

열수 전처리에 따른 톨페스큐와 옥수수 사일리지의 영양적 가치와 *in vitro* 발효특성에 미치는 영향

김동현¹, 손준규¹, 이지환¹, 김상범², 박범영¹, 김두산¹, 장길원¹, 임현주¹, 허태영¹, 김언태^{1*}
¹농촌진흥청 국립축산과학원, ²농촌진흥청

Effects of Hydrothermal Pretreatment on the Nutritional Values and *In Vitro* Fermentation Characteristics of Tall Fescue (*Festuca arundinacea*) and Corn Silage

Dong Hyeon Kim¹, Jun Kyu Son¹, Ji Hwan Lee¹, Sang Bum Kim², Beom Young Park¹,
Doo San Kim¹, Gul Won Jang¹, Hyun Joo Lim¹, Tai Young Hur¹, Eun Tae Kim^{1*}

¹National Institute of Animal Science, Rural Development Administration, Cheonan 31000, Korea

²Rural Development Administration, Jeonju 54875, Korea

요약 본 연구는 열수 전처리에 따른 사료의 영양소 함량과 반추위내 발효특성의 변화를 알아보고자 수행되었다. 본 시험은 2(대조구 또는 열수 전처리)×2(건조: 톨페스큐 또는 사일리지; 옥수수)의 요인설계를 통해 실시하였다. 열수 전처리는 사료에 물을 20% w/v 수준하고, 멸균기를 이용하여 열처리를 20분간 실시하였다(121°C, 0.12 MPa). 제조된 시험사료는 *in vitro* 배양 시험을 통해 39°C에서 24시간 및 48시간동안 배양하였다. 연구결과, 열수 전처리 후 ADF의 함량은 조사료 종류에 구분없이 모두 유의적으로 증가하였다. *In vitro* 24시간 배양 후 total VFA는 조사료 종류에 관계없이 열수 전처리 후에 함량이 유의적으로 낮았으며($p \leq 0.05$), Propionate 함량은 열수 전처리된 옥수수 사일리지에서 옥수수 사일리지 보다 유의적으로 증가하였다(18.9 vs. 26.6%; $p \leq 0.05$). *In vitro* 48시간 배양 후에는 옥수수 사일리지에서 열수 전처리에 의해 propionate 함량이 유의적으로 증가하였으나($p \leq 0.05$), Butyrate 함량은 유의적으로 감소하였다($p \leq 0.05$). 건물과 NDF 소화율의 경우에는 조사료 종류에 관계없이 열수 전처리에 의한 변화가 없었다($p > 0.05$). 따라서 열수 전처리된 옥수수 사일리지를 이용할 시 반추동물의 에너지원 공급에 유리할 것으로 판단된다.

Abstract This study examined the effects of a hydrothermal pretreatment (HP) on the nutritional values and *in vitro* fermentation characteristics of tall fescue and corn silage. This study was conducted through a factorial design of 2 (control or HP) x 2 (hay; tall fescue or silage; corn). For the HP, forage was placed into a glass bottle with 20% w/v of water, and the glass bottle was sealed and heated to reach a temperature of 121°C (0.12 MPa). The solid residue and liquid were collected and oven-dried at 65°C for three days. The dried materials were tested for *in vitro* fermentation at 39°C for 24 and 48 h. The content of ADF increased significantly regardless of the forage type. After *in vitro* incubation for 24 h, the total VFA content was significantly lower after HP, regardless of the forage type ($p \leq 0.05$), and the propionate concentration was increased in corn silage with HP ($p \leq 0.05$). After 48 hours of *in vitro* incubation, the propionate content increased significantly ($p \leq 0.03$) in corn silage with HP ($p \leq 0.05$), but the butyrate content decreased significantly ($p \leq 0.05$). There was no change in the *in vitro* dry matter and neutral detergent fiber digestibility by HP regardless of the forage type. Therefore, the use of hydrothermally pretreated corn silage could be advantageous for the supply of energy for ruminants.

Keywords : Hydrothermal Pretreatment, Tall Fescue, Corn Silage, *In Vitro* Digestibility, Rumen Fermentation

본 연구는 농촌진흥청 연구사업(과제번호: PJ01503904-고온 스트레스에 따른 저지중 장애 발효대사 향상 방안 구명)과 2020년도 농촌진흥청 국립축산과학원 전문연구원 과정(김동현) 지원사업에 의해 이루어진 것임.

*Corresponding Author : Eun Tae Kim(National Institute of Animal Science)

email: etkim77@korea.kr

Received August 14, 2020

Revised September 1, 2020

Accepted January 8, 2021

Published January 31, 2021

1. 서론

풀 사료는 반추동물의 주된 사료 공급원이며, 반추위의 미생물을 통해 분해하여 이용할 수 있는 특징을 가지고 있다. 하지만, 셀룰로오스, 헤미셀룰로오스 및 리그닌 구조를 가진 풀 사료는 미생물 및 효소에 의한 분해를 저해시키며, 결과적으로는 반추위 발효에서 사료효율을 떨어뜨린다[1]. 반추위의 낮은 사료효율은 반추위에 통과속도(passage rate)를 낮추고 궁극적으로 건물섭취량이 제한된다[2]. 따라서, 풀 사료의 이용효율을 개선하면 반추동물의 생산성 증가뿐만 아니라 반추동물의 고품질 사료의 부족을 완화할 수 있다.

열처리는 리그노셀룰로오스 구조와 같은 섬유소 구조를 효과적으로 파괴할 수 있다[3]. 예를 들면, 고압에 의한 증기처리는 리그닌과 헤미셀룰로오스 사이의 일부 결합을 파괴시킬 수 있고 일부 폴리사카라이드를 가수분해하여 반추위에서 분해성을 높이는데 도움이 된다[4]. 하지만 이러한 처리는 상당한 고압의 증기처리로 인한 설비와 위험성이 있어 이용하는데 어려움이 있다. 열수 전처리는 포화 증기압을 사용하며, 액체 상태에서 고온의 온도를 유지한다. 또한 물이 용매와 촉매로 작용하여, 세포벽을 파괴하고 셀룰로오스가 가수분해되는 확률을 증가시킨다[5]. 증기처리와 비교하여 열수 전처리는 액체 상태에서 처리되므로 더 많은 가용성 물질을 생성할 수 있다[6-7]. 이러한 열수 전처리 기술은 바이오메스(biomass)를 추출하는데 보통 이용되어진다. 이러한 공정의 응용은 사료의 영양적 가치나 추출된 물질의 반추위 미생물의 이용성을 개선시킬 수 있을 것으로 판단되나, 반추동물의 사료 이용성 개선을 위한 가능성에 대한 연구는 아직 미비하다.

따라서, 본 연구의 목적은 열수 전처리에 의한 건조와 사일리지의 반추위 이용율에 미치는 영향을 조사하는 것이다. 우리는 열수 전처리가 톨페스큐와 옥수수 사일리지의 세포벽을 파괴하고, 생성된 가용성 물질이 영양적으로 가치가 개선될 것이라는 가설을 세웠다. 이 가설을 시험하기 위해, 톨페스큐와 옥수수 사일리지를 열수 전처리하고 시험관 내 배양 시험을 수행하였다.

2. 재료 및 방법

본 연구에 사용된 모든 동물절차는 경상대학교의 동물관리 위원회에 의해 검토되고 승인되었다.

2.1 시험설계

본 시험은 2개의 요인(열수 전처리와 사료의 종류)을 사용하여 대조구(CON) 또는 열수 전처리(hydrothermal pretreatment; HP)와 건조(Tall fescue) 또는 사일리지(Corn silage)의 2×2 요인설계를 통해 실시하였다. 시험 시작 전 샘플 수는 G*Power (Version 3.1.9.4 for Windows 1992-2019, Universität Kiel, Kiel, Germany)를 통해 계산되었다. 요인설계에서 유의수준 0.05, 검정력 0.8 및 효과크기 1.0에 대해 검정력 테스트(power test)를 실시하였으며, 총 샘플 크기는 최소 16개가 요구되었다. 통계학적 검정력 테스트는 Cohen이 제한한 지침에서 동물과학 분야의 수준을 따랐다[8-9].

2.2 열수 전처리 및 건조 시료 제조

열수 전처리의 절차는 Zhang 등[10]의 liquid hot water의 방법을 수정하여 이용하였다. 열수 전처리를 설명하자면, 3 cm로 세절된 조사료(톨페스큐 or 옥수수 사일리지)를 물을 이용하여 20% w/v 수준으로 비커에 넣는다. 준비된 비커를 밀봉 후에 멸균기(AO-BKQ-B50 II, Madrid, SL, Spain)를 이용하여 열처리를 20분간 실시하였다(121℃, 0.12 MPa). 열수 전처리 후, 송풍건조기(65℃)를 이용하여 3일간 건조하였다. 건조된 샘플은 이 후의 일반성분 분석과 *in vitro* 반추위 발효특성 분석을 위해 밀봉 보존 용기에 보관하였다.

2.3 *In vitro* 반추위 배양

In vitro 발효특성 분석을 위해 캐놀라(cannula)가 장착된 한우 암소로부터 채취된 반추위액을 이용하였다. 한우 암소에는 볏짚과 농후사료를 8:2로 구성된 사료를 오전 8:00 및 16:00에 2회 제공되었다. 반추위액은 오전 사료 급여 전에 채취하여 39℃의 보온통에 담아 실험실까지 운반하였다. 반추위액을 수집 후에 4겹의 cheesecloth를 통해 부유물을 여과하였다.

반추위 완충액은 수집된 반추위 위액과 Adesogan 등[11]에 준하여 1:2의 비율로 혼합하여 반추위 배양액을 제조되었다. 제조된 배양액은 39℃ 배양기에서 혐기상태(CO₂ flushing)를 유지하면서 안정화시켰다. 이후 건조 분쇄된 시료 (0.5 g)를 배양용기 (125 mL)에 넣고 40 mL의 반추위 배양액을 혼합하고, 처리구당 4반복으로 39℃ CO₂ 배양기에서 24 및 48시간 동안 배양을 수행하였다.

2.4 조사항목 및 방법

2.4.1 화학 성분 분석

영양소 함량을 분석하기 위해 채취한 시료는 65°C 송풍건조기(OF-22W, Jeio Tech, Korea)에서 48시간 건조시킨 후 입자도가 1 mm가 되도록 분쇄하여(Cutting mill, Shinmyung Electric Co., Ltd, Korea) 분석용 시료로 이용하였다. 시료의 수분 함량을 조사하기 위해 채취된 시료를 105°C 송풍건조기(OF-22W, Jeio Tech, Korea)에서 24시간 건조하였다. 조단백질(crude protein, CP)과 조지방(ether extract, EE)은 A.O.A.C 법[12]에 준하여 Kjeldahl 분석법(B-324, 412, 435 and 719 Titrino BUCHI, Essen, Germany)과 Soxhlet 분석법(OB-25E, JeioTech, Seoul, Korea)으로 분석하였으며, Neutral Detergent Fiber (NDF)와 Acid Detergent Fiber(ADF) 함량은 Ankom 200 fiber analyzer(Ankom Technology, Macedon, NY, USA)를 이용하여 Van Soest법[13]에 준하여 분석하였다. Neutral detergent solubles (NDS)는 Van Soest와 Robertson [14]에 준하여 다음과 같이 계산하였다: NDS (% of DM) = 100 - NDF (% of DM). Non-fibrous carbohydrate (NFC)는 다음과 같이 계산하였다: NFC (% of DM) = 100 - (NDF+CP+ether extract)(% of DM).

2.4.2 반추위내 발효특성 분석

In vitro 배양 종료 후 시료들은 여과지(Whatman No. 541 whatman, Inc., Clifton, NJ, USA)를 이용하여 고형물과 액상을 분리하였다. 분리된 고형물은 65°C에서 48시간 건조시켜 반추위 내 건물소화율(*In Vitro* Dry Matter Digestibility, IVDMD)과 NDF 소화율(*In Vitro* Neutral Detergent Fiber Digestibility, IVNDFD)를 계산하였다. 분리된 액상은 pH meter(SevenEasy, Mettler Toldedo, Greifensee, Switzerland)를 이용하여 pH를 측정 후 NH₃-N과 volatile fatty acid(VFA) 함량을 분석하였다. NH₃-N 함량은 Chaney와 Marbach [15]의 비색법을 이용하여 분석하였으며, VFA 함량은 분리된 액상 시료를 12,000 rpm, 4°C에서 15분간 원심분리한 후 상층액을 수거하여 auto sampler (L-2200, Hitachi), UV detector (L-2400, Hitachi) 및 column (MetaCarb 87 H, Varian)이 설치된 HPLC를 이용하여 Adesogan 등[16]의 방법으로 분석하였다.

2.4.3 가스 발생량 및 반추위 분해 속도론

가스 발생량은 배양 후 30분마다 ANKOMRF (ANKOM Technology, Macedon, NY, USA)의 무선 자동화 시스템을 이용하여 48시간 배양 동안 각 배양시간별(0, 2, 4, 8, 12, 24, 36 및 48시간)로 가스 발생량을 측정하였다. 또한 모니터링된 가스압력으로 반추위 분해 속도론(rumen degradation kinetics)을 계산에 이용하였다. 반추위 분해 속도론은 McDonald 모델[17]에 적합하도록 Statistical Analysis System[18]의 비선형 회귀 절차를 다음과 같이 계산하였다.

$$Y = A + B (1 - e^{-C(t-L)}) \text{ for } t > L$$

여기서 A = 즉시 분해 가능한 분획, B = 잠재적으로 분해 가능한 분획, A+B = 전체 분해 가능한 분획, C = 분획별 분해율, L = 지연기, t = 배양시간을 나타낸다.

2.4 통계분석

본 시험에서 얻어진 결과의 통계분석은 Statistical Analysis System [18]를 이용하여 수행하였다. 사료의 일반성분, 반추위 발효특성, *in vitro* 건물과 섬유소 소화율 및 반추위 분해 속도론은 PROC MIXED를 이용하여 열수 전처리, 조사료 유형 및 그 상호작용(열수전처리×조사료 유형)의 효과를 분석하였다. 모델은 다음과 같다.

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + (\alpha\beta)_{ij} + e_{ijk}$$

여기서 Y_{ijk} = 반응변수, μ = 전체평균, α_i = 열수 전처리 효과, β_j = 조사료 유형 효과, $(\alpha\beta)_{ij}$ = 열수 전처리와 조사료 유형의 상호작용 효과, e_{ijk} = 오차를 나타낸다.

가스 발생량은 SAS의 PROC ANOVA를 이용하여 배양 시간(0, 2, 4, 8, 12, 24, 36 및 48시간)마다 가스 생성 데이터를 개별적으로 분석하였으며, 유의성 검정을 위해 Tuckey test를 이용하여 5% 유의수준에서 처리구간의 유의성 검증을 실시하였다. p 값이 ≤0.05는 유의차가 있는 것으로 간주하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1 일반성분 분석

열수 전처리에 따른 사료의 영양적 가치의 변화를 확인하기 위해 사료의 일반성분을 분석하였으며 결과는 Table 1과 같다. 건물함량은 옥수수 사일리지에서 열수 전처리 후 유의적으로 감소하는 것으로 나타났다(34.3 vs. 31.8%). ADF의 함량은 열수 전처리 후 조사료 종류

에 구분없이 모두 유의적으로 증가하였다. 조사료 종류에 관계없이 조단백질, 조지방, NDF, hemicellulose (HEMI), NDS 및 NFC 함량은 열수 전처리에 의해 영향을 받지 않았다.

열처리에 따른 건물함량의 감소는 여러 연구에서 보고되었다. Rangnekar 등[19]는 밀짚을 150~160°C 열처리를 가하면 17.6~39.5%의 건물함량 감소를 나타낸다고 보고하였다. 벧짚에서도 200도의 열처리에서 조건에 따라(시간과 수분함량) 10~18%의 건물함량 감소가 있다고 보고하였다[20]. 본 연구에서는 이전의 연구와 다르게 톨페스큐에서는 건물함량의 변화는 없었다. 이는 이전의 연구와 같이 열처리 방법과 고온(150°C 이상)과 조건의 차이로 차이가 없는 것으로 판단된다. 옥수수 사일리지의 경우에는 수분을 가지고 있는 조사료의 열처리 연구는 매우 제한적이므로 본 연구의 결과와 비교하기에는 어렵지만, Liu 등[20]은 수분을 첨가한 함량이 300g/kg보다 200g/kg에서 건물함량의 감소가 유의적으로 높게 나타났다고 보고했다. 이로 미루어 볼 때, 열처리 조건과 수분 함량에 따른 영향이 있을 것으로 판단된다. 그리고 식물 조직의 열처리는 식물조직의 미세구조에서 세포벽의 구조 변화와 리그닌 형성에 영향을 미친다고 알려져 있다 [21-22]. 특히, 고온(120~200°C)에서는 식물체의 구조의 변화가 더욱 일어나서 리그닌의 함량이 증가할 수 있다고 보고하였다[23-24]. 이와 마찬가지로 Broderick 등[25]은 100~110°C에서 알팔파 건초를 열처리 하면 NDF 및 ADF가 증가한다고 보고하였다. 따라서, 본 연구의 ADF 증가는 열처리에 의한 세포벽 구조의 변화로

인해 발생된 것으로 판단된다.

3.2 반추위 발효특성

In vitro 24시간 배양 후 반추위 발효특성을 나타낸 결과는 Table 2와 같다. Total VFA는 조사료 종류에 관계없이 열수 전처리 후에 함량이 유의적으로 낮았으며($p \leq 0.05$), Propionate 함량은 열수 전처리된 옥수수 사일리지에서 옥수수 사일리지 보다 유의적으로 증가하였다(18.9 vs. 26.6%; $p \leq 0.03$). *In vitro* 48시간 배양 후 옥수수 사일리지에서 열수 전처리에 의해 propionate 함량이 유의적으로 증가하였으나($p \leq 0.05$, Table 2), Butyrate 함량은 유의적으로 감소하였다($p \leq 0.05$).

반추위내 VFA는 사료 유기물이 반추위 미생물의 분해작용에 의해 생성되는 대사산물이며, 사료의 건물소화율이 증가할수록 반추위내 VFA 함량도 증가한다[26]. 특히 사료의 구성 중 조사료와 농후사료의 비율, 가공형태 등에 따라 반추위내 VFA조성이 변하는데, 특히 구조성 탄수화물 함량이 많으면 반추위내 acetate 농도가 증가하는 반면, 비구조성 탄수화물이 많으면 propionate 농도가 증가한다[27-29].

본 연구에서 옥수수 사일리지에서 열수 전처리에 따라 propionate의 농도가 증가한 이유는 열수 전처리에 의해 세포벽의 구조가 변화하여 삼출된 가용성 물질들을 반추위 미생물들이 이용을 하였기 때문인 것으로 판단된다.

3.3 반추위 건물·NDF 소화율, 분해 속도론 및 가스 발생량

In vitro 48시간 배양 후 소화율 및 분해속도를 나타낸 결과는 Table 4와 같다. 조사료 종류에 관계없이 열수 전처리에 의한 건물과 NDF 소화율에는 변화가 없었다($p > 0.05$). 옥수수 사일리지에서 열수 전처리는 즉시 분해 가능한 분획이 열수 전처리를 하지 않은 옥수수 사일리지보다 유의적으로 낮게 나타났다(0.28 vs. 0.01; $p \leq 0.05$). 잠재적으로 분해 가능한 분획과 지연기는 열수 전처리에 따라 톨페스큐와 옥수수 사일리지 모두 유의적으로 높게 나타났다($p \leq 0.05$). 전체 분해 가능한 분획의 경우, 톨페스큐는 열수 전처리에 의해 유의적으로 증가하였으나($p \leq 0.05$), 옥수수 사일리지는 변화가 없었다. *In vitro* 반추위 발효 중 발생된 누적 가스량을 배양시간 (0, 2, 4, 8, 12, 24, 36 및 48시간)별로 측정된 결과는 Figure 1과 같다. 배양 2시간까지는 조사료의 종류에 관계없이 가스 발생량 차이가 나타나지 않았다. 배양 4시간

Table 1. Chemical composition change with hydrothermal pretreatment (% DM)

Item	Tall fescue		Corn silage		SEM	Contrast		
	CON	HP1	CON	HP		F	H	F×H
DM	91.1 ^a	91.2 ^a	34.3 ^b	31.8 ^c	0.320	0.01	0.01	0.01
CP	6.34	6.16	10.2	9.93	0.092	0.01	0.03	0.51
EE	3.25	2.71	1.51	1.35	0.365	0.01	0.25	0.50
NDF	67.1	71.5	41.6	44.7	0.863	0.01	0.01	0.21
ADF	37.6 ^b	41.2 ^a	23.4 ^d	25.0 ^c	0.556	0.01	0.01	0.01
HEMI	29.4	30.3	18.2	19.7	0.514	0.01	0.01	0.29
NDS	32.9	28.5	58.4	55.3	0.863	0.01	0.01	0.21
NFC	21.5	17.7	47.0	45.7	1.411	0.01	0.01	0.17

¹CON, without hydrothermal pretreatment; HP, with hydrothermal pretreatment; DM, dry matter; CP, crude protein; EE, ether extract; NDF, neutral detergent fiber; ADF, acid detergent fiber; HEMI, hemicellulose; NDS, neutral detergent solubles; NFC, non-fibrous carbohydrate; SEM, standard error means.

²F = effect on type of forage; H = effect on hydrothermal pretreatment; F×H = type of forage and hydrothermal pretreatment interaction.

^{a-c}Means within a row with different superscripts differ significantly at $p \leq 0.05$.

Table 2. Effects of hydrothermal pretreatments on fermentation characteristics after 24 and 48 h of *in vitro* ruminal fermentation

Item	Tall fescue		Corn silage		SEM	Contrast ²		
	CON	HP ¹	CON	HP		F	H	F×H
After 24 h of <i>in vitro</i> ruminal fermentation								
IVDMD, % of DM	27.3	23.1	46.9	46.3	3.301	0.01	0.23	0.40
IVNDFD, % of DM	20.1	17.7	23.3	23.3	2.914	0.09	0.54	0.56
pH	6.97	7.08	6.84	6.78	0.123	0.02	0.72	0.27
NH ₃ -N, mg N/100 mL	26.8	20.5	26.1	21.2	3.214	1.00	0.02	0.72
Total N, mL/100 mL	2.60	2.08	1.61	1.33	0.266	0.01	0.03	0.45
Total VFA, mmol/L	144.7	91.0	190.5	158.3	6.091	0.01	0.01	0.07
Acetate, % of molar	73.9	69.8	68.5	62.2	1.603	0.01	0.01	0.33
Propionate	17.9 ^b	19.6 ^b	18.9 ^b	26.6 ^a	1.565	0.01	0.01	0.02
Isobutyrate	1.25	1.49	1.36	1.53	0.199	0.52	0.11	0.76
Butyrate	6.49 ^{bc}	6.81 ^c	9.48 ^a	8.04 ^{ab}	0.587	0.01	0.14	0.03
Isobutyrate	0.77	0.81	0.61	0.59	0.096	0.01	0.88	0.58
Valerate	1.67	1.50	1.17	0.89	0.672	0.19	0.58	0.88
Acetate: propionate ratio	4.38	3.58	3.66	2.35	0.335	0.01	0.01	0.28
After 48 h of <i>in vitro</i> ruminal fermentation								
IVDMD, % of DM	37.9	36.2	52.0	50.5	2.710	0.01	0.41	0.96
IVNDFD, % of DM	36.6	36.1	43.5	41.6	3.436	0.05	0.61	0.79
pH	6.99	6.86	6.66	6.55	0.154	0.01	0.21	0.86
NH ₃ -N, mg N/100 mL	31.3	33.1	34.8	31.7	2.893	0.55	0.74	0.18
Total N, mL/100 mL	3.04	3.36	2.14	1.99	0.269	0.01	0.59	0.17
Total VFA, mmol/L	164.0	166.3	207.1	212.0	8.274	0.01	0.48	0.80
Acetate, % of molar	70.3	69.4	69.1	68.1	1.566	0.03	0.04	0.89
Propionate	19.9 ^a	21.1 ^a	17.7 ^b	20.6 ^a	0.428	0.01	0.01	0.03
Isobutyrate	1.59	1.14	1.34	1.12	0.255	0.38	0.05	0.48
Butyrate	6.75 ^c	6.58 ^c	9.62 ^a	7.83 ^b	0.331	0.01	0.01	0.01
Isobutyrate	1.01	0.86	0.84	0.73	0.125	0.07	0.11	0.79
Valerate	1.63	1.01	1.35	1.09	0.588	0.78	0.23	0.62
Acetate: propionate ratio	3.54	3.29	3.89	3.35	0.107	0.03	0.01	0.08

¹CON, without hydrothermal pretreatment; HP, with hydrothermal pretreatment; IVDMD, *in vitro* dry matter digestibility; IVNDFD, *in vitro* neutral detergent fiber digestibility; Total VFA; total volatile fatty acids; SEM, standard error means.

²F = effect on type of forage; H = effect on hydrothermal pretreatment; F×H = type of forage and hydrothermal pretreatment interaction.

^{a-c}within rows means bearing different superscripts differ at $p \leq 0.05$.

이후부터는 톨페스큐와 옥수수 사일리지간의 가스 발생량이 유의적으로 나타났다($p \leq 0.05$). 특히, 배양 12시간 이후부터 열수 전처리된 옥수수 사일리지에 비해 옥수수 사일리지의 가스 발생량이 유의적으로 높았다($p \leq 0.05$).

반추위에서 사료 분해에 영향을 미치는 인자는 반추위 pH, 입자크기 및 기질 화합물이라고 알려져 있다 [29-31]. 본 연구에서 열수 전처리는 기질의 변화가 있었으며, 이러한 차이는 반추위 분해 속도론에서 나타났다. 특히 옥수수 사일리지에서 반추위 미생물들이 빠르게 이용하지 못하도록 기질의 변화가 있었지만, 전체 분해 가능한 분획, 건물 및 NDF 소화율에는 아무런 영향을 미치지 않았다. 다른 한편으로는 열수 전처리는 소화율에는

영향을 미치지 않으면서, propionate와 같은 반추위 발효특성을 개선시키는 것에 주목할 필요가 있다. 가스 발생량은 *in vitro* 시험 시 사료의 분해율을 간접적으로 평가할 수 있는 지표로 알려져 있으며, 비구조성 탄수화물(곡류사료)에 비해 구조성 탄수화물(조사료)의 분해 시 가스 발생량이 많은 것으로 보고되었다[32-33]. 또한 반추위내 가스 발생량이 증가하면 CO₂와 CH₄ 발생량이 증가하여 사료 에너지 손실이 증가하여 경제적 손실이 증가하게 된다. 따라서 열처리된 옥수수 사일리지의 가스 발생량 감소는 간접적으로 반추위내 사료 발효에 있어서 보다 효율적일 수 있을 것으로 판단된다.

Table 3. Effects of hydrothermal pretreatments on rumen degradation kinetics after 48 h of *in vitro* ruminal fermentation (DM basis)

Item	Tall fescue		Corn silage		SEM	Contrast ²		
	CON	HP ¹	CON	HP		F	H	F×H
A, mL/g	0.08 ^b	0.11 ^b	0.28 ^a	0.01 ^b	0.037	0.09	0.01	0.01
B, mL/g	4.09 ^c	5.19 ^b	5.19 ^b	5.75 ^a	0.205	0.01	0.01	0.05
A+B, mL/g	4.29 ^b	6.13 ^a	5.47 ^a	5.77 ^a	0.248	0.03	0.01	0.01
C, %/h	0.04 ^b	0.02 ^b	0.10 ^a	0.10 ^a	0.007	0.01	0.26	0.01
L, g	1.36 ^b	2.94 ^a	0.10 ^d	0.62 ^c	0.159	0.01	0.01	0.01

¹CON, without hydrothermal pretreatment; HP, with hydrothermal pretreatment; A, the immediately degradable fraction; B, the potentially degradable fraction; A+B, the total degradable fraction; C, the fractional degradation rate; L, the lag phase; SEM, standard error means.

²F = effect on type of forage; H = effect on hydrothermal pretreatment; F×H = type of forage and hydrothermal pretreatment interaction.

^{a-c}Means within a row with different superscripts differ significantly at $p \leq 0.05$.

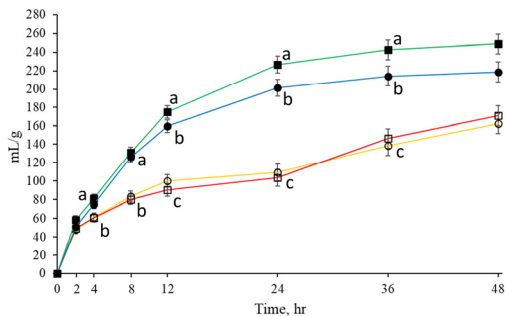


Fig. 1. Effects of hydrothermal pretreatments on *in vitro* gas production during 48 h of incubation. Hydrothermal treated corn silage (●); corn silage (■); Hydrothermal treated tall fescue (○); Tall fescue (□). ^{a-c}Means in the same hour with different superscripts differ significantly ($p \leq 0.05$). The bar indicated standard error.

4. 결론

본 연구는 열수 전처리에 따른 사료의 영양소 함량과 반추위내 발효특성의 변화를 알아보고자 수행되었다. 열수 전처리 후 조사료의 종류에 관계없이 ADF의 함량이 증가하였다. 특히, 옥수수 사일리지에서 propionate의 함량의 증가하였다. 반추위내 사료 분해율에는 어느정도 영향이 있었지만, 48시간 후 건물과 NDF 소화율에는 조사료의 종류에 관계없이 아무런 변화가 없었다. 열수 전

처리된 옥수수 사일리지에서 12시간 배양 이후에는 가스 발생량이 유의적으로 낮았다. 여기서 주목할만한 점은 옥수수 사일리지에서 반추위내 건물과 NDF소화율에는 변화가 없으나, propionate 함량과 가스 발생량의 감소에 있다. 이는 동일한 사료를 급여함에도 propionate라는 에너지를 더 공급받을 수 있다는 것이다. 따라서 열수 전처리된 옥수수 사일리지를 이용할 시 반추동물에게 유리할 것으로 판단된다.

본 연구의 한계는 열수 전처리 후 가용성 물질의 정확한 양을 측정하지 못한 것과 발생한 가스에 있어서 성분을 분석하지 않았다는 점이다. 추후 연구는 이러한 점을 보완한 가용성 물질 측정과 발생한 가스 성분을 분석해야 할 것이며, 열수 전처리의 효과를 극대화하기 위한 조건 설정도 필요할 것으로 판단된다.

References

- [1] Y. Qiang, X. Zhuang, W. Wang, W. Qi, Q. Wang, X. Tan, X. Kong, Z. Yuan, "Hemicellulose and lignin removal to improve the enzymatic digestibility and ethanol production" *Biomass and Bioenergy*, Vol.94, pp.105-109, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2016.08.005>
- [2] S. J. Krizsan, S. Ahvenjärvi, P. Huhtanen, "A meta-analysis of passage rate estimated by rumen evacuation with cattle and evaluation of passage rate prediction models" *Journal of dairy science*, Vol.93, No.12, pp.5890-5901, 2010. DOI: <https://doi.org/10.3168/jds.2010-3457>
- [3] A. T. Adesogan, K. G. Arriola, Y. Jiang, A. Oyeade, E. M. Paula, A. A. Pech-Cervantes, J. J. Romero, L. F. Ferraretto, D. Vyas, "Symposium review: Technologies for improving fiber utilization." *Journal of dairy science*, Vol.102, No.6, pp.5726-5755, 2019. DOI: <https://doi.org/10.3168/jds.2018-15334>
- [4] S. Zhao, G. Li, N. Zheng, J. Wang, Z. Yu, "Steam explosion enhances digestibility and fermentation of corn stover by facilitating ruminal microbial colonization", *Bioresource technology*, Vol.253, pp.244-251, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.01.024>
- [5] M. Li, X. Meng, M. Studer, C. E. Wyman, A. J. Ragauskas, Y. Pu, "The effect of liquid hot water pretreatment on the chemical-structural alteration and the reduced recalcitrance in poplar", *Biotechnology for biofuels*, Vol.10, No.1, pp. 1-13, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1186/s13068-017-0926-6>
- [6] M. E. Gonzalez, D. M. Barrett, "Thermal, high pressure, and electric field processing effects on plant cell

- membrane integrity and relevance to fruit and vegetable quality", *Journal of Food Science*, Vol.75, No.7, pp.R121-R130, 2010.
DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2010.01763.x>
- [7] A. De. Roeck, D. N. Sila, T. Duvetter, A. V. Loey, M. Hendrickx, "Effect of high pressure/high temperature processing on cell wall pectic substances in relation to firmness of carrot tissue", *Food Chemistry*, Vol.107, No.3, pp.1225-1235, 2008.
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.09.076>
- [8] J. Cohen, "Statistical power analysis for the behavioral sciences New York", NY Academic. 1988.
- [9] S. T. Bate, R. A. Clark, "The design and statistical analysis of animal experiments", Cambridge University Press. 2014.
DOI: <https://doi.org/10.1093/ilar/ilu046>
- [10] X. M. Zhang, M. Wang, Q. Yu, Z. Y. Ma, K. A. Beauchemin, R. Wang, J. N. Wen, B. A. Lukuyu, and L. Tan, "Liquid hot water treatment of rice straw enhances anaerobic degradation and inhibits methane production during in vitro ruminal fermentation", *Journal of dairy science*, Vol.103, No.5, pp.4252-4261, 2020.
DOI: <https://doi.org/10.3168/jds.2019-16904>
- [11] A. T. Adesogan, "Improving forage quality and animal performance with fibrolytic enzymes", Florida ruminant nutrition symposium. 2005.
DOI: <https://doi.org/10.3168/jds.2018-15334>
- [12] AOAC, Official methods of analysis (15th ed.), VA: Association of Official Analytical Chemists, 1990.
- [13] P. J. Van Soest, J. B. Robertson, B. A. Lewis, "Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition", *Journal of dairy science*, Vol.74, No.10, pp.3583-3597, 1991.
DOI: [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(91\)78551-2](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(91)78551-2)
- [14] P. J. Van Soest, J. B. Robertson, "Chemical and physical properties of dietary fibre", *Dietary Fibre: Proceedings of the Miles Symposium*. 1976.
- [15] A. L. Chaney, E. P. Marbach, "Modified reagents for determination of urea and ammonia", *Clinical chemistry*, Vol.8, No.2, pp.130-132, 1962.
DOI: <https://doi.org/10.1093/clinchem/8.2.130>
- [16] A. T. Adesogan, N. Krueger, M. B. Salawu, D. B. Dean, C. R. Staples, "The influence of treatment with dual purpose bacterial inoculants or soluble carbohydrates on the fermentation and aerobic stability of bermudagrass", *Journal of dairy science*, Vol.87, No.10, pp.3407-3416 2004.
DOI: [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(04\)73476-1](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(04)73476-1)
- [17] I. McDonald, "A revised model for the estimation of protein degradability in the rumen", *The Journal of Agricultural Science*, Vol.96, No.1, pp.251-252, 1981.
DOI: <https://doi.org/10.1017/S0021859600032081>
- [18] SAS Institute Inc., SAS/STAT user's guide: Version 9. SAS Institute Inc., Cary, NC, 2002.
- [19] D. V. Rangnekar, V. C. Badve, S. T. Kharat, B. N. Sobale, A. L. Joshi, "Effect of high-pressure steam treatment on chemical composition and digestibility in vitro of roughages", *Animal Feed Science and Technology*, Vol.7, No.1, pp.61-70, 1982.
- [20] J. X. Liu, E. R. Orskov, X. B. Chen, "Optimization of steam treatment as a method for upgrading rice straw as feeds", *Animal feed science and technology*, Vol.76, No.3-4, pp.345-357, 1999.
DOI: [https://doi.org/10.1016/S0377-8401\(98\)00196-5](https://doi.org/10.1016/S0377-8401(98)00196-5)
- [21] L. R. Howard, L. E. Griffin, Y. Lee, "Steam treatment of minimally processed carrot sticks to control surface discoloration", *Journal of Food Science*, Vol.59, No.2, pp.356-358, 1994.
DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1994.tb06965.x>
- [22] K. M. Llano, A. S. Haedo, L. N. Gerschenson, A. M. Rojas, "Mechanical and biochemical response of kiwifruit tissue to steam blanching", *Food Research International*, Vol.36, No.8, pp.767-775, 2003.
DOI: [https://doi.org/10.1016/S0963-9969\(03\)00071-1](https://doi.org/10.1016/S0963-9969(03)00071-1)
- [23] X. Chen, H. Li, S. Sun, X. Cao, R. Sun, "Effect of hydrothermal pretreatment on the structural changes of alkaline ethanol lignin from wheat straw", *Scientific Reports*, Vol.6, pp.39354, 2016.
DOI: <https://doi.org/10.1038/srep39354>
- [24] A. Sikora, F. Kačík, M. Gaff, V. Vondrová, T. Bubeníková, I. Kubovský, "Impact of thermal modification on color and chemical changes of spruce and oak wood" *Journal of Wood Science*, Vol.64, No.4, pp.406-416, 2018.
DOI: <https://doi.org/10.1007/s10086-018-1721-0>
- [25] G. A. Broderick, J. H. Yang, R. G. Koegel, "Effect of steam heating alfalfa hay on utilization by lactating dairy cows", *Journal of dairy science*, Vol.76, No.1, pp.165-174, 1993.
DOI: [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(93\)77335-X](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(93)77335-X)
- [26] D. I. Demeyer, "Rumen microbes and digestion of plant cell walls", *Agriculture and Environment*, Vol.6, No.2-3, pp.295-337, 1981.
- [27] E. R. Ørskov, C. Fraser, J. G. Gordon, "Effect of processing of cereals on rumen fermentation, digestibility, rumination time, and firmness of subcutaneous fat in lambs" *British Journal of Nutrition*, Vol.32, No.1, pp.59-69, 1974.
DOI: <https://doi.org/10.1079/BJN19740058>
- [28] S. K. Chikagwa-Malunga, A. T. Adesogan, N. J. Szabo, R. C. Littell, S. C. Phatak, S. C. Kim, K. G. Arriola, C. M. Huisden, D. B. Dean, N. A. Krueger, "Nutritional characterization of Mucuna pruriens: 3. Effect of replacing soybean meal with Mucuna on intake, digestibility, N balance and microbial protein synthesis in sheep" *Animal Feed Science and Technology*, Vol.148, No.2-4, pp.107-123, 2009.
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.anifeeds.2008.03.006>

- [29] P. N. Hobson, C. S. Stewart, "The rumen microbial ecosystem", Springer Science & Business Media, 2012.
DOI: <https://doi.org/10.1079/BJN19740058>
- [30] W. H. Hoover, "Chemical factors involved in ruminal fiber digestion", Journal of Dairy Science, Vol.69, No.10, pp.2755-2766, 1986.
DOI: [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(86\)80724-X](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(86)80724-X)
- [31] C. S. Stewart, "Factors affecting the cellulolytic activity of rumen contents", Applied and Environmental Microbiology, Vol.33, No.3, pp.497-502, 1977.
DOI: <https://doi.org/10.1128/AEM.33.3.497-502.1977>
- [32] J. W. M. Beuving, S. F. Spoelstra, R. J. Hogendorp. "An automated method for measuring time-course of gas production of feedstuffs incubated with buffered rumen fluid" NJAS wageningen journal of life sciences, Vol.40, No.4, pp.401-407, 1992.
DOI: [https://doi.org/10.1016/S0377-8401\(99\)00138-8](https://doi.org/10.1016/S0377-8401(99)00138-8)
- [33] M. K. Theodorou, B. A. Williams, M. S. Dhanoa, A. B. McAllan, J. France, "A simple gas production method using a pressure transducer to determine the fermentation kinetics of ruminant feeds", Animal feed science and technology, Vol.48, No.3-4, pp.185-197, 1994.
DOI: [https://doi.org/10.1016/0377-8401\(94\)90171-6](https://doi.org/10.1016/0377-8401(94)90171-6)

김 동 현(Dong Hyeon Kim) [정회원]



- 2013년 2월 : 경상대학교 응용생명과학부 응용생명과학전공 (이학석사)
- 2014년 12월 ~ 2016년 2월 : University of Florida 방문연구원

- 2016년 2월 : 경상대학교 응용생명과학부 응용생명과학전공 (이학박사)
- 2016년 2월 ~ 2019년 2월 : University of Florida 박사 후 연구원
- 2019년 2월 ~ 현재 : 농촌진흥청 국립축산과학원 낙농과 박사 후 연구원

<관심분야>
반추동물영양, 조사료

손 준 규(Jun Kyu Son) [정회원]



- 2004년 2월 : 강원대학교 축산학과(이학석사)
- 2008년 2월 : 강원대학교 축산학과(농학박사)
- 2008년 2월 ~ 2009년 1월 : 국립축산과학원 박사후연구원
- 2009년 2월 ~ 현재 : 농촌진흥청 국립축산과학원 농업연구사

<관심분야>
가축번식·생리

이 지 환(Ji Hwan Lee) [정회원]



- 2015년 2월 : 충남대학교 동물바이오시스템과학과 (농학사)
- 2015년 3월 ~ 2018년 8월 : 충남대학교 동물자원과학부 낙농식품 및 생명과학전공 (농학석사)
- 2019년 3월 ~ 현재 : 충남대학교 동물자원과학부 낙농식품 및 생명과학전공 (박사과정)

- 2017년 10월 ~ 현재 : 농촌진흥청 국립축산과학원 농업연구사

<관심분야>
대동물 산과학, 유전체학

김 상 범(Sang Bum Kim) [정회원]



- 1998년 8월 : 경상대학교 일반대학원 낙농학과 유가공학전공 (농학석사)
- 2003년 2월 : 경상대학교 일반대학원 낙농학과 유가공학전공 (농학박사)
- 2006년 8월 ~ 2018년 6월 : 국립축산과학원 농업연구사

- 2018년 7월 ~ 현재 : 농촌진흥청 농업연구관

<관심분야>
반추동물영양, 유가공학

박 범 영(Beom Young Park)

[정회원]



- 1992년 2월 : 경상대학교 농과대 축산학과 (농학석사)
- 1997년 2월 : 경상대학교 농과대 축산학과 (농학박사)
- 1994년 7월 : 축산시험장 축산연구사
- 2006년 8월 : 축산연구소 농업연구관
- 2012년 2월 ~ 2018년 1월 : 국립축산과학원 축산물이용과장, 낙농과장
- 2018년 1월 ~2019년 10월 : 축산자원개발부장, 축산생명환경부장
- 2019년 11월 ~ 현재 : **신농업기후대응사업단 기상재해대응기술연구단장**

<관심분야>

축산식품, 미생물, 축산학

김 두 산(Doo San Kim)

[준회원]



- 2020년 2월 : 강원대학교 동물응용과학부 동물생명공학전공 (농학사)
- 2020년 3월 ~ 현재 : 농촌진흥청 국립축산과학원 낙농과 산학연과정

<관심분야>

가축번식·생리

장 길 원(Gul Won Jang)

[정회원]



- 2003년 1월 : 농촌진흥청 국립축산과학원 농업연구사
- 2003년 8월 : 건국대학교 축산대학 낙농학과(농학박사)
- 2016년 11월 : 농촌진흥청 국립축산과학원 농업연구관
- 2020년 6월 ~ 현재 : 농촌진흥청 국립축산과학원 낙농과

<관심분야>

동물유전육종, 미생물유전체

임 현 주(Hyun Joo Lim)

[정회원]



- 2011년 2월 : 서울대학교 일반대학원 농생명공학부 (이학석사)
- 2006년 8월 ~ 현재 : 농촌진흥청 국립축산과학원 농업연구사

<관심분야>

가축번식·생리

허 태 영(Tai Young Hur)

[정회원]



- 2005년 8월 : 충남대학교 수의과대학 (수의학박사)
- 2013년 9월 ~ 2015년 9월 : 국제축산연구소 상주연구원
- 1993년 11월 ~ 현재 : 농촌진흥청 국립축산과학원 낙농과 수의연구관

<관심분야>

수의임상, 집단 건강관리

김 언 태(Eun Tae Kim)

[정회원]



- 2007년 2월 : 서울대학교 농생명공학부 (농학석사)
- 2012년 8월 : 경상대학교 응용생명과학과 (이학박사)
- 2019년 2월 ~ 현재 : 국립축산과학원 농업연구사

<관심분야>

반추동물영양, 미생물 발효대사