

Development of Yeast-Fermented Animal Feed

Myung-Sam Park

Department of Biology, Chonnam National University

(Received Oct. 5)

酵母菌醱酵飼料의 製造 및 飼養에 關한 研究

朴 明 三

全南大學校 文理科大學 生物學科

1975年 10月 5日

Abstract

Out of 96 yeast strains isolated from various natural habitats, five strains were screened based on their ability to ferment agricultural biproducts such as rice-, barley- and wheat-bran, and sawdust. These were identified as *Hansenula anomala var anomala*, *Candida utilis*, *C. pelliculosa*, *Debaryomyces hansenii*, and *Irpex lacteus*. Using these yeasts the above mentioned agricultural biproducts were fermented in various combinations. The fermented product was fed to 180 male Starcrosses for eight weeks and obtained a body weight increase of 15.1g a day, while the unfermented control feed increased 10.5g a day.

緒 論

現在 우리韓國은 經濟開發年次計劃에 따라 새마을 所得增大事業을 活發히 展開하고 있는 차제에 家畜飼料의 開發은 重大한 課題라고 하겠다.

本 研究는 野生酵母菌을 利用한 醱酵飼料로서 家畜飼料와 直結되는 것으로 飼料의 不足狀態에서 벗어나 自給自足を 이룩해야 할 現시점에서 볼 때 너무나 當然한 일이다. 또한 農業加工副產物(槽糠類)의 直接的인 利用만으로는 畜産業의 效率의 發展을 期할 수 없으므로 이들 槽糠類(米糠, 脫脂糠, 大麥糠, 小麥糠)에 野生酵母菌으로 接種 醱酵시켜 濃厚飼料化시킬 수 있는 研究가 時急한 實情이다. 따라서 粗飼料를 濃厚化해서 飼料原料自體의 營養價値를 改善하는 方向으로 醱酵飼料를 값싸게 大量生産할 수 있다면 畜産을 獎勵하려는 目的에서

도 重要하다고 본다. 特히 槽糠類等에다 野生酵母菌을 利用한 醱酵飼料의 製造方法이나 飼養에 對한 研究는 아직 未開拓의 分野이다.

從來 微生物을 利用한 醱酵飼料의 基礎와 實際에 對해서는 佐藤(1959)¹⁾등이 多角的인 研究方法을 提示하고 있다.

特히 微生物에 依한 蛋白質飼料의 製造로서 甘醇麴을 利用할 경우에 往江, 松家(1948)²⁾의 研究와 金(1962)³⁾등은 硫安을 加한 澱粉에 麹菌을 培養하여 純蛋白質을 合成하는 製造法 그리고 酵母에 依한 ammonia態 窒素의 作用機作에 關한 研究로는 菅原(1958)⁴⁾등과 cellulase 活性의 木材腐朽菌 및 其他의 菌類에 關한 岩崎(1967)⁵⁾와 *Irpex lacteus*의 Cellulase 系에 對한 報告(若林)⁶⁾ 등이 있다.

醱酵飼料의 生産에 關한 研究로서는 裊(1971)⁷⁾ 등의 有用酵母菌의 分離同定 및 培養條件과 酵素生

성에 관한 報告 등이 있다. 그러나 本 研究은 韓國 產 野生酵母에 관한 연구로서 朴(1972, 1973)⁸⁻⁹⁾은 野生酵母의 分布狀態 및 그를 利用한 槽糠類에나 野生酵母를 接種 培養한 바 있다. 本 研究에서 利用한 原料로서는 植物性槽糠類(米糠, 脫脂糠, 大麥糠, 小麥麩)와 톱밥等を 利用한 醱酵飼料를 製造하기 위해서는 原來 體構成源으로서 蛋白質含量이 적으며 또한 粗纖維가 많아 소화율을 저하시키기 때문에 良質의 飼料로서 轉換하기 위해서는 粗纖維를 分解하여 可消化性 成分을 增大시키고 蛋白質이나 비타민등을 合成하여 영양가치를 높여야 될 줄 안다. 故로 槽糠類를 利用한 醱酵飼料를 제조하기 위해서는 自然界에서 서식하는 野生酵母는 抵抗力이 세고 營養이 별로 좋지않은 곳에서도 잘 번식하기 때문에 특히 inulin, soluble starch, cellobiose 및 xylose 를 同化하고 鉀산염 (KNO₂, KNO₃, 등)을 同化하는 우량菌種을 分離同定한 것 을 찾아 槽糠類 및 톱밥등에 醱酵시켰던 바 번식이 잘 되는 酵母菌法 醱酵飼料의 製造가 可能했고 또한 이 醱酵飼料를 利用한 닭(鷄)에게 飼養한 結果를 얻었으므로 報告하는 바이다.

材料 및 方法

1. 菌株의 分離와 同定

前報 “韓國產 野生酵母에 관한 研究”(I, II, III 報)에서 이미 發表한 野生酵母의 採集方法으로 分離한 菌株中에서 96種을 純粹分離한 野生酵母는 形態의 및 生理學的인 性質로 특히 最近의 實驗方法인 Replica typing method 에 依하고 正確한 同定을 하는 데는 1970年版 J. Lodder¹⁰⁾의 The Yeast—a taxonomic study—(North Holland Pub. Co.) 에 따랐다.

2. 酵母菌飼料의 選擇菌株

酵母菌法 醱酵飼料의 製造上 더우기 重要한 것 은 使用菌種의 選擇이다. 그러므로 菌株의 성질을 충분히 알고 原料를 選定하고 菌體의 增殖을 하여 製造하는데 利用하였다. 특히 *Candida* 屬, *Hansenula* 屬, *Debaryomyces* 屬 및 *Irpex lacteus* (Yeast like fungi) 系統의 酵母菌을 實際 製造上 더우기 좋은 菌種으로서 選擇하였다. 이들 野生酵母는 抵抗力이 세고 糖分이 좋지 않은 곳에서도 잘 繁殖하기 때문에 優良菌種을 찾는 데 目的을 두었으며 특히 野生酵母의 繁殖速度는 菌種에 따라서 多少 差異는 있으나 따라서 本 研究에 使用時에는 처음 菌株中에서 cellobiose, xylose 및 窒酸鹽을 資化하

는 것을 選擇하였다. 培養酵母인 *Saccharomyces* 屬 (例 *S. Cerevisiae*)은 알콜醱酵力이 強하기 때문에 飼料酵母로서는 좋지 않고 野生酵母中에서 菌糸를 많이 내는 *Candida* 屬과 産膜酵母인 *Hansenula* 屬은 光澤이 없으나 皮膜을 形成하는 것으로 開放의 醱酵飼料 製造時에 槽糠類의 表面에 잘 붙 수 있는 酵母菌으로 澱粉이나 cellulose는 利用을 못하 므로 水溶性 糖分이 어느 程度들어 있는 槽糠類로 서 cellobiose, xylose 및 窒酸鹽을 同化하고 醱酵 能力이 強한 菌種을 同定한 것 中에서 찾아 最大로 增殖醱酵하는 5 菌株를 醱酵飼料製造하는데 應用 했다.

3. 供試菌株

使用한 菌株로서는 有孢子酵母類 *Hansenula anomala* var. *anomala* (225), 無孢子酵母類 *Candida utilis* (400), *Candida pelliculosa* (405), *Debaryomyces hansenii* (416-C) 및 酵母類似菌 *Irpex lacteus* (403-A) 등을 使用하였다. 특히 *H. anomala* var. *anomala* (225)는 麗水 梧桐島 堤防 밑 海水에 떠 있는 「거머리말」에서 分離했기 때문에 營養분이 적으므로 2% glucose 海水에서 前培養을 거치면 約 7日後 병 밑部分에 酵母의 群集이 나타 나는데 이를 百金耳로 묻혀 malt extract 平板培地 에 接種하여 3日間 incubation 시키면 培地위에 나타 난 2個의 群體를 選擇하며 plating technique 法 으로 純粹分離한 것을 J. Lodder (1970)¹⁰⁾와 一部는 Wicherham (1955)¹¹⁾의 方法에 따라 分離同定 하였다.

4. 培養方法

一般적으로 malt extract media 를 使用한 液體培地와 固體培地(Bllg. 10°, pH 4.5-5.0)는 營養이 豊富한 培地로서 野生酵母의 分離, 一般의 培養 및 保存用으로 使用하였다. 그리고 醱酵飼料를 만들 기 위한 前培養 培地로는 glucose-yeast extract-peptone medium 을 使用하였으며 이 培地는 特別히 酵母의 多量培養을 위해서는 좋다고 본다.

1) Malt extract medium

dry malt.....250g
chloramphenicol0.1g
IN-HCl7ml
dist. water1,000ml

2) Glucose-Yeast extract-peptone medium

glucose450g
yeast extract5g
peptone.....10g
tap water.....1,000ml

上記 ㄴ) 液體培地를 均一한 9부 試驗管에 10ml 씩 넣어 15lb, 121°C로 15分間 autoclave에서 滅菌한 후 選定菌株를 接種하여 25°C, 2日間 incubator에서 培養한 것을 種菌으로 使用하였다. 또한 醱酵飼料製造를 위한 培養液도 glucose-yeast extract peptone media로 500ml의 flask에 150ml를 넣고 滅菌한 후 30°C가 될 적에 前培養된 것을 30°C의 恒滑 rotary shaker에 걸어서 18~24時間 培養한 多量菌液을 醱酵飼料 製造時 使用하였다.

5. 醱酵飼料의 製造

가. 原料

醱酵飼料의 原料는 大端히 廣範圍하나 一般의 으로 우리나라 農家에서 물에다서 直接飼料로 먹이고 있는 各種槽糠類등으로 이 중에 國內에서도 多量生産되고 있는 脫脂糠, 大麥糠, 小麥麩, 톱밥등이다.

그러나 이들 中에서도 原料 그대로 良質의 飼料로 使用될 수 있는 것도 있지만 톱밥과 같이 原料 그대로 利用할 수 없는 것도 있어 이는 다른 槽糠類등과 같이 混合하여 使用하였다.

本研究에서는 여러가지 槽糠類를 配合하여 野生 酵母菌을 接種시켜 醱酵飼料化함으로써 보다 濃厚 飼料를 만드는데 主眼點을 두었다. 또한 酵母는 직접 澱粉이나 cellulose를 分解해서 自己의 營養源으로 할 수 없기 때문에 酵母菌의 培養原料는 어느 程度의 糖分을 含有하고 있어야 하는데 米糠 脫脂糠이나 大麥糠은 그중에서 들어있는 若干의 糖分에 依해서도 酵母菌이 增殖된다는 것이 알려져 있다.

ㄱ). 原料의 配合

原料는 特別히 制限된 것은 없고 주위에서 쉽게 購入할 수 있는 槽糠類면 좋은데 여기서 注意할 점은 炭水化合物과 蛋白質의 配合比가 均衡을 이루어야 하기 때문에 다음과 같은 原料의 比率로 配合하였다.

- A) mixed feeds (crude protein 16, 247.)
- B) defatted rice bran: barley bran (1 : 1)
- C) defatted rice bran: wheat bran (1 : 1)
- D) defatted rice bran: wheat bran: barley bran (1 : 1 : 1)
- E) defatted rice bran: wheat bran: saw dust (1 : 1 : 1)

ㄴ) 浸漬과 蒸煮

乾燥된 原料는 適當히 물을 添加하여 菌의 生育에 적합하도록 物理的인 組織을 改良할 目的으로 原料에다 물을 加할 때 原料무게의 0.3%되게 黃酸암

모니움을 물에 녹혀 全體水分量 60~70%로써 軟泥狀의 形態를 갖게 되도록 調節하였다. 混合槽糠類의 A, B, C, D 및 E 등의 原料는 各各 2l容 뚜껑이 있는 Aluminium vat에 1,500g씩 넣어 autoclave에서 15lb (121°C) 20분간 滅菌하여 雜菌을 除去하고 同時에 原料中의 澱粉質을 糊化시켜 酵母의 發育을 容易하게 했다.

ㄷ). 接種

上記한 混合槽糠類의 各 原料에는 菌體의 前培養한 酵母培養液 160ml에다 滅菌한 4% glucose溶液 約 3倍量을 添加하여 全量 500ml로 稀釋한 菌液을 原料重量 5%되게 接種하였다. 使用菌株의 稀釋菌液은 A) *H. anomala var. anomala*, *Candida utilis* 및 *Irpex lacteus* 등 3菌株를 同時에 接種한 것과 B) *H. anomala var. anomala*, *Candida utilis* 및 *Debaryomyces hansenii*로 또한 C) *Candida utilis*, *C. pelliculosa* 및 *Irpex lacteus*로 D)와 E)는 A)와 같은 菌株로 接種한 것으로 區分하여 培養하였다.

ㄹ). 本培養

醱酵飼料의 培養은 보통 實驗室 規模이기 때문에 15坪되는 恒溫室 25°C에서 2~3日間 培養하는데 酵母菌은 好氣性이기에 수시 교반하여 酸素를 供給하여 줌으로써 菌體의 增殖을 자극하고 醱酵를 抑制하여 異質物을 生成치 못하게 하였다. 교반操作을 行하면 停止하였을 경우보다 菌體가 增加하고 또한 成分을 均一하게 하여 菌의 分布와 生育을 고르게 하는데 이 操作을 酵母菌 醱酵飼料의 製造에 있어서는 重要한 것으로 通氣를 좋게 하면 菌體의 增殖이 促進되었다. 培養物의 醱酵가 끝나는 時期는 甘味와 酸味が 있고, 香味가 나며 '가스'가 發生하고 색깔이 褐色으로 變하는 때로 보아 2~3日로 決定했다. 本培養物을 長期間 放置하면 酵母가 分泌하는 酵素에 依해서 代謝作用이 進行되어 原料中의 營養分이 消耗되므로 좋지 않다.

ㄹ). 醱酵飼料의 一般成分 分析

ㄱ)의 配合比率로 만든 混合槽糠類는 2l容 Erlenmeyer flask에다 200g씩 넣고 水分이 60~70%로 한 것을 autoclave에서 15lb(121°C) 20分間 滅菌한 것에 前記한 選定菌株(No. 225, No. 400, 405, 416-C 및 No. 403-A)를 A, B, C, D 및 E의 各原料에 接種하여 25°C 恒溫室에서 3日間 培養한 것을 dry oven 60~70°C에서 24時間 乾燥시켜 分析試料로 使用하였다. 水分量은 105°C의 乾燥中에서 恒量이 될 때 까지 건조한 후의 減量, 粗蛋白質은 micro-kjeldahl法, 粗脂肪은 soxhlet抽出法, 灰分

Table 2. Experimental feeding method.

Main sample	Adding ratio	Experimental animal	Repetition number
A: Nonfermented feed	a: 20%	10 heads	3 times
B: Fermented feed	b: 15%		
	c: 10%		

#Treatment: 3 times, Repetition: 3 times, and number of experimental animal (Starcros: ♂) needed: 10 heads.

Table 3. The combined rate of each sources according to feeding for starcross (male).

A). Feeding test for prior 4 weeks.

Sources of feed	A			B		
	a	b	c	a	b	c
Corn	50	55	60	50	55	60
Soybean waste	20	20	20	20	20	20
Fish powder	10.5	10.5	10.5	10.5	10.5	10.5
Wheat bran	6	4	2	×	×	×
Defatted rice bran	6	4	2	×	×	×
Fermented feed	×	×	×	12	8	4
Cow fat	5	4	3	5	4	3
Calcium carbonate	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
Tri-calcium phosphate	0.6	0.6	0.6	0.6	0.6	0.6
Sodium chloride	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3
Vitamin A, D ₃	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
Vitamin B comp.	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
Antibiotics	0.35	0.35	0.35	0.35	0.35	0.35
Minerals	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05
Total	100	100	100	100	100	100
C, P (%)	21.65	21.48	21.30	21.65	21.48	21.30
M, E (cal/kg)	2.944	2.955	2.965	2.944	2.955	2.965

은 600°C의 furnace에서 灰化하여 分析하였고, 炭水化물은 培養物 總量에서 水分, 蛋白質, 脂肪, 灰分을 減한 量으로 表示하였다.

6. 醱酵飼料에 의한 飼養試驗

가. 供試材料

1. 供試畜: 肉鷄專用種(Starcros. ♂) 180 首.

2. 供試飼料: 醱酵飼料(밀기울: 탈지강 1 : 1)

나. 試驗方法

1. 試驗期間: 1974. 12. 8~1975. 2. 2 (8週 間)

以上の 前期飼料와 後期飼料를 A區(未醱酵)와 B區(醱酵)로 各己 a(20%) b(15%) 및 c(10%)로 添加하여 飼養한 開始時, 4週時 增體 및 8週終

了時 增體를 보아 總增體量과 日當 增體量으로 發育成績 및 飼料成績을 比較하면서 酵母菌 醱酵飼料에 對한 飼育試驗을 하였다.

結果 및 考察

1. 菌株의 分離와 同定

自然界의 여러 棲息處로 부터 分離同定한 96菌株中에는 soluble starch, inulin, cellobiose, xylose 그리고 空酸鹽(KNO₂, KNO₃ 등)등을 同化하는 菌株만을 選定하여 malt extract medium에서 가장 왕성하게 生育하는 菌株를 選定하고 이들의 菌學的 性質에 對한 Strain No. 225, No. 400, 405, 416-C 및 No. 403-A의 실험결과는 Table 1, 2와 같다. 分離選定菌株의 菌學的性質은 Lodder(1970)

B). Feeding test for post 4 weeks.

Sources of feed	A			B		
	a	b	c	a	b	c
Corn	58	64	70	58	64	70
Soybean waste	10	10	10	10	10	10
Wheat bran	10	7.5	5	×	×	×
Defatted rice bran	10	7.5	5	×	×	×
Fermented feed	×	×	×	20	15	10
Fish powder	5	5	5	5	5	5
Cow fat	3	2	1	3	2	1
Calcium carbonate	2.3	2.3	2.3	2.3	2.3	2.3
Tri-calcium phosphate	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
Sodium chloride	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3
Vitamin A, D ₃	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
Vitamin B comp.	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
Antibiotics	0.15	0.15	0.15	0.15	0.15	0.15
Minerals	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05
Total	100	100	100	100	100	100
C, P (%)	15.88	15.64	15.40	15.88	15.64	15.40
M, E (cal/kg)	2.789	2.809	2.819	2.789	2.809	2.819

Table 1. Morphological character of the wild yeast 5 strains.

Strain No.	Item Shape and size of cells	Form, No. per ascus	Pseudomycelium	Ring and pellicle in liquid wort	Malt agar Plate		
					Color	Elevation	Surface
225	globose (3.3-3.8) (5.0-8.0)	hat-shaped 1-2	-	white pellicles (creeping)	yellowish white	flat smooth	smooth
400	long-oval (2.3-4.0) (5.3-9.5)	-	+	-	tin yellow	convex	smooth
405	globose (4-7) (5-10)	-	+	-	yellowish white	convex	dull
416-C	spherical to short-oval (3-5) (3-7)	+	-	dull pellicle	greyish white to yellow	granular	dull, rough
403-A	sausage-shaped, elongate (8-11) (14-24)	-	+	isolets and heavy	white	radially rugose	filamentous, dry

¹⁰⁾의 分類 Key 에 따라 同定한 結果 Strain No. 225는 *Hansenula anomala* var. *anomala*, Strain No. 400은 *Candida utilis*, strain No. 405 *Candida pelliculosa* Strain, No. 416-C *Debaryomyces hansenii* 및 Strain No. 403-A는 *Irpex lacteus* 로 各各 同定되었다. 또한 이들 菌株의 培養最適條件을 보면 malt extract medium의 pH는 5.0~5.5로 IN-HCl로 調整한 培地에 接種하여 30°C로 2日間 培養한 結果 分離菌株가 pH 5.0에서 菌體增殖

이 가장 良好하였으며 培地의 糖濃度를 Bllg. 10~20°로 하여 30°C에서 2日間 培養할 경우는 모두 Bllg. 10°에서 良好하였다. 또한 培養溫度를 25~30°C로 2日間 培養한 結果 Strain No. 225와 Strain No. 403-A는 35°C에서 菌體增殖이 良好하였으며 Strain No. 400, Strain No. 405 및 Strain No. 416-C 등은 37°C에서도 良好하였다. 30°C로 배양하여 培養期間이 經過해도 4일까지는 이 菌이나 菌體增殖은 多少 계속되었다.

Table 2. Physiological characters of isolated wild yeast 5 strains.

1. Fermentation	Strain number					Fermentation	Strain number				
	225	400	405	416-C	403-A		225	400	405	416-C	403-A
Glucose	+	+	+	-	-	Maltose	+	-	+	-	-
Galactose	+	-	+	-	-	Lactose	-	-	-	-	-
Sucrose	+	+	+	-	-	Raffinose	+	+	+	-	-

2. Assimilation of carbon compounds

Strain No.	225	400	405	416-C	403-A	Strain No.	225	400	405	416-C	403-A
Glucose	+	+	+	+	+	D-ribose	-	-	-	+	-
Galactose	+	+	+	+	+	L-rhamnose	-	w	w	+	-
L-sorbose	-	-	-	seldom-	+	Ethanol	+	w	-	+	-
Maltose	+	+	+	+	-	Glycerol	+	+	-	+	+
Sucrose	+	+	+	+	-	i-Erythritol	+	-	+	+	+
Cellobiose	+	+	+	+	-	Adonitol	+	-	-	+	-
Trehalose	+	+	-	+	-	Dulcitol	-	-	-	+	-
Lactose	-	-	-	++	-	D-mannitol	+	-	-	+	-
Melibiose	-	-	-	+	-	D-sorbitol	+	-	+	+	+
Raffinose	+	+	-	+	+	α -Methyl-D-glucoside	+	+	+	+	-
Melizitose	+	+	w	+	-	Salcin	+	+	-	+	+
Inulin	-	-	-	+	-	Glucono- δ -lactone	+	+	-	+	+
Soluble starch	+	+	w	+	-	DL-lactic acid	+	+	+	+	+
D-xylose	+	+	-	+	w	Succinic acid	+	w	-	+	+
L-arabinose	-	w	w	+	-	Citric acid	+	+	-	+	w
D-arabinose	-	-	-	+	-	i-Inositol	-	-	-	+	-

Assimilation of potassium nitrate	225(+), 400(+), 405(+), 416-C(-), 403-A(+)
Growth in vitamin-free medium	225(+), 400(+), 405(+), 416-C(+), 403-A(+)
Splitting of arbutin	225(+), 400(-), 405(-), 416-C(-), 403-A(-)
Growth on 50(w/w) glucose yeast extract agar	225(+), 400(-), 405(+), 416-C(+), 403-A(-)
Growth at 37°C	225(+), 400(+), 405(+), 416-C(-), 403-A(+)

+ : positive, - : negative, w : weak

菌體의 形學的 性質을 보면 Strain No. 416-C를 除外한 Strain No. 225, 400, 405, 403-A는 모두 細胞가 크며 Strain No. 400, 405, 403-A는 모두 菌糸를 내는 菌株들이다. 또한 生理的 性質로 보더라도 Strain No. 225와 405는 lactose 만이 negative이고 그外 glucose, galactose, maltose, sucrose, raffinose 등은 모두 positive였는데 특히 glucose, maltose 및 sucrose 등은 強하게 빨리 醱酵하였다. Strain No. 400은 glucose, sucrose 및 raffinose는 positive인데 galactose, maltose, lactose 등은 negative였다. 그리고 Strain No. 416-C와 403-A는 모든 糖에서 negative였다. 또한 Strain No. 416-C

를 除外하고 No. 225, 400, 405 416-C, 403-A 등 모두가 37°C에서도 生育하였다. 特히 高等植物의 糖類類는 hexosan의 一種인 cellulose와 pentosan의 하나인 hemicellulose가 細胞壁의 主成分으로 이물 分解物인 cellobiose나 xylose를 同化하고 또한 soluble starch를 同化하는 野生酵母菌을 選定하여 製造實驗에 使用했던 바 增殖이 잘 되는 것을 볼 수 있었다.

本研究에서 野生酵母菌中 cellobiose, xylose 및 soluble starch 등을 同化하는 菌株를 利用했던 바 菌體의 增殖이 잘 되었다. 또한 Strain No. 403-A (yeast like fungi)는 湯粕등에서도 繁殖力이 強하

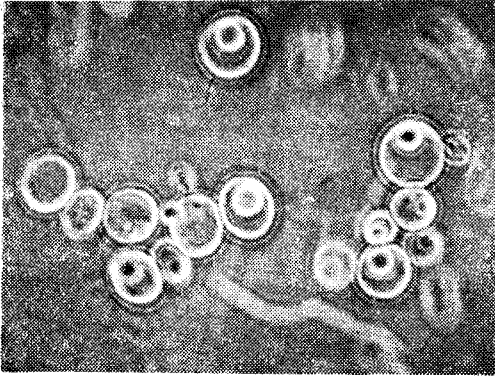


Fig. 1. *H. anomala* var. *anomala*,
1.500 (3 days old in
malt extract at 25°C)

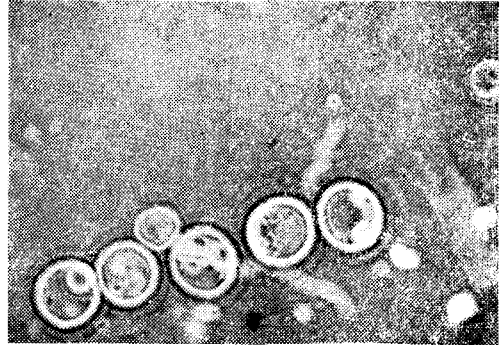


Fig. 2. *H. anomala* var. *anomala*,
1.500 (10 days old in
malt extract at 25°C) Ascus No. 2.

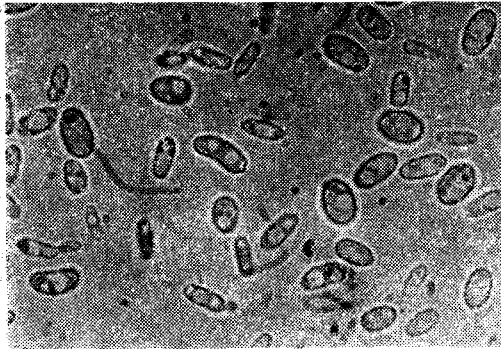


Fig. 3. *Candida utilis*, 1.500

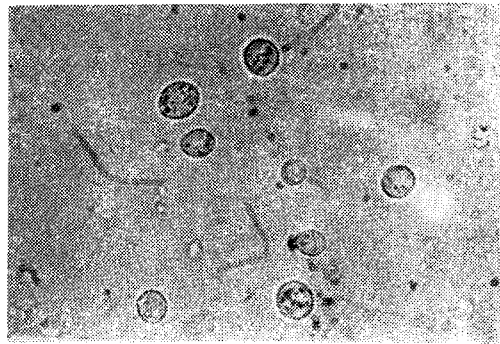


Fig. 4. *Candida pelliculosa*, 1.600

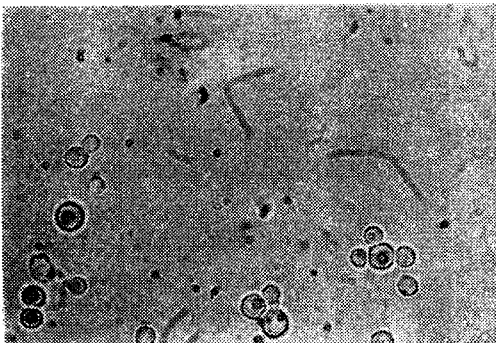


Fig. 5. *Debaryomyces hansenii*, 1.000.

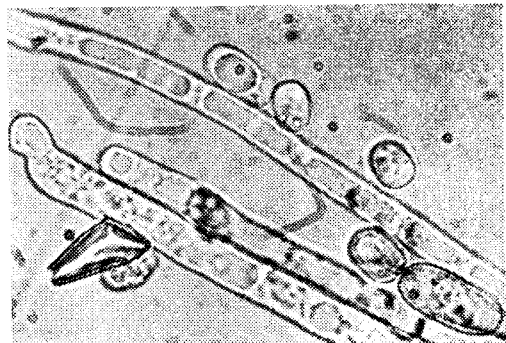


Fig. 6. *Irpex lacteus*, 1.500

Fig. 1-6. Five yeast strains were utilized for the preparation of fermented feed.

Table 3. The chemical composition of non-fermented feeds and fermented feeds.

Samples	Components (%)	Moisture (Water)	Crude protein	Crude fat	Nitrogen-free extract	Crude cellulose	Ash
A		12.21	16.24	*	*	*	*
A-1		13.64	20.70	*	*	*	*
B		10.38	20.56	3.72	48.18	10.50	6.66
B-1		10.57	23.37	2.49	48.64	9.04	5.89
C		15.00	15.20	4.05	45.53	11.76	8.46
C-1		11.85	21.32	3.78	44.49	10.20	8.36
D		14.57	24.09	2.62	36.22	14.09	8.41
D-1		12.28	26.60	2.78	35.78	13.45	9.11
E		14.20	19.35	2.38	31.34	26.38	6.35
E-1		11.74	22.90	2.72	31.79	24.89	5.96

#A, B, C, D, and E are non-fermented feeds, while A-1, B-1, C-1, D-1 and E-1 are fermented feeds.

기 때문에 다른 槽糠類 등에서 利用할 수 있으리라 보고 應用했던 바 아주 잘 繁殖이 되며 原料의 表面에서도 菌糸를 直視할 수 있을 程度로 發育이 잘 되는 것을 볼 수 있었다. 特히 이 菌株는 酵母類似菌으로 Cellulose를 分解하기 때문에 本研究에서 使用한 原料가 槽糠類로서 이를 構成物인 Cellulose를 分解하여 Strain No. 225, *Hansenula anomala var anomala*, Strain No 400, *Candia utilis*, 또한 Strain No. 405, *Candida pelliculosa*, Strain. No. 416-C, *Debaryomyces hansenii* 등의 野生酵母등이 遊離糖分을 利用할 수 있다고 보아 A), B), C)의 菌株를 共棲培養했었던 바 아주 菌體의 增殖이 잘 되어 滿 8時間만에 原料表面에 白色의 菌糸가 많이 發生하는 것을 보았다. 窒酸鹽 (KNO₃)은 Strain No. 225, 400 및 405에서 同化하였으며 Strain No. 416-C와 403-A에서는 negative였다. 無機窒素의 影響을 보면 水分 60~70% 添加時에 混合槽糠類에 黃酸암모니움을 0.3%의 濃度로 添加하여 培養하였다. 여기에서는 酵母菌이 生育上 糖과 암모니움 및 原料中에 少量의 無機鹽類를 必要로 하며 그중에서도 蛋白質 合成을 위해서 窒素源으로서는 0.3% 黃酸암모니움으로 充分하다고 보아 無添力區 보다 菌體가 增殖됨을 보았다.

Dirr & Deeker (1943)¹³⁾는 酵母의 全窒素의 64~74%가 蛋白質로 存在하지만 이들 蛋白質은 生命現象에 極히 密接한 關係를 가지며 對象으로 하는 酵母의 生活環境 或은 培養條件등 또는 酵母自

體의 外部環境이 다름에 따라서 量的 및 質的 變動을 수반하는 것은 當然하다고 말하고 있다. 一般的으로 酵母의 粗蛋白質量은 乾燥菌體重量의 35~60%이며 그중에서도 *Candida* 酵母의 경우는 50~60%程度라고 한다.

供試菌株는 5 菌株를 液體培養하여 槽糠類를 混合配合한 A, B, C, D 및 E를 30°C의 恒溫室에서 培養한 후 醱酵飼料의 一般成分을 分析한 結果는 Table 3과 같다. 非醱酵物 (A, B, C, D 및 E)과 醱酵物(A-1, B-1, C-1, D-1 및 E-1)로 比較分析한 것이다.

本研究에서 意圖한 것이 粗飼料를 濃厚飼料化하는 것이기 때문에 原料에다 野生酵母菌을 接種시켜 增殖하는 것이 됨으로 더욱 槽糠類에 잘 繁殖하는 優良菌株를 찾아서 培養하였다. 野生酵母는 培養酵母보다도 低溫이나 高溫에서도 繁殖이 좋고 乾燥한 原料에 對해서도 抵抗力이 強하기 때문에 처음 目的했던 바와 같이 槽糠類에 接種培養한 후 수시로 교반하여 酸素를 供給하여 주면 菌體의 增殖을 자극하여 停止하였을 때 보다 菌體가 增加하여 또한 成分을 均一하게 하여 分析試料등으로 使用하였다. Table 3에서 醱酵飼料(A-1, B-1, C-1, D-1 및 E-1)를 보면 多少 水分量에 差異는 있으나 protein含量이 2.51%~6.12% 程度까지 增加되었으나 nitrogen-free extract量은 多少 減해지는 것을 볼 수 있다. 이것은 酵母菌體가 增殖할 때 糖分을 利用했기 때문이라고 생각된다. 特히 本研究에서 醱酵物(C-1)과 非醱酵物(C)을 比較하면

protein 含量이 醱酵物에서 6.12%까지 增加되었으
 더 cellulose 는 1.56%로 減少되었다는 것은 Strain
 No. 403-A *Ir-pex lacteus*가 混合糖類中의 Cellu-
 lose를 分解해서 利用했다고 볼 수 있다. fat, cellul-
 ose, ash 등의 含量은 10%以內이며 protein 과 car-
 bohydrate 量이 많았으나 結局 飼料의 營養價面에
 서 볼 때에 protein 含量이 모든 醱酵物中에서 增加
 된 것으로 보아 飼料價値의 向上이 되었다고 본
 다.

襄(1971)⁷⁾ 등은 *Endomycopsis fibuliger*, *E. jav-
 onensis* 및 *Candida tropicalis*를 밀기울 및 고구마
 澱粉粕에 硫酸을 1~7.5% 添加하여 培地를 만들
 어 風乾한 다음 Bernstein 法에 依하여 純蛋白質의
 量과 培養한 후의 增加率을 調査한 바에 依하면
 밀기울이나 澱粉粕은 5% 黃酸암모니움을 添加하
 여 培地로 한 경우 純蛋白質의 增加率은 10~18%
 였다고 한다. 金(1962)⁸⁾ 등은 고구마 및 고구마 澱
 粉粕에 4%의 硫酸을 添加하여 麴菌을 培養함으
 로써 純蛋白質量 9~11%인 醱酵飼料를 製造할 수
 있다고 報告하였다.

또한 絲狀菌의 蛋白質 合成에 對해서는 坂口
 (1950)¹²⁾ 등의 報告가 있으며 특히 酵母에 의한
 ammonia 態 窒素利用 機作에 對하여는 菅原(1958)
⁴⁾ 등의 報告를 볼 수 있다. 米糠의 抽出液에서는
 糖分이 10%程度라고 하는데 酵母菌 醱酵飼料의
 原料로서는 最適의 原料라고들 한다. 米糠이 酵
 母菌의 發育增殖에 뛰어난 것은 糖分 뿐만 아니라
 各種 磷(P)을 含有하고 있기 때문이다. 本研究에
 서도 混合比率를 脫脂糠과 大麥糠(1:1)으로 設定
 한 培養區에 蛋白質이 다른區에 比較해서 현저하
 게 增加되었음을 보여 주고 있다. 現在 韓國의 農
 村이나 養畜家들은 이들 槽糠類를 直接 물에 타서
 주거나 다른 原料에 混合飼料로 利用하고 있을 뿐
 이다. 이 粗飼料를 보다 더 濃厚飼料化해서 利用
 하는 家畜飼料에 있어서 肥肉面이나 成長促進을
 向上한다는 것은 考慮에 넣지 않고 있기 때문에
 本研究에서는 이들 槽糠類에다 野生酵母菌이 잘
 繁殖되는 優良菌株을 選定하여 菌體를 增殖시켜
 醱酵飼料를 만든 것이다.

특히 本研究과 比較하여 外國의 경우를 보면 亞
 黃酸 펄프廢液, 木材糖化液, 糖密, 澱粉粕, 果實
 廢液, 酪農廢液 그리고 最近에 와서는 日本, 獨逸
 美國, 佛蘭西 등에서 gas-oil(石油)을 利用한 S. C. P
 工場에서 飼料酵母등을 製造하여 配合飼料에 添加
 하는 方法들이 있는 實情이다. 그러나 本研究에서
 는 韓國의 農村에서 求하기 쉬운 槽糠類에다 直接

酵母菌을 接種培養해 醱酵飼料를 製造하는 點이
 相異하다고 할 수 있다. 結局 酵母菌을 利用한 醱
 酵飼料는 菌體成分을 利用한 所謂 菌體飼料와 酵
 母菌 培養液中에 含有되어 있는 各種 酵素, 有機
 酸 vitamins, hormone 類似物質등을 利用하는 것이
 라 보겠다. 그러나 이中에서 特別히 重要한 것은 菌
 體飼料인데 酵母菌은 體內에 豊富한 營養素를 갖
 추고 있으므로 다른 微生物(細菌等)과는 달라 菌
 體와 體細胞가 크기 때문에 本研究에서 選定한 5
 菌株들은 槽糠類등에 增殖이 잘 되었다.

Saccharomyces 屬 系統의 酵母는 alcohol 醱酵力
 이 너무 強하기 때문에 적합치 않다고 볼 수 있으
 며 酵母菌 醱酵飼料製로는 *Hansenula* 屬이나 *Can-
 dida* 屬 및 *Debaryomyces* 屬등이 適合하며 Cellulase
 를 分泌하는 *Irpe*x 系統의 이들 菌株를 가지고 實
 驗한 結果 좋은 結果를 얻었다고 본다.

특히 本菌株들은 槽糠類등과 같이 糖類를 炭
 素源으로 또 黃酸암모니움과(硫酸)같은 無機窒素
 를 窒素源으로 利用해서 amino 酸 組成이 좋은 蛋
 白質 및 各種의 Vitamins 들을 菌體成分으로 合成할
 수 있다고 보았다. 또한 Table 4(A) 이들 醱酵飼
 料에 依한 닭(鷄)에게 飼養試驗한 結果를 보면 未
 醱酵區(A)와 醱酵區(B)에서 各各 a(20%), b(15
 %), c(10%)로 區分하여 飼養했다. 發育成績을
 보면 8週間 實施한 A-a 區에서 開始할 때 體重
 35.67g 였던 것이 8週 終了時에는 622.7g 로 總增
 體量 587.03g 로 日當 10.47g 인데 反해서 B-a 區에서
 는 35.67g 에서 880.0g 로 總增體量 845.13g 로 日
 當 增體量 15.08g 였다.

또한 A-b 區와 B-b 區를 보면 4週째 體重은
 299.8g 와 309g 였으나 8週 終了時의 體重은 822.
 2g 와 880.8g 로 거의 같은 增體量을 볼 수 있다.
 그리고 A-c 區 및 B-c 區에서는 增體量이 같은 것으
 로 보아 未醱酵區 및 醱酵區와의 增體量의 差異는
 없었다. Table 4(B) 試驗期間中 總飼料 섭취량에
 있어서도 醱酵區가 未醱酵區에 比하여 良好하였고
 添加水準間에도 差異가 있었는데 10%區 2.552g >
 15%區 2.550g > 20%區 2.223g 順位였다. 未醱酵
 20% 添加區인 A-a 區가 他區에 比해서 增體量과
 飼料섭취량이 떨어진 것은 糠類飼料의 配合에 基
 因한 것으로 思料되며 같은 水準의 醱酵飼料를 配
 合한 B-a 區가 他區와 比較해서 손색이 없었던 것
 은 醱酵로 因한 氣好性的 向上에 基因한 것으로 思
 料된다. 飼料의 要求率은 醱酵區가 3.05 인데 比하
 여 未醱酵區가 3.11로 不良하였고 醱酵飼料 15%
 添加區인 B-b 區가 2.98 로 가장 좋았으며 未醱酵

Table 4. Experimental results

A). Growth values

(unit : g.)

Combined rate		Initial weight	Weight after 4 weeks	Weight after 8 weeks	Total weight increments	Incremented weight per day
A	a (20%)	35.67	169.8	622.7	587.07	10.47
	b (15%)	35.67	299.8	882.2	846.53	15.12
	c (10%)	35.67	295.3	866.5	830.83	14.83
B	a (20%)	35.67	289	880.8	845.13	15.08
	b (15%)	35.67	309	886.3	850.63	15.19
	c (10%)	35.67	291.3	836.5	800.83	14.30

Least significant difference (5%) = 1.01

Least significant difference (1%) = 1.44

B). The value of animal breeding.

(1day/head)

Combined rate		Amount of ingested feed			Incremented weight			Rate of requirement for feed		
		prior 4 weeks	post 4 weeks	average	prior 4 weeks	post 4 weeks	average	prior 4 weeks	post 4 weeks	average
A	a (20%)	12.63	58.41	33.67	4.74	16.17	10.47	2.64	3.62	3.22
	b (15%)	21.59	70.08	45.83	9.43	20.80	15.12	2.29	3.37	3.03
	c (10%)	21.68	69.82	45.75	9.27	20.40	14.83	2.34	3.43	3.08
B	a (20%)	21.22	70.20	45.76	8.85	21.33	15.08	2.40	3.29	3.04
	b (15%)	21.69	69.00	45.28	9.76	20.62	15.19	2.22	3.37	2.98
	c (10%)	21.43	69.38	45.40	9.13	19.47	14.30	2.35	3.56	3.17

Least significant difference (5%) = 0.13

Least significant difference (1%) = 0.18

飼料 20%添加區인 A-a 區가 3.22로 가장 떨어졌다. 폐사율은 A-a 區에서 4週以前에 2頭가 폐사하였고 다른 區에서는 없었다. 本試驗에 있어서 增體量은 未醱酵區에 비해 醱酵區가 良好하였으며 醱酵飼料 15%를 添加함으로써 效果的이었다.

本研究 結果로 보아 將次 이들 5菌株을 3菌株씩 槽糠類에 接種培養하여 通氣醱酵시킬 수 있는 大量的 醱酵飼料製造의 工場規模로 實際 可能하다고 보았다. 特記할 것은 醱酵飼料는 分析에 依해서 簡單하게 劣等하다고 말할 수 없으며 또한 이 飼料는 速効的인 作用보다도 少量으로 끊임없이 長期間 급여하는 것이 큰 效果를 나타낸다고 한다 살아 있는 酵母菌을 添加해서 製造하는 醱酵飼料는 다른 濃厚飼料와는 다르다는 것을 念頭에 두지 않으면 안 된다. 또한 자기용해를 하고 可消化性은 各種酵素를 飼料中에 充分히 分泌하게 되기 때문에 菌體및 그의 生産物이 家畜에게 좋은 영향을 미치리라고 確信하는 바이다

要 約

野生酵母菌을 利用한 醱酵飼料의 製造 및 飼養試驗에서 菌體와 各種酵素를 利用할 目的으로 自然界로부터 酵母菌 96菌株을 分離한 것 중에서 5菌株을 選定하여 液體培養한 것을 脫脂糠, 大麥糠 小麥麩 및 榻榻 등을 混合한 (A, B, C, D 및 E) 것을 醱酵飼料를 만들어 飼養한 結果는 다음과 같다.

1. 醱酵飼料 製造에 利用한 菌株은 5株로 Strain No. 225 *Hansenula anomala* var. *anomala*, No. 400 *Candida pelliculosa*, No. 416-C *Debaryomyces hansenii* 및 No. 403-A *Irpex lacteus* 등이다.

2. 選定菌株의 液體培養條件은 Strain No. 225, 400, 405, 416-C 및 403-A 의 生育最適 pH 5.0~5.5이고 最適糖度は Bllg. 10°였다. 또한 A) Strain No. 225, 400, 및 403-A 와 C) Strain No. 225, 405 및 403-A 生育溫度는 35°C, B) Strain No. 225, 400, 416-C 의 最適溫度는 30°C였다. Strain

No. 225, 400, 405, 416-C는 最高 35°C以上과 No. 403-A는 最高 40°C以上の 溫度에서도 生育이 되었다.

3. Strain No. 225와 403-A는 體細肥가 크며, Strain No. 225와 405는 糖의 醱酵能이 強하고 Strain No. 225, 400, 405 및 416-C는 Cellobiose를 Strain No. 225, 400 및 416-C등은 xylose와 soluble starch 등을 同化하였다. 그러나 Strain No. 416-C만은 Inulin을 Strain No. 225, 400, 405 및 403-A 등은 鉀산염(KNO₂, KNO₃ 등)을 同化하는 菌體이다.

4. Strain No. 403-A는 酵母類似菌으로 cellulase를 分泌하는 菌株로 植物性糖類이기 때문에 다른 酵母菌의 增殖을 도와 原料中에 효소를 생성하였다.

5. 醱酵飼料 製造에 이용한 混合糠의 配合比는 A) 배합사료, B) 脫脂糠 및 大麥糠(1:1), C) 脫脂糠 및 小麥麩(1:1) D) 脫脂糠, 小麥麩 및 大麥麩(1:1:1), 그리고 E) 脫脂糠, 小麥麩 및 톱밥(1:1:1)등을 사용하였다.

6. 효모균 발효사료는 혼합강류(A, B, C, D 및 E 등)의 원료배합으로 양호하였으며 황산암모니움을 0.3% 첨가하여 水分量은 60~70% 배양온도는 25~30°C에서 유지시켰다. 혼합강류에 菌株의 접종은 各各 前培養한 A) Strain No. 225, 400, 403-A, B) Strain No. 225, 400, 416-C, C) Strain No. 400, 405, 403-A 그리고 D)와 E)의 菌株들은 A)와 C)와 같다.

前培養液에 4% glucose 용액을 3培量첨가 희석하고 原料重量 5%(w/w)되게 接種하여 共棲기간은 2~3日간이 최적조건이었다.

7. 혼합강류로 만든 발효사료중 단백질 증가율은 A) 배합사료는 4.46%, B) 脫脂糠 및 大麥糠(1:1)은 2.81% C) 脫脂糠 및 小麥麩(1:1)은 6.12% D) 脫脂糠, 小麥麩 및 大麥糠(1:1:1)은 2.51% 그리고 E) 脫脂糠, 小麥麩 및 톱밥(1:1:1)은 2.55%였다.

8. 발효사료로서 배양시험은 試驗動物로서 肉鷄 專用種(Starcros: male) 180首와 未醱酵飼料는 脫脂糠 및 小麥麩(1:1)로 혼합한 사료와 야생효모菌株(C)로 발효시킨 飼料間의 가치를 비교하여 첨가수준(20%, 15% 및 10%)에 依한 效果를 구명하기 위하여 8주간 실시하였다.

9. 未醱酵區 A-a區에서 개시할 때 체중 35.67g 였던 것이 8주後 종료시는 622.7g로 總增體量 587.03g로 日當 10.47g인데 반하여 醱酵區인 B-a

區에서는 總增體量 845.13g로 日當增體量 15.08g 였다.

10. 시험기간중 섭취량에 있어서도 醱酵區가 未醱酵區에 比하여 양호하였고 첨가수준간에도 차이가 있었는데 10%區 2.552g > 15%區 2.559g > 20%區 2.223g 순이었다.

未醱酵 20% 添加區인 A-a區가 他區에 比하여 增體量과 飼料섭취량이 떨어진 것은 糖類飼料의 배합에 基因하는 것으로 생각되며 같은 수준의 발효사료를 배합한 B-a區가 他區에 比해서 生育성적이지 않은 것은 발효로 인한 氣好性的 향상에 기인한 것으로 생각된다.

11. 폐사율은 A-a區에서 4주以前에 2首가 폐사하였고 他區에서는 전혀 없었다.

이상과 같은 결과로 보아 本研究에서 야생효모균 3菌株를 混合糖類에 接種배양하여 제조한 발효사료는 菌體成分의 이용으로 菌體도 생물과 같이 각종 영양소로 될 것이다.

酵母가 생성하는 酵素以外的 생성물의 이용등을 들수있어 소화작용에 對한 보조적인 역할이 될 것이며 다량으로 배양하면 값이 싸고, 영양가치가 높은 발효사료의 제조 및 飼養이 가능하다고 본다.

참 고 문 헌

- 1) 佐藤清次: 微生物 醱酵飼料의 基礎實際, 畜産飼料研究所 105~344(1959).
- 2) 住江, 松家: 日本農化學會誌, 23, 507~509(1948)
- 3) 金浩植, 曹惠鉉, 姜禧信: 서울大論文集(D) 生農系, 11, 69~71(1962).
- 4) 菅原, 態谷, 志林: 日本農化學會誌, 32 348~351(1958)
- 5) 岩山高, 新原, 松田: 日本醱酵工學會誌 45(11), 1072~1079(1967).
- 6) 若林, 西澤: 日本醱酵工學會誌, 42(6), 347~335(1964).
- 7) 裒貞高, 李澤守, 朴允中, 李錫健: 韓國微生物學會誌, 9, 27~31, 32~38(1971).
- 8) 朴明三: 韓國微生物學會誌, 10(2), 51~58(1972).
- 9) 朴明三: 韓國微生物學會誌, 11(4), 157~166(1973).
- 10) Lodder, J. ed.: The Yeasts, a taxonomic study, Nor-th-Holland Pub. Co. Amsterdam(1970).

- 11) Wickerham, L. J.: Taxonomy of Yeasts, 79 (1950).
Technical Bulletin No. 2029, 32-56. U. S. Dept. Agri. Wash., D. C. (1951).
- 12) 坂口, 岡山, 岩崎: 日本農化學會誌, 24, 77~
- 13) Dirr, K., Decker, P.: Biochem. Z., 316, 245 (1943).