

## In vitro 반추위 발효에 미치는 *Formitella fraxinea* 와 *Sarcodon aspratus* 발효물질의 영향

김 용 국

### Effects of Fermented Products by *Formitella fraxinea* and *Sarcodon aspratus* on In Vitro Ruminal Fermentation

Kim, Yong-Kook

#### ABSTRACT

In order to determine the effect of fermentation by the mycelia of fungal species, *Formitella fraxinea* and *Sarcodon aspratus*, on the in vitro dry matter digestibility and pH of mixtures with sawdust plus 20% wheat bran w/w, on dry matter basis to use as a feedstuff or an additive including fungal mycelium into a feedstuff. The mixtures were unfermented (UF) and fermented by *Formitella fraxinea*(FF) and *Sarcodon aspratus*(SA) for two weeks at 29°C in a incubator. Fungal fermentation products were added to the basal diet to the level of 0, 1, 3 and 5%, w/w of diets each. The in vitro dry matter digestibilities, soluble sugar contents and pH of fermentation fluids were measured at 24, 48 and 72hr after fermentation begin. Neutral detergent fiber(NDF) contents in mixtures were lower for SA and UF(80.4 and 82.2%) than for FF(88.3%) (P <0.05). In vitro DM digestibility for 48h was higer for SA(21.2%) than for UF and FF(17.9 and 12.2%). The in vitro dry matter digestibility for 24hr was higher for diets added with FF 1% as 49.18%, and lower for diet added with FF 5%(43.07%) than basal diet(44.98%)(P <0.05),

---

이 논문은 2002년도 충남대학교 자체 연구비 지원에 의하여 연구되었음

충남대학교 농업생명과학대학 동물자원학부(Division of Animal Sci. and Res., College of Agriculture and Life Sciences, Chungnam Nat'l Univ., Daejeon 305-764, Korea)

교신저자 : 김용국(E-mail : yongkook@cnu.ac.kr, Tel : 042-821-5787)

and tended to be higher for the diets added with fungal products. The pH of in vitro fermentation fluids for 24 and 48 hrs fermentation were lower for diets added with all FF and SA than for UF( $P<0.05$ ). However, those for 72 hrs fermentation were higher for SA 1%(6.74) than other diets( $P<0.05$ ). The soluble sugar concentration of in vitro fermentation fluid was not different between diets for 24 hr fermentation. However, those were higher for all additive diets than basal diet for 48 and 72 hrs fermentation( $P<0.05$ ).

It could be concluded that dairy cow's diets added with fungal fermentation products have positive effects, and expected it will be more beneficial if more fungal mycelium was contained.

**Keywords** : Fungal fermentation. sawdust, in vitro dry matter digestibility

## 1. 서 론

유우(乳牛)의 반추위 발효상태는 유우의 건강과 생산성에 직접적인 영향을 미친다. 반추가축 중에서 상대적으로 농후사료를 많이 급여하는 비육우나 착유중인 유우에서 반추위 내용물의 산도가 높아지고 상대적으로 반추위 pH는 떨어지기 쉽다. 반추위 pH가 떨어지면 높은 산도에 약한 원충이나 섬유소 분해 세균들은 상당수 사멸하고 반추위 위벽에 손상을 입어 발효상태가 악화되기 쉽다. 그러나 비육우는 상대적으로 pH 영향을 적게 받을 뿐만 아니라 비육 후에 곧 도축되므로 어느 정도의 반추위 위벽손상은 문제가 되지 않는다. 그러나 착유우는 경제수명이 장기간일 뿐만 아니라 반추위 발효상태에 영향을 많이 받고 이는 직접 유우의 건강, 생산성 그리고 경제수명에 영향을 미친다. 또한 각종사료에 함유된 영양소 함량은 비슷하다 할지라도 그들의 소화율과 기호성의 차이가 커서 사료가치가 다르게 평가되는데 균류물질을 유우사료에 첨가하면 사료의 건물소화율을 증진시키는 것으로 보고되고 있다(William과 Newbold, 1990; Gomez-Alanco 등, 1990).

따라서 유우 사료는 반추위 발효 조절 목적으로 TMR과 같이 여러 가지 사료의 적절한 혼합 및 첨가제사료의 이용이 보편화되고 있다. 몇 가지 미생물 제품도 이와 같은 목적으로 이용되고 있으며 균류(菌類)를 이용한 발효제품은 단백질 품질(Cambell-Plett와 Cook, 1989; Chahal, 1982; Roth, 1982)이 우수하고 이들의 첨가는 유우의 반추위 발효 상태를 적절히 조절하여 유우의 건강 유지와 생산성 향상에 효과가 인정되어 왔다(Huber, 1987; Gomez-Alarcon 등, 1990; William과 Newbold, 1990; 김과 김, 1993; 김과 이, 1995). 균류 발효 제품 중 *Aspargillus oryzae* 발효 추출물과 Yeast culture의 유우 사료에 대한 첨가 효과 연구는 대표적인 내용이다(Huber, 1987; Higginbotham 등, 1994).

균류 발효물질 또는 추출물이 반추위 발효를 조절하는 작용은 미생물 제품이 반추위 미생물에게 선택적으로 유리하게 작용하는 한편 반추위 미생물에게 필수 영양소를 공급하기 때문이다. 따라서 외부에서 미생물 발효제의 투여로 반추위 pH의 조절과 영양공급으로 인한 반추위 미생물의 활성 촉진이 가능한 것이다(William과 Newbold, 1990).

한편 목재 가공 부산물인 톱밥은 육우나 유우용 조사료 대용으로 효과가 보고되었으나(Baker 등, 1973; Satter 등, 1981; Caswell: 1990) 톱밥은 소화율이 매우 낮은 것이 단점이다. Kim과 Schingoethe (1997, 1999) 및 Streeter 등(1982)은 톱밥과 섬유소물질에 균류발효를 실시 결과 이들의 소화율을 20~40%정도 증가시키는 것으로 보고하였다.

따라서 *Aspargillus oryzae* 발효추출물의 효과와 유사한 효과를 보인 *Formitella flaxinea*의 발효물질(박과 김, 1998)과 자연계에서 새로 선별한 *Sarcodon aspratus*을 이용하여 톱밥 발효물질을 생산하여, 이들 발효물질을 산업적으로 이용할 수 있는 방안을 강구하고자 본 연구를 실시하였다.

## II. 재료 및 방법

### 2.1 미생물

Fungal mycelia를 생산하는 균종은 담자균류(Basidiomycetes)에 속하는 *Fomitella flaxinea*와 *Sarcodon aspratus*(Gilbertson과 Ryvarden, 1987; 박, 1991)로 이는 본 연구자 실험실에 보유하고 있는 균종(김과 김, 1993; 김과 이, 1995)으로 이들 균주는 PDA(potato dextrose agar)의 사면배지(slant tube)에 접종하여 보관하며 4주마다 재배양하여 사용하였다.

### 2.2 Fungal mycelia의 배양

각 균종의 mycelium을 2% dextrose-0.5% yeast extract의 액상배지에 접종하여 이용하였다. 즉, 배양액 100ml를 250ml Erlenmyer flask에 넣고 sponge 마개를 한 후 멸균기의 121°C에서 20분간 멸균하여 무균실에서 소량의 mycelium을 백금으로 flask내의 배양액에 접종하였다. 접종된

배양액은 25°C의 shaking water bath에서 1주일 간 배양하여 접종액으로 사용하였다.

### 2.3 발효물질 생산

- 1) 섬유성물질 : 섬유질의 다량 함유한 산림부산물인 원료(톱밥)는 균류가 주로 성장하는 기질로 이용되나 균류가 활발히 번식하기에 단백질과 광물질이 부족하므로 풍건기준 원료의 20%에 해당하는 소맥피를 혼합하여 사용하였다(김과 김, 1993). 본 연구에 사용한 산림부산물인 톱밥은 가격이 저렴하고 널리 유통되고 있는 침엽수톱밥을 사용하였는데, 톱밥과 소맥피의 일반조성분은 Table 1과 같다. 혼합물은 121°C에서 20분간 멸균한 후에 상온까지 온도를 낮춘 후에 fungal mycelium을 접종하여 상온에서 발효시켰다.
- 2) 배양온도 : 29°C의 incubator내에서 2일간 배양하고 3일부터는 실용성을 고려하여 상온에서 실시하였다.
- 3) 원료의 pH : 원료의 pH 6~7 범위에서 발효를 실시하였다.
- 4) 첨가제 : 최적의 영양조건을 제공하기 위하여 소맥피(Table 1)를 첨가제로 사용하였다.
- 5) 생산된 발효사료의 화학적 조성분 등을 분석하였다(AOAC, 1990).

### 2.4 In vitro 발효 특성

- 1) 시험구 배치: in vitro 발효시험은 전형적인 유우사료로 농후사료+조사료(TMR사료)에 균류 배양물을 아래와 같은 처리로 첨가하였는데 기본사료인 전형적인 유우사료의 원료비와 화학적 조성비는 Table 2와 같다.
  - ① 0.0% 첨가구
  - ② 1.0% 첨가구

- ㉔ 3.0% 첨가구
- ㉕ 5.0% 첨가구로 3반복으로 배치하였다.
- 2) in vitro 발효시험: 처리시료에 대한 in vitro 발효시험은 Tilley와 Terry(1963)의 방법을 응용하여 다음에 기술하는 in vitro 반추위 발효 시험방법에 따라 발효전(0시간) 및 발효 후 24시간, 48시간 그리고 72시간의 발효 상태를 측정하였다.

**in vitro 반추위 발효 시험방법**

- ① 시료를 60℃ 건조기에서 건조 후 1mm screen 이 부착된 분쇄기(Cyclotec, Eteter, Sweden)로 분쇄.
- ② 시료 0.25g을 50ml 원심분리 튜브에 넣음(시료는 3 반복).
- ③ 25ml 액(20ml buffer + 5ml 위액)을 넣음. CO<sub>2</sub>로 충전.
- ④ CO<sub>2</sub>로 재 충전.
- ⑤ Bunsen gas 배출기가 부착된 마개로 닫음.
- ⑥ 배양액의 pH가 6.7~6.9인지 확인.

**Table 1. Chemical composition of sawdust and wheat bran**

Nutrients	Sawdust	Wheat bran
	..... (% of DM) .....	
Moisture, %	6.7	6.7
Crude protein	2.8	18.8
Ether extract	1.2	3.9
Crude fiber	51.8	11.3
Crude ash	0.6	4.3
NFE <sup>1</sup>	36.9	55.0
Neutral detergent fiber	83.3	42.8
Acid detergent fiber	72.3	11.7

<sup>1</sup>Nitrogen free extract, calculated

- ⑦ 빛을 차단한 38~39℃ 배양기에서 수시로 교반하면서 배양.
- ⑧ 배양기간동안 배양 발효액의 pH와 당도를 시험계획에 따라 측정.
- ⑨ 배양이 끝나면 1,800g 속도로 15분간 원심분리.
- ⑩ 상층액을 제거. 증류수를 넣고 3회 반복.
- ⑪ 잔유물을 튜브와 함께 60℃건조기에서 48시간 이상 건조 후 DM소화율 측정.
- ⑫ DM소화율(%) 계산공식 = 시료중량(g) - [잔량중량(g) - blank(g)]/시료중량(g) x 100

**Table 2. Ingredient and chemical composition of basal dairy cow's diet**

Item	diet
Ingredient composition ——— (% of mix) ———	
Corn silage	25.0
Alfalfa hay	25.0
Corn, ground shelled	29.3
Sesame meal	18.5
Limestone	1.0
Decalcium Phosphate	0.7
Magnesium oxide	0.15
Sodium chloride	0.35
Chemical composition ——— (% of DM) ———	
Crude protein	18.3
Ether extract	4.0
Crude fiber	15.1
Crude ash	6.1
Neutral detergent fiber	31.0
Acid detergent fiber	20.3
Calcium	0.21
Phosphorus	0.62

⑬ 완충액조제

㉠ NaHCO <sub>3</sub>	49.0g
㉡ Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> , dibasic, anhydrous,	18.5g
㉢ NaCl	2.35g
㉣ KCl	2.85g
㉤ CaCl <sub>2</sub> , anhydrose	0.20g
㉥ MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	0.30g
㉦ MnSO <sub>4</sub> .4H <sub>2</sub> O	0.063g
㉧ CoCl <sub>2</sub> .6H <sub>2</sub> O	0.006g
㉨ FeSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	0.060g

상기 시약을 증류수1ℓ에 녹이고 냉장보관 후 사용전에 증류수 5배로 희석.

pH 6.8~6.9가될 때까지 CO<sub>2</sub> gas로 30분이 상 bubble 하였다.

⑭ 위액 준비

- ㉠ 도축장에서 건강하고 조사료 섭취가 충분한 도태 유우의 도축 후 위액을 채취 후 1차 여과(1mm screen 정도의 천 사용).
- ㉡ 38~39℃의 CO<sub>2</sub> gas가 충전된 보온병에 넣어 운반.
- ㉢ 실험실에서 cheese cloth 4겹으로 여과 및 CO<sub>2</sub> gas 충전하였다.

2.5 측정항목 및 분석

- ① DM 소화율은 4의 2항과 같은 내용으로 실시하고 계산하였다.
- ② pH와 당도는 시간별(0, 24, 48 및 72시간) 원심분리 후 상층액을 사용하여 pH는 pH mater (TOA Electronic, Co., Ltd., Japan)로 측정하고 당도는 Digital Refractometer PR-100 (Atago, Co., Ltd., Japan)으로 측정하였다.
- ③ 발효물질의 일반성분은 AOAC(1990)방법으로 NDF와 ADF함량은 Goering과 Van Soest (1970)법으로 분석하였다.

2.6 통계분석

실험결과에 대한 통계분석은 Statistical Analysis System의 General linear models(SAS, 1987)를 사용하였으며, 각 처리 평균간의 유의성은 Duncan's multiple range test(Damon과 Harry, 1987)에 의해 5%수준에서 검정하였다.

III. 결과 및 고찰

3.1 발효물질의 일반성분 및 in vitro소화율 변화

*Formitella fraxinea*(FF)와 *Sarcodon aspratus*(SA)에 의한 발효물질의 일반성분 변화 및 in vitro소화율에 대한 결과는 Table 3과 같다.

조단백질함량은 비발효구와 발효구사이에 차이가 나타나지 않았다. 조지방함량은 발효구(FF, 0.80 및 SA, 0.94%)가 비발효구(UF, 1.42%)보다 낮았다(P <0.05). 이는 일반적으로 균류도 지방을 분해하여 에너지나 미생물지방으로 이용하는 능력이 가능함을 보여준 결과로 사료된다. 조회분은 조단백질과 마찬가지로 처리구간에 변화의 유의성이 나타나지 않았다. NDF함량은 FF구(88.3%)에서 높았고 UF와 SA(82.3 및 80.4%)에서 낮았다(P <0.05). FF에서 높은 것은 FF균류가 균사의 형태유지를 위하여 Hemicellulose을 일부 합성하는 결과로 예측된다(Kim과 Schingoethe, 1997, 1999). ADF함량은 UF와 SA(66.9 및 67.5%)와 비교하여 FF(64.6%)에서 낮았다(P <0.05). 이는 FF균사가 Hemicellulose는 합성하는 반면 Cellulose는 분해하는 결과로 예측되는데(Lynch 등, 1977) 이와 같은 경향은 Cellulose함량에서도 같은 경향을 보였다. 처리구별 in vitro건물 소화율(48시간)을 보면 비발효구(대조구)가 17.9%에 비해 발효구 중 FF구는 12.1%로 오히려 떨어지고 SA구는 21.2%

Table 3. Changes in chemical composition of sawdust-wheat bran mixtures unfermented (UF) and fermented by fungal mycelia of *Formitella flaxinea*(FF) and *Sarcodon aspratus*(SA)

Nutrients	UF		FF		SA	
	(% of DM)					
Crude protein	4.68	± 0.17 <sup>a</sup>	4.73	± 0.24 <sup>a</sup>	4.13	± 0.29 <sup>a</sup>
Ether extract	1.42	± 0.23 <sup>a</sup>	0.80	± 0.03 <sup>b</sup>	0.94	± 0.16 <sup>b</sup>
Crude fiber	55.9	± 0.14 <sup>b</sup>	61.2	± 0.14 <sup>a</sup>	53.83	± 0.74 <sup>a</sup>
Crude ash	1.03	± 0.01 <sup>a</sup>	1.06	± 0.01 <sup>a</sup>	1.23	± 0.02 <sup>a</sup>
NDF <sup>1</sup>	82.3	± 2.30 <sup>b</sup>	88.3	± 0.60 <sup>a</sup>	80.4	± 0.68 <sup>b</sup>
ADF <sup>2</sup>	66.9	± 0.20 <sup>a</sup>	64.6	± 2.72 <sup>b</sup>	67.5	± 0.19 <sup>a</sup>
Cellulose	45.5	± 0.26 <sup>a</sup>	44.4	± 2.17 <sup>b</sup>	50.2	± 0.09 <sup>b</sup>
Hemicellulose	14.2	± 1.88 <sup>a</sup>	23.2	± 3.20 <sup>a</sup>	12.7	± 0.80 <sup>b</sup>
ADL <sup>3</sup>	20.7	± 0.07 <sup>a</sup>	18.4	± 1.45 <sup>ab</sup>	16.9	± 0.16 <sup>b</sup>
IVDMD <sup>4</sup>	17.9	± 0.71 <sup>a</sup>	12.1	± 0.31 <sup>c</sup>	21.2	± 0.27 <sup>b</sup>

a, b, c Means in row followed by a common superscript letter are not significantly different at the 5% level by DMRT

<sup>1</sup>Neutral detergent fiber, <sup>2</sup>Acid detergent fiber, <sup>3</sup>Acid detergent lignin, <sup>4</sup>In vitro dry matter digestibility(48hr)

로 증가하는 경향을 보였다(P <0.05). 이는 FF구가 자신의 균류 Hemicellulose를 합성하여 이것이 소화되지 않은 경향을 나타냈고 SA구도 미생물합성 Hemicellulose는 타미생물(반추위미생물)에 의해 분해는 되지 않았으나 Cellulose의 분해율이 높아 상대적으로 전체 DM소화율이 증가된 것으로 추측된다.

### 3.2 첨가제가 in vitro 소화율에 미친 영향

착유우사료에 각각 0, 1, 3 및 5%첨가효과는 Table 4에 나타난 바와 같이 발효 24시간에 in vitro반추위 건물 소화율은 처리구간에 유의차는 나타나지 않았으나 수치상으로는 기본사료(Basal diet)에 비해 발효 물질첨가수가 높게 나타나는

경향을 보였다. 이는 발효물질 첨가구에서 발효물질인 균사의 소화율이 높게 나타났던지 아니면 균사에 일부 탄수화물 분해효소가 함유되어 이들이 일찍 작용했을 것으로 추측된다. 그러나 발효 48 및 72시간에서는 24시간의 결과와는 반대경향을 보였다. 즉, 발효물질의 첨가가 오히려 비율에 따라 소화율이 떨어지는 경향을 보였다. 이는 발효기질이 톱밥을 위주로한 물질이었는데 톱밥은 소화율이 매우 낮은 물질(Mellenberger 등, 1970; Satter 등, 1981)로도 알려져 있어 톱밥이 1%에서 5%까지 첨가되면서 소화율이 상대적으로 낮게 나타난 것으로 예측된다.

일반적으로 균류배양물의 사료내 첨가는 사료나 기타 섬유물질의 소화율을 향상시키는 것으

Table 4. In vitro ruminal dry matter digestibility(IVRDMD) of dairy cow's diets by added with fermentation products by *Formitella flaxinea*(FF) and *Sarcodon aspratus*(SA)

Diets	Fermentation time(Hr.)						
	24		48		72		
( % of DM )							
Basal	44.98	± 2.26 <sup>ab</sup>	60.91	± 1.49 <sup>a</sup>	65.32	± 3.23 <sup>a</sup>	
FF	1%	49.18	± 2.38 <sup>a</sup>	60.62	± 3.63 <sup>a</sup>	64.50	± 3.67 <sup>a</sup>
	3%	44.75	± 3.97 <sup>ab</sup>	58.05	± 2.67 <sup>a</sup>	64.82	± 2.41 <sup>a</sup>
	5%	43.07	± 0.23 <sup>b</sup>	54.70	± 2.37 <sup>a</sup>	58.44	± 1.56 <sup>a</sup>
SA	1%	46.65	± 0.62 <sup>ab</sup>	56.88	± 0.55 <sup>a</sup>	64.63	± 2.35 <sup>a</sup>
	3%	45.71	± 1.56 <sup>ab</sup>	56.15	± 2.93 <sup>a</sup>	62.57	± 4.05 <sup>a</sup>
	5%	44.57	± 0.72 <sup>ab</sup>	54.79	± 1.64 <sup>a</sup>	59.22	± 1.69 <sup>a</sup>

<sup>a, b</sup> In column, means followed by a common letter are not significantly different at the 5% level by DMRT

로 보고되어 있으며(William과 Newbold, 1990; Fondevila 등, 1990; Gomes-Alarcon 등, 1990; Kim과 Schingoethe, 1999) 우유생산성에도 도움이 된다(김과 이, 1995; 박과 김, 1998).

그러나 본 실험에 배양물질로 이용한 기질은 침엽수 톱밥에 20% 소맥피를 첨가하여 이용하였으므로 톱밥이 위주였다. 톱밥의 경우 활엽수인 Aspen 톱밥의 in vitro 소화율은 1.2% 그리고 침엽수 Fir 톱밥은 0.3%로 보고되었으며, 1시간 steam 처리하여도 Aspen은 0.6% 그리고 Fir는 8.5%로 나타나(Bender 등, 1970) 톱밥의 소화율이 매우 낮은 것으로 알려져 있다. Mellenberger 등(1970) 역시 Aspen의 in vitro 건물 소화율은 18.5%라고 보고하였으며 톱밥은 나무의 종류 및 수명에 따라 건물 소화율이 크게 차이 난다고 보고하였다(Satter 등, 1981; Baker, 1973; Baker 등, 1973).

사료는 주로 식물성으로 구성되어 있으며 사료내 영양소 함량, 특히 Energy 함량은 유사하나 소화율에 차이가 있어 사료가치가 좌우된다고 알

려져 있다(Williams과 Newbold, 1990; Lynch 등, 1977). 따라서 본 시험에서 균류발효물질의 첨가가 소화율의 향상에 영향을 미치지 못하였으나 발효물질중 미생물 균사만을 분리하여 첨가한다면 기본 사료의 소화율을 향상시킬수 있는 가능성을 예측할 수 있어 앞으로 연구가 계속될 가치가 있다고 판단되었다.

### 3.3 in vitro 반추위액의 pH

FF와 SA 배양물의 첨가가 착유우사료(Basal diet)의 in vitro 반추위 발효액의 24, 48, 및 72시에 미치는 영향을 측정 한 결과는 Table 5에 나타난 바와 같다. Table 5에 나타난 바와 같이 in vitro 반추위액의 pH는 24시간에는 Basal diet에서 6.64 그리고 FF에서는 5.37~5.70으로 나타났다. 그러나 SA에서는 1% 및 3%는 5.77 및 5.81이었으나 5%에서는 7.01으로 높게 나타났다(P<0.05). 발효 48 및 72시간에서는 24시간에 비해 모두 증가하는 경향을 보이고 있는데, 이는 발효로 인한

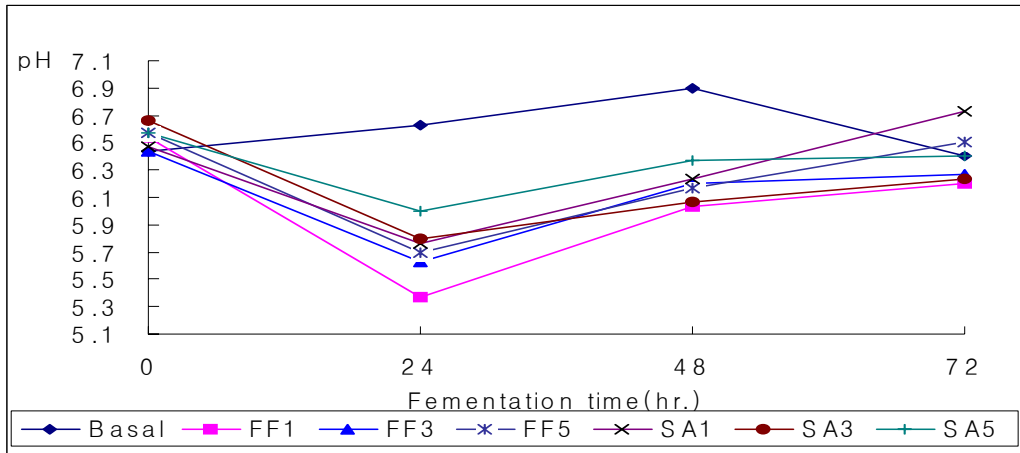


Fig. 1. Changes of pH in in vitro fluids with basal diet alone and basal diets containing fungal additives at 1, 3 and 5% *Formitella flaxinea*(FF) and *Sarcodon aspratus* (SA), respectively.

Table 5. Changes of pH in in vitro fluids with lactating cow's diets added fermentation products by *Formitella flaxinea*(FF) and *Sarcodon aspratus*(SA)

Diets	Fermentation time(Hr.)		
	24	48	72
pH			
Basal	6.64 ± 0.12 <sup>a</sup>	6.91 ± 0.10 <sup>a</sup>	6.41 ± 0.10 <sup>ab</sup>
FF	1%	5.37 ± 0.23 <sup>c</sup>	6.04 ± 0.06 <sup>c</sup>
	3%	5.64 ± 0.12 <sup>bc</sup>	6.20 ± 0.10 <sup>bc</sup>
	5%	5.70 ± 0.00 <sup>bc</sup>	6.17 ± 0.06 <sup>bc</sup>
SA	1%	5.77 ± 0.06 <sup>b</sup>	6.24 ± 0.06 <sup>bc</sup>
	3%	5.81 ± 0.10 <sup>b</sup>	6.07 ± 0.06 <sup>c</sup>
	5%	7.01 ± 0.20 <sup>b</sup>	6.37 ± 0.15 <sup>b</sup>

<sup>a, b, c</sup> In column, means followed by a common letter are not significantly different at the 5% level by DMRT

VFA생산이 24시간경에 최대가 되고 그 후 VFA 농도가 감소되기 때문에 추측된다.

발효 24시간에서 첨가사료의 pH가 6이하인 것은 발효물질의 첨가가 반추위 미생물의 활성을 가져와 유기산 함량의 증가로 추정되며 발효 48

시간 이상에서는 모든 구가 6.0 이상(Fig. 1)으로 증가되어 전체적으로 대부분 균류첨가구에서 발효 24시간에는 무처리구에 비해 pH가 낮았으나 48 및 72시간에서는 24시간보다 높았고 무처리구에 비해서도 큰 차이를 보이지 않았다. 따라서



박과 김(1998), Higginbothan 등(1994), Gomez-Alarcon(1990)의 보고에서 균류물질의 첨가가 반추위 pH조절 효과가 있음이 보고되어 본 연구에서도 순수하게 균류물질을 분리 또는 추출하여 다량첨가 할 경우 pH조절 효과가 예측되어 앞으로 이에 대한 연구가 요구된다고 판단된다.

### 3.4 in vitro 반추위액의 당도

반추위내의 당도는 반추위 미생물 성장과 밀접한 관계가 있으므로 FF와 SA 배양물의 첨가에 따른 in vitro반추위액내 가용성 탄수화물의 함량을 나타낼 수 있는 당도를 24, 48, 및 72시간당 측정된 결과는 Table 6에 나타난 바와 같다.

Table 6에서 보는 바와 같이 in vitro 발효액의 당도(용해성 탄수화물)의 농도는 기본사료에 비해 균류첨가구에서 모두 높게 나타났는데, 이는 균류중에 섬유소 등을 분해하여 당으로 전환하는 미생물효소가 함유되어 있을 가능성과 균류발효물로부터 반추위 미생물에 필수영양공급을 보여준 결과라고 판단된다. 균류는 다당류(Cellulose

와 Starch 등)를 분해하여 단당류(포도당)로 전환하여야 그들의 에너지원으로 이용할 수 있다 (Chahal, 1982; Cambell-plett와 Cook, 1989). 따라서 본 연구에서 균류발효물의 첨가사료(FF와 SA)의 당도가 무첨가(Basal)에 비해 높은 것은 균류로부터 유래된 일부 탄수화물 분해효소가 사료내 일부 다당류를 분해하여 단당류로 전환되므로 반추위 발효 용액내 당도가 높아진 것으로 예측된다. 또는 균류의 균사가 반추위 미생물의 활성을 촉진한 것으로도 예측된다(Streeter 등, 1982).

## IV. 적 요

균류발효물질의 사료가치를 평가하고 착유우 사료에 대한 발효물질 첨가가 in vitro 반추위액 발효상태 증진 효과를 규명하기 위하여 비발효(Unfermented; UF)구와 *Formitella fraxinea*(FF)와 *Sarcodon aspratus*(SA)에 의한 톱밥+소맥피 배양물 성분변화와 48시간 발효 후 소화율을 측

Table 6. Concentration of sugars in in vitro fluids with lactating cow's diets added fermentation products by *Formitella fraxinea*(FF) and *Sarcodon aspartus*(SA)

Diets	Fermentation time(Hr.)		
	24	48	72
	pH		
Basal	1.31 ± 0.00 <sup>a</sup>	1.44 ± 0.04 <sup>b</sup>	1.44 ± 0.04 <sup>b</sup>
FF	1%	1.71 ± 0.13 <sup>a</sup>	1.57 ± 0.04 <sup>ab</sup>
	3%	1.47 ± 0.29 <sup>a</sup>	1.57 ± 0.09 <sup>ab</sup>
	5%	1.61 ± 0.13 <sup>a</sup>	1.64 ± 0.04 <sup>ab</sup>
SA	1%	1.67 ± 0.04 <sup>a</sup>	1.64 ± 0.04 <sup>ab</sup>
	3%	1.74 ± 0.09 <sup>a</sup>	1.64 ± 0.11 <sup>ab</sup>
	5%	1.71 ± 0.07 <sup>a</sup>	1.71 ± 0.07 <sup>a</sup>

<sup>a, b, c</sup> In column, means followed by a common letter are not significantly different at the 5% level by DMRT

정하고 기본유우사료 (Basal diet)에 이들 발효물을 0, 1, 3 및 5%를 첨가하여 in vitro 건물소화율, pH 및 용해성 당류의 변화 등을 규명하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 발효물의 영양소 함량변화는 Neutral detergent fiber(NDF)에서 차이가 크게 나타났는데 SA와 UF(80.4와 82.2%)가 FF(88.3%)에 비해 낮게 나타났다(P <0.05). In vitro 반추위 소화시험(48시간)에서는 SA(21.2%)가 UF와 FF(17.9 및 12.2%)보다 높게 나타났다(P <0.05).
2. 균류 첨가 사료에 대한 건물소화율을 발효 24시간에서 기본사료(44.98%)에 비하여 FF 1% (49.18%)에서 높게 나타났으며(P<0.05), 기타 균류첨가사료에서는 높게 나타나는 경향을 보였다. 그러나 발효 48 및 72시간에서는 기본사료와 첨가사료간에 유의차가 나타나지 않았다.
3. 반추위 pH는 발효 24시간 및 48시간에서 기본사료(6.64 및 6.91)에 비하여 첨가사료가 낮은 경향(5.37~6.01 및 6.04~6.07)을 보였으며 (P<0.05), 발효 72시간에서는 SA 1%(6.74)가 기본사료(6.41)에 대하여 높게 나타났으나(P <0.05) 기타 첨가구에서는 유의차가 나타나지 않았다.
4. 가용성당 함량은 발효 24시간에서는 기본사료 첨가구에서 유의차가 보이지 않았으나 48시간은 기본사료(1.44%)에 비하여 SA 5%(1.71)에서 높게 나타났고 발효72시간에서는 기본사료(1.44%)에 비하여 첨가구사료(1.64~1.74%)가 모두 높게 나타났다(P <0.05).
5. 이상의 결과로 보아 균류발효물질의 사료나 사료 첨가제로서 in vitro 반추위 소화율 증진 효과가 나타났고 가용성당함량 증가효과도 보였다. 따라서 앞으로 첨가제를 순수한 균사료

만 분리 제조하면 효과가 더욱 증진될 것으로 기대되며 톱밥균류 발효물질 전체를 사료의 5%내에서 이용효과도 기대된다고 판단되었다.

## 참고문헌

1. Association of Official Analytical Chemists. 1990. Official methods of analysis. 15th ed. Washington, D. C.
2. Baker, A. J. 1973. Effect of lignin on the in vitro digestibility of wood pulp. J. Anim. Sci. 36 : 768-772.
3. Baker, A. J., A. A. Mobaup and D. F. Spino. 1973. Evaluation wood pulp as a feedstuff for ruminants and substrate for *Aspergillus fungigatus*. J. Anim. Sci. 37 : 179-182.
4. Bender F., D. P. Heaney and A. Bowden. 1970. Potential of steamed wood as a feed for ruminant. For. Prod. J. 20 : 36-41.
5. Cambell-Plett, G. and P. E. Cook. 1989. Fungi in the production of food ingredient. J. Appl. Bact. Symp. Suppl. 1175-1315.
6. Caswell, L. E. 1990. Fungal additives. Feed Management. April, 41(4) : 9-13.
7. Chahal, D. S. 1982. Bioconversion of lignocellulose into food and feed rich in protein. In N. S. Subba Rao. Adv. Microb. Butterworth Sci. London.
8. Damon, R. A. Jr. and W. R. Harrey. 1987. Expeimental design, ANOVA, and regression. Happer & Row, Pub. New York, NY.
9. Fondevila, M. C., J. Newbold, P. M. Hotten and E. Orskov. 1990. A note on the effect of *Aspergillus oryzae* fermentation extract on the rumen fermentation of sheep fed saw. Anim. Prod. 52 : 422-428.
10. Gilbertson, R. L. and L. Ryvarden. 1987. North

- American polypores. Vol. 2. Grnlands Grafiske, A/S Oslo, Norway, pp.519-520.
11. Goering, H. K. and P. J. Van Soest. 1970. Forage fiber analysis (apparatus, reagents, procedures and application). Agric. Handbook 379. ARS, Washington, D. C.
  12. Gomez-Alarcon, R. A., C. Dudas, and J. T. Huber. 1990. Influence of cultures *Aspergillus oryzae* on rumen and total tract digestibility of dietary components. J. Dairy Sci. 73 : 703-709.
  13. Higginbotham, C. A. Collr, M. S. Aselthine and B. L. Bath. 1994. Effect of yeast culture and *Aspergillus oryzae* extract on milk yield in a commercial dairy herd. J. Dairy Sci. 77 : 343-348.
  14. Huber, J. T. 1987. Fungal additives for lactating cows. Pacific North West Animal Nutr. Conf. p.1.
  15. Kim, Y. K. and D. J. Schingoethe. 1997. Washed-cow manure fermented by a fungal mycelium as a feedstuff. J. Dairy Sci. 80 (Suppl. 1) : 261.
  16. Kim, Y. K. and D. J. Schingoethe. 1999. Changes in fiber content and in vitro rumen dry matter digestibilities of cow manure-sawdust mixtures fermented by a fungal mycelium. J. Dairy Sci. 82(Suppl. 1) : 86.
  17. Lynch, G. P., D. F. Smith, F. D. Jackson, R. C. Cope, and M. E. Simpson. 1977. Fungal degradation and nutritional value of cellulosic matters. J. Anim. Sci. 44 : 883-888.
  18. Mellenberger, R. W., L. D. Satter, M. A. Millet and A. J. Baker. 1970. An in vitro technology for estimating digestibility of treated and untreated wood. J. Anim. Sci. 30 : 1005-1011.
  19. Roth, F. X. 1982. Microorganism as a source of protein for animal nutrition. Adv. in Argi. Micro. In N. S. Subba Rao. Butterworth Sci. New York, NY.
  20. SAS<sup>®</sup>. 1987. User's: Statistics, Version 6.01. SAS Inst., Inc., Cary, NC.
  21. Satter, L. D., A. J. Baker and M. A. Millett. 1981. Increasing the nutritive value of wood and forest products through chemical and physical treatments. In J. T. Huber. Upgrading residues and by-products for animals. CRC press, Inc. Boca Raton, Fl. pp.61~76.
  22. Streeter, C. L., K. E. Conway, G. W. Horn, and T. L. Mader. 1982. Nutritional evaluation of wheat straw incubated with the edible mushroom, *Pleurotus ostreatus*. J. Anim. Sci. 54 : 183-188.
  23. Tilley, J. M. A. and R. A. Terry. 1963. A two stage technique for the in vitro digestion of forage crops. J. Brit. Grassl. Soc. 18 : 104-111.
  24. William, P. E. V., and C. J. Newbold. 1990. Rumen probiosis : The effects of noval microorganisms on rumen fermentation and ruminant productivity. In W. Haresign and D. J. A. Cole. Recent Advances in Animal Nutrition. Butterworth. Kent. Engl. pp.221-225.
  25. 김용국, 김용인. 1993. Mycelium에 의한 lignocellulose 물질로 부터 양질의 발효사료 생산. 한국낙농학 회지. 15(4) : 251-260.
  26. 김용국, 이수기. 1995. 착유우의 산유반응에 대한 fungal 첨가제의 효과. 한국축산학회지. 37(6) : 683-688.
  27. 박덕섭, 김용국. 1998. *Asprgillus oryzae* 및 *Formitella flaxinea* 첨가제의 급여가 착유우의 유생산 및 반추위 발효특성에 미치는 영향. 한국 축산학회지. 40(1) : 617- 626.
  28. 박완희. 1991. 한국의 버섯. 교학사. 서울. pp. 390-391.