Journal of Mushrooms 한국버섯학회지 Research Article

팽이버섯 수확후배지 첨가가 수수 사일리지의 *in vitro* 반추위 발효특성 및 소화율에 미치는 영향

문여황 · 장선식[1] · 김언태[2] · 조웅기[3] · 이신자[3] · 이성실[3] · 조수정[4,*]

경남과학기술대학교 동물생명과학과
[1]농촌진흥청 한우시험장
[2]농촌진흥청 축산과학원
[3]경상대학교 응용생명과학부
[4]경남과학기술대학교 제약공학과

Effects of spent mushroom (*Flammulina velutipes*) substrates on *in vitro* ruminal fermentation characteristics and digestibility of whole crop sorghum silage

Yea Hwang Moon, Sun Sik Chang[1], Eun Tae Kim[2], Woong Gi Cho[3], Shin Ja Lee[3], Sung Sil Lee[3] and Soo Jeong Cho[4,*]

Department of Animal Science & Biotechnology, Gyeongnam National University of Science and Technology, 33 Dongjin-ro, Jinju 660-758, Korea
[1]Hanwoo Research Institute, National Institute of Animal Science, RDA, 4937 gyungang-ro, Pyeongchang 232-950, Korea
[2]Department Animal Resource Development, National Institute of Animal Science, RDA, 114 Sunghwan-eup, Cheonan 331-801, Korea
[3]Division of Applied Life Science, Gyeongsang National University, 501 Jinju-daero, Jinju 660-701, Korea
[4]Department of Phamaceutical Engineering, Gyeongnam National University of Science and Technology, 33 Dongjin-ro, Jinju 660-758, Korea

ABSTRACT: The *in vitro* experiment was conducted to ensure the supplemental level of spent *Flammulina velutipes* mushroom substrates (SMS) as an energy source in manufacturing of whole crop sorghum silage. Sorghum harvested at heading stage was ensiled with spent mushroom substrates of 20% (S-20), 40% (S-40) and 60% (S-60) as fresh matter basis for 6 week. The experiment was conducted by 3, 6, 9, 12, 24, 48 hrs of incubation time with 3 replications. The silages were evaluated fermentation characteristics and dry matter digestibility (DMD) *in vitro*. The pH of *in vitro* solution was inclined to decrease with elapsing the incubation time, and that of the S-20 was significantly ($P<0.05$) lower than the other treatment at 48 hr of incubation. Gas production was greater ($P<0.05$) in the S-20 than the other treatments at 6 and 12 hrs of incubation. The microbial growth *in vitro* was inclined to decrease following 24 hr of incubation, and thereafter sustained the similar levels. *In vitro* dry matter digestibility (IVDMD) was lowered by increasing the supplemental level of spent mushroom substrate, and was a low level in the S-60 throughout whole incubation time. Although the IVDMD for S-40 was steadily increased from 9 hr of incubation and reached to similar level with the S-20 at 48 hour of incubation, however SMS for whole crop sorghum silage fermentation might as well add about 20 to 30% in fresh matter basis when considering DMD.

KEYWORDS: *Flammulina velutipes*, *In vitro*, Spent mushroom substrates, Whole crop sorghum silage

J. Mushrooms 2015 September, 13(3):163-169
http://dx.doi.org/10.14480/JM.2015.13.3.163
Print ISSN 1738-0294, Online ISSN 2288-8853
© The Korean Society of Mushroom Science

*Corresponding author
E-mail : sjcho@gntech.ac.kr
Tel : +82-55-751-3397, Fax : +82-55-752-9554

Received August 3, 2015
Revised September 25, 2015
Accepted September 30, 2015

This is an Open-Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

서 론

농축산물 수입개방과 환경보존의 시대에서 우리나라 1

차 산업의 생존전략은 저비용 고부가가치의 친환경 농축산물 생산이 될 것이다. 이것은 농업과 축산업이 최상의 보완적 관계에 있어야 한다는 것을 의미한다. 버섯농가와 축산농가의 경우 버섯농가에서는 생산성에 영향을 주지 않는 범위에서 버섯재배용 배지를 개발하여 수확후배지의 퇴비화를 줄이고 사료적 가치를 높여서 축산농가에 공급하고 축산농가에서는 버섯수확후배지를 사료자원으로 개발하여 이용하는 것이 상생원리일 것이다. 팽이버섯배지는 다른 버섯재배용 배지와 달리 톱밥이 거의 함유되어 있지 않으며 축우용 사료와 동일한 원료를 사용하여 버섯 성장을 위해 최적의 영양수준으로 배합되어 있다. 또한, 버섯수확후배지에는 75% 이상의 영양소와 버섯균사체가 분비한 생리활성물질이 그대로 남아있어서 사료적 가치가 높은 부존자원이다(Williams *et al*, 2001; Bae *et al*, 2006). 그러나 팽이버섯 수확후배지에는 부패가 빠른 미강이 많이 함유되어 있고 수분함량이 높아서 버섯농장 인근 축산농가나 일부 축산농가에서만 사료자원으로 이용되고 있고 대부분 농산폐기물로서 유기질 퇴비생산에 이용되고 있는 실정이다(Ehaliotis *et al*, 2005). 버섯수확후배지 자체만을 가축용 사료로 사용하는 것은 가축의 생산성이 떨어지므로 수확후배지의 사료화를 위해서는 적절한 처리를 거친 후 배합사료의 원료로 사용하는 것이 바람직하다. 그러나 수확후배지의 사료화를 위한 더욱 직접적인 방법은 처리를 하지 않고 발효를 통해 저장성과 사료적 가치를 향상시키는 것이다. 사일리지는 다즙성 사료를 유산발효를 통해 유해균 증식을 억제시킴으로써 저장성을 향상시키는 축우용 발효 조사료이다. 사일리지의 품질은 화학적 성분분석에 의한 발효상태를 일차적으로 평가하고, 동물 생체실험(*in vivo*)을 통해 소화율 등을 조사함으로써 그 이용성을 최종적으로 평가한다. *In vitro* 실험은 *in vivo* 실험의 대체 또는 전 단계 실험으로 사용되는데(Moore, 1970), 여러 가지 여건상 동물실험이 어렵거나 동일한 시험조건에서 단순비교를 위한 예비실험이 필요할 경우, 생체조건을 최대한 감안하여 실험실 내에서 실시할 수 있도록 개발되었다. *In vitro* 반추위 실험을 위한 배지는 Dehority and Scott(1967)이 인공배지에 반추위액을 혼합함으로써 반추위내의 조건을 맞추어 이용되어 왔으며, 실험방법은 2단계 소화과정을 거치는 Tilley and Terry (1963)의 방법을 Moore(1970)가 수정, 보완한 방법이 아직까지 이용되고 있다. 본 시험은 팽이버섯 수확후배지 첨가가 수수 사일리지의 *in vitro* 반추위 발효특성 및 소화율에 미치는 영향을 조사함으로써 수수 사일리지 제조 시 발효 에너지원으로서 버섯수확후배지의 적정 첨가량을 규명하고자 수행되었다.

재료 및 방법

공시사료

수수×수수 교잡종(SS405)을 출수기에 수확하여 처리당 9 kg씩 세절(2-3 cm)하여 당밀 5%와 개미산 0.2%를 첨가하고 발효 에너지원으로서 미강, 콘코브, 비트펄프, 면실피, 건비지 및 패분으로 구성된 팽이버섯 수확후배지를 원물기준으로 20%, 40% 및 60%씩 각각 혼합한 후 비닐이 내장된 플라스틱통에서 6주 동안 혐기발효시켜 사일리지를 제조하였다.

시험설계

팽이버섯 수확후배지 첨가비율(20, 40, 60%)에 따라 제조된 사일리지 3 처리구에 발효시간을 3, 6, 9, 12, 24 및 48시간으로 두고, 각 처리구별 3반복으로 총 54개(수확후배지 첨가비율별 3처리구×발효시간별 6 처리구×3반복)의 serum bottle을 이용하여 *in vitro* 실험을 수행하였다.

반추위액 준비

In vitro 반추위 조건을 제공하기 위한 반추위액은 반추위 누관이 장착된 Holstein(평균체중 550 kg) 수소 2두로부터 채취하였다. 반추위액 공여축의 사양관리는 농후사료와 볏짚의 급여비율을 40:60으로 하여 체중의 3% 수준으로 1일 2회(07:00, 19:00) 분할 급여하였고, Mineral-vitamin block을 자유롭게 섭취토록 하였으며 물은 자유음용토록 하였다.

반추위액은 공시축의 반추위 누관을 통하여 오전사료 급여 3시간 후 *in vitro* 시험 2시간 전에 각각 1,000 ml씩 채취하여 4겹의 cheese cloth로 거른 다음 동일한 양으로 합하여 배지제조에 사용하였다. 채취한 위액은 탄산가스(O_2-free CO_2)가 충진된 3,000 ml의 플라스틱용기에 담아 보온을 유지하면서 실험실로 운반하였다. 위액 중 사료입자에 부착되어 있는 미생물은 homogenizer에 반추위액을 넣고 O_2-free CO_2를 충진하면서 강하게 3분 동안 교반한 다음 30분 동안 정치시킨 후 상층에 부유된 사료입자를 진공펌프로 제거하여 분리하였다. 사료입자가 제거된 투명한 반추위액과 혐기희석액(Bryant and Burkey, 1953)을 동일한 양으로 혼합하여 *in vitro* 발효실험을 위한 반추위 혼합미생물 용액으로 사용하였다.

In vitro 실험

In vitro 실험은 Tilley and Terry(1963)방법을 Moore (1970)가 수정한 방법에 준하여 수행하였으며 완충액은 Bryant and Burkey(1953)가 사용한 혐기희석액을 사용하였고, 혐기배양액(anaerobic medium)은 Table 1에 나타낸 Dehority(1965)의 배양액에서 탄소원을 제거한 것을 사용하였다. 발효기질로서 입자도가 1 mm인 시험사료 0.5 g을 50 ml serum bottle에 넣고, 혐기배양액 20 ml와 반추위 혼합미생물 용액 10 ml를 혐기 주입장치를 이용하여 주입한 다음 진탕배양기(39°C, 120 rpm)에서 각각 3, 6, 9, 12, 24 및 48시간 동안 발효시켰다.

Table 1. The composition of Dehority's artificial medium

Components	per 100 ml medium
Mineral solution I[1)]	20.0 ml
Mineral solution II[2)]	20.0 ml
Resazurin	0.1 ml
Vitamin mixture[3)]	1.0 ml
V.F.A. solution[4)]	6.7 ml
8% Na_2CO_3	5.0 ml
Hemin solution[5)]	0.1 ml
2.5% Cystein-HCl	0.1 ml
Casein (acid hydrolyzed)	2.0 g
Carbohydrate (C-source)	0.5 g

[1)] Mineral solution I: K_2HPO_4 6.0 g in 1,000 ml distilled water.
[2)] Mineral solution II: $CaCl_2$ (anhydrous), 0.25 g; $MgSO_4$ (anhydrous), 0.25 g; NaCl, 4.5 g; $(NH_4)_2SO_4$, 4.5 g; $MnSO_4H_2O$, 0.10 g; $FeSO_47H_2$, 0.01 g in 1,000 ml distilled water.
[3)] Vitamin mixture: pyridoxine HCl, 0.20 g; nicotinic acid amide, 0.20 g; Ca-d-pantothenate, 0.20 g; para-aminobenzoic acid, 0.01 g; stock solution 1.0 ml in 1,000 ml distilled water.
[4)] V.F.A. solution: acetic acid 17 ml (2.9×10^{-2} M); propionic acid, 6 ml (8.0×10^{-3} M), DL-α-methylbutyric acid, n-valeric acid, and iso-valeric acid 1 ml each (9×10^{-4} M).
[5)] Hemin solution: dissolve 50 mg hemin in 1 ml of 1 N NaOH; make to 100 ml with distilled water.

화학적 성분분석

일반성분은 AOAC(1995) 방법에 준하여 분석하였으며, 세포벽구성 성분인 NDF와 ADF는 Goering and Vansoest (1970)의 방법으로 분석하였다.

pH 측정

발효액의 pH는 가스발생량 측정 후 weaton decapper를 이용하여 serum bottle의 stopper를 제거하고, pH meter (Mettler Toledo, MP230)를 이용하여 측정하였다.

가스 발생량

각 발효시간대별로 진탕배양기(39°C, 120 rpm)에서 serum bottle을 꺼내어 상온에서 20분 동안 방치한 후 bottle 내부에 생성된 가스를 water displacement apparatus에 부착된 주사기로 흡입하여 buret 내 물을 밀어 올리는 양(가스압, ml)을 총 가스발생량으로 계산하였다(Fedorak and Hrwdey, 1983).

미생물 성장량

In vitro 반추위 발효를 통한 배양액 중 미생물 성장량은 각 발효시간대별 발효액 1.5 ml을 3,000 rpm에서 3분 동안 원심분리하여 사료입자를 제거한 후 조사하였다. 상층액을 모두 취하여 14,000 rpm에서 3분 동안 원심분리한 침전물(미생물 pellet)에 sodium phosphate buffer (pH 6.5)를 첨가한 후 교반하여 현탁시키는 과정을 3회 반복하였다. 분광광도계(BIO-RAD Model 680)를 이용하여 550 nm에서 흡광도를 측정하여 미생물 성장량을 구하였다.

건물소화율

건물 소화율(Dry matter digestibility, DMD)은 시험에 사용할 filter paper 무게를 미리 측정해 두었다가 pH 측정 후 filter paper에 걸러진 내용물과 filter paper를 105°C 건조기에서 12시간 동안 건조시킨 다음 아래 공식으로 구하였다(Moore, 1970).

$$\textit{In vitro}\ \text{소화율}(\%) = \frac{\text{발효 전 기질의 무게} - (\text{여과 후 남은 기질의 무게} - \text{Blank})}{\text{발효 전 기질 무게}} \times 100$$

통계처리

시험결과는 SAS(1999) 통계 package의 General Linear Mode(GLM) procedure에 따라 처리되었으며, 각 처리구간의 유의성 검증을 위하여 분산분석을 실시한 후 Duncan's multiple range test(Duncan, 1955)로 유의성($P<0.05$)을 검정하였다.

결과 및 고찰

조성분 함량

사일리지 제조 시 영양소 공급원으로 팽이버섯 수확후배지를 첨가한 수수 사일리지의 화학적 조성은 Table 2에서 보는 바와 같다. 팽이버섯 수확후배지를 원물기준으로 20%(S-20), 40%(S-40) 및 60%(S-60)씩 첨가한 수수 사일리지를 6주 동안 발효시켰을 때, 평균 수분함량은 각각 77.8%, 71.8%, 68.1%였다. 수분함량은 버섯수확후배지 첨가비율이 가장 낮았던 S-20구가 타 처리구에 비해 유의적($P<0.05$)으로 높았는데, 이는 수분조절과정 없이 사일리지를 제조함으로써 출수기에 예취한 총체수수의 수분함량(83.5%)이 팽이버섯 수확후배지의 수분함량(54.3%)보

Table 2. Chemical composition of whole crop sorghum silage by supplemental levels of spent mushroom substrates

Item	Chemical composition[1)]					
	DM	CP	E.E.	Ash	NDF	ADF
	---------- DM (%) ----------					
S-20	22.24[b]	8.86	8.50	12.16	55.08	38.35
S-40	28.23[a]	9.23	8.22	13.37	55.94	38.52
S-60	31.95[a]	9.02	8.50	13.66	58.59	39.85

[1)] DM, dry matter; CP, crude protein; E.E., ether extract; NDF, neutral detergent fiber; ADF, acid detergent fiber.
[a,b] Means with different superscripts in the same column are significantly differ ($P<0.05$).

Table 3. Changes of the pH, cumulative gas production and microbial growth according to fermentation time during *in vitro* trial

Item	Fermentation time (hrs)					
	3	6	9	12	24	48
	---------- pH ----------					
S-20	6.16±0.01	6.08±0.02	6.10±0.03	6.05±0.01	5.94±0.01	5.88±0.12[b]
S-40	6.12±0.00	6.09±0.00	6.08±0.00	6.06±0.02	5.99±0.02	5.93±0.15[a]
S-60	6.12±0.02	6.10±0.01	6.09±0.01	6.07±0.00	5.99±0.01	5.95±0.12[a]
	---------- Gas production (ml/g DM) ----------					
S-20	2.70±0.10	5.90±0.17[a]	6.40±0.12	6.63±0.03[a]	7.87±0.38	10.23±0.12
S-40	2.63±0.29	5.40±0.10[b]	5.90±0.15	6.37±0.52[ab]	7.43±0.50	9.43±0.15
S-60	2.53±0.12	5.30±0.12[b]	5.97±0.10	5.93±0.07[b]	7.27±0.12	9.70±0.12
	---------- Microbial growth (OD) ----------					
S-20	0.14±0.04	0.10±0.03	0.07±0.01	0.05±0.01	0.05±0.02	0.05±0.01
S-40	0.12±0.02	0.09±0.00	0.09±0.01	0.07±0.01	0.07±0.01	0.06±0.01
S-60	0.13±0.03	0.10±0.01	0.09±0.02	0.04±0.01	0.08±0.02	0.09±0.02

[a,b] Means with different superscripts in the same column are significantly different (P<0.05).

다 현저히 높았기 때문이다. 일반적으로 사일리지 제조 시에는 수분을 65-70%로 조절하기 위해 예비건조하거나 수분을 첨가한다(Lim *et al,* 2009; Kim *et al,* 2010). 그러나 우리나라에서는 농번기를 피해서 기후여건에 따라 제조하는 경우가 많기 때문에 재료의 수분함량 차이가 큰 편이다(Choi and Song, 2011). 본 시험에서는 수수 사일리지 제조를 예취현장에서 바로 실시할 수 있도록 청예수수에 버섯수확후배지의 첨가비율만을 달리하여 사일리지를 제조하였기 때문에 수분함량에서 차이가 나타났다. 그러나 처리구별 화학적 성분 함량에는 유의적인 차이가 없었다(P>0.05).

In vitro 발효 시 pH, 가스발생량 및 미생물 성장량

팽이버섯 수확후배지를 첨가한 수수 사일리지의 *in vitro* 반추위 발효 시 pH 변화, 가스발생량 및 미생물 성장량은 Table 3에 나타내었다. *In vitro* 발효액의 pH는 5.88-6.16으로 발효시간이 경과함에 따라 낮아지는 경향이었다. 버섯수확후배지의 첨가량이 가장 적었던 S-20구에서는 발효시간 경과에 따른 pH 저하속도가 타 처리구에 비해 상대적으로 빠르게 일어나 발효 48시간대에는 타 처리구에 비해 유의적(P<0.05)으로 낮았다. 일반적으로 *in vivo* 실험에서 반추위 pH가 낮아지는 이유는 미생물 발효로 인해 휘발성 지방산이 생성되기 때문인데 반추위에 발효가 용이한 탄수화물을 다량으로 급여하거나(Zinn, 1990) 농후사료를 많이 급여하면 유기산 생성량은 많아지고, 저작능력 저하로 인해 타액 분비량은 감소하여 pH가 5이하까지 떨어질 수도 있다(Nocek, 1988). 반추위의 적정 pH는 6.5-6.7로서 산성이나 염기성, 어느 한 쪽으로 치우치게 되면 반추위미생물 활동에 영향을 미쳐 소화율이 떨어진다(Mould *et al,* 1983). 따라서 반추동물은 저작활동을 통해 타액(pH 8.3) 분비를 유도할 수 있는 조사료와 암모니아를 생성할 수 있는 질소원을 적절히 공급함으로써 반추위 pH를 6.0-7.0으로 유지시키는 것이 중요하다. 본 연구에서 *in vitro* 반추위 발효액의 pH가 *in vivo* 시험의 pH 보다 낮았던 것은 유산발효에 의해 공시사료의 평균 pH가 4.33이였고 암모니아가 생성될 수 있는 조단백질 함량(평균 9.0%)도 낮았기 때문이다. 또한, 중화력이 큰 타액의 유입이나 산을 흡수시킬 수 있는 반추위 조건을 충족시키지 못하는 *in vitro* 실험의 한계일 수도 있다. 이처럼 낮은 pH 조건에서의 발효는 *in vitro* 소화율에도 영향을 미쳐서 건물소화율이 전반적으로 낮게 나타났다(Fig. 1).

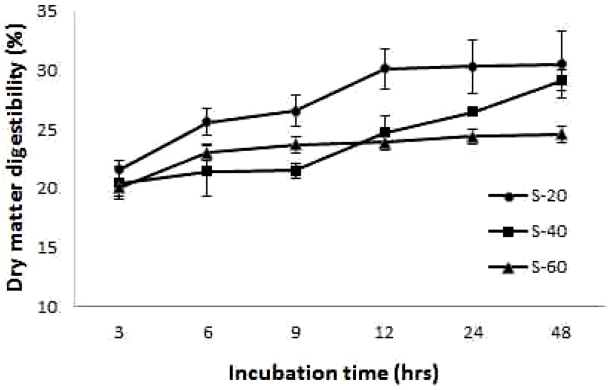

Fig. 1. Dry matter digestibility during *in vitro* fermentation of the whole crop sorghum silages manufactured by different supplemental levels of spent mushroom substrates.

시험 사일리지의 *in vitro* 소화실험에서 반추위미생물 발효로 인한 가스발생량은 사료 건물 g당 2.53-10.23 ml로 발효시간이 경과함에 따라 증가하였는데, S-20구의 6

시간 및 12시간 발효 구에서 타 처리구에 비해 유의적으로 높게 나타났다($P<0.05$). 가스발생량은 pH와는 정반대로 발효시간이 경과함에 따라 증가하였는데, 이는 미생물 발효에 의한 산 생성과 더불어 가스 생성이 진행되었기 때문이다. *In vitro* 시험의 전 발효기간 동안 가스 생성이 지속되고 있다는 것은 접종한 반추위 혐기미생물이 계속 활동을 하고 있다는 것을 의미한다. 일반적으로 *in vivo* 조건에서 반추위미생물 발효과정 중에 생성되는 가스는 560-1,000 L/일이며, 이산화탄소와 메탄의 생성비율은 서식하는 미생물의 상태와 섭취사료의 발효균형에 따라 다르다(Nocek, 1988). 본 시험의 *in vitro* 조건에서 생성된 가스량은 24시간 발효구에서 건물기준으로 사료 1 g당 평균 7.5 ml이였는데, 이 결과를 성우의 평균 건물섭취량(10 kg) 기준으로 환산하면 75 L에 해당되어 *in vivo* 조건의 약 10% 수준밖에 되지 않는다. Lee *et al*(2009)도 수입 원산지와 물리적 처리별 옥수수를 원료로 한 *in vitro* 시험에서 정해진 시간단위로 생성된 가스량을 비선형 회귀식으로 추정한 유효 가스발생량을 옥수수 g당 약 10 ml 수준이라고 하여 본 시험의 결과와 비슷하였다. 따라서 *in vitro* 시험 결과는 같은 조건에서 대조구와 처리구간의 비교를 전제로 하되, 발효조건이나 사료조건에 따른 *in vitro* 시험과 *in vivo* 시험의 결과를 비교한 추정식이 마련되어야 할 것으로 사료된다.

In vitro 발효시간대별 미생물 성장률은 전 처리구에서 시간이 경과함에 따라 줄어드는 경향이었으며, 24시간 발효구에서 대체로 비슷한 수준에서 유지되었다. 반추위 미생물 성장률은 pH가 낮아지면 낮아지는 경향을 나타내는데(Strobel and Russell, 1986) 본 시험에서도 발효시간이 경과함에 따라 pH가 낮아지면서 미생물량도 줄어들었다. 팽이버섯 수확후배지의 첨가수준에 따른 미생물량을 조사한 결과, S-20구의 미생물량은 발효 12시간까지 급격히 떨어진 이후로 일정하게 유지된 반면, S-40과 S-60구에서는 발효 9시간부터 S-20구에 비해 미생물량이 상대적으로 많았으며, 발효시간 경과에 따른 감소폭도 적은 편이었다. Ahn *et al*(2014a)의 *in vitro* 시험에서도 반추위 발효시간별 가스 생성량이 많았던 대조구(티모시 건초)의 미생물량은 오히려 적었다. *In vitro* 발효액의 미생물량을 농도로 나타내는 흡광도가 발효시간이 경과함에 따라 낮아진다는 것은 혐기발효를 위해 사용된 반추위액 중의 미생물 조성이 안정되어 간다는 의미이거나 발효를 위한 배지영양소의 감소로 인해 미생물의 수가 감소하였기 때문일 것이다. 본 시험에서 가스발생량이 많았던 S-20구에서 미생물량은 적었으나 건물소화율이 상대적으로 높았던 것은 사일리지의 미생물 조성이 안정되었기 때문으로 사료된다(Fig. 1). 버섯수확후배지와 같이 다양한 복합기질이 첨가된 사일리지의 발효는 미생물의 양적인 영향보다는 우점균총에 의한 영향이 크다는 것을 의미하기 때문이다.

***In vitro* 건물소화율**

팽이버섯 수확후배지를 첨가한 수수 사일리지의 *in vitro* 건물소화율은 Fig. 1에 나타내었다. 건물소화율은 20-30%수준으로 버섯수확후배지의 첨가비율이 낮을수록 높았는데, S-40구의 경우는 발효 9시간 이후부터 지속적으로 증가되어 48시간 발효 시에는 S-20구와 비슷한 수준이 된 반면, S-60구에서는 전 발효기간 동안 건물소화율이 매우 낮은 상태였다. 이러한 결과는 버섯의 성장을 위해 장기간 이용된 다양한 복합기질의 버섯수확후배지보다는 총체수수의 발효가 반추위의 건물소화율에 더욱 용이하다는 것을 의미하고 있다. 건물소화율이 낮게 된 다른 이유는 *in vitro* 발효 시 반추위 미생물 활동에 적합한 pH 6-7에 비해 낮은 pH가 발효에 부정적인 영향을 미친 것으로 사료된다(Table 2). Ahn *et al*(2014b)은 티모시 건초를 기본기질로 하고 한약추출 부산물을 기질의 3%와 5%로 첨가한 반추위 *in vitro* 소화시험에서 발효 6-48시간 동안의 건물소화율은 21-37%라고 보고하였으며 본 시험과 비슷한 결과였다. 본 시험과 비슷한 *in vitro* 조건으로 실시한 Lee *et al*(2009)의 시험에서도 수입 옥수수의 평균 건물소화율은 41.6%라고 하였다.

이상의 결과를 종합적으로 고찰해 보면, *in vitro* 가스발생량 조사는 조사료의 발효특성 즉, 분해율 평가의 간접적 지표가 된다(Theodorou *et al*, 1994; Theodorou *et al*, 1998). 발효기질에 따라 가스발생량이 다르며(Beuvink and Spoelstra, 1992) 가스발생량과 건물 분해율과는 밀접한 관계가 있는 것으로 알려져 있다(Kim *et al*, 2011). 본 시험에서는 가스발생량이 상대적으로 많았던 S-20구에서 건물소화율이 높았는데, Blaxter and Clapperton(1965) 및 Zinn *et al*(1995)도 각각 *in vitro* 및 *in vivo* 시험에서 소화율이 증가하면 메탄 발생량이 감소한다고 하였다. 그러나 메탄 생성량과 총 가스발생량은 항상 일치하지는 않는데, 이는 메탄생성 박테리아의 활성이 전체 미생물총의 활성을 의미하는 것은 아니기 때문이다. 본 시험에서 미생물량이 적었던 S-20구에서 *in vitro* 건물소화율이 높았는데, 이러한 결과는 발효원료의 조성이 발효미생물 조성과 밀접한 관계가 있기 때문이다. 본 시험에서 S-40구의 건물소화율은 발효 24시간까지는 S-20구보다 현저히 낮았지만 발효 48시간에서는 차이가 없었는데 이는 원료가 다양할수록 미생물의 조성도 다양해짐으로써 최대 발효시간대도 달라지기 때문이다. 이전 보고에서(Moon *et al*, 2014) S-40구는 화학적 성분분석을 통한 사일리지 품질(Flieg's score)평가에서 가장 좋은 결과를 나타내었지만 본 시험의 *in vitro* 반추위 소화시험에서는 동일한 결과를 나타내지 못하였는데 그 이유는 발효 24시간 이후로 소화율이 급격하게 증가하여 버섯수확후배지의 반추위내 발효는 수수 사일리지에 비해 늦게 일어나기 때문으로 사료된다. 따라서 이전의 수수 사일리지 발효 성분분석에 관한 보고에 의하면(Moon *et al*, 2014) 팽이버섯 수확후배지의

적정첨가량은 원물기준으로 40%가 적당하다고 하였지만, 본 시험의 *in vitro* 반추위 소화시험 결과를 고려할 때 40% 첨가구는 건물 소화속도가 지나치게 늦어짐으로 첨가비율을 20-30%수준으로 낮추는 것이 발효 화학적 품질에 크게 영향을 주지 않으면서 발효시간대별 건물소화율도 고르게 유지할 수 있을 것으로 판단된다.

적 요

본 시험은 팽이버섯 수확후배지 첨가비율(20, 40, 60%)에 따라 제조된 사일리지를 *in vitro* 반추위 발효실험을 통하여 버섯수확후배지의 적정 첨가수준을 규명하고자 수행되었다. *In vitro* 실험은 발효시간대를 3, 6, 9, 12, 24 및 48시간으로 설정하고, 각 처리구별로 3반복으로 발효특성과 건물소화율이 측정되었다. *In vitro* 배양액의 pH는 배양시간이 길어짐에 따라 낮아지는 경향이었으며, 48시간 경과 시에는 버섯수확후배지 20%첨가구가 타 처리구에 비해 유의적(P<0.05)으로 낮았다. 가스발생량은 버섯수확후배지 20%를 첨가한 S-20구의 6시간 및 12시간 발효구가 타 처리구에 비해 유의적(P<0.05)으로 높게 나타났다. 미생물 성장량은 배양시간이 경과함에 따라 줄어드는 경향이었으며, 발효 24시간대부터는 대체로 비슷한 수준에서 유지되었다. 건물소화율은 20-30%수준으로 버섯수확후배지의 첨가비율이 높을수록 낮았는데, S-40구의 경우는 발효 9시간이후로 지속적으로 증가되어 48시간 발효 시에는 S-20구와 비슷한 수준이 된 반면, S-60구에서는 전 발효기간 동안 건물소화율이 매우 낮은 상태에 있었다. 이전 보고에서 사일리지 발효상태는 S-40구가 좋았으나 *in vitro* 반추위 소화시험의 결과를 고려할 때, 수수 사일리지 제조 시 팽이버섯수확후배지 첨가비율은 20-30%수준으로 하는 것이 적당할 것으로 판단된다.

감사의 글

본 연구는 농촌진흥청 공동연구사업(과제번호 PJ007474) 및 2014년 경남과학기술대학교 기성회 연구비 지원사업에 의하여 수행된 결과의 일부이며 이에 감사드립니다.

Reference

Ahn SK, Goo YM, Ko KH, Lee SJ, Moon YH, Lee SS, Kim JW, Lee SS. 2014a. Effects of herbal medicine by-products on rumen fermentation characteristics *in vitro*. *J Agric & Life Sci.* 48:89-100.

Ahn SK, Goo YM, Ko KH, Lee SJ, Moon YH, Lee SS, Kim JW, Lee SS. 2014b. Study on the evaluation of nutritional values and antioxidant activities for herbal medicine by-products. *J Agric & Life Sci.* 48:101-110.

A.O.A.C. 1995. Official methods of analysis 16th edition. Association of official analytical chemists, Washington. D.C.

Bae JS, Kim YI, Jung SH, Oh YG, Kwak WS. 2006. Evaluation on feed-nutritional value of spent mushroom (*Pleurotus osteratus, Pleurotus eryngii, Flammulina velutupes*) substrates as a roughage source for ruminants. *J Anim Sci & Technol Kor.* 48:237-246.

Beuvink JMW, Spoelstra SF. 1992. Interactions between substrate, fermentation end-products, buffering systems and gas production upon fermentation of different carbohydrates by mixed rumen microorganisms *in vitro*. *Appl Microbiol Biotechnol.* 37:505-509.

Blaxter KL, Clapperton JL. 1965. Prediction of the amount of methane produced by ruminants. *Br J Nutr.* 19:511-522.

Bryant MP, Burkey LA. 1953. Cultural methods and some characteristics of some of the more numerous groups of bacteria in the bovine rumen. *J Dairy Sci.* 36:205-217.

Choi KC, Song CE. 2011. Effects of Harvest Stages and Ensiling method on nutritive values and quality of sorghum×sorghum hybrid silage. *J Kor Grassl Forage sci.* 31:295-304.

Dehority BA. 1965. Degradation and utilization of isolated hemicellulose by pure cultures of cellulolytic rumen bacteria. *J Bacteriol.* 89:1515-1520.

Dehority BA, Scott HW. 1967. Extent of cellulose and hemicellulose digestion in various forage by pure cultures of rumen bacteria. *J Dairy Sci.* 50:1136-1141.

Duncan DB. 1955. Multiple range and multiple *F* tests. *Biometrics* 11:1-42.

Ehaliotis C, Zervakis GI, Karavitis P. 2005. Residues and by-products of olive-oil mills for root-zone heating and plant nutrition in organic vegetable production. *Sci Hortic.* 106:293-308.

Fedorak PM, Hrwdey SE. 1983. A simple apparatus for measuring gas production by methanogenic cultures in serum bottles. *Environ Technol Lett.* 4:425-432.

Georing HK, VanSoest PJ. 1970. Forage fiber analysis. Ag. Handbook. No. 379. ARS. USDA. Washington, D.C.

Kim HS, Park JK, Kim HY, Kim SB, Shin YH, Kim CH, Ahn JH. 2011. Effects of dietary herbaceous peat on in vitro fermentation and milk production in dairy cows. *J Kor Grassl Forage sci.* 31:177-190.

Kim JD, Lee HJ, Jeon KH, Yang KY, Kwon CH, Sung HG, Hwangbo S, Jo IH. 2010. Effect of harvest stage, wilting and crushed rice on the forage production and silage quality of organic whole crop barely. *J Kor Grassl Forage sci.* 30:25-34.

Lee SJ, Lee JH, Shin NH, Han JH, Hyun JH, Moon YH, Lee SS. 2009. Effects of steam flaking of corns imported from USA and india on the in vitro fermentation characteristic and the mycotixin contents of logistic processing line. *J Life Sci.* 19:65-74.

Lim HJ, Kim JD, Lee HJ, Jeon KH, Yang KY, Kwon CH, Yoon YS. 2009. Effect of pre-wilting on the forage quality of organic sorghum×sudangrass silage. *Korean J Organic Agri.* 17:519-527.

Moon YH, Kim SC, Cho WK, Lee SS, Cho SJ. 2014.

Effects of supplementation of spent mushroom (*Flammulina velutipes*) substrates on the fermentative quality of rye silage. *J Mushrooms* 12:138-143.

Moore, J.E. 1970. Procedures for the two-stage in vitro digestion of forages. *in:* p. 5501. Nutrition Research Techniques for Domestic and Wild Animals, Vol. 1. L.E. Harris, Utah State Univ., Logan.

Mould FL, Ørskov ER, Mann SO. 1983. Associative effects of mixed feeds. Ⅰ. effects of type and level of supplementation and the influence of the rumen fluid pH on cellulolysis in vivo and dry matter digestion of various roughages. *Anim Feed Sci Technol.* 10:15-30.

Nocek JE. 1988. In situ and other methods to estimate ruminal protein and energy digestibility. A review. *J Dairy Sci.* 71:2051-2069,

SAS. 1999. SAS/STAT software for PC. Release 8.01. SAS institute Inc., Cary, N.C., U.S.A.

Strobel HJ, Russell JB. 1986. Effect of pH and energy spilling on bacterial protein synthesis by carbohydrate-limited cultures of mixed rumen bacteria. *J Dairy Sci.* 69:2941-2947.

Theodorou MK, Lowman RS, Davies ZS, Cuddeford D, Owen E. 1998. Principles of techniques that rely on gas measurement in ruminant nutrition. *In:* Deaville ER, Owen E, Adesogan AT, Rymer C, Huntington JA, Lawrence TLJ. (Eds.), *In vitro* Techniques for Measuring Nutrient Supply to Ruminants. Occasional publication, No. 22 *Bri Soc Anim Sci,* pp. 55-64.

Theodorou MK, Williams BA, Dhanoa MS, McAllan AB, France J. 1994. A simple gas production method using a pressure transducer to determine the fermentation kinetics of ruminant feeds. *Anim Feed Sci Technol.* 48:185-197.

Tilley JMA, Terry RA. 1963. A two-sage technique for the in vitro digesiton of forage crops. *J Brit Grassl Soc.* 18:104-111.

Williams BC, McMullan JT, McCahey S. 2001. An initial assessment of spent mushroom compost as a potential energy feedstock. *Biores Technol.* 79:227-230.

Zinn RA. 1990. Influence of flake density on the comparative feeding value of steam-flaked corn for feedlot cattle. *J Anim Sci.* 68:767-775.

Zinn RA, Adams CF, Tamayo MS. 1995. Interaction of feed intake level on comparative ruminal and total tract digestion of dry-rolled and steam-flaked corn. *J Anim Sci.* 73:1239-1245.