/d	107.3	105.1	97.5	82.1	8.6	0.08	0.47
Disappearance, g/d							
Whole stomach <sup>c</sup>	1,073.5	1,024.6	1,172.0	1,084.7	40.8	0.24	0.65
Intestine	741.6	791.1	653.5	756.5	35.3	0.37	0.48
Total tract	1,815.1	1,815.7	1,825.5	1,841.1	8.7	0.06	0.42
Disappearance, % <sup>d</sup>							
Whole stomach	100.4	97.9	100.0	100.0	-	-	-
Intestine	87.5	88.4	86.9	90.0	0.8	0.20	0.21
Total tract	94.4	94.5	94.9	95.7	0.5	0.08	0.47

<sup>a</sup>75T=raw casein 75g/d, 150T=raw casein 150g/d, and 225T=raw casein 225g/d.

<sup>b</sup>SEM : Standard error of the mean, N=4

<sup>c</sup>Infused starch was subtracted from duodenal flows before calculation of hole stomach disappearance values.

<sup>d</sup>Disappearance as percent of flow to the segment.

#### 4. 반추위내 분해속도가 다른 단백질 및 전분질 사료의 조합이 소장내 전분 분해율에 미치는 효과

##### 가. 재료 및 방법

##### 1) 공시축과 시험처리

공시축으로는 반추위와 “T”형 십이지장 캐놀라가 장착된 한우 거세우 (268±8kg) 4두를 이용하였고, 4기의 대사케이지(127 × 250cm)에 1두씩 수용하여 4 × 4 *Latin square design*에 의해 실험을 수행하였다. 반추위 분해속도가 다른 옥수수 와 보리의 전분질사료 각각에 역시 반추위 분해속도가 다른 대두박과 옥글루텐밀의 단백질 사료 각각을 배합하는 4종류 배합사료(Table 1)를 1일 3.4kg 제한급여 하였으며, 볏짚도 1.6kg로 제한하였다. 옥수수+옥글루텐밀(CC)처리구와 보리+대두박(BS)처리구는 반추위 분해 동기화(synchrony), 그리고 옥수수+대두박(CS)처리구와 보리+옥글루텐밀(BC)처리구는 반추위 분해 비동기화(asynchrony)를 대표하고 있다. 배합사료와 볏짚은 하루에 동량을 2회로 나누어 급여하였고, 물과 미네랄블록은 자유섭취할 수 있도록 하였다. 사료 영양소의 유입량과 소화율을 계산하기 위한 marker로서는 Cr<sub>2</sub>O<sub>3</sub>(사료섭취량 0.2%)을 농후사료에 균일하게 혼합하여 급여하였다.

Table 1. Ingredients and chemical composition of the basal diet

	Corn		Barley	
	SBM	CGM	SBM	CGM
Ground corn	30.5(56.07)	30.5	-	-
Ground barley			30.5	30.5
대두피	6.1(11.21)	6.1	6.1	6.1
Wheat bran	10.7(19.67)	10.7	10.7	10.7
Soybean meal	6.1(11.21)	-	6.1	-
Corn gluten meal	-	6.1	-	6.1
Calcium phosphate	0.2( 0.37)	0.2	0.2	0.2
Limestone	0.6( 1.10)	0.6	0.6	0.6
Vitamin-mineral mixture	0.2( 0.37)	0.2	0.2	0.2
Rice straw	45.6	45.6	45.6	45.6
Total	100	100	100	100
CP(% DM)	15.9	18.4	17.9	20.9

##### 2) 시료채취 및 조사항목

##### 가) 기초사료

앞 실험과 동일

##### 나) 반추위 내용물

각 시험기간 중 12일째 0830(0h), 1000(1h), 1200(3h), 1400(5h), 1600(7h) 총 5회에 걸쳐 200ml 정도씩 채취하였고, 처리방법은 앞 실험과 동일하였다

다) 십이지장 내용물

각 시험기간 중 13일째 0830(0h), 1200(3h), 1500(6h), 1800(9h), 14일째 0830(0h), 1030(1.5h), 1330(4.5h), 1600(7.5h)에 채취하였다. 내용물은 통풍건조기(60°C, 48시간 이상)에서 건조하였으며, 그 후의 처리과정은 앞 실험과 동일하였다.

라) 분

Total-분은 3일 동안(제12일, 13일, 14일) 각각 하루 사이 배설한 분을 균일하게 섞어서 500g 채취하였고, Time-분은 십이지장 내용물을 채취 할 때와 동일한 시간 때에 직장법으로 100g씩 채취하여 혼합하였다. 시료의 건조 및 분석은 십이지장 내용물과 같은 방법으로 처리하였다.

마) 뇨

뇨는 4N 황산 500ml가 들어 있는 용기를 이용하여 3일간(제9일, 10일, 11일) 수거하였으며, N 분석에 이용되었다.

바) 혈액

혈액은 각 시험기간 중 14일째 16:00에 공시축의 경정맥을 통하여 채취한 후, 앞 실험과 동일하게 수행하였다.

3) 분석방법

앞 실험과 동일

4) 통계처리

앞 실험과 동일

나. 결과 및 고찰

1) 소화율과 질소 균형

동기화(CS와 BS)의 CP 섭취량은 맞추었으나, 비동기화의 CS와 BC는 CP 섭취량에는 차이가 있었다(Table 2). 그 이유는 옥글루텐밀과 보리의 CP 함량이 상대적으로 높기 때문이다. 따라서 CS는 약 10% 낮게, BC는 약 15% 높게 CP를 섭취하는 결과를 보였다. 전분 채취법에 의한 영양소 소화율과 질소균형에서는 처리간 유의적인 차이가 없었다.

Table 2. Digestibilities and nitrogen balance

	CS	CC	BS	BC
Intake				
DM (g/d)	4307.0	4266.2	4296.4	4295.8
CP (g/d)	521.5	583.1	576.0	662.0
Digestibility(%)				
DM	74.5	74.0	72.8	73.8
OM	85.1	84.9	84.1	84.5
CP	60.3	58.1	61.8	63.5
Starch	98.5	98.7	99.1	99.0
CP balance				
(g/W0.75)				
intake	1.23	1.36	1.37	1.57
Fecal	0.49	0.57	0.53	0.58
urinary	0.94	0.54	0.84	0.63
balance	-0.20(-16.14)	0.25(18.3)	0.01(0.35)	1.21(23.1)

## 2) 반추위 발효

반추위 pH와 NH<sub>3</sub>-N 농도변화에서는 처리간 통계적 유의성은 없었다(Fig. 1). 에너지원이 옥수수인 처리구(CS, CC)는 NH<sub>3</sub>-N 농도는 1시간째에 최고 농도에 도달하였고, pH는 사료섭취 5시간 후까지 낮아졌다. 옥수수는 보리와 비교하여 CP 함량과 RDP 함량이 낮다. 그리고 대두박은 옥글루텐 보다 CP함량이 낮고, RDP함량은 높다. 따라서 단백질원공급원이 대두박인 경우가 옥글루텐 보다 NH<sub>3</sub>-N이 높았던 것이다. 한편으로는 pH가 5시간째 까지 낮아졌던 것은 옥수수의 분해 속도가 보리보다는 느리기 때문에 에너지가 지속적으로 공급된 때문으로 해석된다. 에너지원이 보리인 처리구(BS, BC)는 NH<sub>3</sub>-N 증가가 3시간째까지 유지되었고, pH는 사료섭취 3시간째가 가장 낮았다. BS와 BC를 비교하면 대두박급여구가 역시 NH<sub>3</sub>-N 농도가 높았다. 총 VFA 농도는 Table 3에 나타내었으나, 특징적인 차이는 없었다.

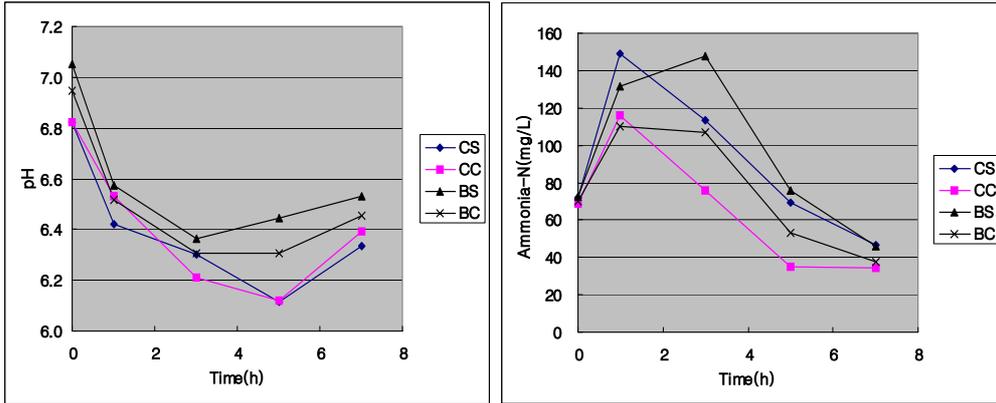


Fig. 1. Changes in ruminal pH and NH<sub>3</sub>-N concentration(mg/L) of Hanwoo fed experimental diets.

Table 3. Ruminal VFA concentration of Hanwoo fed experimental diets

Item	Time(hr)	CS	CC	BS	BC
Total VFA (mM)	0	97.45	93.06	91.55	85.14
	1	101.17	94.32	105.82	85.44
	3	98.99	107.95	116.30	91.26
	5	107.57	111.15	96.51	94.26
	7	99.45 <sup>ab</sup>	102.97 <sup>a</sup>	94.78 <sup>ab</sup>	87.62 <sup>b</sup>
	AVG	100.92	101.90	100.99	88.74
Acetate (% Total VFA)	0	62.69	58.09	59.54	60.21
	1	64.61	57.31	63.00	56.03
	3	62.37	71.31	74.73	61.59
	5	65.49	68.49	63.29	63.80
	7	62.24	62.25	58.90	58.47
	Propionate (% Total VFA)	0	15.49	15.33	13.52
1		16.98	15.86	17.41	15.12
3		15.97	19.51	20.30	16.14
5		16.84	18.59	15.49	15.62
7		15.63	16.96	13.75	13.22
Iso-butyrate (% Total VFA)		0	5.36	7.08	4.40
	1	3.88	6.88	8.44	4.37
	3	6.18	0.89	1.39	2.59
	5	10.10	9.01	1.75	4.21
	7	7.25	9.95	7.85	7.34
	Butyrate (% Total VFA)	0	11.11	9.68	11.41
1		12.62 <sup>ab</sup>	11.22 <sup>ab</sup>	13.76 <sup>a</sup>	10.40 <sup>b</sup>
3		11.65	12.88	15.70	11.50
5		12.59	12.30	13.11	11.96
7		12.23	11.14	12.04	10.64
Iso-valerate (% Total VFA)		0	2.04	2.19	1.97
	1	1.90	1.93	1.85	1.83
	3	1.67	2.04	2.14	1.86
	5	1.67	1.89	1.49	1.74
	7	1.55 <sup>ab</sup>	1.97 <sup>a</sup>	1.23 <sup>b</sup>	1.42 <sup>ab</sup>
	Valerate (% Total VFA)	0	0.75	0.67	0.69
1		1.19	1.15	1.35	0.88
3		1.15 <sup>b</sup>	1.34 <sup>b</sup>	2.05 <sup>a</sup>	1.64 <sup>ab</sup>
5		0.88	0.87	1.38	1.32
7		0.56	0.70	1.02	0.76
C2/C3		0	4.08 <sup>ab</sup>	3.83 <sup>b</sup>	4.45 <sup>a</sup>
	1	3.79	3.63	3.65	3.72
	3	3.91	3.68	3.73	3.86
	5	3.92	3.69	4.09	4.13
	7	3.98	3.73	4.32	4.48

2) 장관별 영양소 소실율

반추위에서의 OM 소실량과 소실율에 미치는 에너지원의 효과는 보리가 옥수수보다 유의성(P<0.05)있게 컸으나, 하부소화관에서의 OM 소실량에 미치는 효과는 옥수수가 보리보다 유의성(P<0.05)있게 컸다(Table 4). 반추위에서의 OM 소실량과 소실율에 미치는 단백질원의 효과는 대두박이 옥글루텐 보다 유의성(P<0.05)있게 컸으나, 하부소화관에서의 OM 소실량에 미치는 효과는 옥글루텐이 대두박보다 유의성(P<0.05)있게 컸다. 전체소화관에서의 OM 소실량과 소실율에 미치는 효과는 대두박이 옥글루텐 유의성 있게 컸다. 그러나 동기화의 효과는 나타나지 않았다.

Table 4. OM disappearance rates in each segment of gastrointestinal tract in Hanwoo steers

Item	Treatment <sup>a</sup>				SEM <sup>b</sup>	Statistical significance <sup>c</sup>		
	CS	CC	BS	BC		P1	P2	P3
Intake, g/d	3984.4	3951.7	3942.8	3959.6		-	-	-
Duodenal flow, g/d	3381.4	4013.3	3035.7	3460.7	317.59	0.3000	0.0158	0.5389
Fecal flow, g/d	209.8	242.9	185.4	220.6	25.49	0.1168	0.0366	0.9361
Disappearance, g/d								
Stomach	602.9	-61.6	907.2	498.5	317.59	0.0345	0.0149	0.4505
Intestine	3171.6	3770.4	2850.2	3240.0	325.65	0.0398	0.0229	0.5447
Total tract	3774.5	3708.8	3757.4	3738.9	25.49	0.6270	0.0163	0.1132
Disappearance, %								
Stomach	15.13	-1.56	23.01	12.60	7.99	0.0329	0.0146	0.4619
Intestine	93.58	93.88	93.87	93.53	1.02	0.9475	0.9700	0.5502
Total tract	94.73	93.85	95.30	94.43	0.64	0.1278	0.0350	0.9851

<sup>a</sup> CS: Corn+soybean meal, CC: Corn+Corngluten meal, BS: Barley+soybean meal, BC: Barley+Corngluten meal.

<sup>b</sup> Standard error of the mean.

<sup>c</sup> P1, Corn VS. Barley P2, Soybeanmeal VS. Cornglutenmeal P3, Unsynchronization VS. Synchronization.

십이지장으로 유입되는 CP량은 에너지원 차이에 의해서도 영향을 받았지만, 단백질원의 차이(P<0.001)에 의해 더 큰 영향을 받았다. 옥글루텐밀을 급여하면 에너지원의 차이에 관계없이 십이지장 유입 CP량이 섭취사료의 CP량 보다 더 증가하는 것은 질소의 재순환에 영향을 미치는 것으로 판단된다. 이렇게 소장을 유입된 CP가 소장에서 소실되는 량과 율은 에너지원보다는 단백질원에 의해 영향을 받은 것으로 나타

났으나, 동기화의 효과는 없었다.

Table 5. CP disappearance rates in each segment of gastrointestinal tract in Hanwoo steers

Item	Treatment <sup>a</sup>				SEM <sup>b</sup>	Statistical significance <sup>c</sup>		
	CS	CC	BS	BC		P1	P2	P3
Intake, g/d	521.5	583.1	576.0	662.0				
Duodenal flow, g/d	713.8	1079.2	677.4	940.5	60.73	0.0279	<.0001	0.1432
Fecal flow, g/d	209.9	242.9	185.4	220.7	25.49	0.1168	0.0366	0.9361
Disappearance, g/d								
Stomach	-192.3	-496.0	-101.4	-278.5	60.73	0.0023	0.0002	0.0822
Intestine	504.0	836.3	491.9	719.9	61.90	0.0834	0.0001	0.1427
Total tract	311.7	340.2	390.6	441.3	25.49	0.0004	0.0208	0.4166
Disappearance, %								
Stomach	-36.87	-85.07	-17.60	-42.07	10.12	0.0008	0.0004	0.0575
Intestine	70.37	77.01	72.47	76.34	3.34	0.6852	0.0198	0.4373
Total tract	59.76	58.34	67.81	66.67	4.30	0.0089	0.5740	0.9498

<sup>a</sup> CS: Corn+soybean meal, CC: Corn+Corngluten meal, BS: Barley+soybean meal, BC: Barley+Corngluten meal.

<sup>b</sup> Standard error of the mean.

<sup>c</sup> P1, Corn VS. Barley; P2, Soybeanmeal VS. Cornglutenmeal; P3, Unsyncronization VS. Synchronization.

반추위에서 보리의 분해속도는 옥수수보다 유의적으로 높았다(Table 6). 따라서 옥수수 급여구는 십이지장으로 더 많은 전분이 유입되지만( $P<0.001$ ), 하부소화관에서 소실량과 소실율도 유의성 있게( $P<0.001$ ) 높은 것으로 밝혀졌다. 그러나 단백질원 차이에 의한 효과는 전반적으로 나타나지 않았다. 반추위 발효 속도의 동기화 조건을 갖춘 CC구와 BS구에서 하부소화관 소실율이 유의성 있게( $P=0.02$ ) 높았다.

Table 6. Starch disappearance rates in each segment of gastrointestinal tract in Hanwoo steers

Item	Treatment <sup>a</sup>				SEM <sup>b</sup>	Statistical significance <sup>c</sup>		
	CS	CC	BS	BC		P1	P2	P3
Intake, g/d	1610.5	1573.1	1500.7	1502.4				
Duodenal flow, g/d	633.6	673.2	173.1	149.6	124.66	0.0002	0.9007	0.6309
Fecal flow, g/d	26.5	19.5	13.8	15.4	5.42	0.0197	0.3804	0.1776
Disappearance, g/d								
Stomach	977.0	899.9	1327.7	1352.8	124.66	0.0007	0.6915	0.4438
Intestine	607.1	653.5	159.3	134.3	125.69	0.0003	0.8707	0.5909
Total tract	1584.1	1553.4	1486.9	1487.1	5.42	<.0001	0.0013	0.0013
Disappearance, %								
Stomach	60.66	57.21	88.47	90.04	7.78	0.0002	0.8167	0.5424
Intestine	95.06	97.08	92.08	89.53	1.54	0.0005	0.7420	0.0248
Total tract	98.36	98.74	99.08	98.98	0.35	0.0321	0.4490	0.2062

<sup>a</sup> CS: Corn+soybean meal, CC: Corn+Corngluten meal, BS: Barley+soybean meal, BC: Barley+Corngluten meal.

<sup>b</sup> Standard error of the mean.

<sup>c</sup> P1, Corn VS. Barley; P2, Soybeanmeal VS. Cornglutenmeal; P3, Unsynchronization VS. Synchronization.

## 5. 반추위 발효동기화 속도에 따른 소장내 전분 소화율 변화

### 가. 재료 및 방법

#### 1) 공시축

본 시험은 반추위와 십이지장 캐놀러를 장착된 한우 거세 수송아지 6두(평균 274.8±41.1kg)를 공시하였다.

#### 2) 시험사료 및 시험구 배치

배합사료의 배합비는 Table 1과 같다. 옥수수과 옥글루텐밀 배합구는 반추위 분해속도가 보리와 대두박 배합구보다 느린 특징을 갖고 있고, 각 배합사료는 체중 비율로 제한급여 하였다. 그러나 조사료인 볏짚은 자유채식 시키었다. 시험사료의 조성분은 Table 2에서 보는 바와 같다. 각 처리에 공시축을 3두씩 임의로 배치하였다.

Table 1. Ingredient content of concentrate mixes for cows fed diets containing corn or barley with Corn gluten meal(CGM) or soybean meal(SBM).

Ingredient	T1 <sup>1</sup>	T2 <sup>2</sup>
	Corn+CGM Slow synchrony	Barley+SBM Fast synchrony
Corn, ground(%)	56.1	-
Barley, ground(%)	-	56.1
Soybean Hull(%)	11.2	11.2
Wheat Gluten(%)	19.7	19.7
Soybean meal(%)	-	11.2
Corn gluten meal(%)	11.2	-
Dicalcium phosphate(%)	0.4	0.4
Limestone (%)	1.1	1.1
Vitamin mineral(%)	0.4	0.4

1: T1=treatment 1, 2: T2= treatment 2.

Table 2. Chemical composition of experimental diets

Measurement	Concentrate mix		Forage
	Corn+CGM	Barley+SBM	Rice straw
DM(%)	88.55	89.03	88.56
CP(%DM)	17.92	15.88	4.28
Ether extract(%DM)	2.97	2.44	1.03
Crude fiber(%DM)	8.22	13.48	36.08
Crude ash(%DM)	3.77	4.38	10.86
Gross energy(cal/g)	4036	3918	3466

### 3) 사양관리

캐놀라 시술이 끝나고 회복된 시험축을 개폐식지붕의 개방식 우사(pen size, 5.3x10.6m)에서 각 처리당 3두씩 나누어서 군사 하였으며 Calan system(개체별급이 도어시스템, 世一테크)를 이용하여 사료관리를 하였다. 입식기간 때에는 일반 배합사료를 체중의 1.0%를 아침과 저녁으로 나누어 2달간에 걸쳐 적응시켰으며, 시험이 시작되기 전에는 시험사료와 일반 배합사료를 적당한 비례로 섞어주다가 시험사료로 완전히 적응시켰다.

본시험 기간 중, 시험사료를 일일 2회 급여하였는데 농후사료는 체중의 1.7%로 제한 급여하였다. 아침 8시30분에 전일 사료의 잔량을 측정한 후, 9시에 배합사료를 급여하였다. 송아지가 배합사료를 다 먹은 후 9시 30분에 조사료를 급여하였다. 저녁 6시에 농후사료 급여 후 6시30분에 조사료를 급여하였다. 상.하부 소화기관의 내용물 유입량을 알아보기 위한 산화크롬( $Cr_2O_3$ )은 아침, 저녁 사료 급여 시 각각 급여사료의 0.2%를 혼합하여 급여하였다.

조사료는 전 기간 자유채식 시켰으며 물과 거세한우 전용 비프블록을 자유로이 섭취토록 하였다.

### 4) 조사항목 및 조사방법

#### 가) 체중, 사료섭취량 조사

체중은 개시 시와 이후 종료 시까지 한달간격으로 측정하였고 사료섭취량은 아침사료를 급여하기 전에 전일에 급여한 사료의 잔량을 조사하였다.

#### 나) 사료의 일반성분 분석

사료 및 반추위와 장관내용물의 일반성분은 AOAC방법(1990)에 준하여 분석하였다.

#### 다) 반추위 발효성상변화

체중 측정일 15일후 제1위액의 pH,  $NH_3-N$ 의 농도, 휘발성 지방산의 생산량을 측정하기 위해 사료급여 전 및 사료 급여 후 1, 2, 3, 7시간 순으로 300ml 정도씩의 위액을 채취하였다. 내용물은 채취즉시 4겹의 거즈로 여과하여 큰 사료입자를 제거한 다음, pH meter로 pH를 측정하였다. 300ml 중 100ml은 냉장 보관하였고, 나머지는 암모니아분석과 휘발성지방산분석에 필요한 전처리를 하여 분석 전까지 냉동보관( $-20^{\circ}C$ )하였다.

#### 라) 십이지장 내용물

십이지장 내용물은 4일에 걸쳐서 채취하였는데 1일째 1시간 후, 2일째 3시

간 후, 3일째 5시간 후, 4일째 7시간 후 순으로 채취하였다. 내용물은 통풍건조기 (70°C, 72시간 이상)에서 건조시킨 다음, disc. mill을 이용하여 1mm로 분쇄하였다. 분쇄 후, 채취시간별로 10%씩 혼합하여 일반성분 분석, 전분 및 크롬을 분석하였다.

나. 결과 및 고찰

1) 반추위 발효성상

처리간 반추위 pH 변화에서는 차이가 큰 차이는 없었다. 암모니아태 질소 농도는 대두박을 급여한 B+SBM구가 사료급여 후 8시간까지 전 기간 높은 수준을 유지하였다. 이러한 결과는 앞서 수행된 실험의 결과와 같았다.

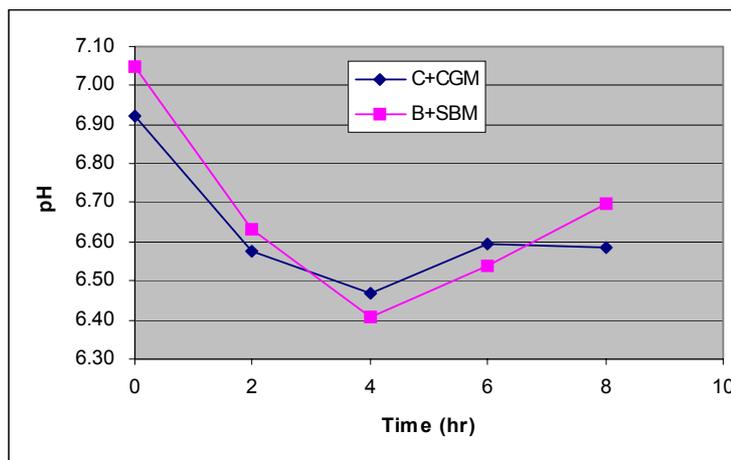


Fig. 1. Change in ruminal pH.

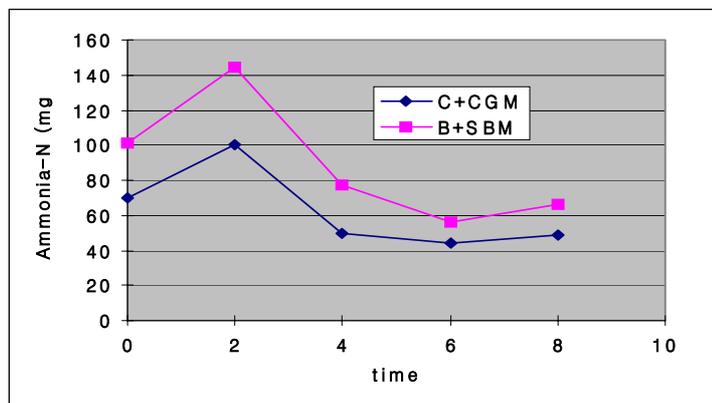


Fig. 2. Change in ruminal ammonia-N concentration.

3) 장관별 소화율

유기물 섭취량과 십이지장 유입 유기물량 그리고 반추위 및 소장에서의 소실율에 미치는 처리간 효과는 없었다.

Table 3. OM disappearance rates in each segment of gastrointestinal tract in Hanwoo steers<sup>1</sup>

Item	Treatment <sup>2</sup>		P value
	T1	T2	
Intake, g/d	6172.4±508.0	6055.8±519.1	0.9723
Duodenal Flow, g/d	4457.2±803.6	3521.1±646.5	0.7295
Fecal flow, g/d	2067.6±405.4	1739.3±301.5	0.6389
Disappearance, g/d			
Stomach	1715.2±454.7	2534.7±566.9	0.7259
Intestine	2389.6±469.2	1781.8±361.2	0.6779
Total tract	4104.8±340.6	4316.5±419.1	0.7415
Disappearance, %			
Stomach	29.07±9.1	42.20±8.2	0.8713
Intestine	52.89±4.0	50.44±2.1	0.3190
Total tract	67.02±4.5	71.49±3.9	0.8100

<sup>1</sup>Values are mean±Standard error.

<sup>2</sup>T1: Corn+corn gluten meal ; T2: Barley+ soybean meal.

CP 섭취량과 십이지장 유입 CP량 그리고 반추위 및 소장에서의 소실율에 미치는 처리간 효과는 없었다. 그러나 전장 소화관 CP 소실율은 T2구가 유의성있게 높았다.

전분 섭취량은 처리간 차이가 없었으나, 십이지장 유입 전분량은 T1구가 높은 경향 ( $p<0.1$ )을 보였다. 즉, 반추위에서 분해된 전분량은 T1구가 T2구보다 적었고, 따라서 T1구는 더 많은 전분이 소장으로 유입된 것이다. 소장으로 유입된 전분은 T1구에서 더 많은 양이 분해되었다. 그러나 전장 소화율에서는 T2구가 유의성 있게 높았다. 이러한 결과는 앞서 수행된 실험의 결과와도 같았다.

Table 4. CP disappearance rates in each segment of gastrointestinal tract in Hanwoo steers<sup>1</sup>

Item	Treatment <sup>2</sup>		P value
	T1	T2	
Intake, g/d	890.7±69.4	904.7±111.6	0.4563
Duodenal Flow, g/d	1031.7±189.3	984.6±184.0	0.9637
Fecal flow, g/d	332.1±78.3	269.7±47.4	0.4311
Disappearance, g/d			
Stomach	-141.0±179.4	-80.0±101.9	0.3776
Intestine	699.6±124.2	715.0±143.1	0.8207
Total tract	558.6±62.9	635.0±65.0	0.9579
Disappearance, %			
Stomach	-16.68±21.6	-7.67±10.4	0.2612
Intestine	68.11±2.7	72.16±3.1	0.8517
Total tract	63.29±6.9	70.83±1.9	0.0651

<sup>1</sup>Values are mean±Standard error.

<sup>2</sup>T1: Corn+corn gluten meal ; T2: Barley+ soybean meal.

Table 5. Starch disappearance rates in each segment of gastrointestinal tract in Hanwoo steers<sup>1</sup>

Item	Treatment <sup>2</sup>		P value
	T 1	T 2	
Intake, g/d	2113.7±181.5	1966.9±208.7	0.8238
Duodenal Flow, g/d	1110.8±323.7	381.6±96.1	0.0763
Fecal flow, g/d	322.7±95.2	88.5±18.2	0.0221
Disappearance, g/d			
Stomach	1002.9±157.3	1585.3±120.1	0.6690
Intestine	788.1±241.8	293.0±81.3	0.1063
Total tract	1791.1±90.9	1878.3±194.3	0.2441
Disappearance, %			
Stomach	50.07±11.2	81.45±2.9	0.0519
Intestine	69.81±4.7	75.80±2.3	0.2747
Total tract	85.50±3.1	95.60±0.6	0.0270

<sup>1</sup>Values are mean±Standard error.

<sup>2</sup>T1: Corn+corn gluten meal ; T2: Barley+ soybean meal.

## 6. 반추위 발효동기화 속도차이가 육성기 사료섭취량과 증체에 미치는 영향

### 가. 재료 및 방법

#### 1) 공시축

본 시험은 한우 거세 수송아지 14두(평균체중 260±40kg)를 공시하였다.

#### 2) 시험사료 및 시험구 배치

앞 시험에서와 같이 반추위 분해가 빠른 보리와 대두박구, 분해가 느린 옥수수과 옥글루텐구 2처리구로 나누어 거세한우 수송아지 14두(260.0±40kg)를 이용하여 사양시험을 3개월간 수행하여 사료섭취량과 증체율을 측정하였다.

#### 3) 사양관리, 조사항목 및 방법

앞 실험과 동일

### 나. 결과 및 고찰

본 실험은 농후사료를 체중의 1.7% 수준에서 고정하고, 조사료를 자유채식시키는 조건에서 반추위 분해 속도가 느린 배합사료(옥수수-옥글루텐밀)와 빠른 배합사료(보리-대두박)가 조사료 섭취량과 증체에 미치는 효과를 보고자 하여, 옥수수 급여구에 비하여 보리급여구가 수치적으로 건물섭취량이 높게 나타났고 일당증체량은 낮은 경향을 보여( $P<0.1$ ), kg 증체당 건물섭취량이 옥수수-옥글루텐 급여구 즉, 느린 반추위 발효동기화구에서 유리하게 나타났다( $P<0.01$ ).

Table 1. Growth performance

Item	Treatment <sup>1</sup>		Pr>F <sup>2</sup>
	T1	T2	
Initial BW, kg	312.3±8.6	309.5±14.5	0.4091
Final BW, kg	367±10.5	362.9±17.5	0.4229
ADG <sup>3</sup> , kg	0.60±0.02	0.59± 0.07	0.0938
DDMI <sup>4</sup> , kg/d	7.41±0.29	7.53±0.31	0.9228
Concentrates	4.85±0.14	4.88±0.23	0.4514
Rice straw	2.56±0.18	2.65±0.30	0.4142
DDMI/ADG	12.31±0.17	12.84±1.32	0.0074

<sup>1</sup> T1: Corn+Corn gluten meal; T2: Barley+soybean meal

<sup>2</sup> Probability level

<sup>3</sup> Average daily body weight gain

<sup>4</sup> Daily dry matter intake

## 제 2 절. 한우 반추위 및 소장내 단백질 이용성 향상 기술 개발(제2세부과제: 축산연구소)

### 1. In situ nylon bag 기법에 의한 원료사료의 반추위내 영양소 분해율 측정

#### 가. 실험 방법

##### 1) 실험동물

반추위 cannula를 시술한 평균체중  $465.00 \pm 15.56\text{kg}$ 의 한우 거세우 3두를 실험동물로 공시하였다.

##### 2) 실험기간 및 장소

실험동물 적응기간 포함 28일간 축산연구소 가축대사실험실에서 실시하였다.

##### 3) 실험사료 및 사양관리

실험사료는 국내 배합사료 공장에서 단백질 단미사료로 이용하고 있는 원료 13종(대두박, 채종박, 옥글루텐박, 옥배아박, 면실박, 대두피, 소맥피, 단백질, 루핀, 해바라기씨박, 팜박, 야자박, 호마박)을 이용하였다.

본 실험에서 공시축에 급여한 사료의 조사료 대 농후사료 비율과 화학적 조성은 Table 1과 같으며 물과 미네랄 블록은 자유 채식시켰다. 실험동물은 실험시작 2주전부터 사료 및 환경에 적응시켰으며 사료급여는 1일 8kg을 이등분하여 09:00, 17:00시에 2회에 나누어 급여하였다.

##### 4) 실험 설계

공시사료의 반추위내 분해율 측정을 위하여 배양시간 별 개별 공시축 당 2반복씩 총 6반복을 두었다.

##### 5) 반추위 내 영양소 소실을 측정 및 영양소 분해율 계산

ØrsKov 등(1980)의 방법에 따라 다음과 같이 실시하였다. 각각의 시료를 105°C에서 8시간 건조 후 충분히 방냉하고 Thomas willey mill(Thomas scientific, Model4, New Jersey, U.S.A.)로 분쇄한 후 standard testing sieve No.20, No.70을 이용하여 2mm 이하의 입자도를 가진 시료를 선별하였다. 가로 10cm, 세로 15cm의 nylon bag(pore size 45 $\mu$ )에 시료 5g을 넣은 후(sample size : bag surface area = 16.67mg/cm<sup>2</sup>) 반추위 cannula라 시술된 공시축 3두의 반추위 내 ventral sac 부위에

Table 1. Ingredients and chemical compositions of experimental diets.

Ingredients, % of dry matter	Contents
Corn	30.5
Soybean hull	6.1
Wheat hull	10.7
Soybean meal	6.1
Calcium phosphate	0.2
Limestone	0.6
Vitamin-mineral mix <sup>1</sup>	0.2
Orchardgrass	45.6
Total	100
Chemical composition <sup>2</sup>	
DM, %	98.09
CP, % DM	12.32
EE, % DM	2.30
NDF, % DM	38.92
ADF, % DM	24.70
Ash, % DM	6.12

<sup>1</sup>provided following nutrients per kg of additive: Vit. A 19,610 IU, Vit. D3 3,922 IU, Vit. E 7.77 IU, Niacin 74 mg, Mn 32.56 mg, Zn 32.56 mg, Fe 97.68 mg, Cu 16.28 mg, I 3.256 mg, Co 3.256 mg, B.H.T. 74 mg

<sup>2</sup>DM; dry matter, CP; crude protein, EE; ether extract, NDF; neutral detergent-insoluble fiber, ADF; acid detergent-insoluble fiber.

0, 3, 6, 9, 12, 24, 48, 60 시간 동안 현수, 배양한 후 꺼내어 냉수로 30분간 세척하여 60°C, 48시간 건조하였다. 0시간 배양 나일론백은 반추위 배양 없이 위와 같은 방법으로 세척 및 건조하였다. 건조한 시료는 방냉 후 무게를 측정하여 건물분해율을 측정하였다. 각각의 nylon bag에 반추위 반응 후 남은 residue를 반복 간 혼합하여 AOAC(1990) 방법에 의해 조단백질(976.05) 함량을 구하여 반추위 조단백질 분해율을 측정하였다. 건물 및 영양소 소화율은 Ha와 Kennelly(1984)의 방법에 의해 다음 공식으로 계산하였다.

$$\text{건물 소화율(\%)} = \frac{(\text{배양전 건물 중량}(g) - \text{배양후 건물 중량}(g))}{\text{배양전 영양소 건물}(g)} \times 100$$

$$\text{영양소소화율(\%)} = \frac{(\text{배양전 영양소 중량}(g) - \text{배양후 영양소 중량}(g))}{\text{배양전 영양소 중량}(g)} \times 100$$

6) 반추위 영양소의 유효 분해율 계산

반추위 내 분해율을 기초로 하여 Ørskov와 McDonald(1979)가 제안한 아래와 같은 지수 방정식을 이용하여 SAS(SAS, 2002)의 비선형 회귀방정식(PROC NLIN)으로 반추위 유효 분해율을 추정하였다.

$$P = a + b ( 1 - e^{-ct} )$$

$$EP = a + bc / ( c + k )$$

P : Degradability of nutrients at time "t"

a : Rapidly degradable fraction

b : Potentially degradable fraction

c : Constant fro b fraction

t : Rumen suspension time

k : Rumen passage rate per time

ED : Effective degradability

7) 시료 분석

본 실험의 모든 시료는 AOAC(1990)의 일반성분분석 방법에 의하여 건물(934.01), 조단백질(976.05), 조지방(920.39) 및 조회분(927.02)를 구하였다. 시료 내 중성세제 불용 섬유소와 산성세제 불용 섬유소는 Van Soest 등(1991)의 방법에 의해 구하였다.

나. 결과

Table 2. Chemical compositions of samples used<sup>1</sup>.

Feedstuff	DM	CP	EE	NDF	ADF	Ash
	-- % --	----- % of DM -----				
Rapeseed meal	90.76	40.30	1.13	21.60	12.42	10.45
Soybean meal	90.45	50.38	2.83	20.29	16.14	6.46
Corn gluten meal	92.26	63.16	1.51	35.33	24.10	1.54
Cottonseed meal	89.67	38.69	0.47	51.71	23.85	7.53
Corn germ meal	90.23	12.99	18.34	23.96	5.70	4.37
Soybean hull	90.29	11.81	1.98	66.79	50.76	3.92
Corn gluten feed	88.33	22.09	1.58	35.66	3.53	6.84
Wheat bran	88.39	16.27	3.89	40.13	9.61	5.08
Sunflower seed meal	91.45	14.58	5.78	51.80	39.19	10.64
Lupin	92.16	33.91	7.10	32.19	21.56	2.76
Palm meal	91.31	17.64	8.24	63.04	41.19	5.96
Coconut meal	90.61	23.85	1.96	55.05	26.13	6.73
Sesame oil meal	96.29	42.92	15.59	25.66	15.27	9.67

<sup>1</sup>DM; dry matter, CP; crude protein, EE; ether extract, NDF; neutral detergent-insoluble fiber, ADF; acid detergent-insoluble fiber.

Table 3. Disappearance rates (%) of dry matter of samples incubated in rumen

Incubation times	0	3	6	9	12	24	48	60
Rapeseed meal	27.02	51.80	60.82	71.70	74.42	80.06	84.26	82.94
Soybean meal	25.22	42.05	56.72	65.65	77.18	96.08	99.18	98.41
Corn gluten meal	2.14	19.84	30.83	32.41	34.61	43.15	73.56	76.17
Cottonseed meal	12.37	23.64	33.87	40.98	46.55	60.38	73.35	75.49
Corn germ meal	14.40	53.13	70.08	77.34	84.03	93.43	96.29	95.61
Soybean hull	15.89	22.10	23.36	29.49	33.74	54.72	71.80	93.38
Corn gluten feed	61.61	67.23	65.84	65.50	70.02	81.64	87.00	91.06
Wheat bran	25.93	47.34	51.31	59.98	64.65	67.68	77.87	85.87
Sunflower seed meal	15.26	22.85	27.32	32.49	34.73	39.13	49.80	50.66
Lupin	14.31	15.39	15.25	44.35	72.89	76.09	93.76	92.92
Palm meal	11.77	14.97	16.79	19.75	22.58	49.44	72.98	77.66
Coconut meal	25.08	25.92	29.37	32.16	40.11	68.24	77.51	82.83
Sesame oil meal	25.77	30.80	35.02	40.77	50.57	64.10	73.47	73.29

Table 4. Disappearance rates (%) of crude protein of samples incubated in rumen

Incubation times	0	3	6	9	12	24	48	60
Rapeseed meal	17.17	68.69	76.07	87.88	87.91	90.49	93.04	91.97
Soybean meal	12.04	26.37	45.95	54.55	70.49	94.00	98.84	97.68
Corn gluten meal	0.36	0.82	9.99	10.20	11.37	18.68	62.83	67.25
Cottonseed meal	16.82	21.42	41.31	54.85	63.53	76.54	88.06	85.98
Corn germ meal	15.76	43.06	65.91	66.39	76.23	89.56	91.68	90.42
Soybean hull	25.35	36.10	40.06	47.61	49.53	67.49	75.60	84.68
Corn gluten feed	61.61	67.23	65.84	65.50	70.02	81.64	87.00	91.06
Wheat bran	26.79	49.12	53.70	64.09	73.13	77.90	89.27	96.31
Sunflower seed meal	12.67	38.92	46.47	50.91	57.83	63.01	87.36	87.73
Lupin	14.31	15.39	15.25	44.35	72.89	76.09	93.76	92.92
Palm meal	13.03	15.92	15.19	16.63	19.37	34.42	55.82	71.28
Coconut meal	13.73	14.76	14.72	15.67	19.03	44.35	61.69	80.55
Sesame oil meal	20.96	25.68	26.80	31.83	40.65	54.30	64.49	64.92

Table 5. Effective degradability of samples incubated in rumen

Feedstuff	Parameters			EPD <sup>4</sup>
	a <sup>1</sup>	b <sup>2</sup>	c <sup>3</sup>	
Rapeseed meal	17.89	72.84	0.3433	81.47
Soybean meal	9.02	84.75	0.0859	67.01
Corn gluten meal	0.00	99.37	0.0182	22.55
Cottonseed meal	12.08	75.92	0.0841	59.69
Corn germ meal	16.60	74.16	0.1473	71.96
Soybean hull	26.62	59.48	0.0449	54.76
Corn gluten feed	61.34	36.31	0.0272	74.13
Wheat bran	29.88	61.91	0.0883	69.40
Sunflower seed meal	19.98	67.01	0.0667	58.29
Lupin	4.32	88.03	0.0703	55.76
Palm meal	8.48	86.86	0.0164	29.94
Coconut meal	6.78	98.44	0.0182	33.05
Sesame oil meal	18.24	48.91	0.0480	42.19

<sup>1</sup>Rapidly soluble fraction.

<sup>2</sup>Potentially degradable fraction.

<sup>3</sup>Constant for b fraction.

<sup>4</sup>Effective degradability of crude protein at the passage rate(k) of 0.05

## 2. Mobile nylon bag 기법에 의한 원료사료의 반추위 및 하부장기내 영양소 분해율 측정

### 가. 실험 방법

#### 1) 실험동물

반추위 cannula를 시술한 평균체중 465.00±15.56kg의 한우 거세우 3두를 실험동물로 공시하였다.

#### 2) 실험기간 및 장소

실험동물 적응기간 포함 28일간 축산연구소 가축대사실험실에서 실시하였다.

Table 1. Ingredients and chemical compositions of experimental diets.

Ingredients, % of DM	Contents
Corn	30.5
Soybean hull	6.1
Wheat hull	10.7
Soybean meal	6.1
Calcium phosphate	0.2
Limestone	0.6
Vitamin-mineral mix <sup>1</sup>	0.2
Orchardgrass	45.6
Total	100
Chemical composition <sup>2</sup>	
DM, %	98.09
CP, % DM	12.32
EE, % DM	2.30
NDF, % DM	38.92
ADF, % DM	24.70
Ash, % DM	6.12

<sup>1</sup>provided following nutrients per kg of additive: Vit. A 19,610 IU, Vit. D3 3,922 IU, Vit. E 7.77 IU, Niacin 74 mg, Mn 32.56 mg, Zn 32.56 mg, Fe 97.68 mg, Cu 16.28 mg, I 3.256 mg, Co 3.256 mg, B.H.T. 74 mg

<sup>2</sup>DM; dry matter, CP; crude protein, EE; ether extract, NDF; neutral detergent-insoluble fiber, ADF; acid detergent-insoluble fiber.

### 3) 실험사료 및 사양관리

실험사료는 국내 배합사료 공장에서 단백질 단미사료로 이용하고 있는 원료 13종(대두박, 채종박, 옥글루텐박, 옥배아박, 면실박, 대두피, 소맥피, 단백피, 루핀, 해바라기씨박, 팜박, 야자박, 호마박)을 이용하였다.

본 실험에서 공시축에 급여한 사료의 조사료 대 농후사료 비율과 화학적 조성은 Table 1과 같으며 물과 미네랄 블록은 자유채식 시켰다. 실험동물은 실험시작 2주전부터 사료 및 환경에 적응시켰으며 사료급여는 1일 8kg을 이등분하여 09:00, 17:00시에 2회에 나누어 급여하였다.

### 4) 실험 설계

공시사료의 반추위 및 제4위 내 분해율 측정을 위하여 배양시간 별 개별 공시축 당 각각 5반복 씩 총 15반복을 두었고 소장 내 분해율 측정을 위하여 개별 공시축 당 10반복 씩 총 30반복을 두었다.

### 5) 장관별 영양소 소실율 측정

소화기관별 각 영양소의 소실율은 Hvelpund 등(1992)의 방법에 따라 다음과 같이 실시하였다.

#### 가) 반추위 bypass율 측정

각각의 시료를 105℃에서 8시간 건조 후 충분히 방냉하고 Thomas willey mill(Thomas scientific, Model4, New Jersey, U.S.A.)로 분쇄한 후 standard testing sieve No.20, No.70을 이용하여 2mm 이하의 입자도를 가진 시료를 선별하였다. 가로 5cm, 세로 3cm의 mobile nylon bag(pore size 45 $\mu$ )에 시료 0.5g을 넣은 후(sample size : bag surface area = 16.67mg/cm<sup>2</sup>) 반추위 cannula라 시술된 공시축 3두의 반추위 내 ventral sac 부위에 16 시간 동안 현수, 배양한 후 꺼내어 냉수로 30분 간 세척하였다. 반추위 bypass율을 측정하기 위한 mobile bag은 60℃에서 48시간 건조, 방냉 후 무게측정 하여 반추위 bypass율을 측정하고 나머지 mobile bag은 반추위 하부 장기 분해율 측정 실험을 수행하였다.

#### 나) 제4위 분해율 측정

16시간 동안의 반추위 소화를 거친 mobile bag을 HCl과 pepsin을 넣은 인공 4위액에 65℃에서 3시간 분해한 후 냉수로 30분간 세척하였다. 제4위 분해율을 측정하기 위한 mobile bag은 60℃에서 48시간 건조, 방냉 후 무게측정 하여 제4위 분해율을 측정하고 나머지 mobile bag은 제4위 하부 장기 분해율 측정 실험을 수행하였다.

다) 소장 분해율 측정

제4위 분해율 측정 시험을 거친 mobile bag을 십이지장 cannula(T-type PVC)를 시술한 시험축 3두에 40분 간격으로 1개씩 투입하였다. 약 36시간 후 분으로 배설된 mobile bag을 수거하여 냉수에 30분간 세척하여 60℃에서 48시간 건조, 방냉 후 무게측정 하여 소장 분해율을 측정하였다.

라) 시료 분석

각각의 mobile bag에 반추위 반응 후 남은 residue를 반복 간 혼합하여 AOAC(1990) 방법에 의해 조단백질(976.05) 함량을 구하여 반추위 조단백질 분해율을 측정하였다.

6) 각 소화관별 영양소 분해율 계산

각 소화관별 건물 및 영양소 소화율은 Ha와 Kennelly(1984)의 방법에 의해 앞 실험과 같이 계산하였다.

하부 장기 내 건물 및 영양소 분해율은 총 소화관 내 분해율(%)에서 반추위 내 분해율(%)을 빼서 계산하였다.

나. 결과

Table 2. Disappearance rates (%) of dry matter of samples in different sites of gastro-intestine.

Feedstuff	Rumen	Abomasum	Small intestine	Total
Rapeseed meal	60.59	3.30	14.70	78.60
Soybean meal	78.31	6.65	7.19	92.16
Corn gluten meal	21.52	11.50	54.30	87.33
Cottonseed meal	38.18	3.66	20.49	62.33
Corn germ meal	62.53	3.33	22.36	88.22
Soybean hull	34.96	0.40	8.84	44.21
Corn gluten feed	57.48	1.23	9.21	67.93
Wheat bran	60.51	3.79	10.48	74.79
Sunflower seed meal	27.91	2.91	15.87	46.68
Lupin	69.41	0.94	14.67	85.02
Palm meal	32.02	3.07	25.02	60.11
Coconut meal	48.47	1.85	26.47	76.79
Sesame oil meal	46.41	2.84	33.37	82.61

Table 3. Disappearance rates (%) of crude protein of samples in different sites of gastro-intestine.

Feedstuff	Rumen	Abomasum	Small intestine	Total
Rapeseed meal	62.12	2.77	27.06	91.96
Soybean meal	71.77	5.71	20.50	97.98
Corn gluten meal	10.83	19.15	57.76	87.75
Cottonseed meal	29.18	7.10	42.61	78.89
Corn germ meal	65.44	1.37	25.35	92.17
Soybean hull	70.31	1.44	13.96	85.71
Corn gluten feed	65.55	1.64	24.89	92.08
Wheat bran	63.61	4.64	27.80	96.05
Sunflower seed meal	70.05	0.48	24.14	94.67
Lupin	69.62	1.11	27.27	98.00
Palm meal	44.61	2.00	42.33	88.94
Coconut meal	27.13	2.67	61.62	91.43
Sesame oil meal	10.64	1.95	62.75	75.34

### 3. CNCPS 기법에 의한 원료사료의 nitrogen fractionation

#### 가. 실험 방법

실험사료는 국내 배합사료 공장에서 단백질 단미사료로 이용하고 있는 원료 13종(대두박, 채종박, 옥글루텐박, 옥배아박, 면실박, 대두피, 소맥피, 단백질, 루핀, 해바라기씨박, 팥박, 야자박, 호박)을 이용하였고 Licitra 등(1996)의 방법에 의해 다음과 같이 분석하였다.

#### 1) Non-protein nitrogen(NPN)

건조 분쇄한 0.5g의 샘플을 달아 125ml 삼각 플라스크에 담고 증류수 50ml을 넣은 후 sodium tungstate 용액 8ml을 넣고 20~25°C에서 30분간 정치시켰다. 0.5M 황산 10ml을 첨가해서 pH2로 맞춘 후 실온에서 하루동안 정치시켰다. Filter paper를 장착한 깔대기를 준비한 후 증류수로 충분히 적신 후 샘플을 약한 진공압으로 여과하였다. 잔량은 차가운 증류수로 두 번 씻어준 후 paper를 Kjeldahl flask에 옮겨 남은 질소를 측정하였으며, 총질소로부터 기질의 남은 질소로 NPN을 계산하였다.

#### 2) Soluble nitrogen and protein(buffer-soluble nitrogen)

건조 분쇄한 0.5g의 샘플을 125ml 삼각플라스크에 담고 50ml의 borate-phosphate buffer(monosodium phosphate 12.20g l<sup>-1</sup>, sodium tetraborate 8.91g l<sup>-1</sup>, tertiary butyl alcohol 100ml l<sup>-1</sup>)을 넣고 sodium azide 용액을 1ml 넣었다. 이후 실온에서 3시간 동안 정치한 후 filter paper를 이용하여 약한 진공압으로 여과하였다. 잔량을 250ml의 차가운 증류수로 씻은 후 켈달법을 사용하여 질소를 측정하였으며 총 조단백질과의 차이로 soluble protein을 계산하였다.

#### 3) Neutral detergent insoluble nitrogen(NDIN) and acid-detergent insoluble nitrogen(ADIN)

Sample 1~2g을 NDF 및 ADF 분석절차에 따라 분석(Van soest, 1991)한 후 여과지에 남은 잔량을 켈달법을 이용하여 질소 분석을 하였으며 총질소의 비율은 N×6.25로 NDIN 및 ADIN을 나타냈다.

나. 결과

Table 1. Nitrogen fractionation (%) of samples

Feedstuff	A	B <sub>1</sub>	B <sub>2</sub>	B <sub>3</sub>	C
Rapeseed meal	25.23	15.71	26.03	22.16	10.87
Soybean meal	5.63	4.17	38.49	29.68	22.03
Corn gluten meal	2.73	1.42	31.88	23.18	40.78
Cottonseed meal	5.89	6.60	48.95	27.85	10.70
Corn germ meal	29.70	6.08	22.34	21.99	19.89
Soybean hull	10.68	8.05	23.28	34.39	23.61
Corn gluten feed	66.34	0.52	14.28	10.82	8.04
Wheat bran	16.83	1.94	32.30	37.99	10.94
Sunflower seed meal	15.06	0.59	41.20	22.04	21.11
Lupin	30.45	20.11	6.69	25.74	17.02
Palm meal	1.62	3.54	21.55	40.72	32.58
Coconut meal	3.67	5.63	12.29	51.87	26.54
Sesame oil meal	20.13	1.27	29.74	24.59	24.27

#### 4. CNCPS와 나일론백, 모바일백 방법을 통한 N의 비교평가

In situ 방법인 Nylon bag과 mobile bag 방법에 의해 측정된 RDP, UDP, UDIN과 in vitro 방법인 CNCPS 방법으로 측정된 각 nitrogen fraction 값 간의 비교를 통하여 단백질 사료가치 평가의 in vitro 대체를 검토하였다. 결과는 Table 1과 Fig. 1~5와 같다.

Table 1. Comparison of nitrogen fractions (%) between in situ and CNCPS<sup>1</sup>.

Feedstuff	RDP	A+B1	A+B1+B2	UDP	B1+B2+B3	B2+B3	UDIN	C
Rapeseed meal	81.5	40.9	81.1	18.5	25.6	48.2	8.0	10.9
Soybean meal	67.0	9.8	42.0	33.0	65.7	68.2	2.0	22.0
Corn gluten meal	22.6	4.2	51.1	77.5	72.2	55.1	12.3	40.8
Cottonseed meal	59.7	12.5	58.1	40.3	50.4	76.8	21.1	10.7
Corn germ meal	72.0	35.8	67.0	28.0	63.9	44.3	7.8	19.9
Soybean hull	54.8	18.7	48.3	45.2	72.3	57.7	14.3	23.6
Corn gluten feed	74.1	66.9	36.0	25.9	56.5	25.1	7.9	8.0
Wheat bran	69.4	18.8	61.5	30.6	83.4	70.3	4.0	10.9
Sunflower seed meal	58.3	15.7	51.1	41.7	55.6	63.2	5.3	21.1
Lupin	55.8	50.6	56.9	44.2	63.8	32.4	2.0	17.0
Palm meal	29.9	5.2	26.7	70.1	65.8	62.3	11.1	32.6
Coconut meal	33.1	9.3	57.2	67.0	52.5	64.2	8.6	26.5
Sesame oil meal	42.2	21.4	21.6	57.8	69.8	54.3	24.7	24.3

<sup>1</sup>The Cornell Net Carbohydrate and Protein System

<sup>2</sup>RDP; ruminally degradable protein estimated by effective protein degradability (EPD), RUP; ruminally undegradable protein estimated by 100-EPD, UDIN; undegradable intake nitrogen estimated by the portion of undigested protein throughout gastro-intestine in the mobile bag trial.

가. RDP와 A+B1 또는 A+B1+B2 fraction

RDP와 CNCPS의 nitrogen fraction의 비교에서는 A+B1 fraction이  $Y = 0.66X - 12.87$ 의 관계식으로 P value가 0.02로 유의수준을 갖지만 A+B1+B2 fraction과는 상관관계가 존재하지 않는다.

1) RDP vs A+B1 fraction

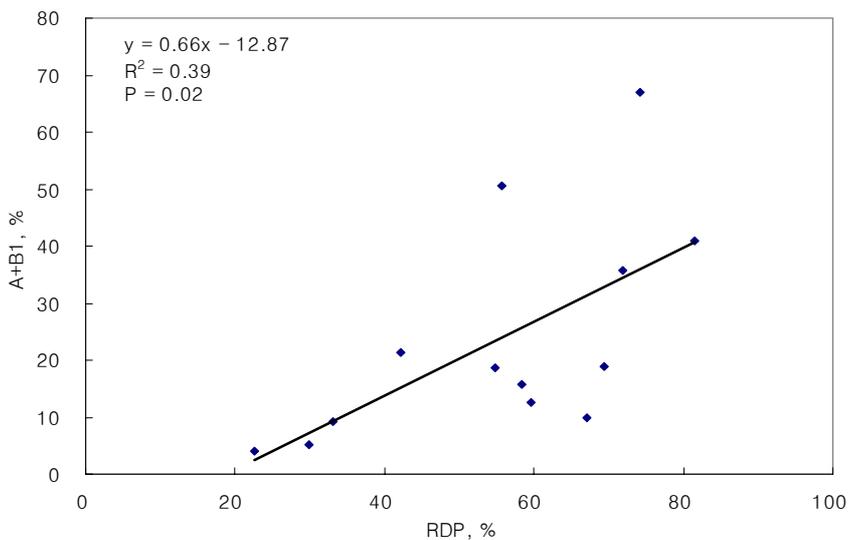


Figure 1. Relationships between ruminally degradable protein (RDP) estimated by in situ trial and A+B1 fractions estimated by CNCPS.

2) RDP vs A+B1+B2 fraction

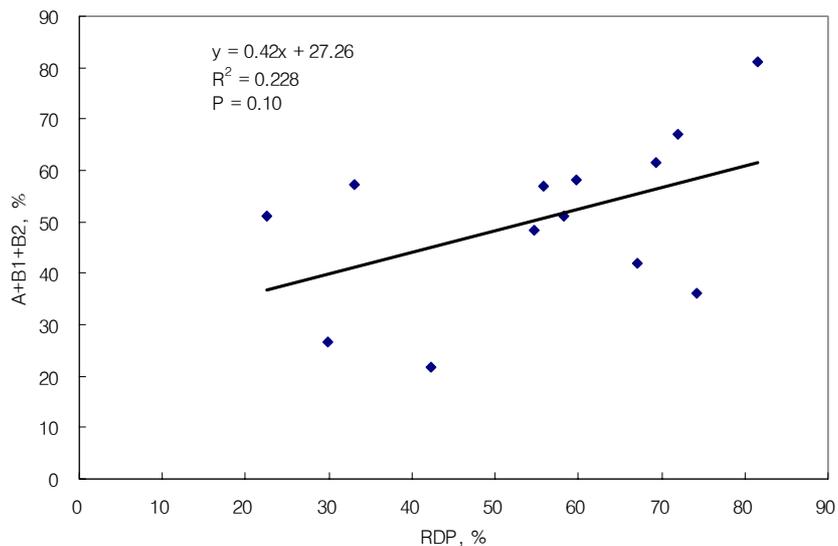


Figure 2. Relationships between ruminally degradable protein (RDP) estimated by in situ trial and A+B1+B2 fractions estimated by CNCPS.

나. RUP와 B1+B2+B3 혹은 B2+B3 fraction

RUP와 CNCPS의 nitrogen fraction의 비교에서는 B1+B2+B3 혹은 B2+B3 fraction 모두 상관관계가 존재하지 않는 것으로 나타났다.

1) RUP vs B1+B2+B3 fraction

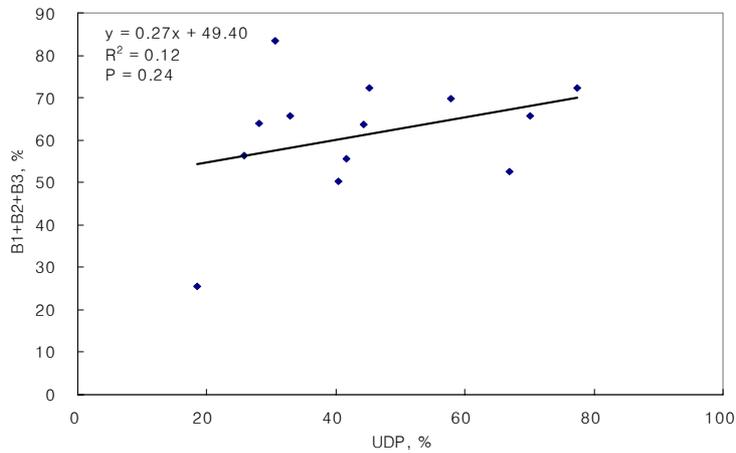


Figure 3. Relationships between ruminally undegradable protein (RUP) estimated by in situ trial and B1+B2+B3 fractions estimated by CNCPS.

2) RUP vs B2+B3 fraction

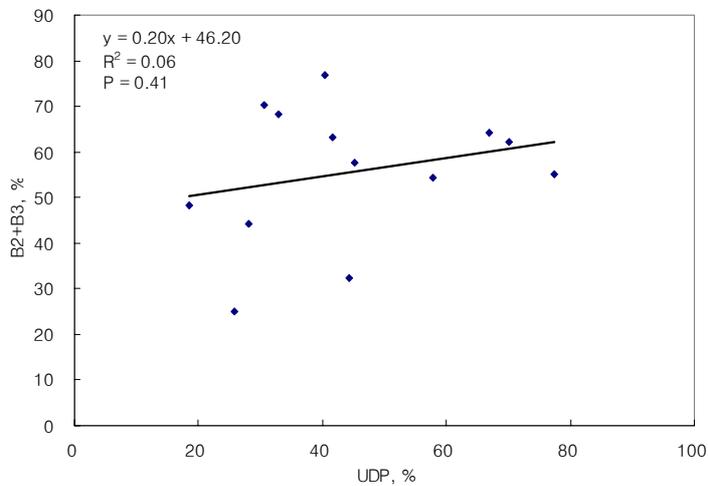


Figure 4. Relationships between ruminally undegradable protein (RUP) estimated by in situ trial and B2+B3 fractions estimated by CNCPS.

다. UDIN과 C fraction

UDIN과 CNCPS의 C nitrogen fraction간에 상관관계가 존재하지 않는 것으로 나타났다.

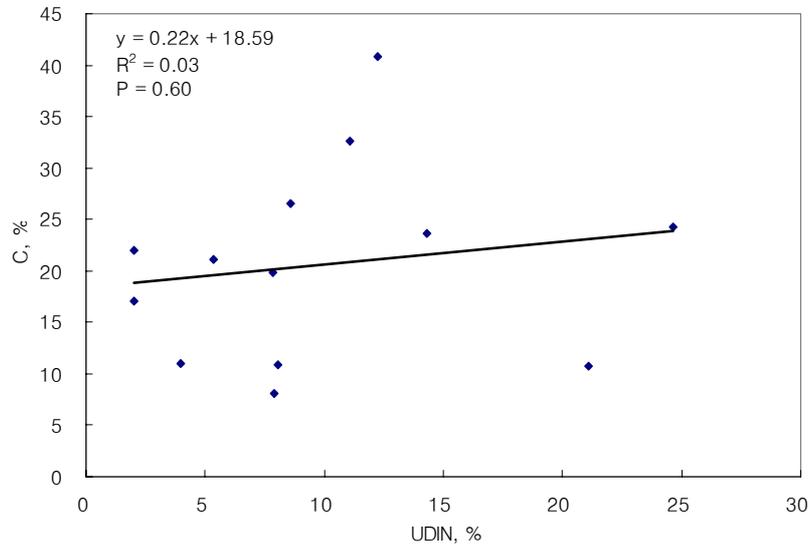


Figure 5. Relationships between undegradable intake nitrogen estimated by in situ trial and C fraction estimated by CNCPS.

## 5. 반추위내 soluble N 분해패턴 측정 시험

### 가. 실험 방법

#### 1) 시험기간 및 공시동물

시험은 각 21일로 이루어진 5반복, 총 105일 동안 진행되었다. 공시축은 5두의 반추위 캐놀라가 장착된 거세한우였고, 평균체중은  $622.2 \pm 26.57\text{kg}$ 이었다.

#### 2) 시험사료 및 사료급여

기초사료는 옥수수 사료를 주원료로 하는 배합사료와 볏짚을 사용하였고, 각각의 처리구당 대두박과 콘글루텐밀을 수준별로 첨가하여 CP 수준을 맞추었다. 각 시험구의 사료원료와 화학적조성은 Table 1과 같다. 사료적용기에는 볏짚 1kg과 배합사료 4kg을 기초사료로 1일 2회로 나누어 급여했다. 시험기간중의 사료급여는 9kg의 사료를 1일 2회 아침 9시와 오후 5시에 나누어 급여하였다.

#### 3) 시험설계

단백질의 분해도와 수준에 따라 5개의 시험구로 나뉘었는데, CP 함량 7%인 대조구(Control)와 대표적인 RUP 급원인 콘글루텐밀 저수준(LCGM; CP: 11%)과 고수준(HCGM; CP: 14%), RDP 급원인 대두박 저수준(LSBM; CP: 11%)과 고수준(HSBM; CP: 14%)의 5개 시험구였고, 5개의 period로 5×5 Latin square design이 적용되었다.

#### 4) 조사항목 및 분석방법

##### 가) 시험사료

사료샘플은 각 period의 시작하는 날로부터 3일간 grab sampling 하였고, 매일 아침과 저녁으로 분리하여 채취, 사료의 일반성분 및 NDF, ADF 분석을 하였다. 채취한 시료는 60°C 송풍건조기에서 48시간동안 건조한 후 Willey mill(Thomas scientific, Model4, New Jersey, U.S.A.)을 사용 분쇄하여 1mm screen을 통과한 시료를 분석용으로 사용 하였다. 일반성분의 분석은 A.O.A.C법(1990)에 준하여 분석하였고 NDF, ADF는 Van Soest 등(1991)의 방법에 따라 분석 하였다.

##### 나) 반추위 내용물의 채취

반추위 내용물은 각 period의 20일째 날 반추위 캐놀라를 통하여 0, 1, 3, 5, 7h에 300ml정도 채취하였다. 채취한 반추위액은 즉시 4겹의 거즈를 이용, 여과하여 pH(Corning model 530 pH meter)를 측정한 후 VFA, NH<sub>3</sub>-N, α-amino N을 분석하였다.

Table 1. Ingredient and chemical composition of experimental diets

Items	Diets <sup>1</sup>				
	Control	LCGM	HCGM	LSBM	HSBM
Ingredients (% of dry matter)					
Corn(ground)	53.60	50.61	48.79	51.44	46.75
Cottonseed hull	18.88	17.83	17.18	18.12	16.47
Skimmed rice bran	6.40	6.04	5.83	6.14	5.58
Calcium phosphate	0.64	0.60	0.58	0.62	0.56
Mineral-vitamin additive <sup>2</sup>	0.16	0.15	0.14	0.15	0.14
Salt	0.32	0.30	0.29	0.31	0.28
Corn gluten meal	-	5.58	11.63	-	-
Soybean meal	-	-	-	8.77	17.99
Rice straw	20.00	18.89	15.56	14.44	12.22
Total	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
Composition (% of dry matter)					
Dry matter (% of fed basis)	87.54	87.77	88.00	87.44	87.38
Crude protein	7.26	10.37	13.79	10.65	14.17
Ether extract	2.93	2.89	2.89	2.87	2.75
Crude fiber	16.15	15.29	13.89	14.43	13.38
Neutral detergent fiber	33.32	31.69	29.13	29.91	27.66
Acid detergent fiber	20.71	19.65	18.00	18.62	17.25

<sup>1</sup>LCGM; low level of corn gluten meal, HCGM; high level of corn gluten meal, LSBM; low level of soybean meal, HSBM; high level of soybean meal.

<sup>2</sup>provided following nutrients per kg of additive: Vit. A, 2,650,000IU; Vit. D<sub>3</sub>, 530,000IU; Vit. E, 1,050 IU; Niacin, 10,000mg; Mn, 4,400mg; Zn, 4,400mg; Fe, 13,200mg; Cu, 2,200mg; I, 440mg; Co, 440mg.

#### 다) 반추위 VFA

VFA는 반추위액을 4겹의 gauze로 여과한 후 위액 5ml에 HgCl<sub>2</sub> 0.05ml, H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> 1ml, pivalic acid 0.2ml을 넣고 4°C에서 30분간 정치시키고, 3000rpm에서 20분간 원심 분리 후 상층액을 취하여 GC(Gas chromatography; VARIAN model CP-3800)를 이용하여 분석하였다(Erwins 등, 1961).

#### 라) 반추위 NH<sub>3</sub>-N

반추위 암모니아 농도는 채취한 위액을 4겹의 gauze로 여과 후 미생물 작용

을 정지시키기 위해 HgCl<sub>2</sub>를 넣고, 3000rpm에서 20분간 원심분리 후 Chaney와 Marbach(1962)의 방법에 의해 UV spectrophotometer (BIO-TEK KONTRON model UVIKON923)를 이용하여 분석하였다.

마) 반추위 용해성 비암모니아태 질소화합물(SNAN; soluble non-ammonia nitrogen)

Choi 등(2002a)의 방법에 따라 다음과 같이 sample preparation 및 분석을 수행 하였다. 반추위액을 1,000×g, 4℃로 10분간 원심분리하여 작은 입자와 반추위 프로토조아를 제거한 후 10,000×g, 4℃로 30분 간 원심분리하여 반추위 박테리아를 제거하여 그 상층액을 trichloroacetic acid(TCA; 최종농도 5% w/v)로 처리하여 수용성 단백질을 침전을 위해 하룻밤 냉장 보관한 후 10,000×g, 4℃로 30분 간 원심분리 하였다. 상층액에 free AA, peptide 및 암모니아가 함유되어 있고 TCA로 침전된 덩어리(pellet)에는 주로 수용성 단백질이 존재한다. 암모니아태 질소는 α-amino acid assay를 하기 전에 알칼리 열처리(1M NaOH, 60℃ 20분)로 제거하였다. 침전된 pellet에는 무시할 정도의 암모니아태 질소를 가지고 있기 때문에(Choi 등, 2002a) 수용성 단백질태 질소는 암모니아태 질소를 보정하지 않았다. Pellet을 5% TCA로 조심스럽게 세척하여 남아 있는 잔기를 제거한 후 상층액과 세척한 pellet을 45분 간 N<sub>2</sub> 가스로 flushing한 6N HCl(최종농도)로 처리한 후 각 샘플을 산 가수분해 전에 20~30초 간 N<sub>2</sub> 가스로 flushing하였다. 상층액 또는 pellet을 함유한 tube의 마개를 꼭 닫고 110℃, 24시간 동안 가수분해시켰다. 가수분해시킨 상층액 및 pellet 샘플과 가수분해시키지 않은 상층액 샘플을 45℃, 진공 하에서 증발건조 시킨 후 건조된 샘플을 증류수에 용해시켰다.

반추위 수용성 비암모니아태 질소화합물의 각각의 질소 분석은 EBC standard ninhydrin assay를 이용하여 다음과 같이 평가하였다.

- ① free AA는 산 가수분해 하지 않은 상층액 내 질소로 추정
- ② peptide는 가수분해 시킨 상층액 내 질소에서 free AA 질소를 빼서 추정
- ③ 수용성 단백질은 TCA 침전물의 가수분해 후 분석한 질소로 추정

바) 혈액 채취 및 분석

혈액은 각 period의 마지막 날 오전 9시와 오후3시에 경정맥에서 채취한 후 헤파린 처리가 되어있는 진공튜브에 담아 3500rpm으로 4℃에서 15분간 원심분리 후 상층액을 취해 혈액분석기(CIBA-Corning model express plus)를 이용하여 BUN, albumin, total protein, creatinine을 분석하였다.

#### 사) 미생물체 단백질 합성량

미생물체 단백질 합성량은 Borchers(1977)등의 방법에 의거하여 UV spectrophotometer(BIO-TEK KONTRON model UVIKON923)를 이용하여 아래와 같이 분석하였다.

노 샘플을 100ml volumetric flask를 이용하여 1:50으로 희석하였다. 100ml sample병에 옮겨 담은 다음, NaOH를 이용하여 pH를  $8.0\pm 0.5$ 로 조정하였다. 희석 노 샘플 2.5ml을 test tube에 담고  $150\mu\text{l}$  xanthin oxidase를 넣고 2시간 배양했다. 다시  $150\mu\text{l}$  uricase 넣고 2시간 배양하는데, 이때 노 샘플 내 hypoxanthine과 xanthine이 xanthine oxidase에 의해 uric acid로 전환되고 이는 다시 uricase에 의해 allantoin으로 전환된다. 0.5ml 0.6M NaOH를 넣어준 다음  $100^{\circ}\text{C}$  water bath에서 10-15분간 끓여준다. Alkaline hydrolysis로 allantoin은 allantoic acid로 전환된다. 즉각적으로 1ml의 0.1% 2,4 dinitro phenylhydrazine in 2M HCl를 넣어주어 다시 2-4분간 끓여주는데, 여기서 acid hydrolysis로 allantoic acid를 urea + glyoxylic acid로 전환시키고 발색제의 작용으로 glyoxylic acid의 phenylhydrazone이 형성되고 산화되어 chromophore를 만들게 된다. 이후 찬물에서 상온에 도달할 때까지 냉각한 후 5ml의 2.5M NaOH를 넣고 10분 간 상온에서 정치하였다. 샘플의 OD 값을 520nm로 측정하였다.

#### 아) 분, 노 채취 및 분석

노는 각 period의 마지막 3일간 채취를 하였는데, 노는 채취하기 전날 오전 9시에 4N황산을 노 수거통에 넣어둔 후 다음날 오전9시에 채취하여 배설량을 측정 한 후 질소 함량을 켈달법에 의해 측정하였다. 분도 노와 같은 기간 동안 채취하여 배설량을 측정하고 잘 교반하여 500g씩 샘플링 한 후 DM, CP를 분석하였다.

#### 5) 통계분석

분석 및 획득된 결과의 유의성을 검증하기 위하여 통계분석은 SAS Procedure(2002)을 이용하였다. BUN, albumin, total protein, creatinine, 미생물체 단백질, 질소 축적을 등은 GLM으로 유의성을 검증 하였으며, pH, VFA,  $\text{NH}_3\text{-N}$ , SNAN은 mixed procedure(Littell 등, 1998)를 이용하였다.

나. 결과

1) 반추위 pH

Table 2와 Fig. 1은 사료내 CP 함량과 RDP 및 RUP수준에 따른 pH의 변화를 나타낸 것이다. 사료급여 후 1시간과 3시간의 HCGM(high level corn gluten meal)과 HSBM(high level soybean meal)의 pH는 급여 후 1시간이 각각 6.88, 6.74, 3시간이 6.70, 6.40으로 HSBM처리구가 HCGM 처리구에 비해서 낮게 나타났는데 ( $P<0.05$ ), 이것은 비교적 분해가 활발한 1시간에서 3시간까지에 비슷한 에너지 수준 하에서 반추위 분해속도가 빠른 대두박이 다량 급여됨으로 인해서 분해되는 유기물이 많았기 때문인 것으로 보인다. 그러나 한 feeding cycle로 보았을 때의 pH는 처리구 별로 큰 차이를 보이지 않았는데, 이것은 Robinson과 McQueen(1992), Reynal과 Broderick(2003) 등과 유사한 결과를 나타냈다. 반추위 pH가 5.5 이하로 떨어지면 섬유소 분해율이 매우 낮아지는데(Hoover, 1986), 본 실험에서는 처리구 공히 조사된 시간대 범위에서 반추위 pH농도가 최소 6.4 이상을 유지하였다.

Table 2. Effect of CP contents and levels of RDP and RUP in diets on changes in ruminal pH, concentrations of ammonia and volatile fatty acids (VFA).

Items	Diet <sup>1</sup>					S.E.M	Statistical significance of <sup>2</sup>		
	Control	LCGM	HCGM	LSBM	HSBM		C <sub>1</sub>	C <sub>2</sub>	C <sub>3</sub>
pH	6.79	6.74	6.76	6.7	6.66	0.09	0.2201	0.7767	0.1726
Ammonia, mg/L	37.4	34.4	58.87	70.94	103.22	17.72	0.1400	0.1100	0.0300
VFA, mM									
Acetate	71.45	69.27	68.75	67.81	72.4	5.4	0.7136	0.6311	0.7951
Propionate	18.83	18.82	18.73	19.53	19.39	1.96	0.8739	0.9385	0.6412
Isobutyrate	0.97	1.07	1.26	1.36	1.65	0.12	0.0020	0.0081	0.0008
Butyrate	9.92	9.58	9.03	11.84	13.65	1.3	0.3456	0.5104	0.0038
Isovalerate	1.94	2.56	2.50	2.50	2.73	0.26	0.0731	0.6931	0.7874
Valerate	0.80	0.98	1.09	1.17	1.39	0.09	0.0019	0.0421	0.0073
Total	103.86	102.17	101.70	104.37	111.54	8.44	0.8874	0.5982	0.3509

<sup>1</sup>LCGM; low level of corn gluten meal, HCGM; high level of corn gluten meal, LSBM; low level of soybean meal, HSBM; high level of soybean meal.

<sup>2</sup>Statistical significance of treatment by mixed procedure; C1, control vs. protein ; C2, low protein vs. high protein; C3, CGM vs. SBM.

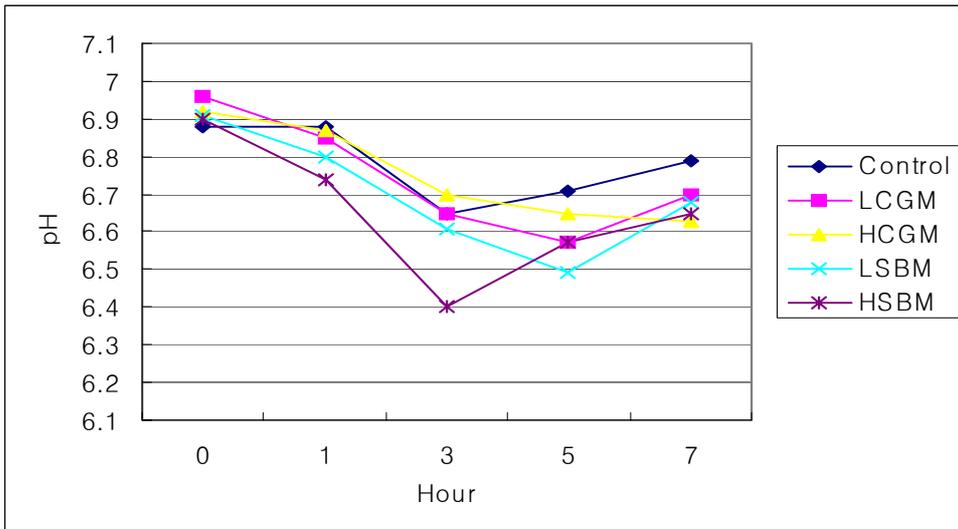


Figure 1. Effect of CP contents and levels of RDP and RUP in diets on changes in ruminal pH (LCGM; low level of corn gluten meal, HCGM; high level of corn gluten meal, LSBM; low level of soybean meal, HSBM; high level of soybean meal).

## 2) 반추위 VFA 농도

사료 내 CP 함량, RDP 및 RUP 수준이 반추위 내용물의 VFA 생성에 미친 영향에 관한 결과는 Table 2와 Figure 2에 나타난 바와 같다.

반추위내 total VFA, acetate, propionate의 농도는 전체적으로 보았을 때, 각 처리구에 따라 유의적인 차이가 없었다. 이는 단백질 사료의 종류가 VFA 농도에 특별한 영향을 주지 않는다는 Prichard와 Males(1985), Santos등(1984) 및 Stern 등(1983)의 결과와 유사한 경향이다. VFA는 미생물이 성장을 위해 요구되는 ATP를 얻기 위해서 주로 탄수화물을 분해할 때 생기는 부산물로 시험사료의 탄수화물 함량이 비슷한 결과 발생된 총 VFA가 비슷했던 것으로 생각된다. 한편 사료급여 후 3시간에 있어서의 total VFA, acetate, propionate의 농도는 CGM 급여구보다 SBM 급여구에서 높게 나타났고( $P < 0.05$ ), 특히 HCGM구에 비해 HSBM구에서 높게 나타났는데( $P < 0.05$ ), 이는 사료급여 후 1시간에서 3시간까지 HCGM구보다 HSBM구의 pH가 더 낮았던 것과 관련이 있는 것으로 보인다. Iso-butyrate의 농도는 대조구보다 처리구에서, CGM구에 비해 SBM구에서 높게 나타났다( $P < 0.05$ ). Butyrate의 농도는 CGM구에 비해 SBM구에서 높게 나타났고( $P < 0.05$ ), iso-valerate의 농도는 대조구에 비해 처리구가, 단백질 저수준에 비해 고수준에서 높게 나타났다( $P < 0.05$ ). Valerate 농도는 대조구 보다 처리구에서, CGM구에 비해 SBM구에서 높게 나타났다( $P < 0.05$ ).

Bryant(1973)는 branched chain fatty acid(BCFA)인 iso-butyric acid와 iso-valeric acid의 탄소골격은 섬유소 분해 박테리아의 성장에서 branched chain amino acid(BCAA)의 합성에 이용됨을 보고하였다. 따라서 반추위내 BCFA 농도가 낮으면 미생물 성장을 제한한다고 하였다(Cline 등, 1966). 또한 Hoover 등(1986)은 BCAA의 반추위 이화 작용으로부터 유래된 BCFA가 섬유소 분해 박테리아의 성장에 있어서 매우 중요하다고 하였다. 따라서 iso-butyrate와 iso-valerate의 전구물질이 각각 valine과 leucine이고 반추위내 분해율이 더 높은 SBM구에서 단백질공급이 더 많았기 때문에 BCFA의 농도가 더 높게 나타난 것으로 보인다. 또한 CGM에서의 비교적 낮은 BCFA의 농도는 미생물의 성장을 억제하여 반추위 암모니아의 농도와 미생물 단백질 생성량에 영향을 미쳤을 것으로 보인다.

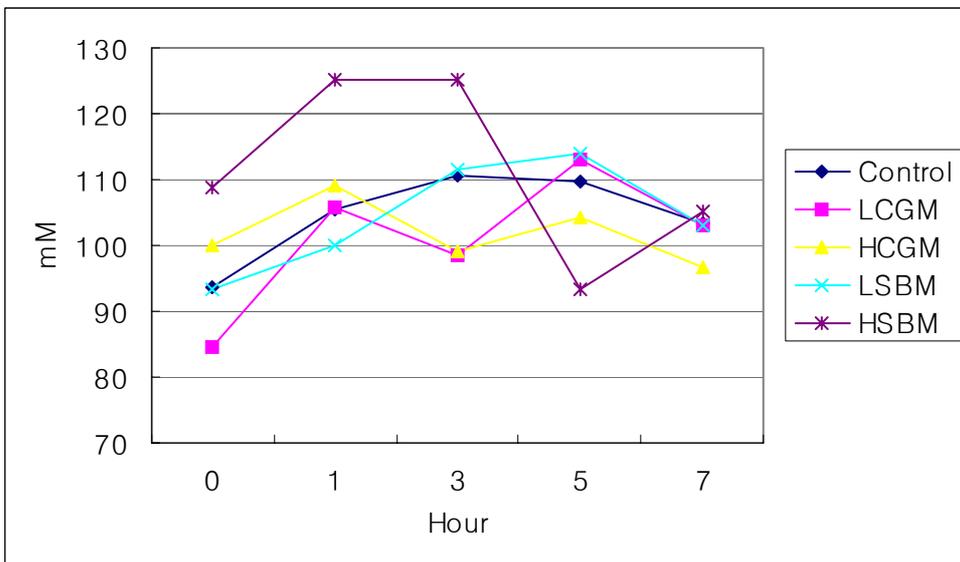


Figure 2. Effect of CP contents and levels of RDP and RUP in diets on changes in ruminal total volatile fatty acid concentration (LCGM; low level of corn gluten meal, HCGM; high level of corn gluten meal, LSBM; low level of soybean meal, HSBM; high level of soybean meal).

### 3) 반추위 NH<sub>3</sub>-N 농도

Figure 3과 Table 2는 각 처리구 당 시간에 따른 암모니아의 농도변화를 나타낸 것이다. 반추위내 암모니아 농도는 사료급여 후 한시간 후에 최고에 달했다가 이후에 감소하는 경향을 보였는데, 각 처리구당 암모니아의 평균농도는 대조구 37.4,

LCGM 34.4, HCGM 58.87, LSBM 70.94, HSBM 103.22mg/1로 나타났다. CGM구와 비교해 SBM구가 암모니아 농도가 높았다( $P<0.05$ ). 전체적으로 보았을 때 CGM구에 비해서 SBM구의 암모니아 농도가 높게 나타났는데, 이는 시험에 사용된 두 단백질 원의 반추위 내 분해특성을 고려했을 때 SBM의 빠른 분해속도에서 기인한 것으로 보인다. 반추위내 분해속도가 빠른 SBM을 급여 했을 시에 미생물들이 이용할 수 있는 질소가 더 많았기 때문에 암모니아의 생성량이 더 많았을 것으로 보인다. 이런 결과는 사료내 단백질의 농도와 분해도의 증가는 항상 반추위내 암모니아 생성의 증가로 이어진다는 결과와 일치한다(Armentano 등, 1993; Olmos Colmenero와 Broderick, 2003; Davidson 등, 2003). 반추위 내 암모니아 농도는 또한 pH에 영향을 받는데, 반추위내 pH가 낮아짐에 따라 반추위내 암모늄염( $\text{NH}_4^+$ )의 농도가 높아지고 암모늄염의 형태는 유리 형태의 암모니아( $\text{NH}_3$ )보다 반추위벽 흡수율이 낮으므로 pH가 낮아지면 반추위내 암모니아 농도가 높아지게 된다. 본 실험에서 사료급여 후 1시간에서 3시간까지의 pH가 CGM에서 보다 SBM구에서 더 낮았던 것 또한 암모니아 농도에 영향을 미쳤을 수도 있을 것으로 생각된다. Reynal 과 Broderick(2003)은 기초사료를 급여한 대조구와 SSBM(solvent soy bean meal), ESBM(expeller soybean meal), BM(blood meal), CGM을 급여한 실험에서 대조구와 CGM을 급여한 시험구에서 암모니아 농도가 낮았고, SSBM을 급여한 시험구에서 가장 높았다고 하였는데, 대조구는 CP 수준이 낮았고, CGM은 반추위 분해율이 낮기 때문에 미생물의 반추위내 NPN 이용을 증가시켜서 암모니아 농도가 낮아진 것으로 보였다. Robinson과 Mcqueen(1994)은 SBM, BM+CGM을 급여한 실험에서 SBM을 급여한 시험구에서 암모니아 농도가 높았다고 하여 본 실험과 유사한 경향을 보였다.

#### 4) 반추위내 용해성 비암모니아태 질소

각 처리에 따른 SNAN 농도 및 일일 변화량을 Table 3, Figure 4, 5, 6, 및 7에 각각 제시하였다. 단백질 첨가구의 아미노산( $P<0.05$ ), peptide( $P<0.001$ ) 및 총 SNAN( $P<0.0001$ )의 농도는 대조구보다 높았다. 반추위액의 peptide 및 총 SNAN 평균 농도는 CP 수준 및 분해율이 증가할수록 증가하였다. SBM구의 아미노산( $P<0.001$ )과 수용성 단백질( $P<0.0001$ )의 평균 농도는 CGM구보다 높았다.

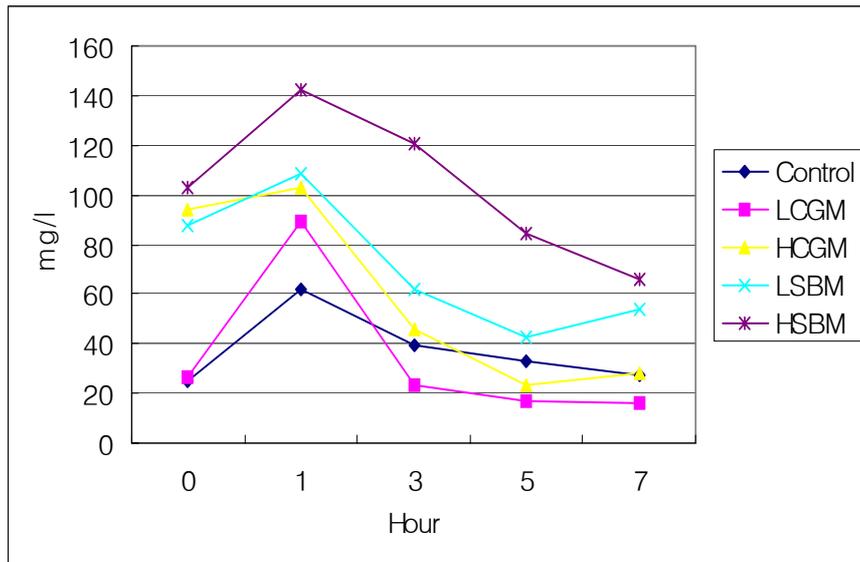


Figure 3. Effect of CP contents and levels of RDP and RUP in diets on changes in ruminal  $\text{NH}_3\text{-N}$  concentration (LCGM; low level of corn gluten meal, HCGM; high level of corn gluten meal, LSBM; low level of soybean meal, HSBM; high level of soybean meal).

유리 아미노산은 반추위 내 단백질 분해 동안 발생하며(Broderick, 1987) 이는 미생물체 단백질 합성을 자극한다(Maeng 등, 1976). 또한 단백질로부터 분해된 peptide는 반추위 미생물에 의해 흡수되어 단백질 합성 또는 에너지원으로 이용될 수 있다(Allison, 1970; Russell 등, 1983). Peptide는 *Bacteriodes ruminicola*의 성장에 요구되며(Pittman과 Bryant, 1964) 혼합 반추위 미생물에서 암모니아 단독보다 더 빠른 성장을 가져왔다(Wright, 1967). 혼합 반추위 미생물은 유리 아미노산보다 peptide 결합 아미노산을 더 빠르게 분해시킨다(Prins, 1977). 그러므로 SNAN의 농도는 반추위에서 낮을 것으로 여겨졌다. 그러나 peptide는 그 방출율이 peptide 가수분해율이나 미생물의 흡수율보다 높을 때 반추위에서 축적될 수 있다. 본 연구에서 상당량의 SNAN 분획이 반추위에서 측정되었고 심지어 단백질 첨가구가 아닌 대조구에서도 관찰되었다. 이와 비슷하게 Chen 등(1987a, b)과 Robinson과 McQueen(1994)도 peptide가 반추위에 축적됐다고 보고했고 Choi 등(2002b)은 상당량의 SNAN이 반추위에서 측정되었다고 보고했다. 본 연구에서 단백질 첨가와 단백질 첨가 수준은 반추위에서 아미노산과 peptide의 농도를 증가시켰다. 이는 더 많은 수용성 단백질의 공급으로 peptide와 아미노산으로 분해되었기 때문으로 설명할 수 있다.

수용성 분획이 높은 단백질은 단백질 가수분해 효소가 물과의 반응으로 단백질과 접촉해야 하기 때문에 종종 빠르게 분해된다. 그러므로 수용성은 사료 단백질로부터 SNAN을 방출시키는 것과 관련이 있다. 예를 들어, Chen 등(1987a)은 수용성이 높은 무처리 SBM을 급여했을 때 높은 수준의 peptide가 반추위 내에 축적되는 반면 수용성이 낮아지도록 열처리한 SBM을 급여했을 때 peptide 농도는 감소했다고 보고했다. 이 연구에서 사용한 SBM 단백질의 53%가 phosphate buffer(pH 6.8)에 수용성이었으나 열처리 SBM의 수용성은 7%이었다. 이와 비슷하게 본 연구에서 SNAN의 모든 분획의 농도는 수용성이 낮은 CGM과 비교하여 SBM을 급여할 때 증가하였다. SBM이 CGM보다 더 많은 수용성 단백질을 포함하고 있기 때문에(20% SBM vs. 4.2% CGM; Sniffen 등, 1992) SNAN 농도는 단백질 수용성과 관련이 있다고 가정할 수 있다. 그러나 본 연구의 고찰과 일관적이지 않은 결과도 관찰되었다. Williams와 Cockburn(1991)은 peptide 농도는 첨가 단백질의 수용성과 낮은 상관관계를 가지고 있다고 했고 Choi 등(2002b)은 반추위에서 SNAN은 단백질 첨가로 증가하지만 첨가 단백질의 형태에 따른 영향은 없었다고 보고했다.

Table 3. Effects of CP contents and levels of RDP and RUP in diets on the concentrations (mg N/L) of nitrogenous fractions of soluble non-ammonia nitrogen (SNAN) in the rumen

Items	Diets <sup>1</sup>					SEM <sup>2</sup>	Statistical significance of <sup>3</sup>		
	Control	LCGM	HCGM	LSBM	HSBM		C <sub>1</sub>	C <sub>2</sub>	C <sub>3</sub>
Amino acid	27.68	27.97	28.71	49.44	67.60	5.94	0.0305	0.1310	0.0001
Peptide	31.70	40.54	42.51	53.81	94.49	7.98	0.0020	0.0037	0.0001
Soluble protein	18.98	15.83	18.28	29.64	38.07	3.56	0.0672	0.0832	<.0001
SNAN <sup>4</sup>	78.37	84.34	89.51	132.9 1	200.1 6	9.34	<.0001	0.0001	<.0001

<sup>1</sup>LCGM; low level of corn gluten meal, HCGM; high level of corn gluten meal, LSBM; low level of soybean meal, HSBM; high level of soybean meal.

<sup>2</sup>Standard error of mean.

<sup>3</sup>Statistical significance of treatment effects by mixed procedure. C<sub>1</sub> control vs. protein supplement, C<sub>2</sub> low protein vs. high protein, C<sub>3</sub> CGM vs. SBM.

<sup>4</sup>Calculated as the sum of free amino acid, peptide and protein.

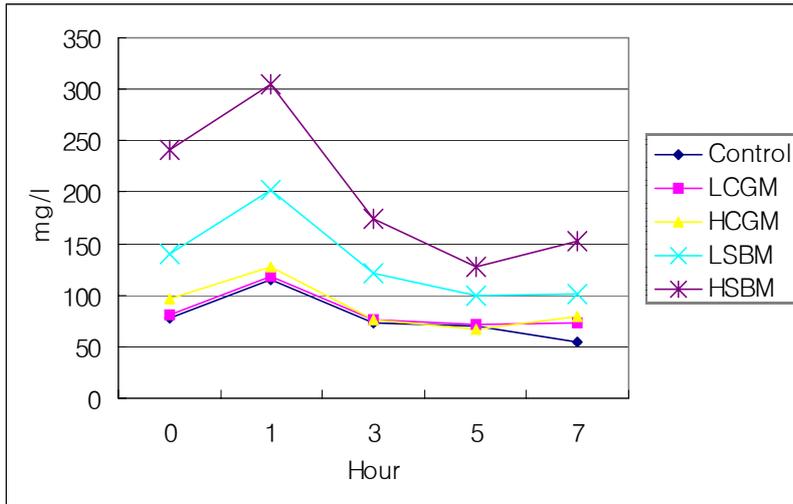


Figure 4. Effect of CP contents and levels of RDP and RUP in diets on changes in ruminal total soluble non-ammonia nitrogen concentration (LCGM; low level of corn gluten meal, HCGM; high level of corn gluten meal, LSBM; low level of soybean meal, HSBM; high level of soybean meal).

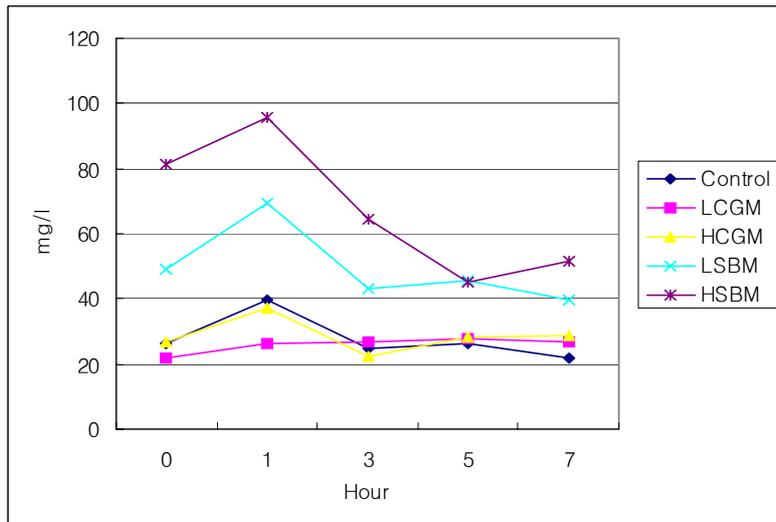


Figure 5. Effect of CP contents and levels of RDP and RUP in diets on changes in ruminal free amino nitrogen concentration (LCGM; low level of corn gluten meal, HCGM; high level of corn gluten meal, LSBM; low level of soybean meal, HSBM; high level of soybean meal).

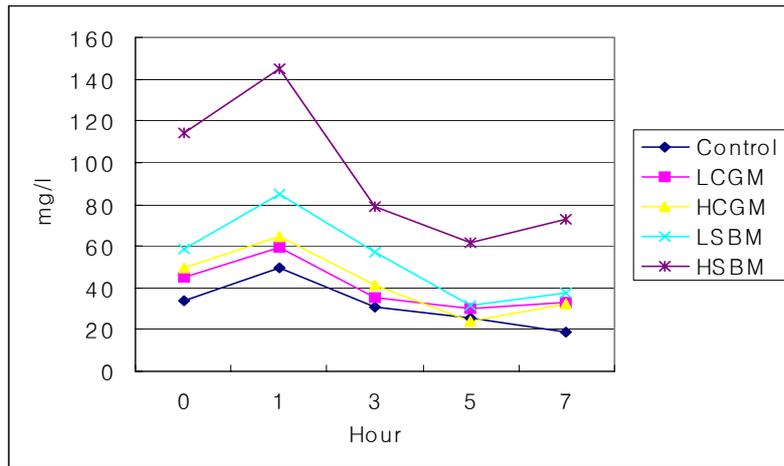


Figure 6. Effect of CP contents and levels of RDP and RUP in diets on changes in ruminal peptide nitrogen concentration (LCGM; low level of corn gluten meal, HCGM; high level of corn gluten meal, LSBM; low level of soybean meal, HSBM; high level of soybean meal).

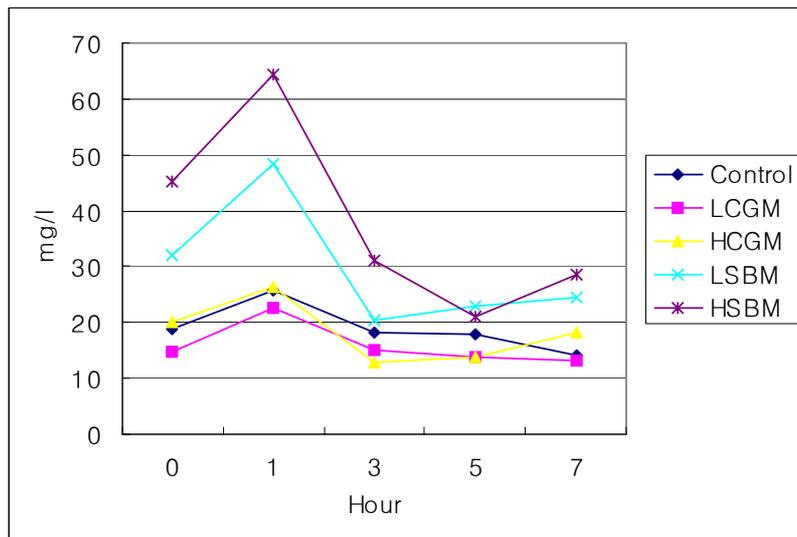


Figure 7. Effect of CP contents and levels of RDP and RUP in diets on changes in ruminal soluble protein nitrogen concentration (LCGM; low level of corn gluten meal, HCGM; high level of corn gluten meal, LSBM; low level of soybean meal, HSBM; high level of soybean meal).

## 5) 혈액대사물질

Table 4는 각 처리구에서의 혈액 대사물질의 농도를 나타낸 것인데, BUN은 대조구, LCGM, HCGM, LSBM 및 HSBM의 순서로 각각 6.31, 12.5, 17.95, 16.1 및 21.65로 대조구에 비해 처리구가( $P<0.05$ ), 단백질 저수준에 비해 고수준이( $P<0.05$ ), CGM구에 비해 SBM구가( $P<0.05$ ) 높게 나타났다. Albumin은 SBM구에 비해 CGM구가( $P<0.05$ ) 높게 나타났고, total protein 또한 SBM구에 비해 CGM구가( $P<0.05$ ) 높게 나타났다. Creatinine은 각 처리구 간에 드러나는 유의차가 없었다. Ellenberger 등(1989)은 Angus와 Hereford 교잡우에서 정상적인 성장에 대한 비교를 실시한 결과 제한 성장 후 보상 성장으로 전환될 때 단백질사료 섭취량이 75% 증가했으나 보상성장 초기에 BUN 함량이 낮은 것은 영양소의 효율적인 이용을 나타낸 것이라 하였다. 즉 반추동물에 있어서의 BUN은 영양소, 특히 질소 이용에서의 효율성을 가늠할 수 있는 중요한 지표라고 할 수 있다. 본 실험에서 BUN은 단백질의 수준이나 분해도에 비례해서 증가하는 것이 뚜렷하게 나타났는데, SBM의 빠른 반추위 내 분해 속도에 기인한 것으로 보인다. Stern(1980) 등은 반추동물에게 단백질 분해비율이 높은 사료를 급여하면 반추위내에 미생물에 의해 암모니아가 과도하게 생성되므로 반추위내에서 과도한 암모니아 흡수가 일어나 간에서 요소합성을 증가시켜 많은 양의 에너지가 소모되기 때문에 생산성을 감소시키는 원인이 된다고 하였다. 본 실험에서의 반추위내 암모니아 생성량을 보면 SBM구에서 훨씬 많은 양의 암모니아가 발생했는데 미생물에 의해 생성, 이용되고 남은 과량의 암모니아가 위벽을 통해 흡수되어 결국 BUN의 증가로 이어진 것으로 보인다. 높은 수준의 CP 또는 RDP를 급여하였을 때의 뇨를 통한 질소 손실의 증가는 이미 많은 학자들에 의해 보고된 바 있다(Króber 등, 2000; Castillo 등, 2001; Leonardi 등, 2003). Cecava와 Hancock (1994)은 단백질 보충사료 내에 RUP 함량의 증가는 낮은 PUN(plasma urea nitrogen)농도로 이어진다고 하였고, Huntington 등(2001)은 CGM과 SBM의 비율이 2 : 1인 단백질 보충사료와 SBM으로만 이루어진 보충사료를 비교하였을 때 CGM과 SBM의 혼합 급여구에서 낮은 암모니아 수치를 나타냈다고 하였다. 위 실험 결과들과 본 실험의 결과로 봤을 때 반추동물에 있어서의 BUN으로 인한 질소의 손실은 RUP 급여원인 CGM 보다 RDP 급여원인 SBM이 더 큰 것으로 보인다. 한편 CP 급여 수준에 있어서는 높은 CP 수준에 있어서의 BUN 농도가 높게 나타났는데( $P<0.0001$ ), 이는 사료 내의 CP 수준의 증가가 BUN 농도의 증가로 이어진다는 다른 연구 결과들과 일치하였다(Bunting 등, 1987; Thomson 등, 1995; Huntington 등, 2001). 일반적으로 동물의 혈액 total protein의 정상범위는 6.5-8g/dl이고, 혈액 내의 단백질의 증감은 albumin의 증감에 기인하는데(전기준, 2003), 이는 albumin이 혈액내 단백질의 대략 60% 정도를 차지하기 때문이다(Anatomy and physiology, fifth edition). Albumin과 total protein은 SBM에 비해서 CGM이 높았는데, 이는 CGM의 소장에서의 이용

률이 높았기 때문에, 전구물질이 amino acid와 peptide인 albumin이 간에서 합성 될 때 이용 될 수 있는 amino acid와 peptide가 많았음에 기인한 것으로 보인다.

Table 4. Effect of CP contents and levels of RDP and RUP in diets on blood metabolites.

Items	Diet <sup>1</sup>					S.E.M	Statistical significance of <sup>2</sup>		
	control	LCGM	HCGM	LSBM	HSBM		C <sub>1</sub>	C <sub>2</sub>	C <sub>3</sub>
Bun (mg/dl)	6.31	12.5	17.95	16.1	21.65	0.54	<.0001	<.0001	<.0001
Albumin (g/dl)	3.82	3.91	4.06	3.78	3.76	0.08	0.5242	0.4243	0.0179
TP <sup>3</sup> (g/dl)	6.76	6.93	7.15	6.76	6.64	0.09	0.3172	0.6055	0.0036
Creatinine (mg/dl)	1.35	1.33	1.33	1.36	1.29	0.02	0.3361	0.1069	0.8076

<sup>1</sup>LCGM; low level of corn gluten meal, HCGM; high level of corn gluten meal, LSBM; low level of soybean meal, HSBM; high level of soybean meal.

<sup>2</sup>Statistical significance of treatment effect by GLM procedure; C<sub>1</sub>, control vs. protein; C<sub>2</sub>, low protein vs. high protein; C<sub>3</sub>, CGM vs. SBM.

<sup>3</sup>total protein.

#### 6) 미생물체 단백질 생성량과 질소축적

Table 5는 미생물단백질 생성량과 질소축적을 나타낸 것이다. 미생물체 단백질 합성량은 대조구, LCGM, HCGM, LSBM, HSBM의 순으로 각 23.25, 28.64, 44.59, 39.91, 50.07이었는데, 대조구에 비해 처리구가(P<0.001), 단백질 저수준에 비해 고수준이(P<0.05), CGM구에 비해 SBM이(P<0.05) 높았다. 질소의 축적율은 39.50, 43.62, 41.35, 38.69, 41.15로 나타났으나 각 처리구간에 유의차가 없었다. 미생물 단백질 생성량의 경우 SBM 급여구에서 높게 나타났는데, 이는 반추위 분해도가 빠른 SBM 급여시에 생성된 비교적 많은 양의 암모니아태 질소에 기인한 것으로 보인다. Russell 등(1992)은 암모니아가 반추위 박테리아의 미생물체 단백질 합성시 이용되는 주된 질소 공급원이라고 하였는데, 박테리아들은 약 38%(Hristov 등, 2003)에서 70, 80%(Oldham 과 Taminga, 1980; Leng과 Nolan, 1984; Koenig 등, 2000)의 질소를 암모니아로부터 공급받는다. Klusmeyer 등(1990)은 CGM을 급여 하였을 때에 비해 SBM을 급여하였을 때에 하루 동안의 소장으로의 미생물태 질소의 양이 현저하게 늘어났다고 하였는데, 이 차이는 CGM의 느린 반추위 분해속도에 의한 암모니아태 질소 생성의 제한에서 온다고 하였다. 14.5%와 11%에서의 CGM의 암모니아태 질소 농도가 각각 2.5, 1.9mg/dl이었던 반면에 SBM의 암모니아태 질소의 농도는 10.5와

5.4mg/dl로 많은 차이가 났던 것이 위의 결과를 설명 해 준다. Erasmus 등(1994)은 CGM이나 어분 같은 RUP 함량이 높은 단백질들은 해바라기씨박이나 SBM 같이 RDP 함량이 높은 사료에 비해서 미생물의 단백질 이용효율이 낮다고 하였고, 이와 유사하게 Waltz 등(1989)은 낮은 수준의 RDP 함량을 가진 사료에서 보다 높은 수준의 RDP 함량을 가진 사료에서 미생물체 단백질 생성량이 더 많았다고 하였다. 또한 Clark 등(1992)과 Oldick 등(1999)은 반추위내에 충분한 반추위 분해 단백질이나 암모니아태 질소를 함유하고 있는 사료가 공급된다면, 그 다음 미생물 합성에 있어서 중요한 요인은 에너지 섭취라고 하였고, Windschitl과 Stern(1988)은 반추위 분해도가 낮은 단백질을 보충 했을 때 미생물단백질 합성량이 감소했다고 하였다. 이는 곧 미생물 합성에 있어서의 반추위 분해도와 또 그에 따른 암모니아태 질소의 중요성을 보여주는 것이다. 따라서 CGM구에 비해 SBM구에서 미생물 단백질 합성량이 많았던 것은 SBM구에서 암모니아 발생량이 더 많았고, 그만큼 미생물이 체구성 단백질 합성에 이용 할 수 있는 질소원이 풍부했기 때문인 것으로 보인다. 또한 Russell 등(1983)은 섬유소 분해 박테리아가 아닌 전분 분해 박테리아의 경우 체단백질 합성을 위하여 필요한 질소의 65% 이상을 암모니아가 아닌 펩타이드나 아미노산을 이용한다고 하였는데, 본 실험에서 반추위내 펩타이드와 아미노산태 질소의 농도가 SBM 급여구에서 높았던 것 또한 미생물체 단백질 합성에 영향을 준 것으로 보인다. 한편 질소균형에 있어서는 처리구 간에 차이가 없었는데, 미생물 체단백질의 생성량이 SBM구에서 높았음에도 불구하고 질소균형에 차이가 없었던 것은 SBM과 비교하여 반추위에서 분해되지 않은 상당량의 CGM이 소장으로 이전되어 분해 흡수됨에 기인한 것으로 보인다. 높은 수준의 CP 또는 RDP를 급여하였을 때 뇨를 통한 질소 손실이 증가하고(Kröber 등, 2000; Castillo 등, 2001; Leonardi 등, 2003), 암모니아를 통한 질소의 손실은 적게는 36%에서(Hristov 등, 2003) 많게는 88%에(Oldham 등, 1980) 이른다는 연구결과와 같이 SBM은 과량의 암모니아태 질소의 뇨를 통한 손실이 많았고, CGM은 미생물체 단백질 생성량은 적었지만 반면에 암모니아태 질소를 통한 손실이 적고 소장에서의 이용률이 높았기 때문에 질소 균형에서 차이가 나지 않았던 것으로 보인다.

Table 5. Effect of CP contents and levels of RDP and RUP in diets on changes in Microbial N synthesis and nitrogen balance

Items	Diet <sup>a</sup>					S.E.M.	Statistical significance of <sup>b</sup>		
	Control	LCGM	HCGM	LSBM	HSBM		C <sub>1</sub>	C <sub>2</sub>	C <sub>3</sub>
Microbial N (g/d)	23.25	28.64	44.59	39.91	50.07	3.29	0.0005	0.0019	0.0259
N balance (%)	39.50	43.62	41.35	38.69	41.15	5.57	0.7895	0.9862	0.6533

<sup>1</sup>LCGM; low level of corn gluten meal, HCGM; high level of corn gluten meal, LSBM; low level of soybean meal, HSBM; high level of soybean meal.

<sup>2</sup>Statistical significance of treatment effect by GLM procedure; C1, control vs. protein; C2, low protein vs. high protein; C3, CGM vs. SBM.

## 6. 반추위액과 제 3위액의 soluble N fraction (soluble protein, peptide bound AA, free AA) 분해패턴 측정 및 비교분석

### 가. 실험 방법

#### 1) 시험기간 및 공시동물

시험은 각 14일로 이루어진 4반복, 총 56일 동안 진행되었다. 공시축은 4두의 반추위 캐놀라가 장착된 거세한우였고, 평균체중은  $697.25 \pm 18.05\text{kg}$ 이었다.

#### 2) 시험사료 및 사료급여

기초사료는 옥수수 사료를 주원료로 하는 배합사료와 볏짚을 사용하였고, 각각의 처리구당 대두박과 콘글루텐밀을 수준별로 첨가하여 CP 수준을 맞추었다. 각 시험구의 사료원료와 화학적조성은 Table 1과 같다. 사료적용기에는 볏짚 1kg과 배합사료 4kg을 기초사료로 1일 2회로 나누어 급여했다. 시험기간 중의 사료급여는 9kg의 사료를 1일 2회 아침 9시와 오후 5시에 나누어 급여하였다.

#### 3) 시험설계

단백질의 분해도와 수준에 따라 4개의 시험구로 나뉘었는데, 대표적인 RUP 급원인 콘글루텐밀 저수준(LCGM; CP: 12%)과 고수준(HCGM; CP: 16%), RDP 급원인 대두박 저수준(LSBM; CP: 12%)과 고수준(HSBM; CP: 16%)의 4개 시험구였고, 4개의 period로 4×4 Latin square design이 적용되었다.

#### 4) 조사항목 및 분석방법

##### 가) 시험사료

앞 실험과 동일

##### 나) 반추위 내용물의 채취

앞 실험과 동일

Table 1. Ingredient and chemical composition of experimental diets

Items	Diets <sup>1</sup> (% of dry matter)			
	LCGM	HCGM	LSBM	HSBM
Ingredients (% of dry matter)				
Corn(ground)	50.50	48.68	51.35	46.69
Cottonseed hull	17.79	17.15	18.09	16.45
Skimmed rice bran	6.03	5.81	6.13	5.58
Calcium phosphate	0.60	0.58	0.61	0.56
Mineral-vitamin additive <sup>2</sup>	0.15	0.14	0.15	0.14
Salt	0.30	0.29	0.31	0.28
Corn gluten meal	5.57	11.60	-	-
Soybean meal	-	-	8.75	17.91
Rice straw	19.06	15.75	14.61	12.39
Total	100.00	100.00	100.00	100.00
Composition (% of dry matter)				
Dry matter (% of fed basis)	87.69	87.41	87.62	87.73
Crude protein	11.98	16.17	12.45	15.69
Ether extract	3.12	3.01	3.08	3.07
Crude fiber	16.15	15.29	15.64	13.36
Ash	5.75	5.99	5.40	5.13
Nitrogen free extract	63.00	59.54	63.43	62.75
Neutral detergent fiber	40.51	37.94	32.78	33.63
Acid detergent fiber	19.87	16.04	17.65	16.24
Calorie (Mcal/kg)	4328.09	4443.69	4363.80	4387.29

<sup>1</sup>LCGM; low level of corn gluten meal, HCGM; high level of corn gluten meal, LSBM; low level of soybean meal, HSBM; high level of soybean meal.

<sup>2</sup>provided following nutrients per kg of additive: Vit. A, 2,650,000IU; Vit. D<sub>3</sub>, 530,000IU; Vit. E, 1,050 IU; Niacin, 10,000mg; Mn, 4,400mg; Zn, 4,400mg; Fe, 13,200mg; Cu, 2,200mg; I, 440mg; Co, 440mg.

다) Omasal digesta의 채취

각 period 14일째 날(종료일) 제 3위 소화물 100ml을 Ahvenjarvi et al.(2000)의 방법에 따라 omasal sampling device을 이용해 오전 9시 아침 급여 바로 전(0 time), 1시간 후(1 time), 3시간 후(3 time), 5시간 후(5 time), 7시간 후(7 time)

각각 취했다. 채취한 제 3위 소화물은 4겹의 거즈로 여과한 후 미생물 작용을 정지시키기 위해 1ml의 HgCl<sub>2</sub>과 혼합하고 수용성 비암모니아태 질소화합물 분석을 위해 -20℃에 보관하였다

라) 반추위 VFA  
앞 실험과 동일

마) 반추위 NH<sub>3</sub>-N  
앞 실험과 동일

바) 반추위 및 제3위액 용해성 비암모니아태 질소화합물(SNAN; soluble non-ammonia nitrogen)  
앞 실험과 동일

사) 혈액 채취 및 분석  
앞 실험과 동일

5) 통계분석  
앞 실험과 동일

## 나. 결과

### 1) 반추위 pH, 암모니아 농도 및 휘발성 지방산 농도

사료 단백질 수준 및 분해율이 반추위 pH, 암모니아 농도 및 VFA 농도에 미치는 영향을 Table 2, Figure 1, 2 및 3에 나타내었다. 반추위 pH는 처리간 차이가 없었으나 암모니아태 질소의 농도는 CP 수준(P<0.01) 및 분해율(P<0.001)이 증가할수록 증가하였다. 이 결과는 14.5%와 11%의 CP 수준으로 CGM을 급여했을 때 반추위 암모니아태 질소 농도가 25 및 19mg/L로 SBM를 같은 수준으로 급여했을 때의 10.5 및 5.4mg/L보다 높았다는 Klusmeyer 등(1990)의 보고와 유사하였다. 이는 RUP 함량이 높은 CGM에 있어서 반추위 내 암모니아 생산이 RDP 함량이 높은 SBM보다 더 낮음을 보여준다. CGM의 CP 함량이 더 높을 때조차도 SBM보다 더 낮은 암모니아 생산을 가져왔다(HCGM 78.84mg/L vs. LSBM 103.40mg/L). 50mg/L의 반추위 암모니아태 질소 수준은 최대의 반추위 미생물 성장과 활력을 가져올 수 있는 수준으로 받아들여지고 있다(Satter와 Roffler, 1975). 그러므로 LCGM의 미생물 성장은 50mg/L보다 낮은 암모니아 생산으로 제한될 수 있다. 실제로, 본 실험과 같은 설계의 이전 연구(Lee, 2006)에서 LCGM의 미생물체단백질 합성량은 처리구 중 가장

낮았다(LCGM 28.64g/d, HCGM 44.59g/d, LSBM 39.91g/d, HSBM 50.07g/d). 처리구 간 총 VFA 농도의 차이가 없었지만 isovalerate는 CP 수준이 증가할수록 증가하였고(P<0.05) SBM보다 CGM에서 더 높은 경향을 보였다(P=0.08). 반추위에서 측쇄 VFA는 측쇄 아미노산으로 유리된다(Wolin 등, 1997). 따라서 반추위로 각기 다른 아미노산을 방출시키는 사료 내 단백질 수준 및 분해율은 이들 VFA의 수준 변화를 가져올 수 있다.

Table 2. Effects of levels and degradabilities of dietary protein on rumen pH, ammonia, volatile fatty acid (VFA) concentrations, and acetate:propionate (A:P) ratio.

Items	Diets <sup>1</sup>				SEM <sup>2</sup>	Statistical significance of <sup>3</sup>	
	LCGM	HCGM	LSBM	HSBM		C <sub>1</sub>	C <sub>2</sub>
pH	6.63	6.55	6.66	6.62	0.05	0.2153	0.2429
Ammonia, mg/L	40.48	74.84	103.40	127.00	10.69	0.0066	0.0002
VFA, mM							
Acetate	60.66	61.64	62.39	61.22	2.23	0.9659	0.7769
Propionate	17.12	17.02	17.20	17.71	1.01	0.8459	0.6977
A:P ratio	3.57	3.64	3.70	3.49	0.15	0.5558	0.9455
Isobutyrate	1.26	1.46	1.35	1.57	0.12	0.1079	0.4254
Butyrate	9.71	10.54	10.90	10.22	0.87	0.9140	0.5445
Isovalerate	2.89	3.43	2.58	3.01	0.24	0.0344	0.0844
Valerate	0.90	1.01	0.90	0.98	0.06	0.1231	0.8671
Total	92.54	95.09	96.12	94.70	3.84	0.8859	0.6897

<sup>1</sup>LCGM; low level of corn gluten meal, HCGM; high level of corn gluten meal, LSBM; low level of soybean meal, HSBM; high level of soybean meal.

<sup>2</sup>Standard error of mean

<sup>3</sup>Statistical significance of treatment effects by mixed procedure. C<sub>1</sub>; low protein vs. high protein, C<sub>2</sub>; CGM vs. SBM.

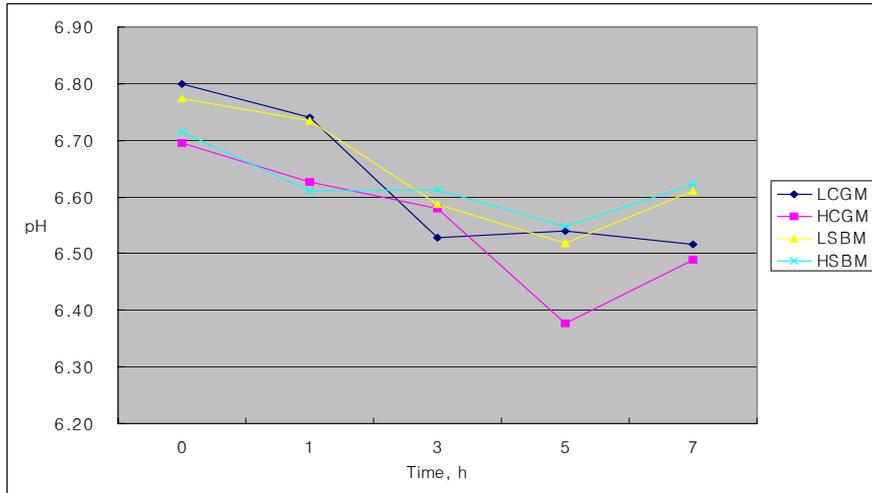


Figure 1. Diurnal variation of pH in the rumen digesta during a 7 h feeding cycle (LCGM; low level of corn gluten meal, HCGM; high level of corn gluten meal, LSBM; low level of soybean meal, HSBM; high level of soybean meal).

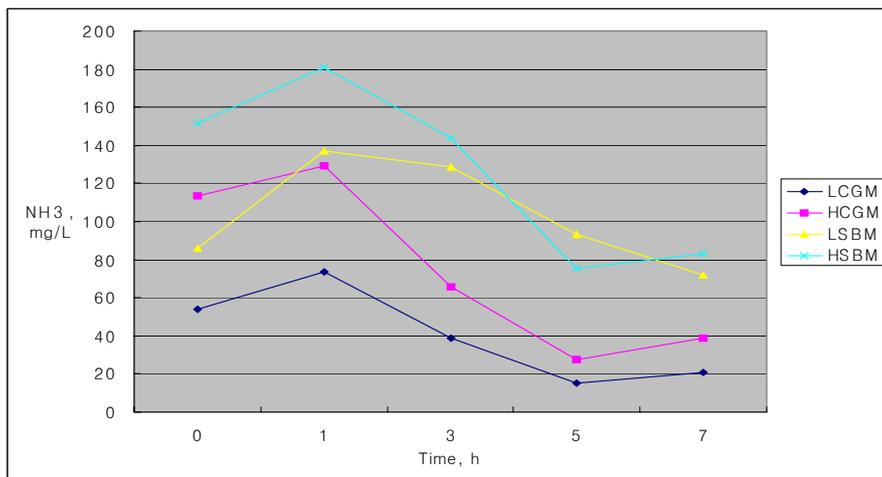


Figure 2. Diurnal variation of ammonia concentration in the rumen digesta during a 7 h feeding cycle (LCGM; low level of corn gluten meal, HCGM; high level of corn gluten meal, LSBM; low level of soybean meal, HSBM; high level of soybean meal).

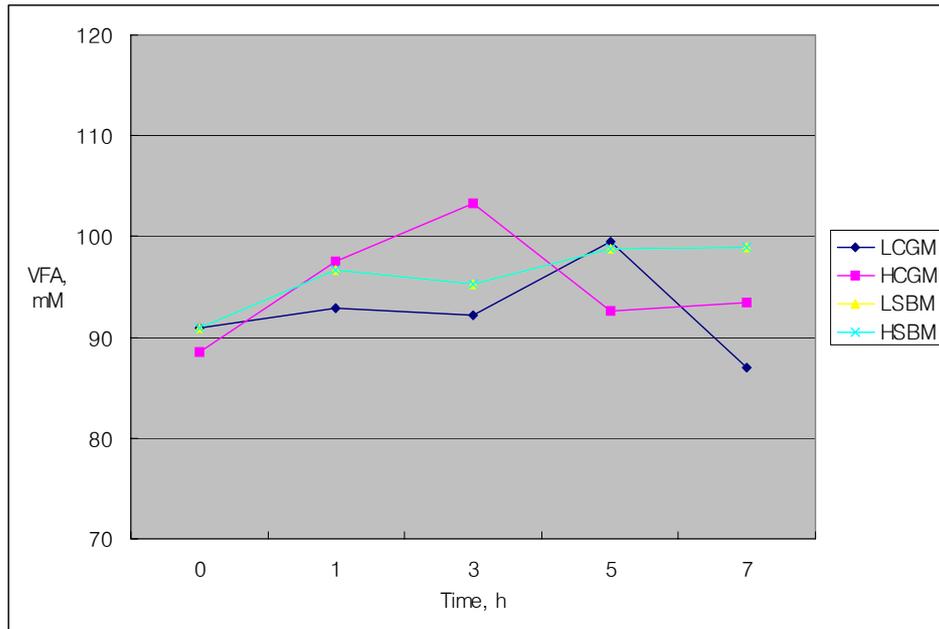


Figure 3. Diurnal variation of total volatile fatty acid concentration in the rumen digesta during a 7 h feeding cycle (LCGM; low level of corn gluten meal, HCGM; high level of corn gluten meal, LSBM; low level of soybean meal, HSBM; high level of soybean meal).

## 2) 혈액 대사물질

Cp 수준 및 분해율은 혈장 내 total protein 및 creatinine의 농도에 영향을 미치지 않았다. 고수준의 CP는 BUN 농도를 증가시켰으나( $P < 0.001$ ), CP 분해율은 영향을 미치지 않았다. Albumin의 농도는 SBM에 비해 CGM을 급여했을 때 높았기( $P < 0.05$ ) 때문에 CP 분해율에 영향을 받았다. 사료 단백질의 증가로 관찰되는 BUN 농도의 증가는 암모니아 질소의 반추위 흡수 증가로 많은 양의 암모니아가 간에서 요소로 전환되기 때문으로 보인다. Jordan 등(1983)은 CP 섭취량이 증가할 때 BUN이 증가했다는 비슷한 결과를 보고했다. LSBM의 암모니아 농도가 HCGM보다 높았음에도(LSBM 103.40mg/L vs. HCGM 74.84mg/L) LSBM의 BUN은 HCGM보다 낮았다(LSBM 11.86mg/dl vs. HCGM 16.08mg/dl). 이는 사료로부터 상당량의 진정 단백질이 소장에서 흡수되어 HCGM의 BUN에 기여한 것으로 사료된다. SBM구에서 반추위미생물체 단백질이 소장으로 공급되는 양이 CGM보다 낮았기 때문에(Lee, 2006) 소장에서 흡수된 진정 단백질이 체내에서 이용되면서 발생한 암모늄이온을 체외로 방출하고자 BUN의 합성에 기여한 것으로 보인다. 이는 또한 CGM구에서 SBM구보다 더 높았던 albumin 농도에서도 확인할 수 있다.

혈장 albumin은 보통 혈장 단백질의 55%를 차지하고 혈액 내에서 아미노산과 같은 다양한 물질과 화학적으로 결합하기 때문에 그런 물질의 수송에 있어서 중요한 역할을 한다. 따라서 CGM구에서 albumin 수준이 높은 것은 더 많은 진정 단백질이 소장에서 흡수되었다는 것을 의미한다고 볼 수 있다.

Table 3. Effects of levels and degradabilities of dietary protein on level of blood urea nitrogen (BUN), total protein (TP), albumin and creatinine in the plasma.

Items	Diets <sup>1</sup>				SEM <sup>2</sup>	Statistical significance of <sup>3</sup>	
	LCGM	HCGM	LSBM	HSBM		C <sub>1</sub>	C <sub>2</sub>
BUN, mg/dl	10.33	16.08	11.86	15.89	0.72	0.0021	0.4231
TP, g/dl	7.05	7.00	6.99	6.98	0.08	0.7179	0.6928
Albumin, g/dl	4.00	3.90	3.74	3.88	0.03	0.5896	0.0173
Creatinine, mg/dl	1.40	1.38	1.46	1.46	0.03	0.7096	0.0936

<sup>1</sup>LCGM; low level of corn gluten meal, HCGM; high level of corn gluten meal, LSBM; low level of soybean meal, HSBM; high level of soybean meal.

<sup>2</sup>Standard error of mean

<sup>3</sup>Statistical significance of treatment effects by mixed procedure. C<sub>1</sub>; low protein vs. high protein, C<sub>2</sub>; CGM vs. SBM.

### 3) 반추위 및 제3위액 용해성 비암모니아태 질소

CP 수준 및 분해율이 반추위액 및 제3위액 내 아미노산, peptide, 수용성 단백질 및 총 SNAN의 농도에 미치는 영향을 Table 4, Figure 4 및 5에 제시하였다. 제3위액 내 평균 SNAN 농도는 제3위액 내 각 SNAN 분획 농도가 반추위액보다 높기 때문에 반추위액의 SNAN 농도보다 유의적으로 더 높았다(P<0.05). 고수준의 CP 처리구에서 반추위액(P<0.01)과 제3위액(P<0.05)의 각 SNAN 분획의 농도는 peptide를 제외하고 저수준 CP구보다 높았다. SBM 급여는 반추위액(P<0.01) 및 제3위액(P<0.05)의 peptide 농도를 증가시켰다. 고수준의 CP 함량과 높은 분해율은 반추위액 및 제3위액의 총 SNAN 농도를 유의적으로 증가시켰다(P<0.001).

제3위액의 아미노산, peptide, 수용성 단백질 및 총 SNAN의 농도는 반추위액보다 높았다(P<0.05). 이는 본 연구의 조농비율이 낮아서 상대적으로 더 많은 농후 사료 입자가 제1위보다 제2위로 들어가서 그곳에 머물기 때문(Choi 등, 2002b)으로

여겨진다. 반추위액의 아미노산과 수용성 단백질의 농도는 상대적으로 낮은 수준으로 관찰되었고(Williams와 Cockburn, 1991; Choi 등, 2002b) 급여 후 즉각적으로도 낮은 아미노산 농도가 관찰되었다(Nolan, 1993). 그러나 본 연구에서 아미노산과 수용성 단백질의 농도는 낮지 않았는데 이는 수용성 단백질의 경우 첨가 단백질로부터 수용성 단백질의 방출의 증가와 아미노산의 경우 수용성 단백질의 단백질 가수분해의 증가에 기인한 것으로 사료된다. 제3위로 이전되는 peptide의 평균 농도는 106.74mg N/L로 SNAN 분획 중 양적으로 가장 많았다. 이는 peptide 분해가 반추위 단백질 가수분해에서 분해율 결정요인일 수 있다는 이전 보고(Chen 등, 1987; Choi 등, 2002a, 2003)를 확인시켜준다.

반추위 단백질의 분해율은 일반적으로 *in situ* 기법에 의해 측정되는데 이 기법은 빠르게 분해될 수 있는 질소 분획(a-fraction)은 무한정 분해되고 단지 불용성 사료 질소만이 반추위를 벗어날 수 있다고 가정한다. 그러나 본 연구에서 상대적으로 높은 SNAN 농도가 반추위액과 제3위액에서 관찰되었다. 이는 반추위액(Chen 등, 1987a, b; Robinson과 McQueen, 1994; Choi 등, 2002b) 또는 제3위액(Choi 등, 2002a, b, c, 2003)에서의 유리 아미노산, peptide 및 수용성 단백질의 수준이 비교적 높았다는 기존의 보고와 일치하였다. 그러므로 단백질은 액상으로 반추위를 벗어날 수 있고 *in situ* 기법의 가정은 더 이상 유효하지 않다는 것을 의미한다.

단백질 첨가 수준은 반추위액 및 제3위액의 SNAN 농도에 영향을 미쳤다. 이 결과는 SBM의 급여량이 증가할수록 반추위내 peptide 농도 및 이전량이 증가했다는 Chen 등(1987a)의 보고와 일치한다. Chen 등(1987a)은 또한 수용성이 낮아지도록 열처리한 대두박을 공급했을 때도 peptide와 수용성 단백질의 반추위 농도 및 이전량이 증가했다고 보고하였다. 이는 첨가 단백질로부터 방출된 수용성 단백질의 공급 및 가수분해의 증가에 기인된 것으로 사료된다.

SBM은 혈분과 maize gluten meal(Robinson, 1997), 어분(Chen 등, 1987a)과 같은 다른 단백질 첨가제보다 더 많은 SNAN 농도를 가져온다. 이는 수용성이 낮은 CGM과 비교하여 SBM에서 SNAN의 모든 분획의 농도가 더 높았던 본 연구의 결과와 일치한다. 그러나 Williams와 Cockburn(1991)은 첨가 단백질의 수용성과 peptide 농도 간에 상관관계가 낮다고 보고했고 Choi 등(2002b)은 반추위내 SNAN 농도는 단백질 첨가로 증가하지만 첨가 단백질의 형태와는 관계가 없다고 보고했다.

Table 4. Effects of levels and degradabilities of dietary protein on the concentrations (mg N/L) of nitrogenous fractions of soluble non-ammonia nitrogen (SNAN) either in the rumen or entering the omasal canal.

Items	Diets <sup>1</sup>				Site <sup>2</sup>	SEM <sup>3</sup>	Statistical significance of <sup>4</sup>	
	LCGM	HCGM	LSBM	HSBM			C <sub>1</sub>	C <sub>2</sub>
Free amino acid								
Ruminal	21.38	29.17	32.24	50.50	33.37a	3.55	0.0091	0.0037
Omasal	40.38	52.88	57.76	73.51	56.23b	4.18	0.0161	0.0049
Peptide								
Ruminal	56.78	62.55	91.46	95.69	76.44a	5.75	0.2547	<.0001
Omasal	94.34	93.62	116.98	122.22	106.74b	9.21	0.8111	0.0233
Protein								
Ruminal	10.80	31.69	28.44	43.78	28.75a	2.33	<.0001	0.0003
Omasal	13.57	52.04	44.30	52.67	40.66b	7.20	0.0171	0.0656
SNAN <sup>5</sup>								
Ruminal	87.93	123.42	152.14	189.98	138.37a	6.68	0.0006	<.0001
Omasal	146.17	198.54	219.03	248.40	203.85b	7.26	<.0001	<.0001

<sup>1</sup>LCGM; low level of corn gluten meal, HCGM; high level of corn gluten meal, LSBM; low level of soybean meal, HSBM; high level of soybean meal.

<sup>2</sup>Different letters express a statistical significance for the mean of each fraction between sampling sites (P<0.05).

<sup>3</sup>Standard error of mean

<sup>4</sup>Statistical significance of treatment effects by mixed procedure. C<sub>1</sub>; low protein vs. high protein, C<sub>2</sub>; CGM vs. SBM.

<sup>5</sup>Calculated as the sum of free amino acid, peptide and protein

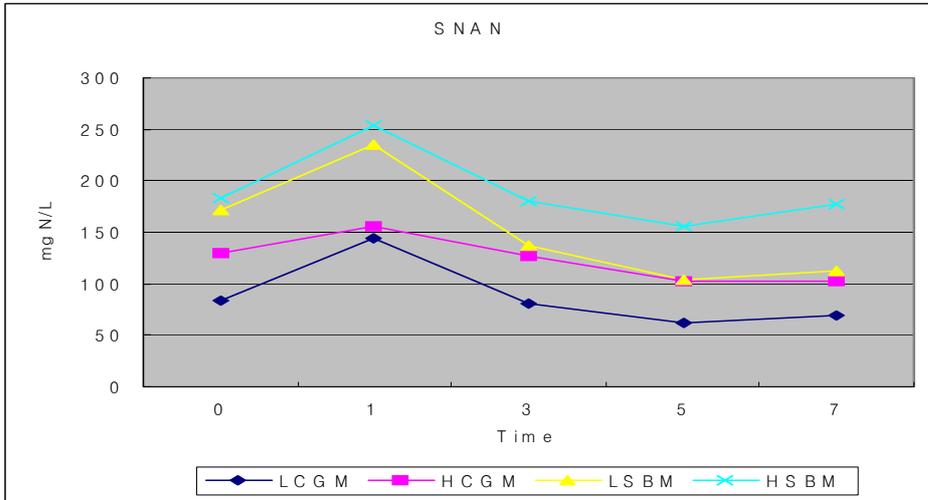


Figure 4. Diurnal variation of total soluble non-ammonia nitrogen in the rumen during a 7 h feeding cycle (LCGM; low level of corn gluten meal, HCGM; high level of corn gluten meal, LSBM; low level of soybean meal, HSBM; high level of soybean meal).

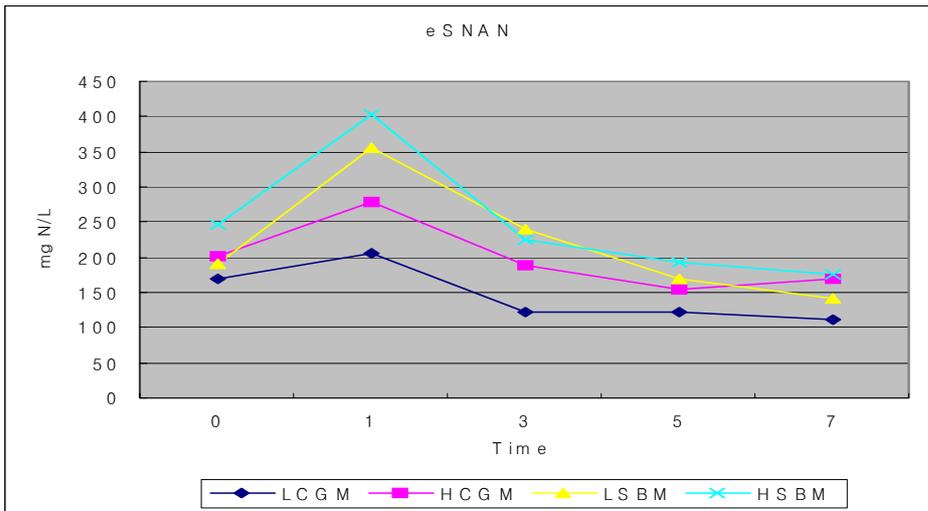


Figure 5. Diurnal variation of total soluble non-ammonia nitrogen entering the omasal canal during a 7 h feeding cycle (LCGM; low level of corn gluten meal, HCGM; high level of corn gluten meal, LSBM; low level of soybean meal, HSBM; high level of soybean meal).

## 7. Peptide와 AA의 조성비가 다른 casein의 소장내 이용을 측정 시험

### 가. 실험 방법

#### 1) 시험기간 및 공시동물

시험은 각 14일로 이루어진 3반복, 총 42일 동안 진행되었다. 공시축은 반추 위 cannula와 십이지장 cannula가 동시에 장착된 13개월령 한우 거세우(평균체중 :  $378.3 \pm 27.7$ kg) 3두를 공시하였다.

#### 2) 시험사료 및 사료급여

기초사료는 분쇄 옥수수를 주원료로 하는 배합사료와 혼합 목건초를 이용하였고(Table 1), 총 급여사료는 6kg(배합사료 2kg + 건초 4kg; 일당 증체량 0.6kg; BW 1.8%)을 일일 2회(08:00, 20:00) 분할 급여하였으며, 특히 건초는 공시축의 일정한 사료섭취량을 유지시키기 위하여 10cm 크기로 절단하여 급여하였다. 또한 물과 미네랄 공급제는 자유로이 섭취할 수 있도록 하였다. 상·하부소화기관의 내용물 유입량을 알아보기 위한 산화크롬( $Cr_2O_3$ )은 아침·저녁 사료 급여 시 각각 4.7g씩(건물 섭취량 0.25% 수준) 혼합하여 급여하였다.

#### 3) 시험설계

본 시험은  $3 \times 3$  Latin square design으로 하였고, 한 시험기간은 14일로 구성하였다. 14일 중 1일~9일은 주입물질의 전환에 따른 적응기간으로 하였고, 10일~14일은 시료 채취기간으로 하였다. 시료 채취기간 중 10일, 11일은 혈액을, 12일은 반추위액 및 분과 뇨를, 13일, 14일은 십이지장액 및 분과 뇨를 각각 채취하였다.

본 시험의 처리는 다음과 같다. 1) 대조구(기초사료6kg/일 + 옥수수전분 1kg/일); 2) RC구(기초사료 6kg/일 + 옥수수전분 1kg/일 + raw casein 141.51g/일); 3) EHC구(기초사료 6kg/일에 옥수수전분 1kg/일 + enzyme hydrolysed casein 150g/일). 옥수수전분과 casein은 물 7L에 혼합하여, 수용액 상태로 만들어 23시간 동안 교반하면서 제 4위 주입도관을 통해 주입(약 290g/h)하였으며, 사료 급여 직전에 주입을 시작하였다.

Table 1. Ingredients and chemical compositions of the basal diet.

Item	% of dry matter
Ingredients composition	
Corn	30.5
Soybean hull	6.1
Wheat hull	10.7
Soybean meal	6.1
Calcium phosphate	0.2
Limestone	0.6
Vitamin-mineral mixtures <sup>1</sup>	0.2
Mixed grass	45.6
Total	100.0
Chemical composition	
Dry matter (%)	90.89
Crude protein	12.14
Starch	16.30
Neutral detergent insoluble fiber	50.51
Acid detergent insoluble fiber	27.28

<sup>1</sup>Vit. A 2,650,000 IU, Vit. D<sub>3</sub> 530,000 IU, Vit. E 1,050 IU, Niacin 10,000 mg, Mn 4,400 mg, Zn 4,400 mg, Fe 13,200 mg, Cu 2,200 mg, I 440 mg, Co 440 mg, B.H.T. 10,000 mg per kg.

#### 4) 시료의 채취

##### 가) 기초사료

사료는 각 시험기간 중 2회 500g 정도 채취하였고, 전 시험기간 동안 채취한 시료를 서로 혼합한 후, Willey mill(Standard Model No3., Thomas Co. Philadelphia. U.S.A.)로 1mm 분쇄하여, 일반성분(AOAC, 1990), 전분, NDF 및 ADF(Van Soest, 1991), 그리고 크롬을 분석하였다. 사료 잔량은 매일 측정하였으며, 잔량 시료의 건물 및 영양소 함량을 분석하여 섭취량을 보정하였다.

##### 나) 십이지장 내용물

각 시험기간 중 13일째 0730(0), 1100(3), 1400(6), 1700(9), 14일째 0730(0), 0930(1.5), 1230(4.5), 1530(7.5), 1830(10.5)에 채취하였다. 내용물은 통풍건조기(70°C, 72시간 이상)에서 건조시킨 다음, disc. mill(BM-D 100, McCoy Corp., serial No. 980812, maximum 1750rpm)을 이용하여 1mm로 분쇄하였다. 분쇄 후, 채취시간 별

로 10%씩 혼합(composite)하여, DM, CP, 크롬을 분석하였다.

다) 분

앞 실험과 동일

5) 산화크롬 ( $\text{Cr}_2\text{O}_3$ ) 분석과 장관 별 영양소 소실율 산출

앞 실험과 동일

6) 통계 처리

분석 및 획득된 결과의 유의성을 검증하기 위하여 통계분석은 SAS Procedure(2002)를 이용하였고 모든 data는 GLM으로 유의성을 검증하였다.

나. 결과

1) CP 소실율

제 4위로 주입되는 casein의 종류에 따른 한우 거세우의 각 소화관 별 CP 소실량 및 소실율은 Table 2와 같다. CP의 십이지장 유입량은 대조구에 비해 casein 주입구에서 증가하는 경향( $P = 0.13$ )을 보였고, 특히 EHC구가 대조구에 비하여 높은 경향( $P = 0.12$ )이었다. 십이지장 CP 유입량에서 제 4위로 주입된 CP량을 뺀 값들은 모든 처리구에서 CP 섭취량보다 많았다. 따라서 반추위 소실량과 소실율이 모든 구에서 부(-)의 효과를 나타내었고, 특히 EHC구에서 차이가 가장 많은 경향을 보였다. 이것은 반추위로 재순환되는 N량이 증가하여 나타난 결과로 해석할 수 있으며, NRC(1984)에서는 CP 섭취량의 75~120%, Richards 등(2002)은 CP 섭취량의 109~142%가 소장으로 유입된다고 하였고, 본 시험에서는 121.6~139.8%의 CP가 소장으로 유입되었다. EHC구에서 반추위로 재순환된 N량이 높았던 이유는 분명하지는 않지만, N 섭취량이 가장 작았던 원인이 N의 재흡수를 촉진하게 한 결과로 나타난 것으로 보인다.

한편, 하부소화관 내 CP 소실량과 소실율에서는 casein 주입구가 대조구에 비해 수치상으로는 증가하였지만, 처리 간에 유의적인 차이는 없었으며, 전 소화관 내 소실량과 소실율에서도 처리 간에 차이는 없었다.

Table 2. Crude protein (CP) disappearance rates in each segment of gastrointestinal tract in Hanwoo steers

Item	Treatments <sup>1</sup>			SEM <sup>2</sup>	Statistical significance <sup>3</sup>			
	Control	RC	EHC		C <sub>1</sub>	C <sub>2</sub>	C <sub>3</sub>	C <sub>4</sub>
CP intake, g/d	643.8	655.7	626.3	15.4	0.89	0.64	0.51	0.31
CP infusion, g/d	3.3	121.7	119.5	0	-	-	-	-
Duodenal flow, g/d	823.8	919.0	987.9	43.4	0.13	0.26	0.12	0.38
Fecal flow, g/d	372.6	386.1	409.5	15.4	0.31	0.60	0.23	0.39
Disappearance, g/d								
Whole stomach <sup>4</sup>	-176.7	-141.5	-242.1	29.0	0.71	0.48	0.25	0.13
Intestine	451.2	552.9	578.4	54.6	0.26	0.40	0.24	0.62
Total tract	274.5	391.4	336.3	29.6	0.13	0.11	0.28	0.32
Disappearance, % <sup>5</sup>								
Whole stomach	-27.5	-21.6	-39.8	2.9	0.46	0.29	0.10	0.05
Intestine	54.8	57.7	58.4	3.7	0.54	0.63	0.56	0.91
Total tract	42.5	50.3	44.8	3.5	0.36	0.25	0.69	0.38

<sup>1</sup>RC=raw casein, EHC=enzyme hydrolysed casein.

<sup>2</sup>Standard error of the mean, N=3 for 0(control), 150 (raw casein), and 150 (enzyme casein)g/d of casein infused..

<sup>3</sup>Statistical significance of treatment effect by GLM procedure for mean value; C<sub>1</sub>=control vs. casein; C<sub>2</sub>=control vs. raw. casein; C<sub>3</sub>=control vs. enzyme hydrolysate casein; C<sub>4</sub>=raw casein vs. enzyme hydrolysate casein.

<sup>4</sup>Infused CP was subtracted from duodenal flows before calculation of whole stomach disappearance values.

<sup>5</sup>Disappearance as percent of flow to the segment.

## 2) 질소 축적율

질소 섭취량과 분뇨내 질소함량을 이용해 구한 질소 축적율은 Table 3에 나타나있다. 질소 섭취량은 4위 주입한 casein의 양에 따라 유의적인 차이가 났으나 분뇨내 질소의 배출은 처리구간 차이가 없었다. 따라서 질소의 축적율 역시 차이가 없었다.

Table 3. Effect of casein infusion on nitrogen balance in Hanwoo steers.

Items	Diets <sup>1</sup>			S.E.M. <sup>2</sup>	Statistical significance of <sup>3</sup>			
	Control	RC	EHC		C <sub>1</sub>	C <sub>2</sub>	C <sub>3</sub>	C <sub>4</sub>
Nitrogen intake, g/d	647.03	777.31	745.65	15.42	<.05	<.05	N.S	<.05
Fecal Nitrogen, g/d	272.94	294.41	259.60	16.06	N.S	N.S	N.S	N.S
Urinary Nitrogen, g/d	26.51	28.22	26.01	2.04	N.S	N.S	N.S	N.S
Nitrogen balance, %	53.84	58.49	61.73	2.97	N.S	N.S	N.S	N.S

<sup>1</sup>RC=raw casein, EHC=enzyme hydrolysed casein.

<sup>2</sup>Standard error of the mean, N=3 for 0(control), 150 (raw casein), and 150 (enzyme casein)g/d of casein infused..

<sup>3</sup>Statistical significance of treatment effect by GLM procedure for mean value; C<sub>1</sub>=control vs. casein; C<sub>2</sub>=control vs. raw. casein; C<sub>3</sub>=control vs. enzyme hydrolysate casein; C<sub>4</sub>=raw casein vs. enzyme hydrolysate casein.

## 8. 반추위내 단백질 분해패턴 및 미생물 단백질 합성량 측정 시험

### 가. 실험 방법

#### 1) 시험기간 및 공시동물

시험은 각 14일로 이루어진 3반복, 총 42일 동안 진행되었다. 공시축은 3두의 반추위 및 십이지장 캐놀라가 동시 장착된 거세한우였고, 평균체중은  $525 \pm 2.8\text{kg}$ 이었다.

#### 2) 시험사료 및 사료급여

기초사료는 옥수수 사료를 주원료로 하는 배합사료와 볏짚을 사용하였고, 각각의 처리구당 소맥피와 대두피를 첨가하였다. 각 시험구의 사료원료와 화학적조성은 Table 1과 같다. 사료적용기에는 볏짚 1kg과 배합사료 4kg을 기초사료로 1일 2회로 나누어 급여했다. 시험기간중의 사료급여는 7kg의 사료를 1일 2회 아침 9시와 오후 9시에 나누어 급여하였다. 상·하부소화기관의 내용물 유입량을 알아보기 위한 산화크롬( $\text{Cr}_2\text{O}_3$ )은 아침·저녁 사료 급여 시 각각 7g씩(건물 섭취량 0.2% 수준) 혼합하여 급여하였다.

#### 3) 시험설계

단백질의 분해도에 따라 3개의 시험구로 나뉘었는데, 단백질 급원을 포함시키지 않은 대조구 사료와 반추위 분해율이 높은 소맥피 첨가구 및 반추위 분해율이 낮은 대두피 첨가구의 3개 처리구였고, 3개의 period로 3×3 Latin square design이 적용되었다.

#### 4) 조사항목 및 분석방법

##### 가) 시험사료

사료샘플은 각 period의 시작하는 날로부터 3일간 grab sampling 하였고, 매일 아침과 저녁으로 분리하여 채취, 사료의 일반성분 및 NDF, ADF 분석을 하였다. 채취한 시료는 60°C 송풍건조기에서 48시간동안 건조한 후 Willey mill(Thomas scientific, Model4, New Jersey, U.S.A.)을 사용 분쇄하여 1mm screen을 통과한 시료를 분석용으로 사용 하였다. 일반성분의 분석은 A.O.A.C법(1990)에 준하여 분석하였고 NDF, ADF는 Van Soest 등(1991)의 방법에 따라 분석 하였다.

Table 1. Ingredient and chemical composition of experimental diets

Items	Diets <sup>1</sup> (% of dry matter)		
	Control	SBH	WB
Ingredients (% of dry matter)			
Corn(ground)	67.30	33.10	48.15
Cottonseed hull	5.00	2.46	3.58
Skimmed rice bran	26.09	12.83	18.66
Calcium phosphate	0.40	0.40	0.40
Mineral-vitamin additive <sup>2</sup>	1.00	1.00	1.00
Salt	0.21	0.21	0.21
SBH	-	50.00	-
WB	-	-	28.00
Total	100.00	100.00	100.00
Composition (% of dry matter)			
Dry matter (% of fed basis)	86.26	87.62	86.67
Crude protein	10.10	12.13	12.06
Ether extract	2.90	3.58	3.68
Ash	4.32	4.86	5.26
Neutral detergent fiber	18.61	44.88	24.65
Acid detergent fiber	3.80	28.58	5.37

<sup>1</sup>SBH; soybean hull, WB; wheat bran.

<sup>2</sup>provided following nutrients per kg of additive: Vit. A, 2,650,000IU; Vit. D<sub>3</sub>, 530,000IU; Vit. E, 1,050 IU; Niacin, 10,000mg; Mn, 4,400mg; Zn, 4,400mg; Fe, 13,200mg; Cu, 2,200mg; I, 440mg; Co, 440mg.

나) 반추위 내용물의 채취

반추위 내용물은 각 period의 13일째 날(종료 전날) 반추위 캐놀라를 통하여 0, 2, 4, 6, 8, 10h에 100ml 정도 채취하고 다음날(종료일) 1, 3, 5, 7, 9, 11h에 100ml 정도 채취하여 총 12개의 time 샘플을 준비했다. 채취한 반추위액은 즉시 4겹의 거즈를 이용, 여과하여 pH(Corning model 530 pH meter)를 측정 한 후 VFA, NH<sub>3</sub>-N, α-amino N을 분석 하였다.

다) Omasal digesta의 채취

각 period 13일째 날(종료 전날) 제 3위 소화물 200ml을 Ahvenjarvi et al.(2000)의 방법에 따라 omasal sampling device을 이용해 급여 후 1, 3, 5, 7, 9, 11h에 200ml 정도 채취하고 다음날(종료일) 0, 2, 4, 6, 8, 10h에 200ml 정도 채취하여 총 12개의 time 샘플을 준비했다. 채취한 제 3위 소화물은 영양소 소화율을 구하

기 위한 composite sample을 위해 100g씩 혼합하고 나머지는 4겹의 거즈로 여과한 후 미생물 작용을 정지시키기 위해 1ml의 HgCl<sub>2</sub>과 혼합하여 수용성 비암모니아태 질소화합물 분석을 위해 -20℃에 보관하였다.

라) 십이지장 내용물의 채취

반추위 내용물은 각 period의 13일째 날(종료 전날) 반추위 캐놀라를 통하여 0, 2, 4, 6, 8, 10h에 100ml 정도 채취하고 다음날(종료일) 1, 3, 5, 7, 9, 11h에 100ml 정도 채취하여 총 12개의 time 샘플을 준비했다. 채취한 십이지장 내용물은 영양소 소화율을 구하기 위한 composite sample을 위해 100g씩 혼합하였다.

마) 반추위 VFA

앞 실험과 동일

바) 반추위 NH<sub>3</sub>-N

앞 실험과 동일

사) 반추위 및 제3위액 용해성 비암모니아태 질소화합물(SNAN; soluble non-ammonia nitrogen)

앞 실험과 동일

아) 혈액 채취 및 분석

앞 실험과 동일

자) 미생물체 단백질 함성량

앞 실험과 동일

차) 분, 뇨 채취 및 분석

앞 실험과 동일

카) 소화기관별 영양소 소실율 산출을 위한 소화관 내용물 분석

제3위 내용물, 십이지장 내용물 및 분을 60℃ 송풍건조기에서 72시간동안 건조한 후 Willey mill(Thomas scientific, Model4, New Jersey, U.S.A.)을 사용 분쇄하여 1mm screen을 통과한 시료를 분석용으로 사용 하였다. 일반성분의 분석은 A.O.A.C법(1990)에 준하여 분석 하였고 NDF, ADF는 Van Soest 등(1991)의 방법에 따라 분석 하였다. 전분 분석은 다음과 같다. 50ml 원심분리관에 1mm 분쇄 시료

0.2g을 넣은 다음, 80% 에탄올 2방울을 떨어뜨리고, 증류수 5ml을 넣어 혼합하였다. 75°C의 80% 에탄올 25ml을 넣어 혼합하여, 5분간 방치한 다음 원심분리(3000rpm, 10분) 하였다. 원심 분리 후, 상층액은 버리고 다시 원심분리관에 75°C의 80% 에탄올 30ml을 넣어 혼합하여, 5분간 방치한 다음, 원심분리 하였다. 원심분리 후, 잔사를 제외하고 상층액은 전부 버린 다음 건조(40~50°C, 60분) 하였다. 건조 후, 증류수 5ml을 넣고 혼합한 다음, 52% perchloric acid reagent 6.5ml을 넣어 5분 간격으로 혼합하되 총 20분간 혼합하였다. 여기에 증류수 20ml을 넣어 혼합하여, 원심분리(3,000rpm, 10분) 하였다. 원심 분리 후, 상층액을 100ml volume metric flask에 여과하면서 담았으며, 건조 이후 과정을 2회 반복하여 100ml을 여과하면서 채웠다. 시료 용액 및 표준용액(2.5, 5, 10, 20ml 표준용액/100ml 증류수)은 필요한 배수로 희석하고, 20ml tube에 1ml씩 넣은 다음, anthrone reagent 5ml을 추가하여 혼합하였다. 100°C의 항온수조에서 12~13분간 발색하고, 발색 후 급속히 상온으로 냉각시킨 다음 spectrophotometer(630nm)에서 측정하였다.

타) 산화크롬 ( $Cr_2O_3$ ) 분석과 장관 별 영양소 소실율 산출  
앞 실험과 동일

#### 5) 통계분석

분석 및 획득된 결과의 유의성을 검증하기 위하여 통계분석은 SAS Procedure(2002)을 이용하였다. BUN, albumin, total protein, creatinine 미생물체 단백질 합성량, 질소축적, 영양소 소화율 등은 GLM으로 유의성을 검증 하였으며, pH, VFA,  $NH_3-N$ , SNAN은 mixed procedure(Littell 등, 1998)를 이용하였다.

### 나. 결과

#### 1) 반추위 pH, 암모니아 농도 및 휘발성지방산 농도

사료 단백질의 분해율이 반추위 pH, 암모니아 농도 및 VFA 농도에 미치는 영향을 Table 2, Figure 1, 2 및 3에 나타내었다. 처리구간 반추위 pH, 총 VFA 및 각 구성원의 농도는 차이가 없었다. 그러나 암모니아태 질소의 농도는 단백질 첨가로 증가했으며( $P<0.01$ ), 단백질 첨가 처리구간 분해율이 증가할수록 증가하였다( $P<0.001$ ). 이 결과는 분해율이 높은 대두박을 급여했을 때 반추위 암모니아태 질소 농도가 분해율이 낮은 옥글루텐박을 급여했을 때보다 높았다는 Klusmeyer 등(1990)의 보고와 유사하였다. 이는 RUP 함량이 높은 SBH에 있어서 반추위 내 암모니아 생산이 RDP 함량이 높은 WB보다 더 낮음을 보여준다. 50mg/L의 반추위 암모니아태 질소 수준은 최대의 반추위 미생물 성장과 활력을 가져올 수 있는 수준으로 받아

들어지고 있다(Satter와 Roffler, 1975). 그러므로 대조구와 SBH의 미생물 성장은 50mg/L보다 낮은 암모니아 생산으로 제한될 수 있다. 즉 적정 미생물 성장을 위해서는 RDP의 적정 함량도 고려해야 한다는 점을 시사하고 있다.

Table 2. Effects of degradability of dietary protein on rumen pH, ammonia, volatile fatty acid (VFA) concentrations, and acetate:propionate (A:P) ratio.

Items	Diets <sup>1</sup>			SEM <sup>2</sup>	Statistical significance of <sup>3</sup>	
	Control	SBH	WB		C <sub>1</sub>	C <sub>2</sub>
pH	6.58	6.64	6.58	0.05	0.4846	0.3021
Ammonia, mg/L	31.26	38.74	72.71	2.71	0.0018	0.0009
VFA, mM						
Acetate	61.75	64.55	47.46	10.38	0.6045	0.2558
Propionate	18.17	17.3	14.96	2.52	0.4970	0.3920
A:P ratio	3.36	3.72	3.18	0.23	0.7598	0.1773
Isobutyrate	0.93	0.96	0.83	0.14	0.8270	0.5117
Butyrate	12.11	9.94	11.09	2.40	0.4017	0.5867
Isovalerate	1.65	1.92	1.32	0.30	0.9460	0.2219
Valerate	0.90	1.01	0.91	0.12	0.6082	0.4704
Total	95.51	96.11	76.57	15.49	0.5708	0.3400

<sup>1</sup>SBH; soybean hull, WB; wheat bran.

<sup>2</sup>Standard error of mean

<sup>3</sup>Statistical significance of treatment effects by mixed procedure. C<sub>1</sub>; Control vs. protein supplement, C<sub>2</sub>; SBH vs. WB.

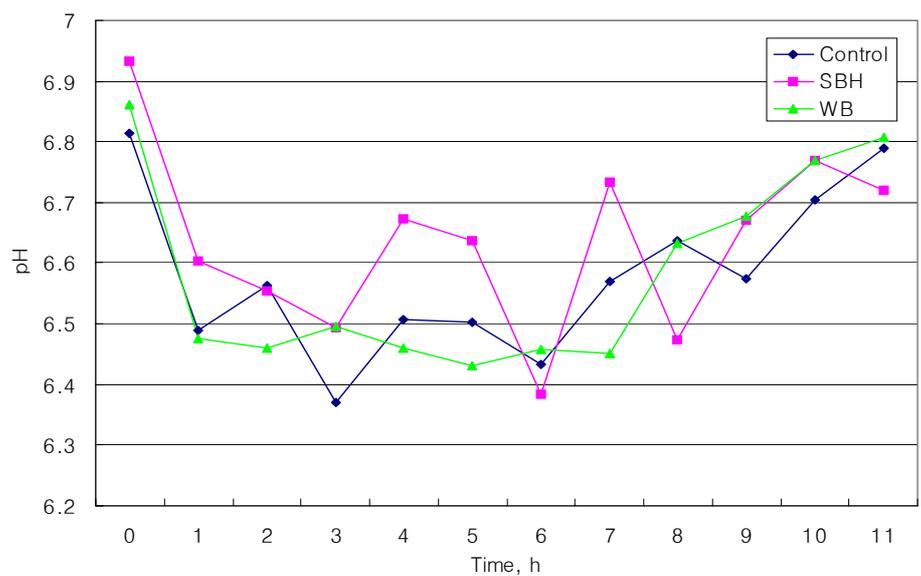


Figure 1. Diurnal variation of pH in the rumen digesta during a 12 h feeding cycle (SBH; soybean hull, WB; wheat bran).

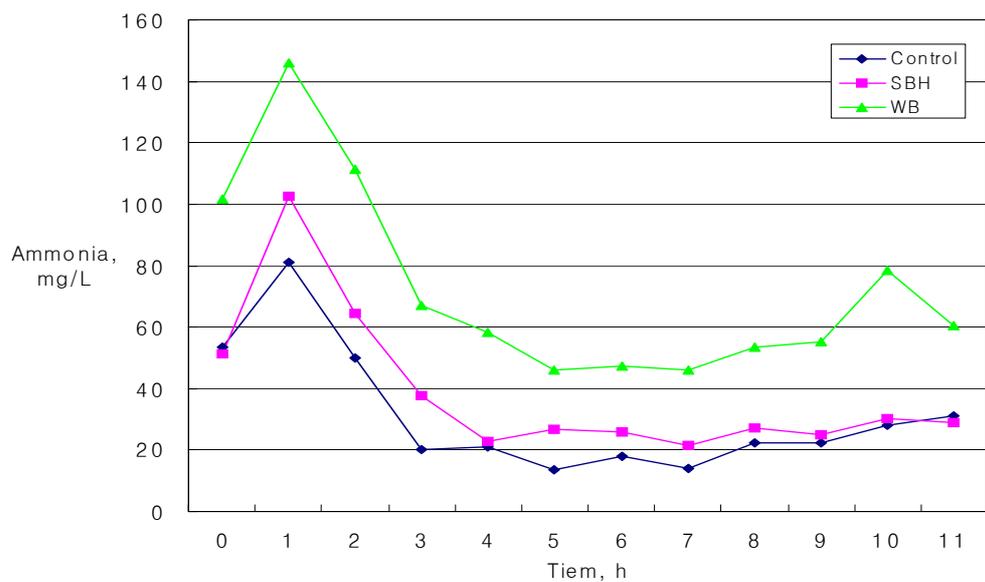


Figure 2. Diurnal variation of ammonia concentration in the rumen digesta during a 12 h feeding cycle (SBH; soybean hull, WB; wheat bran).

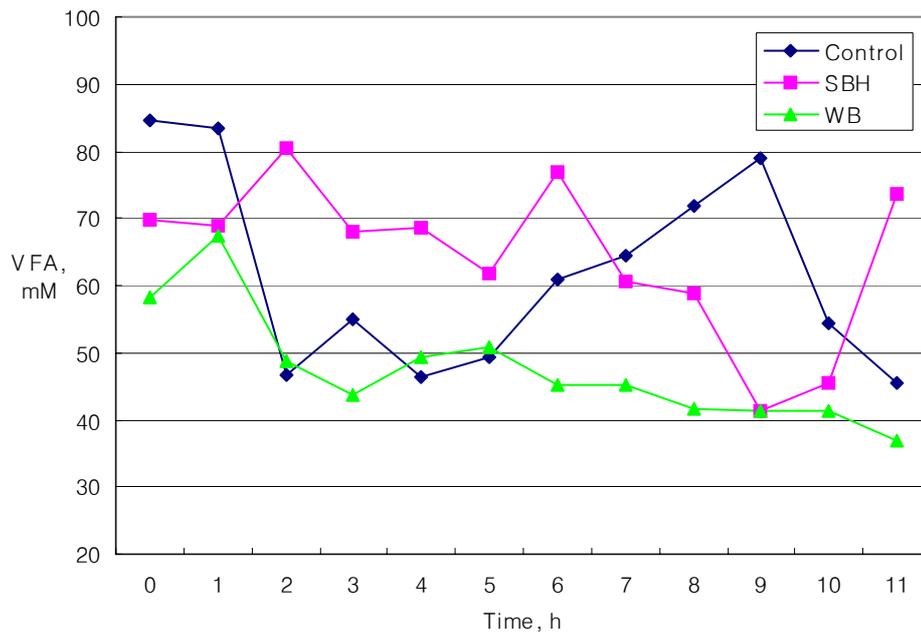


Figure 3. Diurnal variation of total volatile fatty acid concentration in the rumen digesta during a 12 h feeding cycle (SBH; soybean hull, WB; wheat bran).

## 2) 혈액 대사물질

본 실험에서 BUN은 단백질의 첨가 및 분해도에 비례해서 증가하는 ( $P < 0.05$ ) 것이 뚜렷하게 나타났다. 단백질 첨가 처리구 간의 차이는 WB의 빠른 반추위 내 분해속도에 기인한 것으로 보인다. Stern(1980) 등은 반추동물에게 단백질 분해비율이 높은 사료를 급여하면 반추위내에 미생물에 의해 암모니아가 과도하게 생성되므로 반추위내에서 과도한 암모니아 흡수가 일어나 간에서 요소합성을 증가시켜 많은 양의 에너지가 소모되기 때문에 생산성을 감소시키는 원인이 된다고 하였다. 본 실험에서의 반추위내 암모니아 생성량을 보면 WB구에서 훨씬 많은 양의 암모니아가 발생 했는데 미생물에 의해 생성, 이용되고 남은 과량의 암모니아가 위벽을 통해 흡수되어 결국 BUN의 증가로 이어진 것으로 보인다. 높은 수준의 CP 또는 RDP를 급여하였을 때의 뇨를 통한 질소 손실의 증가는 이미 많은 학자들에 의해 보고된 바 있다(Kröber 등, 2000; Castillo 등, 2001; Leonardí 등, 2003). 본 실험의 결과로 봤을 때 반추동물에 있어서의 BUN으로 인한 질소의 손실은 RUP 급원인 SBH보다 RDP 급원인 WB가 더 큰 것으로 보인다.

Table 3. Effects of degradability of dietary protein on level of blood urea nitrogen (BUN), total protein (TP), albumin and creatinine in the plasma.

Items	Diets <sup>1</sup>			SEM <sup>2</sup>	Statistical significance of <sup>3</sup>	
	Control	SBH	WB		C <sub>1</sub>	C <sub>2</sub>
BUN, mg/dl	5.44	7.75	9.65	0.29	0.0113	0.0422
TP, g/dl	7.28	7.38	7.27	0.05	0.6072	0.2698
Albumin, g/dl	3.68	3.68	3.73	0.02	0.3739	0.2952
Creatinine, mg/dl	1.21	1.22	1.18	0.01	0.5528	0.178

<sup>1</sup>SBH; soybean hull, WB; wheat bran.

<sup>2</sup>Standard error of mean

<sup>3</sup>Statistical significance of treatment effects by mixed procedure. C<sub>1</sub>; Control vs. protein supplement, C<sub>2</sub>; SBH vs. WB.

### 3) 반추위액 및 제3위액내 용해성 비암모니아 질소

단백질 첨가 및 단백질의 반추위 분해율이 반추위액 및 제3위액 내 아미노산, peptide, 수용성 단백질 및 총 SNAN의 농도에 미치는 영향을 Table 4, Figure 4 및 5에 제시하였다. 제3위액의 아미노산, peptide, 수용성 단백질 및 총 SNAN의 농도는 반추위액보다 높았다(P<0.05). 이는 본 연구의 조농비율이 낮아서 상대적으로 더 많은 농후사료 입자가 제1위보다 제2위로 들어가서 그곳에 머물기 때문(Choi 등, 2002b)으로 여겨진다. 반추위액의 아미노산과 수용성 단백질의 농도는 상대적으로 낮은 수준으로 여겨지나(Williams와 Cockburn, 1991; Choi 등, 2002b) 본 연구에서 아미노산과 수용성 단백질의 농도는 낮지 않았는데 이는 수용성 단백질의 경우 첨가 단백질로부터 수용성 단백질의 방출의 증가와 아미노산의 경우 수용성 단백질의 단백질 가수분해의 증가에 기인한 것으로 사료된다. 제3위로 이전되는 peptide의 평균 농도는 77.3mg N/L로 SNAN 분획 중 양적으로 가장 많았다.

단백질 첨가 여부 및 단백질의 반추위 분해율은 반추위액 및 제3위액의 SNAN 농도에 영향을 미쳤다. Chen 등(1987a)은 수용성이 낮아지도록 열처리한 대두박을 공급했을 때 peptide와 수용성 단백질의 반추위 농도 및 이전량이 증가했다고 보고하였다. 그러나 Williams와 Cockburn(1991)은 첨가 단백질의 수용성과 peptide 농도 간에 상관관계가 낮다고 보고했고 Choi 등(2002b)은 반추위내 SNAN 농도는 단백질 첨가로 증가하지만 첨가 단백질의 형태와는 관계가 없다고 보고했다. 본 연구에서도 SBH와 WB 간의 수용성의 차이는 없었다(25 vs. 26%; 2절 실험1 참

조). 반추위 분해율의 차이에 따라 수용성의 정도도 차이가 날 수 있으나 반드시 그렇지는 않다. 따라서 반추위 내 SNAN의 제3위로의 이전에 미치는 영향은 사료의 수용성이 아니라 반추위 분해율이라는 것을 보여준다.

Table 4. Effects of degradability of dietary protein on the concentrations (mg N/L) of nitrogenous fractions of soluble non-ammonia nitrogen (SNAN) either in the rumen or entering the omasal canal.

Items	Diets <sup>1</sup>			Site <sup>2</sup>	SEM <sup>3</sup>	Statistical significance of <sup>4</sup>	
	Control	SBH	WB			C <sub>1</sub>	C <sub>2</sub>
Free amino acid							
Ruminal	19.95	17.16	23.10	20.07 <sup>a</sup>	1.80	0.9389	0.0753
Omasal	24.30	23.56	26.94	24.93 <sup>b</sup>	2.73	0.7666	0.4039
Peptide							
Ruminal	45.02	70.46	85.26	66.91 <sup>a</sup>	5.79	0.0081	0.1393
Omasal	58.46	78.28	95.16	77.30 <sup>b</sup>	8.47	0.0395	0.2153
Protein							
Ruminal	16.59	20.35	22.33	19.76	2.21	0.1485	0.4956
Omasal	20.32	24.15	26.97	23.81	1.84	0.0003	0.0317
SNAN <sup>5</sup>							
Ruminal	79.40	105.81	127.66	104.29 <sup>a</sup>	7.52	0.0521	0.1710
Omasal	103.08	125.99	149.07	126.04 <sup>b</sup>	5.86	0.0015	0.0248

<sup>1</sup>SBH; soybean hull, WB; wheat bran.

<sup>2</sup>Different letters express a statistical significance for the mean of each fraction between sampling sites (P<0.05).

<sup>3</sup>Standard error of mean

<sup>4</sup>Statistical significance of treatment effects by mixed procedure. C<sub>1</sub>; Control vs. protein supplement, C<sub>2</sub>; SBH vs. WB.

<sup>5</sup>Calculated as the sum of free amino acid, peptide and protein

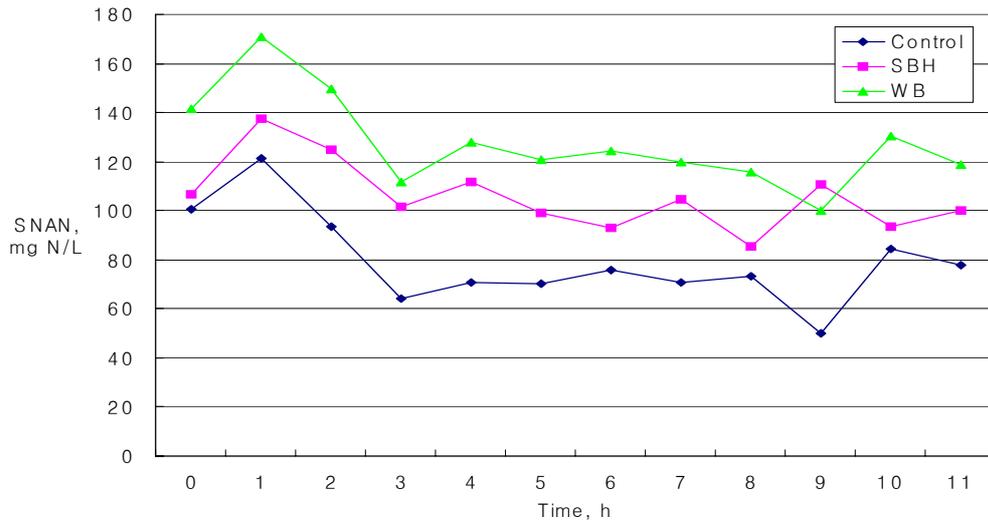


Figure 4. Diurnal variation of total soluble non-ammonia nitrogen (SNAN) in the rumen during a 12 h feeding cycle (SBH; soybean hull, WB; wheat bran).

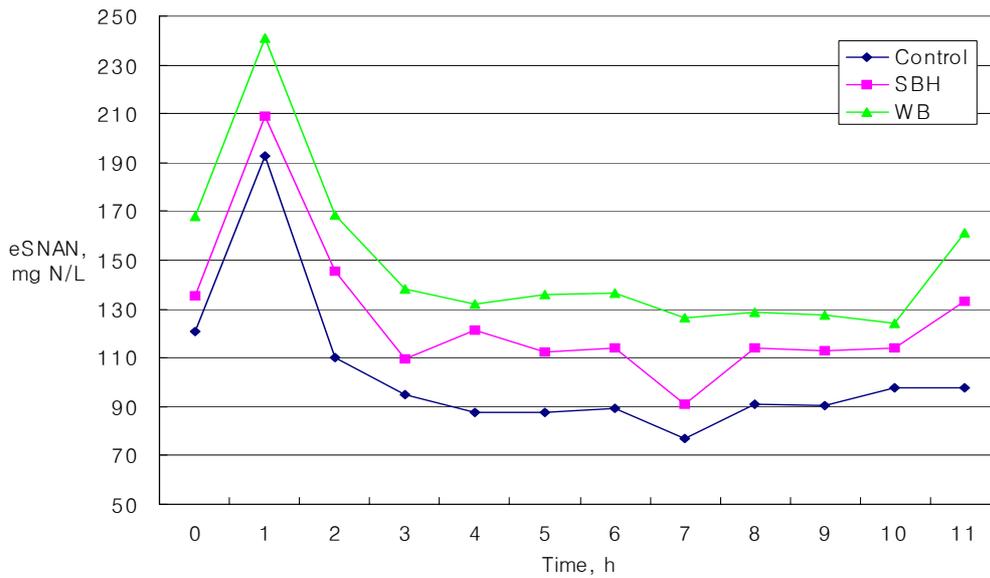


Figure 5. Diurnal variation of total soluble non-ammonia nitrogen entering the omasal canal (eSNAN) during a 12 h feeding cycle (SBH; soybean hull, WB; wheat bran).

4) 미생물체 단백질 생성량과 질소축적

Table 5는 미생물단백질 생성량과 질소축적율을 나타낸 것이다. 미생물 단백질 생성량의 경우 WB 급여구에서 높게 나타났는데, 이는 반추위 분해도가 빠른 WB 급여시에 생성된 비교적 많은 양으로 생성된 암모니아태 질소에 기인한 것으로 보인다. Russell 등(1992)은 암모니아가 반추위 박테리아의 미생물체 단백질 합성 시 이용되는 주된 질소 공급원이라고 하였고 Klusmeyer 등(1990)은 반추위 분해율이 낮은 단백질을 급여 하였을 때에 비해 반추위 분해율이 높은 단백질을 급여하였을 때에 하루 동안의 소장으로의 미생물체 질소의 이전량이 현저하게 늘어났다고 하였다. 이러한 차이는 반추위 분해율이 느린 단백질원의 느린 반추위 분해속도에 의한 암모니아태 질소 생성의 제한에서 온다고 하였다. 이와 유사하게 Waltz 등(1989)은 낮은 수준의 RDP 함량을 가진 사료에서 보다 높은 수준의 RDP 함량을 가진 사료에서 미생물체 단백질 생성량이 더 많았다고 하였다.

한편 질소균형에 있어서는 처리구 간에 차이가 없었는데, 미생물 체단백질의 생성량이 WB구에서 높았음에도 불구하고 질소균형에 차이가 없었던 것은 WB과 비교하여 반추위에서 분해되지 않은 상당량의 SBH가 소장으로 이전되어 분해 흡수됨에 기인한 것으로 보인다. 즉 WB는 과량의 암모니아태 질소의 뇨를 통한 손실이 많았고, SBH는 미생물체 단백질 생성량은 적었지만 반면에 암모니아태 질소를 통한 손실이 적고 소장에서의 이용률이 높았기 때문에 질소 균형에서 차이가 나지 않았던 것으로 보인다.

Table 5. Effects of degradability of dietary protein on changes in microbial nitrogen synthesis and nitrogen balance

Items	Diet <sup>1</sup>			S.E.M <sup>2</sup>	Statistical significance of <sup>3</sup>	
	Control	SBH	WB		C <sub>1</sub>	C <sub>2</sub>
Microbial nitrogen, g/d	21.05	29.30	39.87	0.91	0.0068	0.0146
Nitrogen balance, %	48.8	61.58	55.28	3.90	0.1819	0.3723

<sup>1</sup>SBH; soybean hull, WB; wheat bran.

<sup>2</sup>Standard error of mean

<sup>3</sup>Statistical significance of treatment effects by mixed procedure. C<sub>1</sub>; Control vs. protein supplement, C<sub>2</sub>; SBH vs. WB.

5) 소화기관별 영양소 소실율

가) 유기물 소실율

단백질의 첨가와 첨가 단백질의 반추위 분해율 차이가 OM 소실량 및 OM 소실율에 미친 영향은 Table 6과 같다. OM 섭취량 및 십이지장으로 유입되는 OM량은 처리 간에 차이가 없었다. 십이지장 유입 OM량으로부터 OM 주입량을 뺀 량으로부터 계산된 반추위 소실량과 OM 섭취량에 대한 소실율에서도 유의적인 차이가 보이지 않았다. 또한 하부소화관 OM 소실량과 소실율, 그리고 전 소화관 내 OM 소실량이나 OM 소실율에서도 처리간 유의적인 차이는 없었다. 반추위 소실율에서 처리간 차이가 없었던 것은 단백질 첨가 처리가 반추위의 운동성 및 통과율에 영향을 미치지 않았다는 것을 보여준다.

Table 6. Effects of degradability of dietary protein on organic matter (OM) disappearance rates in each segment of gastrointestinal tract

Items	Treatments <sup>1</sup>			SEM <sup>2</sup>	Statistical significance of <sup>3</sup>	
	Control	SBH	WB		C <sub>1</sub>	C <sub>2</sub>
OM intake, g/d	5710.51	5726.93	5638.08	35.56	0.5861	0.2193
Duodenal flow, g/d	3500.47	3500.17	3642.54	163.69	0.7574	0.6012
Fecal flow, g/d	1478.03	1104.00	1291.18	138.71	0.2406	0.4407
Disappearance, g/d						
Stomach	2210.04	2226.76	1995.54	190.26	0.7126	0.4807
Intestine	2022.44	2396.17	2351.36	276.23	0.4081	0.9192
Total tract	4232.48	4622.93	4346.90	145.47	0.2922	0.3117
Disappearance, % <sup>4</sup>						
Stomach	38.63	38.84	35.42	3.18	0.7372	0.5270
Intestine	57.16	68.19	63.97	6.08	0.3539	0.6721
Total tract	74.09	80.70	77.11	2.45	0.2495	0.4088

<sup>1</sup>SBH; soybean hull, WB; wheat bran.

<sup>2</sup>Standard error of mean

<sup>3</sup>Statistical significance of treatment effects by mixed procedure. C<sub>1</sub>; Control vs. protein supplement, C<sub>2</sub>; SBH vs. WB.

<sup>4</sup>Disappearance as percent of flow to the segment.

나) 조단백 소실율

단백질의 첨가와 첨가 단백질의 반추위 분해율 차이가 CP 소실량 및 CP 소실율에 미친 영향은 Table 7과 같다. CP의 십이지장 유입량은 단백질 첨가의 영향으로 대조구에 비해 증가하는 경향(P = 0.16)을 보였고 이의 소장 내 소화율은 단백질 첨가로 증가하는 경향을 보였기 때문에(P=0.14) 단백질 첨가로 인해 하부 장기 소화율이 증진됨을 확인할 수 있다. 또한 총소화관 소화율 역시 단백질 첨가로 증가하는 경향을 보였다(P=0.1). 반추위 소실율이 음의 값인 것은 반추위로 재순환되는 질소량이 증가하여 나타난 결과로 해석되고 있으며, NRC(1984)에서는 CP 섭취량의 75~120%, Richards 등(2002)은 CP 섭취량의 109~142%가 소장으로 유입된다고 하였다. 본 시험의 하부소화관 결과는 소장과 대장에서의 소화를 모두 포함하고 있지만, Richards 등(2002)의 보고에 따르면 대장의 CP 소실율도 부(-)의 값을 보여준다고 하였고, 그 이유는 대장에서의 미생물 발효에 의한 미생물 단백질, 요소, 암모니아 등이 분중 N의 양을 증가시키기 때문이라고 하였다.

Table 7. Effects of degradability of dietary protein on crude protein (CP) disappearance rates in each segment of gastrointestinal tract

Items	Treatments <sup>1</sup>			SEM <sup>2</sup>	Statistical significance of <sup>3</sup>	
	Control	SBH	WB		C <sub>1</sub>	C <sub>2</sub>
CP intake, g/d	560.65	659.96	647.83	13.81	0.0314	0.5979
Duodenal flow, g/d	918.31	1116.46	1054.73	61.61	0.1569	0.5521
Fecal flow, g/d	265.17	226.00	241.60	19.90	0.3269	0.6351
Disappearance, g/d						
Stomach	-357.65	-456.50	-406.91	49.00	0.3426	0.5485
Intestine	653.14	890.46	813.13	73.76	0.1589	0.5358
Total tract	295.48	433.96	406.23	26.00	0.0595	0.5294
Disappearance, % <sup>4</sup>						
Stomach	-63.91	-69.27	-62.83	6.16	0.8034	0.5368
Intestine	71.14	79.14	77.18	2.45	0.1439	0.6283
Total tract	52.75	65.78	62.77	3.25	0.1011	0.5792

<sup>1</sup>SBH; soybean hull, WB; wheat bran.

<sup>2</sup>Standard error of mean

<sup>3</sup>Statistical significance of treatment effects by mixed procedure. C<sub>1</sub>; Control vs. protein supplement, C<sub>2</sub>; SBH vs. WB.

<sup>4</sup>Disappearance as percent of flow to the segment.

#### 다) 전분 소실율

단백질의 첨가와 첨가 단백질의 반추위 분해율 차이가 전분 소실량 및 전분 소실율에 미친 영향은 Table 8과 같다. 급여 사료의 단백질 첨가량의 증가로 상대적으로 옥수수의 비율이 감소함에 따라 전분 섭취량은 차이를 보이고 있다. 그러나 섭취한 양의 소화되는 비율을 나타내는 전장 소실율에서는 차이가 없었다. 하지만 소장에서의 소실율은 유의적 차이는 없었으나 SBH구에서 수치적으로 높은 결과를 가져왔다. 이는 소장으로의 단백질 유입량이 SBH에서 가장 높았다는 앞선 결과와 결부시켜 생각할 수 있다. Richards 등(2002)은 소장 내 전분분해는 십이지장으로 유입되는 단백질이 많은 수록 증가한다고 보고하고 있고, Christensen 등(1993)은 RUP 함량이 높은 사료를 섭취한 착유우는 전분 섭취량, 반추위 전분소화율, 십이지장 전분 유입량 및 소화율, 전 소화관 소화율에서 RUP 함량이 낮은 사료를 섭취했을 때 보다 유의성 있게 높았다고 보고하였다. Richard 등(2002)의 결과에서는 소장으로 유입되는 단백질의 증가가 소장에서의 전분소실을 증가시켰다고 결론짓고 있다. 이어 Richards 등(2003)이 단백질에 의해 췌장의  $\alpha$ -amylase 분비가 촉진되며, 그 결과 소장에서의 전분 이용성이 증진된다고 보고하여 소장 내 가용단백질의 증가가 췌장 효소 분비와 소장 내 전분 소화율을 높일 수 있다는 가설을 뒷받침하였다. 소장으로 유입되는 전분은 반추위에서 미 분해된 전분이기 때문에 소장 유입 전분량은 반추위 분해율에 의해 영향을 받는다. 따라서 전분섭취량에 대한 소장 내 전분의 소화율은 반추위 소화율과 부(-)의 관계를 보여주고, 소장 유입량에 대한 소장 내 전분 소화율은 반추위 소화율과 정(+)의 관계에 있다(Theurer 등, 1999). 즉, 소장에서의 전분 소화율은 제한적일 수 있기 때문에 건물섭취량에 영향을 미치지 않는 범위에서 반추위 전분 소화율을 높이면 전 소화관 전분 소화율도 높아진다. 이러한 조건에서의 또 다른 이점은 반추위미생물 합성량이 증가한다는 것이다(Firkins 등, 2001). Huntington(1997)은 소장으로 유입되는 전분의 약 45%가 glucose로서 흡수되지 않는 것을 지적하면서 소장으로 유입되는 전분량 증가보다는 반추위에서의 전분분해가 거세우나 유우에게 더 이점이 있다고 하였다. 따라서 건물섭취량에 영향을 미치지 않는 범위에서 반추위 전분 소화율을 높이고, 분해되지 않고 소장으로 넘어온 전분의 소화, 흡수율을 높일 수 있다면 생산효율은 극대화 될 것이다. 본 연구의 결과는 비록 유의적 차이는 없었으나 RUP 급원을 통한 소장으로의 단백질의 공급 증가가 소장에서의 전분 소화율을 증진시킬 수 있는 가능성이 있다는 점을 보여주는 것이라 할 수 있겠다.

Table 7. Effects of degradability of dietary protein on starch disappearance rates in each segment of gastrointestinal tract

Items	Treatments <sup>1</sup>			SEM <sup>2</sup>	Statistical significance of <sup>3</sup>	
	Control	SBH	WB		C <sub>1</sub>	C <sub>2</sub>
Starch intake, g/d	3161.21	1943.89	2909.23	61.37	0.0103	0.0080
Duodenal flow, g/d	1127.57	842.94	656.91	227.31	0.3078	0.6213
Fecal flow, g/d	306.83	138.33	208.50	29.24	0.0651	0.2317
Disappearance, g/d						
Stomach	2033.65	1100.94	2252.31	204.52	0.2901	0.0577
Intestine	820.74	704.62	448.41	218.32	0.4574	0.4939
Total tract	2854.39	1805.56	2700.72	32.64	0.0044	0.0026
Disappearance, % <sup>4</sup>						
Stomach	64.43	56.27	77.43	8.89	0.8448	0.2343
Intestine	72.33	81.81	68.25	6.07	0.7511	0.2548
Total tract	90.33	92.86	92.86	1.18	0.2220	0.9970

<sup>1</sup>SBH; soybean hull, WB; wheat bran.

<sup>2</sup>Standard error of mean

<sup>3</sup>Statistical significance of treatment effects by mixed procedure. C<sub>1</sub>; Control vs. protein supplement, C<sub>2</sub>; SBH vs. WB.

<sup>4</sup>Disappearance as percent of flow to the segment.

### 제 3 절. 한우 반추위 및 소장내 전분 이용성 증진을 위한 가공처리의 효과(협동과제; 충북대학교)

#### 1. 전분질 사료의 *in vitro* 분해율

##### 가. 재료 및 방법

##### 1) 공시재료

전분질 곡류사료인 옥수수(미가공, flake, expanded), 귀리, 소맥, 보리를 disc. mill을 이용하여 0.05mm로 분쇄 후 공시재료로 이용하였다.

##### 2) 반추위액 공여축

반추위 캐놀라가 장착된 체중 650kg의 거세한우에게 1일 농후사료 6kg, 볏짚 2kg를 급여하였다.

##### 3) *In vitro* 배양

*In vitro* 배양시험은 가스발생량 측정장치를 이용하여 실시하였으며, 배양 처리구는 50ml 배양병을 이용하였다. 0.05mm로 분쇄된 시료(알곡) 0.1g을 50ml 배양병에 취하여고 반추위액 2ml과 혐기성 배양액 8ml을 첨가하면서 배양시켰으며, 알팔파를 standard로 사용하였고, blank로 시료 없이 반추위액만의 가스발생량을 측정하였다. Blank와 알팔파는 2반복씩, 시료는 3반복으로 48시간동안 시험을 진행하였다. 가스 발생량은 Schofield와 Pell(1995)의 방법에 따라서 측정하였고, 배양이 끝나면 pH 측정을 측정하였다.

##### 가) Rumen inoculum 및 *in vitro* 배양액의 준비

본 *in vitro* 시험에 사용된 반추위액의 채취는 사료급여 2시간 후, 반추위 cannula가 장착된 한우 거세우로부터 반추위액과 고형물을 채취한 후 8겹의 cheese cloth와 유리섬유를 통해 여과하여 200ml를 채취하였으며, 채취한 위액은 O<sub>2</sub> free-CO<sub>2</sub> gas가 충전된 100ml 배양병에 담고 재차 O<sub>2</sub> free-CO<sub>2</sub> gas를 1분간 주입한 후 고무마개로 밀봉하고 알루미늄 캡을 씌워서 혐기적인 조건을 유지하며, 이때 39℃ 항온수조로 배양병의 온도를 유지시켜 주었다. 이렇게 채취된 반추위액을 *in vitro* 배양시험을 위한 inoculum으로 사용하였다.

*In vitro* 배양액(Goering and VanSoest, 1970)은 250ml 비커에 증류수 40ml 및 0.4g Casein enzymatic hydrolysate 첨가하여 일정하게 교반한 후, 20ml

Micromineral Solution 과 40ml 증류수 첨가하여 10분간 교반하고, 다음에 *in vitro* buffer 용액 40ml 첨가하여 3분간 교반하며 마지막으로 40ml macromineral solution 첨가하여 5분간 교반(0.2mL resazurin 첨가)한 후 배양액으로 사용하였다.

Table 1. Composition of the medium<sup>1)</sup> and preparation procedure

Solution	Regent		Amount
In Vitro buffer solution (1L)	Sodium Bicarbonate	NaHCO <sub>3</sub>	35.0 g/L
	Ammonium Bicarbonate	NH <sub>4</sub> HCO <sub>3</sub>	4.0 g/L
Macromineral solution (1L)	Sodium Phosphate	Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	5.7 g/L
	Potassium Phosphate	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	6.2 g/L
	Magnesium Sulfate	MgSO <sub>4</sub> • 7H <sub>2</sub> O	0.6 g/L
Micromineral solution (10ml)	Calcium Chloride	CaCl <sub>2</sub> • 2H <sub>2</sub> O	1.32 g/10mL
	Manganese Chloride	MnCl <sub>2</sub> • 4H <sub>2</sub> O	1.00 g/10mL
	Cobalt Chloride	CoCl <sub>2</sub> • 6H <sub>2</sub> O	0.10 g/10mL
	Ferric Chloride	FeCl <sub>3</sub> • 6H <sub>2</sub> O	0.80 g/10mL

<sup>1)</sup> Goering et al, (1970)

나) *in vitro* 배양 가스 발생량 측정

- (1) 전자저울로 시료를 0.1g정도 달아서 50ml Bottle에 넣으며 magnetic bar도 넣는다.
- (2) 시료 16개당 시약 - 250ml Beaker에 Casein Hydrolysate 0.4g, 증류수 80ml, *in vitro* buffer solution 40ml, Macromineral Solution 40ml, Micromineral Solution 20 $\mu$ l등을 순서대로 넣고 Hot Plate에서 교반하면서 가열하지 않은 상태로 충분히 녹인다.
- (3) 충분히 녹인 시약을 밀 둥근 플라스크에 넣고 흡휴드에서 일정하게 작은 기포가 생길 정도로 가열시킨다.
- (4) 가열이 끝난 후 플라스크에 CO<sub>2</sub>가스를 주입시킨다. 플라스크가 냉각된 후 Cysteine-Hcl 0.1g 넣는다.
- (5) 이미 준비된 시료에 시약을 먼저 1ml 넣어서 시료를 충분히 적신 후 CO<sub>2</sub>가스를 주입시킨다. 가스를 일정하게 통과한 후 시약 7ml 더 넣는다.
- (6) CO<sub>2</sub>가스를 충분히 주입시킨 후 Bottle에 Rubber Stopper을 끼우며 그 위에 Aluminum Seal을 씌워 밀봉한다.
- (7) Bottle에 Sensor를 연결한 후 Fermenter에 넣고 lead와 연결한다.

(8) 프로그램상의 조건을 잡고, 배양을 시작한다.

다) Gas production system

본 장치는 단미사료의 발효 시 방출되는 가스 량을 측정하는 자동화한 가스 발생량 측정 시스템(ILS system, korea)으로서 사용방법과 절차는 미국의 Cornell 가스 발생량 측정 시스템(Schofield, 2000)과 동일하다. 가스 용적은 인큐베이터 안에 있는 배양병에서 생성되는 가스에 의해 증가되는 압력을 그와 연결된 센서를 통하여 전압으로 전환되어 20분에 한번씩 자동적으로 컴퓨터 시스템(Atlantis for Windows, Lakeshore Technologies, Chicago, IL)에 의하여 측정되며, 2D 프로그램(Version 4.0; Jandel Scientific software, C.A.)으로 된 그림 곡선을 볼 수 있다.

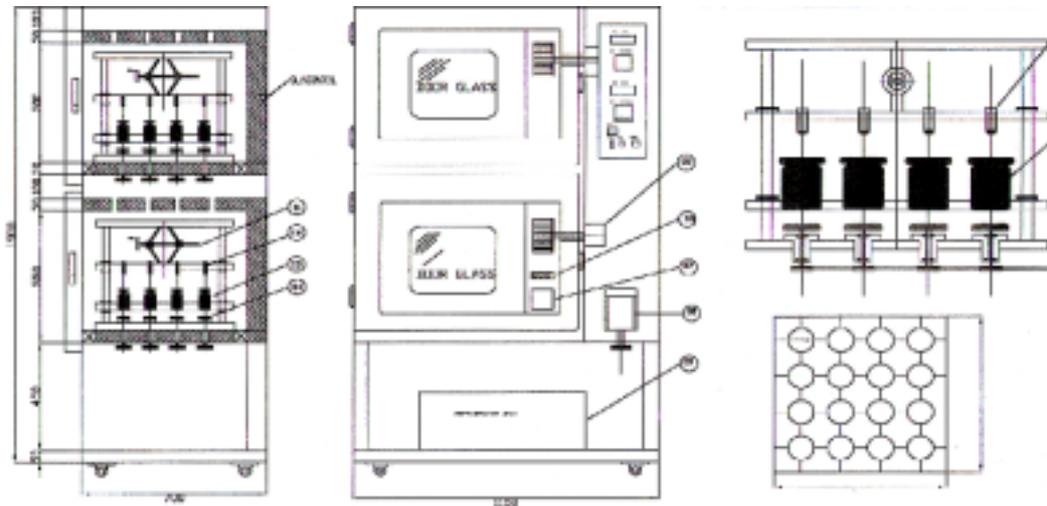


Fig. 1. Gas production system

라) Digestion rate constant의 측정

결과를 분석하기 위해선 non-linear curve fitting의 단계를 거치게 되는데, 이 때 수학적 model에 따라 curve를 분석하게 된다. 현재 Pell 연구실 및 CNCPS에서 적용하고 있는 exponential model equation(Schofield et al., 1994) 통해 digestion rate constant를 구하는 과정을 살펴보면 다음과 같다.

$$V_T = 0 \quad (0 \leq T \leq L)$$

$$V_T = V_{max} \times (1 - EXP(-K \times (T - L))) \quad (T \geq L)$$

T는 시간(h), L은 discrete lag time(h), K는 gas production rate constant(h<sup>-1</sup>), V<sub>max</sub>는 발생될 수 있는 최대 가스량(mL), V는 T시간의 Gas Production(mL)

시간(T)에 따른 Gas production 결과( $V_T$ )를 가지고 위의 exponential model equation으로 Gauss-Newton법, steepest descent법, 또는 둘을 병행한 Marquardt 법 등을 이용하여 non-linear regression을 행하면 (Motulsky 와 Ransnas, 1987), 각 시간 point에서의 예측치와 측정치간의 root sum of square(RSS) 값이 가장 작도록 하는  $V_{max}$ , K, L 값을 구할 수 있다. 이 때 구해진 K 값이 시료의 Kd, digestion rate constant ( $h^{-1}$ )라고 할 수 있다.

#### 나. 결과 및 고찰

##### 1) 일반성분 분석

각 원료의 조단백질 함량 소맥이 가장 높았고, 그 다음으로 보리, 귀리, 옥수수 순이었다. 조섬유 함량은 귀리가 가장 높았고, 그 다음으로 소맥, 보리, 옥수수의 순이었다(Table 2).

Table 2. Chemical composition of starchy grains

	Moisture (%)	CP	EE	CF	C. ash
		----- % DM -----			
Corn					
Raw	11.11	8.02	3.40	2.05	1.02
Flaked	11.73	7.98	3.45	3.28	1.05
Expanded	12.26	8.60	3.31	1.96	1.34
Mean	11.70	8.20	3.39	2.43	1.14
Whole Oats	7.59	8.68	6.80	7.28	2.08
Whole wheat	12.20	13.10	1.46	5.69	1.48
Rolled Barley	10.68	11.82	1.96	3.33	2.23

전분질 곡류 사료는 가축에게 있어서 가장 일반적인 에너지원이고 한우 비육 후기에는 전체 사료의 60% 이상을 차지한다. 본 연구의 공시재료 중 귀리와 보리는 겉껍질을 갖고 있는 상태에서 분쇄되었고, 소맥은 겉껍질을 벗겨낸 상태에서 분쇄되었다. 각 원료의 일반성분 분석결과, 영양성분, 반추위 분해속도에서 특징적인 차이가 있다. 소맥의 단백질 함량은 본 결과와 Herrera-Saldana 등(1990)에서도 가장 높게 나타났으나, 본 결과가 약 3% 낮았다. 본 결과에서는 보리가 귀리보다 단백질 함량이 높았으나, Herrera-Saldana 등(1990)의 결과는 귀리가 보리보다 높았다.

##### 2) 옥수수 가공형태별 pH 변화

사료급여 후 2시간 경과 후에 채취한 반추위액을 이용한 in vitro 발효실험결

과(Table 3), 옥수수 가공처리간의 pH는 특징적인 차이가 없었다.

Table 3. Change in pH fermented by rumen liquor

Time	Raw corn	Expanded corn	Flaked corn
0	6.88	6.88	6.88
2	6.70	6.75	6.74
4	6.68	6.62	6.66
8	6.50	6.51	6.55
12	6.38	6.40	6.46

### 3) 전분질 사료별 pH 변화

사료급여 후 2시간 경과 후에 채취한 반추위액을 이용한 in vitro 발효실험결과(Table 4), 옥수수 가공처리간의 pH는 특징적인 차이가 없었다.

Table 4. Change in pH fermented by rumen liquor

Time	Raw corn	Barley	Wheat	Oat
0	7.06	7.08	7.07	7.08
2	6.76	6.74	6.75	6.71
4	6.68	6.59	6.62	6.60
8	6.42	6.43	6.38	6.44
12	6.31	6.36	6.31	6.39

### 4) 반추위액 채취 시간에 따른 Gas production 변화 비교

사료급여 1시간 전과 급여 2시간 후에 채취한 반추위액을 이용한 in vitro 가스발생량에서(Fig. 2과 Table 5), 옥수수 가공처리간의 특징적인 차이가 없었다.

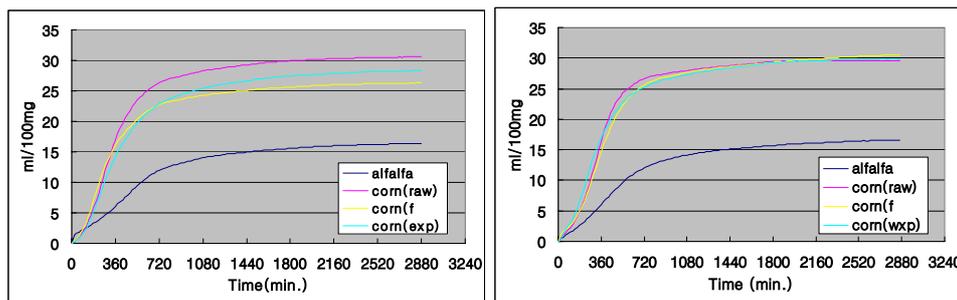


Fig. 2. Gas production of using rumen liquor collected 2hr after and 1hr before feeding.

Table 5. Gas production report

	Kd(h <sup>-1</sup> )	Lag(h)	Vmax(ml/100mg)
Raw Corn	0.0532	2.75	30.43
Corn flake	0.0461	2.69	28.15
Expended corn	0.0573	1.97	25.99

5) 원료별 gas production 비교

사료급여 1시간전과 급여 2시간 후에 채취한 반추위액을 이용한 in vitro 가스발생량에서(Fig. 3와 Table 6), 전분질 사료간의 차이가 있었다. 귀리의 발효속도가 가장 빨랐고, 그 다음이 보리, 그리고 옥수수과 밀의 순이었다. Herrera-Saldana 등(1990)도 in situ 실험을 통해 oat의 건물, 조단백질, 전분은 반추위에서 가장 빨리 이용되고, 밀과 보리가 중간, 옥수수와 milo는 가장 늦다고 하였다. 또한 조단백질과 전분은

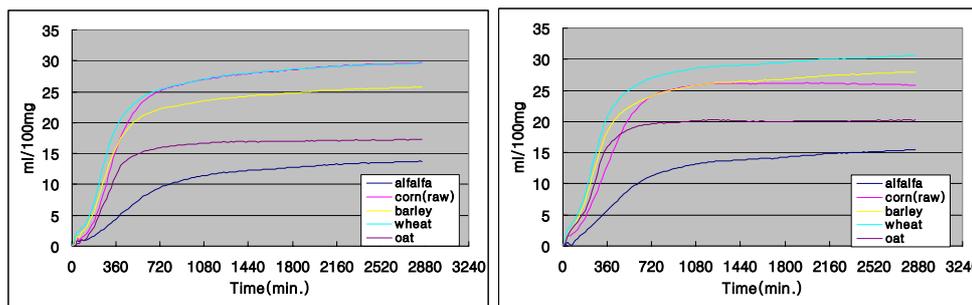


Fig. 3. Gas production of using rumen liquor collected 2hr after and 1hr before feeding.

Table 6. Gas production report

	Kd(h <sup>-1</sup> )	Lag(h)	Vmax(ml/100mg)
Raw Corn	0.0511	3.09	29.34
Barley	0.0579	2.13	25.24
wheat	0.0589	1.77	29.02
Oat	0.0670	2.98	17.26

## 2. 사료 전분의 분석방법 비교검토

### 가. 재료 및 방법

#### 1) 공시재료

##### 가) 전분질 곡류사료

전분질 곡류사료인 옥수수(미가공, flake, expanded), 귀리, 소맥, 보리를 전분 분석방법의 비교를 위한 공시재료로 이용하였다.

##### 나) 소화관 내용물

십이지장 캐놀라에서 채취한 소장 유입 내용물 15점과 직장자극법으로 채취한 분 시료를 이용하여 전분 분석법간의 비교 시험을 수행하였다.

#### 2) 전분 분석법

##### 가) Method 1: Perchloric acid 추출법

50ml 원심분리관에 1mm로 분쇄된 시료 0.2g을 넣은 다음, 80% 에탄올 2방울 떨어뜨리고, 증류수 5ml을 넣어 혼합하였다. 75℃의 80% ethanol 25ml을 넣어 혼합하여 5분간 방치한 후 원심분리(3000rpm, 10분)하였다. 원심분리 후, 상층액을 버리고 다시 원심분리관에 75℃의 80% ethanol 30ml을 넣어 혼합하여 5분간 방치한 후 원심분리(3000rpm, 10분)하였다. 원심분리 후, 잔사를 제외하고 상층액은 전부 버린 다음 건조(40-50℃, 60분)하였다. 건조 후, 증류수 5ml 넣고 혼합한 다음, 52% Perchloric acid reagent 6.5ml을 넣어 5분 간격으로 혼합하되 총 20분간 혼합하였으며 증류수 20ml을 더하여 원심분리 하였다. 원심분리 후, 상층액을 100ml 메스플라스크에 여과하면서 담았고 이 과정을 다시 한번 반복하고 나서 100ml로 맞췄다. 시료용액 및 표준용액(2.5, 5, 10, 20ml 표준용액/100ml 증류수)은 필요한 배수로 희석하고, 20ml 시험관에 1ml씩 넣은 후 anthrone reagent 5ml을 추가하여 혼합하였다. 100℃의 항온수조에서 12-13분간 발색시키고 나서 급속히 상온으로 냉각시킨 다음 spectrophotometer(630nm)에서 측정하였다.

##### 나) Method 2: Enzymatic hydrolysis 법

시료 0.2g(1mm로 분쇄)을 삼각플라스크(250ml)에 칭량한 후, 증류수 50ml를 넣고 흔들어 주고 121℃에서 99분간 autoclave시킨다. autoclave이 끝난 후, 플라스크를 식히고 acetate buffer를 15ml 더하여 흔들어주고 다시 여기에 amyloglucosidase 2.5ml 더하고 흔들어준다. 플라스크를 foil로 덮고 shaking incubator에서 55℃로 overnight 배양시킨다. 배양 끝난 후, 플라스크를 실내온도의 수준으로 식혀서 플라스크+시료의 무게를 칭량한 다음, 흔들어주고, particle이 가라앉도록 30분 정도 정치하여 상층액 10ml를 취한다. 그중에서 10ul를 시험관에 취하며 3.0ml의 glucose

solution 용액을 넣는다. 시험관을 vortex하고 39℃ 수조에서 20분간 배양시킨 후, 다시 vortex 시키고 500nm의 파장에서 읽는다.

#### 나. 결 과

##### 1) 전분질 곡류사료

##### 가) 일반성분 분석

각 원료의 조단백질 함량 소맥이 가장 높았고, 그 다음으로 보리, 귀리, 옥수수 순이었다. 조섬유 함량은 귀리가 가장 높았고, 그 다음으로 소맥, 보리, 옥수수의 순이었다.

Table 1. Chemical composition of starchy grains

	Moisture (%)	CP	EE	CF	C. ash
		----- % DM -----			
Corn					
Whole	11.11	8.02	3.40	2.05	1.02
Flaked	11.73	7.98	3.45	3.28	1.05
Expanded	12.26	8.60	3.31	1.96	1.34
Mean	11.70	8.20	3.39	2.43	1.14
Whole Oats	7.59	8.68	6.80	7.28	2.08
Whole wheat	12.20	13.10	1.46	5.69	1.48
Rolled Barley	10.68	11.82	1.96	3.33	2.23

##### 나) 전분 분석법에 따른 전분함량 비교

공시시료의 전분함량을 perchloric acid 추출법(Method 1)과 효소분해법(Method 2)으로 비교한 결과는 Table 2과 같다. Oat 시료를 제외한 모든 시료에서 perchloric acid 추출법이 효소분해법보다 높았으나, 십이지장 내용물에서 보여주는 차이보다는 작았다.

Table 2. Starch content (% DM) analyzed by different methods

	Method 1	Method 2	Difference (M1-M2)	M2/M1
Raw corn	73.87	68.95	4.9	0.93
Corn flake	69.76	66.13	3.6	0.95
Expanded corn	68.12	67.82	0.3	0.99
Oats	44.82	48.41	-3.6	1.08
Wheat	71.87	64.75	7.1	0.90
Barley	65.46	57.83	7.6	0.88

Method 1: perchloric acid , Method 2; Enzymatic hydrolysis

2) 소화관 내용물

가) 십이지장 내용물

십이지장 내용물을 perchloric acid 추출법과 효소분해법으로 비교한 결과는 Table 3과 Fig 1과 같다. 전분질 곡류사료의 분석과 다르게, 효소분해법에 의한 전분 분석법이 모두 높은 함량을 보였고, 그 차이는 시료에 따라 약 4배나 높게 평가되었다.

Table 3. Starch concentration of duodenal digesta analysed by different methods

Sample	Starch concentration (%DM)		Difference (M1-M2)	M2/M1
	Method 1	Method 2		
No. 1	16.10	26.21	-10.1	1.6
No. 2	10.75	15.07	- 4.3	1.4
No. 3	5.12	15.51	-10.4	3.0
No. 4	3.97	18.54	-14.6	3.9
No. 5	16.40	23.10	- 6.7	1.4
No. 6	3.23	12.13	- 8.9	3.8
No. 7	20.75	22.26	- 1.5	1.1
No. 8	4.12	12.22	- 8.1	3.0
No. 9	5.31	12.97	- 7.7	2.4
No. 10	10.58	15.51	- 4.9	1.5
No. 11	2.89	11.24	- 8.4	3.9
No. 12	15.51	19.17	- 3.7	1.2
No. 13	4.23	13.31	- 9.1	3.1
No. 14	15.20	18.62	- 3.4	1.2
No. 15	14.50	15.59	- 1.1	1.1

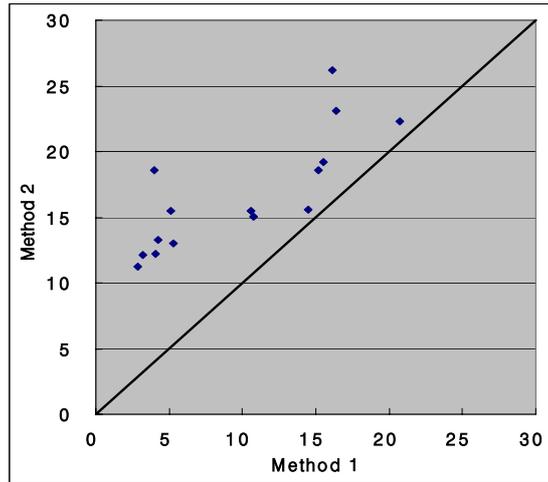


Fig. 1. Starch concentration (% DM) of duodenal digesta analysed by different methods

나) 분 시료

분 중 전분 분석을 perchloric acid 추출법과 효소분해법으로 비교한 결과는 Table 4와 같다. 십이장 내용물 분석 결과에서와 같이 효소분석법이 모든 시료에서 높은 전분함량을 보였고, 그 차이는 더 커서 약 14배나 높게 평가된 시료도 있었다.

Table 4. Starch concentration of feces analysed by different methods

Sample	Starch concentration (%DM)		Difference (M1-M2)	M2/M1
	Method 1	Method 2		
No. 1	2.07	13.08	-11.0	6.3
No. 2	0.86	6.89	- 6.0	8.0
No. 3	0.85	9.44	- 8.6	11.1
No. 4	0.98	13.93	-13.0	14.2
No. 5	1.58	8.82	- 7.2	5.6
No. 6	0.90	7.04	- 6.1	7.8
No. 7	0.95	7.64	- 6.7	8.0
No. 8	0.57	6.54	- 6.0	11.5
No. 9	1.60	8.63	- 7.0	5.4
No. 10	1.66	9.45	- 7.8	5.7
No. 11	0.71	5.82	- 5.1	8.2
No. 12	1.34	5.41	- 4.1	4.0
No. 13	0.70	4.55	- 3.9	9.3
No. 14	0.86	8.03	- 7.2	9.3
No. 15	1.52	6.84	- 5.3	4.5

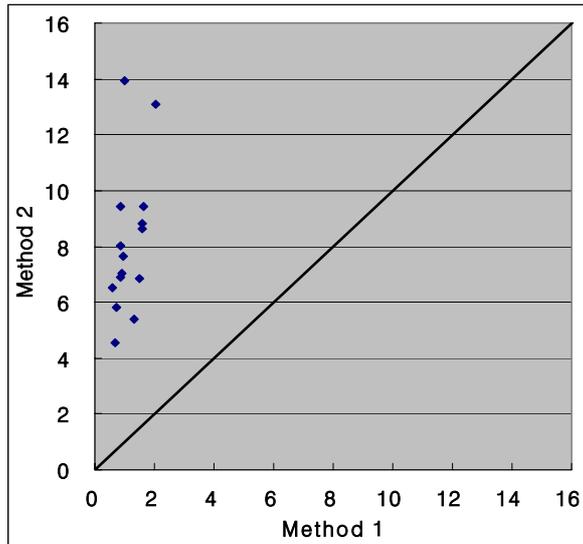


Fig. 2. Starch concentration (% DM) of feces analysed by different methods

#### 다. 고찰

사료 성분으로서 전분의 중요성에도 불구하고, 아직 전분함량을 정확하게 측정하기가 쉽지 않다. 가축의 소화시험에서 전분을 분석하는 방법은 다양하고, 같은 방법을 이용하여 분석한다 해도 그 결과는 실험실 간에 많은 차이를 보이고 있다. 옥수수 사일리지 시료를 분석한 8개 실험실의 분석결과에서는 고수분 사일리지의 경우 16.5 ~ 27.2% DM의 차이를 보였고, 저수분 사일리지는 19.4~31.1%의 차이를 보였다(Beever 등, 1996). 이와 같은 실험실간의 분석 결과의 차이는 분석 절차의 차이와 관련이 있다. Glucoamylase와 같은 효소를 이용한 가수분해법은 시료제조, 사용하는 효소의 source, 그리고 효소 가수분해 조건 등에 따라 다른 결과를 보인다. 효소분석법 외에도 비구조 탄수화물 총량을 분석하는 몇 가지 분석법이 있지만, 전분 이외에 pectins, fructans,  $\beta$ -glucans 그리고 sugar 등이 측정에 포함되기도 하는 문제점을 갖고 있다. 이러한 이유 때문에, 실험에 따라 적합한 분석법이 먼저 비교 검토되어야 한다는 것이, 현재의 전분 분석에서 주의해야 할 사항이다.

AOAC(1960)에서 제안하였던 약 염산 가수분해 방법은 구조성 탄수화물의 가수분해도 일어나서 전분이 과대평가되는 문제가 있었다. 그 후, glucoamylase에 의한 전분 가수분해는 사료, 분 등의 전분 과대평가 문제를 해결하였지만, AOAC(1960)보다 많은 시간을 필요로 한다. 상기의 두 가지 방법을 이용하여 사료, 분 그리고 장관 소화물의 전분을 비교한 실험(Kartchner과 Theurer, 1981)에 따르면, 약 염산에 의한 가수분해는 장관 소화물과 분의 전분함량을 효소 가수분해에 의한 결과 보다

높게 평가되었고, 섬유소가 많은 알팔파 건초나 목화과 같은 시료에서는 과대평가 정도가 더 크게 나타났다. 그러나 전분질 곡류사료 분석에서는 비슷한 결과를 보였기 때문에 약 염산 가수분해법의 사용도 가능하다고 하였다.

본 실험에서는 사료 전분 분석에서 가장 많이 사용되는 glucoamylase 가수분해 방법을 사용하고자 하였으나, 아직 장관벽을 통해 흡수되지 않았거나, 미생물총에 의해 사용되지 않은 전분 분해물이 함유되어 있을 장관 소화물과 분의 전분 분석에는 적합하지 않을 수 있다고 판단되었다. 따라서 식물조직중의 전분을 분석하는 방법으로 80% ethanol로 식물체에 존재하는 유리당을 용해 제거한 후에 전분을 분석하는 방법인 perchloric acid 추출법을 비교 분석하였다.

본 실험에서는 전분질 곡류사료의 전분 분석에서는 두가지 방법간의 차이가 없었으나, 십이지장 내용물과 분의 전분함량은 방법 간에 큰 차이를 보였다. 십이지장 내용물의 전분은 소장을 통과하면서 계속해서 효소에 의해 분해된다. 따라서 십이지장과 분을 비교해 보면, 분 중 전분량은 십이지장 내용물 보다 감소했을 것이고, 상대적으로 유리당의 비율이 높아졌을 것이고, 이러한 차이에 의해 효소 가수분해법에 의한 분 중 전분 함량차이가 더욱 커졌다고 생각한다. 본 실험의 결과를 통해, 본 연구과제의 모든 전분분석은 perchloric acid 추출법을 이용하였다.

현재까지 대가축의 소화관 내용물에 대한 전분 분석 결과를 보여주는 국내 연구논문은 찾아볼 수 없다. 따라서 본 연구와 같이 소화관 내용물의 전분 이용성과 관련한 연구가 수행되는 경우, 전분 분석법은 실험 결과에 아주 많은 영향을 미칠 수 있기 때문에, 전분 분석법에 대한 유의해야 할 것으로 판단된다.

### 3. 소장내 주입물질이 혈중 glucose 및 insulin 농도에 미치는 영향

#### 가. 재료 및 방법

##### 1) 공시축

본 시험은 평균체중이 559(SE, ±41.9)kg의 반추위 케놀라가 장착된 홀스타인 착유우 4두를 4 × 4 Latin square 방법을 이용하여 대사 cage내에서 진행되었다. 시험사료 급여는 09:00 과 15:00에 2회 급여 하였으며, 착유는 09:00과 15:00에 사료급여와 함께 실시하였다. 물과 salt block은 자유채식 시켰다.

##### 2) 시험사료 및 처리

모든 공시축은 시험 시작 21일 전부터 기초사료를 급여하였다. 공시축은 grass silage를 자유롭게 채식하도록 하면서 rape seed meal (5.3kg DM/d)과 barley grain (0.9 kg DM/d)을 보충급여하였다. 본 시험에서 사용된 perennial ryegrass (*Lolium perenne*) silage는 유산균제제(Ecosyl, Ecosyl Products Ltd, Billingham, Cleveland, UK)를 접종하여 제조하였다. Barley grain은 roller식 분쇄기를 이용하여 분쇄 후 급여하였다.

Table 1. Chemical composition of experimental feeds

	Feed		
	Grass silage	Rapeseed meal	Barley
Composition, g/kg dry matter (DM)			
DM, g/kg	218.6	882.8	869.0
Organic matter	904.6	920.0	977.5
Total nitrogen (N)	24.7	60.9	18.3
Ammonia N, g/kg total N	141.8	ND	ND
Neutral detergent fiber	547.5	387.0	330.0
Acid detergent fiber	347.3	223.5	72.5
Silage fermentation quality, g/kg DM			
pH	4.07		
Acetic acid	51.0		
Propionic acid	11.0		
Butyric acid	0.12		
Lactic acid	83.6		
Ethanol	7.2		

처리구는 기초사료 구(Control), 기초사료 + 제4위 infusion(sodium caseinate 270g)구, 기초사료 + 제4위 infusion(glucose 300g)구, 기초사료 + 제4위 infusion(starch 243g)구로 하였고, 각 period 구성은 14일로 하였다. 4위 infusion은 반추위 케놀라와 2,3위구를 통과하여 제 4위까지 도달하는 6-mm infusion tube를 통해 하였다. 모든 infusates는 6L/d씩 주입 되었으며 peristaltic pump (Watson Marlow, Falmouth TR11 4RU, UK)를 통하여 23시간/일 동안 계속해서 투여하였다.

### 3) 샘플처리 및 화학적 분석

1일 사료섭취량은 매일 측정하였으며 시료는 실험 10-14일째 매일 채취하여 혼합한 후, 분석을 시료를 얻어 건조하였다. 사료의 건물 및 OM, 조단백질은 AOAC 방법에 따라 분석하였다. 반추위 발효성상은 시험시작 후 14일이 되는 날 사료급여 후 1, 2, 4 그리고 6시간에 반추위 시료를 채취하여 즉시 pH를 측정한 후, 두겹의 cheesecloth를 이용하여 사료입자를 걸러내었다. 휘발성 지방산은 0.5 ml 의 포화 HgCl<sub>2</sub> solution 과 2.0 ml 의 1 M NaOH solution 을 5.0ml의 반추위액에 희석하여 측정하였다. 암모니아는 0.3 ml 의 50% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>를 15ml의 반추위액에 첨가하여 5°C에서 분석 시까지 냉동보관 하였다. 우유 시료는 시험 종료 전 4일간 연속 채취하였고 혈액 시료는 시험시작 후 14일이 되는 날 사료급여 1, 2, 4, 그리고 6시간에 따라 시험동물의 미정맥에서 채취하였다. 우유내 성분과 아미노산 그리고 혈장내 insulin 과 glucose의 자세한 분석방법은 위에 요약한 Chamberlain et al (1993)의 방법과 유사하게 실시하였다.

### 4) 통계분석

시험을 통해 나온 결과는 Genstat 5 (Lawes Agricultural Trust, 1990)를 이용하여 분산분석을 실시하였다. 사료섭취량과 유량은 각 시험 종료 5일전의 결과를 이용하여 평균값을 도출하였다.

## 나. 결과 및 고찰

사료섭취량 및 반추위 발효성상(Table 2)에서는 처리간 차이가 없었다. 그러나 혈액 중의 insulin과 glucose 농도에서는 casein 주입구가 상대적으로 높은 농도를 보였다(Table 3). 소장으로 유입된 전분은 반추위에서 미 분해된 전분이기 때문에 소장 유입 전분량은 일차적으로 반추위 분해율의 영향을 받는다. 따라서 전분 섭취량에 대한 소장 내 전분의 소화율은 반추위 소화율과 부(-)의 관계를 보여주고, 소장 유입량에 대한 소장 내 전분 소화율은 반추위 소화율과 정(+)의 관계에 있다(Theurer 등, 1999). 즉, 소장에서의 전분 소화율은 제한적일 수 있기 때문에 건물

섭취량에 영향을 미치지 않는 범위에서 반추위 전분 소화율을 높이면 전체 소화관 전분 소화율도 높아진다. 이 조건에서 또 다른 이점은 반추위미생물 합성량이 증가한다는 것이다(Firkins 등, 2001). Huntington(1997)은 소장으로 유입되는 전분의 약 45%가 glucose로서 흡수되지 않는 것을 지적하면서 소장으로 유입되는 전분량 증가보다는 반추위에서의 전분분해가 거세우나 유우에게 더 이점이 있다고 하였다.

오래전부터 반추가축의 소장 내 전분분해에 영향을 미치는 요인에 관한 시험이 시작되었으며, 주로 반추위나 제 4위로 glucose(Larsen 등, 1956; Huber 등, 1961; Pehrson 등, 1981), maltose(Larsen 등, 1956; Huber 등, 1961), 전분(Larsen 등, 1956; Huber 등, 1961; Little 등, 1968; Mayes와 Qrskov, 1974; Pehrson 등, 1981) 등의 탄수화물원을 주입하는 방법을 시도해 왔으나, 대부분의 연구에서 전분 소화율을 증진시키는 결과를 얻지는 못하였다. 현재까지 반추가축의 제 4위로의 단백질 주입 시험을 통해 소장으로 유입되는 전분의 소화율이 증가한다는 결과를 보고한 논문은 많지 않다. Taniguchi 등(1993)은 각각 면양의 제 4위로 casein을 주입하였을 때, 전분만 주입한 처리구에 비해 소장 내 전분 소실율이 55%에서 93%로 증가한다고 하였고, 또한 Taniguchi 등(1995)은 면양의 반추위 또는 제 4위로 casein 200g/d + 옥수수전분 800g/d을 주입하여 정맥 내 영양소 흐름을 측정된 결과, 제 4위로 옥수수전분 주입시 경정맥에서 glucose량이 증가한다고 하였다. 그 후 Richards 등(2002)은 거세우의 제 4위로 옥수수전분 1,050g/d을 주입하였을 때보다는 옥수수전분 1,050g/d + casein 200g/d을 주입하였을 때 소장에서 전분 소실율이 226g/d 정도 더 증가하였고, 단백질 소실율은 227g/d 더 증가한다고 하였다. Richards 등(2003)은 또한 제 4위로 SH + casein 주입시 경정맥에서 나타나는 glucose량이 증가함은 물론 문맥에서 나타나는  $\alpha$ -amino N 역시 증가한다고 보고하면서 이것은 체내로 공급되는 사료 단백질의 증가로 인해 전 소화관 내 전분 소실량이 증가되는 결과라고 하였다.

본 연구결과에서도 casein의 제4위 주입이 glucose나 starch의 제4위 주입보다 혈중 glucose와 insulin 농도를 높이는 효과를 보였고, 소장내 전분 분해율을 조사하지는 못하였으나, 제1세부과제의 연구 3과 4의 결과와 가설을 뒷받침해 주는 결과로 생각된다.

Table 2. Intake of experimental diets and rumen fermentation parameters of cows receiving a control diet of grass silage and a barley-rapeseed meal supplement with abomasal infusions of casein, glucose or starch

	Nutrients infused abomasally				SED <sup>1</sup>	P-value
	Control	Casein	Glucose	Starch		
DM intake, kg/d						
Grass silage	8.5	9.2	9.1	7.9	0.68	0.308
Concentrate	6.2	6.2	6.2	6.2	-	-
Total	14.7	15.4	15.3	14.1	-	-
Rumen fermentation parameters						
pH	6.94	6.91	6.84	6.82	0.076	0.379
Ammonia N, mg/l	93.6	97.3	96.5	93.7	11.38	0.383
Total VFA <sup>2</sup> , mmol/mol	110	129	127	121	6.6	0.158
Molar proportion of VFA, mmol/mol						
Acetic acid	651	651	649	636	7.2	0.308
Propionic acid	223	223	224	222	9.2	0.808
Isobutyric acid	8.2	6.7	6.9	9.5	2.48	0.800
Butyric acid	87	79	88	89	4.0	0.226
Isovaleric acid	18	26	18	28	4.6	0.204
Valeric acid	13	14	15	15	1.6	0.619

<sup>1</sup> SED = standard error of the deviation

<sup>2</sup> VFA = volatile fatty acid

Table 3. Changes in concentrations of insulin (ng/ul) and glucose (mg/l) in blood plasma of cows receiving a control diet of grass silage and a barley-rapeseed meal supplement with abomasal infusions of casein, glucose or starch

	Nutrients infused abomasally				SED <sup>1</sup>	P-value
	Control	Casein	Glucose	Starch		
Insulin						
0 h post-feeding	378	510	550	598	135.4	0.426
1.0 h post-feeding	741	774	917	794	165.1	0.630
2.0 h post-feeding	781	879	1000	704	158.5	0.475
4.0 h post-feeding	623	826	942	1029	236.6	0.544
6.0 h post-feeding	479	606	991	515	166.5	0.097
Mean	600	719	880	726	145.8	0.497
Glucose						
0 h post-feeding	606	628	602	617	23.2	0.722
1.0 h post-feeding	604	607	633	554	35.1	0.339
2.0 h post-feeding	586	601	616	563	41.4	0.674
4.0 h post-feeding	592	620	616	553	41.8	0.145
6.0 h post-feeding	596	621	617	579	33.4	0.594
Mean	597	615	617	573	27.2	0.542

<sup>1</sup> SED = standard error of the deviation

#### 4. 열처리 대두박의 단백질 이용성 및 소장내 전분 이용성에 미치는 효과

##### 가. 재료 및 방법

##### 1) 공시축과 시험사료

공시축으로는 반추위와 “T”형 십이지장 캐놀라가 장착된 한우 거세우 (514±38kg) 4두를 이용하였고, 4기의 대사케이저(127 × 250cm)에 1두씩 수용하여 Two 4 × 4 *Latin square design*에 의해 실험을 수행하였다.

대두박과 열처리대두박을 각기 15%씩 대체하는 배합사료를 제조(Table 1)하여 1일 8.0kg 제한급여 하였으며, 볏짚도 1.5kg으로 제한하였다. 배합사료와 볏짚은 하루에 동량을 2회(09:00, 17:00)로 나누어 급여하였고, 물과 미네랄블록은 자유섭취 할 수 있도록 하였다. 사료 영양소의 유입량과 소화율을 계산하기 위한 marker로서는 Cr<sub>2</sub>O<sub>3</sub>(사료섭취량 0.2%)을 농후사료에 균일하게 혼합하여 급여하였다.

Table 1. Ingredients and chemical composition of the basal diet

	SBM	H-SBM
Ground corn	73.8	73.8
Soybean meal	17.0	-
Soybean meal(heat treated)	-	17.0
Soybean hull	3.2	3.2
Molasses	4.5	4.5
Calcium phosphate	0.3	0.3
Limestone	0.9	0.9
Vitamin-mineral mixture	0.3	0.3
Total	100	100

SBM: Soybean meal; T-SBM: Heat treated soybean meal.

##### 2) 시료채취 및 분석항목

##### 가) 기초사료

사료는 각 시험기간 중 1회 채취하여 Willey mill(Standard Model No3, Arthur H.thomas Co. Philadelphia. U.S.A)로 1mm 분쇄하였고, 일반성분(AOAC, 1990), 전분, NDF, 및 ADF(Mertens, 2002), 그리고 크롬을 분석하였다.

##### 나) 반추위 내용물

각 시험기간 중 12일째 사료급여 전 0830(0h)와 급여 후 1000(1h), 1200(3h), 1400(5h), 1600(7h) 총 5회에 걸쳐 200ml 정도씩 채취하였다. 채취한 반추위액 즉시 4겹의 거즈로 여과한 후, pH meter(Pinnacle 530 routine, corning)로 pH를 측정하였고, VFA와 NH<sub>3</sub>-N를 분석하기 위한 전처리를 하여 분석 전까지 냉동보관(-20℃)을

하였다.

다) 십이지장 내용물

각 시험기간 중 13일째 0830(0h), 1200(3h), 1500(6h), 1800(9h), 14일째 0830(0h), 1030(1.5h), 1330(4.5h), 1600(7.5h)에 채취하였다. 내용물은 통풍건조기(60°C, 48시간 이상)에서 건조시킨 다음 disc. mill(BM-D 100, McCoy Corp., serial No. 980812, maximum 1750rpm)을 이용하여 1mm로 분쇄하였다. 분쇄 후, 채취시간 별로 10%씩 혼합하여 건물, 조단백질, 조회분, 전분, 크롬을 분석하였다.

라) 분

Time-분은 십이지장 내용물을 채취 할 때와 동일한 시간 때에 직장법으로 100g씩 채취하여 혼합하였다. 시료의 건조 및 분석은 십이지장 내용물과 같은 방법으로 처리하였다.

3) 분석방법

앞 실험과 동일

4) 통계처리

앞 실험과 동일

나. 결과 및 고찰

1) 반추위 발효성상 변화

반추위 pH 및 암모니아태 질소 농도의 변화는 Fig. 1에 나타내었다. 사료급여 직전과 사료급여 후 1시간까지의 반추위 pH는 처리간의 차이가 없었으나, 3시간 후에는 열처리대두박 급여구가 조금 높았고, 그 후에는 다시 차이가 없었다. 암모니아태 질소의 농도는 사료급여 직전과 급여 1시간 후에는 차이가 없었지만, 3시간 후와 5시간 후에는 미처리 대두박 급여구가 약 2배( $P<0.05$ ) 높았다.

총 VFA 농도는 미처리 대두박구가 사료급여 후 3시간째에 가장 높았고, 열처리 대두박구와 비교하여 유의적( $P<0.05$ )인 차이를 보였다(Table 2). 시간별 총 VFA 농도의 평균에서도 미처리 대두박구는 74mM, 열처리대두박구는 68mM로 차이가 있었다. 그러나 총 VFA에 대한 각 VFA의 구성 비율은 사료 급여 후 3시간째의 valeric acid에서 처리간 유의적인 차이( $P<0.05$ )가 있었을 뿐, 다른 VFA는 처리간 차이가 없었다. 대두박은 반추가축의 단백질 공급원으로 많이 이용되고 있고, 60~80%의 단백질이 반추위에서 이용된다(Zinn 등, 1981). 육성우나 착유우는 반추위 합성미생물에 의한 단백질 공급이 요구량을 충족시키지 못하기 때문에 요구량의 부족

부분은 반추위 미분해 사료단백질에 로 공급되어 소장에서 분해 흡수되어야 한다. 따라서 대두 또는 대두박의 반추위 분해율을 낮추기 위한 화학적 또는 물리적인 처리가 이루어진다. 대두박과 열처리대두박의 반추위 조단백질 분해정도를 in situ 실험에 의해 조사한 Kalscheur 등(2006)의 결과에 따르면, RUP 함량이 각각 38%와 73%이었다. 따라서 예상했던 대로 열처리대두박 급여구의 반추위 암모니아태 질소 농도와 총 VFA는 미처리 대두박 급여구보다 낮아지는 것이 본 실험에서 확인되었다. Broderick(1986)의 결과에서도 열처리대두박 급여구의 반추위 암모니아 농도와 총 VFA는 미처리 대두박 급여구 보다 유의적으로 낮았다. 열처리 시간을 달리한 대두박 급여실험(Demjanec 등, 1995)에서도 열처리 시간이 길어지면서 반추위 pH는 linear하게 높아졌고, 암모니아태 질소와 총 VFA 농도는 linear하게 감소하였다.

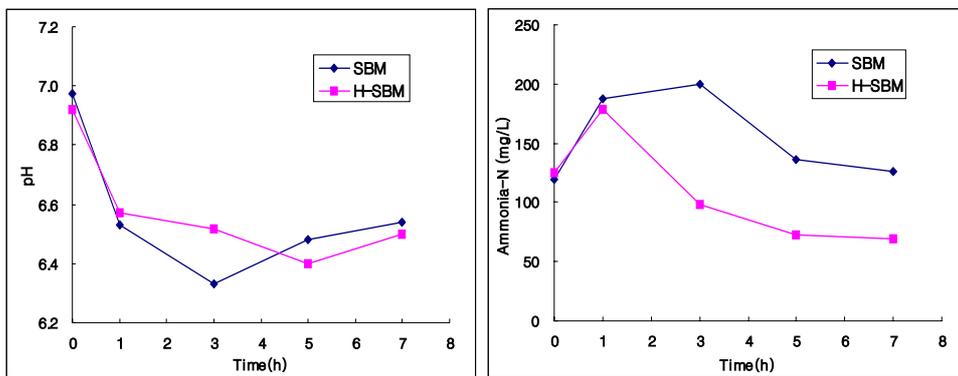


Fig. 1. Changes in ruminal pH and  $\text{NH}_3\text{-N}$  concentration(mg/L) of Hanwoo fed experimental diets.

SBM: Soybean meal; T-SBM: Heat treated soybean meal.

\*\* : Means within the same row with different superscripts differ ( $P < 0.05$ )

Table 2. Ruminal VFA concentration of Hanwoo fed experimental diets

Item	Time(hr)	SBM	H-SBM
Total VFA (mM)	0	60.86	56.76
	1	75.54	65.96
	3	84.28 <sup>a</sup>	68.32 <sup>b</sup>
	5	74.86	76.54
	7	78.96	73.22
Acetate (% Total VFA)	0	64.33	63.72
	1	63.38	63.83
	3	63.95	65.39
	5	64.13	64.88
	7	63.39	63.71
Propionate (% Total VFA)	0	11.73	12.46
	1	13.58	13.25
	3	13.06	12.69
	5	13.16	12.74
	7	13.11	13.00
Iso-butyrate (% Total VFA)	0	1.61	1.69
	1	1.13	1.14
	3	1.19	1.10
	5	1.14	1.04
	7	1.16	1.08
Butyrate (% Total VFA)	0	18.11	17.36
	1	18.23	18.22
	3	17.83	17.40
	5	17.92	17.99
	7	18.58	18.78
Iso-valerate (% Total VFA)	0	2.97	3.39
	1	2.21	2.16
	3	2.39	2.12
	5	2.22	2.08
	7	2.30	2.16
Valerate (% Total VFA)	0	1.26	1.39
	1	1.48	1.42
	3	1.58 <sup>a</sup>	1.31 <sup>b</sup>
	5	1.44	1.28
	7	1.47	1.28
C2/C3	0	5.49	5.13
	1	4.68	4.82
	3	4.90	5.18
	5	4.88	5.12
	7	4.85	4.94

SBM: Soybean meal; T-SBM: Heat treated soybean meal.

<sup>a b</sup> : Means within the same row with different superscripts differ (P<0.05)

2) 장관별 영양소 소실율

미처리 대두박과 열처리 대두박 급여구의 각 소화관 별 OM 소실량 및 OM 소실율의 차이가 없었다(Table 3). 반추위, 하부소화관, 그리고 총 소화관의 OM 소실율은 각각 평균 39%, 51%, 그리고 71%로 나타났다.

Table 3. OM disappearance rates in each segment of gastrointestinal tract in Hanwoo steers

Item	Treatment <sup>1</sup>		SEM <sup>2</sup>	Pr>F <sup>3</sup>
	SBM	H-SBM		
Intake, g/d	7259	7322	-	-
Duodenal Flow, g/d	4483.8	4340.2	909.17	0.8307
Fecal flow, g/d	2028.4	2195.7	198.36	0.2780
Disappearance, g/d				
Stomach	2774.8	2981.5	909.17	0.7588
Intestine	2455.4	2144.5	900.47	0.6427
Total tract	5230.2	5126.0	198.36	0.4856
Disappearance, %				
Stomach	38.23	40.72	12.47	0.7869
Intestine	53.19	48.25	10.23	0.5199
Total tract	72.06	70.01	2.72	0.3279

<sup>1</sup> SBM: Soybean meal; T-SBM: Heat treated soybean meal.

<sup>2</sup> Standard error of the mean.

<sup>3</sup> Probability level

미처리 대두박과 열처리 대두박 급여구의 각 소화관 별 CP 소실량 및 CP 소실율의 차이가 없었다(Table 4). 두 처리의 십이지장 CP 유입량 평균은 CP 섭취량 평균의 85%이었고, 따라서 반추위 소실율은 15%로 나타났다. 반추위 CP 소화율이 낮은 이유는 재순환되는 N량이 포함되어 있기 때문이며, NRC(1984)에서는 CP 섭취량의 75~120%, Richards 등(2002)은 CP 섭취량의 109~142%가 소장으로 유입된다고 하였다. 십이지장으로 유입된 CP는 소장에서 평균 62% 소실되었고, 전체 소화관 소화율은 평균 68%이었다.

Table 4. CP disappearance rates in each segment of gastrointestinal tract in Hanwoo steers

Item	Treatment <sup>1</sup>		SEM <sup>2</sup>	Pr>F <sup>3</sup>
	SBM	H-SBM		
Intake, g/d	1149	1176	-	-
Duodenal Flow, g/d	969.19	1003.19	107.51	0.6704
Fecal flow, g/d	370.35	377.53	18.88	0.6101
Disappearance, g/d				
Stomach	179.75	172.35	107.51	0.9256
Intestine	598.84	625.66	117.86	0.7585
Total tract	778.59	798.01	18.88	0.1961
Disappearance, %				
Stomach	15.65	14.66	9.25	0.8855
Intestine	61.37	62.02	5.03	0.8600
Total tract	67.77	67.89	1.64	0.9208

<sup>1</sup> SBM: Soybean meal; T-SBM: Heat treated soybean meal.

<sup>2</sup> Standard error of the mean.

<sup>3</sup> Probability level

미처리 대두박과 열처리 대두박 급여구의 각 소화관 별 전분 소실량 및 전분 소실율은 Table 5과 같다. 소장으로 유입되는 전분량과 유입된 전분의 소장 소실율은 미처리 대두박 급여구가 조금 높았으나 유의성은 없었다. 그러나 전체 소화관에서의 전분 소실량은 미처리 대두박 급여구가 열처리 대두박 급여구보다 7% 높았고 ( $P<0.05$ ), 소실율은 3% 높았다( $P<0.05$ ).

본 실험의 목적은 열처리 대두박에 의한 소장내 UDP 공급량이 증가하였을 때, 소장에서의 전분 소화율이 증가하는지를 조사하는 것이다. 반추위에서의 암모니아태 질소 농도를 보아서는 열처리 대두박의 반추위 분해율이 미처리 대두박보다 낮았고, 따라서 십이지장으로 유입되는 단백질량이 상대적으로 높았을 것으로 기대하였다. 그러나 열처리 대두박 급여구의 십이지장 CP 유입량이 약 4% 높았으나 유의성은 없었고, 소장 내 전분 소화율 증진 효과도 나타나지 않았다. 제1 세부과제의 2개 실험에서는 4위로 주입되는 casein이 소장 내 전분 소화율을 증진시킨다는 결과를 얻었으나, 급여사료에 의해 소장으로 공급되는 단백질의 증가, 즉 사료내 UDP 함량의 증가가 소장 내 전분 소화율 증가에 미치는 효과는 1세부과제의 콘글루텐밀을 급여한 실험과 본 실험에서는 나타나지 않았다.

열처리 시간을 달리한 대두박을 면양에게 급여한 실험(Demjanec 등, 1995)에서는 열처리 시간이 길어질 수록 십이장으로 유입되는 질소량이 linear하게 증가하였고, 그중 미생물 유래 질소는 미열처리 대두박 급여구보다 적었으나 미생물유래가 아닌 질소는 linear하게 증가하였다. 그리고 소장으로 유입된 질소의 소장 내 소실율도 linear하게 증가하는 결과를 보였다. 미처리 대두박을 급여한 구에서는 섭취 질소량에 대한 소장으로 유입된 질소량은 81%이었지만, 열처리 시간이 길어질 수록 비율은 증가하였고, 가장 긴 시간이 210분 열처리 대두박 급여구에서는 미생물 질소량의 증가 영향 보다는 비미생물 질소의 영향으로 106%로 높아졌다.

Table 5. Starch disappearance rates in each segment of gastrointestinal tract in Hanwoo steers

Item	Treatment <sup>1</sup>		SEM <sup>2</sup>	Pr>F <sup>3</sup>
	SBM	H-SBM		
Intake, g/d	3736	3598	0	<.0001
Duodenal Flow, g/d	1528.2	1466.1	672.68	0.9005
Fecal flow, g/d	383.86	456.17	47.56	0.0751
Disappearance, g/d				
Stomach	2207.4	2131.9	672.68	0.8791
Intestine	1144.3	1010.0	663.50	0.7842
Total tract	3351.75 <sup>a</sup>	3141.87 <sup>b</sup>	47.55	0.0008
Disappearance, %				
Stomach	59.09	59.25	18.36	0.9906
Intestine	70.84	64.46	13.85	0.5387
Total tract	89.73 <sup>a</sup>	87.32 <sup>b</sup>	1.30	0.0393

<sup>1</sup> SBM: Soybean meal; T-SBM: Heat treated soybean meal.

<sup>2</sup> Standard error of the mean.

<sup>3</sup> Probability level

## 5. 대두피와 소맥피 급여가 소장내 전분 이용성에 미치는 효과

### 가. 재료 및 방법

#### 1) 공시축과 시험사료

공시축으로는 반추위와 “T”형 십이지장 캐놀라가 장착된 한우 거세우 (268±8kg) 3두를 이용하였고, 3기의 대사케이저(127 × 250cm)에 1두씩 수용하여 3 × 3 *Latin square design*에 의해 실험을 수행하였다. 처리별 배합사료의 배합비율은 Table 1과 같다. 처리 1구 배합사료는 분쇄옥수수 56%와 대두피 23%, 처리 2구는 분쇄옥수수 56%와 소맥피 28%을 혼합하고, 전체사료의 CP 수준과 RDP와 UDP의 비율이 같도록 하기 위해 대두박과 옥글루텐 혼합비율을 조절하였다. 처리 3구는 처리 2구의 분쇄옥수수를 옥수수 후레이크로 대체하였다. 배합사료는 1일 5.2kg를 제한급여 하였고, 볏짚도 1일 3.0kg로 제한하였다. 배합사료와 볏짚은 하루에 동량을 2 회로 나누어 급여하였고, 물과 미네랄블록은 자유섭취 할 수 있도록 하였다. 사료 영양소의 유입량과 소화율을 계산하기 위한 marker로서는 Cr<sub>2</sub>O<sub>3</sub>(사료섭취량 0.2%)을 농후사료에 균일하게 혼합하여 급여하였다.

Table 1. Ingredients and chemical composition of the basal diet

	Treatment combinations <sup>a</sup>		
	T1	T2	T3 <sup>b</sup>
Corn (ground)	56.0	56.0	
Corn (flaked)			56.0
barley	-	-	-
Soybean meal	8.0	-	-
Corn gluten meal	1.5	4.2	4.2
Soybean hull	23.0	5.0	5.0
wheat bran	5.0	28.0	28.0
Molasses	4.4	4.4	4.4
Urea	0.5	0.6	0.6
Calcium phosphate	0.4	0.4	0.4
Limestone	1.0	1.2	1.2
Vitamin-mineral mixture	0.2	0.2	0.2
Total	100	100	100
CP	13.7	13.7	13.7
RDP	8.6	8.6	8.6
UDP	5.1	5.1	5.1
NDF	20.3	18.2	18.2
Starch	31.8	31.9	31.9
TDN	75.2	74.4	74.4
ME(kcal/kg)	2,666	2,651	2,651

## 2) 시료채취

### 가) 기초사료

사료는 각 시험기간 중 1회 채취하여 Willey mill(Standard Model No3., Arthur H.thomas Co. Philadelphia. U.S.A)로 1mm 분쇄하였고, 일반성분(AOAC, 1990), 전분, NDF, 및 ADF(Mertens, 2002), 그리고 크롬을 분석하였다.

### 나) 반추위 내용물

각 시험기간 중 12일째 0830(0h), 1000(1h), 1200(3h), 1400(5h), 1600(7h) 총 5회에 걸쳐 200ml 정도씩 채취하였다. 채취한 반추위액 즉시 4겹의 거즈로 여과한 후, pH meter(Pinnacle 530 routine, corning)로 pH를 측정하였고, VFA와 NH<sub>3</sub>-N를 분석하기 위한 전처리를 하여 분석 전까지 냉동보관(-20℃)을 하였다.

### 다) 십이지장 내용물

각 시험기간 중 13일째 0830(0h), 1200(3h), 1500(6h), 1800(9h), 14일째 0830(0h), 1030(1.5h), 1330(4.5h), 1600(7.5h)에 채취하였다. 내용물은 통풍건조기(60℃, 48시간 이상)에서 건조시킨 다음 disc. mill(BM-D 100, McCoy Corp., serial No. 980812, maximum 1750rpm)을 이용하여 1mm로 분쇄하였다. 분쇄 후, 채취시간 별로 10%씩 혼합하여 건물, 조단백질, 조회분, 전분, 크롬을 분석하였다.

### 라) 분

분은 두 가지 방법으로 채취하였다. Total-분은 3일 동안(제12일, 13일, 14일) 각각 하루 사이 배설한 분을 균일하게 섞어서 500g 채취하였고, Time-분은 십이지장 내용물을 채취 할 때와 동일한 시간 때에 직장법으로 100g씩 채취하여 혼합하였다. 시료의 건조 및 분석은 십이지장 내용물과 같은 방법으로 처리하였다.

### 마) 뇨

뇨는 4N 황산 500ml가 들어 있는 용기를 이용하여 3일간(제9일, 10일, 11일) 수거하였으며, 알란토인분석과 질소분석에 이용되었다.

### 바) 혈액

혈액은 각 시험기간 중 14일째 1600에 공시축의 경정맥을 통하여 채취한 후, sodium heparin이 들어있는 10ml vacutainer에 담아 3500rpm으로 4℃에서 15분간 원심분리 후 상층액을 취하여 냉동보관(-20℃)하였다.

3) 분석방법 및 통계처리  
 앞 실험과 동일

나. 결과 및 고찰

1) 반추위 발효성상 변화

반추위 pH 및 암모니아태 질소 농도의 변화는 Fig. 1에 나타내었다. 분쇄옥수수를 급여하면서 대두피(T1)를 급여한 구의 반추위 pH는 분쇄옥수수수와 소맥피를 급여한 시험구(T2)와 옥수수 후레이크와 소맥피를 급여한 구(T3) 보다 높았다. 특히 사료급여 후 3, 5시간에서의 반추위 pH는 유의성 있는 차이를 보였다. 그러나 반추위 암모니아태 질소의 농도에서는 처리 간 차이가 없었다. VFA 농도변화에서는 T3구의 propionic acid는 높은 농도를 유지하였고, 사료급여 후 1시간 후의 농도에서는 처리간 유의성(P<0.05)이 있었다. 특히 acetic acid 농도는 모든 조사시간에서 T3구가 유의성 있게(P<0.05) 높았다.

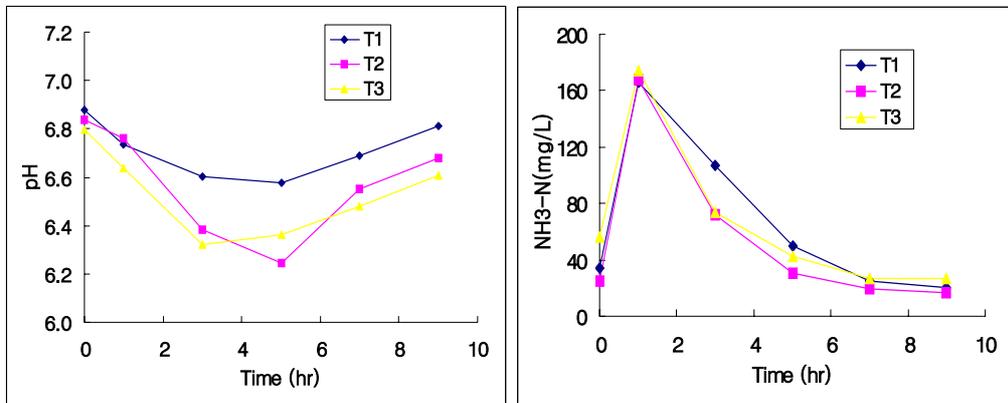


Fig. 1. Changes in ruminal pH and NH<sub>3</sub>-N concentration(mg/L) of Hanwoo fed experimental diets.

Table 2. Ruminal VFA concentration of Hanwoo fed experimental diets

Item	Time(hr)	T 1	T 2	T 3
Total VFA (mM)	0	88.05	83.51	85.00
	1	106.24 <sup>a</sup>	88.75 <sup>b</sup>	97.81 <sup>ab</sup>
	3	97.48	98.73	99.38
	5	97.98	101.30	96.04
	7	93.77	92.53	91.64
	9	85.04	82.80	81.70
	AVG	94.76	91.27	91.93
Acetate (% Total VFA)	0	63.54 <sup>ab</sup>	64.74 <sup>a</sup>	62.33 <sup>b</sup>
	1	62.55 <sup>a</sup>	62.14 <sup>a</sup>	59.22 <sup>b</sup>
	3	62.40 <sup>a</sup>	63.20 <sup>a</sup>	59.89 <sup>b</sup>
	5	62.29 <sup>a</sup>	63.51 <sup>a</sup>	59.93 <sup>b</sup>
	7	62.14 <sup>a</sup>	63.71 <sup>a</sup>	59.74 <sup>b</sup>
	9	62.36 <sup>a</sup>	63.83 <sup>a</sup>	59.90 <sup>b</sup>
	Propionate (% Total VFA)	0	15.86	17.00
1		18.30 <sup>b</sup>	19.53 <sup>ab</sup>	21.42 <sup>a</sup>
3		18.15	18.57	20.71
5		17.59	17.94	20.66
7		17.06	17.56	20.66
9		16.69	17.26	20.48
Iso-butyrate (% Total VFA)		0	0.96 <sup>a</sup>	0.68 <sup>b</sup>
	1	0.65	0.60	0.56
	3	0.65	0.64	0.54
	5	0.69	0.62	0.51
	7	0.68	0.60	0.56
	9	0.70	0.64	0.60
	Butyrate (% Total VFA)	0	17.37	15.44
1		16.41	15.57	16.59
3		16.63	15.49	16.71
5		17.37	16.05	16.91
7		18.09	16.23	16.98
9		18.17	16.29	16.87

<sup>1</sup> T1: Corn + Soybean hull; T2: Corn + Wheat bran; T3: Corn(flaked) + Wheat bran.

<sup>a b</sup> : Means within the same row with different superscripts differ (P<0.05)

## 2) 장관별 영양소 소실율

처리별 각 소화관 별 OM 소실량 및 OM 소실율은 Table 3에 나타내었다. 십이지장 OM 유입량은 처리간 차이가 없었기 때문에 반추위에서의 소화율도 차이가 없었다. 그러나 옥수수 후레이크와 소맥피를 급여한 T3구에서 십이지장 유입 OM량이 하부소화관에서 소실되는 양은 높았고, 소실율에서는 통계적 경향을 보여주었다

(P=0.14). 그리고 T3구는 총 소화관의 OM 소실율도 증가하는 경향이 있었다.

Table 3. OM disappearance rates in each segment of gastrointestinal tract in Hanwoo steers

Item	Treatment <sup>1</sup>			SEM <sup>2</sup>	Pr>F <sup>3</sup>
	T1	T2	T3		
Intake, g/d	6562	6508	6427	-	-
Duodenal Flow, g/d	4908.4	5285.2	5046.5	992.70	0.8469
Fecal flow, g/d	2716.4	2786.7	2192.4	384.95	0.1102
Disappearance, g/d					
Stomach	1654.1	1223.1	1380.2	992.70	0.8277
Intestine	2191.9	2498.5	2854.1	863.77	0.5750
Total tract	3846.1	3721.6	4234.3	384.95	0.2007
Disappearance, %					
Stomach	25.2	18.2	21.5	15.16	0.8378
Intestine	42.4	46.6	56.7	9.41	0.1399
Total tract	58.6	57.2	66.0	5.92	0.1379

<sup>1</sup> T1: Corn + Soybean hull; T2: Corn + Wheat bran; T3: Corn(flaked) + Wheat bran.

<sup>2</sup> Standard error of the mean.

<sup>3</sup> Probability level

처리별 각 소화관 별 CP 소실량 및 CP 소실율은 Table 4에 나타내었다. 십이지장 CP는 T1, T2구 보다 T3구가 높은 경향(P=0.1)이 있었고, 하부소화관에서의 CP 소실율과 소실량에서도 T3구는 T1구 보다 높은 경향을 보였다. 총 소화관에서의 CP 소실량과 소실율은 T3구가 T1구보다 유의성(P<0.05) 있게 높았다.

처리별 각 소화관 별 전분 소실량 및 전분 소실율은 Table 5에 나타내었다. 십이지장 유입 전분량과 소장에서의 소실량은 처리간에 차이가 없었으나, 소장에서의 소실율은 T2, T3구가 T1구보다 유의성(P<0.01)있게 높았다.

Richard 등(2002)은 제4위로 casein을 주입량을 증가시키는 실험에서 소장으로 유입되는 단백질량이 증가하면 소장내 전분 소화율이 증가한다는 하였고, casein을 제4위로 주입한 제1세부과제의 연구 3, 4에서도 같은 결과를 얻었다. 그러나 제1세부과제 연구 5와 제3세부과제 연구 3에서는 섭취사료로 공급되는 단백질이 소장내 전분 소화율 향상에 효과가 없었기 때문에 본 실험은 섭취사료의 CP 수준, 그리고 UDP와 RDP비율을 같게 함으로서 대두피와 소맥피의 효과를 보고자 하였으나, T2구와 T3구의 조단백질 섭취량이 T1구보다 조금 높았다. 그러나 반추위 암모니아 농도(Fig. 1)는 처리간 차이가 없었기 때문에 단백질의 효과는 없었다고 판단되고, 따라

서 대두피 보다 소맥피를 급여하는 것이 그리고 분쇄옥수수보다는 후레이크 옥수수를 급여하는 것이 소장내 전분 소화율을 높이는 효과가 있었다.

Table 4. CP disappearance rates in each segment of gastrointestinal tract in Hanwoo steers

Item	Treatment <sup>1</sup>			SEM <sup>2</sup>	Pr>F <sup>3</sup>
	T1	T2	T3		
Intake, g/d	802.7	836.9	836.9		
Duodenal Flow, g/d	925.6	1060.0	1207.6	180.8	0.1427
Fecal flow, g/d	367.7 <sup>a</sup>	363.0 <sup>ab</sup>	295.6 <sup>b</sup>	43.1	0.0746
Disappearance, g/d					
Stomach	-122.8	-223.1	-370.7	180.8	0.2046
Intestine	557.8 <sup>b</sup>	697.0 <sup>ab</sup>	912.0 <sup>a</sup>	195.3	0.0823
Total tract	435.0 <sup>b</sup>	473.9 <sup>ab</sup>	541.3 <sup>a</sup>	43.1	0.0199
Disappearance, %					
Stomach	-15.3	-26.7	-44.3	22.0	0.2252
Intestine	59.0	63.4	75.5	10.1	0.1093
Total tract	54.2 <sup>b</sup>	56.6 <sup>ab</sup>	64.7 <sup>a</sup>	5.2	0.0446

<sup>1</sup> T1: Corn + Soybean hull; T2: Corn + Wheat bran; T3: Corn(flaked) + Wheat bran.

<sup>2</sup> Standard error of the mean.

<sup>3</sup> Probability level

Table 5. Starch disappearance rates in each segment of gastrointestinal tract in Hanwoo steers

Item	Treatment <sup>1</sup>			SEM <sup>2</sup>	Pr>F <sup>3</sup>
	T1	T2	T3		
Intake, g/d	2219	2138	2113		
Duodenal Flow, g/d	558.6	764.2	699.6	186.14	0.3257
Fecal flow, g/d	72.6	56.4	46.6	17.45	0.1595
Disappearance, g/d					
Stomach	1660.1	1374.2	1413.6	186.14	0.1154
Intestine	486.0	707.6	653.0	176.58	0.2347
Total tract	2146.1 <sup>a</sup>	2081.7 <sup>b</sup>	2066.6 <sup>b</sup>	17.45	0.0003
Disappearance, %					
Stomach	74.8	64.3	66.9	8.68	0.2538
Intestine	86.8 <sup>b</sup>	92.5 <sup>a</sup>	93.2 <sup>a</sup>	2.05	0.0033
Total tract	96.7	97.4	97.8	0.80	0.2198

<sup>1</sup> T1: Corn - Soybean meal + Soybean hull; T2: Corn - Corn gluten meal + Wheat hull; T3: Corn(flaked) - Corn gluten meal + Wheat hull.

<sup>2</sup> Standard error of the mean.

<sup>3</sup> Probability level

## 6. 대두피 및 소맥피 급여가 비육후기 사료섭취량, 전장소화율, 증체에 미치는 영향 시험

### 가. 재료 및 방법

#### 1) 공시축, 시험기간 및 시험장소

24개월령 한우 비거세우 16두(평균체중 463±51kg)를 입식하였으며 2006년 6월 8일부터 2006년 9월까지 축산연구소에서 사양시험을 실시하였다.

#### 2) 시험설계 및 시험사료

본 시험은 소맥피 급여구(T1), 대두피 급여구(T2)의 2개 처리구를 두었으며, 각 처리 별 8두씩 공시하였다.

Table 1. Ingredients and chemical composition of the basal diet

	T1	T2
Ingredient, % of DM		
Ground corn	65.0	65.0
Corngluten meal	3.0	3.0
Wheat bran	26.0	-
Soybean hull	-	26.0
Molasses	4.0	4.0
Calcium phosphate	0.5	0.5
Limestone	1.2	1.2
Vitamin-mineral mixture	0.3	0.3
Total	100	100
Composition, % of DM		
DM	86.85	86.47
OM	95.81	96.30
CP	13.03	11.95
Starch	67.23	58.73
TDN	76	77

T1: Wheat bran, T2: Soybean meal.

#### 3) 사양관리

입식 후 시험축은 개폐식지붕의 개방식 우사(pen size, 5.3×10.6m)에서 4두씩 군사하였으며 Calan system(개체별급이도어시스템, 世一테크)를 이용하여 사료관리를 하였다. 본시험 기간 중 아침 8시 전일 사료의 잔량을 측정한 후, 아침 9시, 저녁 5시에 조사료와 농후사료를 동시에 급여하였다. 전체 시험축에게 볏짚 1.0kg를 하루에 2회로 나누어 급여하였고, 농후사료 자유채식 시켰으며, 물과 미네랄블록은

자유섭취 할 수 있도록 하였다. 그리고 영양소의 전장소화율을 조사하기 위하여 각 처리별 4두씩 선택하여 산화크롬(사료섭취량 0.2%)을 농후사료에 균일하게 혼합하여 급여하였다.

#### 4) 사료채취

##### 가) 시험사료

사료는 각 시험기간 중 1회 채취하여 Willey mill(Standard Model No3., Arthur H.thomas Co. Philadelphia. U.S.A)로 1mm 분쇄하였고, 일반성분(AOAC, 1990), 전분, NDF, 및 ADF(Mertens, 2002), 그리고 크롬을 분석하였다.

##### 나) 사료섭취량, 증체량 및 체중

사료는 1일 급여량을 오전과 오후로 나누어 급여하여 익일 오전 사료급여 전 잔량을 측정하여 섭취량을 계산하였다. 증체량은 시험개시부터 1개월 간격으로 측정 후 계산하였다. 체중도 시험개시부터 1개월 간격으로 측정하였다.

##### 다) 분

Time-분은 시험개시부터 1개월 간격으로 2일에 나누어 grab sampling 방법으로 채취하였는데, 첫날에는 0830(0h), 1200(3h), 1500(6h), 1800(9h), 둘째날에는 0830(0h), 1030(1.5h), 1330(4.5h), 1600(7.5h)에 채취하였다. 사료는 통풍건조기(60°C, 48시간 이상)에서 건조시킨 다음 disc. mill(BM-D 100, McCoy Corp., serial No. 980812, maximum 1750rpm)을 이용하여 1mm로 분쇄하였다. 분쇄 후, 채취시간 별로 10%씩 혼합하여 건물, 조단백질, 조회분, 전분, 크롬을 분석하였다.

#### 5) 분석방법

앞 실험과 동일

#### 4) 통계처리

앞 실험과 동일

#### 나. 결과 및 고찰

##### 1) 사료섭취량

3개월간의 총사료 섭취량(Fig. 1)과 배합사료 섭취량(Fig. 2)의 변화를 보면 soybean hull(대두피)이 1kg 이상 더 섭취하는 것으로 나타났다. 앞 실험에서 대두피는 소맥피와 비교하여 반추위 발효 안정화에 기여하는 것으로 확인되었고, 본 실험에서 섭취량이 증가하는 이유도 발효안정화와 관련이 있을 것이다.

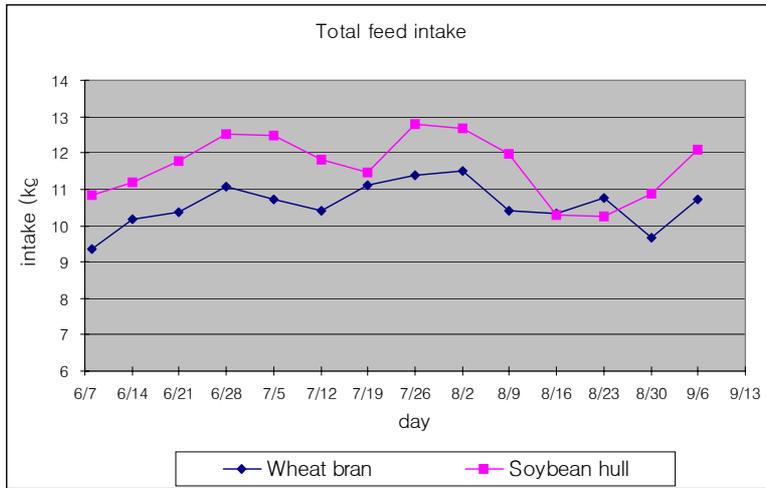


Fig. 1. Change in total feed intake of Hanwoos.

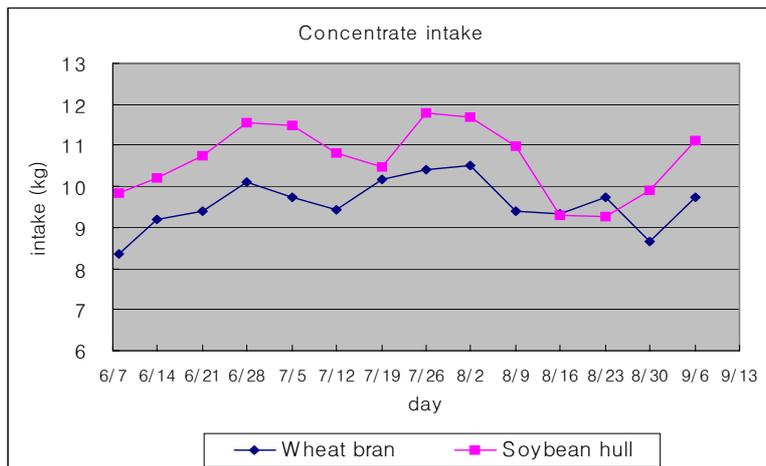


Fig. 2. Change in concentrate intake of Hanwoos.

## 2) 영양소 소화율

건물 섭취량이 높았던 대두피구의 OM섭취량도 높았으나, 단백질과 전분 섭취량은 소맥피구가 높았다. 특히 전분 함량이 높은 소맥피구의 전분 섭취량은 유의적인 차이( $P < 0.01$ )를 보였다. OM 전장 소화율은 처리간 차이가 없었지만, CP와 전분 소화율은 소맥피구가 유의적( $P < 0.05$ )으로 높았다. 앞서 수행된 대사시험에서 대두피구는 반추위 발효 안정화에 기여하였고, 본 실험에서는 사료섭취량도 증가하는 것으

로 나타났다. 그러나 단백질 및 전분섭취량과 소화율은 소맥피구가 높았다.

Table 2. Nutrients intake and total tract digestibility

Item	Treatment <sup>1</sup>		SEM <sup>2</sup>	Pr>F <sup>3</sup>
	T1	T2		
Intake, kg/d				
OM	9.92 <sup>b</sup>	11.04 <sup>a</sup>	433.26	0.0001
CP	1.38	1.31	0.08	0.1017
Starch	6.97 <sup>a</sup>	6.32 <sup>b</sup>	0.39	0.0044
Feces, kg/d				
OM	2.88	3.36	0.51	0.0787
CP	0.47	0.53	0.07	0.1105
Starch	0.80	1.01	0.22	0.0757
Total tract disappearance, kg/d				
OM	7.03 <sup>b</sup>	7.68 <sup>a</sup>	0.50	0.0217
CP	0.90 <sup>a</sup>	0.78 <sup>b</sup>	0.09	0.0193
Starch	6.17 <sup>a</sup>	5.31 <sup>b</sup>	0.42	0.0011
Total tract digestibility, %				
OM	71.00	69.58	4.48	0.5360
CP	65.65 <sup>a</sup>	59.59 <sup>b</sup>	5.25	0.0367
Starch	88.53 <sup>a</sup>	83.99 <sup>b</sup>	3.40	0.0185

<sup>1</sup> T1: Wheat bran; T2: Soybean hull.

<sup>2</sup> Standard error of the mean.

<sup>3</sup> Probability level

## 2) 증체 성적

공시축의 개시체중은 처리간 차이가 없었으나, 3개월 후의 체중은 대두피구가 조금 높았다. 그러나 통계적 유의성은 없었다. 일당 증체에서도 대두피구가 조금 높았으나 역시 통계적인 유의성은 없었다. 사료 섭취량 특히 배합사료 섭취량은 대두피구가 유의적(P<0.05)으로 높았다.

대두피에 의한 반추위 발효안전화와 총사료섭취량 증가 효과와 소맥피에 의한 단백질 및 전분 섭취량 및 소화율 증가 효과는 본 실험의 증체에는 영향을 주지 못하였다.

Table 3. Growth performance

Item	Treatment <sup>1</sup>		SEM <sup>2</sup>	Pr>F <sup>3</sup>
	T1	T2		
Initial BW, kg	494	492	34.00	0.8795
Final BW, kg	575	586	29.92	0.4993
ADG <sup>4</sup> , kg	0.88	1.02	0.22	0.2174
DFI <sup>5</sup> , kg/d	10.66	11.70	0.85	0.0291
Concentrates	9.69	10.71	0.86	0.0315
Rice straw	0.98	0.99	0.04	0.5830
DDMI <sup>6</sup> , kg/d	9.27	10.13	0.74	0.0355
DDMI/ADG	10.80	10.39	0.72	0.5938

<sup>1</sup> T1: Wheat bran; T2: Soybean hull.

<sup>2</sup> Standard error of the mean.

<sup>3</sup> Probability level

<sup>4</sup> Average daily body gain

<sup>5</sup> Daily feed intake

<sup>6</sup> Daily dry matter intake

## 제 4 절. 결과 종합

본 연구는 한우가 섭취한 전분의 소장 내 이용성이 소장내로 유입되는 단백질의 특성 차이와 깊은 관련이 있다는 외국의 일부 연구 결과들에 대한 확인 실험과 함께, 그 기전 해석 그리고 단백질 이외의 요인들을 구명함으로써 한우의 산육성 증진을 위한 전분 이용성 향상 기술을 개발하고자 3년간 수행하였다. 본 연구수행에 투입된 기술적인 특징은 다음과 같다. 1) 1차년도에 12두, 2차년도에 12두, 총 24두에게 반추위와 소장에 캐놀라를 동시에 장착하는 외과 시술을 국내에서 처음으로 실시하였고, 1세부과제에서 4개의 실험에, 그리고 2 세부과제서 3개 실험에, 협동과제에서 3개의 실험에 활용되었다. 2) 또한 2세부과제에서는 제3위 내용물 시료를 채취할 수 있는 장치를 개발하여 국내 최초로 활용함으로서 반추위 발효가 완료된 시료를 평가함으로써 반추위에서의 단백질 분해 및 이용성을 보다 정밀하게 측정할 수 있었다. 3) 본 실험에서 영양소의 장관별 소실율은 Cr을 표식물질로 이용하였고, 반추가축에서는 국내 처음으로 십이지장 내용물을 채취, 분석함으로써 하부소화관에서의 영양소 이용성을 측정할 수 있었다. 총 20개의 실험에서 얻어진 결과를 종합하면 다음과 같다.

### 1. 십이지장 내용물과 분 중의 전분 및 Cr 분석방법 확립

#### 가. 전분 분석법

- 1) 전분질 사료의 전분함량을 perchloric acid 추출법과 효소분해법으로 비교한 결과, 대부분의 사료에서 perchloric acid 추출법이 효소분해법보다 조금 높았으나, 큰 차이는 없었다.
- 2) 십이지장 내용물을 perchloric acid 추출법과 효소분해법으로 비교한 결과는, 전분질 곡류사료의 분석과 다르게, 효소분해법에 의한 전분 분석법이 모두 높은 함량을 보였고, 그 차이는 시료에 따라 약 4배나 높게 평가되었다. 분 중 전분 분석을 perchloric acid 추출법과 효소분해법으로 비교한 결과에 의하면 십이지장 내용물 분석 결과에서와 같이 효소분석법이 모든 시료에서 높은 전분함량을 보였고, 그 차이는 더 커서 약 14배나 높게 평가된 시료도 있었다.
- 3) 본 실험을 종합하면, 효소분해법은 전분만을 함유한 시료의 분석에서는 적합하지만, 십이지장 내용물 그리고 분과 같이 유리당을 함유하고 있는 시료 분석을 위해서는 perchloric acid 추출법이 적합하지 않다는 결론을 얻었다. 현재까지 대가축의 소화관 내용물에 대한 전분 분석 결과를 보여주는 국내 연구논문은 찾아볼 수 없다. 따라서 본 연구와 같이 소화관 내용물의 전분 이용성과 관련한 연구가 수행되는 경우, 전분 분석법은 실험 결과에 아주 많은 영향을 미칠 수 있기 때문에, 전분 분석법에 대한 유의해야 할 것으로 판단된다.

#### 나. Cr 분석법

- 1) 십이지장 내용물을 기존 분석법과 개량방법으로 비교한 결과, 기본 분석법은 급여사료 중 Cr 농도보다도 적게 검출되는 문제점이 있었다. 그러나 개량법에 의하면 총 16개 시료 중 3개 시료를 제외하면 모든 시료가 섭취사료의 ppm 보다 높게 분석되었다.
- 2) 분을 기존 분석법과 개량방법으로 비교한 결과에서도 기존 분석법은 섭취사료는 물론 십이지장 내용물 시료의 Cr 농도보다도 낮게 검출되었다. 따라서 기존의 분석법과 달리, 십이지장 내용물이나 분 시료 중 Cr 분석을 위해서는  $K_3PO_4$ 를 첨가량을 다르게 해야 할 필요성이 제기되었고, 이에 대한 보다 표준화된 방법이 차후 제시되어야 한다고 판단된다.

## 2. 소장내 전분 분해율 향상에 미치는 단백질 공급효과

### 가. 제 4위 casein 주입 시험

- 1) 제 4위로 glucose, starch, casein을 각각 주입한 실험에서 casein은 혈중 glucose와 insulin의 농도를 높이는 효과가 있었다.
- 2) 제 4위로 단백질 profile이 서로 다른 casein을 주입하는 실험과, casein의 양을 주입량을 증가시키는 실험에서 소장내 전분 소실량이 증가하는 결과를 확인하였다. Kentucky 대학의 Harmon 교수팀이 최근 Journal of Animal Science에 발표한 결과와 동일한 결과였다.

### 나. 급여사료로부터 소장으로 공급되는 단백질의 효과

- 제 4위 단백질 주입 실험과 달리 반추위 미분해단백질 함량이 높은 사료를 급여한 2개의 실험(옥글루텐, 열처리 대두박)에서는 소장내 전분 소실율의 변화가 없었다.

## 3. 소장내 전분 분해율 향상에 영향을 줄 수 있는 사료급여 전략

### 가. 에너지사료와 단백질사료의 반추위 분해속도 동기화

- 1) 지금까지 수행된 반추위 발효 동기화 연구들은 대부분 반추위 미생물 합성량을 향상시키기 위한 목적이거나, 소장내 단백질 이용성을 조사하고 있고, 전분 분해율을 조사한 자료는 많지 않다.
- 2) 본 연구에서 옥수수과 보리, 그리고 대두박과 옥글루텐밀을 조합하여, 반추위 발효 동기화와 비동기화를 비교한 결과, 분해속도가 빠른 동기화(보리와 대두박) 그리고 분해속도가 느린 동기화(옥수수와 옥글루텐밀) 모두에서 소장내 전분 분해율이 향상되는 결과를 얻었다.

### 나. 강피류의 효과와 옥수수 가공 처리 효과

- 1) 대두피는 소맥피보다 반추위 안정화에 기여하지만, 소장내 전분 분해율에서는 소맥피가 대두피보다 효과적일 수 있다는 결과를 얻었다.
- 2) 가공형태가 다른 옥수수(분쇄 및 후레이크)와 소맥피를 급여한 실험에서 후레이크 옥수수 급여구에서 소장내 전분 분해율이 향상되는 결과를 얻었다.

#### 4. 반추가축 사료의 체내 단백질 평가방법 비교

가. In situ 방법(나일론백, 모바일백 방법)과 in vitro 방법(CNCPS)에 의한 사료단백질의 체내 이용성 평가

- 1) 국내 배합사료 공장에서 단백질 단미사료로 이용하고 있는 원료 13종(대두박, 채종박, 옥글루텐박, 옥배아박, 면실박, 대두피, 소맥피, 단백질, 루핀, 해바라기씨박, 팜박, 야자박, 호마박)을 이용하였다.
- 2) ØrsKov 등(1980)의 방법에 따라 2mm 이하의 입자도를 가진 시료를 선별한 후 가로 10cm, 세로 15cm의 nylon bag(pore size 45 $\mu$ )에 시료 5g을 넣어 (sample size : bag surface area = 16.67mg/cm<sup>2</sup>) 반추위 cannula라 시술된 공시축 3두의 반추위 내에 넣어 시간별 분해율을 구한 후 Ørskov와 McDonald(1979)의 지수 방정식을 이용하여 SAS(SAS, 2002)의 비선형 회귀 방정식(PROC NLIN)으로 반추위 유효 분해율을 추정하였다.
- 3) 반추위, 4위 및 소장에서의 각 영양소 소화율은 Hvelpund 등(1992)의 방법에 따라 구한 후 100에서 총 소화율(%)을 빼준 값으로 UDIN을 구하였다.
- 4) Licitra 등(1996)의 방법에 의해 in vitro technique으로 A, B1, B2, B3, C fraction을 산출하였다.

나. In situ 시험(RDP, RUP, UDIN)과 in vitro 시험(A, B1, B2, B3, C)에 의한 사료단백질의 체내 이용성 평가방법 비교

- 1) RDP와 CNCPS의 nitrogen fraction의 비교에서는 A+B1 fraction이  $[Y = 0.66X - 12.87]$ 의 관계식으로 P value가 0.02로 유의수준을 갖지만 A+B1+B2 fraction과는 상관관계가 존재하지 않는다.
- 2) RUP와 CNCPS의 nitrogen fraction의 비교에서는 B1+B2+B3 혹은 B2+B3 fraction 모두 상관관계가 존재하지 않는 것으로 나타났다.
- 3) UDIN과 CNCPS의 C nitrogen fraction간에 상관관계가 존재하지 않는 것으로 나타났다.

#### 5. 단백질 분해도에 따른 한우 체내 영양소 이용성 측정

가. 반추위내 soluble N 분해패턴 측정 시험

- 1) 단백질의 분해도와 수준에 따라 CP 함량 8%인 대조구(Control)와 대표적인 RUP 급원인 콘글루텐밀 저수준(LCGM; CP: 12%)과 고수준(HCGM; CP:

16%), RDP 급원인 대두박 저수준(LSBM; CP: 12%)과 고수준(HSBM; CP: 16%)의 5개 시험구로 5×5 Latin square design으로 수행하였다.

- 2) 반추위 발효성상에 있어서 일일 평균 pH와 휘발성지방산 함량은 처리구간 차이를 보이지 않았으나 암모니아 농도는 단백질 함량이 높고 반추위 분해율이 높을수록 증가하였다. 반추위내 nitrogen fraction에 있어서 펩타이드 함량이 가장 높게 나타났으며, 아미노산, 펩타이드 및 수용성 단백질함량 공히 옥수수글루텐에 비하여 반추위 분해율이 높은 대두박에서 높게 나타났다. 한편 혈중 단백질 대사물질농도는 BUN이 단백질함량과 반추위분해율에 비례하여 유의적인 차이를 나타냈으나 알부민, 총 단백질과 크레아티닌 함량은 처리구간에 차이를 보이지 않았다. 반추위미생물단백질 합성량도 단백질함량과 반추위 분해율에 비례하여 증가하였으나, 체내 nitrogen balance에 있어서는 처리구간 유의적인 차이를 보이지 않았다.

나. 반추위액과 제 3위액의 soluble N fraction 분해패턴 측정 및 비교분석

- 1) 단백질의 분해도와 수준에 따라 4개의 시험구로 나뉘었는데, 대표적인 RUP 급원인 콘글루텐밀 저수준(LCGM; CP: 12%)과 고수준(HCGM; CP: 16%), RDP 급원인 대두박 저수준(LSBM; CP: 12%)과 고수준(HSBM; CP: 16%)의 4개 시험구로 4×4 Latin square design으로 수행하였다.
- 2) 제3위액 내 평균 SNAN 농도는 제3위액 내 각 SNAN 분획 농도가 반추위액보다 높기 때문에 반추위액의 SNAN 농도보다 유의적으로 더 높았다 ( $P<0.05$ ). 고수준의 CP처리구에서 반추위액( $P<0.01$ )과 제3위액( $P<0.05$ )의 각 SNAN 분획의 농도는 peptide를 제외하고 저수준 CP구보다 높았다. SBM 급여는 반추위액( $P<0.01$ ) 및 제3위액( $P<0.05$ )의 peptide 농도를 증가시켰다. 고수준의 CP 함량과 높은 분해율은 반추위액 및 제3위액의 총 SNAN 농도를 유의적으로 증가시켰다( $P<0.001$ ). 또한 peptide 분해가 반추위 단백질 가수분해에서 분해율 결정요인일 수 있다는 이전 보고(Chen 등, 1987; Choi 등, 2002a, 2003)와 같은 결과이다.

다. 반추위내 단백질 분해패턴 및 미생물 단백질 합성량 측정 시험

- 1) 대조구 사료와 반추위 분해율이 높은 소맥피 첨가구 및 반추위 분해율이 낮은 대두피 첨가구의 3개 처리구로 3×3 Latin square design으로 수행하였다.
- 2) 처리구간 반추위 pH, 총 VFA 및 각 구성원의 농도는 차이가 없었다. 그러나 암모니아태 질소의 농도는 단백질 첨가로 증가했으며( $P<0.01$ ), 단백질 첨가 처리구간 분해율이 증가할수록 증가하였다( $P<0.001$ ). 또한 혈중 BUN은 단백질의 첨가 및 분해도에 비례해서 증가하는( $P<0.05$ ) 것이 뚜렷하게 나타났으나 다른 단백질대사관련 물질의 농도는 차이를 보이지 않았다. 한편, 제3위액의 아미노산, peptide, 수용성 단백질 및 총 SNAN의 농도는 반추위액보다 높

았으며( $P < 0.05$ ), 단백질 첨가 및 단백질의 반추위 분해율이 높을수록 반추위 액 및 제3위액의 SNAN 농도를 증가시켰다. 미생물 단백질 생성량의 경우 WB 급여구에서 높게 나타났는데, 이는 반추위 분해도가 빠른 WB 급여 시에 생성된 비교적 많은 양으로 생성된 암모니아태 질소에 기인한 것으로 보인다. 한편 질소균형에 있어서는 처리구 간에 차이가 없었는데, 미생물 체단백질의 생성량이 WB구에서 높았음에도 불구하고 질소균형에 차이가 없었던 것은 WB와 비교하여 반추위에서 분해되지 않은 상당량의 SBH가 소장으로 이전되어 분해 흡수됨에 기인한 것으로 보인다. CP의 십이지장 유입량은 단백질 첨가의 영향으로 대조구에 비해 증가하는 경향( $P = 0.16$ )을 보였고 이의 소장 내 소화율은 단백질 첨가로 증가하는 경향을 보였기 때문에( $P=0.14$ ) 단백질 첨가로 인해 하부 장기 소화율이 증진됨을 확인할 수 있다. 또한 총 소화관 소화율 역시 단백질 첨가로 증가하는 경향을 보였다( $P=0.1$ ).

## 6. 사양실험

### 가. 육성기 반추위 발효동기화 시험

본 시험은 앞 시험에서와 같이 반추위 분해가 빠른 보리와 대두박구, 분해가 느린 옥수수과 옥글루텐구 2처리구로 나누어 거세한우 수송아지 14두( $260.0 \pm 40\text{kg}$ )를 이용하여 사양시험을 3개월간 수행하여 사료섭취량과 증체율을 측정하였다.

옥수수 급여구에 비하여 보리급여구가 수치적으로 건물섭취량이 높게 나타났고 일당증체량은 낮게 측정되어, kg 증체당 건물섭취량이 옥수수-옥글루텐 급여구 즉, 빠른 반추위 발효동기화구에서 유리하게 나타났다.

### 나. 비육후기 강피류 비교시험

2개월령 한우 비거세우 16두(평균체중  $463 \pm 51\text{kg}$ )를 이용하여 소맥피 급여구와 대두피 급여구의 2개 처리구를 두어 3개월간 사양시험을 수행하였다.

사료섭취량은 대두피 급여구에서 유의적으로 높게 나타났으며, 증체량도 대두피 급여구에서 수치적으로 높게 나타났다. 반면에 조단백질과 전분의 체내 소화율은 소맥피 급여구에서 유의적으로 높게 나타났다( $P < 0.05$ ).

## 제 4 장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도

### 1. 연구개발 목표 및 연구개발 내용과 달성도

구 분	연구개발 목표	연구개발 내용	달성도
1차 연도 (2003년)	<제 1 세부과제> 전분의 소장내 소화율 향상 기술개발	○ 전분분석법: - 효소분해법은 사료전분 분석에는 적합 - 유리당을 상대적으로 많이 함유하고 있는 십이지장 내용물과 분은 perchloric acid 추출법이 적합  ○ Cr 분석법 - 관행 방법에 의해 분석된 십이지장 내용물과 분의 Cr 농도는 섭취 사료의 Cr 농도보다 낮게 평가되는 문제성 대두 - 십이지장 내용물이나 분 시료중 Cr 분석을 위해서는 K <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> 를 첨가량을 다르게 해야 할 필요성이 제기되었고, 이에 대한 보다 표준화된 방법이 차후 제시되어야 한다고 판단	100%
	<제 2 세부과제> 반추위 및 소장내 단백질 분해패턴 구명	○ 단백질 이용성 측정방법 비교평가 - CNCPS 방법을 통한 단백질 분획 측정 - 나이론백·모바일백 시험을 통한 RDP, UDP, UDIN 분석 ○ 반추위내 단백질 분해패턴 구명시험 - 제 3위액 채취장치 제작 검증 및 PAA, AA 분석방법 확립	100%
	<제 3 세부과제> 반추위 및 소장내 전분 이용성 증진을 위한 가공처리효과	○ 전분질 사료의 in vitro 분해율 및 pH 변화 측정 - 7종 이상의 전분질 사료 - gas production 장치를 이용 - 시간별 pH - 시간별 가스 발생량 조사  ○ 제 4위로 glucose, starch, casein을 각각 주입한 결과: - casein은 혈중 glucose와 insulin의 농도를 높이는 효과 확인	100%

구 분	연구 개발 목표	연구개발 내용	달성도
2차 년도 (2004년)	<제 1 세부과제> 전분의 소장내 소화율 향상 기술개발	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 단백질 profile이 다른 casein의 4위 주입 실험               <ul style="list-style-type: none"> <li>- raw casein이 효소분해 casein 보다 소장내 전분 분해율을 향상</li> </ul> </li> <li>○ 제4위 casein 주입량 증가 효과:               <ul style="list-style-type: none"> <li>- casein 주입량 증가에 따른 소장내 전분 분해율 향상</li> </ul> </li> </ul>	100%
	<제 2 세부과제> 반추위 및 소장내 단백질 분해패턴 구명	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 단백질 이용성 측정방법 확립               <ul style="list-style-type: none"> <li>- CNCPS 방법을 통한 단백질 분획 측정</li> <li>- 나이론백·모바일백 시험을 통한 RDP, UDP, UDIN 분석</li> <li>- 반추위액과 3위액의 질소원 분석 (PAA, AA, NH<sub>3</sub>N)</li> </ul> </li> <li>○ 반추위미생물단백질 합성 증진을 위한 단백질사료 급여 분해패턴 구명시험               <ul style="list-style-type: none"> <li>- 펩타이드와 아미노산 조성이 다른 3가지 형태의 casein (casein, 효소분해 casein, 산처리 casein)을 3위로 주입한 후 소화율 측정하여 소장 이용성 평가</li> </ul> </li> </ul>	100%
	<제 3 세부과제> 반추위 및 소장내 전분 이용성 증진을 위한 가공처리효과	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 열처리 대두박 급여실험:               <ul style="list-style-type: none"> <li>- 소장내 전분 소실율의 변화 없음</li> <li>- 통알곡 그리고 flake 두께(1.5mm, 2.5mm)가 다른 옥수수를 이용한 사료배합</li> <li>- 반추위 발효환경</li> <li>- 소장 및 분중 전분량</li> </ul> </li> <li>○ 강피류의 효과와 옥수수 가공 처리 효과               <ul style="list-style-type: none"> <li>- 대두피는 소맥피보다 반추위 안정화에 기여하지만, 소장내 전분 분해율에서는 소맥피가 대두피보다 효과적.</li> <li>- 가공형태가 다른 옥수수(분쇄 및 후레이크)와 소맥피를 급여한 실험에서 후레이크 옥수수 급여구에서 소장내 전분 분해율이 향상</li> </ul> </li> </ul>	100%

구 분	연구 개발 목표	연구개발 내용 및 범위	연구 개발 결과
3차 년도 (2005년)	<제 1 세부과제> 전분의 소장내 소화율 향상 기술개발	○ 반추위 발효동기화: - 분해속도가 빠른 동기화(보리와 대두박) 그리고 분해속도가 느린 동기화(옥수수과 옥글루텐밀) 모두에서 소장내 전분 분해율이 향상되는 결과를 얻었다. ○ 육성기 사양실험: - 분해동기화 효과를 검증하기 위한 최종 실증시험 - 조사항목 : 사료섭취량, 증체, 반추위 발효 장관별 소화율	100%
	<제 2 세부과제> 반추위 및 소장내 단백질 분해패턴 구명	○ 반추위미생물단백질 합성 증진을 위한 단백질사료 급여 분해패턴 구명시험 - 단백질사료(RDP, UDP원) 급여 후 반추위액 및 제 3위액을 채취하여 단백질 분해패턴(PAA, AA, NH <sub>3</sub> -N) 및 미생물단백질 합성량 측정 ○ 반추위내 단백질 분해패턴과 사료의 RDP 및 UDP 급여량의 상관관계 분석 - 분석된 사료의 RDP 및 UDP 급여량 data setup - 제 3위 유입 soluble N 함량 data setup	100%
	<제 3 세부과제> 반추위 및 소장내 전분 이용성 증진을 위한 가공처리효과	○ 비육후기 사양실험 - 강피류 급여효과 검증을 위한 사양실험 - 조사항목 : 사료섭취량, 증체, 전소화관 소화율	100%

## 2. 관련분야의 기술발전예의 기여도

- 1) 1차년도에 12두, 2차년도에 12두, 총 24두에 반추위와 소장에 캐놀라를 동시에 장착하는 외과 시술을 국내에서 처음으로 실시하여 대사실험에 이용함으로서, 반추가축의 소장내 영양소 대사연구를 촉발하는 계기가 됨
- 2) 제3위 내용물 시료를 채취할 수 있는 장치를 개발하여 국내 최초로 활용함으로서 반추위 발효가 완료된 시료를 평가함으로서 반추위에서의 단백질 분해 및 이용성을 보다 정밀하게 측정하게 되었고, 단백질 이용 효율을 높이기 위한 사료급여 전략 확립에 기여할 것으로 기대

- 3) 본 실험에서 영양소의 장관별 소실율은 Cr을 표식물질로 이용하였고, 반추가축에서는 국내 처음으로 십이지장 내용물을 채취, 분석함으로서 하부소화관에서의 영양소 이용성을 측정하면서 Cr 분석 방법에 대한 문제점을 발견하고 해결방법을 제시함에 따라 이 분야의 후속 연구의 시행착오를 최소화할 수 있게 함.
- 4) 고급육 생산을 위해 전분질 사료 이용량이 증가하고 있고, 전분의 이용성 증진을 위한 연구의 초점이 국내 최초로 반추위에 소장으로 옮겨가게 하는 촉매가 될 것으로 판단.
- 5) 본 과제에서 수행된 일련의 실험들은 한우에 있어서 소장내 전분 소화율을 높이는 기전을 이해하고, 외국과 동등한 수준의 반추가축 대사연구를 선도할 수 있는 역할을 한 것으로 판단됨

## 제 5 장 연구개발결과의 활용계획

1. 한우는 물론 반추가축에 있어서 소장내 전분 소화율 증진을 위한 연구는 본 과제에 의해 국내에서 처음 수행되었기 때문에 이 분야의 연구는 계속 수행되어야 한다.
2. 본 과제 수행에 있어서 십이지장 내용물 시료를 채취하는 방법에 따라 Cr 농도 및 영양소 농도의 분석치가 많은 영향을 받는 것으로 알려져 있다. 많은 시행착오를 극복하면서 본 연구 결과를 얻었고, 현재의 시점에서는 최선을 다한 연구결과이지만, 보다 정확한 결과를 얻기 위한 실험 방법의 개선을 위한 노력이 필요하다.
3. 본 연구에서 얻어진 결과는, 12차 AAAP(2006, 부산)에서 7편이 발표될 예정이며, full paper가 제출되어 있고, 원고를 재 작성해서 차후 SCI Journal에 논문을 투고할 계획이다.
4. 지금까지 일반적으로 수행된 전체 소화관의 영양소 소화율 자료는 가축의 체내에서 영양소들이 대사되어지는 기전을 설명하는데 한계가 있어 결과의 이해에 많은 오류가 있었음을 확인하였다. 따라서 본 연구에서 이용된 모든 실험방법들이 타 연구자들이 시행착오 없이 사용할 수 있도록 실험 매뉴얼을 작성하여 보급할 계획이다.
5. 외국에서는 췌장의 소화효소 분비 기전을 구명하는 연구가 활발히 진행되고 있다. 국내에서도 이 분야의 연구까지 확대하기 위해서는 췌장 분비액을 채취할 수 있는 pancreatic pouch를 장착한 reentrant cannula를 시술할 수 있는 기술 확보가 필요하다. 축산연구소에서는 현재 Kentucky 대학의 Harmon 교수팀과 이 분야의 도입을 위해 교류를 하고 있고, 2007년 workshop을 개최할 예정이다.
6. 본 연구를 통해서 얻어진 결과들에 대한 확인 사양실험도 함께 수행되었으나, 보다 대규모의 사양실험을 전 사육기간을 걸쳐 수행해야 할 필요성이 제기된다. 현재 본 연구결과에 대해 관심을 갖고 있는 몇몇 사료회사와 함께 공동연구를 계획하고 있다.

## 제 6 장 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보

1. 본 연구의 1년차에 Kentucky 대학의 Harmon 교수팀을 방문하여 본 연구에 필요한 실험방법 매뉴얼을 입수하였고, 개량된 T type-simple cannula를 얻었고, 국내에서의 외과기술에서 사용하였으며, 현재는 자체 제작 활용하고 있다.
2. 또한 다양한 외과기술 과정을 촬영 기록한 power point 자료 확보.
3. 2007년에는 췌장 분비액을 채취할 수 있는 pancreatic pouch 장착 reentrant cannula 기술을 위한 축산연구소와 Kentucky 대학간의 workshop을 개최할 계획.

## 제 7 장 참고문헌

1. AFRC. 1984. Agricultural and Food Research Council. The nutrient requirement of ruminant livestock. supplement No 1, England
2. Ahvenjarvi, S., A. Vanhatalo, P. Huhtanen and T. Varvikko. 2000. Determination of reticulo-rumen and whole-stomach digestion in lactating cows by omasal canal or duodenal sampling. Br. J. Nutr. 83:67-77.
3. Allison, M. J. 1970. Nitrogen metabolism of ruminal microorganisms. In: Physiology of Digestion and Metabolism in the Ruminant (Ed. A. T. Phillipson). Oriel Press, Newcastle, England. pp.456-473.
4. AOAC. 1990. Official Methods of Analysis, 15th ed. Association of Official Analytical Chemists, Arlington, Virginia, USA.
5. Argyle, J. L., and R. L. Baldwin. 1989. Effects of amino acids and peptides on rumen microbial growth yields. J. Dairy Sci. 72:2017.
6. Bernard, J. K., J. D. Quigley, H. H. Dowlen, and K. C. Lamar. 1995. Supplemental Niacin and heat-treated whole soybeans for Jersey cows during early lactation. J. Dairy Sci. 78:2016-2023.
7. Black, J. L. 1971. A theoretical consideration of the effect of preventing rumen fermentation on the efficiency of utilization of dietary energy and protein in lambs. Br. J. Nutr. 25:31-55.
8. Blanshard, J. M. V. 1987. Starch granule structure and function in starch :

- Properties and Potential, Critical Reports on Applied Chemistry. Vol. 13(Galliard, T, ed.). pp. 16-54.
9. Borchers, R. 1977. Allantoin Determination. *Analytical Biochem* 79: 612-613
  10. Bowman and Firkins. 1993. Effects of forage species and particle size on bacterial cellulolytic activity and colonization in situ. *J. Anim. Sci.* 71:1623-1633.
  11. Broderick, G. A. 1978. In vitro procedures for estimating rates of ruminal protein degradation and proportions of protein escaping the rumen undegraded. *J. Nutr.* 108:181.
  12. Broderick, G. A. 1998. Can cell-free enzymes replace rumen microorganisms to model energy and protein supply? pp. 99-114. *In vitro Techniques for Measuring Nutrient Supply to Ruminants.*
  13. Broderick, G. A. 2003. Effects of varying dietary protein and energy levels on the production of lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 86:1370-1381.
  14. Broderick, G. A. and R. J. Wallace. 1988. Effects of dietary nitrogen source on concentrations of ammonia, free amino acids and fluorescein-reactive peptides in the sheep rumen. *J. Anim. Sci.* 66:2233 - 2238.
  15. Call, J. L., G. E. Mitchell, Jr., and C. O. Little. 1975. Response of ovine pancreatic amylase to elevated blood glucose. *J. Anim. Sci.* 41:1717-1721.
  16. Castillo, A. R., E. Kebreab, D. E. Beever, J. H. Barbi, J. D. Sutton H. C. Kirby, and J. France .2001. The effect of protein supplementation on nitrogen utilization in lactating dairy cows fed grass silage diets. *J. Anim. Sci* 79:247-253.
  17. Castlebury, R. E., and R. L. Preston. 1993. Effect of dietary protein level on nutrient digestion in lambs duodenally infused with cornstarch. *J. Anim. Sci.* 71(Suppl.):264 (Abstr.).
  18. Cecava, M. J., M. Hancock. 1994. Effects of anabolic steroids on nitrogen metabolism and growth of steers fed corn silage and corn-based diets supplemented with urea or combinations of soybean meal and feather meal. *J. Anim. Sci.* 72:515-522.
  19. Chaney, A. L. and E. P. Markbeck. 1962. Modified reagents for determination of urea and ammonia. *Clin. Biochem.* 8:130-137.
  20. Chen, G., C. J. Sniffen and J. B. Russell. 1987a. Concentration and estimated flow of peptides from the rumen of dairy cattle: Effects of protein quantity, protein solubility and feeding frequency. *J. Dairy Sci.* 70:983-992.

21. Chen, G., J. B. Russell and C. J. Sniffen. 1987b. A procedure for measuring peptides in rumen fluid and evidence that peptide uptake can be a rate-limiting step in ruminal protein degradation. *J. Dairy Sci.* 70:1211-1219.
22. Chittenden, L. W., D. D. Johnson, G. E. Mitchell, Jr., and R. E. Tucker. 1984. Ovine pancreatic amylase response to form of carbohydrate. *Nutr. Rep. Int.* 29:1051-1060.
23. Choi, C. W., S. Ahvenjärvi, A. Vanhatalo, V. Toivonen and P. Huhtanen. 2002a. Quantitation of the flow of soluble non-ammonia nitrogen entering the omasal canal of dairy cows fed silage based diets. *Anim. Feed Sci. Technol.* 96:203-220.
24. Choi, C. W., A. Vanhatalo, S. Ahvenjärvi and P. Huhtanen. 2002b. Effects of several protein supplements on flow of soluble non-ammonia nitrogen from the forestomach and milk production in dairy cows. *Anim. Feed Sci. Technol.* 102:15-33.
25. Choi, C. W., A. Vanhatalo and P. Huhtanen. 2002c. Concentration and estimated flow of soluble non-ammonia nitrogen entering the omasum of dairy cows as influenced by different protein supplements. *Agric. Food Sci. Finl.* 11:79-91.
26. Choi, C. W., A. Vanhatalo and P. Huhtanen. 2003. Effects of type of grass silage and level of concentrate on the flow soluble non-ammonia nitrogen entering the omasum of dairy cows. *J. Anim. Feed Sci.* 12:3-22.
27. Choi, C. W. and C. B. Choi, 2003. Flow of soluble non-ammonia nitrogen in the liquid phase of digesta entering the omasum of dairy cows given grass silage based diets. *Anim. prod. research, MTT Agrifood Research Finland.*
28. Christensen, R. A., G. L. Lynch, J. H. Clark, and Y. Yu. 1993. Influence of amount and degradability of protein on production of milk and milk components by lactating Holstein cows. *J. Dairy Sci.* 76:3490-3496.
29. Christensen, R. A., M. R. Cameron, T. H. Klusmeyer, J. P. Elliott and J. H. Clark. 1993. Influence of amount and degradability of dietary protein on nitrogen utilization by dairy cows. *J. Dairy Sci.* 76:3497-3513.
30. Christopher G. Oates. 1997. Towards an understanding of starch granule structure and hydrolysis : A review. *Trends in Food Sci. & Tech.* November(Vol. 8) 375-381.
31. Clark, J. H. 1975. Lactational responses to postruminal administration of proteins and amino acids. *J. Dairy Sci.* 58(8): 1178.

32. Clark, J.H., T. H. Klusmeyer, and M. R. Cameron. 1992. Microbial protein synthesis and flows of nitrogen fractions to the duodenum of dairy cows. *J. Dairy Sci.* 75:2304-2323.
33. Cooper, R. J., C. T. Milton, T. J. Klopfenstein, and T. L. Scott, C. B. Wilson, and R. A. Mass. 2002. Effect of corn processing on starch digestion and bacterial crude protein flow in finishing cattle. *J. Anim. Sci.* 80:797-804.
34. Cunningham, K. D. , M. J.Cecava, T. R. Johnson, and P.A. Ludden. 1996. Influence of source and amount of dietary protein on milk yield by cows in early lactation. *J. Dairy Sci.* 79:620-630.
35. Davidson, S., B. A. Hopkins, D. E. Diaz, S. M. Bolt, C. Brownie, V. Fellner, and L. W. Whitlow. 2003. Effects of amounts and degradability of dietary protein on lactation, nitrogen utilization, and excretion in early lactation Holstein cows. *J. Dairy Sci.* 86:1681-1689.
36. Eisemann, J. H., A. C. Hammond, T. S. Rumsey and D. E. Bauman. 1989. Nitrogen and protein metabolism and metabolites in plasma and urine of beef steers treated somatotropin. *J. Anim. Sci.* 67:105-115.
37. Ellenberger M. A., D. E. Johnson, G. E. Carstens, K. L. Hossner, M. D. Holland, T. H. Nett and C. F. Nockels. 1989. *Endocrine. J. Anim. Sci.* 67:1446-1454.
38. Enrigh, W. L., J. F. Quirke, P. D. Gluckman, B. H. Breier, L. G. Kennedy, I. C. Hart, J. F. Roche, A. Coert and P. Allen. 1990. Effects of long-term administration of pituitary-derived bovine growth hormone and estradiol on growth in steers. *J. Anim. Sci.* 68:2345-2356.
39. Erwin, E. S., G. T. Marco and E. M. Emery. 1961. Volatile fatty acid analysis of blood and rumen fluid by gas chromatography. *J. Dairy Sci.* 44:1768-1771.
40. Faichney, G. J. 1980. The use of markers to measure digesta flow from the stomach of sheep fed once daily. *J. Agric. Sci. (Camb.)* 94:313.
41. Faldet, M. A., L. D. Satter, and G. A. Broderick. 1991. Feeding heat-treated full fat soybeans to cows in early lactation. *J. Dairy Sci.* 74:3047.
42. Faldet, M. A., V. L. Voss, G. A. Broderick, and L. D. Satter. 1991. Chemical, in vitro, and in situ evaluation of heat treated soybean proteins. *J. Dairy Sci.* 74:2548.
43. Firkins J. L., M. L. Eastridge, N. R. St-Pierre, and S. M. Nofstger. 2001. Effects of grain variability and processing on starch utilization by lactating dairy cattle. *J. Anim. Sci.* 79(E. Suppl.):E218-E238.

44. French, D. 1973. Chemical and physical properties of starch. *J. Anim. Sci.* 37:1048.
45. Ganey, G., E. R. Orskov, and R. Smart. 1979. The effect of roughage on concentrate feeding and rumen retention time on total degradation of protein in the rumen. *J. Agric. Sci., Camb.* 93:651.
46. Garret, R. D., Goodrich, J. C. Meiske, and M. D. Stern. 1987. Influence of supplemental nitrogen source on digestion, dry matter and organic matter and on in vivo rate of ruminal protein degradation. *J. Anim. Sci.* 64:1801.
47. Genry, L. R., J. M. Fernandez, T. L. Ward, T. W. White, L. L. Southern, T. D. Bidner, D. L. Thompson Jr., D. W. Horohov, A. M. Chapa and T. Sahl. 1999. Dietary protein and chromium tripicolinate in Suffolk wether lambs: Hormonal responses, and immune status. *J. Anim. Sci.* 80:3361-3368.
48. Grummer, R. R. 1991. Effect of feed on the composition of milk fat. *J. Dairy Sci.* 74:3244.
49. Guerino, F., G. B. Huntington, and R. A. Erdman. 1991. The Net Portal and Hepatic flux of metabolites and oxygen consumption in growing beef steers given post-ruminal casein. *J. Anim. Sci.* 69:387-395.
50. Ha, J. K. and J. J. Kennelly. 1984. In situ dry matter and protein degradation of various protein sources in dairy cattle. *Can. J. Anim. Sci.* 64:443.
51. Harmon D. L. and C. J. Richards. 1997. Considerations for gastrointestinal cannulations in ruminants. *J. Anim. Sci.* 75:2248-2255.
52. Herrera-Salsana, R., R. Gomez-Alarcon, M. Torabi, and J. T. Huber. 1990. Influence of synchronizing protein and starch degradation in the rumen on nutrient utilization and microbial protein synthesis. *J. Dairy Sci.* 73:142-148.
53. Hirst, B. H., G. E. Storey, and C. W. Venables. 1982. Polytetrafluoroethylene(PTFE): A new materials for construction of gastrointestinal cannulae. *Lab. Anim.* 16:33-35.
54. Hoover, W. H. 1986. Chemical factor involved in ruminal fiber digestion. *J. Dairy Sci.* 69:2755.
55. Horigane, A., T. Araki, A. K. Horigane, K. Hashimoto, M. Shinoda, I. Sasaki, and Horiguchi, M. 1992. Technical note: Development of a duodenal cannula for sheep. *J. Anim. Sci.* 70:1216-1219.
56. Hristov, A. N. , J. K. Ropp, K. L. Grandeen, S. Abedi, R. P. Etter, A. Melgar, and A. E. Foley. 2003. Effect of carbohydrate source on ruminal fermentation and nitrogen utilization in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 86(Suppl. 1):63.

57. Huges, A. D. 1970. The non-protein nitrogen composition of grass silage. II. The changes during the storage of silage. *J. Agric. Sci. Camb.* 75:421-431.
58. Huhtanen, P., P. G. Brotz and L. D. Satter. 1997. Omasal sampling technique for assessing fermentative digestion in the forestomach of dairy cows. *J. Anim. Sci.* 77:1380-1392.
59. Huntington, G. B. 1997. Starch utilization by ruminants : From basic to the bunk. *J. Anim. Sci.* 75:852-867.
60. Huntington, G, M. Poore, B. Hopkins, and I. Spears. 2001. Effect of ruminal protein degradability on growth and N metabolism in growing beef steers. *J. Anim. Sci.* 79:533-541.
61. Huber, J. T., N. L. Jacobson, A. D. McGilliard, and R. S. Allin. 1961. Utilization of carbohydrates introduced directly into the omaso-abomasal area of the stomach of cattle of various age. *J. Dairy Sci.* 44:321-328.
62. Hvelplund, T., Weisbjerg, M. R. and Andersen, L. 1992. Estimation of true digestibility of rumen undegraded dietary protein in the small intestine of ruminants by the mobile bag technique. *Acta Agric. Scand.* 42:34-39.
63. Ivan, M. 1974. A new type of re-entrant cannula designed for use in the small intestine of the pig. *Aust. Vet. J.* 50:547-552.
64. Ivan, M. 1977. A new method for re-entrant cannulation of the duodenum in sheep. *Can. J. Anim. Sci.* 57:225-227.
65. Johnson, D. D., G. E. Mitchell, R. E. Tucker, and R. B. Muntifering. 1986. Pancreatic amylase, plasma glucose, and insulin responses to propionate or monensin in sheep. *J. Dairy Sci.* 69:52.
66. Jordan, E. R., T. E. Chapman, E. W. Holtan and L. V. Swanson. 1983. Relationship of dietary crude protein to composition of uterine secretions and blood in high-producing dairy cows. *J. Dairy Sci.* 66:1854-1862.
67. Jouany, J. P., and K. Ushida. 1999. The role of protozoa in feed digestion. Review. *AJAS* 12: 113.
68. Joy, M. T., E. J. DePeters, J. G. Fadel, and R. A. Zinn. 1997. Effects of corn processing on the site and extent of digestion in lactating cows. *J. Dairy Sci.* 80:2087-2097
69. Kato, S., T. Ando, N. Adachi, and H. Mineo. 1986. The effects of atropine on pancreatic responses to intravenous CCK-8 and intraduodenal soybean extract in sheep. *Jpn. J. Zootech. Sci.* 57:1022-1028.
70. Kerry, C. M., and H. E. Amos. 1993. Effects of source and level of

- undergraded intake protein on nutrient use and performance of early lactation cows. *J. Dairy Sci.* 76:499.
71. Kim, N. S., J. K. Ha, Y. G. Ko, H. D. Kim, W. Y. Kim, and B. O. Kwak. 1996. Effects of corn processing methods on the nutrient utilization II. Effects of processed corn on ruminal degradability of starch and lower gut disappearance rates of dry matter and crude protein in Holstein dairy cows. *Kor. J. Anim. Nutr. Feed.* 20(4):360-370.
  72. Klusmeyer, T. H., R. D. McCarthy, Jr., and J. H. Clark. 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.
  73. Komarek, R. J. 1981a. Ruminal and abomasal cannulation of sheep with specially designed cannulas and a cannula insertion instrument. *J. Anim. Sci.* 53:790-795.
  74. Komarek, R. J. 1981b. Intestinal cannulation of cattle and sheep with a T-shaped cannula designed for total digesta collection without externalizing digesta flow. *J. Anim. Sci.* 53:796-802.
  75. Konig, B. A., J. D. Oldham, and D. S. Parker. 1984. The effect of abomasal infusion of casein on acetate, palmitate and glucose kinetics in cows during early lactation. *Br. J. Nutr.* 52:319-328.
  76. Kreikemeier, K. K., D. L. Harmon, R. T. Brandt, Jr., T. B. Avery, and D. E. Johnson. 1991. Small intestinal starch digestion in steers : Effect of various levels of abomasal glucose, corn starch and corn dextrin infusion on small intestinal disappearance and net glucose absorption. *J. Anim. Sci.* 69:328-338.
  77. Kreikemeier, K. K., and D. L. Harmon. 1995. Abomasal glucose, maize starch and maize dextrin infusions in cattle: Small intestinal disappearance, net portal glucose flux and ileal oligosaccharide flow. *Br. J. Nutr.* 73:763-772.
  78. Krober, T. F., D. R. Kulling, H. Menzi, F. Sutter, and M. Kreuzer. 2000. Quantitative effects of feed protein reduction and methidnine on nitrogen use by cows and nitrogen emission from slurry. *J. Dairy Sci.* 83:2941-2951.
  79. Larsen, H. J., G. E. Stoddard, N. L. Jacobson, and R. S. Allien. 1956. Digestion and absorption of various carbohydrates posterior to the rumino-reticular area of the young bovine. *J. Anim. Sci.* 15:473.
  80. Lee, S. C. 2006. Effects of CP contents and levels of RDP and RUP in diets on ruminal fermentation and protein digestion in Hanwoo steers. Master. Thesis, University of Chungnam, Daejeon, Korea.

81. Lenardi, C., M. Steven , and J. E. Armentation. 2003. Effect of two levels of crude protein and supplementation on performance of dairy cows. *J. Dairy Sci.* 86:4033-4042.
82. Licitra, G., T. M. Hernandez and P. J. Van Soest. 1996. Standardization of procedures for nitrogen fractionation of ruminant feeds. *Anim. Feed Sci. Technol.* 57:347-358.
83. Lie, S. The EBC-ninhydrin method for determination of free alpha amino nitrogen. *J. Inst. Brew.* 79:37-41.
84. Littell R. C., Henry P.R, Ammerman C.B., 1998. Statistical analysis of repeated measures data using SAS procedures. *J. Anim. Sci.* 76, 1216-1231.
85. Little, C. O., G. E. Mitchell, and C. M. Reitnour. 1968. Postruminal digestion of corn starch in steers. *J. Anim. Sci.* 27:790-792.
86. Little, R. C., Henry P. R., and Ammerman C. B. 1998. Statistical analysis of repeated measures data using SAS procedures. *J. Anim. Sci.* 76:1216-1231.
87. Lykos, T and G. A. Varga, 1995. Effects of processing method on degradation characteristics of protein and carbohydrate sources in situ. *J. Dairy sci.* 78:1789.
88. Macrae, J. C., and M. J. Ulyatt.. 1972. Quantitative digestion of fresh herbage by shee p. II. The sites of digestion of some nitrogenous constituents. *J. Agric. Sci.* 82:309-319.
89. Maeng, W. J., C. J. Van Nevel, R. L. Baldwin and J. G. Morris. 1976. Rumen microbial growth rates and yield: Effect of amino acids and protein. *J. Dairy Sci.* 59:68.
90. Martini, F. H. 2001. *Fundamentals of anatomy and physiology.* Pearson Education.
91. Mayes, R. W., and E. R. Qrskov. 1974. The utilization of gelled maize starch in the small intestine of sheep. *Br. J. Nutr.* 32:143-153.
92. McAllister, T. A., R. C. Phillippe, L. M. Rode, and K. J. Cheng. 1993. Effect of the protein matrix on the digestion of cereal grains by ruminal microorganisms. *J. Anim. Sci.* 71:205-212.
93. McDonald, I. W. 1953. Experimental duodenal fistula in the shee p. *Vet. Rec.* 19:290-291.
94. McNeil, D. M., R. Sleprtis, R. A. Ehrhardt, D. M. Smith, and A. W. Bell. 1998. Protein requirements of sheep in late pregnancy : Partitioning of nitrogen between gravid uterus and maternal tissues. *J. Dairy Sci.*

81:1608-1618.

95. Mertens, David R. 2002, Gravimetric Determination of amylase Treated Neutral Detergent Fiber in Feeds with Refluxing in Beakers or Crucibles : Collaborative Study. Journal of AOAC international Vol. 85. NO.6.
96. Mertens, David R. 2002. Gravimetric Determination of amylase Treated Neutral Detergent Fiber in Feeds with Refluxing in Beakers or Crucibles: Collaborative Study. Journal of AOAC international Vol. 85. NO. 6.
97. National Research Council. 1985. Ruminant Nitrogen Usage. Natl. Acad. Sci., Washington, DC.
98. National Research Council. 1996. Nutrient Requirements of Beef Cattle. 7th ed. National Academy Press, Washington, DC.
99. National Research Council. 2001. Nutrient Requirements of Dairy Cattle. 7<sup>th</sup> rev. ed. Natl. Acad. Pre. Washington, DC.
100. NRC 1984. Nutrient Requirements of Beef Cattle. 6th ed. Natl Acad. Press, Washington, DC.
101. Nocek, J. E., and S. Tamminga. 1991. Site of digestion in the gastrointestinal tract of dairy cows and its effect on milk yield and composition. J. Dairy Sci. 74:3598-3629.
102. Nolan, J. V. 1993. Nitrogen kinetics. In: Quantitative Aspects of Ruminant Digestion and Metabolism (Ed. J. M. Forbes and J. France). CAB International Wallingford, Oxon, U.K., pp.123-143.
103. Oldhm, J. D. and S. Tamminga. 1980. Amino acid utilization by dairy cows. I. Methods of varying amino acid supply. Livest. Prod. Sci. 7:437.
104. Oldick, B. S., J. L. Firkins, and N. R. Stepiere. 1999. Estimation of microbial nitrogen flow to the duodenum of cattle based on dry matter intake and diet composition. J. Dairy Sci. 82:1497-1511.
105. Ørskov, E. R. and P. McDonald. 1979. The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted according to rate of passage. J. Agric. Sci. Cambridge. 92:499 - 503.
106. Ørskov, E. R., F. D. Hovell and F. Mould. 1980. The use of the nylon bag technique for the evaluation of feedstuffs. Tropical Animal Production 5:195-213.
107. Owens, F. N., R. A. Zinn, and Y. K. Kim. 1986. Limits to starch digestion in the ruminant small intestine. J. Anim. Sci. 63:1634-1648.
108. Pehrson, B., U. Johnson, and M. Knutsson. 1981. The digestion of starch in the small intestine of dairy cows. Zentralbl. Veterinärmed. Reihe A.

28:241-246.

109. Philippeau, C., C. Martin, and B. Michalet-Doreau. 1999. Influence of grain source on ruminal characteristics and rate, site, and extent of digestion in beef steers. *J. Anim. Sci.* 77:1587-1596.
110. Phillipson, A. T. 1952. The passage of digesta from the abomasum of sheep. *J. Physiol.* 116:84.
111. Pittman, K. A. and M. P. Bryant. 1964. Peptides and other nitrogen sources for growth of *Bacteroides rumenicola*. *J. Bacteriol.* 88:401.
112. Poncet, C., M. Ivan and M. Leveille. 1982. Electromagnetic measurements of duodenal digesta flow in cannulated sheep. *Reprod. Nutr. Dev.* 22:651-660.
113. Prins, R. A. 1977. Biochemical activities of gut microorganisms. In: *Microbial Ecology of the Gut* (Ed. R. T. J. Clarke and T. Bauchop). Academic Press, New York. Pp.73-183.
114. Putnam, D. E. and G. A. Varga. 1998. Protein density and its influence on metabolite concentration and nitrogen retention by holstein cows in late gestation. *J. Dairy. Sci.* 81:1608-1617.
115. Qrskov, E. R. 1986. Starch digestion and utilization in ruminants. *J. Anim. Sci.* 63:1624-1633.
116. Rémond, D., J. I. Cabrera-Estrada, M. Champion, B. Chauveau, R. Coudure, and C. Poncet. 2004. Effect of Corn Particle Size on Site and Extent of Starch Digestion in Lactating Dairy Cows. *J. Dairy Sci.* 87:1389-1399.
117. Reynal, S. M., and G. A. Broderick. 2003. Effects of feeding dairy cows protein supplements of varying ruminal degradability. *J. Dairy Sci.* 86:835-843.
118. Reynolds, J., and T. Heath. 1981. Non-parallel secretion of pancreatic enzymes in sheep following hormonal or vagal stimulation. *Comp. Biochem. Physiol.* 68A:495-500.
119. Richards, C. J., A. F. Branco, D. W. Bohnert, G. B. Huntington, M. Macari and D. L. Harmon. 2002. Intestinal starch disappearance increased in steers abomasally infused with starch and protein. *J. Anim. Sci.* 80:3361-3368.
120. Richards, C. J., K. C. Swanson, S. J. Paton, D. L. Harmon and G. B. Huntington. 2003. Pancreatic exocrine secretion in steers infused postuminally with casein and cornstarch. *J. Anim. Sci.* 81:1051-1056.
121. Richards, C. J., R. A. Stock, T. J. Klopfenstein, and D. H. Shain. 1998. Effect of wet corn gluten feed, supplemental protein, and tallow on steer finishing performance. *J. Anim. Sci.* 76:421-428.

122. Robinson, P. H. 1997. Modifying duodenal flow of amino acids by manipulation of dietary protein sources. *Can. J. Anim. Sci.* 77:241-251.
123. Robinson, P. H., D. F. Smith, and C. J. Sniffen. 1985. Development of a one-piece re-entrant cannula for the proximal duodenum of dairy cows. *J. Dairy Sci.* 68:986-995.
124. Robinson, P. H., and R. E. McQueen. 1992. Influence of rumen fermentable neutral detergent fiber levels on feed intake and milk production in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 75:520.
125. Robinson, P. H. and R. E. McQueen. 1994. Influence of supplemental protein source and feeding frequency on rumen fermentation and performance in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 77:1340-1353.
126. Robinson, P. H., G. R. Khorasani, and J. J. Kennelly. 1994. Forstomach and whole tract digestion in lactating dairy cows fed canola meal treated with variable levels of acetic acid. *J. Dairy Sci.*77(2):552.
127. Ruiz, A. and D. N. Mowat. 1986. The effect of feeding frequency and protein supplementation on nutrient digestion and flow to the small intestine of rams fed alfalfa silage. *J. Anim. Sci.* 66:361(suppl).
128. Russell, J. B., C. J. Sniffen and P. J. Van Soest. 1983. Effect of carbohydrate limitation on degradation and utilization of casein by mixed rumen bacteria. *J. Dairy Sci.* 66:763.
129. Russell, J. B., J. D. O'Connor, D. G. Fox, P. J. Van soest, and C. J. Sniffen. 1992. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets : I. Ruminal fermentation. *J. Anim. Sci* 70:3551-3561.
130. SAS Institute, 2002. SAS® User's guide: Statistics. Version 9.1 Edition. Statistical Analysis Systems InstituteInc., Cary, NC.
131. Satter, L. D., and L. L. Slyter. 1974. Effect of ammonia concentration on rumen microbial protein production in vitro. *Br. J. Nutr.* 32:199-208.
132. Satter, L. D. and R. E. Roffler. 1975. Nitrogen requirements and utilization in dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 58:1219-1237.
133. Schoeman, E. A., P. J. De Wet, and W. J. Burger. 1972. *Agria nimalia* 4:35. Cited from E. R. Orskov (1982).
134. Scott, T. A., D. K. Combs, and R. R. Grummer. 1991. Effects of roasting, extrusion, and particle size on the feeding value of soybean for dairy cows. *J. Dairy Sci.* 74:2525
135. Shirazi-Beechey, S. P., B. A. Hirayama, Y. Wang, D. Scott, M. W. Smith,

- and E. M. Wright. 1991. Ontogenic development of lamb intestinal sodium-glucose co-transporter is regulated by diet. *J. Physiol.* 437:699-708.
136. Sniffen, C. J., J. D. O'Connor, P. J. Van Soest, D. G. Fox and J. B. Russell. 1992. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: II. Carbohydrate and protein availability. *J. Anim. Sci.* 70:3562-3577.
137. Stern, M.D., A. Bach, and S. Calsamiglia. 1997. Alternative techniques for measuring nutrient digestion in ruminants. *J. Anim. Sci.* 75:2256-2276.
138. Stern, M. D., K. A. S. Santos, D. C. Weakly, and L. D. Satter. 1980. Resistance of extruded whole soybeans to microbial degradation in the rumen. *J. Anim. Sci.* 58:714.
139. Stern, M. D., L. M. Rode, R. W. Prarge, R. H. Stauffacher, and L. D. Satter. 1983. Ruminal protein degradation of corn gluten meal in lactating dairy cattle fitted with deodenal T-type cannulae. *J. Dairy Sci.* 56:194.
140. Stern, M. D., S. Calsamiglia, and M. I. Endres. 1994. Dynamics of ruminal nitrogen metabolism and their impact on intestinal protein supply. p.105. in *proc. cornell Nutr. conf. New York Ext., Cornell Univ., Ithaca, NY.*
141. Stock, R., N. Merchen, T. Klopfenstein, and M. Pous . 1981. feeding value of slowly degraded proteins. *J. Anim. Sci.* 53:1109
142. Streeter, M. N., D. G. Wagner, F. N. Owens, and C. A. Hibberd. 1989. Combinations of high-moisture harvested sorghum grain and dry-rolled corn: Effects on site and extent of digestion in beef heifers. *J. Anim. Sci.* 67:1623-1633.
143. Streeter, M. N., S. J. Barron, D. G. Wagner, C. A. Hibberd, F. N. Owens, and F. T. McCollum. 1991. Technical note: a double L intestinal cannula for cattle. *J. Anim. Sci.* 69:2601-2607.
144. Swanson, K. C., C. J. Richards, and D. L. Harmon. 2002. Influence of abomasal infusion of glucose or partially hydrolyzed starch on pancreatic exocrine secretion in beef steers. *J. Anim. Sci.* 80:1112-1116.
145. Swanson, K. C., J. A. Benson, J. C. Matthews, and D. L. Harmon. 2004. Pancreatic exocrine secretion and plasma concentration of some gastrointestinal hormones in response to abomasal infusion of starch hydrolyzate and/or casein. *J. Anim. Sci.* 82:1781-1787.
146. Taniguchi, K., Y. Sunada and T. Dbitsu. 1993. Starch digestion in the small intestine of sheep sustained by intragastric infusion without protein supply. *Anim. Sci. Technol. Jpn.* 64:892-902.
147. Taniguchi, K., G. B. Huntington, and B. P. Glenn. 1995. Net nutrient flux by

- visceral tissues of beef steers given abomasal and ruminal infusions of casein and starch. *J. Anim. Sci.* 73:236-249.
148. Theurer, C. B., O. Lozano, A. Alio, A. Delgado-Elorduy, M. Sadik, J. T. Huber, and R. A. Zinn. 1999. Steam-processed corn and sorghum grain flaked at different densities alter ruminal, small intestinal, and total tract digestibility of starch by steers. *J. Anim. Sci.* 77:2824-2831.
  149. Van Soest, P. J., J. B. Robertson and B. A. Lewis. 1991. Methods of dietary fiber, neutral detergent fiber and non-starch poly-saccharides in relation to animal nutrition. *J. Dairy Sci.* 55:805-810.
  150. Veira, D. M., G. K. McLeod, J. H. Burton, and J. B. Stone. 1980. Nutrition of the weaned Holstein calf. II. Effect of dietary protein level on nitrogen balance, digestibility and feed intake. *J. Anim. Sci.* 50:945-951.
  151. Waldo, D. R. 1973. Extent and partition of cereal grain starch digestion in ruminants. *J. Anim. Sci.* 37:1062-1074.
  152. Walker, J. W., J. W. Stuth, R. K. Heitschmidt and S. L. Downhower. 1985. A new esophageal plug. *J. Range Manage.* 38:185.
  153. Walker, J. A. and D. L. Harmon. 1995. Influence of Ruminal or Abomasal starch Hydrolysate Infusion on Pancreatic Exocrine Secretion and Blood Glucose and Insulin Concentrations in Steers. *J. Anim. Sci.* 73:3766-3774.
  154. Wallace R. J. 1996. Ruminal microbial metabolism of peptides and amino acid. *J. Nutr.* 126: 1326S.
  155. Wallace, R. J., and N. McKain. 1990. A comparison of methods for determining the concentration of extracellular peptides in rumen fluid of sheep *J. Agric. Sci (Camb.)* 114:101.
  156. Wallace, R. J., C. Atasoglu, and C. J. Newbold. 1999. Role of peptides in rumen microbial metabolism. Review. *AJAS* 12: 139.
  157. Wang, X. B., and K. Taniguchi. 1998. Activity of pancreatic digestive enzyme in sheep given abomasal infusion of starch and casein. *Anim. Sci. Technol.* 69:870-874.
  158. Waltz, D. M., and M. D. Stern. 1989. Evaluation of various methods for protecting soya-bean protein from degradation by rumen bacteria. *Anim. Feed Sci. Technol.* 25:111-122.
  159. Williams, A. P. and J. E. Cockburn. 1991. Effect of slowly and rapidly degraded protein sources on the concentrations of amino acids and peptides in the rumen of steers. *J. Sci. Food & Agric.* 56:303-314.

160. Windschitl, P. M., and M. D. Stern. 1988b. Evaluation of calcium lignosulfonate-treated soybean meal as a source of rumen protected protein for dairy cows. *J. Dairy Sci.* 71:3310-3322.
161. Wolin, M. J., T. L. Mikker and C. S. Steward. 1997. Microbe-microbe interactions. In: *The Rumen Microbial Ecosystem*(Ed. P. N. Hobson and C. S. Steward). Blackie Academic and Professional, London, U.K. pp.467-491.
162. Wright, D. E. 1967. Metabolism of peptides by rumen microorganisms. *Appl. Microbiol.* 15:547.
163. Young, F. W. 1957. A duodenal fistula in the bovine animal for experimental investigation. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 118:98-110.
164. Zinn, R. A. 1991. Comparative feeding value of steam-flaked corn and sorghum in finishing diets supplemented with or without sodium bicarbonate. *J. Anim. Sci.* 69:905-916.
165. Zinn, R. A., L. S. Bull, and R. W. Hemken. 1981. Degradation of Supplemental proteins in the rumen. *J. Anim. Sci.* 52(4):857.
166. 축산기술 연구소. 2001. 표준사료성분 분석법.
167. 농림부, 농촌진흥청, 축산기술 연구소. 2002. 한국사양표준 “한우”
168. 농림부, 농진청 축산연구소. 2002. 젖소사양표준.
169. 맹원재. 1998. 반추동물영양학. 향문사.
170. 전기준. 2003. 한우 혈액성분과 경제형질에 대한 표현상관 및 유전모수 추정에 관한 연구. 강원대학교 낙농학과 학위논문.
171. 하종규, 이성실, 고종열. 2003. 반추동물 영양학 실험법.
172. 하종규, 이성실, 문양수, 김창현. 2005. 반추동물 영양생리학.

## 주 의

1. 이 보고서는 농림부에서 시행한 농림기술개발사업의 연구보고서입니다.
2. 이 보고서 내용을 발표할 때에는 반드시 농림부에서 시행한 농림기술개발사업의 연구결과임을 밝혀야 합니다.
3. 국가과학기술 기밀유지에 필요한 내용은 대외적으로 발표 또는 공개하여서는 아니 됩니다.