

ORIGINAL ARTICLE

두부비지의 버섯 폐배지 대체 수준이 발효사료의 영양소 함량, 미생물 성장 및 반추위 내 발효특성에 미치는 영향

주영호 · 정희한¹⁾ · 김동현 · 이혁준 · 이성신 · 김상범²⁾ · 김삼철*

경상대학교 응용생명과학부(BK21Plus, 농업생명과학연구원), ¹⁾합천축협, ²⁾국립축산과학원 낙농과

Effects of Replacing Mushroom By-product with Tofu By-product on the Chemical Composition, Microbes, and Rumen Fermentation Indices of Fermented Diets

Young-Ho Joo, Hui-Han Jeong¹⁾, Dong-Hyeon Kim, Hyuk-Jun Lee, Seong-Shin Lee, Sang-Bum Kim²⁾, Sam-Churl Kim*

Division of Applied Life Science (BK21Plus, Insti. of Agric. & Life Sci.), Gyeongsang National University, Jinju 52828, Korea

¹⁾Hapcheon Livestock Cooperatives, Hapcheon 50233, Korea

²⁾National Institute of Animal Science, RDA, Cheonan 31000, Korea

Abstract

This study aimed to estimate the effects of replacing Mushroom By-Product (MBP) with Tofu By-Product (TBP) on the chemical composition, microbes, and rumen fermentation indices of Fermented Diets (FDs). The basal diet was formulated using MBP, TBP, rice bran, molasses, and inoculants. The MBP in the basal diet was replaced with TBP at 0, 5, and 10% on Dry Matter (DM) basis for the experimental diets. The experimental diets were fermented at 39°C for 144 h. Chemical composition, pH, microbes, and rumen fermentation indices of the FDs were analyzed. With increasing TBP replacement, crude protein content of FDs increased (L, $P < 0.001$), whereas crude ash content decreased (L, $P = 0.002$). Lactic acid bacteria and *Bacillus subtilis* contents in the TBP-replaced FDs were higher than those in the control ($P < 0.05$), whereas pH level and mold count were lower ($P < 0.05$). With increasing TBP replacement, *in vitro* rumen digestibility of DM (L, $P = 0.053$) and neutral detergent fiber (L, $P = 0.024$) increased, whereas rumen pH changed ($P = 0.026$) quadratically. Rumen total volatile fatty acid (L, $P = 0.001$) and iso-butyrate contents (Q, $P = 0.003$) increased with increasing TBP replacement. In conclusion, this study indicates that the replacement of MBP with TBP could improve the quality of FD.

Key words : Fermented diet, Fermentation characteristic, Mushroom by-product, Tofu by-product

1. 서론

항생제는 가축의 질병예방, 성장촉진 및 사료효율

개선을 목적으로 사용되었으나, 과도하게 사용 시 가축 체내에 잔류한 항생제가 축산물을 통해 인체에 전달되어 알레르기나 기타 질환 등을 유발시키는 것으로

Received 15 March, 2017; Revised 12 April, 2017;

Accepted 13 April, 2017

*Corresponding author: Sam Churl Kim, Division of Applied Life Science (BK21Plus, Insti. of Agric. & Life Sci.), Gyeongsang National University, Jinju 52828, Korea
Phone: +82-55-772-1947
E-mail : kimsch@gnu.ac.kr

The Korean Environmental Sciences Society. All rights reserved.
© 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.

보고되고 있다(Barton, 2000). 이로 인해 유럽에서는 2006년부터, 국내에서는 2011년부터 사료첨가용 항생제의 사용이 전면적으로 금지되었다(Levy, 2002; Roe and Pillai, 2003; Kim et al., 2007).

따라서 전 세계적으로 가축에 대한 항생제 대체제 개발을 위한 연구가 활발히 진행되고 있으며, 유용미생물을 이용한 생균제가 그 대표적인 예이다(Fuller, 1989; Dunne, 2011). 가축에게 급여하는 유용미생물은 장 내에 서식하여 영양소의 흡수를 돕고 유해균의 성장을 억제시키며, 장관의 발달을 촉진시켜 숙주인 가축의 면연력을 개선시킨다(Mohan et al., 1995). 이러한 미생물을 이용하여 제조한 생균제를 가축에 급여 시, 여러 감염증, 알러지, 염증 등의 질병에 대하여 방어를 해주며, 유해균들에 의한 장내 불균형을 감소시키고 설사 또한 개선시켜준다. 또한 발효사료는 사료에 유용미생물을 이용하여 발효시킨 것으로, 생균제의 기능을 포함하고 있을 뿐만 아니라 가축의 생산성 향상과 축사환경 개선 효과가 있는 것으로 보고되었다(Fuller and Gibson, 1997; Wilfart et al., 2007; Minocha, 2009; Dunne, 2011).

한편, 사료용 곡류의 95% 이상을 수입에 의존하고 있는 국내 여건상 기후변화, 국제곡류 생산량, 국제유가 등의 요인에 의한 곡류수급 비용 변동성이 매우 높으며, 이러한 요인은 국내 축산농가의 경영 안정성을 저해하는 주된 요인으로 작용하고 있다. 이를 극복하기 위해, 축사환경과 경영성 개선을 위해 농산가공 부산물의 효율적인 사료화 방안 모색을 위한 다양한 노력이 진행 중이다(Chang et al., 2013; Kim et al., 2015). 그 중 버섯배지는 톱밥, 옥수수, 미강, 밀기울, 면실박 등을 주원료로 하며, 버섯을 생산하는 과정에서 영양분의 약 20%를 소비하고 80%는 버섯 폐배지에 여전히 남아 있어서 사료적 가치가 충분히 있는 것으로 보고되었다(William et al., 2001; Kim et al., 2008; Kwak et al., 2008; Kim et al., 2013). 또한 두부비지는 대두로부터 식용두부를 제조하고 남은 부산물로서, 다른 식품가공 부산물에 비해 상대적으로 높은 단백질을 함유하고 있다(Baurre et al., 1976). 그러나, 버섯 폐배지와 두부비지의 높은 사료적 가치에도 불구하고 연간 배출되는 상당 양이 폐기물로 취급되고 있는데, 이것은 높은 수분 함량으로 인해 변질과 부패

가 잘 되기 때문이며, 이를 개선하기 위한 기술개발이 절실히 요구되고 있다.

따라서 본 연구에서는 농산가공부산물인 버섯 폐배지와 두부비지에 유용미생물을 접종하여 발효사료로 제조하였을 때 영양소 함량, 미생물 성장 및 반추위 내 발효특성에 미치는 영향을 규명함으로써 축사환경과 경영성 개선에 기여하고자 수행하였다.

2. 재료 및 방법

2.1. 발효사료 제조와 시료채취

시험에서 이용된 원료사료인 버섯 폐배지(팽이버섯), 두부비지, 미강 및 당밀은 합천축협에서 구입하였으며, 발효사료 제조 시 첨가된 유용미생물은 *Lactobacillus acidophilus*(1.2×10^{10} cfu/g), *Bacillus subtilis*(2.1×10^{10} cfu/g) 및 *Saccharomyces cerevisiae*(2.3×10^{10} cfu/g)를 함유한 혼합 균주를 사용하였다. 일반적으로 반추가축에게 급여하고 있는 농후사료의 조단백질 함량이 11-14%인 점을 고려하여, 기초사료는 버섯 폐배지, 두부비지, 미강, 당밀 및 미생물을 32, 27, 37.5, 2.0 및 1.5%의 비율로 혼합하였다. 처리구는 버섯 폐배지의 0(대조구), 5 및 10%를 두부비지로 대체한 3개의 처리구로 설정하였다(Table 1). 처리구별로 혼합한 사료는 분석용 시료(1 kg)를 채취한 후 발효용기에 10 kg씩 4반복으로 넣고 밀봉한 후 39°C incubator에서 144시간 배양하였다. 발효개시 직전(0 시간)과 이후 6, 12, 24, 48 및 144시간에 각각 시료(1 kg)를 채취하여 pH와 미생물 변화를 분석하였으며, 발효개시 직전과 발효개시 후 48시간에 채취한 사료는 영양소 함량을 분석하였다. 또한 반추위 내 발효특성 변화를 조사를 위한 시험에는 48시간 배양한 발효사료를 이용하였다.

2.2. 영양소 함량

발효직전과 발효 후 48시간에 채취한 시료의 수분을 측정하기 위해 5 g의 시료를 105°C 건조기(OF-22GW, JEIO TECH, Korea)에서 24시간동안 건조하였다. 또한 시료 500 g을 60°C에서 48시간동안 건조시킨 후 Cutting mill 분쇄기(Shinmyung Electric Co., Ltd, Korea)를 이용하여 분쇄하고 1 mm screen을

Table 1. Ingredients and chemical compositions of the experimental diets (% DM)

	Replacement level ¹		
	0	5	10
Ingredients			
Mushroom by-product	32.0	27.0	22.0
Tofu by-product	27.0	32.0	37.0
Rice bran	37.5	37.5	37.5
Molasses	2.0	2.0	2.0
Microbial	1.5	1.5	1.5
Total	100	100	100
Chemical compositions			
Dry matter	56.6	55.4	55.9
Crude protein	13.5	13.7	14.2
Extract ether	13.7	13.7	14.6
Crude ash	11.0	10.2	10.1
Neutral detergent fiber	36.4	32.5	30.4
Acid detergent fiber	22.4	19.5	17.7

¹Replacement levels represent the substitutions of mushroom by-product with tofu by-product at 0, 5, and 10% on DM basis, respectively

통과한 시료를 영양소 함량 분석에 이용하였다. 조단백질 함량은 Kjeldahl법(B-324, 412, 435 and 719Titrino, BUCHI, Germany), 조지방 함량은 Soxhlet법(OB-25E, JeioTech, Korea)을 이용하여 AOAC(1990)에 준하여 분석하였다. 조회분 함량은 회화로(Muffle furnace)를 이용하여 550℃에서 4시간 동안 가열하여 분석하였다. Neutral Detergent Fiber (NDF)와 Acid Detergent Fiber (ADF) 함량은 Ankom 200 fiber analyzer (Ankom Technology, Macedon, NY, USA)를 이용하여 Van Soest(1991)법에 준하여 분석하였다.

2.3. pH와 미생물

발효사료 제조기간(0, 6, 12, 24, 48 및 144시간)에 채취한 시료 20 g과 증류수 200 mL을 믹서기에 넣고 30초간 혼합하고 거즈로 걸러준 후 pH meter (SevenEasy, Mettler Toledo, Switzerland)로 pH를 분석하였다. 미생물은 채취한 발효사료 1 g과 멸균 희석액(0.85% NaCl)으로 10진 희석법에 따라 희석한 후 균 수 측정을 위하여 각 희석 단계의 희석액을 사용하

였다. 유산균(LAB, Lactic Acid Bacteria)은 Lactobacilli MRS agar media (MRS, Difco, Detroit, MI, USA)에 희석액 100 μ l를 도말하여 39℃에서 24시간 배양 후 균 수를 측정하였다. 고초균(*Bacillus subtilis*)은 Luria Bertani Agar (LB Agar, Difco Laboratories, MI, USA)를 이용하였고, 곰팡이와 효모는 Potato Dextrose Agar (PDA, Difco, Detroit, MI, USA)를 이용하여 분석하였다. 모든 측정은 3회 반복하여 수행하였으며 colony들의 평균값을 결과 값으로 나타내었다.

2.4. 반추위 내 발효특성과 가스 발생량

반추위 내 발효특성을 조사하기 위하여 gas production system (Adesogan et al., 2005)을 이용하여 처리구당 5반복으로 시험을 수행하였다. 반추위액은 조사료와 농후사료를 8:2비율로 급여한 한우의 반추위에서 아침 사료급여 직전에 채취하여 cheese cloth로 거른 후 Van Soest medium과 1:2 비율로 혼합하고 혐기적 상태를 유지하기 위해 CO₂ 가스를 주입하였다. 건조 분쇄한 발효사료(48시간) 0.5 g과 혼합 위액 40 mL을 배양용 유리병에 넣고 3개의 blank와

Table 2. Effect of replacing mushroom by-product with tofu by-product on chemical compositions of the fermented diets (% DM)

Items	Replacement level ¹			SEM	Contrast	
	0	5	10		L	Q
Dry matter	53.8	51.9	52.2	0.512	0.002	0.013
Crude protein	12.9 ^c	13.5 ^b	13.8 ^a	0.114	<0.001	0.053
Ether extract	15.9	16.0	16.4	0.271	0.056	0.596
Crude ash	11.4 ^a	11.2 ^{ab}	10.9 ^b	0.176	0.002	0.598
Neutral detergent fiber	36.0	35.6	35.9	0.607	0.797	0.467
Acid detergent fiber	24.8	25.1	25.3	0.616	0.359	0.912

¹Replacement levels represent the substitutions of mushroom by-product with tofu by-product at 0, 5, and 10% on DM basis, respectively

SEM, Standard Error of Means; L, Linear effect; Q, Quadratic effect

^{a-c} Means in the same row with different superscripts differ significantly ($P < 0.05$)

함께 39°C CO₂ incubator에서 48시간동안 배양하였다. 가스 발생량은 배양 후 0, 1, 2, 4, 6, 8, 16, 24 및 48 시간에 digital manometer (Traceable[®] manometer, TX, USA)를 이용하여 측정하였다. 배양 종료 후 시료들은 Filter paper (No. 2)로 걸러서 상층과 하층을 분리하였다. 분리된 상층은 60°C에서 48시간 건조시켜 *in vitro* Dry Matter Digestibility (IVDMD)를 계산하고 다시 NDF함량을 분석하여 *in vitro* NDF Digestibility (IVNDFD)를 구하였다. 분리된 하층은 pH meter를 이용하여 pH를 측정하고 12,000 rpm에서 원심분리한 후 상층을 이용하여 rumen ammonia-N과 Volatile Fatty Acid (VFA) 함량을 분석하였다. Rumen ammonia-N 함량은 Chaney and Marbach (1962)의 비색법을 이용하여 분석하였으며, VFA 함량은 auto sampler (L-2200, Hitachi), UV detector (L-2400, Hitachi) 및 column (MetaCarb 87 H, Varian)이 설치된 HPLC를 이용하여 Muck and Dickerson (1988)의 방법으로 분석하였다.

2.5. 통계처리

본 시험에서 얻어진 결과는 GLM SAS program (SAS, 2002)을 이용하여 분산분석(ANOVA)을 실시하였으며, 처리구간의 유의성 검증은 Tukey test를 이용하여 분석하였다($P < 0.05$). 또한 Polynomial contrasts를 이용하여 두부비지 대체 수준이 발효사료

의 영양소 함량과 반추위 내 발효특성에 미치는 효과 (linear and quadratic)를 분석하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 발효사료의 영양소 함량

버섯 폐배지를 두부비지로 대체하여 48시간 발효시킨 사료의 영양소 함량은 Table 2와 같다. 두부비지 대체 수준이 증가함에 따라 조단백질(Linear, $P < 0.001$)과 조지방(Linear, $P = 0.056$) 함량은 증가하였으나, 건물(Quadratic, $P = 0.013$)과 조회분(Linear, $P = 0.002$) 함량은 감소하였다. 이로 인해, 48시간 발효한 사료의 조단백질과 조지방 함량은 두부비지를 각각 10%와 대조구에서 13.8%와 11.4%로 가장 높게 나타났다($P < 0.05$). 이러한 결과는 두부비지가 버섯 폐배지에 비해 조단백질 함량(17.1 vs. 14.8%)은 높은 반면, 조회분 함량(5.2 vs. 10.3%)은 낮았기 때문인 것으로 사료된다. 한편 영양적 측면에서 두부비지는 대두로부터 수용성 물질을 추출한 상태이지만 다량의 단백질과 탄수화물을 함유하고 있는 우수한 사료자원으로 보고되었다(Baure et al., 1976; Lee et al., 1992). 반면 버섯 폐배지는 수분함량이 높아 부패가 쉽고 분해가 쉽게 되지 않는 섬유소 함량이 높은 것으로 보고되었다(Kwak et al., 2008; Moon et al., 2012; Kim et al., 2013).

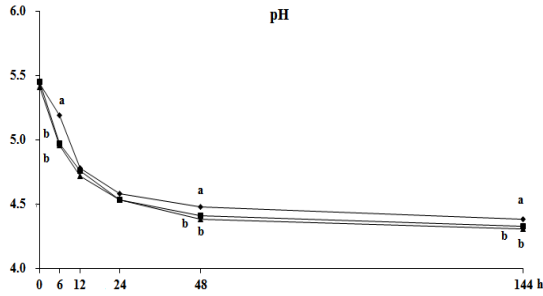


Fig. 1. The variation in pH of the fermented diets during 144 h of ensiling periods. The symbols represent the replacement levels of mushroom by-product with tofu by-product at 0 (◆), 5 (■), and 10% (▲), respectively. ^{a,b} Means at the same time with different superscripts differ significantly ($P < 0.05$).

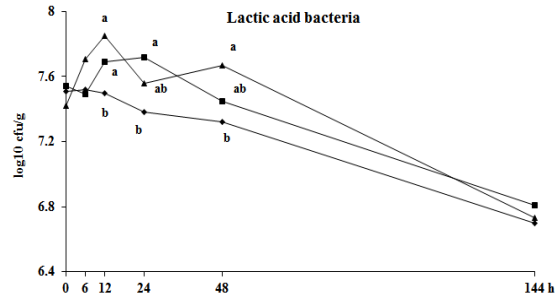


Fig. 2. The variation in lactic acid bacteria of the fermented diets during 144 h of ensiling periods. The symbols represent the replacement levels of mushroom by-product with tofu by-product at 0 (◆), 5 (■), and 10% (▲), respectively. ^{a,b} Means at the same time with different superscripts differ significantly ($P < 0.05$).

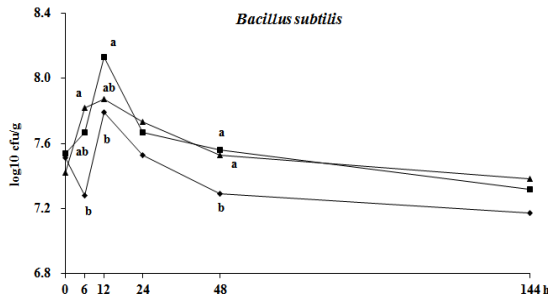


Fig. 3. The variation in *Bacillus subtilis* counts of the fermented diets during 144 h of ensiling periods. The symbols represent the replacement levels of mushroom by-product with tofu by-product at 0 (◆), 5 (■), and 10% (▲), respectively. ^{a,b} Means at the same time with different superscripts differ significantly ($P < 0.05$).

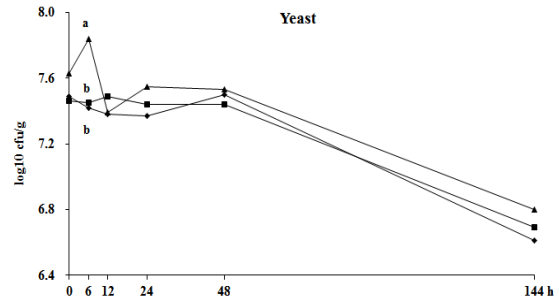


Fig. 4. The variation in yeast counts of the fermented diets during 144 h of ensiling periods. The symbols represent the replacement levels of mushroom by-product with tofu by-product at 0 (◆), 5 (■), and 10% (▲), respectively. ^{a,b} Means at the same time with different superscripts differ significantly ($P < 0.05$).

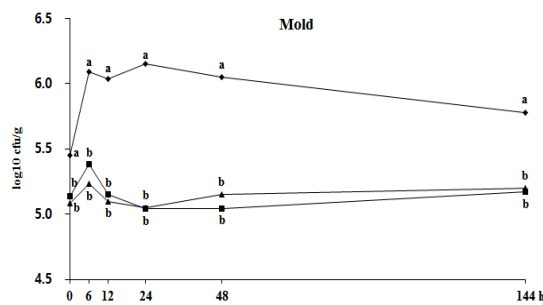


Fig. 5. The variation in mold counts of the fermented diets during 144 h of ensiling periods. The symbols represent the replacement levels of mushroom by-product with tofu by-product at 0 (◆), 5 (■), and 10% (▲), respectively. ^{a,b} Means at the same time with different superscripts differ significantly ($P < 0.05$).

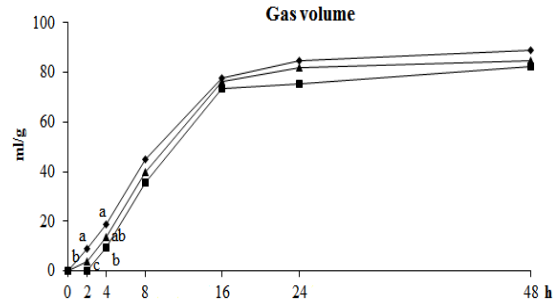


Fig. 6. The change in gas volume of the fermented diets incubated with rumen fluid mixture for 48 h. The symbols represent the replacement levels of mushroom by-product with tofu by-product at 0 (◆), 5 (■), and 10% (▲), respectively. ^{a,b} Means at the same time with different superscripts differ significantly ($P < 0.05$).

3.2. 발효사료의 pH와 미생물 변화

버섯 폐배지를 두부비지로 대체하여 144시간 배양하였을 때 발효사료의 pH, lactic acid bacteria, *Bacillus subtilis*, yeast 및 mold 변화를 분석한 결과는 Fig. 1, 2, 3, 4 및 5와 같다. 발효사료의 pH는 모든 처리구에서 배양 개시 후 24시간까지 급격하게 감소하였으나 48시간 이후에는 유사하게 유지되는 경향을 나타내었다. 특히 두부비지를 대체한 모든 처리구가 대조구에 비해 발효개시 후 6(4.97 vs. 5.19), 48(4.37 vs. 4.48) 및 144(4.32 vs. 4.38)시간에 낮게 나타났다($P < 0.05$). 또한 발효사료를 144시간 배양했을 때 LAB, *Bacillus subtilis*, yeast 및 mold는 배양초기(0~24시간)에는 균 수가 유지되거나 증가하였으나, 그 이후에는 감소하는 경향을 나타내었다. 특히, LAB는 배양 12시간에는 두부비지를 5%와 10% 대체한 처리구가(7.69 & 7.85 vs. 7.50 log₁₀ cfu/g), 24시간에는 5% 대체한 처리구가(7.72 vs. 7.38 log₁₀ cfu/g), 48시간에는 10% 대체한 처리구가(7.67 vs. 7.32 log₁₀ cfu/g) 대조구에 비해 높게 나타났다($P < 0.05$). *Bacillus subtilis*는 배양 후 6시간에는 두부비지를 10% 대체한 처리구가(7.82 vs. 7.28 log₁₀ cfu/g), 12시간에는 5% 대체한 처리구가(8.13 vs. 7.79 log₁₀ cfu/g), 48시간에는 5%와 10% 대체한 처리구가(7.56 & 7.53 vs. 7.29 log₁₀ cfu/g) 대조구에 비해 높게 나타났다($P < 0.05$). Yeast는 배양 후 6시간에 두부비지 10% 대체구가(7.84 vs. 7.42 & 7.45 log₁₀ cfu/g) 대조구와 5% 대체구에 비해 높았으나($P < 0.05$), 다른 배양시간에서는 처리구간 차이가 없었다($P > 0.05$). Mold는 발효사료 배양 전기간에서 두부비지를 대체한 모든 처리구가 대조구에 비해 낮게 나타났다($P < 0.05$).

일반적으로 발효사료 제조 시 미생물은 원료사료에 함유된 수용성 당을 분해하여 그들의 성장에 필요한 에너지를 공급받으며, 이러한 분해과정에서 생성되는 유기산에 의해 발효사료의 pH가 감소하게 된다(Muck, 1993). 따라서 본 시험에서 배양시간이 경과함에 따라 발효사료의 pH가 감소한 것은 미생물의 성장에 따른 유기산의 증가에 의한 것으로 사료된다. 특히 두부비지를 대체한 처리구에서 pH가 낮은 반면, LAB, *Bacillus subtilis* 및 yeast가 높은 것은 두부비지

를 대체함으로 인해 원료사료에 수용성 당 함량이 증가하였고, 이로 인해 미생물의 성장이 활발하게 이루어졌기 때문인 것으로 사료된다. Mikkelsen and Jensen(1997)은 소맥 전분박과 감자박을 이용하여 발효사료 제조 시 유산균과 효모는 증가하였고 pH는 3.5~4.2 수준으로 나타났다고 본 연구와 유사한 결과를 보고하였다. Kim et al.(2013)도 버섯 폐배지에 미생물을 접종하였을 때, 발효 24시간일 때 유산균의 수가 높게 나타났다고 본 연구와 유사한 결과를 보고하였다. Gao et al.(2008)은 유산균을 이용하여 혐기적 조건에서 발효사료 제조 시 발효품질이 개선되어 저장성이 향상되었을 뿐만 아니라 기호성과 영양소 함량 증진에도 도움이 된다고 보고하였다. 사료첨가용 생균제로 이용되는 미생물 중 *bacillus* 속은 포자를 생성시켜 열악한 환경에서도 생존이 가능하며, surfactin, fengycin, iturin, mycosubtilin 등과 같은 항균물질을 생성하므로 가축의 생산성 개선에 유익한 것으로 보고되었다(Schallmey et al., 2004). 반면 mold는 발효사료 제조 시 다양한 mycotoxin을 생성하는 원인으로 알려져 있어서 발효사료 제조 시 성장을 억제해야 양질의 발효사료를 제조할 수 있다(Santin, 2005). 따라서 고품질의 발효사료를 제조하기 위해서는 mold에 의한 원료사료의 오염을 감소시키는 한편, 발효과정 중에 유익균의 성장을 촉진시켜 우점하게 하고 발효초기에 pH를 4.5이하로 빠르게 낮춤으로써 mold의 성장을 억제하는 것이 좋다(Muck, 1993). Straastma and Samson(1993)은 버섯 폐배지에는 약 30여종의 고온성 mold가 다량으로 함유되어 있어서 버섯 폐배지의 함량이 많을수록 mold가 증가한다고 보고 하였다. 또한 Weinberg et al.(2008)은 느타리 버섯부산물은 가소화 비섭유성 탄수화물의 함량이 낮아 수용성 당 함량이 높은 당밀을 첨가하면 유산균과 효모의 성장에 도움을 주어 발효품질이 개선된다고 보고하였다. 따라서 본 연구에서 두부비지를 대체한 모든 처리구에서 mold가 감소한 것은 발효 전 원료사료에서 버섯 폐배지 첨가량을 감소시킴으로 인해 mold는 감소한 반면, 수용성 당 함량은 증가하여 유용미생물(LAB, *Bacillus subtilis* 및 yeast)의 성장이 촉진되었기 때문인 것으로 사료된다.

Table 3. Effects of replacing mushroom by-product with tofu by-product on nutrient digestibility and fermentation characteristics of fermented diets incubated with rumen fluid mixture for 48 h

Item	Replacement level ¹			SEM	Contrast	
	0	5	10		L	Q
IVDMD, % DM	63.3 ^c	64.2 ^b	66.9 ^a	1.902	0.053	0.487
IVNDFD, % DM	31.0 ^c	35.2 ^b	39.2 ^a	3.832	0.024	0.965
pH	6.25	6.37	6.29	0.075	0.440	0.026
Ammonia-N, mg N/dL	37.5	36.3	35.7	2.021	0.180	0.757
Total VFA, mmol/L	90.2 ^b	93.4 ^b	122.0 ^a	5.149	0.001	0.048
Acetate, % of mol	59.6	59.2	59.4	1.166	0.216	0.697
Propionate, % of mol	29.6	29.2	29.5	0.807	0.940	0.238
Iso-butyrate, % of mol	0.69 ^v	0.92 ^a	0.81 ^{uv}	0.071	0.040	0.003
Butyrate, % of mol	6.76	7.49	6.96	0.571	0.695	0.080
Iso-valerate, % of mol	1.87	1.79	1.85	0.501	0.691	0.656
Valerate, % of mol	1.48	1.40	1.48	0.161	0.901	0.220
Acetate:propionate	2.05	2.01	2.01	0.058	0.436	0.564

¹Replacement levels represent the substitutions of mushroom by-product with tofu by-product at 0, 5, and 10% on DM basis, respectively

SEM, Standard Error of Means; L, Linear effect; Q, Quadratic effect; IVDMD, *in vitro* Dry Matter Digestibility; IVNDFD, *in vitro* Neutral Detergent Fiber Digestibility

^{a-c} Means in the same row with different superscripts differ significantly ($P < 0.05$)

3.3. 반추위 내 발효특성과 가스 발생량

48시간 동안 배양하여 제조한 발효사료를 반추위 액과 48시간 배양하였을 때 반추위 내 발효특성과 가스 발생량을 조사한 결과는 Table 3과 Fig. 6과 같다. 버섯 폐배지에 대한 두부비지의 대체 수준이 증가함에 따라 반추위 내 IVDMD(Linear, $P = 0.053$), IVNDFD(Linear, $P = 0.024$) 및 pH(Quadratic, $P = 0.026$)는 증가하였으며, IVDMD와 IVNDFD는 두부비지를 10% 대체한 처리구에서 각각 66.9%와 39.2%로 가장 높게 나타났다($P < 0.05$). Total VFA 함량(Linear, $P = 0.001$)과 total VFA에 대한 iso-butyrate(Quadratic, $P = 0.003$) 비율은 두부비지 대체 수준이 증가함에 따라 증가하였으며, total VFA는 두부비지 10% 대체구(122 mmol/L)가, iso-butyrate는 5% 대체구(0.92 % molar)가 가장 높았다($P < 0.05$).

Moon et al.(2015)은 수수 사일리지에 팽이버섯 수확 후 배지를 첨가하였을 때 건물 소화율은 20~30% 수준으로 불용성 섬유소 함량이 높은 버섯 폐배지 첨가 비율이 높을수록 IVDMD 함량이 낮게 나타났다고

보고하였는데, 이는 본 시험에서도 유사한 결과를 나타내었다. 반추위 내 total VFA는 사료의 유기물이 반추위 내 미생물의 발효에 의해 생성되는 대사산물로써, 일반적으로 건물 또는 섬유소 소화율이 증가할수록 반추위 내 VFA 함량은 증가한다(Demeyer, 1981). 따라서 본 연구에서 두부비지 대체 수준이 증가함으로써 인해 불용성 섬유소 함량이 감소하여 IVDMD와 IVNDFD가 증가하였으며, 이로 인해 total VFA 함량이 증가한 것으로 사료된다.

한편, 제조된 발효사료를 반추위액과 48시간 배양하며 가스 발생량 변화를 조사하였을 때 발효 16시간까지는 모든 처리구가 급격하게 증가하였으나, 그 이후에는 서서히 증가하는 경향을 나타내었다. 특히 발효 초기인 2시간과 4시간에는 대조구에서 가장 높게 나타났다($P < 0.05$). 반추위액을 이용한 *in vitro* 시험에서 가스 발생량은 사료의 분해율을 평가할 수 있는 간접적인 지표로 알려져 있으며, 동일한 사료에서 분해율이 높을수록 가스 발생량은 증가하며, 곡류사료(비구조성 탄수화물)에 비해 조사료(구조성 탄수화물)의

분해 시 가스 발생량이 많은 것으로 보고되었다 (Beuvink et al., 1992; Theodorou et al., 1994). 또한 반추위 내 가스 발생량이 증가할수록 지구온난화의 원인이 되는 CO₂와 CH₄ 발생량이 증가할 뿐만 아니라 사료에너지 손실이 증가하여 경제적 손실이 증가하게 된다(Hobson and Stewart, 1997). 따라서 본 연구에서 두부비지를 대체한 처리구에서 배양초기 가스 발생량이 감소한 것은 구조성 탄수화물 함량이 높은 벼짚 폐배지 함량을 감소시켰기 때문인 것으로 사료된다.

4. 결론

벼짚 폐배지를 두부비지로 대체하여 발효사료를 제조하였을 때 가축에게 유익한 미생물인 lactic acid bacteria, *Bacillus subtilis* 및 yeast는 증가한 반면, 가축에게 유해한 mycotoxin을 유발할 수 있는 mold는 감소시켰다. 또한 두부비지 대체로 인하여 반추위 내 IVDMD와 IVNDFD를 증가시키고 가스 발생량은 감소시키는 효과가 있는 것으로 확인되었다. 따라서 벼짚 폐배지의 5-10%를 두부비지로 대체하여 발효사료를 제조하면 축산환경과 경영성 개선에 유리할 것으로 판단된다.

감사의 글

본 연구는 농림수산식품기술기획평가원 공동연구사업(No. 315017-05-2-SB030)의 지원에 의해 이루어졌습니다.

REFERENCES

- Adesogan, A. T., 2005, Improving forage quality and animal performance with fibrolytic enzymes, Proceedings of 16th Florida Ruminant Nutrition Symposium, University of Florida, Gainesville, FL, USA, 91-109.
- AOAC, 1990, Official methods of analysis, 15th edn., Association of Official Analytical Chemists, Arlington, VA, USA.
- Barton, M. D., 2000, Antibiotic use in animal feed and its impact on human health, Nutr. Res. Rev., 13, 279-299.
- Baure, M. C., Clemente, M. G., Banzon, J., 1976, Survey of suitability of thirty cultivars of soybeans for soymilk manufacture, J. Food. Sci., 41, 1204-1208.
- Beuvink, J. M., Spoelstra, S. F., Hogendorp, R. J., 1992, An Automated method for measuring the time course of gas production of feedstuffs incubated with buffered rumen fluid, Neth. J. Agri. Sci., 40, 401-407.
- Chaney, A. L., Marbach, E. P., 1962, Modified reagents for determination of urea and ammonia, Clin. Chem., 8, 130-132.
- Chang, S. S., Kwon, H. J., Lee, S. M., Cho, Y. M., Chung, K. Y., Choi, N. J., Lee, S. S., 2013, Effects of brewers grain, soybean curd and rice straw as an ingredient of TMR on growth performance, serum parameters and carcass characteristics of Hanwoo steers, Kor. J. Anim. Sci. Technol., 55, 51-59.
- Demeyer, D. I., 1981, Rumen microbes and digestion of plant cell walls, Agric. Environ., 6, 294-337.
- Dunne, C., 2011, Adaptation of bacteria to the intestinal niche: Probiotics and gut disorder, Inflamm. Bowel Dis., 7, 136-145.
- Fuller, R., 1989, Probiotics in man and animals, A Review, J. Appl. Bacteriol., 66, 369-377.
- Fuller, R., Gibson, G. R., 1997, Modification of the intestinal microflora using probiotics and prebiotics, Scand. J. Gastroenterol., 222, 28-31.
- Gao, L., Yang, H., Wang, X., Huang, Z., Ishii, M., Igarashi, Y., Cui, Z., 2008, Rice straw fermentation using lactic acid bacteria, Bioresour. Technol., 99, 2742-2748.
- Hobson, P. N., Stewart, C. S., 1997, The rumen microbial ecosystem, 2nd edn., Blackie Academic and Professional, London, UK, 467-491.
- Kim, D. H., Jea, Y. J., Lee, H. J., Amanullahm Sadar, M., Min, C. S., Kim, S. C., 2013, Effects of micro-organism supplementation on fermentation characteristic, nutrient content and microbial count of spent mushroom substrate, J. Agri. Life Sci., 47, 229-236.
- Kim, H. T., Lee, W. W., Jung, K. T., Lee, S. M., Son, E. J., Lee, G. R., Kim, G. H., Lee, D. S., Lee, K. W., 2007, Study on antimicrobial resistance of Escherichia coli isolated from domestic beef on sale, Kor. J. Vet. Serv., 31, 17-29.
- Kim, Y. I., Park, J. M., Lee, Y. H., Lee, M., Choi, D. Y.,

- Kwak, W. S., 2015, Effect of by-product feed-based silage feeding on the performance, blood metabolites, and carcass characteristics of Hanwoo steers (a Field study), *Asian Australas. J. Anim. Sci.*, 28, 180-187.
- Kim, Y. I., Seok, J. S., Kwak, W. S., 2008, Effects of mixed microbes addition on chemical change and silage storage of spent mushroom substrates, *Kor. J. Anim. Sci. Technol.*, 50, 831-838.
- Kwak, W. S., Jung, S. H., Kim, Y. I., 2008, Broiler litter supplementation improves storage and feed-nutritional value of sawdust-based spent mushroom substrate, *Bioresour. Technol.*, 99, 2947-2955.
- Lee, W. J., Choi, M. R., Sosulski, W., 1992, Separation of tofu-residue (biji) into dietary fiber and protein fractions, *Kor. J. Food Sci. Technol.*, 24, 97-100.
- Levy, S. B., 2002, The 2000 Garrod lecture, Factors impacting on the problems of antibiotic resistance, *J. Antimicrob. Chemother.*, 49, 25-30.
- Mikkelsen, L. L., Jensen, B. B., 1997, Effect of Fermented Liquid Feed (FLF) on growth performance and microbial activity in the gastrointestinal tract of weaned piglets, In: Laplace, J. P., Fevrier, B. A. (Eds.), *Digestive Physiology in Pigs*, E. A. A. P. publication No. 88:26-28 May, Saint Malo, France, 639-642.
- Minocha, A., 2009, Probiotics for preventive health, *Nutr. Clin. Pract.*, 24, 227-241.
- Mohan, B., Kadirvel, R., Bhaskaran, M., Natarajan, A., 1995, Effect of probiotic supplementation on serum/yolk cholesterol and on egg shell thickness in layers, *Br. Poult. Sci.*, 36, 799-803.
- Moon, Y. H., Chang, S. S., Kim, E. T., Cho, W. G., Lee, S. J., Lee, S. S., Cho, S. J., 2015, Effects of spent mushroom (*Flammulina velutipes*) substrates on in vitro ruminal fermentation characteristics and digestibility of whole crop sorghum silage, *J. Mushroom*, 13, 163-169.
- Moon, Y. H., Shin, P. G., Cho, S. J., 2012, Feeding value of spent mushroom (*Pleurotus eryngii*) substrate, *J. Mushroom*, 10, 236-243.
- Muck, R. E., 1993, The role of silage additives in making high quality silage, *Proceedings of the national silage production conference on silage production from seed to animal*, Stracuse, NY, USA, 106-116.
- Muck, R. E., Dickerson, J. T., 1988, Storage temperature effects on proteolysis in alfalfa silage, *Trans. ASAE*, 31, 1005-1009.
- Roe, M. T., Pillai, S. D., 2003, Monitoring and identifying antibiotic resistance mechanisms in bacteria, *Poult. Sci.*, 82, 622.
- Santin, E., 2005, Mould growth and mycotoxin production, In: *The Mycotoxin blue book*, Diaz, D. E. (Ed.), Nottingham Univ. Press, UK, 225-234.
- Schallmeyer, M., Singh, A., Ward, O. P., 2004, Developments in the use of *Bacillus* species for industrial production, *Can. J. Microbiol.*, 50, 1-17.
- Straatsma, G., Samson, R. A., 1993, Taxonomy of *Scybalidium thermophilum*, an important thermophilic fungus in mushroom compost, *Mycol. Res.*, 97, 321-328.
- Theodorou, M. K., Williams, B. A., Dhanoa, M. S., McAllan, A. B., 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.
- Van Soest, P. J., Robertson, J. B., Lewis, B. A., 1991, Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber and non-starch polysaccharides in relation to animal nutrition, *J. Dairy Sci.*, 74, 3583-3597.
- Weinberg, Z. G., Chen, Y., Weinberg, P., 2008, Ensiling olive cake with and without molasses for ruminant feeding, *Bioresour. Technol.*, 99, 1526-1529.
- Wilfart, A., Montagne, L. P., Simmins, H., Van Milgen, J., Noblet, J., 2007, Sites of nutrient digestion in growing pigs: Effect of dietary fiber, *J. Anim. Sci.*, 85, 76-983.
- Williams, B. C., McMullan, J. T., Mccahey, S., 2001, An Initial assessment of spent mushroom compost as a potential energy feedstock, *Bioresour. Technol.*, 79, 227-230.