



저작자표시-비영리-변경금지 2.0 대한민국

이용자는 아래의 조건을 따르는 경우에 한하여 자유롭게

- 이 저작물을 복제, 배포, 전송, 전시, 공연 및 방송할 수 있습니다.

다음과 같은 조건을 따라야 합니다:



저작자표시. 귀하는 원저작자를 표시하여야 합니다.



비영리. 귀하는 이 저작물을 영리 목적으로 이용할 수 없습니다.



변경금지. 귀하는 이 저작물을 개작, 변형 또는 가공할 수 없습니다.

- 귀하는, 이 저작물의 재이용이나 배포의 경우, 이 저작물에 적용된 이용허락조건을 명확하게 나타내어야 합니다.
- 저작권자로부터 별도의 허가를 받으면 이러한 조건들은 적용되지 않습니다.

저작권법에 따른 이용자의 권리는 위의 내용에 의하여 영향을 받지 않습니다.

이것은 [이용허락규약\(Legal Code\)](#)을 이해하기 쉽게 요약한 것입니다.

[Disclaimer](#)

碩士學位論文

貝殼으로 製造된 液狀形 緩衝劑
給與가 홀스타인 젓소의 産乳量,
乳成分 및 血液性狀에 미치는 影響

濟州大學校 大學院

動物生命工學科

高迷廷

2015年 8月

貝殼으로 製造된 液狀形 緩衝劑
給與가 홀스타인 젓소의 産乳量,
乳成分 및 血液性狀에 미치는 影響

指導教授 李 王 植

高 迷 廷

이 論文을 理學 碩士學位 論文으로 提出함

2015年 6月

高迷廷의 理學 碩士學位 論文을 認准함

審査委員長 _____ (印)

委 員 _____ (印)

委 員 _____ (印)

濟州大學校 大學院

2015年 8月

The Effect of Liquid-type Buffer
Manufactured from Oyster Shell Supplement on
Milk Yield, Milk Composition and Blood
Metabolites of Holstein Dairy Cows

Mi Jeong Ko

(Supervised by professor Wang Shik Lee)

A thesis submitted in partial fulfillment of the requirement
for the degree of Master of Science

2015. 06.

This thesis has been examined and approved.

Department of Animal Biotechnology

GRADUATE SCHOOL

JEJU NATIONAL UNIVERSITY

목 차

I. 서론.....	1
II. 연구사.....	3
1. 반추위 내용물의 성질.....	3
1) 비중.....	3
2) 삼투압.....	4
3) 반추위 pH.....	6
2. 아급성 반추위 산성증의 정의와 진단.....	10
3. 아급성 반추위 산성증 발생원인.....	12
4. 아급성 반추위 산성증이 젖소에 미치는 영향.....	13
1) 섬유소 소화율.....	13
2) 사료 섭취량.....	13
3) 우유 생산량.....	14
4) 우유 성분 중 유지방 함량.....	14
5) 혈액 성분.....	15
5. 완충제 사용의 필요성.....	16
6. 완충제의 종류.....	18
1) 중조.....	18
2) 산화마그네슘.....	18
3) 세스퀴탄산나트륨.....	19
7. 반추위 상태에 따른 사료선택과 중조의 기호성.....	21

8. 액상형 완충제.....	22
Ⅲ. 재료 및 방법.....	24
1. 공시축 및 사양관리.....	24
2. 조사항목.....	26
1) 산유량 및 유성분 분석.....	26
2) 혈액 중 대사물질.....	26
3. 통계처리.....	27
Ⅳ. 결과 및 고찰.....	28
1. 우유 생산량 및 우유 성분.....	28
1) 우유생산량.....	28
2) 유지방.....	29
3) 유단백질.....	31
4) Milk Urea Nitrogen(MUN).....	31
5) 무지고형분.....	32
6) 체세포수.....	32
2. 혈액 대사물질.....	35
1) Glucose, Cholesterol.....	35
2) Urea, Creatinine.....	36
3) ALP, GPT, GOT.....	37
3. 젖소의 분만 후 수정일 및 최종수정횟수.....	39

V. 요약.....	41
ABSTRACT.....	42
참고문헌.....	44

LIST OF FIGURES

- Figure 1.** Post-feeding variations in ruminal pH over a period of 24h..... 8
- Figure 2.** Ruminal pH over a 24h period of a cow fed twice daily and the same cow fed six times daily..... 9
- Figure 3.** Hourly mean ruminal pH on subacute ruminal acidosis (SARA) challenge day for control cows and cows with access to buffer blocks..... 17
- Figure 4.** Ruminal pH variation for control cows and cows supplemented liquid-type buffer..... 23

LIST OF TABLES

Table 1. Feed ingredients and nutrient composition of the basal TMR.....	25
Table 2. Effects of sodium bicarbonate and liquid buffer on milk yield, milk composition and somatic cell count.....	34
Table 3. Effects of sodium bicarbonate and liquid buffer on blood metabolite.....	38
Table 4. Effects of sodium bicarbonate and liquid buffer on days between parturition and conception and services per conception.....	40

I. 서 론

건강한 소의 제1위 내 평균적인 pH는 낮은 경우 약 pH 6.6 정도이며, 높은 경우 pH 7 정도를 유지하고 사료섭취 후 5.8 이하로 떨어지는 경우도 있다. 소의 반추위 pH는 하루사이에도 변동이 심하며 이는 사료에 포함된 발효성 탄수화물에 의한 작용이 주된 원인이다(Krause와 Oetzel, 2006). 낙농농가에서는 비유중인 젖소에서 보다 많은 우유를 생산하기 위해 소화속도가 빠른 가용성 탄수화물의 함량이 높은 농후사료를 다량으로 급여하는 경향이 있다. 전분이나 당과 같은 비구조성 탄수화물의 발효는 다량의 휘발성지방산과 젖산을 생성시켜 반추위 내 pH를 하락시킨다(Briggs 등, 1957; Rumsey 등, 1970). Krause와 Oetzel(2006)의 리뷰에 의하면, 젖소의 우유생산량을 최대로 올리기 위해 급여하는 농후사료는 반추위 산성증의 발병 가능성을 높인다고 하였다. 반추위 pH가 지속적으로 낮게 유지되면 반추위내 미생물군의 기능을 악화시키며(Shi와 Weimer, 1992), 반추위의 섬유소 소화능력을 감소시킨다(Krajcarski-Hunt 등, 2002). 이에 따라 반추위에서 사료를 소화시킬 수 있는 소화효소의 생산이 감소되며, 소화불량 및 대사성 질환을 야기할 수 있다.

반추위 내 pH 저하는 완충제를 급여함으로써 예방할 수 있다. 일반적으로 완충제로써 가장 많이 사용하는 것은 중조(sodium bicarbonate)이다. 중조는 유기산의 수소 이온을 완충시키는 약 염기이며(Ha 등, 1983), 식용 중조의 섭취는 반추위 pH를 상승시키고 반추위 상피조직의 손상과 야급성 반추위 산중독증(subacute ruminal acidosis; SARA)을 동반하는 반추위 정체(ruminal stasis)를 예방해준다(Kezar와 Church, 1979).

중조는 반추위 환경을 적절하게 유지시킬 수는 있지만 급여 시 첨가량이 많아질수록 기호성이 낮아진다는 단점을 가지고 있다. Cooper 등(1995)은 반추동물들이 스스로 사료 섭취 후 저하되는 반추위 pH를 적절한 상태로 유지하고 반추위 삼투농도를 증가시킬 수 있도록 본능적으로 사료선택을 한다고 하였다. 또한 건조를 섭취하게 되면 침 생산을 더 활발히 하게 되어 반추위 완충효과에 도움이 되는데, Keunen 등(2002)의 연구에서 SARA를 유도시킨 젖소가 알팔파 펠렛보

다는 알팔파 건초를 더 선호하는 결과를 보여 Cooper 등(1995)의 주장과 일치하는 결과를 보고하였다. 그러나 SARA를 유도시킨 젖소에 대한 중조의 기호성 연구들(Cumby 등, 2001; Keunen 등, 2003)에서 반추동물 스스로가 본능적으로 적절한 반추위 환경을 유지시켜줄 수 있는 사료를 선택하게 된다는 이전의 연구결과들(Cooper 등, 1995; Keunen 등, 2002)과는 달리, 중조의 첨가 시 섭취량이 적은 결과를 보였다. 이 점은 분말형태인 중조의 풍미가 기호성을 떨어뜨려 소가 충분히 섭취하려 하지 않는 것이라 할 수 있다. 따라서 중조의 첨가에 의하여 기호성이 저하됨으로서, 사료섭취량이 더불어 감소하게 되어 젖소의 생산성에 영향을 미칠 수 있다. 그러므로 기호성에 영향을 주지 않으면서 동일한 완충효과를 갖는 완충제의 개발이 필요하다. 최근에 개발된 액상형 완충제는 굴의 패각분을 고온·고압 처리하여 액체 형태로 만든 것으로 성분은 중조와 비슷하나 무미, 무취의 특성을 가져 기호성에 영향을 주지 않으며, 대부분 외국에서 수입하여 이용하고 있는 중조와는 달리 국내의 부존자원을 이용하여 생산이 가능하기 때문에 중조에 비해 경제적인 이점이 있다. 본 실험은 국내에서 일반적으로 완충제로 가장 많이 사용되고 있는 중조를 개발된 액상형 완충제로 대체하여 이용하기 위하여 액상형 완충제의 급여 시 젖소의 산유량, 우유 성분 및 혈액대사물질의 성상에 미치는 효과에 대한 사양시험을 수행하였다.

II. 연구사

1. 반추위 내용물의 성질

1) 비중(specific gravity)

비활성 플라스틱 입자와 크롬 염색된 알팔파를 이용한 연구 결과에서 비중이 소의 체내 소화액에 있어서 이들이 잔류하는 시간에 영향을 주는 것으로 나타났다(Campling과 Freer, 1962; desBordes, 1981; Durkwa, 1983; Ehle, 1984; King과 Moore, 1957). 비중이 1.10에서 1.21 사이인 비활성 플라스틱 입자는 비중이 1.10 이하인 플라스틱 입자보다 더 빨리 위장관을 통과하였다(Campling과 Freer, 1962; King과 Moore, 1957). 마찬가지로 각각 다른 비중을 가진 플라스틱 입자를 이용한 연구에서 비중이 1.17에서 1.42일 때 통과속도가 빠르다는 결과를 보였다(desBordes, 1981; Durkwa, 1983). 비중이 1.126에서 1.703 범위의 크롬 염색 알팔파를 이용하여 연구한 결과 비중이 증가함에 따라 반추위 회전속도가 증가하였다(Ehle, 1984). Hooper와 Welch (1984)는 다진 건초 샘플을 담근 반추위액이 조사료의 비중의 변화에 영향을 주는지 평가하였다. 1시간부터 24시간 사이에 8시간마다 측정된 결과 반추위액에 있는 조사료 비중은 물에 있을 때 보다 높았다. 추가적으로 반추위액의 일부 성분이 비중 변화를 가속시키는데 기여하는지를 평가하였는데, 소의 하악선으로부터 채취한 시알산 혹은 뮤신단백질을 포함한 용액에서의 샘플의 비중은 물에 담긴 샘플과 차이가 없었다. 또한 McDougall의 이온용액(McDougall 등, 1948)에서 탄산수소나트륨(sodium bicarbonate; 중조)을 제외한 이온용액에서 물에서보다 비중이 더 빠르게 증가하는 것으로 나타났다. Hooper와 Welch (1984)는 이 결과를 통해 이온의 구성과 농도가 뮤신 단백질보다 비중의 변화에 더 큰 영향을 줄 수 있다고 주장하였다. 또한 이는 이온 농도의 증가에 비하여 비중이 변하는 것은 완충제 혹은 염화나트륨(sodium chloride)

을 공급받은 동물의 대사회전율이 증가하는 것(Hemsley, 1975)을 부분적으로 설명할 수 있다고 보고하였다.

Martz와 Belyea(1986)는 원래 상태의 건초는 물보다 비중이 작으며 1.0보다 작다. 가스나 공기 방울이 제거된 상태이거나 수화(hydration)는 조사료의 밀도를 증가시킨다고 하였다. 입자분해(반추, 발효, 빵기 등)는 처음 건초의 상태보다 세포면적을 감소시켜 수화가 될 수 있는 면적이 줄어들게 하지만 기포가 제거되고 압축되는 물리적 변화 때문에 입자의 밀도는 증가하여 반추위 내에서 비중이 증가하는 요인이 된다고 하였다.

Teimouri Yansari 등(2004)은 사료의 입자 크기가 감소할수록 반추위 내에서 비중이 증가하고 건물섭취량이 증가하였으나 NDF와 회분의 소화율이 감소하였다고 한다. 또한 사료 입자 크기가 감소하면 반추위 내에서 식피가 잔류하는 시간이 짧아지고 반추위를 통과하는 속도가 증가하였다.

사료의 비중의 변화에 영향을 주는 여러 가지 요인에 의해 반추위 내에서 섭취한 사료의 비중이 증가하면 결과적으로 사료가 반추위 내에서 반추작용을 받는 시간이 적더라도 반추위 내 pH가 낮아지는 결과를 초래할 수 있어 사양관리에 있어 사료의 비중이 높아지게 하는 여러 요인들 또한 고려하는 것이 중요할 것으로 판단된다.

2) 삼투압

반추위액은 보통 섭취 전에는 혈장에 대해 저장액이나, 사료를 섭취한 후에는 고장액으로써 삼투압이 증가하였다가 몇 시간 후 다시 섭취 전의 상태로 돌아간다. Serment 등(2011)의 연구에서 농후사료를 높은 수준으로 급여 받은 염소의 반추위 내 삼투압을 측정하였을 때 농후사료의 비율이 낮은 사료를 급여 받은 염소의 반추위 삼투압에 비해 증가하였으며 사료섭취 4주째에 측정하였을 때보다 10주째에는 더 증가하는 결과를 보였다. 높은 비율의 농후사료를 포함한 먹이를 섭취할 경우 반추위 pH가 떨어지게 되는데 반추위 pH는 휘발성 지방산 생성 정도에 의해 결정되며 반추위 내 삼투압에 영향을 준다.

반추위 내 삼투압은 반추동물의 반추위 내 pH 저하, 휘발성 지방산 생성 정도 및 미생물 등과 복합적으로 관련되어 사료섭취량에 영향을 미칠 수 있다. 반추위 내 휘발성 지방산 생성의 증가, 그 중 프로피온산 생성의 증가, 그로인한 반추위 삼투압의 증가와 반추위 내에서의 섬유소 소화율의 감소가 사료섭취량을 감소시키는 요인이 된다(Allen, 2000). Carter와 Grovum(1990) 또한 반추위 pH 감소와 반추위 내용물의 삼투압 증가는 서로 관련이 있으며 pH 감소로 인한 반추위 내 삼투압 증가가 사료 섭취를 억제한다고 하였다.

아급성 반추위 산성증(subacute ruminal acidosis, SARA)은 젖소 및 육용소에서 보편적으로 발생할 수 있는 대사성 질병으로써 이를 연구하기 위하여 많은 연구에서 인위적으로 SARA를 유도하는 방법을 사용하고 있다. SARA를 유도하는 여러 가지 방법들 중 대표적으로 소가 섭취하는 사료 중 알곡사료 함량을 높여 유도하는 방법과 알팔파 건초를 알팔파 펠렛으로 대체하여 급여하는 방법이 있다. 알곡사료를 이용하여 SARA를 유도한 경우 휘발성 지방산 생성량과 삼투압이 증가하였으며(Gozho 등, 2006; Khafipour 등, 2007), 반추위 내 산도가 증가하여 섬유소의 *in situ* 소화율이 감소하였다(Plaizier 등, 2001; Krajcarski-Hunt 등, 2002). 반면, 알팔파 건초를 알팔파 펠렛으로 대체하여 유도하는 방법을 이용하였을 때 알곡사료를 이용하여 유도한 경우와 유사하게 반추위 pH가 저하되었으며 휘발성 지방산과 삼투압이 증가하였으나 사료섭취량은 감소하지 않은 것으로 나타났다(Khafipour 등, 2007).

3) 반추위 pH

젖소의 반추위 pH는 하루 사이에도 상승과 하락을 반복하며 계속적으로 변동한다(Figure 1). 반추위 pH는 평소에는 pH 7에서 6정도를 유지하는 편인데 종류에 상관없이 사료를 섭취한 후에는 pH가 저하된다. 반추동물들은 저마다 저하된 반추위 pH를 회복할 수 있는 잠재적 능력을 가지고 있어 pH 저하와 회복을 반복하며 끊임없이 변동하게 된다. 그러나 어떠한 요인으로 인해 반추위 pH가 지나치게 낮아지거나 혹은 지속적으로 낮은 상태를 유지하게 되면 스스로 반추위의 상태를 조절할 수 있는 능력은 감소하게 된다.

반추위 pH의 변화에 영향을 주는 요인들은 매우 다양하다. Stone(2004)은 반추위 pH 저하의 위험 요소 중 주요한 영양적 요소로써 반추위에서 발효되는 유기물의 양, 반추위에서 이뤄지는 전분의 소화 속도와 양 그리고 사료 내의 NDF(Neutral Detergent Fiber) 농도 및 TMR의 입자크기가 있다고 보고하였다. Stone(2004)이 제시한 요인들을 미루어볼 때 현재 젖소 농가에서 일반적으로 행해지고 있는 사양형태는 반추위 pH 변화에 큰 영향을 줄 수 있으며 반추위 산성증 유발에 대한 위험요인이 될 수 있다. 착유기 젖소에서 보다 많은 우유생산을 위해 농후사료와 같은 에너지 사료의 급여량을 늘릴 수밖에 없는데 이에 의하여 반추위 내 소화 및 발효 속도가 빠른 성분의 섭취량이 증가하고 상대적으로 NDF와 ADF의 요구량이 충족되지 못하게 되어 급격한 휘발성 지방산과 젖산의 생성을 야기해 반추위 pH를 하락시킨다(Briggs 등, 1957; Rumsey 등, 1970).

주로 농후사료와 조사료의 섭취 비율이 반추위 상태를 좌우하며 앞서 언급하였듯이 DMI가 높아지면 비구조성 탄수화물의 섭취량 또한 증가하면서 반추위 pH 저하가 유발된다. 급여 횟수를 늘리면 사료 섭취 후의 극심한 pH 변화를 완화시킬 수 있으나 이 또한 DMI가 증가하게 될 수 있어 궁극적으로 반추위 pH를 저하시키는 요인이 될 수 있다(Krause와 Oetzel, 2006). 급여 횟수에 따른 24시간 동안의 반추위pH 변화 그래프는 Figure 2에 나타나 있다.

조사료의 길이도 반추위 pH 변화에 영향을 줄 수 있다. 조사료의 길이가 짧아지면 소의 저작 횟수가 감소한다. 소의 타액에는 중조(Sodium bicarbonate)와 같

은 성분이 함유되어 있어 반추위 소화 작용으로 인해 발생한 산도를 완충하는 역할을 하는데(Van Soest, 1994), 저작 횟수가 감소하면 그에 따라 침샘 자극이 감소하여 생체 완충제인 타액의 분비가 감소하게 된다. Krause(2002)의 연구에서 길이가 짧은 조사료를 섭취하였을 때 반추 시간과 사료 섭취 시간이 감소하였는데 이에 상응하여 조사료의 길이가 짧아질수록 반추위 pH가 낮아지는 모습을 보였으며 하루 중 최저 pH 또한 낮아지는 결과를 보였다. 아급성 반추위 산성증으로 진단할 수 있는 pH 상한선인 pH 5.8 이하로 반추위 pH가 유지되는 시간(hour/day)은 조사료 길이가 짧아짐에 따라 증가하였고 사료 섭취 후의 pH 변화 양상에도 영향을 주었다.

반추위에서 생성되는 유기산이 반추위 벽을 통해 얼마나 빨리 흡수되는지도 반추위 pH의 변동 요인이 될 수 있다. 사료의 발효로 생성된 유기산이 신속히 체내로 흡수되면 반추위 pH 상태를 안정시킬 수 있다. 휘발성 지방산의 흡수는 확산을 통해 반추위벽을 통과하는데(Bergman, 1990), 반추위벽의 돌기들이 표면적을 증가시켜 휘발성 지방산의 흡수를 촉진시킨다. 반추위 돌기는 알곡사료 위주의 섭취를 할 경우 길이가 길어지며(Dirksen 등, 1985), 이는 반추위에 산이 다량으로 축적되는 것을 방지하기 위해 돌기의 표면적을 증가시켜 산 흡수력을 증진시키기 위한 체내의 작용으로 보인다. 이러한 세포 조직이 반추위 상피세포 염증(rumenitis) 등과 같은 질병으로 인해 손상되면 안정적인 반추위 pH를 유지하기 어렵다(Krause와 Oetzel, 2006). 반추위 상피세포 염증은 아급성 반추위 산성증으로 인해 기인될 수 있다.

그 밖에도 열에 의한 스트레스, 조밀한 사육 밀도 및 불규칙한 급여 등 부적절한 관리와 사육 환경으로 인해 반추위 pH가 낮아질 수 있다(Stone, 2004). 이처럼 반추위 산성증의 원인이 되는 반추위 pH의 저하는 여러 가지 요인들에 의해 야기된다. 산성증 유발의 위험 요인은 이처럼 다양하고, 사육하는데 있어서 흔히 범할 수 있는 실수들이므로 반추위 산성증은 비교적 쉽게 유발될 수 있는 대사성 질병이며 적절한 사양관리와 체계적인 사육관리가 요구된다.

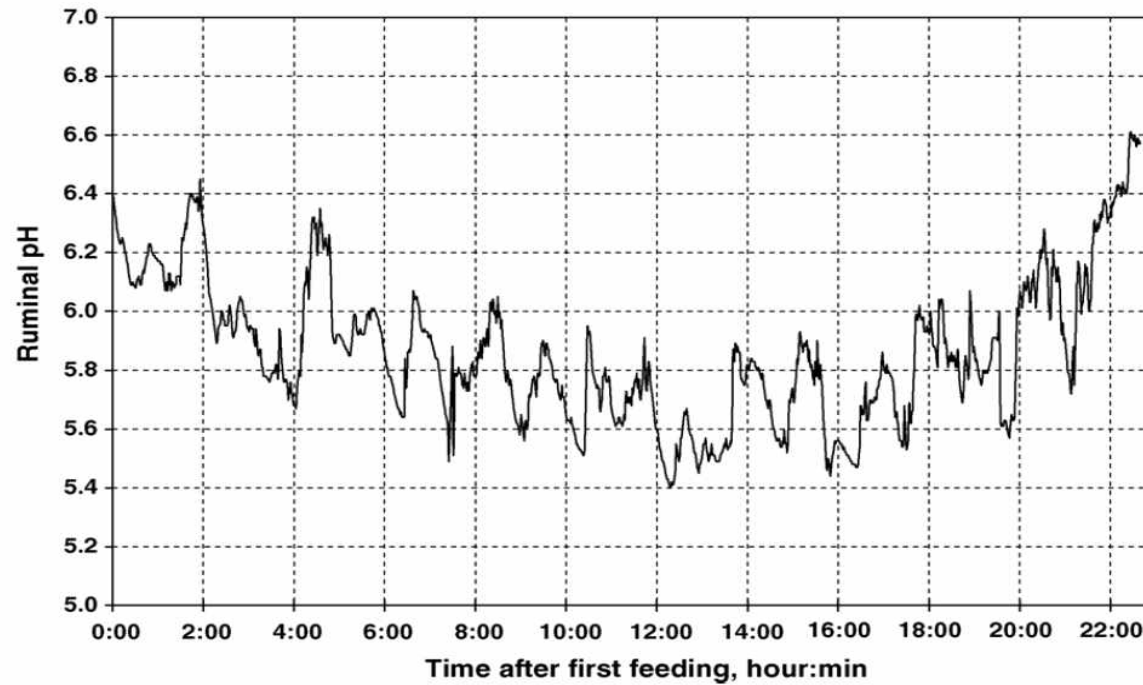


Figure 1. Post-feeding variations in ruminal pH over a period of 24h. Post-feeding variations in ruminal pH over a period of 24 h. The cow was fed dry, cracked corn grain and finely chopped alfalfa silage twice daily (12 h interval). Dry matter intake of the current day was 22.7 kg. Average ruminal pH for that day was 5.87 with a standard deviation of 0.25 and a range from 5.40 to 6.61 (Krause & Oetzel, 2006).

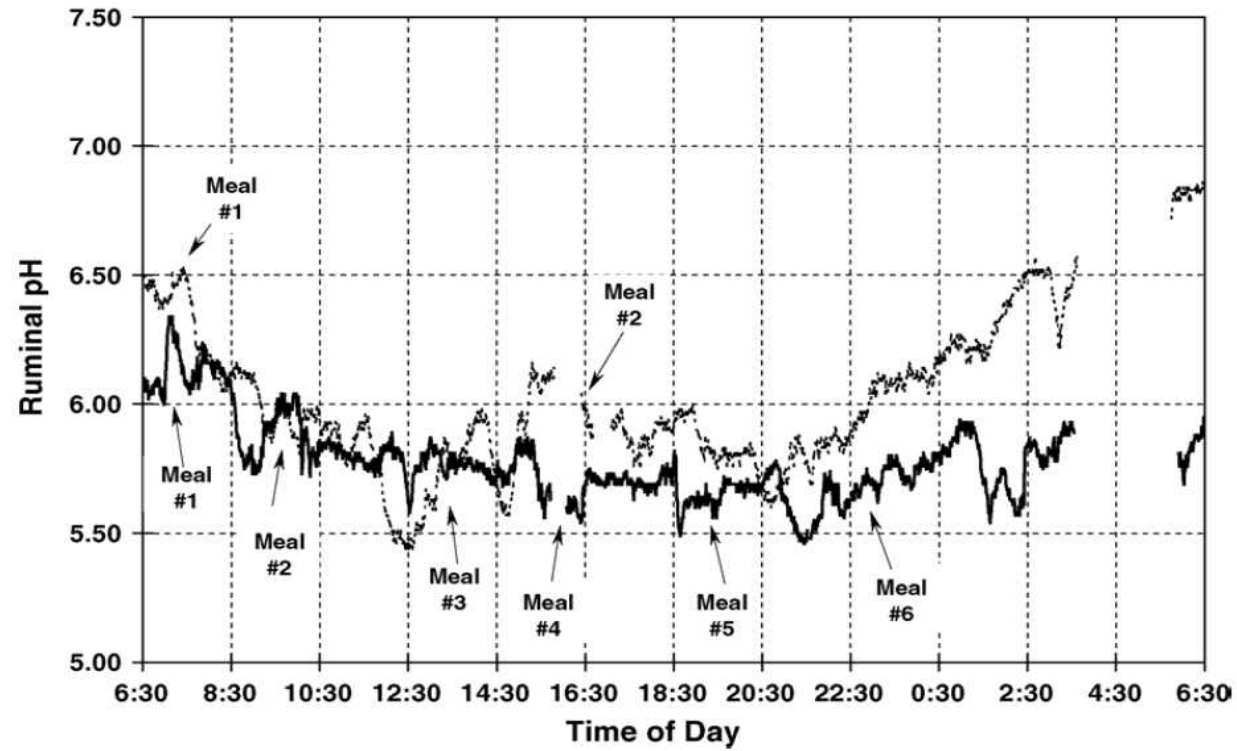


Figure 2. Ruminal pH over a 24h period of a cow fed twice daily (dotted line) and the same cow fed six times daily (solid line). Mean ruminal pH was 6.02 when fed twice daily and 5.78 when fed six times daily. DM intake increased from 17.4 to 21.3 kg DM/day when increasing number of times fed (Krause & Oetzel, 2006).

2. 아급성 반추위 산성증(Subacute ruminal acidosis, SARA)의 정의와 진단

반추위 산성증(Ruminal acidosis)이란 주로 풀사료를 소화시키고 대사작용을 하도록 적응된 반추동물이 높은 수준의 알곡사료를 섭취할 경우 발생하는 대사장애이다(Krause와 Oetzel, 2006). 반추위 산성증은 반추위 pH 변화 양상이나 증상에 따라 크게 급성 반추위 산성증(Acute ruminal acidosis), 아급성 반추위 산성증(Subacute ruminal acidosis) 그리고 만성 반추위 산성증(Chronic ruminal acidosis)으로 나눌 수 있다. 반추위 산성증 중에서도 특히 아급성 반추위 산성증은 다량의 우유를 생산중인 상업 농가의 젖소에게서 흔히 발생하는 매우 보편적인 대사성 질병이며 나아가 젖소의 경제성에도 영향을 미치므로 중요한 문제점으로 여겨지고 있다.

아급성 반추위 산성증의 임상 증상으로서 가장 두드러지게 나타나는 증상은 건물섭취량(Dry matter intake, DMI)의 감소이며 더 나아가 제염염, 흑위염, 간농양 및 폐의 세균성 색전 등 다양한 대사성 질병을 야기할 수 있다(Nocek, 1997; Kleen 등, 2003; Stone, 2004). 그러나 이러한 임상증상들은 대부분 반추위 산성증이 발생한 시점으로부터 수 주(week)에서 수 개월 후에 나타나기(Krause와 Oetzel, 2006) 때문에 아급성 반추위 산성증을 진단하는데 어려움이 있어 반추위 유동체의 pH를 통하여 진단하는 것이 정확한 방법이 될 수 있다.

반추위 산성증의 구분은 반추위 내 유동체의 pH를 기준으로 하는데, 일반적으로 아급성 반추위 산성증은 반추위 pH의 저하 정도(대략 pH 5.5-5.0)가 급성 반추위 산성증과 만성 반추위 산성증의 중간정도로 나타나는 산성증으로 정의되고 있다(Garrett 등, 1999; Nordlund 등, 1995).

그러나 선행된 많은 연구들에서 반추위 유동체의 채취방법에 따라 아급성 반추위 산성증의 반추위 pH 범위를 다르게 제시하고 있어 이 대사 장애의 정확한 정의를 내리는데 어려움을 겪고 있다. Duffield 등(2004)의 연구에서 반추위 복낭(ventral sac) 부위로부터 위관(stomach tube)을 이용하여 채취한 위액과 측면 복부에 주사를 이용하여 추출하는 방법(rumenocentesis)을 통해 얻은 위액의 pH가 다르게 나타나 아급성 반추위 산성증의 반추위 pH 경계점은 각각

rumenocentesis 샘플링에서는 pH 5.5, 캐놀라를 이용한 샘플링에서는 pH 5.8 그리고 경구삽입법을 통해 채취할 경우 pH 5.9라고 제안하였다. Garrett 등(1999)은 반추위 캐놀라를 이용하면 반추위 유동체 채취에 용이하지만 실제적으로 상업용 젖소에 적용할 수 없어 캐놀라가 장착되지 않은 소에서 소량의 반추위 액을 채취하는 방법으로는 rumenocentesis가 적합하며 그 역시 이 방법을 이용하였을 때 아급성 반추위 산성증의 반추위 pH 경계점은 pH 5.5라고 제안하였다. 또한 반추위 유동체 샘플링 방법 뿐 만 아니라 반추위의 위치마다 pH가 다르며 (Bryant, 1964; Lane 등, 1968), 샘플링 시간도 반추위 유동체의 pH에 영향을 줄 수 있다(Plaizier 등, 2009). 아급성 반추위 산성증에 대한 확실한 정의 확립은 정확한 진단을 하는데 있어서 중요하므로 명확한 pH 측정법을 설정하여 아급성 반추위 산성증의 진단법을 확립하기 위한 추가적인 연구가 필요하다.

3. 아급성 반추위 산성증 발생원인

반추위 내에서 빠르게 소화되는 비구조성 탄수화물을 과도하게 섭취할 때 반추위 pH가 정상적인 생리적 수준 이하로 떨어지게 된다. 소는 저마다 어느 정도 반추위의 산성을 완충하고 흡수하여 반추위 pH를 조절할 수 있는 능력을 가지고 있지만 많은 양의 비구조성 탄수화물을 섭취한 후에는 이 능력이 저하된다(Krause와 Oetzel, 2006). 전분이나 당과 같은 비구조성 탄수화물의 발효가 다량의 휘발성지방산과 젖산을 급격하게 생성시켜 반추위 내 pH를 하락시키는 것이다(Briggs 등, 1957; Rumsey 등, 1970). 즉, 주로 비구조성 탄수화물로 이루어져 있는 곡류사료나 농후사료를 많은 비율로 섭취하고 거친 사료인 조사료를 적은 비율로 섭취할 경우 반추위 내에서 비구조성 탄수화물의 빠른 소화 속도로 인해 반추위 내 휘발성 지방산의 생성과 축적량이 급격히 증가하여 반추위 pH를 저하시키게 된다.

국내의 낙농농가에서는 보다 많은 우유생산을 위해 착유기의 젖소에게 소화속도가 빠른 농후사료를 다량으로 급여하는 경향이 있다. Krause와 Oetzel(2006)은 젖소와 비육소의 반추위 산성증의 발생 위험이 비슷한 정도로 나타난다고 하였다. 비록 젖소가 비육소에 비해 일반적으로 조사료와 섬유소를 더 높은 수준으로 섭취하지만 이는 젖소의 높은 건물섭취량(Dry matter Intake, DMI)으로 인해 상쇄된다. 젖소가 착유기에 들어서게 되면 우유생산을 위해 급여량을 늘리게 됨으로써 DMI가 상승한다. 더욱이 생산력이 우수한 젖소에게 농후사료 수준을 더 높여 급여하는 것은 불가피하다. De Brabander 등(1999)은 DMI가 높아지면 소화속도가 느리고 물리적으로 위벽을 자극하여 반추시간을 늘릴 수 있는 구조탄수화물의 요구량 또한 증가하게 된다고 밝혔다. 결과적으로 비구조성 탄수화물의 총 섭취량은 비육소와 비슷해지게 되며 아급성 반추위 산성증의 발병 가능성 또한 거의 같은 정도로 나타날 수 있게 된다.

4. 아급성 반추위 산성증이 젖소에 미치는 영향

1) 섬유소 소화율

아급성 반추위 산성증이 발병하게 되면 반추위에서의 섬유소 소화율은 감소된다. TMR(Total Mixed Ration)에 곡류 펠릿을 추가로 급여하여 아급성 반추위 산성증을 유도시킨 젖소에서 24시간과 48시간의 in situ NDF 소화율이 대조구(아급성 반추위 산성증 비유도구)에 비해 유의하게 감소하였다(Krajcarski-Hunt 등, 2002). 또한 Guo 등(2013)의 연구에서는 TMR 내에 전분 함량이 높은 밀의 함량이 증가할수록 반추위 내 평균 pH와 최저 pH가 낮아졌으며 그에 따라 NDF와 ADF의 소화율이 유의하게 감소하였다. 아급성 반추위 산성증이 발병한 후 발생하는 섬유소 소화율의 감소는 반추위 섬유소 분해 박테리아의 산성에 대한 민감성 때문인 것으로 보인다(Plaizier 등, 2009). 이러한 박테리아는 일반적으로 반추위 pH 6 이하에서 생존하기 어렵기 때문에 반추위 산성증이 발병하면 매우 낮은 pH로 인해 그 수가 감소하여 섬유소 소화율이 감소하게 된다(Shi와 Weimer, 1992).

2) 사료 섭취량

건물섭취량(Dry Matter Intake, DMI)의 감소는 아급성 반추위 산성증을 진단할 수 있는 임상증상으로 여겨진다(Kleen 등, 2003; Oetzel, 2003). Gozho 등(2005)은 알곡사료 함량을 높이는 방식으로 아급성 반추위 산성증을 유도한 비육우 그룹에서 5일 간의 유도기간 동안 DMI가 점차 감소하였다고 보고하였다. 젖소에서 섬유소 소화율의 감소, 그리고 반추위 내 휘발성 지방산 중 특히 프로피온산 생성의 증가와 반추위 삼투압 증가가 사료섭취량이 감소하는 원인으로 작용할 수 있다(Allen, 2000). 알곡사료 함량에 변화를 주어 아급성 반추위 산성증을 유도한 결과 반추위 내의 산성을 증가시켰으며 그에 따라 섬유소 소화율도 감소하였다(Krajcarski-Hunt 등, 2002). 또한 Carter와 Grovum(1990)은 반추위 pH 감소와

반추위 내용물의 삼투압 증가는 서로 관련이 있으며 pH 감소로 인한 반추위 내 삼투압 증가가 사료 섭취를 억제한다고 하였다.

3) 우유 생산량

반추위 pH의 저하는 착유기 젖소의 우유 생산량을 감소시킨다. 우유 생산량은 젖소의 사료섭취량과 관련이 있다(Sarwar 등, 2007). 반추위는 주로 산성도가 높은 환경에서 생존하기 어려운 미생물들로 군집이 되어있는데, 아급성 반추위 산성증으로 인해 반추위 pH가 지속적으로 낮아지면 반추위 내 미생물군의 기능이 억제(Shi와 Weimer, 1992)되어 섬유소의 소화가 어려워지고 반추위 벽이 손상되어 휘발성 지방산 등 사료 발효의 산물들을 제대로 흡수하기가 어려워진다. 또한 앞서 언급하였듯이 반추위 pH 감소로 인하여 반추위 내 삼투압이 증가한다. 이러한 요인들에 의해 소화불량을 야기할 수 있고 젖소의 식욕이 떨어져 사료 섭취량이 감소하게 된다. 이렇게 착유기 젖소의 DMI가 감소하면 우유 생산 대사에 에너지를 제대로 충족시키지 못하여 우유생산량이 감소하게 될 수 있다.

4) 우유 성분 중 유지방 함량

반추위 pH 감소와 아급성 반추위 산성증에 의해 주로 영향을 받는 것은 우유 성분 중 유지방 함량이다. 많은 선행 연구를 통해 유지방 감소가 아급성 반추위 산성증과 관련이 있다고 밝혀져 왔으며, 주로 반추위 내 trans-oleic acid 농도의 상승이 유지방 감소의 원인이 된다(Kalscheur 등, 1997; Khorasani와 Kennelly, 2001; Oetzel, 2003; Hu와 Murphy, 2005). trans 형태의 불포화 지방산은 젖소의 유선에서 일어나는 유지방 합성에 억제제로 작용하는데, 아급성 반추위 산성증이 반추위 내에서 불포화 지방산에 수소가 첨가되어 포화 지방산으로 전환되는 작용인 생체수소첨가반응(biohydrogenation)을 유도하는 미생물들을 방해하여 trans 지방산의 흡수를 증가시킨다(Oetzel, 2003). Colman 등(2013)의 연구에서 알팔파 건초를 알팔파 펠렛으로 대체하여 아급성 반추위 산성증을 유도한 결과, 처리 전 기간 보다 우유 내의 trans-oleic acid의 비율이 6배가량 증가하였다. 또한

Colman 등(2013)은 일반적으로 유우 내의 지방산 조성의 변화는 반추위 pH의 변화와 연관된다고 하였다.

5) 혈액성상

섭취하는 사료의 구성과 비율 등으로 인해 반추위 내 휘발성 지방산의 생성 비율 및 생성량이 변하게 된다. 조사료의 비율이 낮고 농후사료 비율이 높은 먹이를 섭취함으로써 휘발성 지방산의 급격한 생성증가로 인하여 반추위 pH가 낮아지기도 하지만 각각의 휘발성 지방산의 생성 비율이 달라지기도 한다. Miettinen 과 Huhtanen (1996)은 반추위 내 프로피온산(propionate)과 낙산(butyrate)의 생성비율에 따른 혈액 대사물질의 함량 변화에 대해 낙산을 반추위에 주입하였을 때 혈액 내 아세토초산(acetoacetate)과 혈청 β -hydroxybutyric acid 함량이 증가하고 혈장 포도당(glucose) 함량이 감소한다고 하였다. 또한 사료 섭취 후 낙산 생성의 증가에 따라 혈액 내 케톤(ketone) 함량이 증가하였으며 휘발성 지방산 주입으로 인해 낙산의 비율이 높아졌을 때 반추위 내 초산(acetate; 아세트산)의 함량은 영향을 받지 않았음에도 불구하고 혈장 내 초산의 함량이 높아졌다고 하였다. 반면 휘발성 지방산 주입에 의한 프로피온산과 낙산의 비율의 변화가 혈장 내 인슐린과 요소 함량에는 영향을 주지 않는 것으로 나타났다.

5. 완충제 사용의 필요성

급성 반추위 산성증은 상업 농가에서 발생하는 경우가 드물지만 아급성 반추위 산성증은 흔히 발병할 수 있는 대사 장애이다. 미국에서는 아급성 반추위 산성증이 보편적인 문제로 자리 잡고 있으며, 생산자들에게 있어 경제적인 고민 거리가 되고 있다. 아급성 반추위 산성증으로 인한 우유생산량의 감소, 생산 효율의 저하, 도태 및 사망 등으로 인해 경제적 손실이 발생하며(Krause와 Oetzel, 2005), Stone (1999)은 뉴욕에서 낙농 농가의 젖소 500두를 가지고 조사한 결과, 아급성 반추위 산성증으로 인한 경제적 손실이 연간 두당 400에서 475달러에 달하고 있다고 하였다.

젖소가 착유기에 들어가면서 높아진 영양소 요구량을 충족시키기 위해 농가에서 행해지는 사양형태는 아급성 반추위 산성증의 발병 가능성을 높이며(Krause와 Oetzel, 2006), 산성증이 아니더라도 반추위 내 pH가 낮은 상태로 유지될 경우에 젖소의 생산성에 부정적인 영향을 주기 때문에 이를 방지하기 위한 적절한 사양관리와 각별한 주의가 요구된다.

반추위 내 pH 저하는 완충제를 추가로 급여함으로써 예방할 수 있다. 농가에서 젖소의 반추위 pH를 적절하게 유지시키기 위해 사용하는 완충제로 약염기성의 물질을 사용하며 완충제가 사료섭취 후에 반추위 내에서 생성되는 유기산의 산성을 희석시켜줌으로써 반추위 pH가 낮아지는 것을 방지하고 pH의 급격한 변화를 완화시켜 반추위 pH 저하로 인해 발생하는 반추동물의 생산성 저하로 인한 경제적 손실을 절감시킬 수 있다. 이런 점에서 젖소 및 육용소의 사양에 있어 완충제의 급여는 필수적 요소라고 할 수 있다.

가장 보편적으로 사용되고 있는 완충제는 중조(sodium bicarbonate)이며, 아급성 반추위 산성증 유도 방법을 이용하여 산성증을 유도시킨 후 중조 첨가 급여와 비급여 그룹에서 측정된 반추위 pH 변화 그래프(Krause 등, 2009)가 Figure 3에 나타나 있다.

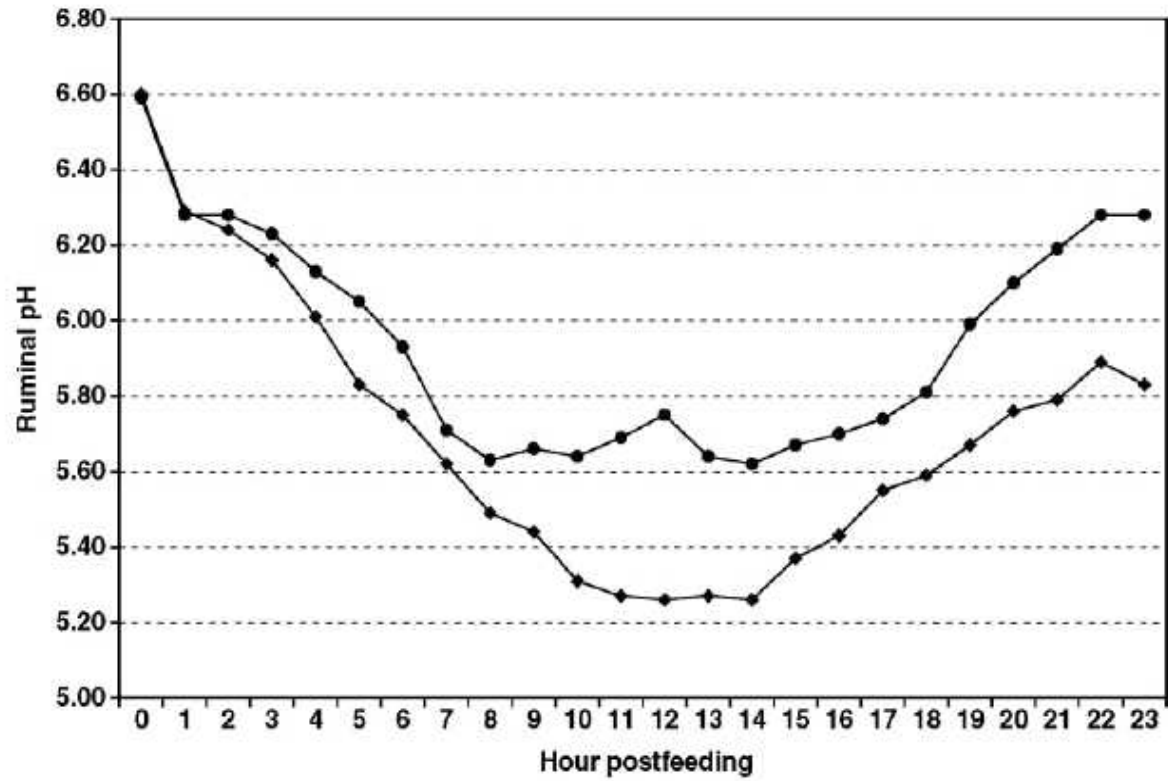


Figure 3. Hourly mean ruminal pH on subacute ruminal acidosis (SARA) challenge day for control cows and cows with access to buffer blocks. Control: ◆; buffer block treatment: ●. SEM = 0.16 pH units (Krause *et al.*, 2009).

6. 완충제의 종류

1) 중조(sodium bicarbonate)

중조(sodium bicarbonate)는 가장 보편적으로 사용되는 완충제이며 약 염기성으로써 유기산의 수소 이온을 완충하는 역할을 한다(Ha 등, 1983). 중조를 섭취하면 반추위 pH를 상승시켜 반추위 상피조직의 손상을 방지하고 아급성 반추위 산성증과 동반되는 반추위 정체증(ruminal stasis)을 예방할 수 있다(Kezar와 Church, 1979). 중조는 고에너지 사료의 급여에도 반추위 pH를 조정해줌으로써 유지방 감소를 방지(Khorasani와 Kennelly, 2001; Hu와 Murphy, 2005)하며 사료 섭취량을 증가시켜 우유생산량이 감소하는 것을 예방할 수 있어(Sarwar 등, 2007; Tucker 등, 1988), 아급성 반추위 산성증의 발병 위험에 노출되어 있는 우유를 생산하기 시작하는 전환기 젖소와 고능력우의 사양에 필수적인 보충 사료이다.

2) 산화마그네슘(magnesium oxide, MgO)

사료첨가제로써 마그네슘(Mg)의 주요 공급원인 산화마그네슘은 농후사료 위주의 사료 섭취로 인해 발생하는 유지율 감소와 산성증 발생을 방지하기 위해 반추위 제산제로써 이용될 수 있다. 농후사료의 비율이 높고 조사료의 비율이 낮은 착유기 젖소의 사료에 산화마그네슘을 완충제로 사용한 몇몇의 연구들에서 유지방 함량이 증가하였다(Emery 등, 1965; Gordin 등, 1976; Thomas와 Emery, 1969; Kin 등, 1989). Xin 등(1989)은 산화마그네슘을 4% 첨가 급여하였을 때 우유생산량에 영향을 주지 않으면서 유지방 함량이 증가하였다고 보고하였다.

중조와 산화마그네슘의 혼합사용이 사료 첨가제로써 어떤 효과가 있는지에 대한 연구도 이루어졌다(Erdman 등, 1980). Thomas와 Emery(1969)의 연구에서 중조 91g+산화마그네슘 45g 첨가와 중조 182g+산화마그네슘 91g 첨가일 때 우유생산량에는 변화가 없으면서 유지방 함량이 통계적으로 유의적인 차이를 보이며

증가하였다. 그러나 더 많은 양을 혼합하여 급여하였을 때 농후사료 섭취량이 감소하는 모습을 보였으며, 중조 272g+산화마그네슘 136g을 급여하였을 때 유지방은 증가하였으나 농후사료 섭취량과 우유생산량이 감소하였다. 이 경우에 유지율이 증가한 것은 완충제의 작용으로 인한 것일 수도 있으나 우유생산량이 감소함으로써 상대적으로 유지율이 높아진 것으로 볼 수도 있다. 우유 생산량은 농후사료의 섭취량이 감소하면서 나타난 결과로 보이며 농후사료 섭취량의 감소는 완충제 첨가량이 증가되면서 기호성이 떨어진 것에 기인된 것으로 판단된다.

농후사료:조사료 비율이 60:40인 사료에 중조 1.5% 첨가 급여와 중조 1.5%+산화마그네슘 8% 첨가 급여 시에 우유 생산량과 유지방 보정우유(fat-corrected milk)가 통계적으로 유의한 차이를 보이며 증가하였다(Erdman 등, 1980) 그러나 농후사료:조사료 비율이 50:50인 사료에서의 중조와 산화마그네슘의 첨가는 젖소의 생산성에 대해 반응을 보이지 않았다.

산화마그네슘의 완충능력은 산화마그네슘의 입자크기와 반추위 내에서의 용해도와 관계가 있다(Xin 등, 1989). 산 회석 용액을 이용한 *in vitro* 실험에서 산화마그네슘의 총 산성 소비능력(Total acid-consuming capacity, TACC)과 용해도가 주로 입자크기에 의해 결정되었으며 이러한 *in vitro* 기법으로 반추위 환경에서 산화마그네슘의 용해도를 평가할 수 있다. 산화마그네슘의 입자크기가 작을수록 반추위 내에서 완충능력이 더 높은 것으로 나타났으며 산화마그네슘을 급여 사료의 4% 급여하였을 때 유지방이 증가하였다.

3) 세스퀴탄산나트륨(sodium sesquicarbonate, $\text{Na}_2\text{CO}_3 \cdot \text{NaHCO}_3 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)

세스퀴탄산나트륨은 탄산나트륨 등과 같이 염 함량이 높은 호수 주변에서 많이 발견되는 트로나 광석으로부터 얻어지며 반추위에서 산을 중화시킬 수 있어 완충제로 쓰인다. 세스퀴탄산나트륨은 유지율과 4% FCM을 증가시킨다(Aguilar와 Jordan, 1985; Cassida 등, 1988; Jordan와 Aguilar, 1985). 세스퀴탄산나트륨은 반추위에서 중조와 동일한 효과를 보이지만, 짧은 기간 및 젖소의 전환기에 사용 시 DMI, 우유 생산량, 유성분 함량에 대한 효과에 있어서 일정하지 않은 결과를 보인다(Aguilar와 Jordan, 1985; Poos-Floyd와 Coyle, 1986; Solorzano 등, 1989).

Clark 등(2009)은 전체 착유기간 동안(1일에서 308일까지) 세스퀴탄산나트륨의 첨가 효과를 연구하였다. 착유 전기(1일-175일)와 착유 중기(176일-245일) 그리고 착유 말기(246일-308일) 세 단계로 분류하였으며 착유 전기와 중기의 사료는 착유 말기 사료보다 반추위 비분해성 단백질과 지방이 더 많이 포함되고 조사료 비중이 적었다. 전체 착유 기간과 착유 전기와 중기에 세스퀴탄산나트륨의 첨가가 우유생산량과 4% FCM, 우유 성분변화에 영향을 주지 않았으나, 착유 말기에 우유 생산량과 4% FCM 생산이 증가하고 유지방, 유단백질, 무지고형분이 대조구에 비해 증가하였다. Clark 등(2009)은 사료의 구성이 완충제와의 반응에 영향을 준다고 제안하였다.

완충제로써 세스퀴탄산나트륨에 대한 연구는 매우 제한적이며, 연구가 되어도 연구 기간이 길지 않고 전환기에 세스퀴탄산나트륨이 주는 영향에 대한 연구도 거의 이루어지지 않아 추가적인 연구가 필요하다.

7. 반추위 상태에 따른 사료선택과 중조(sodium bicarbonate)의 기호성

젖소의 경제성을 떨어뜨리는 요인인 아급성 반추위 산성증에 대한 해결책을 위하여 많은 연구에서 시뮬레이션을 위해 의도적으로 SARA를 유도하는 방법을 사용한다. 다양한 아급성 반추위 산성증 유도 방법 중 하나는 12시간에서 24시간 정도 절식을 시키거나 급여량을 절반 정도로 줄인 후 다시 이전의 급여량으로 제공하여 유도하는 방식이다(Keunen 등, 2002; Krause 등, 2009). 이런 방식에서 절식하거나 절반의 급여량만을 섭취한 후 다시 원래의 급여를 받을 때, 반추동물들은 반추위 환경을 안정된 상태로 유지할 수 있는 사료를 선택하게 된다(Cooper 등, 1995). 다시 말해, 매우 산성화된 반추위를 희석시킬 수 있는 젖소의 내재된 완충력을 증진시켜주는 사료를 본능적으로 선택하는 것이다. Keunen 등(2002)의 연구에서 아급성 반추위 산성증이 유도된 젖소에서 기호성 조사를 실시한 결과, 상대적으로 거칠어 침 생산과 반추활동을 자극시키는 물리적 효과가 큰 알팔파 건초를 알팔파 펠렛 보다 선호하는 모습을 보였다. Maulfair 등(2013)은 착유 전기 젖소는 반추위 아급성 산성증 상태일 때 반추위 pH를 높일 수 있는 섬유소의 물리적 효과(peNDF)가 높은 사료를 선호한다고 제안하였으며 Kmicikewycz와 Heinrichs(2015) 또한 전분을 많이 포함한 사료 섭취로 인해 반추위 pH가 감소한 착유기 젖소에서 조사료 길이에 대한 선호도가 바뀐다고 하였다.

이러한 결과들을 통해서 반추동물들은 반추위 pH 저하를 방지하기 위해 완충제인 중조의 기호성이 높아질 것으로 예상할 수 있으나, 중조는 언급한 연구 결과들과는 달리 기호성이 떨어진다. Cumby 등(2001)는 소에게 아급성 반추위 산성증을 유도시킨 후 4% 중조가 함유된 펠렛과 4.5% NaCl이 함유된 펠렛을 선택할 수 있도록 하였다. 그 결과 NaCl 펠렛보다 중조 펠렛을 더 선호하는 모습을 보였다. 하지만 이 연구에서 보여진 중조 펠렛의 기호성은 소금(NaCl)에 대한 거부감 때문인 것으로 보이며, NaCl을 제거한 후(대조구)에는 오히려 중조 펠렛보다 대조구 펠렛에 대한 선호도가 높았다. 이는 중조가 반추동물의 기호에 있어 불리한 특성을 지니고 있는 것으로 보인다. 중조를 음수로 급여한 경우에도 통계적인 유의차는 없었으나 중조가 첨가되지 않은 물보다 섭취량이 감소하는 경향을 보

였다(Cottee 등, 2004).

이처럼 중조는 반추동물의 사양관리에 있어 중요한 완충제로 사용이 되고 있으나 첨가량이 증가할 경우 기호성이 떨어져 오히려 사료섭취량 감소로 인해 우유 생산성에 영향을 미칠 우려가 있으며, 중조 첨가 시 사료의 기호성을 높이기 위한 중조 급여 방법에 대한 연구들이 이루어지고 있다(Krause 등, 2009).

8. 액상형 완충제

액상형 완충제는 주로 탄산칼슘으로 구성된 굴의 폐각분을 이용하여 고온·고압으로 액체 형태로 가공한 pH 조정제이며 고온 처리에 의해 탄산 성분은 휘발되어 칼슘을 주성분으로 함유하고 있다. 액상형 완충제는 중조와 성분이 유사하며 액상형 완충제의 급여효과(이 등, 미발표 2009)는 Figure 4에 나타나있다. 이왕식 등(미발표 2009)의 연구에서 액상형 완충제 15ml를 급여 받은 소들의 시간 별 평균 반추위 pH가 완충제를 급여 받지 않은 대조구 소에 비하여 높은 상태로 유지되었으며 반추위 pH의 변화 폭이 감소하였다.

특유의 쓴 맛으로 인해 기호성이 다소 떨어지는 중조(sodium bicarbonate)와는 달리 액상형 완충제는 무미, 무취의 특성을 가지고 있어 젓소의 사료 선택이나 기호성에 영향을 주지 않는다는 장점이 있다. 또한 액상 형태이므로 분말사료와의 혼합에 용이하고 음수 형태로 급여하기에 가루 형태인 중조에 비해 거부감이 없어 유리하다.

국내에서 사용되는 중조는 전량을 수입하고 있는 상황이며 이 때문에 고가로 판매되고 있다. 그에 반해 액상형 완충제는 국내에서 버려지는 폐각을 이용하여 생산할 수 있기 때문에 훨씬 경제적이라고 할 수 있다.

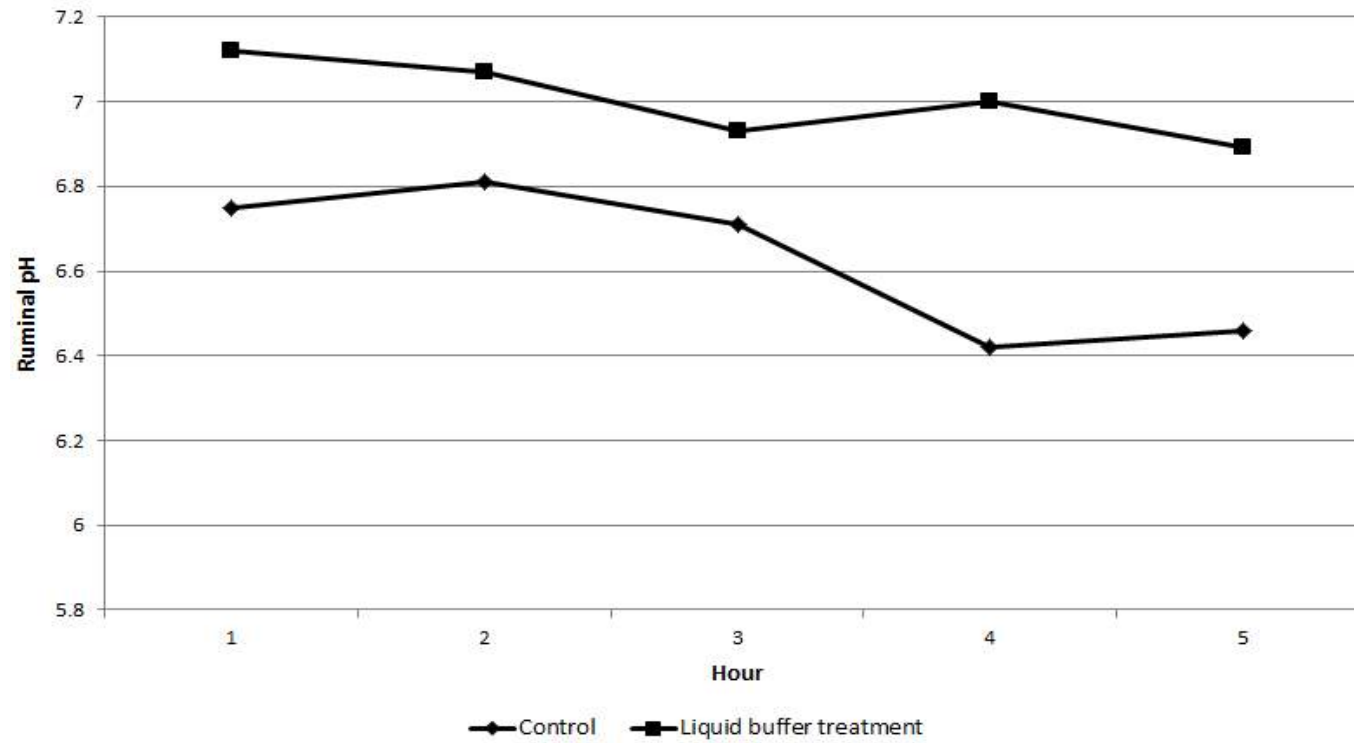


Figure 4. Ruminal pH variation for control cows and cows supplemented liquid-type buffer. Liquid-type buffer treatment cows were supplemented liquid-type buffer 15ml. Liquid-type buffer is composed of calcium 34.9mg per 100g (unpublished data from Lee *et al.*, 2009).

Ⅲ. 재료 및 방법

1. 공시축 및 사양관리

공시축으로 상업 농장에서 사육되는 Holstein 착유 중기 젖소들 중, 분만 산차가 3산에서 5산인 젖소들 사이에서 각 처리별로 평균 유량이 25kg 내외이고 평균 체중이 650kg 내외인 젖소 27두를 선발하여 8주 동안 사양시험을 수행하였다. 시험처리는 대조구와 중조 첨가구, 그리고 액상형 완충제 첨가구로 하여 처리별 9두씩 배치하였다. 매일 오전 11시에 기초 사료로서 착유우용 자가배합 TMR사료를 급여하였다. 미네랄 블록은 급여하지 않았으며 물은 자유 섭취할 수 있도록 하였다.

대조구는 기초 사료인 자가배합 TMR사료만 급여하였으며, 중조 첨가구는 기초 사료에 중조(OCI(주))를 두당 1일 150g을 첨가하여 급여하였다. 중조의 첨가 급여 방식은 TMR에 배합되는 착유우용 농후사료(TS대한제당) 중 500g을 따로 덜어낸 후 중조(150g)와 혼합하여 급여하였다. 일반적으로 중조의 권장 첨가량은 1일 체중 1Kg당 0.23g정도이며, 이를 기준으로 중조 첨가구의 중조 첨가량을 설정하였다. 액상형 완충제 첨가구 또한 같은 방법으로 TMR에 배합되는 착유우용 농후사료 중 500g을 따로 덜어 액상형 완충제 15 ml와 혼합하여 급여하였다. 첨가량의 설정은 이 등(미발표 2009)의 액상형 완충제가 중조의 10배 정도의 완충 효과가 있다는 연구 결과를 토대로 중조 첨가량에 1/10에 해당하는 양을 설정하여 사양시험을 수행하였다. 기초사료로 사용된 자가배합 TMR사료의 구성과 영양성분 함량은 Table 1에 나타내었다.

Table 1. Feed ingredients and nutrient composition of the basal TMR

Items	Italian ryegrass hay	Alfalfa hay	Beet pulp	Lactation concentrate feed ¹⁾	Energy supplement ²⁾
Mixed Feed ratio(%)	42.4	12.9	5.5	28.5	10.7
DM(%)	90.2	91.0	88.2	88.1	88.0
TDN(%)	59.2	52.4	74.9	71.6	83.4
Crude protein(%)	8.99	10.92	9.00	18.51	8.00
Crude fiber(%)	26.71	31.75	20.00	8.00	3.00
NDF(%)	56.6	63.5	43.3	20.5	10.2
ADF(%)	35.3	40.2	29.2	6.2	6.5
Calcium(%)	0.25	1.07	0.70	0.90	0.60
phosphorus(%)	0.20	0.19	0.10	0.50	0.40

¹⁾ mid-lactation phase.

²⁾ Diet was formulated by mixing 67% corn, 15% corn germ meal, 10% wheat, 6% wheat bran and 2% vitamin-mineral mixture.

2. 조사항목

1) 산유량 및 유성분 분석

젖소의 착유는 일일 2회, 오전 6시와 오후 5시에 파이프라인 착유시스템으로 착유하였으며 착유할 때 이동식 디지털 유량계인 Lactocorder(Werkjeung-und Maschinenbau Berneck AG)로 산유량을 측정하였다. 유성분은 Milkoscan™ FT1(Foss Co.)을 이용하여 유지방(%), 유단백질(%), 무지고형분(%)과 Milk urea nitrogen(MUN)(mg/100ml)을 측정하였다. 분석용 tube에 착유한 우유 중 8 ml를 채취하였다. 채취한 우유 샘플을 담은 tube를 우유 성분 분석기 Milkoscan™ FT1(Foss Co.)에 장착하여 분석용 전극을 샘플에 담가 분석기를 작동시켜 측정값을 얻었다. 또한 같은 방법으로 우유 샘플 8 ml를 채취한 후 Fossomatic™(Foss Co.)에 장착하여 우유 내 체세포 수를 측정하였다.

2) 혈액 중 대사물질

신장 기능 검사를 목적으로 혈액 내 비단백태질소성물질 중 요소(urea)와 creatinine을 측정하여 신장 기능 손상 및 신장 기능 장애를 파악할 수 있다. Alkaline phosphatase(ALP), Glutamic oxaloacetic transaminase(GOT)와 Glutamic pyruvic transaminase(GPT)는 간 기능 검사를 위해 측정하는 효소이다(강 등, 2006). 본 연구에서는 액상형 완충제 및 중조의 첨가 급여가 젖소의 체내 대사기능에 영향을 주는지에 대한 여부를 파악하기 위하여 이러한 혈액 중 대사물질의 수치를 조사하였다.

분석 항목인 혈액 중 대사물질 Glucose, Cholesterol, Creatinine, Urea, Alkaline phosphatase(ALP), Glutamic oxaloacetic transaminase(GOT)와 Glutamic pyruvic transaminase(GPT)를 분석하기 위하여 사양시험 8주째에 사료를 급여하기 전인 오전 10시에 각 처리구 젖소의 꼬리정맥으로부터 sodium heparin 처리된 10 ml의 Vacutainer로 혈액을 채취하였다. 채취한 혈액은 원심분리기

(VS-5500N, VISON SCIENTIFIC CO., LTD)를 이용하여 2,500 rpm에서 15분간 원심분리하여 혈장을 분리하였다.

혈액 중 대사물질의 분석은 혈액 자동분석기 reflatron[®]plus(Roche Diagnostics GmbH Mannheim, Germany)를 이용하여 분석하였다. 혈액 자동분석기의 전원을 켜고 후 분석 항목에 해당하는 혈액 중 대사물질 분석 스트립(reflatron[®] Glucose, reflatron[®] Cholesterol, reflatron[®] Creatinine, reflatron[®] Urea, reflatron[®] ALP, reflatron[®] GOT, reflatron[®] GPT, Roche Diagnostics GmbH Mannheim, Germany)을 꺼내 반응 부위의 호일을 제거하여, 피펫을 이용해 분리된 혈장 샘플 0.3 ml를 채취하였다. 팁의 끝이 닿지 않도록 주의하여 분석 스트립의 붉은색 반응 부위 중앙에 채취한 혈장을 떨어뜨린 후, 자동 혈액 분석기의 덮개를 열어 분석 스트립을 수평으로 삽입하여 각 항목의 분석 수치를 얻었다.

3. 통계처리

시험결과에 대한 통계분석은 SAS(2000) package program에 의하여 수행되었으며 분산 분석 후에 유의성이 있는 경우 Duncan's multiple range test(1955)에 의하여 검정하였다.

IV. 결과 및 고찰

1. 우유 생산량 및 우유 성분

1) 우유생산량(daily milk yield)

일일 두당 산유량은 대조구, 중조 첨가구, 액상형 완충제 첨가구 순으로 각각 23.82 kg/두, 23.91 kg/두, 24.91 kg/두이며, 대조구나 중조 첨가구에 비하여 액상형 완충제 첨가구에서 다소 증가하는 경향을 보였으나 통계적인 유의차를 보이지 않았다(Table 2). Sarwar 등(2007)은 중조의 첨가량을 달리하여 우유 생산량을 조사하였는데 0% 첨가구에 비하여 중조를 첨가하였을 때 우유생산량이 유의하게 증가하였으며 첨가량이 증가할수록 우유생산량이 증가하는 경향이 있다고 보고하였다. 중조를 첨가하였을 때 우유생산량이 증가하는 것은 완충제 급여로 인한 DMI 증가와 관련이 있는 것으로 보인다(Sarwar 등, 2007; Tucker 등, 1988). Block(1994)은 중조(sodium bicarbonate)와 탄산수소칼륨(potassium bicarbonate) 내의 높은 Na 혹은 K 함량이 착유중인 젖소의 우유생산량을 증가시킨다고 보고하였다. 그는 착유기 젖소의 높은 대사율로 인해 세포 내에 이산화탄소 생성이 증가하고 그에 따라 세포 환경이 산성화되는데, 중조를 첨가한 사료의 Na 성분에 의한 알칼리성이 세포의 산성을 감소시켜 세포의 글루코스 흡수량을 증가시킨다고 하였다. 중조를 당밀에 혼합하여 블록형태로 만든 당밀버퍼블록의 SARA에 대한 효과를 평가하기 위한 Krause 등(2009)의 연구에서 우유생산량은 버퍼블록처리구와 대조구 간에 큰 차이는 보이지 않았으나 시험단계에 따라 통계적으로 유의한($P < 0.05$) 차이를 보인 시기도 있었다. 시험단계는 크게 시험사료에 대한 반응기, SARA유도기 그리고 회복기로 나누었는데 처리구와 대조구 모두 SARA유도기에 우유생산량이 유의하게 감소하였다. 이러한 결과는 젖소의 반추위 pH가 적절히 유지되지 못할 경우 우유생산량에 부정적인 영향을 미

칠 수 있다는 점을 보여준다. Krause 등(2009)의 연구에서 당밀버퍼블록이 우유 생산량에 큰 영향을 주지 못한 것은 제한된 공시 두수와 짧은 연구기간으로 인한 것으로 판단된다. 본 시험의 결과 또한 우유생산량에 있어 처리 간에 차이가 없었다. 이는 본 시험에서 기초사료로 반추위 pH 환경 변화를 되도록 안정시키도록 배합된 TMR사료를 급여하였기 때문인 것으로 판단된다. 우유생산량은 사료섭취량에 큰 영향을 받는데 반추위 내 산성도가 증가하면서 사료섭취량이 감소(Sarwar 등, 2007; Tucker 등, 1988)하는 경향이 있다. 본 시험에서는 모든 그룹에서 TMR사료를 급여 받아 반추위 내 pH의 변화가 크지 않았을 것으로 예상되며 이에 따라 사료섭취량에 큰 차이가 없었을 것으로 보인다.

2) 유지방(milk fat)

유지방 평균은 대조구 3.92%, 중조 첨가구 4.27%, 액상형 완충제 첨가구 4.08%로 처리 간에 유의적인 차이는 없었으나 중조나 액상형 완충제를 첨가 급여한 그룹에서 다소 증가하는 경향을 보였다(Table 2).

유지방 감소가 흔히 SARA와 관련이 있다는 점은 이전부터 많은 사람들에 의해 연구되었으며 반추위내 trans-oleic acid 농도의 상승이 유지방 감소의 원인이 된다고 보고되어 왔다(Kalscheur 등, 1997; Khorasani와 Kennelly, 2001; Oetzel, 2003; Hu와 Murphy, 2005). 반추위 내에서 작용하는 생체수소첨가반응(biohydrogenation)은 반추위 미생물에 의해 불포화 지방산에 수소가 첨가되면서 이중결합이 끊어져 포화 지방산으로 변성시키는 대사작용이다. Oetzel (2003)은 반추위 내 불포화 지방산, 특히 trans 형태의 불포화 지방산이 젖소의 유선에서 발생하는 유지방 합성에 억제제로 작용한다고 하였다. 반추위 산성증이 반추위 내 지방산 생체수소첨가 작용을 하는 미생물들을 방해하여 trans 지방산의 흡수를 증가시킬 수 있어 반추위 산성증과 유지방 감소가 어느 정도 연관이 있다고 제안하였다.

유지방 감소는 반추위 내 프로피온산과 아세트산 생성 패턴의 변화와도 관련이 있다. 반추위 pH의 변화에 따라 아세트산과 프로피온산이 생성되는 발효 패턴도 변화하는데, 반추위 pH가 높아지면 프로피온산의 농도 비율은 낮아지며 아세트

산 농도 비율은 높아진다. Hu와 Murphy(2005)는 반추위 내 프로피온산:아세트산 농도비와 유지방 생성 간에 정(+)의 상관관계를 가진다고 하였다. 다시 말해, 반추위 pH가 감소하면 프로피온산의 생성 비율이 증가하여 유지방이 생성이 감소된다.

Khorasani와 Kennelly(2001)의 농후사료와 조사료의 비율 그리고 완충제 첨가 여부가 홀스타인 착유후기 젖소의 반추위 발효특성, 우유생산량 그리고 우유성분에 미치는 영향에 대한 연구 결과에 의하면 높은 수준의 농후사료에 완충제를 첨가하지 않은 처리에서 유지방 함량이 가장 낮았으며 반면 완충제를 첨가한 처리에서는 유지방 저하가 방지되었다는 결과를 얻었다. 증조의 첨가량에 따른 우유 생산량과 유성분의 차이에 대한 연구에서 첨가하지 않은 그룹에 비해 1.0%와 1.5% 첨가구에서 유지방이 유의하게 높았으며 첨가량이 증가할수록 유지방 함량도 증가하는 경향을 보였다(Sarwar 등, 2007). Hu와 Murphy (2005) 또한 착유 전기와 중기 젖소의 증조 섭취에 대한 반응을 통계적으로 평가하는 연구를 통하여 이들의 결과를 뒷받침 하였다. 증조를 첨가한 경우가 그렇지 않은 경우에 비해 유지방량이 유의하게 증가하는 결과를 나타내어 이전에 언급한 논문들의 결과와 유사하였으며 높은 수준의 농후사료를 섭취할 경우에 완충제의 첨가에 의하여 반추위에서의 trans-oleic acid 생산을 감소시킬 수 있다고 보고하였다. Kalscheur 등(1997)의 연구에서도 완충제를 급여 받지 않은 젖소의 유지방 생산량에 비해 완충제를 급여 받은 젖소의 유지방 생산량이 높았으며 반추위 pH와 trans-oleic acid 사이의 관계를 미루어 볼 때 식용 완충제를 급여 받은 젖소에서 보여 지는 반추위 pH 상승이 trans-oleic acid가 십이지장으로 유출되는 흐름을 감소시켜 유지방 저하 현상을 완화시킨다고 주장하였다.

우유생산량 감소와 함께 유지방 함량의 감소는 반추위 pH 저하에 따라 나타나는 일반적인 증상 중 하나이다. 그러나 본 시험에서 완충제를 공급하지 않은 대조구와 증조나 액상형 완충제를 공급받은 처리구의 유지율에 차이가 없었는데 이 또한 본 시험의 우유생산량에 대한 결과와 마찬가지로 기초사료로 제공된 TMR 사료에 의한 결과인 것으로 보인다. TMR사료의 급여는 반추위 pH 변화를 최소화하기 위한 사양방법이라고 볼 수 있는데 대조구를 포함한 모든 그룹에서 기본적으로 TMR사료를 섭취하였기 때문에 반추위 pH 변화 자체에 상당한

변화를 주지는 않았을 것으로 판단된다. 액상형 완충제 및 중조의 첨가에 따른 효과는 반추위 pH의 변화에 크게 영향을 줄 수 있는 관행방법으로 사양관리 하였을 때 더욱 뚜렷하게 나타날 것으로 보여 이에 대한 추가적인 연구가 필요할 것으로 판단된다.

3) 유단백질(milk protein)

유단백질 함량은 액상형 완충제 첨가구의 경우 3.50%로 대조구 3.10%과 비교하여 유의하게($P<0.05$) 증가하였다(Table 2). 중조 첨가구의 유단백질 또한 3.34%로 유의 있는 차이를 보여주지는 않았으나 대조구의 유단백질에 비해 다소 높은 경향을 보였다. Colman 등(2013)은 젖소에게 급여하는 사료 중 건물의 21%를 압착 보리 50%와 압착 밀 50%로 이루어진 펠렛으로 대체(결과적으로 조사료:농후 사료 비율 = 40:60)하여 반추위 산성증을 유도하였다. 연구 결과 산성증 기간 동안의 유단백질이 대조 기간 동안의 유단백질에 비해 유의하게 감소하여 본 연구에서 액상형 완충제 첨가구에서 대조구에 비해 유단백질 함량이 유의하게 높은 결과를 보인 것과 유사하였다. Krause 등(2009)의 연구에서도 SARA 유도 기간 중 완충제를 급여하지 않은 젖소에서 유단백질 함량이 SARA에 유도되기 이전의 기간에 비해 유의하게 감소하여 반추위 pH의 저하가 젖소의 우유 단백질 생성에 부정적인 요인으로 작용하는 것으로 보인다.

4) Milk urea nitrogen(MUN)

한편 MUN(milk urea nitrogen)은 대조구 14.25 mg/100ml, 중조 첨가구 15.72 mg/100ml 그리고 액상형 완충제 첨가구에서 15.50 mg/100ml로 처리 간에 차이가 없는 것으로 나타났다(Table 2). Johnson과 Young (2003)은 유단백질 함량이 높아짐에 따라, MUN은 감소한다고 하였다. 유단백질 함량과 MUN 사이의 부(-)의 상관관계에 의해, MUN이 낮은 것은 체내에서 조단백질 사용량이 높은 것이라 할 수 있어 질소이용효율(nitrogen utilization efficiency;NUE)이 좋다는 것을 의미한다(Johnson과 Young, 2003). Johnson과 Young (2003)의 연구에서 홀스타

인 젖소의 우유생산량과 유단백질 함량을 여러 단계로 분류하여 그에 따른 MUN 수치를 제시하였는데, 같은 수준의 우유생산량을 가질 때 유단백질 함량이 높은 개체들의 MUN이 유의하게 낮은 결과를 보였다. Johnson과 Young(2003)이 제시한 기준으로 본 실험의 처리구들을 분류하면 모든 처리의 우유생산량 수준은 유사하고 유단백질 함량 수준은 대조구가 3.01-3.20%에 해당하였으며 중조와 액상형 완충제 급여구가 >3.20%에 해당하였다. Johnson과 Young (2003)의 연구 결과대로라면 중조와 액상형 완충제 급여구의 MUN이 대조구에 비하여 낮아야 하지만 본 연구결과에서는 모든 처리 간에 통계적으로 유의한 차이는 없었으며 대조구에서 다소 낮은 경향을 보였다.

5) 무지고형분(solids-not-fat)

무지고형분은 액상형 완충제 첨가구에서 8.95%로 유의하게 높았으며 대조구는 8.52%로 가장 낮은 결과를 보여주었다(Table 2). 중조 첨가구의 무지고형분은 8.83%으로 대조구와 비교하여 유의하지는 않으나 다소 높은 경향을 나타냈다. Sarwar 등(2007)의 연구에서 무지고형분(kg/day)이 중조를 첨가한 그룹(0.5%, 1.0%, 1.5%)에서 대조구(0% 첨가)에 비해 유의하게 높았으나 무지고형분의 우유 내 함유율(%) 기준으로는 유의하지 않지만 중조의 첨가량이 늘어날수록 증가하는 경향을 보여 본 연구의 결과와 유사하였다. 본 연구에서 무지고형분이 액상형 완충제 첨가구에서 대조구와 차이를 보인 것은 액상형 완충제 첨가구에서 유단백율(%)이 유의하게 증가한 것과 관련이 있는 것으로 보인다. 무지고형분은 우유의 총고형분 중에서 지방분을 뺀 나머지 성분으로서 유당, 단백질, 미네랄이 주성분(축산용어사전, 2011)인데 이 중 단백질이 증가하였기 때문에 무지고형분 함량 또한 증가한 것으로 판단된다.

6) 체세포수(somatic cell count)

체세포수는 중조 첨가구에서 480.89 천개/ml로 다소 높았으며, 대조구와 액상형 완충제 첨가구는 각각 319.37 천개/ml과 308.28 천개/ml로 처리 간에 유의 있는

차이를 보여주지 않았다(Table 2). 젖소의 반추위 pH와 단쇄 휘발성지방산의 상관관계에 관한 이탈리아 파도바 대학의 연구에서 프로피온산, 아세트산 그리고 젖산 등과 같은 단쇄 휘발성지방산의 수준과 반추위 pH는 역의 상관관계를 가진다고 보고하였다(Morgante 등, 2007; 2009). 반면에 반추위 휘발성 지방산 중 하나인 n-valerate와 체세포수 사이에는 정(+)의 상관관계가 있다고 보고하였다(Morgante 등, 2007; 2009). 즉, 반추위 내에서 valeric acid의 수준이 높아질수록 우유의 체세포수도 증가한다는 것을 의미한다. 완충제의 급여가 반추위 pH를 상승시켜 반추위 환경을 안정시켜줄 수 있다고 보고하였으나(Morgante 등, 2007; 2009; Kezar와 Church, 1979), 본 연구에서는 중조를 첨가한 처리에서 유의하지 않지만 대조구에 비해 다소 증가하는 경향을 보인 반면에 액상형 완충제 첨가구에서는 다소 낮은 경향을 보였다.

Table 2. Effects of sodium bicarbonate and liquid buffer on milk yield, milk composition and somatic cell count

Items	Control	Sodium bicarbonate	Liquid buffer
Daily milk yield(kg/head)	23.82±3.57	23.91±2.86	24.91±4.29
Milk fat(%)	3.92±0.29	4.27±0.52	4.08±0.38
Milk protein(%)	3.10±0.17 ^b	3.34±0.30 ^{ab}	3.50±0.25 ^a
Solids-not-fat(%)	8.52±0.14 ^b	8.83±0.42 ^{ab}	8.95±0.13 ^a
MUN(mg/100ml) ¹⁾	14.25±1.81	15.72±1.75	15.50±1.51
Somatic cell count (thousand/ml)	319.37±33.99	480.89±89.66	308.28±36.71

^{a, b} Means within a row with different superscripts are significantly different ($P < 0.05$).

¹⁾ Milk urea nitrogen

2. 혈액 대사물질

본 연구에서는 액상형 완충제 및 중조의 첨가 급여가 젖소의 체내 대사기능에 영향을 주는지에 대한 여부를 파악하기 위하여 이러한 혈액 중 대사물질인 Glucose, Cholesterol, Urea, Creatinine, ALP, GPT, GOT의 수치를 조사하였다. 전체적으로 혈액 대사물질의 함량에 차이가 없는 것으로 보아 액상형 완충제 및 중조의 처리가 혈액성상에 영향을 주지 않았으며 모든 처리에서 정상범위 내의 값을 나타냈다.

1) Glucose, Cholesterol

혈장 내 glucose와 cholesterol은 모든 처리에서 정상 범위 내 수치를 나타냈으나 대조구에서 각각 66.43 mg/100ml와 186.11 mg/100ml로 다소 낮았으며 액상형 완충제 첨가구가 각각 75.78 mg/100ml와 204.56 mg/100ml로 처리 중 다소 높은 결과를 나타냈다(Table 3). Miettinen과 Huhtanen(1996)은 반추위 내에 휘발성 지방산을 주입하여 반추위 내 낙산(butyrate)의 비율이 높아지도록 하였을 때 혈장 내 glucose의 함량이 감소하였다고 보고하였다. 반추위 내 휘발성 지방산 중 butyrate의 비율 증가가 혈액의 glucose 함량 감소에 영향을 주는 것은 소화관에서 프로피온산의 흡수가 감소됨으로써 간에서 프로피온산으로 작용하는 글루코스신생합성(gluconeogenesis)이 감소하기 때문이며, butyrate가 간에서 프로피온산의 이용에 부정적인 요인으로 작용하는 것일 수도 있다(Aiello 등, 1989). 본 연구에서 유의적인 차이는 없었으나 액상형 완충제 첨가구에서 대조구와 중조 첨가구에 비하여 glucose 함량이 다소 높은 결과를 보였는데 액상형 완충제가 반추위 내 휘발성 지방산의 생성 비율의 변화에 영향을 줄 수 있는지에 대한 추가적인 연구가 필요할 것으로 보인다.

2) Urea, Creatinine

통상적으로 신장 기능 검사를 목적으로 혈액 내 비단백태질소성물질 중 요소(urea)와 creatinine을 측정하여 신장 기능 손상 및 신장 기능 장애를 파악할 수 있다. 이러한 물질들은 신장에서 불완전하게 배출되면 혈액 내에 축적하게 되어 이 물질들의 측정치가 상승하게 된다(강 등, 2006). Urea는 단백질 이화작용의 주요 최종산물로서 간에서 생성되며 사구체에서 여과되고, 여과된 urea 중 25~40%는 세뇨관에서 재흡수 된다(강 등, 2006). Creatinine은 근육의 creatine과 인(P) creatine의 대사산물이며, 사료 내 단백질, 단백질의 이화, 연령, 성별, 운동 등에 영향을 받지 않는다(강 등, 2006). Creatinine의 배설은 사구체에서 여과된 후에 오줌으로 배출되는데 신세뇨관에서 전혀 배출되거나 흡수되지 않기 때문에 사구체 여과율(glomerular filtration rate; GFR)의 대략적인 지표로 이용될 수 있다. 또한 배설되는 creatinine의 양은 평활근의 양과 신장 기능에 좌우되며, creatinine은 질소보다 손쉽게 제거되기 때문에 신장 손상 시 요소질소처럼 일찍이 증가되지는 않는다(강 등, 2006).

혈액 내 urea는 대조구 38.57 mg/100ml, 중조 첨가구 36.84 mg/100ml 그리고 액상형 완충제 첨가구 35.12 mg/100ml로 처리 간에 유의한 차이는 없었지만 액상형 완충제 첨가구의 urea 함량이 다른 처리에 비해 다소 낮은 경향을 보였는데 이는 액상형 완충제 첨가구의 유단백질 함량이 다른 처리에 비해 유의하게 높은 것과 관련이 있는 것으로 판단된다(Table 3). 혈장 중 요소태질소(plasma urea nitrogen; PUN)는 MUN과 높은 상관계수($r=0.88$)를 갖는데(Roseler 등, 1993), 이는 요소가 혈액에서 유선조직으로 자유롭게 확산되기 때문이라고 보고하였다(Thomas, 1980). 본 실험에서는 처리 간에 MUN의 차이는 없으나 대조구에서 다소 낮은 경향을 보여 Roseler 등(1993)의 보고와 상이한 결과를 보여주고 있다. Creatinine은 대조구 0.82 mg/100ml, 중조 첨가구 0.80 mg/100ml, 액상형 완충제 첨가구 0.84 mg/100ml로 처리 간에 차이가 없었다.

3) ALP, GPT, GOT

Alkaline phosphatase(ALP), Glutamic oxaloacetic transaminase(GOT)와 Glutamic pyruvic transaminase(GPT)는 간 기능 검사를 위해 측정하는 효소이다(강 등, 2006). 간 기능이 떨어지거나 간세포괴사 등의 문제가 있을 경우 이들의 수치가 높아진다. ALP는 알칼리성 pH에서 phosphate monoester의 가수분해에 관여하는 일군의 효소이며, 장점막, 신장세뇨관, 골, 태반에서 당과 인산염의 운반에 중요한 역할을 한다. ALP를 주로 생산하는 부위가 간세포인지 담관상피세포인지는 알려져 있지 않지만 간세포가 더 많이 생산하는 것으로 보인다(강 등, 2006). GPT는 개, 고양이, 영장류의 간세포에서 가장 많이 발견되며 이들 동물에서 간세포손상이 있을 때 특이적인 효소로서 사용되며 다른 조직에서도 매우 낮은 농도로 발견된다. GOT는 근육 세포내에 가장 높은 농도로 존재하고 약간 적게 간과 심근 내에도 있다(강 등, 2006).

ALP는 액상형 완충제 첨가구에서 66.52 U/L로 다른 처리에 비해 다소 높았으나 처리간에 차이가 없었으며, GPT는 대조구 19.27 U/L, 중조 첨가구 17.41 U/L, 액상형 완충제 첨가구 18.75 U/L로 처리 간에 차이를 보이지 않았다(Table 3). GOT 수치는 대조구에서 61.74 U/L로 다소 높은 경향을 보였으나, 유의 있는 차이를 보여주지는 않았다(Table 3).

Table 3. Effects of sodium bicarbonate and liquid buffer on blood metabolite

Items	Control	Sodium bicarbonate	Liquid buffer
Glucose(mg/100ml)	66.43±11.79	67.60±6.97	75.78±4.36
Cholesterol(mg/100ml)	186.11±71.34	188.13±25.39	204.56±57.24
Urea(mg/100ml)	38.57±7.16	36.84±4.58	35.12±6.06
Creatinine(mg/100ml)	0.82±0.15	0.80±0.11	0.84±0.22
ALP(U/L)	61.06±16.53	55.25±13.68	66.52±11.33
GPT(U/L)	19.27±7.73	17.41±3.58	18.75±5.60
GOT(U/L)	61.74±13.45	52.44±9.68	53.03±8.60

3. 젖소의 분만 후 수정일 및 최종수정횟수

중조 및 액상형 완충제 첨가급여가 젖소의 분만 후 수정일 및 최종수정횟수에 미치는 영향에 대한 결과는 Table 4에 나타내었다. 분만 후 수정일은 대조구 66.00일, 중조 첨가구 66.75일, 액상형 완충제 첨가구 67.60일로 처리구간 차이가 없었다. 최종 수정 횟수는 대조구 1.83회, 중조 첨가구 1.63회, 액상형 완충제 첨가구 1.57회로 처리구간 차이가 없었다. Sarwar 등(2007)은 중조 첨가량에 따라 비유 초기 젖소의 생산성에 미치는 영향에 관한 연구에서 중조 첨가 수준이 높을수록 통계적인 유의차는 없으나 수정률이 다소 증가하고 수정횟수가 감소하는 경향을 보였다고 보고하였다. 이 점은 중조 첨가 수준이 높은 그룹의 건물섭취량(dry matter intake; DMI)이 유의적으로 증가한 것에 기인된 결과로 판단된다. 사료 섭취량과 연관이 있는 인슐린 유사 성장인자(IGF-1)의 생성 수준이 높으면 여포의 성장을 가속화시켜 난소의 기능이 향상될 수 있다고 보고하고 있다(Butler와 Smith, 1989). 본 실험에서도 유의적인 차이는 없었으나 중조 및 액상형 완충제를 첨가한 처리에서 최종수정횟수가 다소 감소하는 경향을 보여 이에 대해 추가적인 연구가 필요할 것으로 판단된다.

Table 4. Effects of sodium bicarbonate and liquid buffer on days between parturition and conception and services per conception

Items	Control	Sodium bicarbonate	Liquid buffer
Days between parturition and conception(days)	66.00±3.57	66.75±17.04	67.60±16.23
Services per conception (times)	1.83±0.75	1.63±0.74	1.57±0.53

V. 요약

반추위 pH 조정제로서 일반적으로 중조가 많이 사용되고 있다. 그러나 사료에 중조 첨가량을 증가시키는 경우에 사료의 기호성을 저하시키는 경향이 있다. 따라서 본 연구에서는 사료의 기호성에 영향을 미치지 않으면서 반추위 완충효과를 나타내도록 개발된 액상형 완충제의 젓소사료 첨가제로서의 이용효과를 구명하기 위하여 수행되었다. 시험축으로 착유 중기 젓소 27두를 공시하였으며, 처리는 대조구와 중조 첨가구, 그리고 액상형 완충제 첨가구로 하여 처리별 9두씩 배치하였다. 대조구는 착유우용 자가배합 TMR사료를 급여하였으며, 중조 첨가구는 대조 사료에 중조를 두당 1일 150g 추가하여 급여하였고, 액상형 완충제 첨가구는 같은 방식으로 액상형 완충제를 두당 15ml 추가하여 사양시험을 수행하였다. 시험결과 산유량은 대조구, 중조 및 액상형 완충제 첨가구의 경우에 각각 23.82, 23.91, 24.91kg으로 대조구에 비하여 액상형 완충제 처리구에서 다소 증가하는 경향이었으나 처리 간에 뚜렷한 유의 있는 결과를 보여주지는 않았다. 처리에 따른 유성분 변화에서는 유단백질 및 무지고형분에서 액상형 완충제를 첨가한 경우에 대조구에 비해 유의 있는 증가($p < 0.05$)를 보여주었고, 유지율에서도 대조구에 비하여 처리구가 다소 증가하는 경향을 보였다. 혈액성분 중 포도당과 콜레스테롤은 대조구에 비해 액상형 완충제의 첨가구에서 다소 증가하였으나, 처리 간에 유의 있는 차이를 나타내지는 않았다. 액상형 완충제의 첨가급여 시 유성분 중 유단백질 및 무지고형분이 증가되는 효과가 있었으나 반추위 pH 저하에 따라 우유생산량 및 유지방(%)에 있어 차이를 보이지 않아 추가적인 연구가 필요할 것으로 판단된다.

ABSTRACT

The effect of sodium bicarbonate and liquid-type buffer manufactured from oyster shell supplement on milk yield, milk composition and blood metabolites of Holstein dairy cows.

Mi Jeong Ko

Department of Animal Biotechnology

Graduate School

Jeju National University, Jeju, Korea

Sodium bicarbonate has been widely utilized as a rumen pH buffer yet they tend to decrease palatability in parallel with the amount added in feed. In the current study, therefore we investigated effects of use of the liquid buffer as a cow feed additive which was designed to elicit buffering effects on rumen pH without compromising the palatability of feeds. A total of twenty seven

mid-lactation dairy cows were included and then assigned into either 1) the control group, 2) the sodium bicarbonate group, or 3) the liquid buffer group ($n = 9$ per each group). For the control group, cows were fed with self-formulated TMR (Total Mixed Ration) for lactating cows while sodium bicarbonate (150 g sodium bicarbonate/cow/day) and liquid buffer (15 mL liquid buffer/cow/day) were fortified into the control diet for the sodium bicarbonate group and the liquid buffer group, respectively. In the results of feeding experiment, the milk yields of the control group, sodium bicarbonate group, and liquid buffer group were found to be 23.82, 23.91, and 24.91 kg, respectively; although there was a trend toward increase in the milk yield of the liquid buffer group, no statistical significance was noted. When it comes to the milk composition, there were significant differences in milk protein and solid-non-fat milk solids in the group treated with the liquid buffer compared to those of the control group ($p < 0.05$). Compared to the control group, the blood levels of glucose and cholesterols were slightly elevated by the liquid buffer treatment but no statistical significance was found amongst treatments. Taken together, we demonstrated that fortification of the liquid buffer proposed herein increased productivity, the milk composition in particular, hence might be utilized as a feed additive for dairy cows in order to replace sodium bicarbonate conventionally used for rumen pH buffer.

참고문헌

Aguilar A. A. and D. C. Jordan. 1985. Addition of sodium sesquicarbonate at various levels in complete mixed rations for early postpartum dairy cows. *J. Dairy Sci.* 68(Suppl. 1):131.(Abstr.).

Aiello R. J., L. E. Armentano, S. J. Bertics and A. T. Murphy. 1989. Volatile fatty acid uptake and propionate metabolism in ruminant hepatocytes. *J. Dairy Sci.* 72:942-949.

Allen M. S. 2000. Effects of diet on short-term regulation of feed intake by lactating dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 83:1598-1624.

Bergman E. N. 1990. Energy contributions of volatile fatty acids from the gastrointestinal tract in various species. *Physiol. Rev.* 70:1580-1588.

Briggs P. K., J. D. Hogan and R. L. Reed. 1957. The effect of volatile fatty acids, lactic acid and ammonia on rumen pH in sheep. *Aust. J. Agric. Res.* 8:674-682.

Block E. 1994. Manipulation of dietary cation-anion difference on nutritionally related production diseases, productivity, and metabolic responses of dairy cows. *J. Dairy Sci.* 77:1437-1450.

Bryant A. M. 1964. Variations in the pH and volatile fatty acid concentration within the bovine reticulo-rumen. *N. Z. J. Agric. Res.* 7:694-706.

Butler W. R. and R. D. Smith. 1989. Interrelationships between energy balance and postpartum reproductive function in dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 72:767–783.

Campling R. C. and M. Freer. 1962. The effect of specific gravity and size on the mean time of retention of inert particles in the alimentary tract of the cow. *Br. J. Nutr.* 16:507–518.

Carter R. R. and W. L. Grovum. 1990. A review of the physiological significance of hypertonic body fluids on feed intake and ruminal function: salivation, motility and microbes. *J. Anim. Sci.* 68:2811–2832.

Cassida K. A., L. D. Moller and T. F. Sweeney. 1988. Sodium sesquicarbonate for early lactation dairy cows fed corn silage-based diets. *J. Dairy Sci.* 11:381–387.

Clark J. H., R. A. Christensen , H. G. Bateman II and K. R. Cummings. 2009. Effects of sodium sesquicarbonate on dry matter intake and production of milk and milk components by Holstein cows. *J. Dairy Sci.* 92 :3354–3363.

Colman E., E. Khafipour, B. Vlaeminck, B. De Baets, J. C. plaizier, and V. Fievez. 2013. Grain-based versus alfalfa-based subacute ruminal acidosis induction experiments: Similarities and differences between changes in milk fatty acids. *J. Dairy Sci.* 96:4100–4111.

Cooper S. D., I. Kyriazakis and J. V. Nolan. 1995. Diet selection in sheep: the role of the rumen environment in the selection of a diet from two feeds that differ in their energy density. *Br. J. Nutr.* 74:39–54.

Cottee G., I. Kyriazakis, T. M. Widowski, M. I. Lindinger, J. P. Cant, T. F. Duffield, V. R. Osborne and B. W. McBride. 2004. The effects of subacute ruminal acidosis on sodium bicarbonate-supplemented water intake for lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 87:2248-2253.

Cumby J. L., J. C. Plaizier, I. Kyriazakis and B. W. McBride. 2001. Effect of subacute ruminal acidosis on the preference of cows for pellets containing sodium bicarbonate. *Can. J. Anim. Sci.* 81:149-152.

De Brabander D. L., J. L. De Boever, J. M. Vanacker, Ch. V. Boucque, S. M. Botterman. 1999. Evaluation of physical structure in dairy cattle nutrition. In: Garnsworthy, P.C., Wiseman, J. (Eds.), *Recent Advances in Animal Nutrition*. pp. 111-145.

desBordes C. 1981. Influence of specific gravity on rumination and passage of ingestible particles through the gastrointestinal tract. Ph.D. diss., Univ. Vermont, Burlington.

Dirksen G. U., H. G. Liebich and E. Mayer. 1985. Adaptive changes of the ruminal mucosa and their functional and clinical significance. *Bovine Practitioner* 20, 116 - 120.

Duffield T., J. C. Plaizier, R. Bagg, G. Vessie, P. Dick, J. Wilson, J. Aramini and B. W. McBride. 2004. Comparison of techniques for measurement of rumen pH in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 87:59 - 66.

Duncan D. B. 1955. Multiple range and multiple F test. *Biometric.* 11: 1-42.

Durkwa L. 1983. Length and specific gravity of particles passed from the rumen and changes in ingesta specific gravity. Ph.D. diss., Univ. Vermont. Burlington.

Ehle F. R. 1984. Influence of feed particle density on panicle passage from rumen of Holstein cow. *J. Dairy Sci.* 67:693-697.

Emery R. S., L. D. Brown and J. W. Thomas. 1965. Correlation of milk fat with dietary and metabolic factors in cows fed restricted-roughage rations supplemented with magnesium oxide or sodium bicarbonate. *J. Dairy Sci.* 48:1647-1651.

Erdman R. A., R. L. Botts, R. W. Hemken and L. S. Bull. 1980. Effect of dietary sodium bicarbonate and magnesium oxide on production and physiology in early lactation. *J. Dairy Sci.* 63:923-930.

Garrett E. F., M. N. Pereira, K. V. Nordlund, L. E. Armentano, W. J. Goodger and G. R. Oetzel. 1999. Diagnostic methods for the detection of subacute ruminal acidosis in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 82, 1170 - 1178.

Gordin S., E. Bogin, D. Sklan, Y. Or, Y. Krieger and Y. Loufer. 1976. The use of magnesium oxide for raising milk fat content. Magnesium in ruminant nutrition. U. Lavon, ed. Israel Chem. Ltd., Tel Aviv.

Gozho, G. N., J. C. Plaizier, D. O. Krause, A. D. Kennedy and K. M. Wittenberg. 2005. Subacute ruminal acidosis induces ruminal lipopolysaccharide release and triggers an inflammatory response. *J. Dairy Sci.* 88:1399 - 1403.

Gozho G. N., D. O. Krause and J. C. Plaizier. 2006. Effects of gradual adaptation to concentrate and subsequent induction of subacute ruminal acidosis in steers on ruminal lipopolysaccharide and acute phase proteins. J Dairy Sci. 89:4404-4413.

Guo Y., X. Xu, Y. Zou, Z. Yang, S. Li and Z. Cao. 2013. Changes in feed intake, nutrient digestion, plasma metabolites, and oxidative stress parameters in dairy cows with subacute ruminal acidosis and its regulation with pelleted beet pulp. J. Anim. Sci. Biotechnol. 4:31-40.

Ha J. K., R. J. Emerick and L. B. Embry. 1983. *In vitro* effect of pH variations on rumen fermentation and *in vivo* effects of buffers in lambs before and after adaptation to high concentrate diets. J. Anim. Sci. 56:698 - 706.

Hemsley, J. A. 1975. Effect of high intakes of sodium chloride on the utilization of a protein concentrate by sheep. Aust. J. Agric. Res. 26:709-714.

Hooper A. P. and J. G. Welch. 1985. Effects of particle size and forage composition on functional specific gravity. J. Dairy Sci. 68:1181-1188.

Hu W. and M. R. Murphy. 2005. Statistical evaluation of early- and mid-lactation dairy cow responses to dietary sodium bicarbonate addition. Anim. Feed Sci. Technol. 119:43 - 54.

Johnson R. G. and A. J. Young. 2003. The association between milk urea nitrogen and DHI production variables in Western commercial dairy herds. J. Dairy Sci. 86:3008-3015.

Jordan D. C., and A. A. Aguilar. 1985. Sodium sesquicarbonate for lactating cows. *J. Dairy Sci.* 68:131-138.

Kalscheur K. F., B. B. Teter, L. S. Piperova and R. A. Erdman. 1997. Effect of dietary forage concentration and buffer addition on duodenal flow of trans C18:1 fatty acids and milk fat production in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 80:2104 - 2114.

Keunen J. E., J. C. Plaizier, I. Kyriazakis , T. F. Duffield, T. M. Widowski, M. I. Lindinger and B. W. McBride. 2002. Effects of a subacute ruminal acidosis model on the diet selection of dairy cows. *J. Dairy Sci.* 85:3304 - 3313.

Keunen J. E., J. C. Plaizier, I. Kyriazakis, T. F. Duffield, T. M. Widowski, M. I. Lindinger and B. W. McBride. 2003. Short communication: Effects of subacute ruminal acidosis on free-choice intake of sodium bicarbonate in lactating cows. *J. Dairy Sci.* 86:954 - 957.

Kezar W. W. and D. C. Church. 1979. Effect of thiopeptin and sodium bicarbonate on the prevention of lactic acidosis induced in sheep. *J. Anim. Sci.* 49:1396 - 1402.

Khafipour, E., D. O. Krause, and J. C. Plaizier. 2007. Induction of subacute ruminal acidosis (SARA) by replacing alfalfa hay with alfalfa pellets does not stimulate inflammatory response in lactating dairy cows. *J. Anim. Sci.* 85(Suppl. 1):654. (Abstr.).

Khorasani G. R. and J. J. Kennelly. 2001. Influence of carbohydrate source and buffer on rumen fermentation characteristics, milk yield, and milk composition in late lactation cows. *J. Dairy Sci.* 84:1707 - 1716.

King K. W. and W. E. C. Moore. 1957. Density and size as factors affecting passage rate of ingesta in the bovine and human digestive tracts. *J. Dairy Sci.* 40:528-536.

Kleen J. L., G. A. Hooijer, J. Rehage and J. P. Noordhuizen. 2003. Subacute ruminal acidosis (SARA): a review. *Journal of Veterinary Medicine A. Physiology Pathology and Clinical Medicine* 50:406-414.

Kmicikewycz A. D. and A. J. Heinrichs. 2015. Effect of corn silage particle size and supplemental hay on rumen pH and feed preference by dairy cows fed high-starch diets. *J. Dairy Sci.* 98:373-385.

Krajcarski-Hunt H., J. C. Plaizier, J. P. Walton, R. Spratt and B. W. McBride. 2002. Short communication: Effect of subacute ruminal acidosis on *in situ* fiber digestion in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 85:570 - 573.

Krause K. M., D. K. Combs and K. A. Beauchemin. 2002. Effects of forage particle size and grain fermentability in midlactation cows. II. Ruminal pH and chewing activity. *J. Dairy Sci.* 85:1947 - 1967.

Krause K. M., D. V. Dhuyvetter and G. R. Oetzel. 2009. Effect of a low-moisture buffer block on ruminal pH in lactating dairy cattle induced with subacute ruminal acidosis. *J. Dairy Sci.* 92:352-364.

Krause K. M. and G. R. Oetzel. 2005. Inducing subacute ruminal acidosis in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 88:3633–3639.

Krause K. M. and G. R. Oetzel. 2006. Understanding and preventing subacute ruminal acidosis in dairy herds: A review. *Anim. Feed Sci. Technol.* 126:215 - 236.

Lane G. T., C. H. Noller, V. F. Colenbrander, K. R. Cummings and R. B. Harrington. 1968. Apparatus for obtaining ruminoreticular samples and the effect of sampling location on pH and volatile fatty acids. *J. Dairy Sci.* 51:114–116.

Martz F. A., and R. L. Belyea. 1986. Role of particle size and forage quality in digestion and passage by cattle and sheep. *J. Dairy Sci.* 69:1996–2008.

Maulfair D. D., K. K. McInctyre and A. J. Heinrichs. 2013. Subacute ruminal acidosis and total mixed ration preference in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 94:3527–3536.

McDougall E. I. 1948. Studies on ruminant saliva. 1. The composition and output of sheep's saliva. *Biochem J.* 43(1):99–109.

Miettinen H. and P. Huhtanen. 1996. Effects of the ratio of ruminal propionate to butyrate on milk yield and blood metabolites in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 79:851–861.

Morgante M., M. Giancesella, S. Casella, L. Ravarotto, C. Stelletta and E. Giudice. 2009. Blood gas analyses, ruminal and blood pH, urine and faecal pH in dairy cows during subacute ruminal acidosis. *Comp. Clin. Pathol.* 18:229-232.

Morgante M., C. Stelletta, P. Berzaghi, M. Giancesella and I. Andrighetto. 2007. Subacute rumen acidosis in lactating cows: an investigation in intensive Italian dairy herds. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.* 91:226-234

Nocek J. E., 1997. Bovine acidosis: implications on laminitis. *J. Dairy Sci.* 80:1005-1028.

Nordlund K. V., E. F. Garrett and G. R. Oetzel. 1995. Herd-based rumenocentesis: a clinical approach to the diagnosis of subacute rumen acidosis. *Compend. Contin. Educ. Pract. Vet.* 17:S48-S56.

Oetzel G. R. 2003. Subacute ruminal acidosis in dairy cattle. *Advances in Dairy Technology.* 15:307-317.

Plaizier J. C., J. E. Keunen, J. P. Walton, T. F. Duffield, and B. W. McBride, 2001. Short communication: effect of subacute ruminal acidosis on *in situ* digestion of mixed hay in lactating dairy cows. *Can. J. Anim. Sci.* 81:421-423.

Plaizier J. C., D. O. Krause, G. N. Gozho and B. W. McBride. 2009. Subacute ruminal acidosis in dairy cows: The physiological causes, incidence and consequences. *The Veterinary Journal.* 176:21-31

Poos-Floyd, M., and C. A. Coyle. 1986. Effect of level of sodium sesquicarbonate on production and rumen parameters of lactating Holstein cows. *J. Dairy Sci.* 69(Suppl. 1):241. (Abstr.).

Roseler D. k., J. D. Ferguson, C. J. Sniffen and J. Herrema. 1993. Dietary protein degradability effects on plasma and milk urea nitrogen and milk nonprotein nitrogen in Holstein cows. *J. Dairy Sci.* 76:525-534.

Rumsey T. S., P. A. Putnam, J. Bond and R. R. Oltjen. 1970. Influence of level and type of diet on ruminal pH and VFA respiratory rate and EKG patterns of steers. *J. Anim. Sci.* 31:608-616.

SAS. 2000. SAS Software for pc. Release 8.01. Statistical Analysis Systems Institute. Inc. Cary, NC. USA.

Sarwar M., M. AasifShahzad and M. Nisa. 2007. Influence of varying level of sodium bicarbonate on milk yield and its composition in early lactating Nili Ravi buffaloes. *Asian-Aust. J. Anim. Sci.* 20:1858-1864.

Serment A., P. Schmidely, S. Giger-Reverdin, P. Chapoutot and D.Sauvant. 2011. Effects of the percentage of concentrate on rumen fermentation, nutrient digestibility, plasma metabolites, and milk composition in mid-lactation goats. *J. Dairy Sci.* 94:3960-3972.

Shi Y. and P. J. Weimer. 1992. Response-surface analysis of the effects of pH and dilution rate on *Ruminococcus flavefaciens* FD-1 in cellulose-fed continuous culture. *Appl. Environ. Microbiol.* 58:2583-2591.

Solorzano, L. C., L. E. Armentano, R. R. Grummer and M. R. Dentine. 1989. Effects of sodium bicarbonate or sodium sesquicarbonate on lactating Holsteins fed a high grain diet. *J. Dairy Sci.* 72:453-461.

Stone W. C. 1999. The effect of subclinical ruminal acidosis on milk components. PP. 40-60 in *Proc. Cornell Nutr. Conf. Feed Manufact.*, Syracuse, NY. Cornell Univ., Ithaca, NY.

Stone W. C. 2004. Nutritional approaches to minimize subacute ruminal acidosis and laminitis in dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 87:E13 - E26.

Teimouri Yansari A., R. Valizadeh, A. Naserian, D. A. Christensen, P. Yu and F. Eftekhari Shahroodi. 2004. Effects of alfalfa particle size and specific gravity on chewing activity, digestibility, and performance of holstein dairy cows. *J. Dairy Sci.* 87:3912-3924.

Thomas J. W. and R. S. Emery. 1969. Effects of sodium bicarbonate, magnesium oxide and calcium hydroxide on milk fat secretion. *J. Dairy Sci.* 52:60-63.

Thomas P. C. 1980. Influence of nutrition on the yield and content of milk protein in milk: dietary protein and energy supply. *Int. Dairy Fed., Bull.* 125., *Int. Dairy Fed.*, Brussels. Belgium.

Tucker W. B., J. K. Harrison and R. W. Hemken. 1988. Influence of dietary cation-anion balance on milk, blood urine, and rumen fluid in lactating dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 71:346-354.

Van Soest P. J. 1994. Nutritional Ecology of the Ruminant, Second Edition. Cornell University Press, Ithaca, New York.

Xin Z., W. B. Tucker and R. W. Hemken. 1989. Effect of reactivity rate and particle size on magnesium availability, acid-base balance, mineral metabolism, and milking performance of dairy cows. J. Dairy Sci. 72:462-470.

강정부 외 15인. 2006. 수의임상병리. 기전연구사.

한국동물자원과학회, 농림수산식품부. 축산용어사전 제2판. 한림원.