

버섯부산물 퇴적발효 시 섬유소 분해균 접종이 섬유소 분해성 효소 활력과 면양의 영양소 이용성에 미치는 영향

김영일 · 정세형 · 양시용 · 허정원 · 곽완섭

건국대학교 자연과학대학 생명자원환경과학부 축산학전공

Effects of Cellulolytic Microbes Inoculation During Deep Stacking of Spent Mushroom Substrates on Cellulolytic Enzyme Activity and Nutrients Utilization by Sheep

Y. I. Kim, S. H. Jung, S. Y. Yang, J. W. Huh and W. S. Kwak

Animal Science, School of Life Resource and Environmental Sciences College of Natural Sciences,
Konkuk University, Danwol-dong 322, Chung-Ju, Chung-Buk, 380-701, Korea

ABSTRACT

This study was conducted to determine effects of cellulolytic microbes inoculation to sawdust-based spent mushroom substrate (SMS) during deepstacking on fermentation parameters, total microbial counts and cellulolytic enzyme activity and to on SMS nutrients utilization by sheep. For sheep metabolism trials, six sheep (ram, average 54.8 kg) were fed a Control diet (70% concentrates, 15% rice straw and 15% SMS with no microbial treatment on a dry basis) and a Treatment diet (the same diet including SMS with a microbial treatment) for 2 trials. Spent mushroom substrates with or without a microbial (4 strains including 1 strain of *Enterobacter ludwigii*, 1 strain of *Bacillus cereus* and 2 strains of *Bacillus subtilis*) treatment (1% of SMS on wet basis) were deepstacked for 7 days. The internal temperatures in 1.2 M/T of SMS deepstacks reached to $50 \pm 5^\circ\text{C}$ within 7 days of storage. Total microbial counts remarkably decreased ($P < 0.05$) with a deepstacking process and were not affected ($P > 0.05$) by the microbial treatment. For fibrolytic enzyme activity, CMCase and xylanase activities were decreased ($P < 0.05$) by a deepstacking process. After deepstacking, the microbial treatment showed about 2.5-times higher ($P < 0.05$) for CMCase activity and about 4-times higher ($P < 0.05$) for xylanase activity than those of the Control. Activities of ligninolytic enzymes such as laccase and MnP were not affected by the microbial treatment. The sheep fed the microbially treated SMS diet had a tendency of greater total tract digestibilities of ash ($P = 0.051$), NFE ($P = 0.071$), hemicellulose ($P = 0.087$) and NDF ($P = 0.096$) than those fed the untreated SMS diet. Nitrogen balance of sheep was not affected ($P > 0.05$) by feeding of microbially treated SMS. Accordingly, these results indicate that cellulolytic microbes inoculation during deepstacking of SMS may improve the bio-utilization of SMS by sheep.

(Key words : Spent mushroom substrates, Spent mushroom compost, Microbial treatment, Digestibility, Feed)

본 연구는 2006년도 농진청 연구비 지원에 의한 논문임.

Corresponding author : W. S. Kwak, School of Life Resource and Environmental Sciences, College of Natural Sciences, Konkuk University, Chung-Ju, Chung-Buk, 380-701, Korea.
Tel : 82-43-840-3521, E-mail : wsk@kku.ac.kr

I. 서 론

버섯부산물(버섯폐배지)이란 버섯을 생산하기 위해 조성된 배지에서 버섯을 생산하고 남은 부산물을 말한다. 김 등(2007a)은 2004년 국내 버섯폐배지 발생을 167만 MT으로 보고 하였으며, 이 중 약 58%인 97만 MT이 사료로 이용 가능하다고 하였다. 버섯폐배지는 재배방식 및 배지 원료의 배합비율에 따라서 배출시의 물리·화학적 성상이 다양한 편이다. 사료로 이용 가능한 폐배지 중에서 병재배 방식에 의해서 약 68%가 발생되어 가장 많은 비율을 차지하며, 또한 병재배 방식은 자동화가 가장 잘 되는 방식이므로 버섯폐배지가 대량으로 발생되며, 이의 주된 성분은 톱밥이다.

버섯균의 일종인 백색부후균(white rot fungi)은 lignocellulose를 분해한다는 보고(Andrew와 Anita, 1995; Tuomela 등, 2000; Makela 등, 2002)와 버섯 재배단계별 화학적 성분의 변화에 관한 연구에서 배지내 난분해성 섬유소의 함량은 최초단계보다 폐배지 단계에서 더 증가하였다는 보고(김 등, 2007b) 등을 고려하면 버섯균에 의해 쉽게 이용이 가능한 물질들은 우선적으로 버섯으로 흡수되고 상대적으로 난분해성 물질들이 폐배지에 남아서 이의 주된 구성성분이 된다고 할 수 있다. 김 등(2007a)의 연구에서 병재배 버섯폐배지는 톱밥주원료이며, 화학성분에 있어 neutral detergent fiber(NDF) 73.6%, acid detergent fiber(ADF) 55.0%, lignin 19.1%, non-fibrous carbohydrate (NFC) 9.8%, crude protein (CP) 8.1%, ether extract (EE) 2.1%, ash 6.4%로서 특성상 섬유소 함량이 높고, 단백질 함량이 낮으며, 비소화성 단백질이 높아 영양적 개선이 필요한 것으로 판단된다. 또한 Kwak 등(2007)은 병재배 폐배지는 높은 수분 함량(63%)에 의해 저장 3~4일 만에 곰팡이가 쉽게 발생 하며, 이때 저장성 및 영양성 개선을 위해 육계분 첨가가 효과적이었다고 보고한 바 있다.

고섬유성 버섯폐배지의 미생물 처리를 통한 사료영양적 가치 개선 연구와 관련하여, 정 등(2003)과 양 등(2001)은 *bacillus* spp. 중 xylanase

와 CMCase의 활력이 높은 균주를 선발하여 가축사료 첨가용 생균제로 이용하였을 때 효과가 있었다고 하였다. Xylan은 hemicellulose의 주요 구성성분이며, lignin complex에서 xylan 골격을 형성함으로 xylanase의 활력이 높은 균을 섬유소 함량이 높은 버섯폐배지에 적용시 소화율 향상에 효과가 있을 것으로 가정하였다. Cellulase 중 CMCase (carboxymethyl cellulase, Endo- β -1,4-glucanase)를 xylanase와 동시에 폐배지에 적용하면 식물세포벽 주요 구성성분인 cellulose와 xylan을 동시에 분해 할 수 있어서 그 효율이 증대될 것으로 기대된다.

따라서 본 연구는 톱밥주원료의 병재배 버섯폐배지의 퇴적발효 시 섬유소분해성 생균제(*bacillus subtilis*, *bacillus cereus*, *enterobacter ludwigii*) 첨가가 발효물의 발효 성상, 균수 및 효소 활력에 미치는 영향을 측정하고, 생균제 처리한 버섯폐배지 급여시 면양 체내에서의 영양소 이용성에 미치는 효과를 구명하고자 실시하였다.

II. 재료 및 방법

1. 시험사료 제조

퇴적발효 버섯폐배지사료 제조를 위하여 충북 충주시 노은면 소재의 새송이 버섯 농장에서 오전에 배출된 신선한 톱밥 주원료 폐배지 2톤 분량을 실습농장으로 운반하여 시험에 사용하였다. 사용된 폐배지는 톱밥 49%, 미강 32%, 옥공이 19%로 조성된 버섯배지로서 운송 다음날 가로 20mm × 세로 20mm 체경의 체로 선별하여 통과된 가루부분을 시험에 사용하였다. 버섯폐배지에서 CMCase와 xylanase의 활력이 높은 균주를 사전 선별, 분리 및 동정(곽, 2006)하여 본 시험에서의 생균제로 활용하였다. 대조구는 버섯폐배지에 균주를 접종하지 않은 상태에서, 처리구는 80ℓ들이 혼합기(Akita, Italy)를 이용하여 사전배양(PCB배지, 36℃, 12시간)된 4균주(strain 201-3, 201-7, 206-3, 3)를 버섯폐배지에 각각 0.25%(wet basis)씩 총 1%를 철저히 혼합하였다. 대조구와 처리구 모두 나

무로 제작된 발효조(가로 1m, 세로 1m, 높이 1.2m)에 넣어 퇴적발효를 2006년 12월에 7일간 진행하였다. 시료 채취에 따르는 성분 변이를 최소화하기 위해서 나일론백(가로 28 cm × 세로 33 cm, 1mm² porosity)에 철저히 혼합된 시료를 넣어 발효조의 중간 높이에 삽입하였다. 퇴적 발효 종료 후 폐배지의 외관적 성상으로서 곰팡이 발생 정도, 색, 냄새 등을 관찰하였다.

2. 총 균수, 효소 활력 측정

발효 전, 후의 총 균수 측정은 시료 25g(wet basis)과 멸균수 50 ml을 균질하여 serial dilution 방법으로 희석한 후 희석액 0.1 ml을 PCA배지에 접종하여 도말하는 평판도말법으로 분석하였다.

각 처리구별 발효 전, 후의 효소활력을 분석하기 위해서 CMCase, xylanase 활력은 DNS법 (Miller, 1959)으로 환원당을 측정하여 unit로 환산하였고, laccase 활력은 Morohoshi 등 (1985)의 방법으로, MnP 활력은 Ha(2001)의 방법으로 측정하였다. 발효 전·후의 pH는 pH meter(HI

9321, Hanna Instrument, Portugal)를 이용하여 측정하였다.

3. 공시동물 및 처리구

면양대사시험은 평균 체중 54.8kg의 숫 면양 6두를 대조구와 처리구별 체중이 비슷하도록 각각 3두씩 특수제작된 대사틀에 넣고 switch-back 방식으로 동일면양이 특정 처리구에 반복 이용되지 않도록 하여 2회 시행하였다. 배합사료(농협중송아지사료), 볏짚 그리고 폐배지가 각각 70:15:15(건물기준)의 비율로 총 850g(건물기준)을 면양에게 급여하였으며, 대조구에게는 균을 첨가하지 않고 발효한 버섯폐배지를, 처리구에게는 균을 첨가하여 발효한 버섯폐배지를 각각 동일량 급여하였다. 전체 사료의 급여량은 모든 면양이 남기지 않는 수준으로 동일하게 제한하였으며, NRC(1985)의 면양 영양소 요구량에 준하여 급여하였다. 시험에 사용된 각 사료(배합사료, 볏짚, 버섯폐배지)의 화학적 성분은 Table 1에, 각 시험사료의 배합비와 화학적 성분은 Table 2에 각각 제시하였다.

Table 1. Chemical compositions of feedstuffs fed to sheep¹⁾

Item	Concentrates	Rice straw	Deepstacked SMS ²⁾	
			Control	Probiotics
 %			
Dry matter	87.0	85.9	36.8	35.8
Organic matter	93.1	89.0	93.8	94.5
Ether extract	3.3	0.8	1.6	1.4
Crude protein	14.2	7.4	8.8	8.7
True protein/CP	84.4	86.3	66.0	69.6
NPN/CP	15.6	13.7	34.0	30.4
ADF-CP/CP	15.6	54.2	45.6	46.6
Neutral detergent fiber	28.0	79.7	80.7	81.9
Acid detergent fiber	13.0	51.2	66.2	67.8
Hemicellulose	15.0	28.4	14.4	14.1
Crude fiber	15.8	41.5	56.7	55.9
Nitrogen free extracts	59.9	39.3	26.6	28.5
Crude ash	6.9	11.0	6.2	5.5

¹⁾ On a dry matter basis.

²⁾ Deepstacked with or without probiotics.

Table 2. Ingredient and chemical compositions of diets fed to sheep¹⁾

Item	Control	Probiotics
Ingredient composition(%)		
Concentrates mix	70.0	70.0
Rice straw	15.0	15.0
SMS(without probiotic treatment) ²⁾	15.0	–
SMS(with probiotic treatment) ³⁾	–	15.0
Chemical composition (%)		
Dry matter	72.1	71.5
Organic matter	92.6	92.7
Crude protein	12.4	12.3
Ether extract	2.7	2.6
Neutral detergent fiber	43.6	43.8
Acid detergent fiber	26.7	27.0
Hemicellulose	16.9	16.8
Crude fiber	25.8	25.7
Nitrogen free extracts	51.8	52.1
Crude ash	7.4	7.3

¹⁾ On a dry matter basis.

²⁾ Spent mushroom substrates deepstacked without probiotic treatment.

³⁾ Spent mushroom substrates deepstacked with probiotic treatment.

4. 대사시험 및 시료 채취

대사시험은 2회에 걸쳐 대사를 적응기간 7.5일, 사료 전환기 2.5일, 사료적응기 14일, 시료 채취기간 5일 동안 각각 수행되었으며, 시료 채취기간 동안에는 급여 사료의 잔량, 분과 뇨를 각각 채취하였다. 24시간 간격으로 5일 동안 전량 채취한 분은 60℃ drying oven에서 48시간 동안 건조한 후 면양별로 지정한 용기에 모아졌으며, 채취기간 종료 시에 철저히 혼합한 후 무게를 측정하고, 일정량을 채취하여 1mm 크기 이하로 분쇄하여 분석에 사용하였

다. 뇨는 24시간 간격으로 50% H₂SO₄ 용액 15 ml이 첨가된 플라스틱 용기 내에 수집하여, 가장 많은 뇨의 양을 측정된 후 그것을 기준으로 모든 면양의 뇨의 양을 동일하게 증류수로 첨가하여 매일 2% 씩을 5일 동안 별도의 플라스틱 용기에 채취하여 향후 분석을 위해 냉장 보관하였다.

각 시행의 채취기간 종료 후 다음 날 위액을 채취하였다. 위액은 사료 급여 2시간 경과 시에 구강을 통해서 stomach tube를 삽입하여 약 200 ml을 채취하여 4겹의 거즈로 여과한 다음 pH를 측정하였다. 면양의 행동 양상을 측정하기 위해서 각 시행마다 시료채취기간 중 하루를 택하여 camcorder (GR-DVP3KR, JVC, Japan)를 이용하여 24시간 동안 촬영 하였다. 이를 근거로 면양의 일일 섭취시간, 음수시간, 반추시간, 총 저작시간, 수면시간, 휴식시간 등을 각 면양별로 측정하였다.

5. 화학적 분석

시료는 분석을 위하여 냉장고에서 녹인 다음, DM은 60℃ dry oven에서 48시간 건조한 후 측정하였고, CP, EE, Ash 및 ADF는 AOAC (2002) 방법에 따라, NDF는 Van Soest (1991)의 방법에 따라 분석하였다. TP는 5% trichloroacetic acid 용액에서 침전되는 양으로, NPN은 CP에서 TP를 뺀 양으로 구하였다. ADF-CP는 시료의 ADF를 합쳐서 CP 성분을 분석하여 구하였다. Non-fibrous carbohydrate (NFC)는 [OM-(CP+EE+NDF)] 공식으로 구하였다. 반추위 pH는 pH meter(HI 9321, Hanna Instrument, Portugal) 상에서 측정하였다.

6. 통계분석

통계분석을 위하여 General Linear Model을 이용하였다 (Statistix7, 2000). 발효성상은 one-way ANOVA를, 면양대사시험은 two-way ANOVA를 이용하여, 두 개 평균간 비교는 studentized-t test를 이용하여 분석하였다(Statistix7, 2000).

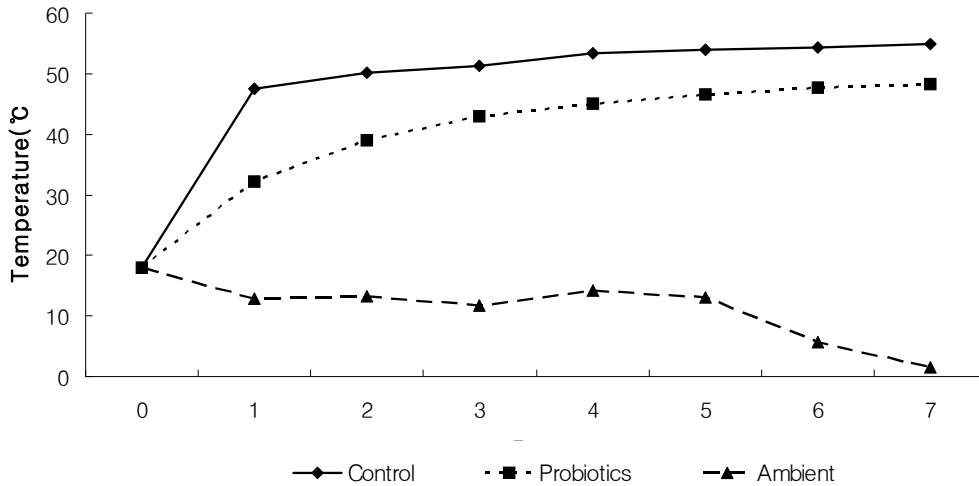


Fig. 1. Change in stack temperature of spent mushroom substrates deepstacked with or without probiotic treatment.

III. 결과 및 고찰

1. 외관적 성상

퇴적발효 2일부터 대조구와 처리구 모두 발효물의 상층 표면에 푸른 곰팡이가 형성되는 것을 확인할 수 있었다. 곰팡이 생성은 표면 공기와의 접촉과 높은 함수율(64%) 때문인 것으로 사료되었다. 발효 7일째에 발효물의 개봉 시 내부 단면은 두 처리구 모두 가장자리로 흰 곰팡이가 환을 형성하며 분포해 있었다. 대조구 발효조의 중앙부위에는 곰팡이 발생이 없었으며, 색깔은 갈색을 띠었고 양호한 산취를 확인할 수 있었다. 균처리구의 중앙부 발효물도 색깔은 대조구와 비슷한 갈색을 띠었고, 대조구보다 약간 낮은 산취를 띠었다. 실제 현장에서의 이용 시에는 발효기간이 단축되기 때문에 곰팡이 문제는 쉽게 해결될 것이다.

발효 기간 동안 발효 온도의 변화는 Fig. 1에 제시하였다. 대조구의 내부온도는 발효 개시온도 18°C에서 1일째에 47°C까지 급격히 온도가 올라 2일째에 50°C 이상을 유지하였고, 7일째까지 최고 54.7°C까지 도달하였다. 균처리구는 발효 개시온도 18°C에서 2일째 38.9°C, 7일째

최고온도 48.4°C까지 대조구에 비해 다소 원만한 온도 상승을 보여주었다. 이는 전체 발효물의 1% (wet basis)의 균주용액의 접종으로 인한 수분 함량의 증가 또는 발효조 위치에 따른 바람의 영향 때문인 것으로 판단되었다.

2. 총 균수 및 효소 활성

대조구와 처리구의 발효 전과 후의 총 균수와 pH는 Table 3에 제시하였다. 발효 전과 비교해서 발효 후에는 대조구와 균처리구 모두 총 균수는 유의적으로 감소하였다 ($P < 0.05$). 이는 발효과정에서 발생된 고온의 발효열 때문인 것으로 사료되었다. 발효 후 총 균수는 처리구가 대조구에 비해 수치는 높았으나 유의적 차이는 없었다 ($P > 0.05$). 양 처리구 공히 발효 후의 pH 감소 현상은 퇴적저장기간 동안 미생물에 의한 발효 작용에 의해 산(acid)이 생성된 때문인 것으로 사료 되었다. 결과적으로 실험에 이용된 균주는 낮은 산도(3.9~4.0)의 환경에서도 잘 견디는 것으로 판단되었다.

퇴적발효 전과 후의 섬유소 분해효소의 활성에 있어서 (Table 3) cellulose 분해효소인 CMCase의 활성은 대조구와 처리구 모두 발효가 진행

Table 3. pH, total microbial count and enzyme activity of spent mushroom substrates deepstacked with or without probiotic treatment¹⁾

Item	Control		SE	Probiotic treatment		SE
	Raw	Deep-stacked		Raw	Deep-stacked	
pH	4.4	3.9	0.1 ^a	4.5	4.0	0.1 ^b
Total microbial count ²⁾	8.1	5.3	0.3 ^a	8.0	5.6	0.2 ^b
Cellulolytic enzymes						
CMCase (unit/ml)	1,271.1	409.0	29.7 ^a	1,182.8	1,045.5	60.6 ^{bc}
Xylanase (unit/ml)	2,014.4	523.6	68.8 ^a	1,722.7	2,011.5	87.2 ^{bc}
Lignolytic enzymes						
Laccase (unit/min)	5.6	0.4	0.2 ^a	5.2	0.5	0.2 ^b
MnP (10 ⁻⁴ unit/sec)	2,299.0	5.9	131.0 ^a	2,336.0	0.1	159.0 ^b

¹⁾ Means of 6 observations.

²⁾ log₁₀ cfu/g : Colony-forming unit per gram of wet samples.

^{a)} Raw differs from deepstacked for Control (P<0.05).

^{b)} Raw differs from deepstacked for probiotic treatment (P<0.05).

^{c)} Deepstacked Control differs from deepstacked probiotic treatment (P<0.05).

됨에 따라 유의적으로 감소하였다(P<0.05). 대조구의 경우 발효 후의 CMCase 활성은 발효 전의 32% 수준까지 감소한 반면, 발효 후 균처리구는 발효 전 활성의 88% 수준까지만 감소하여 결과적으로 균처리를 함에 따라 CMCase의 활성이 대조구보다 2.5배 정도 높게 유지되었다. 이는 총 균수가 처리구와 대조구 모두 발효 후에 유의적으로 감소하여 비슷한 수치를 나타내었으나, 처리구에서는 온도가 50℃ 이상에서도 성장이 가능한 호열성(thermophilic) 균주가 발효진행에 따라 상대적으로 우점하여 높은 CMCase의 활성을 유지한 것으로 판단되었다. 참고로 버섯재배과정에서 생성되는 백색부후균의 섬유소 분해능력은 여러 연구자들(Hadar 등, 1993; Andrew와 Anita, 1995; Tuomela 등, 2000; Makela 등, 2002)에 의해 이미 보고된 바 있으며, 이를 근거로 하면 발효 전의 CMCase의 높은 활성은 백색부후균의 효소때문일 수도 있다. Xylanase는 발효가 진행됨에 따라 대조구에서는 유의적으로 감소하여 (P<0.05) 발효 전의 약 26% 수준으로 감소한 반면, 처리구에서는 발효 전보다 약 17% 정도 증가하였

(P<0.05). 퇴적발효 후 xylanase 활성은 처리구가 대조구보다 4배 가량 더 높게 유지되었다 (P<0.05).

CMCase(carboxymethyl cellulase, Endo-β-1,4-glucanase)는 exo-β-1,4-glucanase, β-glucosidase와 함께 cellulase계 구성 효소이며, xylanase는 hemicellulose의 구성성분인 xylan과 lignin 골격인 xylan을 분해한다(Campbell, 1992). CMCase와 xylanase를 동시에 사용시 식물세포벽 구성물질을 효과적으로 분해할 수 있으며(정 등, 2003), 본 연구의 처리구에서 CMCase의 활성이 대조구보다 훨씬 높은 수치를 유지한 점과 xylanase의 활성이 처리구에서는 대조구와는 반대로 발효 후에서 증가한 점을 고려한다면 새송이버섯 폐배지를 퇴적발효시 섬유소 분해성 균처리는 세포벽 구성물질의 분해에 유의적 효과가 있는 것으로 사료되었다. 이와 관련하여 Streeter 등(1982)은 느타리 버섯균(*Pleurotus ostreatus*)을 밀짚에 배양한 결과 *in vitro* 건물소 화율이 증진되었다고 보고한 바 있다. 본 연구에서 리그닌 분해효소인 laccase와 MnP의 활성은 대조구와 처리구 모두 뚜렷이 감소하여

Table 4. Apparent nutrient digestibility and digestible nutrient intake of the different diets fed to sheep^{1),2)}

Item	Control	Probiotics	SE	P value ³⁾
 %			
Apparent digestibility				
Ash	19.19	22.02	1.20	0.051
Nitrogen free extracts	76.10	77.44	0.65	0.071
Hemicellulose	63.90	66.86	1.54	0.087
Neutral detergent fiber	48.10	50.55	1.31	0.096
Organic matter	67.60	68.86	0.85	0.175
Dry matter	63.92	65.27	0.98	0.204
Acid detergent fiber	38.15	40.28	1.61	0.221
Ether extract	88.43	89.42	0.83	0.268
Crude fiber	49.31	50.89	1.39	0.284
Crude protein	65.45	65.80	1.14	0.764
 g/5days			
Digestible nutrient intake				
Nitrogen free extracts	1,679.5	1,708.9	13.3	0.054
Ash	60.1	69.0	4.0	0.061
Neutral detergent fiber	893.8	939.4	23.9	0.089
Hemicellulose	459.0	480.1	11.4	0.096
Organic matter	2,661.4	2,710.9	33.4	0.172
Acid detergent fiber	434.9	459.2	18.1	0.211
Dry matter	2,716.5	2,773.7	41.9	0.205
Crude fiber	539.3	556.4	15.6	0.301
Ether extract	99.6	100.6	1.0	0.313
Crude protein	343.1	345.0	6.0	0.768

¹⁾ On a dry matter basis.

²⁾ Means of 6 observations.

³⁾ P value from a studentized-t test.

($P < 0.05$) 균주의 첨가가 lignin 분해에는 긍정적인 영향을 주지 않는 것으로 판단되었다.

3. 면양의 저작활동 및 반추위 pH

면양의 일일 행동 양상을 분석한 결과(Table 미제시), 반추시간은 대조구가 일일 376.7분, 처

리구가 366.7분으로 처리구간 차이가 없었다 ($P > 0.05$). 섭취시간을 포함하는 총 저작시간 또한 처리구별 차이가 없었다 ($P > 0.05$). Erdman (1988)과 Mertens (1997)은 저작 및 반추시간은 사료의 입자도에 영향을 받는다고 하였으며, 광 등 (2003)은 전체 diet의 10% 수준에서 입자도가 큰 볏짚을 급여시 반추시간은 정상에 가

Table 5. Nitrogen balance of sheep fed the different diets¹⁾

Item	Control	Probiotics	SE
Intake (g/d)	16.78	16.78	0.01
Excretion (g/d)			
Fecal	5.80	5.74	0.19
Urinary	8.97	9.17	0.59
Total	14.77	14.90	0.56
Absorption (g/d)	10.98	11.04	0.19
Retention			
g/d	2.01	1.87	0.56
% intake	11.97	11.17	3.32
% absorbed	18.46	16.88	5.18

¹⁾ Least square means of 6 observations.

까운 것으로 보고한 바 있다. 따라서 본 시험에 대조구와 처리구 모두 볏짚의 급여량이 전체 diet의 15% 수준이었으며, 유효섬유소 (effective fiber) 함량에 있어서도 처리구별 차이가 없었고, 사료급여 2시간 후 반추위 pH는 대조구 6.82, 처리구 6.81로 양호한 수치를 보였으며, 처리구간 차이가 없었다($P>0.05$). 이러한 결과들을 근거로 하여 판단컨데 본 연구에서의 폐배지 급여수준에서는 면양의 행동 양상과 반추 활동은 정상적인 것으로 판단되었다.

4. 영양소 소화율과 가소화영양소 섭취량

처리에 따른 영양소 소화율과 가소화 영양소의 섭취량 효과는 Table 4에 제시하였다. 퇴적 발효 시 섬유소분해성 균주를 첨가하여 처리함에 따라 폐배지를 함유하는 전체 diet의 ash ($P=0.051$), NFE ($P=0.071$), hemicellulose ($P=0.087$), NDF ($P=0.096$)의 전장 소화율은 증가하는 경향이였다. 본 시험에서 전체 diet에 대한 버섯폐배지의 비율은 건물 15% 수준이었으며, 이 비율이 증가 할수록 생균제의 첨가 효과에 따른 소화율 개선효과는 뚜렷하게 증가할 것으로 예상 할 수 있다. 특히 ash 소화율의 유의적 증가 현상은 폐배지의 무기성 광물질이 첨가한 발효 미생물에 의해 미생물내의 유기성 광물질로 전

환되어 결과적으로 체내 이용성이 증가한 때문 일수도 있다. 이러한 영양소 소화율의 증가 경향과 더불어 가소화 NFE ($P=0.054$), ash ($P=0.061$), NDF ($P=0.089$), hemi-cellulose ($P=0.096$)의 섭취량은 마찬가지로 증가하는 경향을 보였다.

5. 체내 질소 균형

대조구와 처리구의 체내 질소 균형은 Table 5에 제시하였다. 처리구는 대조구에 비하여 일일 단백질(질소) 섭취량, 배설량, 흡수량 및 축적율에 있어서 차이가 없었다($P>0.05$). 고 등 (1996), 광 등(2003), 광 등(2004)의 연구에서 질소의 섭취량이 증가하게 되면 상대적으로 흡수량 또는 분과 뇨로의 배출량이 증가 한다고 보고하였다. 그러나 본 연구에서는 처리구별 같은 수준의 질소를 섭취한 결과, 체내 질소 균형에 있어서도 별다른 차이가 없었다.

IV. 결 론

툽밥주원료의 버섯폐배지의 퇴적발효시 섬유소 분해성 미생물처리(1%, wet 기준) cellulose와 hemicellulose 분해효소의 활력을 2~4배 정도 증가시켜 주었고, 미생물 처리한 폐배지를 건물 15% 수준에서 볏짚의 50%를 대체하여 면양

에게 급여하였을 때 광물질, NFE 및 섬유소의 전장 소화율을 증가시키는 경향이 있었으며, 각종 영양소 소화율은 처리구에서 일률적으로 더 높은 수치를 보였다. 미생물 처리한 폐배지의 급여수준이 증가하면 할수록 전체 diet의 영양소소화율 증가 효과는 배가될 것으로 예상된다. 따라서 향후 육우 또는 유우에서의 조사료적 가치평가를 위한 현장 사양시험이 병행되어야 할 것이다.

V. 요약

본 연구는 톱밥주원료의 병재배 버섯폐배지의 퇴적발효 간 섬유소분해성 미생물 첨가가 발효물의 발효 성장, 균수 및 효소 활력에 미치는 영향을 평가하고, 미생물 처리한 버섯폐배지 급여시 면양의 영양소 이용성에 미치는 효과를 구명하고자 실시하였다. 면양 대사시험의 경우, 면양 6두를 공시하여 배합사료, 볏짚 그리고 버섯폐배지를 각각 70:15:15 (건물기준)의 비율로 급여하였다. 처리구의 버섯폐배지는 퇴적발효 시 4종의 섬유소 분해균 (201-3, 201-7, 206-3, 3)을 접종하였다. 1.2 M/T 규모의 버섯폐배지의 퇴적발효 온도는 발효 7일 이내에 50 °C 내외에 도달하였다. 고온의 발효열에 의해 발효 전과 비교해서 발효 후에는 대조구와 균처리구 모두 총균수가 현저히 감소하였고 ($P<0.05$), 처리에 따른 차이는 없었다 ($P>0.05$). 섬유소 분해효소의 활력에 있어서, CMCase와 xylanase의 활력은 퇴적발효 처리에 의해 공히 현저히 감소하였다 ($P<0.05$). 발효 후에는 대조구와 비교해서 미생물 처리구에서 CMCase 활력은 2.5배 정도, xylanase 활력은 4배 정도 더 높았다 ($P<0.05$). 리그닌 분해 효소인 laccase와 MnP의 활력은 미생물 처리에 따른 차이는 없었다. 면양대사시험 결과, 버섯폐배지를 볏짚 급여량의 50% (총사료의 15%)와 대체하였을 때 (건물기준) 미생물 처리한 폐배지 발효물 급여 시에는 무처리 폐배지 발효물 급여시와 비교하여 면양체내에서의 ash ($P=0.051$), NFE ($P=0.071$), hemicellulose ($P=0.087$) 및 NDF ($P=0.096$)의 전장 소화율은 증가하는 경향이 있었으며, 체내 질소

균형은 차이가 없었다 ($P>0.05$). 따라서 이러한 연구 결과는 톱밥주원료 버섯폐배지의 발효사료화 시 섬유소분해성 미생물 처리는 반추동물에 의한 폐배지 영양소의 체내 이용성을 향상시킬 수 있음을 시사해 주고 있다.

VI. 인용 문헌

- Andrew, S. B. and Anita, M. J. 1995. The recovery of lignocellulose-degrading enzymes from spent mushroom compost. *Bioresource Tech.* 54: 311-314.
- AOAC. 2000. Official Methods of Analysis(17th Ed.). Association of Official Analytical Chemists, Washington, D. C., USA.
- Campbell, G. L. and Bedford, M. R. 1992. Enzyme application for monogastric feeds: A review. *Can. J. Anim. Sci.* 72:449.
- Edrman, R. A. 1988. Dietary buffering requirements of the lactating dairy cow: a review. *J. Dairy Sci.*71:3246-3266.
- Ha, H. C. 2001. Purification and characterization of manganese peroxidase from *Pleurotus ostreatus*. *Proc. Asian Mycol. Symp.* 209-214.
- Hadar, Y., Zohar, K. and Barbara G. 1993. Biodegradation of lignocellulosic agro-cultural wastes by *Pleurotus ostreatus*. *Journal of Biotechnology.* 30:133-139.
- Kwak, W. S., Jung, S. H. and Kim, Y. I. 2007. Broiler litter supplementation improves storage and feed-nutritional value of sawdust-based spent mushroom substrates. *Bioresource Tech.* 98, in press.
- Makela, M., Galkin, S., Hatakka, A. and Lundell, T. 2002. Production of organic acids and oxalate decarboxylase in lignin-degrading white rot fungi. *Enzyme and Microbial Technology* 30:542-549.
- Mertens, D. R. 1997. Creating a system for meeting the fiber requirements of dairy cows. *J. Dairy Sci.* 80:1463-1481.
- Miller, G. L. 1959. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Anal. Chem.* 31:426-428.

11. Morohoshi, N., Nakamura, T. and Haraguchi, T. 1985. Degradation of lignin by the extracellular enzymes of *Trametes versicolor* (I). Tokyo Univ. of Agri. and Tech. 21:101-105.
 12. National Research Council. 1985. Nutrient Requirements of Sheep. 6th rev. ed., National Academy Press, Washington, D. C., USA.
 13. Statistix7. 2000. User's Manual. Analytical Software, Tallahassee, FL, USA.
 14. Streeter, C. L., Conway, K. E., Horn, G. W. and Mader, T. L. 1982. Nutritional evaluation of wheat straw incubated with the edible mushroom, *Pleurotus ostreatus*. J. Anim. Sci. 54:183-188.
 15. Tuomela, M., Vikman M., Hatakka, A. and Itavaara, M. 2000. Biodegradation of lignin in a compost environment : a review. Bioresource Tech. 72:169-183.
 16. Van Soest, P. J., Robertson, J. B. and Lewis, B. A. 1991. Methods of dietary fiber, neutral detergent fiber, nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. J. Dairy Sci. 74:3583.
 17. 고영두, 류영우, 강한석, 김재황, 유성오, 강경록. 1996. 옥수수-산란계분 silage의 면양체내 소화율과 질소출납 및 반추위 성장에 관한 연구. I 옥수수-산란계분 silage의 영양소 함량과 소화율 및 질소출납. 한국동물자원과학회지 20(5): 453-458.
 18. 곽완섭, 백용현, 지경수. 2004. 퇴적발효 옥계분의 조사료적 가치 평가. 한국동물자원과학회지 46(2):201-208.
 19. 곽완섭, 윤정식, 정근기. 2003. 옥계분-제과부산물 발효 완전혼합사료(TMR)의 면양 체내에서의 영양소 이용성 평가. 한국동물자원과학회지 45(4): 607-616.
 20. 곽완섭. 2006. 느타리 및 송이 버섯재배잔사를 이용한 반추가축사료 개발. 농림부 1차년도 보고서.
 21. 김영일, 배지선, 정세형, 안문환, 곽완섭. 2007a, 버섯폐배지의 발생량 조사 및 새송이, 느타리, 팽이 버섯 폐배지의 버섯종류별과 재배방식별의 물리화학적 특성평가. 한국동물자원과학회지 49(1):79-88.
 22. 김영일, 배지선, 허정원, 곽완섭. 2007b. 버섯의 봉지재배 및 병재배 시 재배단계별 배지의 사료 영양적 성분, 독성중금속 및 잔류농약 모니터링. 한국동물자원과학회지 49(1):67-78.
 23. 양시용, 송민동, 김언현, 김창원. 2001. Probiotics 용 복합효소 분비 *Bacillus* sp.의 분리 및 원료사료를 이용한 균주 생산을 위한 배지 조건의 최적화. 한국미생물생명공학회지 29(2):110-114.
 24. 정원형, 양시용, 송민동, 하종규, 김창원. 2003. Xylanase, Cellulase의 생산성이 높은 *Bacillus* sp.의 분리 및 효소생산을 위한 배지조건의 최적화. 한국미생물생명공학회지 31(4):383-388.
- (접수일자 : 2007. 8. 13. / 채택일자 : 2007. 10. 9.)