

***Corresponding author:**

Eun-Tae Kim

Dairy Science Division, National Institute of Animal Science, Rural Development Administration, 114 Shinbang 1-gil, Cheonan 31000, Korea

Tel: +82-41-580-3399

E-mail: etkim77@korea.kr

<https://orcid.org/0000-0001-7486-5638>

†Jun-Sik Eom and Dong-Hyun Lim contributed equally to this work.

Conflict of interest:

The authors declare no conflict of interest.

Received: Apr 23, 2024

Revised: May 31, 2024

Accepted: Jun 7, 2024

© 2024 The Korean Society of Veterinary Science.

© This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial license (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>), which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

홀스타인과 저지종의 초유 내 영양 성분, 면역글로불린 및 미생물 군집 변화 비교: 국내 관찰 연구

엄준식^{1,†}, 임동현^{1,†}, 최하영¹, 성원제¹, 허태영¹, 김상범¹, 이성실², 문여황³, 김언태^{1,*}

¹농촌진흥청 국립축산과학원 낙농과

²경상국립대학교 응용생명과학부(BK21)

³경상국립대학교 동물생명융합학부

Comparison of nutritive composition, immunoglobulin and microbial community in the colostrum between Holstein and Jersey cows: an observational study in Korea

Jun-Sik Eom^{1,†}, Dong-Hyun Lim^{1,†}, Ha-Young Choi¹, Won-Jae Sung¹, Tai-Young Hur¹, Sang-Bum Kim¹, Sung-Sill Lee², Yea-Hwang Moon³, Eun-Tae Kim^{1,*}

¹Dairy Science Division, National Institute of Animal Science, Rural Development Administration, Cheonan 31000, Korea

²Division of Applied Life Science (BK21), Gyeongsang National University, Jinju 52828, Korea

³Division of Animal Bioscience and Integrated Biotechnology, Gyeongsang National University, Jinju 52828, Korea

Abstract

This study examined the colostrum nutritive composition, immunoglobulin (Ig), and microbial community in Holstein and Jersey dairy cows according to the time after calving. The experiment used seven Holstein and three Jersey dairy cows. Colostrum was collected immediately after calf calving, 12, and 24 hours, and stored at -80°C until analysis. An analysis of the nutritive composition in colostrum was performed using LactoScop. The immune indicators were analyzed using an ELISA Kit, and the microbial community was assessed using a MacroGen Inc. The protein level was high in all colostrum samples from Holstein dairy cows compared with Jersey dairy cows, but there was no significant difference according to the time after calving. Immune index analysis revealed high IgG and IgA concentrations in the colostrum of Holstein cows immediately after calving and 12 and 24 hours after calving, but the differences were not significant. The microbial community at the genus level revealed *Staphylococcus* to be predominant at a high rate in the colostrum of Holstein dairy cows and *Enterococcus* in Jersey dairy cows 12 hours after calving. *Pseudomonas* was predominant at a high rate in the colostrum of Jersey lactating cows immediately and 12 hours after calving. *Chryseobacterium* was predominant at a high rate in Holstein dairy cows 12 and 24 hours after calving. In conclusion, these results are expected to be used as research data on the correlation between quality, immunity, and microbial community in the colostrum.

Keywords: colostrum, Holstein, immunity, Jersey, microbiota

서론

가축에 서식하는 미생물의 다양성, 숙주와의 상호 작용 구명은 “오믹스(omics)” 기술의 발전으로 인해 밝혀지고 있다. 그중 metagenomics는 미생물 집단의 특성을 구명할 수 있으며[1], 복잡한 미생물 생태계에서 우세 또는 하위 미생물과 그 역할을 식별하기 위한 학문이다. 그중 착유우의 우유를 이용한 연구로는 사료 섭취에 따른 착유우 품종 간 미생물 군집 분석[2], 가공 단계, 품질, 제품의 성숙도, 풍미, 맛 질감, 제품 유통기한에 미치는 영향에 대한 주제로 진행되었으나[3], 초유를 이용한 연구는 비교적 미비한 실정이다.

초유는 신생아와 갓 태어난 송아지의 성장과 건강에 밀접한 관계가 있으며, 생명 유지 등에 중요한 역할을 하며[4], 주요 면역 지표인 면역글로불린(immunoglobulin, Ig) G, IgA, IgM 등이 함유되어 있다. 면역글로불린 성분은 송아지 출생 후 2-4시간에서 최대 16-27 시간 동안 흡수되며, 시간이 지날수록 흡수 능력은 감소된다[5]. 그러므로 생후 일정기간 초유를 섭취하는 것은 필수적이다[6]. 이와 같은 이유는 갓 태어난 송아지는 모체 항체에 대한 소 태반의 불투과성으로 인해 면역이 없는 상태로 태어나기 때문이다[7]. 또한, probiotics로 널리 사용되고 있는 유익균 *Bifidobacterium*과 *Lactobacillus* 등이 함유되어 있으며[8], 영양소가 풍부하고 주요 성장인자와 항균 효과의 장점이 있다[9].

국외에서는 분만 후 시간에 따른 초유 내 유질, 아미노산, 면역 변화 뿐 아니라, 초유의 품질과 장내 미생물, 초유 내 미생물과 면역 간의 상관관계 구명 연구가 진행되고 있다[10]. 또한 초유 내 미생물을 이용한 송아지의 성장, 면역력 유지 및 향상을 위한 postbiotics 후보군 선별 관련 연구도 수행되고 있다[11]. 국내에서는 초유의 관리와 이용[12], 산차에 따른 착유우의 초유 내 면역 관련 단백질 변화[13] 등의 연구가 진행되어 있으나, 착유우의 분만 후 초유 내 유질, 면역 및 미생물 군집에 대한 연구는 매우 미비한 실정이다.

따라서 이번 연구는 홀스타인(Holstein)과 저지종 착유우의 분만 직후, 12시간 및 24시간 후 초유 내 유질, 면역 및 미생물 군집을 분석하여 축종과 시간대별로 비교하였다.

재료 및 방법

공시 동물 및 시험 사료

본 시험에 이용된 공시 동물은 동물보호법과 국립축산과학원 동물실험윤리위원회에서 검토 승인한 동물실험 방법에 따라 진행되었다(승인번호: NIAS-2019107). 홀스타인종 착유우 7두(개월령, 59.23 ± 4.91 [average ± standard error of the means]; 체중, 735.42 ± 36.28 kg; 산차, 2.67 ± 0.33)와 저지종 착유우 3두(개월령, 96.54 ± 20.40; 체중, 488.67 ± 20.34 kg; 산차, 4.33 ± 0.88)을 선발하여 시험에 이용하였다. 급여 사료는 한국가축사양표준(2022)의 영양소 요구량에 따라 국립축산과학원 낙농과에서 조사료

와 농후사료를 40:60의 비율로 total mixed ration (TMR)을 제조하였으며, 공시 동물이 자유채식하도록 하였다. TMR의 사료 성분 분석 결과는 Table 1과 같다. 홀스타인과 저지종 송아지의 생시 체중은 각각 37.57 ± 2.59 kg과 25.33 ± 1.33 kg이었으며, 분만 직후 어미소는 회복동으로 이동하였고, 수의사를 통해 분만 후 발병될 수 있는 질병 진단, 기립 상태, 사료 섭취량 등을 모니터링한 결과 건강 상태는 양호한 것으로 판단되었다.

초유 채취 및 영양 성분 분석

초유는 홀스타인과 저지종 착유우의 송아지 분만 직후, 12시간 및 24시간에 채취하였다. 채취 전 유두와 주변을 마른 천을 이용하여 1차 세척 후 70% ethyl alcohol을 거즈에 묻혀 2차 세척하였다. 채취자는 latex glove 착용 후 70% ethyl alcohol로 소독 진행 후 70°C의 물로 세척한 양동이에 각각의 샘플링하였으며, 그 후 50 mL conical tube에 30 mL씩 옮겨 담아 -80°C에 보관하였다.

-80°C에 보관 중인 초유를 4°C에서 녹인 후 지방, 단백질, 유당 및 고형분 분석은 국제 표준에 따라 LactoScop (MK2; Delta Instruments, The Netherlands)를 이용하여 단파 적외선 영역(short wavelength infrared)과 중파 적외선 영역(mid-wavelength infrared)에 해당하는 5,011-925 cm⁻¹ 스펙트럼의 범위에 걸쳐 분석하였다.

면역 분석

-80°C에 보관 중인 초유를 4°C에서 녹인 후 enzyme-linked im-

Table 1. Chemical composition of the total mixed ratio

Item ^a	Contents
Mineral composition (DM basis, %)	
Ash	7.18
Calcium	0.66
Potassium	0.30
Copper (mg/kg)	18.40
Zinc (mg/kg)	115.73
Iron (mg/kg)	240.67
Manganese (mg/kg)	84.24
Chemical composition (DM basis, %)	
Dry matter	57.27
Crude protein	15.62
Crude fat	3.48
Crude fiber	21.60
Neutral detergent fiber	52.32
Acid detergent fiber	36.16
Non-fiber carbohydrates ^b	21.40
Energy (Mcal/kg)	
Metabolizable energy	2.35
Net energy for lactation	1.61
Total digestible nutrient (%)	70.36

DM, dry matter.

^aChemical analysis was performed by Woosung Feed Co., Ltd (Korea).

^bAccording to Hall (2000) equation.

munosorbent analysis (ELISA) Kit의 프로토콜에 따라 IgG (#Cat: E-10G; Immunology Consultants Laboratory, USA), IgM (E-10M; Immunology Consultants Laboratory) 및 IgA (E-10A, Immunology Consultants Laboratory)의 농도를 정량 평가하였다. 정밀정량 평가를 위해 phosphate-buffered saline buffer로 초유를 희석하였고, 그 후 vortex mixer를 사용하여 단계희석하였다. IgG는 1/400,000로, IgM과 IgA는 1/20,000의 농도로 희석 후 100 μ L를 plate에 옮겨 담았으며, micro-plate spectrometer (Bioand, Korea)를 이용하여 450 nm에서 측정하였다. 또한 농도 정량을 위해 표준물질을 사용하여 표준 곡선 그래프를 나타내었다.

초유 내 영양 성분과 면역 분석 결과의 통계분석은 GraphPad prism 8.0 program (GraphPad software)을 사용하였으며, Bonferroni's multiple comparison을 이용한 ANOVA 분석을 통해 결과를 도출하였다($p < 0.05$).

미생물 군집 분석

미생물 군집 분석은 차세대 염기서열 분석법인 next generation sequencing을 이용하였으며, Macrogen Inc. (Korea)에 의뢰하여 분석하였다. 초유의 라이브러리 구성을 위해 제조사의 프로토콜에 따라 DNeasyPowerSoil Kit (Qiagen, Germany)를 이용하여 DNA를 추출하였고, 각각의 sequencing된 시료는 Illumina 16S metagenomic sequencing library 프로토콜에 따라 준비하였다. DNA의 정량과 품질은 Quant-IT PicoGreen (Invitrogen, USA) 및 Nanodrop ND-2000 spectrophotometer (Thermo Fisher Scientific Inc., USA)을 이용하여 측정하였다. 박테리아의 군집 분석은 16S rRNA 유전자의 V3-V4 영역을 증폭하는 primer (V3-F: 5'-TCGTCGGCAGCGTCAGATGT-GTATAAGAGACAGCCTACGGGNGGCWGCAG-3', V4-R: 5'-GTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACAGGACTACHVGGGTATCTAATCC-3')를 사용하여 polymerase chain reaction (PCR) 증폭을 하였으며, PCR mixture는 herculase II fusion DNA polymerases (Agilent Technologies Inc., USA)를 사용하였다. 1차 PCR은 AMPure beads (Agencount Bioscience, USA)를 이용하였으며, NexteraXT Indexed primer를 사용하여 bar code를 붙이는 2차 PCR을 진행하였다. 최종 산물은 PicoGreen을 이용하여 정규화 및 통합하였고, qPCR quantification 프로토콜 가이드(KAPA Library Quantification kits for Illumina Sequencing platforms)와 TapeStation D1000 ScreenTape (Agilent Technologies, Germany)를 이용하여 라이브러리의 농도와 크기를 측정하였다. 최종 PCR 산물은 차세대 염기서열 분석인 Illumina Miseq platform을 사용하여 제조사의 매뉴얼에 따라 Macrogen Inc.에서 수행하였다. 염기서열 분석이 완료된 후 품질 평가를 위해 FastQC (FastQC; ver. 0.11.8)를 통해 Q score가 20 이상인 부분을 사용하였으며, 분석의 정확성 향상을 위해 KneadData (KneadData; The Huttenhower Lab)를 이용

하여 host 서열 및 adapter 서열을 제거한 후 데이터 분석을 수행하였다. 이렇게 얻어진 DNA 판독 값을 centrifuge 방법과 NCBI 데이터베이스를 이용하여 각 시료의 DNA 판독 값들을 분류하였다. 이를 바탕으로 QIIME2 (ver. 2021.11)를 이용하여 미생물 군집 분석을 수행하였고, phylum과 genus 수준의 분류학적 조성을 나타내었다.

결과

초유 내 영양 성분 및 면역 지표 변화

홀스타인과 저지종 착유우의 분만 직후, 12시간 및 24시간 후 초유 내 지방, 단백질, 유당 및 고형분 분석 결과는 Fig. 1과 같다. 분만 직후 홀스타인종 착유우의 초유 내 지방, 단백질, 유당 및 고형분 함량은 각각 약 5.85%, 16.24%, 2.68% 및 24.95%, 저지종 착유우의 초유에서는 약 8.37%, 14.11%, 3.18% 및 25.9%를 보였다. 측정 간 비교 결과, 분만 직후 초유 내 지방(5.85% vs. 8.37%) 함량은 홀스타인종 착유우에 비해 저지종 착유우에서 높은 농도를 보였으나, 유의적($p > 0.05$)인 차이를 보이지 않았고, 분만 직후 단백질(16.24% vs. 14.11%) 함량은 저지종 착유우에 비해 홀스타인 착유우에서 높은 농도를 보였으나 유의적($p > 0.05$)인 차이를 보이지 않았다. 측정별 시간대에 따른 유질은 유의적($p < 0.05$) 차이를 보였지만, 측정 간 시간대별 유질은 유의적($p > 0.05$) 차이를 보이지 않았다. 또한 저지종 착유우의 우유는 홀스타인종 착유우의 우유에 비해 유지방과 유단백질 함량이 비교적 높다고 알려져 있으나, 초유에서는 각 성분별 다른 결과를 보인 것을 확인할 수 있었다.

홀스타인과 저지종 착유우의 분만 직후, 12시간 및 24시간 후 초유 내 면역 지표 분석 결과는 Fig. 2와 같다. 홀스타인과 저지종 착유우의 분만 직후 초유 내 IgG 농도는 평균 147.93과 96.61 mg/mL, 분만 후 12시간에서는 평균 112.46과 82.06 mg/mL, 그리고 분만 후 24시간에서는 평균 68.97과 52.80 mg/mL의 농도를 보였다. 이는 측정별 분만 직후 초유에 비해 분만 후 12시간과 24시간대 초유 내 면역 관련 지표 함량이 유의적($p < 0.05$)으로 감소하는 것을 확인 할 수 있었다. 또한 저지종 착유우에 비해 홀스타인종 착유우의 초유에서 높은 농도를 보였지만 유의적($p > 0.05$)인 차이를 보이지 않았다.

초유 내 미생물 군집 변화

홀스타인과 저지종 착유우의 분만 직후, 12시간 및 24시간 후 초유 내 phylum 수준의 미생물 군집 조성비율 변화 결과는 Figs. 3, 4와 Supplementary Tables 1-3과 같다. 분만 직후 초유에서는 두 측정 간 8종의 미생물이 공통적으로 확인되었고, 홀스타인과 저지종 착유우에서 각각 1종과 7종의 고유의 미생물을 확인하였다(Fig. 3; relative abundance $\geq 0.1\%$). 그중 홀스타인종 착유우에서는 *Proteobacteria* (40.28%), *Firmicutes* (32.4%), *Bacteroidetes* (11.23%), *Actinobacteria* (10.19%) 및 *Deniocooccus-Thermus*

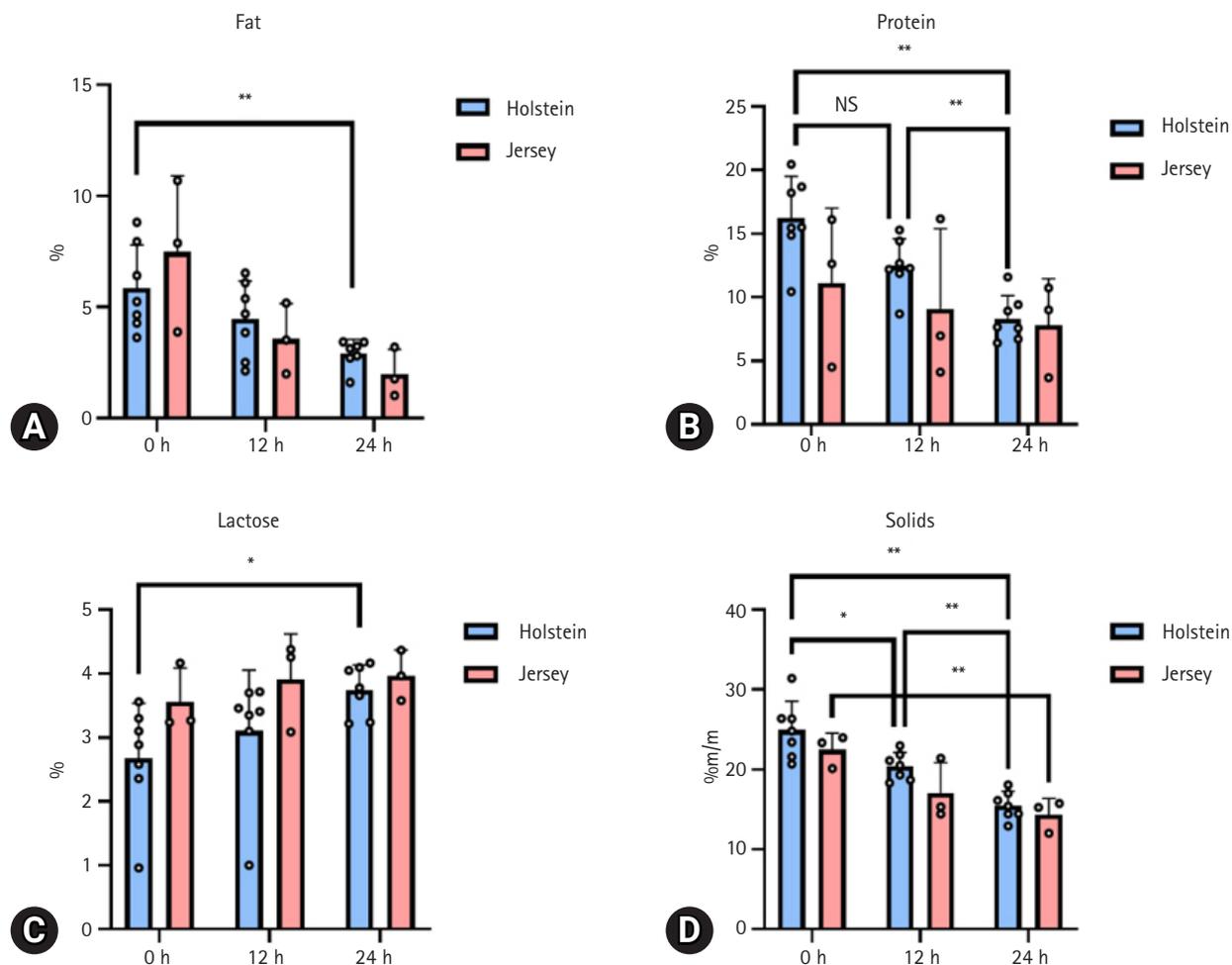


Fig. 1. (A) Fat, (B) protein, (C) lactose, and (D) solids content in the colostrum of Holstein and Jersey dairy cows at 0, 12, and 24 hours. Significance determined at * $p < 0.05$ and ** $p < 0.01$ Holstein, $n = 7$; Jersey, $n = 3$. NS, not significance ($p > 0.05$).

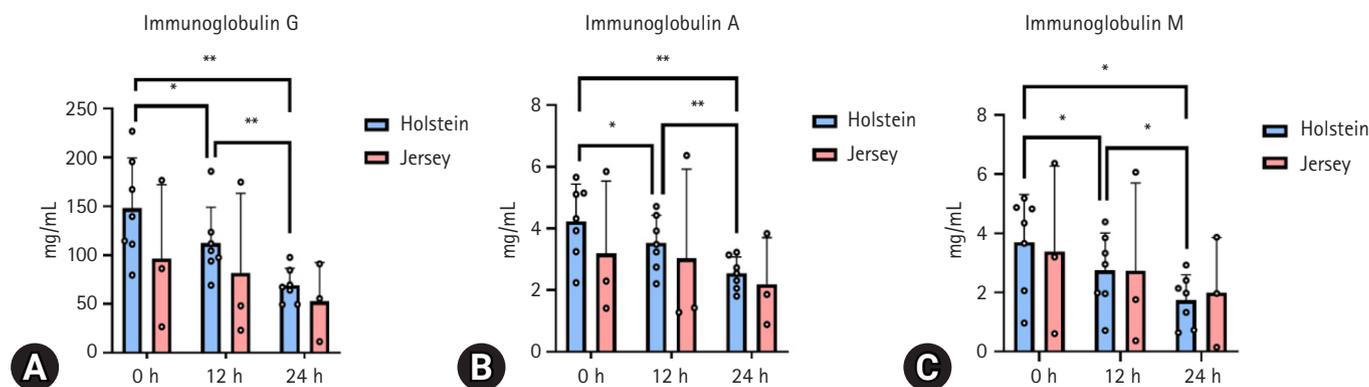


Fig. 2. Concentrations of immunoglobulins G (A), A (B), and M (C) in the colostrum of Holstein and Jersey dairy cows at 0, 12, and 24 hours. Significance determined at * $p < 0.05$ and ** $p < 0.01$. Holstein, $n = 7$; Jersey, $n = 3$.

(3.02%)의 균집 비율을 보였으며, 저지종 착유우에서는 *Proteobacteria* (46.47%), *Firmicutes* (26.20%), *Actinobacteria* (15.66%),

Bacteroidetes (6.44%) 및 *Deniocooccus-Thermus* (< 1%)의 균집 비율을 보였다. 두 축종 간 비교 결과, 세 번째로 높은 균집 비율을 보

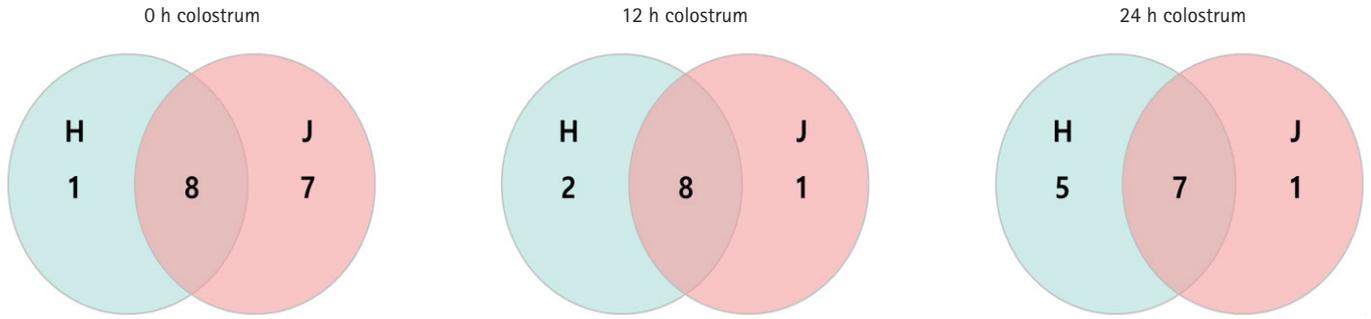


Fig. 3. Venn diagrams showing the phyla of colostrum microbes shared between and unique to the Holstein and Jersey dairy cows. Relative abundance of major phyla (relative abundance $\geq 0.1\%$) for all individuals. H, Holstein; J, Jersey. Holstein, n = 7; Jersey, n = 3.

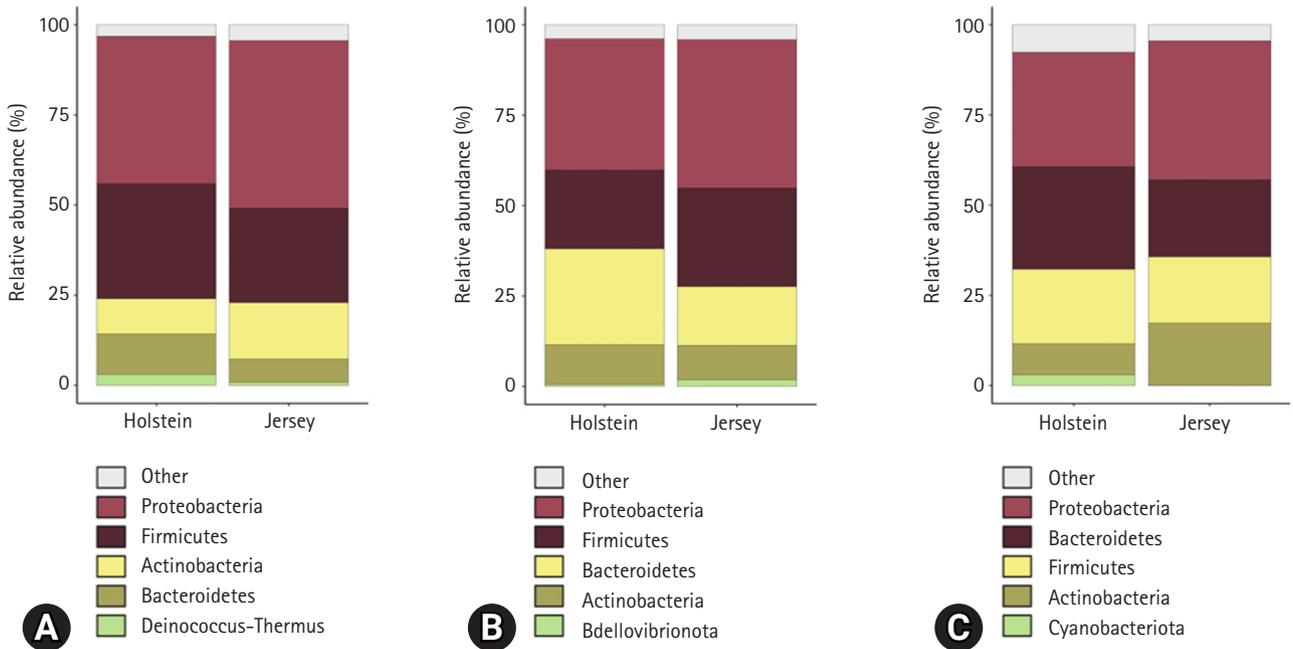


Fig. 4. Bacterial composition and dynamics of the colostrum at the phylum level in Holstein and Jersey dairy cows at 0 (A), 12 (B), and 24 hours (C). Relative abundance of the five predominant phyla in the two groups (Relative abundance $\geq 1\%$ and values are the averages). Holstein, n = 7; Jersey, n = 3.

인 미생물(홀스타인종 착유우, *Bacteroidetes*; 저지종 착유우, *Actinobacteria*)이 다르다는 것을 알 수 있었다(Fig. 4A and Supplementary Table 1; relative abundance $\geq 1\%$). 분만 12시간 후 초유에서는 두 축종 간 8종의 미생물이 공통적으로 확인되었고, 홀스타인과 저지종 착유우에서 각각 2종과 1종의 고유 미생물을 확인하였다(Fig. 3; relative abundance $\geq 0.1\%$). 그중 홀스타인종 착유우에서는 *Proteobacteria* (36.37%), *Bacteroidetes* (26.54%), *Firmicutes* (21.73%), *Actinobacteria* (10.99%) 및 *Bdellovibrionota* (< 1%)의 균집 비율을 보였으며, 저지종 착유우에서는 *Proteobacteria* (41.04%), *Firmicutes* (27.26%), *Bacteroidetes* (16.27%), *Actinobacteria* (9.51%) 및 *Bdellovibrionota* (1.81%)의 균집 비율을 보였다. 두 축종

간 비교 결과, 세 번째로 높은 균집 비율을 보인 미생물(홀스타인종 착유우, *Firmicutes*; 저지종 착유우, *Actinobacteria*)이 다르다는 것을 알 수 있었고, 시간대별 초유 내 미생물 균집 비교 결과, 12시간에서는 *Bdellovibrionota*가 새로운 균집을 보였다(Fig. 4B and Supplementary Table 2; relative abundance $\geq 1\%$). 분만 24시간 후 초유에서는 두 축종 간 7종의 미생물이 공통적으로 확인되었고, 홀스타인과 저지종 착유우에서 각각 5종과 1종의 고유 미생물을 확인하였다(Fig. 3; relative abundance $\geq 0.1\%$). 그중 홀스타인종 착유우에서는 *Proteobacteria* (31.74%), *Bacteroidetes* (28.41%), *Firmicutes* (20.66%), *Actinobacteria* (8.59%) 및 *Cyanobacteriota* (2.97%)의 균집 비율을 보였으며, 저지종 착유우에서는 *Proteobacteria*

(38.52%), *Bacteroidetes* (21.35%), *Firmicutes* (18.36%), *Actinobacteria* (17.3%) 및 *Cyanobacteriota* (< 1%)의 군집 비율을 보였다. 두 축종 간 비교 결과, 우점 미생물 군집의 순서는 비슷하였으며, 시간 대별 초유 내 미생물 군집 비교 결과, 24시간에서는 *Cyanobacteriota*가 새로운 군집을 보였다(Fig. 4C and Supplementary Table 3; relative abundance $\geq 1\%$).

홀스타인과 저지종 착유우의 분만 직후, 12시간 및 24시간 후 초유 내 genus 수준의 미생물 군집 구성과 비율 변화 결과는 Figs. 5, 6 과 Supplementary Table 1-3과 같다. 분만 직후, 12시간 및 24시간 후 홀스타인과 저지종 착유우의 초유에서 각각 49, 52 및 50종의 genus 수준 미생물이 공통으로 확인되었고, 홀스타인종 착유우에서는 각각 49, 36 및 43종과 저지종 착유우에서는 각각 61, 20 및 23

종의 genus 수준 고유 미생물을 확인하였다(Fig. 5; relative abundance $\geq 0.1\%$). 그중 *Stenotrophomonas*는 분만 직후 홀스타인종 착유우에 비해 저지종 착유우의 초유에서 높은 군집 비율을 보였고 (2.08% vs. 14.02%), 12시간(1.17% vs. 1.67%)에서는 비슷한 군집 비율을 보였으며, 24시간에서는 발견되지 않았다. *Staphylococcus*는 분만 직후(12.4% vs. 4.95%)와 12시간(5.08% vs. < 1%)에서는 저지종 착유우에 비해 홀스타인종 착유우의 초유에서 높은 군집 비율을 보였으며, 24시간에서는 발견되지 않았다. *Enterococcus*는 분만 직후에는 두 축종 간 비슷한 군집 비율을 보였으나(1.91% vs. 2.06%), 12시간(< 1% vs. 19.80%)과 24시간(< 1% vs. 15.25%)에서는 홀스타인종 착유우에 비해 저지종 착유우의 초유에서 높은 군집 비율을 보였다. *Chryseobacterium*는 분만 직후(2.17% vs. < 1%), 12시간

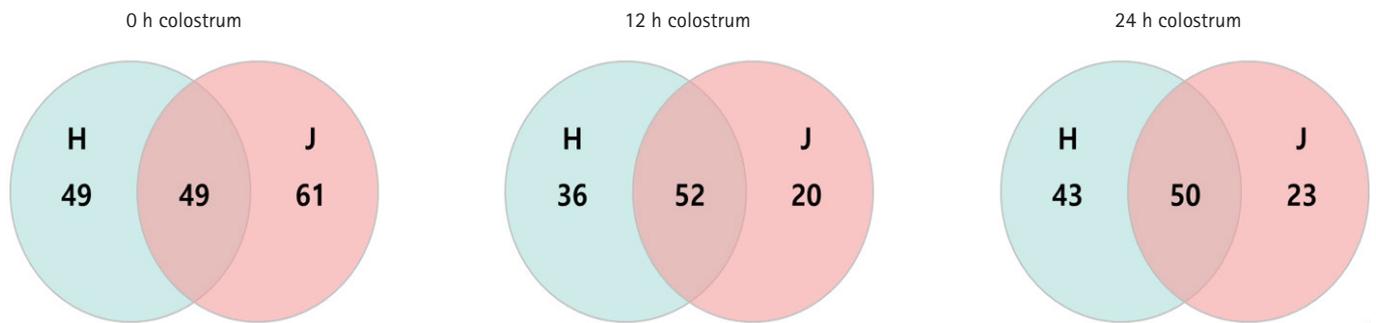


Fig. 5. Venn diagrams showing the genera of colostrum microbes shared between and unique to the Holstein and Jersey dairy cows. Relative abundance of the major genera (relative abundance $\geq 0.1\%$) for all individuals. H, Holstein; J, Jersey. Holstein, n = 7; Jersey, n = 3.

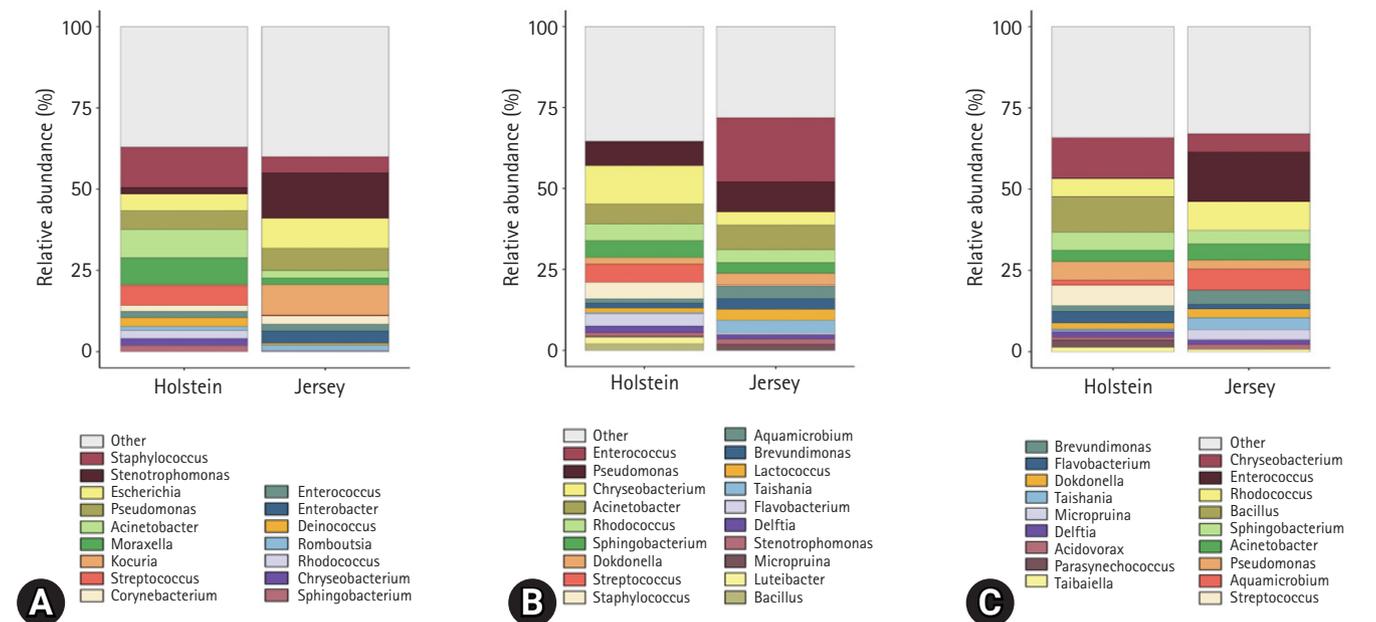


Fig. 6. Bacterial composition and dynamic for colostrum at the genus level in Holstein and Jersey dairy cows at 0 (A), 12 (B), and 24 hours (C). Relative abundance of the 16, 19, and 18 predominant genera in the two groups at 0, 12, and 24 hours, respectively (relative abundance $\geq 1\%$ and values are the averages). Holstein, n = 7; Jersey, n = 3.

(11.77% vs. 4.01%) 및 24시간(12.45% vs. 5.64%)에서 저지종 착유우에 비해 홀스타인종 착유우 초유에서 높은 균집 비율을 보였으며, *Rhodococcus*는 분만 직후(2.48% vs. not detected)와 12시간(5.23% vs. 3.98%)에서 저지종 착유우에 비해 홀스타인종 착유우에서 높은 균집 비율을 보였고, 24시간(5.48% vs. 8.80%)에서는 홀스타인종 착유우에 비해 저지종 착유우에서 높은 균집 비율을 보였다.

고찰

초유 내 지방은 갓 태어난 송아지의 주요 에너지원이며[14], 단백질은 약 24시간 동안 gluconeogenesis에 중요한 역할을 하고, 이는 뇌가 사용하는 핵심 에너지원인 glucose 생산과 관련이 있다[4]. Soufleri 등[15]에 따르면 초유 내 성분은 환경, 사료 및 산차에 따라 달라질 수 있으며, 일반농가의 홀스타인 착유우의 분만 직후 초유 내 성분분석 결과, 지방 약 6.37%, 단백질 약 17.83%, 유당 약 2.15% 및 고형분 약 25.80% 범위의 결과를 보였다. Morrill 등[16]의 연구에 따르면, 지역, 산차 및 초유의 보관 상태에 따른 홀스타인 종과 저지종 착유우의 초유 내 성분 비교 결과, 지방(홀스타인종 vs. 저지종; 5.3% vs. 5.3%), 단백질(12.5% vs. 12.6%), 유당(3.0% vs. 2.9%) 및 고형분(22.2% vs. 23.0%) 함량은 유의적($p > 0.05$)인 차이를 보이지 않았다. 이번 연구에서도 선행연구와 유사한 결과를 보였으며, 또한 Lim 등[17]의 결과와 유사하였다. 초유 내 면역글로불린 중 IgG는 약 80-90%, IgM은 약 7%, IgA는 약 5%의 비율을 차지하며 [6], IgM과 IgA(약 3-4일)는 IgG(약 21-28일)보다 비교적 짧은 반감기를 가지고 있다[18]. 그중 IgG는 초유 내 주된 면역글로불린으로서 초유의 품질과 직접적인 연관이 있으며, 일반적으로 초유 내 IgG 농도가 50 g/L 이상 함유되어 있으면 좋은 품질을 유지한다고 할 수 있다[19]. 또한 초유 내 IgG 농도가 50 g/L 미만이면 불량, 50 g/L 이상 100 g/L 미만이면 양호, 100 g/L 이상이면 우수한 품질로 평가되며 [20], Morrill 등[16]의 연구에 따르면 지역, 산차 및 초유의 보관 상태에 따른 홀스타인종과 저지종 착유우의 초유 내 평균 IgG의 농도는 각각 74.2와 65.8 mg/mL의 결과를 보였다. 이번 연구의 홀스타인과 저지종 착유우의 분만 직후부터 24시간의 초유 내 지방, 단백질 및 유당 함량은 선행연구결과와 유사하였으며, 또한 IgG 농도가 50 g/L 이상이므로 초유 품질은 양호한 것으로 판단할 수 있었다.

Dunn 등[21]에 따르면 초유 내 유당은 IgG의 농도와 음의 상관관계가 있다고 하였으며, 이는 유당 농도가 증가하게 되면 IgG를 희석한다는 결과를 제시하였다. 또한 Parrish 등[22]에 따르면 IgG는 단백질로 구성되어 있으므로 초유 내 단백질 함량과 양의 상관관계에 있음을 시사하였으며, 최근 연구에 따르면 초유 내 단백질과 IgG 농도 간의 약 70%의 상관관계를 확인하였다[23]. 또한, Bartier 등[24]에 따르면 초유 내 고형분 함량을 측정하여 면역글로불린 함량을 간접적으로 평가할 수 있다고 하였으나, Morrill 등[16]은 홀스타인과 저지종 착유우의 초유 내 영양 성분과 IgG 농도는 상관관계가

없다고 하였다. 이번 연구에서는 두 축종 간 시간대별 유질과 면역 지표는 유의적($p > 0.05$) 차이를 보이지 않았지만, 홀스타인종 착유우의 시간대별 유당과 단백질 함량의 결과는 IgG 농도에 영향을 줄 수 있는 가능성을 시사하였으며, 이는 Parrish 등[22]과 Løkke 등[23]의 선행연구결과와 유사하였다.

초유 품질은 일반적으로 IgG 농도에 의해 평가되지만 송아지의 수동적 면역 전달력과 초유를 이용한 산업 공정에 영향을 미칠 수 있으므로[25], 초유 내 미생물 균집 분석이 필요하다. Van Hese 등[10]의 연구에 따르면, Holstein Friesian (HF)과 Belgian Blue종 착유우 초유 내 phylum 수준의 *Proteobacteria*, *Firmicutes*, *Bacteroidetes* 및 *Actinobacteria*가 우점하였으며, 사람의 모유와 돼지의 초유에서도 비슷한 경향의 미생물 균집 우점 결과를 보였다[26]. 또한 Niyazbekova 등[27]의 연구에 따르면 염소의 초유 내 *Proteobacteria*, *Actinobacteria*, *Firmicutes* 및 *Bacteroidetes*의 순서로 우점한 결과를 보였다. 이번 연구의 초유 내 phylum 수준의 미생물 균집 비율 축종과 시간대별로 차이를 보였으나, 우점한 미생물의 종류는 축종별 큰 차이를 보이지 않는 것을 확인하였으며, 선행연구결과와 유사하였다.

초유 내 병원성 박테리아의 균집은 어미소의 영양, 질병 등과 같은 건강상태[28], 분만 시 주변 환경, 초유 수집 및 보관 등과 같은 환경적 요인에 따라 변화할 수 있다[6]. *Stenotrophomonas*는 일반적으로 사람과 동물을 감염시킬 수 있는 병원성 박테리아의 일종으로, 착유우의 유 생산량이 감소하는 부정적인 영향을 줄 수 있다. 선행 연구에 따르면, 유방 관련 질환에 노출된 착유우의 유선과 우유에서 *Stenotrophomonas*가 높은 균집을 보였는데, 이는 유선조직에 감염을 일으켜 이와 같은 질환을 일으킬 수 있다고 하였다[29]. 그러나 Zhang 등[2]의 연구에 따르면 아급성 산독증이 유발된 착유우에서도 위와 같은 결과를 보였지만, 균집 비율과 유방염과의 연관성을 확립할 수 없다고 하였다. Lima 등[30]의 연구에 따르면 유방염이 걸린 착유우와 건강한 착유우의 초유 내 genus 수준의 미생물 균집 비교 결과, 건강한 착유우의 초유 병원성 박테리아인 *Staphylococcus*가 발견되었다고 하였다. *Staphylococcus*는 초유 내 가장 높은 균집 비율을 보이고 우유 내 질소를 분해해 유질 향상에 도움을 줄 수 있으며, 체세포 수와는 음의 상관관계를 보인다고 하였다[31]. 착유우의 우유에서 분리한 *Enterococcus*는 일반적으로 박테리오파지, 유기산, 과산화수소 등의 물질을 생성하여 유방염의 병원성 박테리아의 성장을 억제시키는 유익균으로 알려져 있다[32]. *Chryseobacterium*은 우유와 유제품에 부정적인 영향을 준다고 알려져 있으나[3], Hantsis-Zacharov 등[33]에 따르면 우유 내 *Chryseobacterium*은 약 4-5% 비율을 차지하고, H8^T strain 유전자와 관련이 있으며, 이는 지방과 단백질 분해 활성에 영향을 줄 수 있다고 하였다. 또한 우유와 치즈에서 흔히 발견된다고 알려져 있다[34]. 또한 Coton 등[34]의 연구 결과와 비교하였을 때 *Chryseobacterium*은 우유에 비해 초유에서 비교적 높은 균집 비율을 보이는 것을 알 수 있었다.

*Rhodococcus*는 유방염에 걸린 착유우의 우유에서 발견되지만, 유제품의 풍미, 생물학적 화합물 생산 및 기능에 기여할 수 있는 지방 대사, 지방산 합성과 당지질 대사에 중요한 역할을 한다[35]. 최근 연구에 따르면, 초유나 우유 내 병원성 박테리아는 갓 태어난 동물에게 부정적인 영향을 주는 것으로 간주되어져 왔으나, 일정량의 병원체에 노출된 동물은 후속 감염에 대한 저항력이 더 강한 내성을 가질 수 있다[36]. Chen 등[37]의 연구 결과에서도 건강한 착유우의 초유에는 유익균과 앞서 언급된 병원성 박테리아가 모두 포함되어 있다는 것을 확인하였으며, Bartkiene 등[38]의 연구에 따르면 초유 내 *Enterococcus*와 *Staphylococcus*는 IgG 농도와 양의 상관관계가 있다고 하였다. 또한, 병원성 박테리아를 포함한 초유 내 박테리아들은 장내 미생물 군집 형성에 매우 중요하다고 알려져 있다[39]. 그러므로 일반적으로 병원성 박테리아로 알려진 미생물들은 초유에서 갓 태어난 송아지의 면역 형성에 관련이 있는 것으로 판단되며, Chen 등[37]은 초유 내 병원성 박테리아가 송아지의 조기 면역 향상 간의 상관관계 연구의 필요성을 언급하였다. 이번 연구에서는 축종 별 시간대에 따라 genus 수준의 *Stenotrophomonas*, *Staphylococcus*, *Enterococcus*, *Chryseobacterium* 및 *Rhodococcus*의 군집 비율이 달라진 것을 확인할 수 있었으며, 이는 홀스타인과 저지종 착유우의 초유 내 서로 다른 유익균의 군집뿐 아니라 병원성 박테리아의 종류 및 군집 비율이 다르다는 것을 알 수 있었다.

Van Hese 등[10]의 연구에 따르면, IgG 농도가 낮은 HF종 착유우의 초유 내 *Pseudomonas*와 *Delftia*의 군집의 비율이 높다고 하였으며, Quintieri 등[40]에 따르면 *Pseudomonas*는 우유와 유제품의 품질 저하에 영향을 줄 수 있다고 하였다. 이번 연구에서는 분만 직후와 12시간 초유 내 IgG, 단백질 및 유당 함량은 저지종 착유우에 비해 홀스타인종 착유우에서 높은 농도를 보였으며, 분만 직후(5.74% vs. 6.80%)와 12시간(7.50% vs. 9.29%)의 *Pseudomonas*는 홀스타인종 착유우에 비해 저지종 착유우에서 높은 군집 비율을 보였다. 그러므로 이번 연구를 통해 초유 내 genus 수준의 *Pseudomonas* 군집 비율은 면역뿐 아니라 초유 품질에 영향을 줄 수 있는 가능성을 시사하였다. 그러나 genus 수준의 *Delftia*는 분만 직후에서는 군집 형성이 이루어지지 않았고, 12시간(1.96% vs. 1.36%)에서는 두 축종 간 비슷한 경향의 군집 비율을 보였다. 또한 초유 내 genus 수준의 미생물 군집 종류와 비율이 선행연구와 다른 부분을 확인하였는데, 이는 품종 별 차이뿐 아니라 나라별 지질학적 차이, 섭취 사료의 종류, 환경(계절 포함) 등에 따라 미생물 군집의 변화가 있기 때문이다[41]. 그러므로 향후 국내에 서식하는 착유우의 초유 내 미생물 군집과 기능적 역할 구명뿐 아니라 성분 및 면역 간의 상관관계 연구가 필요할 것으로 생각된다.

이번 연구를 통해 축종과 시간대별 초유 내 미생물 군집 비율과 종류가 서로 다르다는 것을 확인할 수 있었으며, 이는 초유의 유질과 면역에 영향이 있을 가능성을 확인하였다. 이와 같은 결과는 국내 착유우의 초유를 이용한 미생물, 면역 및 유질 간 상관관계 연구의 기초

자료로써 쓰일 수 있을 것으로 생각되고, 향후 초유 내 유용 미생물들을 이용한 홀스타인과 저지종 송아지의 성장, 면역력 유지 및 향상을 위한 postbiotics 개발 및 산업화 연구에 도움이 될 것으로 생각된다.

ORCID

Jun-Sik Eom, <http://orcid.org/0000-0001-5360-0147>

Dong-Hyun Lim, <http://orcid.org/0000-0002-8575-0198>

Ha-Young Choi, <http://orcid.org/0009-0001-8751-3508>

Won-Jae Sung, <http://orcid.org/0009-0004-0820-3862>

Tai-Young Hur, <http://orcid.org/0000-0003-3129-2942>

Sang-Bum Kim, <http://orcid.org/0000-0002-8187-4134>

Sung-Sill Lee, <http://orcid.org/0000-0002-4621-4333>

Yea-Hwang Moon, <http://orcid.org/0000-0001-6586-9557>

Eun-Tae Kim, <http://orcid.org/0000-0001-7486-5638>

Author's Contributions

Conceptualization: Kim ET, Lim DH; Data curation: Eom JS, Sung WJ; Formal analysis: Choi HY, Hur TY; Funding acquisition: Kim SB; Investigation: Choi HY, Sung WJ; Methodology: Kim ET, Hur TY; Project administration: Kim ET, Kim SB; Resources: Kim SB; Software: name; Supervision: Kim ET, Kim SB; Validation: Kim ET, Moon YH, Lee SS; Visualization: Eom JS; Writing - original draft: Eom JS, Lim DH; Writing - review & editing: Kim ET, Eom JS, Lim DH, Choi HY, Sung WJ, Hur TY, Kim SB, Lee SS, Moon YH.

Funding

This work was performed with the support of the “Cooperative Research Program for Agricultural Science and Technology Development (Project No. PJ01500604)”, Rural Development Administration, Republic of Korea.

This work was supported by the fund Rural Development Administration, Republic of Korea. The author Jun-Sik Eom was supported by the Research Associate Fellowship Program (2024) of the National Institute of Animal Science, Rural Development Administration, Republic of Korea.

Supplementary Materials

Supplementary data are available at <https://doi.org/10.14405/kjvr.20240020>.

References

1. Garrido-Cardenas JA, Manzano-Agugliaro F. The metagenomics worldwide research. *Curr Genet* 2017;63:819–829.
2. Zhang R, Huo W, Zhu W, Mao S. Characterization of bacterial community of raw milk from dairy cows during subacute ruminal acidosis challenge by high-throughput sequencing. *J Sci Food Agric* 2015;95:1072–1079.
3. Quigley L, O'Sullivan O, Stanton C, Beresford TP, Ross RP, Fitzgerald GF, Cotter PD. The complex microbiota of raw milk. *FEMS Microbiol Rev* 2013;37:664–698.
4. Hammon HM, Steinhoff-Wagner J, Flor J, Schönhusen U, Metges CC. Lactation Biology Symposium: role of colostrum and colostrum components on glucose metabolism in neonatal calves. *J Anim Sci* 2013;91:685–695.
5. Staley TE, Bush LJ. Receptor mechanisms of the neonatal intestine and their relationship to immunoglobulin absorption and disease. *J Dairy Sci* 1985;68:184–205.
6. Godden SM, Lombard JE, Woolums AR. Colostrum management for dairy calves. *Vet Clin North Am Food Anim Pract* 2019;35:535–556.
7. Barrington GM, Parish SM. Bovine neonatal immunology. *Vet Clin North Am Food Anim Pract* 2001;17:463–476.
8. Lindner JD, Santarelli M, Yamagishi CT, Soccol CR, Nevisani E. Recovery and identification of bovine colostrum microflora using traditional and molecular approaches. *Food Technol Biotechnol* 2011;49:364–368.
9. Pakkanen R, Aalto J. Growth factors and antimicrobial factors of bovine colostrum. *Int Dairy J* 1997;7:285–297.
10. Van Hese I, Goossens K, Ampe B, Haegeman A, Opsomer G. Exploring the microbial composition of Holstein Friesian and Belgian Blue colostrum in relation to the transfer of passive immunity. *J Dairy Sci* 2022;105:7623–7641.
11. Linehan K, Ross RP, Stanton C. Bovine colostrum for veterinary and human health applications: a critical review. *Annu Rev Food Sci Technol* 2023;14:387–410.
12. Jeong SG, Ham JS, Kim DH, Chae HS, You YM, Jang AR, Kwon IK, Lee SG. Colostrum management and use in domestic dairy farms. *J Anim Sci Technol* 2009;51:163–170.
13. Hyon YS, Kim WS. Effect of parity on immune-related proteins components in bovine colostrum. *J Dairy Sci Biotechnol* 2016;34:193–198.
14. Okamoto M, Robinson JB, Christopherson RJ, Young BA. Summit metabolism of newborn calves with and without colostrum feeding. *Can J Anim Sci* 1986;66:937–944.
15. Soufleri A, Banos G, Panousis N, Fletouris D, Arsenos G, Kougioumtzis A, Valergakis GE. Evaluation of factors affecting colostrum quality and quantity in Holstein dairy cattle. *Animals (Basel)* 2021;11:2005.
16. Morrill KM, Conrad E, Lago A, Campbell J, Quigley J, Tyler H. Nationwide evaluation of quality and composition of colostrum on dairy farms in the United States. *J Dairy Sci* 2012;95:3997–4005.
17. Lim DH, Mayakrishnan V, Lee HJ, Ki KS, Kim TI, Kim Y. A comparative study on milk composition of Jersey and Holstein dairy cows during the early lactation. *J Anim Sci Technol* 2020;62:565–576.
18. Butler JE. Bovine immunoglobulins: an augmented review. *Vet Immunol Immunopathol* 1983;4:43–152.
19. Korhonen H, Marnila P, Gill HS. Milk immunoglobulins and complement factors. *Br J Nutr* 2000;84 Suppl 1:S75–S80.
20. Quigley JD, Lago A, Chapman C, Erickson P, Polo J. Evaluation of the Brix refractometer to estimate immunoglobulin G concentration in bovine colostrum. *J Dairy Sci* 2013;96:1148–1155.
21. Dunn A, Ashfield A, Earley B, Welsh M, Gordon A, Morrison SJ. Evaluation of factors associated with immunoglobulin G, fat, protein, and lactose concentrations in bovine colostrum and colostrum management practices in grassland-based dairy systems in Northern Ireland. *J Dairy Sci* 2017;100:2068–2079.
22. Parrish DB, Wise GH, Hughes JS, Atkeson FW. Properties of the colostrum of the dairy cow. V. Yield, specific gravity and concentrations of total solids and its various components of colostrum and early milk. *J Dairy Sci* 1950;33:457–465.
23. Løkke MM, Engelbrecht R, Wiking L. Covariance structures of fat and protein influence the estimation of IgG in bovine colostrum. *J Dairy Res* 2016;83:58–66.
24. Bartier AL, Windeyer MC, Doepel L. Evaluation of on-farm tools for colostrum quality measurement. *J Dairy Sci* 2015;98:1878–1884.
25. Fasse S, Alarinta J, Frahm B, Wirtanen G. Bovine colostrum for human consumption: improving microbial quality and maintaining bioactive characteristics through processing. *Dairy* 2021;2:556–575.
26. Moossavi S, Sepehri S, Robertson B, Bode L, Goruk S, Field CJ, Lix LM, de Souza RJ, Becker AB, Mandhane PJ, Turvey

- SE, Subbarao P, Moraes TJ, Lefebvre DL, Sears MR, Khafipour E, Azad MB. Composition and variation of the human milk microbiota are influenced by maternal and early-life factors. *Cell Host Microbe* 2019;25:324–335.
27. Niyazbekova Z, Yao XT, Liu MJ, Bold N, Tong JZ, Chang JJ, Wen Y, Li L, Wang Y, Chen DK, Ma WT. Compositional and functional comparisons of the microbiota in the colostrum and mature milk of dairy goats. *Animals (Basel)* 2020;10:1955.
28. Stelwagen K, Carpenter E, Haigh B, Hodgkinson A, Wheeler TT. Immune components of bovine colostrum and milk. *J Anim Sci* 2009;87(13 Suppl):3–9.
29. Jiang C, Hou X, Gao X, Liu P, Guo X, Hu G, Li Q, Huang C, Li G, Fang W, Mai W, Wu C, Xu Z, Liu P. The 16S rDNA high-throughput sequencing correlation analysis of milk and gut microbial communities in mastitis Holstein cows. *BMC Microbiol* 2023;23:180.
30. Lima SF, Teixeira AG, Lima FS, Ganda EK, Higgins CH, Oikonomou G, Bicalho RC. The bovine colostrum microbiome and its association with clinical mastitis. *J Dairy Sci* 2017;100:3031–3042.
31. Zhou C, Bhinderwala F, Lehman MK, Thomas VC, Chaudhari SS, Yamada KJ, Foster KW, Powers R, Kielian T, Fey PD. Urease is an essential component of the acid response network of *Staphylococcus aureus* and is required for a persistent murine kidney infection. *PLoS Pathog* 2019;15:e1007538.
32. Espeche MC, Pellegrino M, Frola I, Larriestra A, Bogni C, Nader-Macías ME. Lactic acid bacteria from raw milk as potentially beneficial strains to prevent bovine mastitis. *Aerobe* 2012;18:103–109.
33. Hantsis-Zacharov E, Shakéd T, Senderovich Y, Halpern M. *Chryseobacterium oranimense* sp. nov., a psychrotolerant, proteolytic and lipolytic bacterium isolated from raw cow's milk. *Int J Syst Evol Microbiol* 2008;58(Pt 11):2635–2639.
34. Coton M, Delbés-Paus C, Irlinger F, Desmasures N, Le Fleche A, Stahl V, Montel MC, Coton E. Diversity and assessment of potential risk factors of Gram-negative isolates associated with French cheeses. *Food Microbiol* 2012;29:88–98.
35. Liang T, Xie X, Zhang J, Ding Y, Wu Q. Bacterial community and composition of different traditional fermented dairy products in China, South Africa, and Sri Lanka by high-throughput sequencing of 16S rRNA genes. *LWT* 2021;144:111209.
36. Stacy A, Andrade-Oliveira V, McCulloch JA, Hild B, Oh JH, Perez-Chaparro PJ, Sim CK, Lim AI, Link VM, Enamorado M, Trinchieri G, Segre JA, Rehermann B, Belkaid Y. Infection trains the host for microbiota-enhanced resistance to pathogens. *Cell* 2021;184:615–627.
37. Chen B, Tang G, Guo W, Lei J, Yao J, Xu X. Detection of the core bacteria in colostrum and their association with the rectal microbiota and with milk composition in two dairy cow farms. *Animals (Basel)* 2021;11:3363.
38. Bartkiene E, Lele V, Sakiene V, Zavistanaviciute P, Ruzauskas M, Stankevicius A, Grigas J, Pautienius A, Bernatoniene J, Jakstas V, Zadeike D, Viskelis P, Juodeikiene G. Fermented, ultrasonicated, and dehydrated bovine colostrum: changes in antimicrobial properties and immunoglobulin content. *J Dairy Sci* 2020;103:1315–1323.
39. Hang BP, Wredle E, Dicksved J. Analysis of the developing gut microbiota in young dairy calves-impact of colostrum microbiota and gut disturbances. *Trop Anim Health Prod* 2020;53:50.
40. Quintieri L, Fanelli F, Caputo L. Antibiotic resistant *Pseudomonas* Spp. spoilers in fresh dairy products: an underestimated risk and the control strategies. *Foods* 2019;8:372.
41. Van Hese I, Goossens K, Vandaele L, Opsomer G. Invited review: microRNAs in bovine colostrum-focus on their origin and potential health benefits for the calf. *J Dairy Sci* 2020;103:1–15.