

사료의 발효가 영양 성분 및 반추위 *in vitro* 발효에 미치는 영향

이슬*, 백열창, 방한태
국립축산과학원 동물영양생리과

Effect of Feed Fermentation on the Nutrient Composition and *in vitro* Ruminant Fermentation

Seul Lee*, Youlchang Baek, Han-Tae Bang
Animal Nutrition and Physiology Division, National Institute of Animal Science

요약 발효사료는 인공적인 제조 과정을 통해 미생물 발효한 사료를 의미하며 영양소, 소화율, 기호성, 안전성 측면에서 우수하다. 발효사료의 효능은 제조 조건 및 급여 환경에 따라 변이가 있어, 본 연구에서는 사료의 발효에 따라 영양 성분의 변화와 반추위 이용성을 평가하여 발효사료의 우수성을 검증하는 것을 목적으로 하였다. 본 시험은 발효에 따른 영양 성분 변화와 반추위 발효 성상 변화를 분석하였고, 2 (발효 유무) × 2 (조사료 첨가 유무)의 요인설계를 실시하였다. 동결 건조된 박테리아 혼합물(*Bacillus subtilis*, *Enterococcus faecium*, *Saccharomyces cerevisiae*)과 한우용 배합사료를 이용하여 발효사료를 제조하였고, 반추위 *in vitro* 배양 시험을 통해 39 °C에서 24시간 배양하였다. 화학 성분 분석 결과, 발효사료의 crude protein (CP)은 2.6%p 증가하고, non-fiber carbohydrate (NFC)는 5.1%p 감소하였다. *In vitro* 배양 결과 조사료 첨가 여부에 관계없이 발효사료 처리구의 건물 소화율이 유의적으로 증가하였고($p < 0.01$), 총 volatile fatty acids (VFA)와 암모니아태 질소 함량은 유의적으로 감소하였으며($p < 0.01$) 소화된 건물 당 메탄 발생량이 감소하는 경향을 보였다($p = 0.07$). 따라서 발효사료를 한우에 급여할 시 CP가 증진되어 영양적인 측면에서 우수하고, 반추위 분해율이 증가하여 가축의 영양소 이용성을 높일 것으로 판단된다.

Abstract Fermented feed refers to feed fermented by microorganisms through an artificial manufacturing process and is excellent in nutrients, digestibility, palatability, and safety. Since the efficacy of the feed varies and depends on manufacturing conditions and the feeding environment, this study was undertaken to verify the superiority of fermented feed by evaluating the changes in nutrient composition and ruminal degradability. Changes in the nutrient composition and *in vitro* ruminal degradability were evaluated using a 2 (non-fermented; fermented) × 2 (concentrate 100%; concentrate 50%, forage 50%) factor design. Fermented feed was prepared using a mixture of freeze-dried bacteria (*Bacillus subtilis*, *Enterococcus faecium*, *Saccharomyces cerevisiae*) and mixed feed for Korean cattle, and subjected to *in vitro* ruminal incubation culture for 24 hours at 39°C. The chemical composition analysis revealed that the crude protein (CP) of fermented feed increased by 2.6%p and non-fiber carbohydrate (NFC) decreased by 5.1%p. *In vitro* incubation resulted in the fermented feed showing relatively high dry matter digestibility ($p < 0.01$), and low total volatile fatty acids (VFA) and ammonia nitrogen content ($p < 0.01$). Moreover, the amount of methane generated per digested dry matter ($p = 0.07$) showed a decreasing tendency. In conclusion, we believe that fermented feed is advantageous in nutrition and rumen digestibility, which could increase the nutrient availability for Hanwoo cattle.

Keywords : Fermented Feed, Hanwoo, *Bacillus subtilis*, *Enterococcus faecium*, *Saccharomyces cerevisiae*

본 논문은 농촌진흥청 연구과제(세부과제명: 반추가축용 발효사료 제조 기술 확립 및 효과 구명, 세부과제번호: PJ015647012022)로 수행되었음.

*Corresponding Author : Seul Lee(National insitute of Animal Science)

email: tabababy@korea.kr

Received August 8, 2022

Revised September 8, 2022

Accepted November 4, 2022

Published November 30, 2022

1. 서론

가축에 급여하는 사료의 효율성을 증진하는 것은 사료 영양 분야에서 주된 관심사이다. 이 중 미생물 급여를 통한 반추동물 사료 효율 증진은 꾸준히 진행되어 왔다. 발효사료는 인공적인 관리 조건 하에서 자연, 또는 인공적으로 배양된 미생물로 발효된 사료를 의미하며, 이 과정에서 사료의 영양소, 소화율, 기호성, 안정성이 변화되어 유익한 기능을 가진다[1].

최근에는 특히 농식품부산물물을 이용하여 배합사료에 미생물을 접종하고 발효시키는 방법이 이용되고 있다[2]. 발효된 사료는 생균제와 같은 역할을 하는데, 그 자체로 유익한 미생물 균총을 지니기 때문이다. 또한 미생물의 작용은 항생제 금지에 따른 대체제로서도 이용 가능하다[3-6].

사료첨가제로 많이 이용되는 미생물로는 *Bacillus subtilis*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Lactobacillus acidophilus*, *L. plantarum*, *Aspergillus oryzae* 등이 있다[7]. 미생물이 반추위 발효 환경에 미치는 영향에 대해 보고된 바에 따르면 *A. oryzae*는 프로토조아의 수를 줄여 메탄을 50%까지 저감하고 *S. cerevisiae*는 *in vitro* 상에서 메탄을 10%가량 저감하는 것으로 알려져 있다[8,9]. 생균제는 비타민 등의 대사산물을 포함한 영양소를 제공하여 반추위 박테리아의 성장을 촉진하고, 수를 증가하는 것으로 보고되었다[10]. 효모는 장내 미생물 합성을 증가시키고 환원성 아세트산 생성을 촉진하여 메탄 배출을 줄이는 것으로 보고되었다[11,12]. 그러나 사료 미생물체의 효능 잠재성은 사료 제조 조건 및 이용하는 가축의 종류, 함께 급여하는 사료 등의 환경에 따른 변이가 존재하여 검증 실험이 필요하다. 특히 반추가축의 경우 조사료와 농후사료를 함께 급여하는데, 이에 대한 조성의 차이가 사료의 소화율에 영향을 미친다.

따라서 이번 연구에서는 반추동물 사료원으로서 발효 사료의 우수성을 평가하는 것을 목적으로 하였다. 본 시험에서는 미생물제를 이용하여 제조한 발효사료가 조사료 첨가 여부에 따라 화학 성분과 한우 반추위 *in vitro* 발효 특성과 메탄 발생량에 미치는 영향에 대해 평가하였다. 동결 건조된 박테리아 혼합물(*Bacillus subtilis*, *Enterococcus faecium*, *Saccharomyces cerevisiae*)을 이용하여 한우용 배합사료를 발효사료로 제조하고 이에 대한 한우의 반추위 이용성을 분석하기 위한 시험관 내 배양 실험을 수행하였다.

2. 재료 및 방법

2.1 실험설계 및 시험사료

본 연구는 발효사료의 조사료 첨가 여부에 따라 한우 반추위 발효 특성과 메탄 발생량에 미치는 영향을 평가하고자 수행되었다. 본 시험은 2(발효 유무) × 2(조사료 첨가 여부)의 요인설계를 통해 실시하였다. 시험 사료는 한우 비육우용 배합사료와 발효사료, 건조(톨페스큐 7:켄터키블루그라스 3)를 이용하였으며, 한우용 배합사료의 영양 성분과 배합비는 각각 Table 1과 Table 2에 제시하였다. 발효사료는 발효기(EO-1500, EO tech, Korea)에 배합사료 400 kg, 물 187 kg, 생균제 1.5 kg를 투입 후 교반하여 37 °C 조건에서 72시간 동안 두어 제조하였다. 생균제(Bio 5050, Nonghyup, Korea)는 동결 건조된 혼합 제제(*Bacillus subtilis* (2.0×10^6 CFU/g), *Enterococcus faecium* (2.0×10^6 CFU/g), *Saccharomyces cerevisiae* (1.0×10^6 CFU/g))를 이용하였다.

시험 사료는 60 °C 건조 오븐에 72 h 건조한 후, 사이클로텍 밀 (cyclotec 1093, Foss, Hillerød, Denmark)에 분쇄하여 이화학 성분 분석과 *in vitro* 반추위 발효를 위하여 각각 1 mm, 2 mm 스크린을 통과한 시료를 활용하였다. 화학성분은 AOAC (2013)에 따라 건물, CP, ether extract (EE), ash 분석을 실시하였고, amylase-treated neutral detergent fiber (aNDF)와 acid detergent

Table 1. Chemical composition of feeds used in *in vitro* experiment ($\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ dry matter, unless otherwise stated)

Item ¹	Concentrate	Fermented concentrate	Forage
DM, $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ as fed	909	626	913
CP	170	196	59
NDICP	35	31	34
ADICP	10	10	17
NFC	525	474	102
aNDF	257	267	793
ADF	93	106	505
EE	40	36	6
Ash	44	58	74
GE, Kcal/g	4.4	4.4	4.4

¹DM, dry matter; CP, crude protein; NDICP, neutral detergent insoluble crude protein; ADICP, acid detergent insoluble crude protein; NFC, non-fiber carbohydrate; aNDF, amylase-treated neutral detergent fiber; ADF, acid detergent fiber; EE, ether extract; GE, gross energy.

fiber (ADF)의 함량은 Georing and Van Soest (1970)의 방법을 응용하여 분석하였다[13]. neutral detergent insoluble crude protein (NDICP)과 acid detergent insoluble crude protein (ADICP)은 Licitra et al. (1996)의 방법으로 측정하였다[14].

Table 2. Ingredients of the concentrate mix used in *in vitro* experiment (as fed, %)

Ingredient	Composition
Corn flake	35.7
Wheat bran	19.6
Corn gluten feed	12.5
Wheat	8.8
Soybean meal	7.8
Palm meal	6.3
Soybean hull	3.7
Lupin flake	3.7
Limestone	0.9
Salt	0.4
Sodium bicarbonate	0.4
Mineral block ¹	0.1

¹2,650,000 IU vitamin (vit) A, 530,000 IU vit D3, 1,050 IU vit E, 10 g Nicotinic acid, 4.4 g Manganases sulfate, 4.4 g Zinc sulfate, 13.2 g Ferrous sulfate and Ferric oxide, 2.2 g Cupric sulfate, 0.44 g Calcium iodate, 0.44 g Cobaltous carbonate per 1 kg.

2.2 사료 내 미생물 균수 분석

사료 내 유의 미생물 정량 분석을 위해서 10 g의 시료와 90 ml의 생리식염수수를 stomacher에 1~2분간 돌린 후 멸균 백(3M)에 여과하여 10진 희석법에 따라 희석한 후 유산균(lactic acid bacteria, LAB)은 MRS agar, 고초균(*Bacillus*)은 LB agar, 효모균(Yeast)은 Potato Dextrose agar의 배지를 이용하여, 유산균은 39 °C 조건에서 배양기에 48시간 동안 혐기 상태에서 배양하고, 고초균 및 효모균은 35 °C 조건에서 배양기에 48시간 동안 호기 배양하였다. 배양 후 colony를 3반복으로 계수하였다.

Table 3. Microbial count of feeds used in *in vitro* experiment (log CFU/g)

Item	Concentrate	Fermented concentrate	Forage
LAB ¹	4.60	9.23	5.97
<i>Bacillus</i>	4.50	4.89	ND ²
Yeast	4.03	8.69	7.79

¹LAB, Lactic acid bacteria.

²ND, not detected

2.3 *In vitro* 반추위 배양

본 연구는 국립축산과학원 동물실험 윤리위원회 승인을 받아 수행되었다(승인번호 NIAS 2021-501). 시험축으로 캐놀라가 장착된 비육 후기 한우 거세우 2두(체중 736 ± 15.5 kg, 61개월령)가 이용되었다. 거세우는 원물 기준으로 1일당 조사료 2 kg(톨페스큐 1.4 kg + 켄터 키플루그라스 0.6 kg)과 농후사료 8 kg를 하루에 두 번(09:00 및 16:00) 나누어 급여하였고, 시험사료의 영양 성분은 Table 1과 같다. 반추위액은 오전사료 급여 전 공시축으로부터 채취하여 4겹의 cheese cloth로 여과하여 사료입자를 제거하고, 즉시 CO₂ gas가 충전된 병에 담아 실험실로 운반하였다.

Goering and Van Soest 방법에 따라 반추위액과 멸균한 buffer를 1 : 4 비율로 혼합한 후 39 °C 로 가열 교반하면서 혐기 상태 유지를 위하여 CO₂ gas를 지속적으로 주입하였다[12]. 시험사료는 cyclotec 1093 meal (FOSS, Hillerød, Denmark)를 이용하여 1 mm 크기로 분쇄하여 이용하였다 (Table 1). 125 mL serum bottle에 기질 0.5 g을 담은 후 배양액 50 mL를 분주하여 39 °C 배양기에서 24시간동안 120 rpm으로 배양하였다. 실험 단위는 각 serum bottle 이었으며, 처리 당 3회 반복으로 수행하였다.

2.4 *In vitro* 발효 성상 분석

24시간 배양 후 디지털 차압계(TPI645, TPI, Korea)와 눈금실린지를 이용하여 배양병 내부 압력이 대기압과 같아지도록 가스를 포집하여 산정하였다. 포집된 가스는 진공 처리된 serum tube (BD Vacutainer 367953, BD, USA)에 옮겨져 GC (gas chromatograph; NL/450 GC, Bruker, USA)로 분석하였다. 가스 포집 후 serum bottle을 개봉하고 휘발성 지방산과 암모니아태 질소 분석을 위해 배양액을 채취하고 15 mL tube에 분주하였고, pH meter (pinnacle pH meter M540, Corning, NY, USA)를 이용하여 산도를 측정하였다. 휘발성 지방산과 암모니아태 질소 분석을 위하여 미생물 활동 정지 목적으로 metaphosphoric acid (Wako, Japan) 용액과 위액을 1:10 비율로 희석하여 분석 전까지 -80 °C에 냉동 보관하였다.

휘발성 지방산 생성량은 Erwin et al. (1961)의 방법을 응용하여 활용하였다. 샘플은 분석 전 4 °C에서 해동한 후, 미량원심분리기 (Cyclo1730MR, Labogene, Korea)를 이용하여 14,000 × g, 4 °C에서 10분간 원심 분리하

였다. 상층액 1 mL를 분리하여 2-ethyl butyrate 100 mL를 첨가한 후 GC (gas chromatograph; 6890N, Agilent Technologies, USA) 분석용 유리병에 옮겨 활용하였다. 휘발성 지방산 표준용액은 volatile fatty acid standard solution (Catalog number. 46975-U; Sigma-Aldrich, St. Louis, USA)을 이용하였다.

암모니아태 질소 분석은 Chaney and Marbach (1962)의 방법을 응용하여 사용하였다. 냉동 보관한 샘플을 상온에서 충분히 용해시킨 후 14,000 × g, 4 °C에서 5분간 원심 분리하여 얻은 상층액을 분석에 활용하였다. 샘플 상층액과 암모니아 표준용액 (25, 50, 100, 200, 400 ppm)과 증류수를 각각의 3개 시험관에 20 µl씩 분주하고, phenol color reagent (Phenol 50 g/L와 sodium nitroferricyanide 0.25 g/L)와 alkali-hypochlorite reagent (sodium hydroxide 25 g/L와 4-6 % sodium hypochlorite 16.8 mL/L)를 각각 1 mL 첨가하여 혼합하였다. 37 °C 항온수조에서 혼합액을 15분간 충분히 발색한 후, 증류수 8 mL를 첨가하고 UV spectrophotometer (Catalog number. 168-1150; Bio-Rad Laboratories, Inc, California, USA)를 이용하여 630 nm에서 흡광도를 측정하였다. 샘플 내 암모니아태 질소 함량은 암모니아 표준용액의 검량선을 기준으로 하여 계산한 값을 활용하였다.

2.5 통계분석

본 연구에서 얻은 모든 결과는 SAS의 PROC GLM (SAS Institute, 2014)를 이용하여 분산분석을 실시하였다[15]. 처리에 의한 평균간 비교는 Tukey's range test를 이용해 분석하였다. 유의성은 $p < 0.05$ 수준으로, 경향성은 $0.05 \leq p < 0.1$ 로 판단하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1 일반성분 분석

발효사료의 CP는 건물 기준 19.6 %로, 배합사료(17.0%)보다 2.6 %p 큰 값을 나타냈다(Table 1). 발효사료의 NDICP와 ADICP는 각각 3.1 %와 1.0 %로, 배합사료의 함량(3.5 %, 1.0%)과 상대적으로 비슷한 수치를 보였다. 발효사료의 aNDF와 ADF는 각각 26.7 %, 10.6 %로, 배합사료의 수치(25.7 %, 9.3 %)와 큰 차이를 보이지 않았다. 반면 발효사료의 NFC는 건물 기준

47.4 %로, 배합사료(52.5 %)보다 5.1 %p 적은 값을 보였다.

Shimelis et al.과 Shi et al.의 연구에 따르면 고체사료의 발효는 가축 급여 전 원료의 영양가치를 증진할 수 있다[16,17]. 고체발효사료는 미생물의 활동에 의해 사료 내 고분자물질이 분해되어 가축의 사료 소화율을 증진시키거나, 사료 내 항영양인자가 독성이 없는 물질로 바뀔 수 있기 때문이다[1].

다수의 선행 연구에서 발효사료의 CP가 증가하는 것이 보고되었는데, 미생물이 사료를 발효하는 과정에서 유기물을 소비하여 단백질의 농축효과가 발생하고, 암모늄염의 효과적인 이용을 통해 미생물체 단백질이 증가하기 때문이다[18-20]. 이는 발효사료에서 CP가 증가한 본 연구의 결과와도 일치한다.

Liao et al.는 *Aspergillus niger*, *Trichoderma*, yeast를 corn straw에 접종하여 6일간 발효 시 CP함량이 10배 증가하고, crude fiber 함량이 36.2 %에서 18.47 %로 감소했다고 보고했다[21]. 본 연구에서는 CP의 함량은 증가했지만 섬유소인 NDF, ADF의 함량에서는 큰 차이를 보이지 않았는데, 선행 연구에서는 섬유소 함량이 높은 corn straw를 사용하였지만, 본 연구에서는 섬유소 함량이 낮은 곡물 사료 위주로 배합된 배합사료를 이용한 차이점에서 다소 상이한 결과가 도출되었다고 판단된다.

반면 발효사료에서 non-starch polysaccharide는 분해되어 함량이 줄어드는데, 미생물의 증식 과정에서 식이섬유가 분해되어 장내 미생물이 더 쉽게 사용할 수 있는 다양한 단당류로 변화하게 된다. 이렇게 생성된 단당류는 프리바이오틱스 및 프로바이오틱스로 작용하여 미생물의 성장에 영양을 공급할 수 있다[1]. 이와 같은 이유로 본 연구 결과에서 발효사료의 NFC가 배합사료 대비 낮은 수치를 나타낸 것은 사료 발효 과정에서 미생물의 성장을 위해 기질로서 이용되었기 때문으로 판단된다.

발효사료의 미생물 군수는 유산균, 효모균에서 각각 9.23, 8.69 log CFU/g으로 배합사료(4.60, 4.03 log CFU/g)보다 비교적 높은 수치로 분석되었다.

3.2 반추위 건물 소화율, 총 가스 및 메탄 발생량

In vitro 배양 24시간 후 발효사료 처리구인 FC는 건물 소화율이 높은 경향이 있는 것으로 나타났다($p = 0.08$, Table 4). FC는 소화된 건물 당 메탄 가스 배출량이 낮은 경향이 있고($p = 0.07$), 암모니아태 질소 함량이 유의적으로 낮게 나타났다($p < 0.01$).

조사료 함량은 반추위 발효 성상 관련된 지표에 영향을 미쳤는데, 조사료가 포함된 처리구인 NC-CF, FC-CF 처리구는 NC-C, FC-C 처리구에 비해 유의적으로 건물 소화율이 낮고($p < 0.01$), pH가 높으며($p < 0.01$), 총 가스 발생량이 적고($p < 0.01$), 메탄 발생량이 적고($p < 0.01$), 암모니아태 질소 함량이 낮게 나타났다($p < 0.01$).

본 실험 결과에서 발효사료 처리구인 FC는 배합사료 처리구인 NC 대비 건물 소화율이 높아지는 경향을 보였는데, 이는 선행 연구의 결과와 일치한다. Kim et al.의 연구에서 발효사료를 시간대별로 *in vitro* 반추위 배양한 결과, 3, 6, 9, 12시간 배양 시 발효사료의 건물 소화율이 생균제를 함유한 대조구보다 유의적으로 높았으나, 24시간 배양에서는 수치는 높았으나 통계적 유의성이 없었으며 48시간 배양 시에는 처리구별로 비슷한 수치를 보였다. 따라서 발효사료의 반추위 분해율은 24시간 이내의 비교적 짧은 시간에서는 높은 수치를 보인다고 판단된다.

건물 소화율, 암모니아태 질소, 가스 발생량 등의 전반적인 반추위 배양 관련 지표들의 결과에서 조사료가 함유된 NC-CF, FC-CF 처리구의 발효가 더딘 것으로 판단되는데, 이는 조사료 함량에 따른 한우 반추위 발효와 관련된 선행 연구의 결과와 일치한다[22-24]. 이는 조사료는 반추위에서 쉽게 분해되는 NFC 함량이 적고, 비교적 소화가 더딘 NDF 함량이 높기 때문이다[25]. 소화된 건물 당 메탄가스 발생량도 NC-CF, FC-CF 처리구에서 낮게 나타났는데, 이는 조사료 함량에 따른 *in vitro* 발효 선행 연구와 일치하는 결과를 보였다[22].

Table 4. Effects of feed fermentation and forage composition on *in vitro* pH, gas production and ammonia nitrogen production after 24 hour incubation

Item ¹	Treatments ²				SEM ³	Contrast ⁴		
	NC		FC			F1	F2	F1×F2
	C	CF	C	CF				
DMD, %	60.1	47.4	64.3	48.3	2.28	0.08	<0.01	0.24
pH	6.1	6.3	6.1	6.3	0.03	0.29	<0.01	0.48
Total gas, mL	63.7	50.2	62.8	46.6	2.55	0.43	<0.01	0.63
CH ₄ , %	6.7	6.6	6.9	6.0	0.14	0.45	0.07	0.12
CH ₄ , mL	4.3	3.3	4.3	2.8	0.22	0.42	<0.01	0.29
CH ₄ /DMD, mL/g	14.2	13.9	13.5	11.5	0.45	0.07	0.18	0.30
NH ₃ -N, mg/dL	33.7	29.6	31.7	28.5	0.61	<0.01	<0.01	0.14

¹DMD, dry matter digestibility; DDM, digested dry matter.

²NC, non-fermented concentrate; FC, fermented concentrate; C, concentrator 100%; CF, concentrate 50%, forage 50%.

³SEM, standard error of means.

⁴F1, effect of fermentation; F2, effect of forage inclusion.

3.3 반추위 휘발성지방산

발효사료 처리와 조사료 함량은 모두 VFA과 acetate, propionate 함량에 유의적인 영향을 미치는 것으로 나타났다($p < 0.01$).

발효사료 처리구인 FC에서 총 VFA과 acetate, propionate의 함량이 유의적으로 낮게 나타났으며($p < 0.01$), A/P 비율은 높은 경향성을 보였다($p = 0.02$). 조사료가 포함된 NC-CF, FC-CF 처리구에서도 VFA과 acetate, propionate, butyrate, valerate 및 A/P 비율에 해당하는 모든 항목이 낮게 나타났다($p < 0.01$).

발효사료 처리구(FC)에서 낮은 VFA와 암모니아태질소, 높은 건물 소화율이 나타난 것은 사료의 발효 과정에서 미생물의 증식으로 인해 생긴 화학성분 변화에서 기인한 것으로 판단된다. 발효사료의 CP 함량이 배합사료 대비 2.6%p 높아졌음에도 불구하고 반추위에서 비교적 소화가 느린 NDICP는 0.4%p 감소하였는데, 이와 같이 기존에는 반추위 분해율이 낮았던 영양 성분이 사료의 발효 과정에서 미리 분해되어 발효사료의 높은 건물 분해율을 도출한 것으로 사료된다. 선행 연구에서 발효 과정에서 사료 영양소가 동물이 소화 흡수하기 유리한 형태로 변형된다고 하였는데, 이 연구 결과에서도 높은 반추위 분해율로 보건대 발효사료가 한우 반추위에서도 영양적인 측면으로 유리한 작용을 하는 것으로 판단된다 [16,17].

Table 5. Effects of feed fermentation and forage composition on *in vitro* volatile fatty acid production after 24 hour incubation

Item ¹	Treatments ²				SEM ³	Contrast ⁴		
	NC		FC			F1	F2	F1×F2
	C	CF	C	CF				
Total VFAs, mM	120.7	97.0	111.4	84.5	4.28	<0.01	<0.01	0.51
Acetate, %	66.4	57.3	60.9	51.0	1.78	<0.01	<0.01	0.76
Propionate, %	33.1	22.4	29.6	19.1	1.69	<0.01	<0.01	0.89
Butyrate, %	13.6 ^a	10.6 ^b	13.7 ^a	8.6 ^c	0.67	0.04	<0.01	0.02
Valerate, %	2.7	2.3	2.6	2.1	0.09	0.05	<0.01	0.26
A/P ratio	2.0	2.6	2.1	2.7	0.09	0.02	<0.01	0.29

¹VFA, volatile fatty acids; A/P ratio, acetate-to-propionate ratio.

²NC, non-fermented concentrate; FC, fermented concentrate; C, concentrator 100%; CF, concentrate 50%, forage 50%.

³SEM, standard error of means.

⁴F1, effect of fermentation; F2, effect of forage inclusion.

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

4. 결론

본 연구에서는 미생물제를 이용하여 배양한 발효사료의 화학 성분 변화와 조사료 첨가 여부에 따른 반추위 발효 특성 변화를 분석하였다. 발효 과정에서 사료 내 미생물의 대사와 생장에 따라 배합사료의 NFC는 5.1%p 감소하고, CP는 2.6%p 증가하였다. 반추위 *in vitro* 배양 결과 발효사료는 반추위 건물 소화율이 높은 경향이 있고, 소화된 건물 당 메탄 가스 배출량이 낮은 경향이 있었으며, 암모니아태 질소와 총 휘발성지방산함량이 유의적으로 낮게 나타났다. 또한 조사료 함량은 반추위 건물 소화율, pH, 총 가스 발생량, 메탄 발생량, 암모니아태 질소 함량 및 휘발성지방산 등 대부분의 지표에 유의적인 영향을 미쳤으며, 조사료 첨가에 따라 반추위 발효가 더딘 것으로 판단된다. 따라서 발효사료를 한우에 급여할 시 반추위에서 이용성을 높일 수 있을 것으로 사료된다. 추후 발효사료의 영양적인 가치를 동물 실험을 통해 검증하기 위한 연구가 필요할 것으로 판단된다.

References

- [1] L. Yang, X. Zeng, S. Qiao, "Advances in research on solid-state fermented feed and its utilization: The pioneer of private customization for intestinal microorganisms", *Animal Nutrition*, Vol.7, No.4, pp.905-916, 2021.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.aninu.2021.06.002>
- [2] S. B. Cho, D.W. Kim, S.H. Yang, K.H. Park, D.Y. Choi, Y.H. Yoo, "Establishment of producing conditions of fermentation feed for swine", *Journal of Animal Environmental Science*, Vol.18, No.3, pp.137-44, 2012.
- [3] A. T. Niba, J. D. Beal, A. C. Kudi, P. H. Brooks, "Bacterial fermentation in the gastrointestinal tract of non-ruminants: influence of fermented feeds and fermentable carbohydrates", *Tropical Animal Health and Production*, Vol.41, No.7, pp.1393-1407, 2009.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s11250-009-9327-6>
- [4] N. Blagojev, M. Škrinjar, S. Vesković-Moračanin, Šoško V, "Control of mould growth and mycotoxin production by lactic acid bacteria metabolites", *Romanian Biotechnological Letters*, Vol.17, No.3, pp.7219-7226, 2012.
- [5] E. Y. Lee, J. S. Lim, "Effective feeding methods for the reduction of malodor and an increase in productivity in livestock", *Korean Journal of Microbiology Biotechnology*, Vol.39, No.3, pp.200-209, 2012.
- [6] M. Wanapat, S. Kang, S. Polyorach, "Development of feeding systems and strategies of supplementation to enhance rumen fermentation and ruminant production in the tropics", *Journal of Animal Science and Biotechnology*, Vol.4, No.1, pp.1-11, 2013.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1186/2049-1891-4-32>
- [7] Y. J. Choi, S. S. Lee, "Survey and Microbiological Quality Control of Commercial Probiotics for Livestock in South Korea", *Journal of Agriculture and Life Science*, Vol.53, No.6, pp.75-86, 2019.
DOI: <https://doi.org/10.14397/jals.2019.53.6.75>
- [8] P. P. Frumholtz, C. J. Newbold, R. J. Wallace, "Influence of *Aspergillus oryzae* fermentation extract on the fermentation of a basal ration in the rumen simulation technique (Rusitec)", *The Journal of Agricultural Science*, Vol.113, No.2, pp.169-172, 1989.
DOI: <https://doi.org/10.1017/S002185960008672X>
- [9] T. Mutsvangwa, I. E. Edwards, J. H. Topps, G. F. M. Paterson, "The effects of dietary inclusion of yeast culture (Yea-Sacc) on patterns of rumen fermentation, food intake and growth of intensive fed bulls", *Animal Science*, Vol.55, No.1, pp.35-40, 1992.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1017/S0003356100037247>
- [10] C. J. Newbold, R. J. Wallace, F. M. McIntosh, "Mode of action of the yeast *Saccharomyces cerevisiae* as a feed additive for ruminants", *British Journal of Nutrition*, Vol.76, No.2, pp.249-261, 1996.
DOI: <http://doi.org/10.1079/BJN19960029>
- [11] C. J. Newbold, L. M. Rode, "Dietary additives to control methanogenesis in the rumen", *International congress series*, Vol.1293, pp.138-147, 2006.
DOI: <http://doi.org/10.1016/j.ics.2006.03.047>
- [12] F. Chaucheyras, G. Fonty, G. Bertin, P. Gouet, "In vitro H₂ utilization by a ruminal acetogenic bacterium cultivated alone or in association with an archaea methanogen is stimulated by a probiotic strain of *Saccharomyces cerevisiae*", *Applied and Environmental Microbiology*, Vol.61, No.9, pp.3466-3467, 1995.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1128/aem.61.9.3466-3467.1995>
- [13] H. K. Goering, P. J. Van Soest, "Forage fiber analyses: apparatus, reagents, procedures, and some applications", US Agricultural Research Service, No.379, 1970.
- [14] G. Licitra, T. M. Hernandez, P. J. Van Soest, "Standardization of procedures for nitrogen fractionation of ruminant feeds", *Animal Feed Science and Technology*, Vol.57, No.4, pp.347-358, 1996.
DOI: [http://dx.doi.org/10.1016/0377-8401\(95\)00837-3](http://dx.doi.org/10.1016/0377-8401(95)00837-3)
- [15] SAS Institute Inc., SAS/STAT user's guide: Version 9.3. SAS Institute Inc., Cary, NC, 2012.
- [16] E. A. Shimelis, S. K. Rakshit, "Influence of natural and controlled fermentations on agalactosides, antinutrients and protein digestibility of beans (*Phaseolus vulgaris* L.)", *International journal of food science and technology*, Vol.43, No.4, pp.658-665, 2008.
DOI: <https://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2621.2006.01506.x>

[17] C. Shi, Y. Zhang, Y. Yin, C. Wang, Y. Wang, "Amino acid and phosphorus digestibility of fermented corn-soybean meal mixed feed with *Bacillus subtilis* and *Enterococcus faecium* fed to pigs", *Journal of Animal Science*, Vol.95, No.9, pp.3996-4004, 2017. DOI: <http://dx.doi.org/10.2527/jas.2017.1516>

[18] Z. Chen, A. Zhou, Z. Wang, D. Liu, D. Peng, "Evaluation of nutritional quality of soybean meals fermented by *Aspergillus oryzae*", *Chinese Journal of Animal Science*, Vol.47, No.9, pp.40-44, 2011.

[19] A. Rombenso, C. Crouse, J. Trushenski, "Comparison of traditional and fermented soybean meals as alternatives to fish meal in hybrid striped bass feeds", *North American Journal of Aquaculture*, Vol.75, No.2, pp.197-204, 2013. DOI: <http://dx.doi.org/10.1080/15222055.2012.756440>

[20] M. S. Hassaan, M. A. Soltan, A. M. Abdel-Moez, "Nutritive value of soybean meal after solid state fermentation with *Saccharomyces cerevisiae* for Nile tilapia. *Oreochromis niloticus*", *Animal Feed Science and Technology*, Vol.201, pp.89-98, 2015. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2015.01.007>

[21] X. Y. Liao, Q. Dai, H. Z. Yu, "Study on the production of protein feed by mixed fermentation of multi strains", *China Feed*, Vol.16, pp.8-10, 2009.

[22] S. Lee, B. Kim, C. Ryu, J. Jeong, B. Kim, Y. Baek, "Analysis of Rumen Fermentation and Methanogen Levels in Response to Various Alfalfa Hay, Oat Hay, and Feed Concentrate Ratios", *Journal of the Korean Society of Grassland and Forage Science*, Vol.40, No.4, pp.279-284, 2020. DOI: <https://doi.org/10.5333/KGFS.2020.40.4.279>

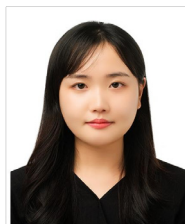
[23] J. D. Sutton, M. S. Dhanoa, S. V. Morant, J. France, D.J. Napper, E. Schuller, "Rates of production of acetate, propionate, and butyrate in the rumen of lactating dairy cows given normal and low-roughage diets", *Journal of dairy science*, Vol.86, No.11, pp.3620-3633, 2003. DOI: [http://dx.doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(03\)73968-X](http://dx.doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(03)73968-X)

[24] G. B. Penner, M. Taniguchi, L.L. Guan, K.A. Beauchemin, M. Oba, "Effect of dietary forage to concentrate ratio on volatile fatty acid absorption and the expression of genes related to volatile fatty acid absorption and metabolism in ruminal tissue", *Journal of Dairy Science*, Vol.92, No.6, pp.2767-2781, 2009. DOI: <http://dx.doi.org/10.3168/jds.2008-1716>

[25] M. B. Hall, "Challenges with nonfiber carbohydrate methods", *Journal of Animal Science*, Vol.81, No.12, pp.3226-3232, 2003.

이 슬(Seul Lee)

[정회원]



- 2017년 2월 : 건국대학교 동물자원학과 (농학사)
- 2020년 2월 : 충남대학교 낙농학과 (농학석사)
- 2016년 10월 ~ 현재 : 국립축산과학원 농업연구사

<관심분야>

동물영양, 반추동물

백 열 창(Youlchang Baek)

[정회원]



- 2010년 2월 : 충남대학교 낙농학과 (농학사)
- 2014년 6월 : 충남대학교 낙농학과 (농학석사)
- 2010년 4월 ~ 현재 : 국립축산과학원 농업연구사

<관심분야>

사료가치평가, 반추동물

방 한 태(Han-Tae Bang)

[정회원]



- 2006년 2월 : 전북대학교 동물자원학과 (농학사)
- 2010년 2월 : 경상대학교 축산학과 (농학석사)
- 2007년 8월 ~ 2019년 5월 : 농촌진흥청 국립축산과학원 농업연구사
- 2019년 6월 ~ 현재 : 농촌진흥청 국립축산과학원 농업연구관

<관심분야>

축산, 동물사양, 동물영양