

SHORT COMMUNICATION

밤 발효사료 제조과정에서 미생물 첨가수준이 영양소 함량과 반추위 내 발효특성에 미치는 영향

김동현 · 주영호 · 이혁준 · 이성신 · Paradhita H. V. Dimas · 최낙진¹⁾ · 김삼철*

경상대학교 응용생명과학부(BK21Plus, 농업생명과학연구원), ¹⁾전북대학교 동물자원과학과

Effects of Inoculant Application Level on Chemical Compositions of Fermented Chestnut Meal and Its Rumen Fermentation Indices

Dong-Hyeon Kim, Young-Ho Joo, Hyuk-Jun Lee, Seong-Shin Lee,

Dimas H. V. Paradhita, Nag-Jin Choi¹⁾, Sam-Churl Kim*

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

¹⁾Department of Animal Science, Chonbuk National University, Jeonju 54896, Korea

Abstract

This study aimed to estimate the effect of inoculant application level on chemical composition and bacterial count of fermented chestnut meal (FCM), and its rumen fermentation characteristics. The inoculant contained *Lactobacillus acidophilus* (1.2×10^{10} cfu/g), *Bacillus subtilis* (2.1×10^{10} cfu/g), and *Saccharomyces cerevisiae* (2.3×10^{10} cfu/g). The chestnut meal mixed with molasses, double distilled water, and inoculant at 1 kg, 3 g, 480 mL, and 20 mL ratio for the basal chestnut meal diet. The double distilled water from basal chestnut meal diet was substituted with bacterial inoculant at a level of 0 (Control), 20 (Medium), and 40 mL (High) in the experimental diets. The mixed experimental diets were incubated at 39°C for 7, 14, and 21 days, respectively. On 7 days of FCM incubation, the contents of crude protein (CP) (quadratic, $P=0.043$) and neutral detergent fiber (quadratic, $P=0.071$) decreased by increases of inoculant application levels, whereas bacterial count (quadratic, $P=0.065$) and rumen $\text{NH}_3\text{-N}$ (linear, $P=0.063$) increased. By increases of inoculant application levels on 14 days of FCM incubation, the increases were found on dry matter (DM) (quadratic, $P=0.085$), CP (quadratic, $P=0.059$), acid detergent fiber (quadratic, $P=0.056$), *in vitro* DM digestibility (linear, $P=0.002$), rumen total volatile fatty acid (VFA) (linear, $P=0.057$), and rumen iso-butyrate (linear, $P=0.054$). However, the decreases were found on bacterial count (linear, $P=0.002$), propionate (linear, $P=0.099$), and butyrate (quadratic, $P=0.082$). On 21 days of FCM incubation, *in vitro* DM digestibility (linear, $P=0.002$) and total VFA (linear, $P=0.001$) increased by increases of inoculant application levels, whereas the contents of CP (quadratic, $P=0.034$) and neutral detergent fiber (quadratic, $P=0.047$) decreased. These results indicate that the FCM with a medium level of inoculant application and 14 of fermentation had beneficial effects by increasing DM digestibility and rumen total VFA content, without altering bacterial count.

Key words : Chestnut meal, Digestibility, Fermentation indices, Inoculant

Received 2 February, 2018; Revised 5 March, 2018;

Accepted 7 March, 2018

*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: kimsc@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.

1. 서론

밤은 중국, 남미, 북미 및 일본 등이 주요 생산국이며, 국내에서도 연간 약 80,000 톤 이상 생산되어 식품용으로 이용하고 있다(FAOSTAT, 2010). 밤의 영양적 특징으로는 조단백질(4%)과 조지방(1%) 함량은 낮지만, 수용성 당을 비롯한 탄수화물 함량(41%)이 높고 철분, 칼슘, 비타민 C, 비타민 B₁이 풍부한 것으로 보고되었다(Ciesla, 2002; De Vasconcelos et al., 2010). 국내에서는 상품성이 낮은 하품의 밤과 벌레가 먹은 밤은 판매가 이루어지지 않아서, 대부분이 수확되지 않고 과수원에서 버려지고 있다. 최근 Lee et al.(2016)은 이렇게 버려지는 밤을 돼지의 사료자원으로 이용할 수 있는 가능성을 제시하였는데, 비육돈 사료에 건조분쇄 밤을 5% 대체하였을 때 사료섭취량과 소화율에서 긍정적인 효과를 나타내었다고 보고하였다. 하지만 건조분쇄 밤을 15% 대체하였을 때는 부정적인 효과를 나타내었는데, 이것은 건물 소화율(6.8%)이 매우 낮은 밤 외피의 함량이 증가하였기 때문이라고 보고하였다. 또한 밤은 항산화 효과가 있는 것으로 알려진 탄닌 함량이 높아서 가축의 건강증진에도 유리할 것으로 판단된다(Frutos et al., 2004). 따라서 곡류사료 자급률을 높이기 위해 농식품가공부산물의 사료자원화 연구가 활발히 진행되고 있는 국내 여건을 고려하였을 때(Chang et al., 2013; Kim et al., 2015; Statistics Korea, 2015; Joo et al., 2017), 밤의 사료자원화 연구는 매우 의미 있다고 판단된다.

한편 발효사료란 유용미생물을 이용하여 사료를 발효시킨 것으로, 미생물의 성장단계에서 유래한 소화효소에 의해 가축의 사료 섭취량과 이용률이 개선되는 것으로 보고되었다(Fuller, 1989; Golueke and

Diaz, 1991; Dunne, 2011; Oh et al., 2017). 또한 사료 첨가용 항생제의 사용이 금지됨으로 인해 유용미생물에서 유래한 천연항생물질이 항생제 대체제로 이용 가능하다는 연구들도 다수 보고되고 있다(Mohan et al., 1995; Shin et al., 2001; Oh et al., 2017).

따라서 본 연구는 버려지는 밤에 유용미생물을 접종함으로써 소화율을 개선시키는 한편, 유용미생물과 밤의 유효성분에 의한 축산환경과 경영성 개선 가능성을 분석하기 위하여 미생물의 첨가수준이 밤 발효 사료의 영양소 함량, bacteria 수 및 반추위 내 발효특성에 미치는 영향을 조사하였다.

2. 재료 및 방법

2.1. 밤 발효사료 제조

시험에서 이용된 밤은 경남 합천군 소재 밤 재배 농가에서 구입하였으며, 파쇄기로 파쇄한 후 60°C 건조기에서 48시간 건조하였다. 건조된 밤은 분쇄기를 이용하여 입자도가 4-6 mm가 되도록 분쇄하여 밤 발효 사료 제조에 이용하였다. 건조분쇄 밤의 건물, 조단백질, 조지방, 조회분, NDF 및 ADF 함량은 각각 92.0, 9.8, 2.06, 2.49, 39.1 및 21.5%였다(Table 1). 처리구로는 건조분쇄 밤 1 kg 당 미생물을 20 mL 접종한 대조구(Control), 40 mL 접종한 중첨가구(Medium) 및 80 mL 접종한 고첨가구(High)로 3처리구를 설정하였다. 본 시험에서 사용한 미생물은 *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)가 혼합된 복합균주를 사용하였다. 밤 발효사료 제조를 위해 대조구(Control)는 건조분쇄 밤, 당밀, 물 및 미생물을 1 kg, 3 g, 480 mL 및 20 mL의 비율로 25

Table 1. Chemical compositions of dried chestnut meal (% , DM)

	Chestnut meal
Dry matter	92.0
Crude protein	9.80
Ether extract	2.06
Crude ash	2.49
Neutral detergent fiber	39.1
Acid detergent fiber	21.5

kg을 혼합하였다. 이를 기준으로 미생물 첨가수준을 달리하는 각 처리구를 혼합한 후 4반복으로 5 kg씩을 발효용기에 넣고 밀봉하여 39°C 배양기에서 7, 14 및 21일간 발효시켰다. 발효기간 종료 후에는 발효용기를 개봉하여 영양소 함량(500 g), bacteria(20 g) 및 반추위 내 발효특성(100 g) 분석을 위한 시료를 채취하였다.

2.2 반추위 내 발효특성

채취한 밤 발효사료를 60°C에서 48시간 건조한 후 Cutting mill(Shin Myung Electric, Daegu, Korea)을 이용하여 1 mm 크기로 분쇄하였다. 밤 발효사료의 반추위 내 발효특성은 gas production system(Adesogan et al., 2005)에 준하여 처리구 당 5반복으로 수행하였다. 반추위액은 조사료와 농후사료를 8:2비율로 급여한 한우의 반추위에서 아침 사료급여 직전에 채취하였으며, 3겹의 cheese cloth로 거른 후 Van Soest medium과 1:2 비율로 혼합하여 배양액을 제조하였다. 분쇄한 밤 발효사료 0.5 g과 배양액 40 mL를 배양용 유리병에 넣고 밀봉하였으며, 3개의 blank와 함께 39°C CO₂ 배양기에서 48시간동안 보관하였다. 배양 종료 후 filter paper(No. 2)를 이용하여 고형물과 액상으로 분리하였다. 분리된 고형물은 105°C에서 24시간 건조시켜 반추위 내 건물소화율(*In Vitro* Dry Matter Digestibility, IVDMD)를 계산하였다. 분리된 액상은 pH meter(SevenEasy, Mettler Toledo, Greifensee, Switzerland)를 이용하여 pH를 측정 후 NH₃-N과 Volatile Fatty Acid(VFA) 분석 시까지 -20°C에서 보관하였다.

2.3. 분석방법

영양소 함량을 분석하기 위해 채취한 밤과 밤 발효사료는 60°C에 건조기(OF-22GW, Jeio Tech, Seoul, Korea)에서 48시간 동안 건조시킨 후 Cutting mill을 이용하여 입자도가 1 mm가 되도록 분쇄하여 분석용 시료로 이용하였다. 시료의 수분은 105°C 건조기(OF-22GW, Jeio Tech, Seoul, Korea)에서 24시간 건조하여 측정하였다. 조단백질과 조지방 함량은 AOAC(1990)에 준하여 Kjeldahl 분석법(B-324, 412, 435 and 719Titrino, BUCHI, Essen, Germany)과 Soxhlet 분석법(OB-25E, JeioTech, Seoul, Korea)으

로 분석하였다. 조회분 함량은 550°C 회화로(Muffle furnace, Nabertherm®, Lilienthal, Germany)에서 4시간 분해하여 측정하였다. 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. 밤 발효사료의 bacteria 수를 분석하기 위해 시료 20 g과 증류수 200 mL를 믹서기에서 30초간 혼합하고 거르기로 걸러준 후 멸균 희석액(0.84% NaCl)을 이용해 10진 희석법에 준하여 희석액을 제조하였다. 제조된 희석액은 Plate Count Agar(PCA, Difco Laboratories, MI, USA)에 100 µL를 3 반복으로 도말하여 39°C에서 48시간 배양한 후 bacteria 수를 측정하였다. Gas production system에서 채취된 액상 시료는 12,000 rpm에서 15분간 원심분리 후 상층을 수거하여 반추위 내 NH₃-N과 VFA 분석에 이용하였다. NH₃-N 함량은 Chaney and Marbach(1962)의 비색법을 이용하여 분석하였으며, VFA 함량은 UV detector(L-2400, Hitachi, Tokyo, Japan)와 column(Metacarb 86H, Varian, Palo Alto, USA)이 장착된 HPLC(L-2200, Hitachi, Tokyo, Japan)를 이용하여 분석하였다(Adesogan et al., 2004).

2.4. 통계처리

본 시험에서 얻어진 결과는 SAS program(SAS, 2002)의 GLM procedure를 이용하여 분산분석(ANOVA)을 실시하였으며, 처리구간의 유의성 검증은 Tukey test를 이용하여 분석하였다. 또한 Polynomial contrasts를 이용하여 미생물 대체 수준이 발효사료의 영양소 함량과 반추위 내 발효특성에 미치는 효과(Liner, Quadratic)를 분석하였다. 한편 P 값이 <0.05는 유의차가 있는 것으로 간주하였으며, 0.05<P<0.1는 경향이 있는 것으로 간주하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 7일간 발효시킨 밤 사료의 영양소 함량과 반추위 내 발효특성

건조 분쇄한 밤에 미생물 첨가 수준을 달리하여 7일간 발효시켰을 때 영양소 함량, 미생물 수 및 반추위 내 발효특성을 조사한 결과는 Table 2와 같았다. 밤

Table 2. Effects of inoculant application levels on chemical composition, bacterial count, and rumen fermentation indices of chestnut meal incubated for 7 days

	Inoculant application levels			SEM	Contrast	
	Control	Medium	High		Linear	Quadratic
Chemical composition, %DM						
Dry matter	57.0	58.1	58.0	0.885	0.115	0.130
Crude protein	9.93	9.10	9.70	0.410	0.834	0.043
Neutral detergent fiber	38.4	42.8	36.1	3.295	0.244	0.071
Acid detergent fiber	21.6	21.2	22.2	0.913	0.394	0.365
Bacteria, log ₁₀ cfu/g	6.55	7.03	6.80	0.243	0.427	0.065
Rumen fermentation indices						
IVDMD, % DM	76.7	78.4	76.7	2.223	0.857	0.323
pH	6.63	6.60	6.63	0.047	0.856	0.364
NH ₃ -N, mg N/100mL	19.7	21.8	22.3	1.509	0.063	0.585
Total VFA, mM/L	127.7	128.7	127.8	7.380	0.985	0.857
Acetate, % of mM	56.5	56.0	56.2	0.539	0.637	0.342
Propionate, % of mM	16.9	16.6	16.6	0.428	0.482	0.541
Iso-butyrate, % of mM	2.00	2.00	2.10	0.365	0.727	0.903
Butyrate, % of mM	15.5	15.8	15.5	0.335	0.939	0.330
Iso-valerate, % of mM	5.30	5.50	5.50	0.440	0.647	0.691
Valerate, % of mM	3.80	4.20	4.13	0.910	0.723	0.675
Acetate:propionate ratio	3.67	3.40	3.40	0.088	0.700	0.738

IVDMD, *In vitro* dry matter digestibility; SEM, Standard error of the mean.

발효사료의 건물과 ADF함량은 미생물 첨가 첨가수준에 의해 영향을 받지 않았다. 하지만 조단백질 함량(Quadratic, P=0.043)은 미생물 첨가 수준이 증가함에 따라 감소하였다. 또한 미생물 첨가 수준이 증가함에 따라 NDF 함량(Quadratic, P=0.071)은 감소하는 경향을 보인 반면, 미생물 수(Quadratic, P=0.065)는 증가하는 경향을 나타내었다. 밤 발효사료의 반추위 내 건물소화율, pH, total VFA 함량 및 개별 VFA 농도는 미생물 첨가수준에 의해 영향을 받지 않았다. 그러나 NH₃-N 함량(Quadratic, P=0.063)은 미생물 첨가 수준이 증가함에 따라 증가하는 경향을 나타내었다.

밤을 발효사료로 제조하기 위한 연구는 매우 제한적이므로 본 연구와 비교하기에는 어렵지만, Lee et al.(2016)은 건조분쇄 밤의 조단백질 함량은 8.45%였다고 보고하였는데, 이는 본 연구에서 이용된 밤(9.8%) 보다는 다소 낮았다. 이것은 밤의 부위별 조단백질 함량(내피 2.57%, 외피 8.20%, 알맹이 8.45%)이

다르기 때문에, 밤 품종과 크기의 차이에 의한 것으로 사료된다. 일반적으로 발효사료 제조 시 첨가된 미생물은 원료사료의 수용성 당을 분해하여 에너지원으로 이용하고, 단백질은 분해하여 미생물의 증식에 이용한다(Stronach et al., 1986; Muck, 1993; Ghanem et al., 2000). 본 연구에서 미생물을 Medium 수준으로 첨가하였을 때 미생물 성장이 촉진되어 bacteria 수가 타 처리구에 비해 높게 나타난 것으로 관측되었으며, 이로 인해 미생물 성장 시 밤의 조단백질과 수용성 당 분해가 촉진되어 밤 발효사료의 조단백질 함량은 감소한 반면, NDF 함량은 상대적으로 증가한 것으로 판단된다. 일반적으로, 반추위 내 NH₃-N 함량은 반추위 내 미생물이 사료 조단백질을 분해하는 과정에서 발생하는 대사산물이다(Hobson and Stewart, 1997). 따라서 본 연구에서 밤 발효사료 제조 시 미생물 첨가 수준이 증가함에 따라 반추위 내 NH₃-N 함량이 증가한 것은 첨가된 미생물의 작용에 의해 밤 발효사료의 조

Table 3. Effects of inoculant application levels on chemical composition, bacterial count, and rumen fermentation indices of chestnut meal incubated for 14 days

	Inoculant application levels			SEM	Contrast	
	Control	Medium	High		Linear	Quadratic
Chemical composition, %DM						
Dry matter	56.7	58.1	57.7	0.673	0.196	0.085
Crude protein	10.1	9.37	10.7	0.539	0.116	0.059
Neutral detergent fiber	38.9	40.1	40.5	1.801	0.946	0.330
Acid detergent fiber	20.2	19.0	20.1	0.652	0.754	0.056
Bacteria, log ₁₀ cfu/g	6.44	6.33	6.18	0.212	0.002	0.574
Fermentation indices						
IVDMD, % DM	75.1	76.5	78.5	0.332	0.002	0.574
pH	6.60	6.57	6.63	0.048	0.300	0.238
NH ₃ -N, mg N/100mL	21.8	21.8	21.3	0.719	0.620	0.700
Total VFA, mM/L	122.1 ^b	124.6 ^{ab}	131.0 ^a	2.239	0.057	0.587
Acetate, % of mM	56.5	56.1	56.8	0.616	0.411	0.323
Propionate, % of mM	16.8	16.7	16.5	0.191	0.099	0.228
Iso-butyrate, % of mM	1.87	1.90	1.97	0.075	0.054	0.317
Butyrate, % of mM	15.7	16.2	15.5	0.491	0.455	0.082
Iso-valerate, % of mM	5.40	5.23	5.27	0.205	0.540	0.440
Valerate, % of mM	3.77	3.37	3.43	0.058	0.174	0.612
Acetate:propionate ratio	3.37	3.37	3.43	0.058	0.174	0.612

IVDMD, *In vitro* dry matter digestibility; SEM, Standard error of the mean.

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

단백질이 반추위 내에서 보다 쉽게 분해되었기 때문인 것으로 사료된다.

3.2. 14일간 발효시킨 밤 사료의 영양소 함량과 반추위 내 발효특성

건조 분쇄한 밤에 미생물 첨가수준을 달리하여 14일간 발효시켰을 때 영양소 함량, 미생물 수 및 반추위 내 발효특성을 조사한 결과는 Table 3과 같았다. 미생물 첨가 수준이 증가함에 따라, 밤 발효사료의 미생물 수(Linear, $P=0.002$)는 감소하였으며, 건물(Quadratic, $P=0.085$), 조단백질(Quadratic, $P=0.059$) 및 ADF(Quadratic, $P=0.056$) 함량은 증가하는 경향을 나타내었다. 밤 발효사료의 반추위 내 건물소화율(Linear, $P=0.002$)은 미생물 첨가 수준이 증가함에 따라 증가하였다. 또한 total VFA 함량(Linear, $P=0.057$)과 iso-butyrate 농도(Linear, $P=0.054$)는 미생물 첨가 수준이 증가함에 따라 증가하는 경향을 보인 반면,

propionate(Linear, $P=0.099$)와 butyrate(Quadratic, $P=0.082$) 농도는 감소하는 경향을 나타내었다.

14일간 발효된 밤 발효사료의 조단백질 함량 변화는 7일간 발효된 밤 발효사료와 유사한 경향을 나타내었다. 미생물의 성장단계는 유도기(Lag phases), 증식기(Exponential period), 정지기(Stationary phases) 및 사멸기(Death phases)로 구분되며, 단계별 시간은 미생물 종류, 접종비율, 영양소 상태 등에 따라 차이가 있다(Hobson and Stewart, 1997). 특히 정지기를 지나면 배지의 영양소 고갈, 미생물 과밀, 성장과정에서 발생된 대사산물(By-products) 등에 의한 성장 저해로 인해 미생물 수가 급격히 감소한다(Hobson and Stewart, 1997). 본 연구에서 미생물 첨가수준이 증가함에 따라 bacteria 수가 감소한 것은 Medium 처리구와 High 처리구에서 발효초기에 미생물 성장이 촉진됨으로 인해 대조구에 비해 정지기와 사멸기에 빨리

Table 4. Effects of inoculant application levels on chemical composition, bacterial count, and rumen fermentation indices of chestnut meal incubated for 21 days

	Application levels			SEM	Contrast	
	Control	Medium	High		Linear	Quadratic
Chemical composition, %DM						
Dry matter	56.9	57.7	57.7	0.655	0.246	0.151
Crude protein	11.4	10.6	11.0	0.328	0.419	0.034
Neutral detergent fiber	43.7	41.8	43.4	1.484	0.077	0.047
Acid detergent fiber	20.0	20.3	19.4	1.160	0.451	0.539
Bacteria, log ₁₀ cfu/g	5.21	5.27	5.00	0.238	0.257	0.465
Fermentation indices						
IVDMD, % DM	74.1 ^b	79.0 ^a	78.7 ^a	1.225	0.002	0.281
pH	6.60	6.60	6.63	0.067	0.787	0.825
NH ₃ -N, mg N/100mL	20.8	20.6	20.1	1.167	0.504	0.990
Total VFA, mM/L	126.1 ^b	129.4 ^b	168.3 ^a	6.371	0.001	0.537
Acetate, % of mM	56.8	56.9	58.2	1.317	0.213	0.737
Propionate, % of mM	17.3	17.0	17.3	0.356	0.454	0.228
Iso-butyrate, % of mM	1.83	1.93	1.93	0.058	0.125	0.160
Butyrate, % of mM	15.5	15.8	15.8	0.321	0.357	0.421
Iso-valerate, % of mM	5.30	5.37	5.30	0.176	0.923	0.619
Valerate, % of mM	3.23	3.00	1.50	1.876	0.275	0.807
Acetate:propionate ratio	3.30	3.33	3.67	0.296	0.140	0.755

IVDMD, *In vitro* dry matter digestibility; SEM, Standard error of the mean.

^{a,b}—Means in the same row with different superscripts differ significantly ($P < 0.05$).

도달했기 때문인 것으로 판단된다. 한편 반추위 내 VFA는 사료 유기물이 반추위 미생물의 분해작용에 의해 생성되는 대사-산물이며, 사료의 건물소화율이 증가할수록 반추위 내 VFA 함량도 증가한다 (Demeyer, 1981). 본 연구에서 미생물 첨가수준이 증가함에 따라 반추위 내 건물소화율이 증가하였을 뿐만 아니라 total VFA 함량도 증가하였는데, 이것은 미생물 첨가수준이 증가함으로 인해 미생물 성장이 촉진되고 이로 인해 다양한 소화효소 등의 대사산물 생산이 증가하였기 때문인 것으로 추측할 수 있다. 반추가축에게 급여되는 사료의 조사료와 농후사료 비율, 가공형태 등에 따라 반추위 내 VFA 조성이 변화하는데, 특히 구조성탄수화물 함량이 많으면 반추위 내 acetate 농도가 증가하는 반면, 비구조성탄수화물 함량이 많으면 propionate 농도가 증가한다(Orskov et al., 1974; Hobson and Stewart, 1997; Chikagwa

-Malunga et al., 2009). 본 연구에서 미생물 첨가수준이 증가함에 따라 밤 발효사료의 반추위 내 propionate 농도가 감소하는 경향을 보이는 이유는 밤 발효과정에서 미생물의 성장 촉진으로 인해 비구조성탄수화물인 수용성 당이 미생물의 에너지원으로 이용됨으로 인해 밤 발효사료의 비구조성탄수화물 함량이 상대적으로 감소하였기 때문인 것으로 판단된다.

3.3. 21일간 발효시킨 밤 사료의 영양소 함량과 반추위 내 발효특성

건조 분쇄한 밤에 미생물 첨가수준을 달리하여 21일간 발효시켰을 때 영양소 함량, 미생물 수 및 반추위 내 발효특성을 조사한 결과는 Table 4와 같았다. 미생물 첨가 수준이 증가함에 따라 밤 발효사료의 조단백질(Quadratic, $P=0.034$)과 NDF(Quadratic, $P=0.047$) 함량은 감소하였지만, 건물, ADF 및 bacteria 수는 차이가 없었다. 밤 발효사료의 반추위 내 건물소화율

(Linear, P=0.002)과 total VFA(Linear, P=0.001) 함량은 미생물 첨가 수준이 증가함에 따라 증가하였으나, pH, NH₃-N 함량 그리고 개별 VFA 농도는 차이가 없었다.

미생물 첨가수준을 달리하여 21일간 발효한 밤 발효사료의 조단백질 함량 변화는 7일과 14일간 발효시켰을 때와 유사한 경향을 나타내었으며, NDF 함량 변화는 7일간 발효된 밤 발효사료와 유사한 경향을 나타내었다. 또한 미생물 첨가수준이 증가할수록 밤 발효사료의 건물소화율이 증가함으로 인해 반추위 내 total VFA 함량이 증가하였는데(Demeyer, 1981), 이것은 14일간 발효한 밤 발효사료에서와 동일한 결과다. 앞에서 설명한 바와 같이 밤 발효과정에서 미생물 첨가수준이 증가함으로 인해 미생물의 성장에 의한 다양한 소화효소와 대사산물 생산이 증가하였기 때문인 것으로 판단된다.

4. 결론

밤 발효사료 제조 시 미생물 첨가수준이 증가함에 따라 발효 7일에는 조단백질 함량이 감소하였으나, 발효 14일과 21일에는 건물 소화율과 반추위 내 total VFA 함량이 개선되었다. 반면 발효기간이 증가할수록 밤 발효사료의 bacteria 수는 감소하였으며, 미생물 첨가수준이 높은 high 처리구에서 그 경향이 뚜렷하게 나타났다. 따라서 밤 발효사료 제조 시에는 medium 수준의 미생물을 첨가하여 14일까지 발효시키는 것이 축산 환경개선과 경영성 증진에 가장 유리할 것으로 판단된다.

감사의 글

본 연구는 농림식품기술기획평가원 공동연구사업(과제번호: 315017-05-2-SB030)의 지원에 의해 이루어졌습니다. 이 연구는 2016년도 경상대학교 연구년제연구교수 연구지원비에 의하여 수행되었습니다.

REFERENCES

Adesogan, A. T., 2005, Improving forage quality and animal performance with fibrolytic enzymes. 16th

Florida Ruminant Nutrition Symposium, University of Florida, Gainesville, FL, USA.
 Adesogan, A. T., Krueger, N., Salawu, M. B., Dean, D. B., Staples, C. R., 2004, The influence of treatment with dual-purpose bacterial inoculants or soluble carbohydrates on the fermentation and aerobic stability of bermudagrass. *J. Dairy Sci.*, 87, 3407-3416.
 AOAC, 1990, Official methods of analysis, 15th edn., Association of Official Analytical Chemists, Arlington, VA, USA.
 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.
 Chikagwa-Malunga, S. K., Adesogan, A. T., Szabo, N. J., Littell, R. C., Phatak, S. C., Kim, S. C., Arriola, C. M., Dean, D. B., Krueger, N. A., 2009, Nutritional characterization of *Mucuna pruriens*: Effect of replacing soybean meal with Mucuna on intake, digestibility, N balance and microbial protein synthesis in sheep. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 148, 107-123.
 Ciesla, W. M., 2002, Non-wood forest products from temperate broad-leaved trees. *Food Agric. Organ. UN, Rome, Italy.*
 Demeyer, D. I., 1981, Rumen microbes and digestion of plant cell walls. *Agric. Environ.*, 6, 294-337.
 De Vasconcelos, M. C. B. M., Bennett, R. N., Rosa, E. A. S., Ferreira-Cardoso, J. V., 2010, Composition of European chestnut (*Castanea sativa* Mill.) and association with health effects: fresh and processed products. *J. Soc. Food. Agric.*, 90, 1578-1589.
 Dunne, C., 2011, Adaptation of bacteria to the intestinal niche: Probiotics and gut disorder, *Inflam. Bowel Dis.*, 7, 136-145.
 FAOSTAT, Food and Agriculture Organization of the United States, 2010, Available: <http://faostat.fao.org/site/339/default.aspx>.
 Frutos, P., Raso, M., Hervas, G., Mantecon, A. R., Perez,

- V., Giraldez, F. J., 2004, Is there any detrimental effect when a chestnut hydrolysable tannin extract is include in the diet of finishing lambs? *Anim. Res.*, 53, 127-136.
- Fuller, R., 1989, Probiotics in man and animals, *A Revies. J. Appl. Bacteriol.*, 66, 369-377.
- Ghanem, N. B., Yusef, H. H., Mahrouse, H. K., 2000, Production of *Aspergillus terreus* xylanase in solid-state cultures: Application of the Plackett-Burmann experimental design to evaluate nutritional requirements. *Bioresour Technol.*, 73, 113-121.
- Golueke, C. G., Diaz, I. F., 1991, Inoculants and enzymes, In: The staff of biocycle J. Waste recycling, Editor, The biocycle guide to the art and science of composting, The JG press, Inc., Emmaus, PA, USA.
- Hobson, P. N., Stewart, C. S., 1997, The rumen microbial ecosystem, 2nd Ed., Blackie Academic and Professional, London, UK.
- Joo, Y. H., Jeong, H. H., Kim, D. H., Lee, H. J., Lee, S. S., Kim, S. B., Kim, S. C., 2017, Effects of replacing mushroom by-product with tofu by-product on the chemical composition, microbes, and rumen fermentation indices of fermented diets, *J. Envir. Sci. Inter.*, 26, 651-659.
- 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.
- Lee, H. J., Choi, I. H., Kim, D. H., Amanullah, S. M., Kim, S. C., 2016, Nutritional characterization of tannin rich chestnut (*Castanea*) and its meal for pig. *J. Appl. Anim. Res.*, 44, 258-262.
- 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.
- 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.
- Oh, Y. G., Kim, D. W., Baek, Y. C., Lee, H. J., Jeong, H. J., Lee, S. D., So, K. M., Kim, M. S., Lee, Y. K., Kim, K. H., Lee, S., Kim, M. J., 2017, Easy fermented feed manufacturing technology, *Nat. Inst. Anim. Sci.*, Wanju, Korea.
- Orskov, E. R., Fraser, C., Gordon, J. G., 1974, Effect of processing of cereals on rumen fermentation, digestibility, rumination time, and firmness of subcutaneous fat in lambs. *Brit. J. Nutr.*, 32, 59-69.
- SAS, 2002, SAS/STAT User's Guide: Version 8.2 SAS Institute Inc., Cary, NC.
- Shin, H. T., Keum, D. H., Lee, H. W., Rhee, D. K., Hwnag, B. S., Lee, L. H., 2001, Screening of yeasts for the development of direct-fed microbials. *Kor. J. Anim. Sci. Technol.*, 43, 721-726.
- Statistics Korea, 2015, Livestock production cost survey.
- Stronach, S. M., Rudd, T., Lester, J. N., 1986, Anaerobic digestion process in industrial wastewater treatment. *Springe-verlag, Berlin Heidelberg.*
- 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.