섬유소 분해균을 이용한 건조 청보리 발효사료가 돼지의 *In vitro* 발효 특성에 미치는 영향

박도연 · 박중국 · 조성백¹ · 김창현

Effects of Dried Whole Crop Barley Treated with Cellulolytic Microorganisms on *In Vitro* Fermentation Characteristics in Swine

Do Yeun Park, Joong Kook Park, Sung Back Cho¹ and Chang-Hyun Kim

ABSTRACT

The experiment was conducted to observe the effects of dried whole crop barley treated with cellulolytic microorganisms (*Aspergillus niger* KCCM 60357 and *Bacillus licheniformis* KCCM 40934) on the chemical composition, *in vitro* colonic fermentation and whole tract digestibility in swine. Whole crop barley were fermented with no microorganism addition (control), *A. niger*, *B. licheniformis* and co-culture of *A. niger* and *B. licheniformis* (Mixture) for 3 days at 30°C. In the feed chemical composition, CP contents of whole crop barley treated with *A. niger* (7.52%) and *B. licheniformis* (7.77%) were significantly higher than control (6.81%) ($p<0.05$). The *in vitro* colonic fermentation of dried whole crop barley fermented with control showed significantly higher CH₄ contents than *A. niger*, *B. licheniformis* and Mixture at 18h incubation ($p<0.05$). Dry matter (DM) digestibilities of *A. niger* (55%) and Mixture (57.42%) treatments were significantly higher than control (43.74%) ($p<0.05$). Ammonia-N was significantly increased in *A. niger*, *B. licheniformis* and Mixture relative to control at 24 hour incubation ($p<0.05$). Xylanase activities in *A. niger*, *B. licheniformis* and Mixture treatments were significantly higher than control at 24 hour incubation ($p<0.05$). Concentrations of total VFA were significantly increased in *B. licheniformis* (12.61 mM) at 24hour incubation ($p<0.05$). *In vitro* whole tract digestibility was significantly increased in *B. licheniformis* (49.61%) compared with the control (45.65%) ($p<0.05$). In conclusion, whole crop barley treated with cellulolytic microorganisms improved whole tract digestibility and colonic fermentation for swine.

(Key words : Cellulolytic microorganisms, Swine, *Aspergillus niger*, *Bacillus licheniformis*, Fermented feed)

I. 서 론

국내 양돈 산업의 생산 비용 중 사료비용이 차지하는 비중은 전체의 약 60~70% 이다. 특히 돼지는 주로 배합사료에 의하여 사육이 이루어지는데, 연간 5,169천 톤에 달하는 양돈용 배합사료의 대부분을 수입에 의존하고 있는 실정이다(신 등, 2007). 최근 사료 원료가격이 상

승함에 따라 농가의 사료비 부담이 더욱 늘어나고 있으며, 많은 농가에서 조사료 혹은 식품·농업부산물을 사료로 이용하고자 하는 움직임이 활발해지고 있다(한 등, 1967; 송 및 하, 2007; Wilfart 등, 2007). 하지만 이러한 조사료 및 부산물은 고섬유성 사료로서 돼지에 급여 시 사료 이용성이 감소 될 뿐만 아니라 과도한 부피 때문에 기호성이 떨어지게 되므로

한경대학교 (School of Animal Life and Environment Science, Hankyong National University, Anseong 456-749, Korea)

¹ 농촌진흥청 국립축산과학원 (National Institute of Animal Science, RDA, Cheonan 331-808, Korea)

Corresponding author: Chang-Hyun Kim, School of Animal Life and Environment Science, Hankyong National University, Anseong, 456-749, Korea; Tel: +82-31-670-5095, Fax: +82-31-676-5091, E-mail: kimch@hknu.ac.kr

(농림부, 2007), 이에 대한 개선방안이 필요하다. 과거 다양한 섬유질 사료의 이용성에 관한 연구들이 진행되었으며 (Stahly 및 Cromwell, 1986; Schoenherr 등, 1989), 국내 양돈 산업에 적용할 경우 이용효율이 낮은 각종 조사료 및 부산물 등과 같은 부존자원을 활용 할 것으로 기대된다. Cellulose나 hemicellulose와 같이 가축이 소화하기 어려운 섬유질은 미생물 발효과정을 통해 이용성을 증진시킴으로써 사료의 대부분을 수입에 의존하는 현실에 큰 보탬이 될 수 있다. 특히, 돼지의 생리적인 면에서도 임신돈의 경우, 분만 전후에 나타나는 심한 변비는 무유증과 결부 될 수 있어 충분한 물 섭취와 고섬유질 사료의 급여가 필요하다 (Ramonet 등, 1999). 또한 연 산성 유지 및 자돈의 성장 극대화를 위한 사료 양의 제한에 따라 스트레스를 받을 수 있는데 (King, 1989), 이러한 스트레스를 최소화하기 위해 유럽에서는 조사료를 급여하여 임신돈의 포만감을 형성하고 (Zoiopoulos 등 1982; Zoiopoulos 등 1983), 포유돈에 있어서는 변비를 방지하는 등의 효과가 보고되고 있다 (Mroz 등, 1986). 또한 Dierick 등 (1989), McBurney 및 Sauer 등 (1993)의 보고에 의하면 돼지의 대장에서 섬유질의 미생물 발효로부터 유래된 VFA는 육성비육돈의 경우 NEm의 15~24%를 공급할 수 있으며, 조사료 섬유질의 적절한 전처리 방법을 통해 에너지 이용효율을 극대화 할 수 있을 것으로 기대된다. 특히, 본 연구에서 섬유소 공급원으로 사용되는 청보리의 경우 ha당 건물수량이 호밀 및 이탈리아 라이그라스와 비슷하고 TDN 함량이 65% 내외이

며, 황숙기로 갈수록 에너지 함량이 높아지기 때문에 (김 등, 2003), 돼지의 에너지 요구량을 충족시킬 수 있다는 장점을 가지고 있다. 그러나 청보리를 이용해 섬유질 이용률을 개선 할 수 있는 양돈용 발효사료의 개발에 대한 국내 연구는 전무한 실정이다. 따라서 본 연구는 시판중인 *Bacillus licheniformis*와 *Aspergillus niger* 미생물 후보 중 효소분석을 통해 가장 강력한 섬유소 분해력을 검증 받은 균주를 배양한 미생물제제로 청보리 발효사료를 제조하였을 때 양돈의 소화율 및 대장발효 성상을 조사하여 돼지의 조사료활용에 대한 기초자료로 활용하고자 본 연구를 수행하였다.

II. 재료 및 방법

1. 실험용 균주의 준비

실험용 균주는 국내 사료관리법상 양돈에 사용이 가능하며 섬유소 분해력이 우수한 미생물 후보 *Bacillus licheniformis* 11종과 *Aspergillus niger* 17종을 구입하였다. 구입한 균주는 효소 활성분석을 통해 우수 미생물을 선발하였다. 최종적으로 선발된 균주는 *B. licheniformis* KCCM 40934와 *A. niger* KCCM 60357이었으며, 이들 미생물들의 specific enzyme activities 결과는 Table 1과 같다.

2. 발효사료의 원료 및 제조방법

본 실험의 발효사료에는 2 mm로 분쇄한 건

Table 1. Enzyme activities of cellulolytic microorganisms in solid-state cultivation of dried whole crop barley with cellulolytic microorganisms for 120h

Enzyme activity ($\mu\text{M}/\text{min}/\text{ml}$)	KCCM No.					SEM ³⁾
	11378 ¹⁾	40934 ¹⁾	60315 ²⁾	60357 ²⁾	11885 ²⁾	
CMCase	289.89 ^c	359.25 ^b	46.59 ^c	823.98 ^a	75.91 ^d	8.670
Xylanase	825.75 ^c	1,255.34 ^b	306.22 ^c	2,848.73 ^a	644.10 ^d	15.096
Avicelase	157.30 ^a	13.43 ^c	7.96 ^c	115.21 ^b	14.65 ^c	10.345

¹⁾ *Bacillus licheniformis*

²⁾ *Aspergillus niger*

³⁾ SEM, standard error of means.

^{a-e} Means in the same row with different superscript differ significantly ($p < 0.05$).

조 청보리가 사용되었다(Table 2). 청보리의 수분 함량은 60%로 조절하였으며, 4처리군으로 구분하였다. 각 처리구는 대조구, *A. niger* 단독 배양, *B. licheniformis* 단독배양 그리고 *A. niger* + *B. licheniformis* 혼합배양(1:1)으로 나누었으며, *Aspergillus niger*는 10^3 cfu/ml, *Bacillus licheniformis*는 10^7 cfu/ml 씩 각 처리구별로 균주를 접종 후 30℃에서 3일간 배양하였다.

Table 2. Chemical composition of dried whole crop barley

Chemical composition	% (DM basis)
Dry matter	89.01
Crude protein	6.76
Ether extract	1.41
Crude fiber	27.42
Crude ash	3.77
Neutral detergent fiber	61.68
Acid detergent fiber	34.06
Nitrogen free extract	60.04

3. 조사 항목 및 실험방법

1) 사료성분 분석

본 실험에 사용된 사료들의 일반성분은 AOAC (1995) 방법에 의하여 분석하였고, NDF (neutral detergent fiber) 및 ADF (acid detergent fiber)의 함량은 Van Soest 등 (1991)의 방법에 따라 분석하였다.

2) *In vitro* 대장 발효특성

Barry 등 (1995)에서 제안한 방법에 따라 돼지의 생분을 접종원으로 사용하였다. 120 ml serum bottle에 발효사료를 0.25 g 씩 칭량 후, 생분의 5배수만큼 제조한 nutritive buffer에 희석시킨 접종액을 6겹의 surgical gauze로 여과하여 25 ml씩 분주 하였다. 접종액은 37℃의 온도 유지 및 CO₂를 공급하여 혐기상태를 유지시켜 주었다. 발효는 37℃에서 이루어졌으며,

0, 6, 12, 18 및 24시간 배양 후 각 시간대별 대장발효 성상을 측정하였다.

(1) 총 가스 및 메탄 가스발생량 측정

총 가스발생량 측정은 Williams (1996)의 방법을 이용하여 6, 12, 18 및 24시간 배양이 완료된 각각의 serum bottle을 incubator에서 꺼내 약 10분 동안 실온에서 냉각시킨 후 수위 차 가스발생량 측정기를 사용하여 측정하였다. 또한, 메탄가스 발생량은 gas chromatography (GC-2010, Shimadzu, Japan)를 이용하여 He을 운반 기체로 HaysepQ, 80/100 column (Alltech, USA)으로 분리후 thermal conductivity detector로 분석하였다. Gas chromatography의 injector, column 및 detector의 온도는 각각 150, 90, 150℃에서 운전하였다.

(2) pH 측정

pH 측정은 가스측정이 완료된 serum bottle을 개봉하여 원심분리용 tube에 상층액을 회수하였으며, 회수한 상층액은 500 × g에서 5분간 원심분리 후 pH meter (Mettler-Toledo, CH/MP220)를 이용하여 pH를 측정하였다.

(3) 건물분해율 측정

pH 측정을 완료 즉시 남아있는 상층액을 회수 후 잔류물을 filter crucible (filter crucible - d: (지름) 3cm; pore size: 40-90μ, FOSS)로 여과하여 80℃의 drying oven에서 48시간 건조 후 건물 분해율을 측정하였다.

(4) 암모니아질소 농도

각 시간대 배양액의 상층액을 채취하여 Cheny 및 Marbach (1962)의 방법으로 수행하였다. 채취한 배양액을 13,000 rpm에서 5분간 원심분리 후 얻어진 상층액과 NH₃ standard를 각각 20 μl로 20 ml 시험관에 주입 후, phenol color reagent와 alkali-hypochlorite를 1 ml씩 첨가하였다. 발색반응을 위해 37℃ 항온수조에서 15분간 배양하여 반응을 시킨 후, 증류수를 8 ml 추가하여 희석하였다. 그리고 spectrophotometer (V-530,

Jasco, Japan)를 이용하여 640 nm에서 흡광도를 측정하여 암모니아질소농도를 측정하였다.

(5) 휘발성지방산(volatile fatty acids, VFA) 분석

각 시간대 배양액의 상층액을 채취하여 micro tube에 1 ml씩 회수 하였다. 미생물의 작용을 정지하기 위해 0.1 ml의 포화 HgCl_2 용액과 25% HPO_3 용액 0.2 ml를 첨가하여 혼합 후 실온에서 30분간 정치시켰다. 실온에서 정치시킨 배양액은 분석 전까지 -20°C 의 냉동고에 보관하였다가 13,000 rpm에서 10분간 원심분리한 후 상층액을 채취하였으며, gas chromatography (GC-2010, Shimadzu, Japan)을 이용하여 VFA 표준용액을 기준으로 분석하였다.

(6) 섬유소분해효소 활성

효소활력 측정을 위해 기질로 사용한 carboxymethyl cellulose (C-4888, Sigma, U.S.A) 및 oat spelt xylan (X-0627, sigma, U.S.A)을 0.05M citrate buffer (pH 5.5) 및 potassium phosphate buffer (pH 7.0)와 혼합하여 기질용액을 제조하였다. 20 ml 시험관에 각각의 기질용액 0.5 ml과 조효소액 0.5 ml를 주입 후, 45°C 의 항온수조에서 1시간 동안 반응시켰다. 반응 후 효소 반응을 정지시키기 위해 5분 동안 진탕하였으며, DNS (dinitrosalicylic acid)용액 0.6ml과 발색 후 (Miller, 1953), spectrophotometer (V-530, Jasco, Japan)를 이용하여 550 nm에서 흡광도를 측정하였다. 기질로부터 유리된 환원당의 glucose 및 xylose를 standard로 하여 $\mu\text{mol/ml/min}$ 단위로 환산하였다.

3) *In vitro* 전장소화율 측정

In vitro 전장 소화율은 Boisen 및 Fernandez (1997)에서 제안한 실험법에 따라 수행되었다. 각 시료를 삼각 플라스크에 0.5g씩 정확하게 칭량한 후 phosphate buffer (pH 6.0, 0.1M) 25 ml, 0.2M HCl 10 ml을 각각 혼합하여 pH를 2.0으로 조정하였다. 또한, 소화율 측정을 위해 pepsin solution을 첨가하여 39°C 에서 2시간 배

양하였다. 배양물은 10ml의 phosphate buffer (pH 6.8, 0.2M)와 0.6M NaOH solution 5 ml을 혼합하여 pH를 6.8로 조정하였으며, pancreatin solution 1ml을 첨가한 후, 39°C 에서 4시간 배양하였다. 최종적으로 0.2M EDTA solution 첨가와 acetic acid로 pH를 4.8로 조정하여 multi-enzyme complex (Viscozyme 120L, 120 FBG/g, Novo-Nordisk, Bagsvaerd, Denmark) 0.5 ml을 첨가하였다. 혼합액은 39°C 에서 18시간 배양한 후, 배양물을 여과 및 건조하여 소화효소에 의한 분해율 (%)을 계산하였다.

4. 통계처리

모든 실험은 각각 3회 반복 실험을 하였으며, 섬유소 분해효소활력과 휘발성지방산 그리고 암모니아 질소 측정은 반복 실험 당 2회 반복측정을 실행하였다. 실험결과에 대한 통계분석은 SAS package program (V 9.1)의 GLM (General Linear Model)을 이용하여 분산분석을 실시하였으며, 처리평균간 차이는 Duncan 다중검정법 (1955)에 의해 95% 유의 수준으로 하였다.

III. 결과 및 고찰

1. 사료 성상변화

각 처리별 청보리 발효사료의 성상변화에 대한 결과는 Table 3과 같다. *A. niger* 및 Mixture구는 대조구 및 *B. licheniformis*구와 비교하여 조단백질, 조지방 및 조섬유 함량이 유의하게 증가하였다 ($p < 0.05$). 일반적으로 *A. niger*는 기질내 전분 및 당을 이용하여 발효산물로 단백질 및 지방을 생산한다 (Vandenberghe 등, 2000; Oboh 등, 2002). ADF 함량은 대조구와 비교하여 모든 처리구가 유의하게 증가하였지만, *B. licheniformis*구는 조섬유가 유의하게 감소하는 경향을 나타냈다 ($p < 0.05$). *A. niger*는 고당 배양시 자당 (sucrose)이나 당밀 (molasses)과 같은 당류를 분해하여 citric acid를 생산하며 (Kapoor 등, 1982), 생전분 분해효소를 분비하는 능력이

Table 3. Chemical composition (% DM basis) of dried whole crop barley fermented with cellulolytic microorganisms

	Control	<i>Aspergillus niger</i> ²⁾	<i>Bacillus licheniformis</i> ³⁾	Mixture ⁴⁾	SEM ²⁾
CP	6.81 ^c	7.52 ^a	7.07 ^b	7.77 ^a	0.078
EE	1.08 ^d	2.26 ^a	1.67 ^c	1.86 ^b	0.027
CF	27.61 ^b	29.33 ^b	20.32 ^c	32.85 ^a	0.727
NDF	61.53	63.10	62.70	63.21	0.391
ADF	34.09 ^b	38.80 ^a	39.51 ^a	38.56 ^a	0.670
Cash	3.77 ^b	3.73 ^b	3.85 ^a	3.62 ^c	0.021
Nitrogen free extract	60.73	57.16	67.09	53.90	

¹⁾ SEM, standard error of means²⁾ KCCM No. 40934³⁾ KCCM No. 60357⁴⁾ *B. licheniformis* + *A. niger*^{a-c} Means in the same row with different superscript differ significantly ($p < 0.05$).

뛰어나다고 알려져 있다(정, 1997). 본 실험에서 *A. niger* 및 Mixture구의 조섬유 함량이 증가된 이유도 이러한 균주의 특성으로 설명할 수 있는데, NFE 함량이 높은 알곡이 함유된 청보리 특성상 고상배양 시 다량의 전분과 당이 발효되어 상대적으로 조섬유 함량이 증가된 것으로 생각된다.

2. 대장 발효성상 변화

1) 건물 분해율

균주를 접종한 모든 발효사료의 건물 분해율이 대조구와 비교하여 높았으며 (Table 4) 유의성이 확인되었다 ($p < 0.05$). 그 중 최종 24시간 배양에서 *A. niger*과 Mixture구에서 각각 55 및 57.42%로 가장 높은 건물분해율이 확인 되었으며, 이는 *B. licheniformis*구의 43.54% 보다도 유의하게 높았다 ($p < 0.05$). 일반적으로 exogenous enzyme과 DFM을 반추동물사료에 첨가할 경우, 반추위 미생물에 의한 소화율이 증가한다 (Hristov 등, 1998). 또한 이러한 결과는 *A. niger*와 *B. licheniformis*로부터 유래되어진 gluco-amylase 및 amylase에 의해 전분 소화율이 증진되고 (Rojo 등, 2005), 장내 효소의 활성을 증가시켜 사료 내 영양소의 이용률을 향상시킨다는 보고 (Scheuermann, 1995)와 일치한다. 특히, 배양초기에는 *B. licheniformis*구 역시 대조구에

비해 건물 분해율이 높았으나, 배양시간이 지속될수록 *A. niger*구에서 지속적으로 증가하였다. 이러한 차이는 Table 1에서 보듯이 *B. licheniformis* KCCM 40934가 생산하는 CMCase와 xylanase의 활력보다 *A. niger* KCCM 60357의 효소들의 활력이 유의적으로 높아 *A. niger*로 발효된 청보리를 이용하여 대장발효시 배양시간이 증가할수록 소화율이 증가된 것으로 생각된다. 또한 Table 5에서 *A. niger*구의 대장발효시 배양액내 xylanase의 활력이 24시간대에 수치적으로 *B. licheniformis*구에 비해 높아진 것이 이를 설명하고 있다.

2) 가스 발생량 및 메탄가스 농도

가스 발생량 및 메탄가스 (CH₄) 농도는 Table 4와 같다. 전체 가스 발생량은 균주가 접종된 발효사료에 비해 대조구에서 유의하게 증가하였다 ($p < 0.05$). 각 시간대 대조구를 포함한 모든 처리구에서 24시간 까지 증가하였지만, 대조구에서 18시간 이후 증가량이 감소하였다. *In vitro* 가스 발생량을 조사하는 것은 조사료의 발효 특성 즉, 분해율을 평가하는 간접적 지표로 알려져 있고 (Theodorou 등, 1994, 1998), 기질의 발효정도에 따라 가스 발생량이 변화하여 (Beuvink와 Spoelstra, 1992) 건물분해율과 가스 발생량의 상관관계가 높은 것으로 알려져 있다. 그러나 본 실험에서는 이 두 가지 변수들

Table 4. Effects of whole crop barley treated with cellulolytic microorganisms on digestibility, the production of total gas and CH₄ content in *in vitro* colonic fermentation

Item	Incubation time(hr)	Control	<i>Aspergillus niger</i> ²⁾	<i>Bacillus</i> ³⁾ <i>licheniformis</i>	Mixture ⁴⁾	SEM ¹⁾
Digesti- bility (%)	6	28.90 ^{cB}	41.69 ^{aB}	38.00 ^{abB}	33.70 ^{bcB}	2.012
	12	30.33 ^{cB}	44.81 ^{aB}	38.98 ^{bB}	37.57 ^{bB}	1.668
	18	43.00 ^{bA}	54.82 ^{aA}	40.55 ^{bAB}	56.07 ^{aA}	1.750
	24	43.73 ^{bA}	55.00 ^{abA}	43.54 ^{bA}	57.42 ^{aA}	0.942
	SEM	1.209	1.406	1.040	2.575	
Total gas (ml)	6	5.87 ^{aC}	5.70 ^{aB}	5.83 ^{aD}	5.05 ^{bB}	0.163
	12	8.33 ^{aB}	5.83 ^{cB}	6.50 ^{bC}	4.50 ^{dC}	0.186
	18	9.67 ^{aA}	6.27 ^{cB}	8.00 ^{bB}	5.35 ^{cB}	0.455
	24	10.77 ^{aA}	8.67 ^{cA}	10.27 ^{bA}	8.87 ^{cA}	0.151
	SEM	0.392	0.252	0.203	0.180	
CH ₄ (%)	6	0.61 ^{aC}	0.47 ^{bD}	0.66 ^{aB}	0.51 ^{bB}	0.023
	12	1.07 ^{aAB}	0.80 ^{bC}	1.09 ^{aA}	0.80 ^{bAB}	0.022
	18	1.34 ^{aA}	0.87 ^{cB}	1.23 ^{abA}	1.01 ^{bcA}	0.092
	24	0.81 ^{BC}	1.12 ^A	1.06 ^A	1.12 ^A	0.114
	SEM	0.091	0.016	0.054	0.105	

¹⁾ SEM, standard error of means²⁾ KCCM No. 40934³⁾ KCCM No. 60357⁴⁾ *B. licheniformis* + *A. niger*^{a-c} Means in the same row with different superscript differ significantly in row ($p < 0.05$).^{A-D} Means in the same column with different superscript differ significantly in column ($p < 0.05$).

의 상관관계가 거의 없는 것으로 나타났는데, 이는 항상 가스 발생량이 기질의 발효와 일치하지 않으며, 특히, 조사료의 특성이나 섬유질 (ADF)의 함량 등의 특성에 따라 영향을 받을 수 있다 (Rymer와 Givens, 2002). 섬유소 분해균을 이용하여 제조한 청보리 발효사료의 경우, 발효사료 제조시 청보리 내 가용성 기질들이 이미 소실되고 ADF 함량이 증가하여 결과적으로 초기 발효가스의 발생량은 대조구와 비교하여 적었다. 하지만 배양시간이 길어짐에 따라 섬유소 분해 미생물 첨가에 의한 효과로 인해 가스발생량이 지속적으로 증가한 것으로 생각된다. CH₄ 농도는 18시간까지 모든 발효사료 처리구에서 농도가 낮았으며, 18시간 이후 대조구와 *B. licheniformis*구는 CH₄ 농도가 감소되는 반면, *A. niger* 및 Mixture구는 CH₄ 농도가 꾸준히 증가하였다. 메탄생성균은 수소와 acetate 등으로부터 메탄을 발생시키며, 이러한 기질이 증가하면 CH₄ 또한 증가한다. 반면

CH₄과 propionate는 수소이온 이용에 대한 경쟁관계가 있어 propionate의 생산이 증가하게 되면 CH₄은 감소하게 된다. Table 6에서 일부 상관관계가 완전히 일치하지는 않지만 24시간 배양시 대장 *in vitro* 배양액 내 acetate 발생량이 대조구에 비해 섬유소 분해미생물 처리구가 높은 경향이었으며, 특히 propionate의 발생량은 *A. niger*와 Mixture구에서 대조구와 *B. licheniformis*구에 비하여 낮았다. 이러한 원인으로 *A. niger*와 Mixture구에서 CH₄의 발생량이 증가한 것으로 생각된다.

3) pH 및 암모니아질소 농도

pH 및 암모니아질소 농도 변화의 결과는 Table 5와 같다. pH는 전체적으로 실험 개시부터 종료까지 배양시간이 경과함에 따라 모두 감소하였다. 발효가 시작되기 전인 배양 0시간 *A. niger*구는 대조구와 비슷했으나 *B. licheni-*

Table 5. Effects of whole crop barley treated with cellulolytic microorganisms on xylanase activity ($\mu\text{M}/\text{min}/\text{ml}$), $\text{NH}_3\text{-N}$ content ($\text{mg}/100\text{ml}$), pH in *in vitro* colonic fermentation

Item	Incubation time(hr)	Control	<i>Aspergillus niger</i> ²⁾	<i>Bacillus</i> ³⁾ <i>licheniformis</i>	Mixture ⁴⁾	SEM ¹⁾
Xylanase	0	1.44 ^{BC}	2.30 ^D	2.22 ^C	2.76 ^{BC}	0.446
	6	3.24 ^{AB}	3.47 ^C	4.62 ^B	4.45 ^B	0.567
	12	4.26 ^{aA}	2.75 ^{bD}	2.92 ^{abC}	1.77 ^{bC}	0.484
	18	4.09 ^{aA}	4.60 ^{aB}	2.45 ^{bC}	1.92 ^{bC}	0.432
	24	1.63 ^{bBC}	7.43 ^{aA}	5.93 ^{aA}	7.16 ^{aA}	0.589
	SEM	0.408	0.361	0.380	0.737	
$\text{NH}_3\text{-N}$	0	6.18 ^{cD}	7.20 ^{bD}	7.61 ^{bD}	8.66 ^{aD}	0.256
	6	13.57 ^{bB}	15.16 ^{aB}	14.17 ^{abC}	15.46 ^{aB}	0.449
	12	14.21 ^{cAB}	16.40 ^{bAB}	16.57 ^{abB}	17.30 ^{aB}	0.259
	18	18.09 ^{bA}	19.20 ^{bA}	21.36 ^{aA}	21.86 ^{aA}	0.597
	24	10.74 ^{bC}	13.77 ^{abC}	15.04 ^{aB}	15.10 ^{aC}	1.069
	SEM	0.503	0.825	0.419	0.598	
pH	0	7.05 ^{aA}	7.05 ^{abA}	7.01 ^{bA}	7.01 ^{bA}	0.012
	6	6.87 ^B	6.86 ^{CD}	6.87 ^B	6.87 ^B	0.006
	12	6.87 ^{bB}	6.89 ^{aB}	6.85 ^{bB}	6.89 ^{aB}	0.006
	18	6.85 ^{bB}	6.88 ^{aBC}	6.85 ^{bB}	6.88 ^{aB}	0.008
	24	6.82 ^{bC}	6.84 ^{aD}	6.81 ^{bC}	6.82 ^{bC}	0.005
	SEM	0.006	0.008	0.010	0.007	

¹⁾ SEM, standard error of means³⁾ KCCM No. 60357²⁾ KCCM No. 40934⁴⁾ *B. licheniformis* + *A. niger*^{a-c} Means in the same row with different superscript differ significantly in row ($p<0.05$).^{A-E} Means in the same column with different superscript differ significantly in column ($p<0.05$).

formis 및 Mixture구는 대조구와 유의한 차이를 보였는데 ($p<0.05$), 이러한 발효 청보리는 장관 내 pH를 낮추어 유해균의 생성을 억제시키고 유익균의 안정적인 정착을 도울 수 있다 (Underdhal 등, 1982). 하지만, 본 실험에 이용된 섬유소분해균주의 경우 pH를 낮추는 경향은 확인되었으나 그 차이가 적었다. 이는 종전의 연구에 사용된 생균제의 대부분은 유산균이 포함되어있기 때문이며, 본 실험에 이용된 섬유소분해균의 특성상 pH에는 큰 영향을 미치지 않았다고 생각된다. 암모니아 질소는 배양 후 대조구에 비해 처리구에서 유의하게 증가되었는데, 이는 사료 내 CP 함량의 감소가 분해 암모니아 농도를 감소시키며 (Otto 등, 2003), 따라서 대조구에 비해 유의적으로 증가한 각 처리구의 CP 함량이 높은 암모니아질소 농도에

기인하였다고 판단된다. 또한 배양시간이 증가되면서 대장내 미생물의 단백질 이용량이 증가됨에 따라 대조구에 비해 암모니아 발생량이 증가된 것으로 생각된다.

4) 섬유소분해효소 활력

섬유소분해효소 활력은 CMCase와 xylanase의 활력을 측정하였다 (Table 5). 그 중 CMCase는 검출되지 않았으며, xylanase의 경우 배양 후 6시간까지는 유의성을 보이지 않았지만 12시간 경과 후 대조구에서 $4.26 \mu\text{mol}/\text{ml}/\text{min}$ 으로 처리구와 비교하여 유의하게 높았다 ($p<0.05$). 그러나 18시간에는 *B. licheniformis*구를 제외한 나머지 처리구의 효소활력이 증가하는 반면 대조구는 감소하는 추세를 보였으며, 24시간 최종

Table 6. Effects of whole crop barley treated with cellulolytic microorganisms on volatile fatty acid production (mM) in *in vitro* colonic fermentation

Incubation time (hr)	Control	<i>Aspergillus niger</i>	<i>Bacillus licheniformis</i>	Mixture ¹⁾	SEM ²⁾
..... Acetate, mM					
0	1.42 ^C	0.98 ^D	0.90 ^D	1.10 ^D	0.233
6	3.16 ^B	3.10 ^C	2.73 ^C	3.24 ^C	0.275
12	3.33 ^{bB}	4.07 ^{bB}	4.04 ^{bB}	5.36 ^{aB}	0.246
18	8.55 ^{aA}	6.26 ^{abA}	7.21 ^{abA}	5.05 ^{bB}	0.760
24	6.06 ^A	6.17 ^A	6.66 ^A	6.99 ^A	0.573
SEM	0.593	0.508	0.343	0.386	
..... Propionate, mM					
0	0.29 ^D	0.09 ^D	0.23 ^D	0.13 ^D	0.082
6	2.19 ^{aC}	1.43 ^{bcC}	1.95 ^{abC}	1.18 ^{cC}	0.195
12	3.02 ^{aB}	1.47 ^{bC}	2.97 ^{aB}	1.67 ^{bB}	0.166
18	4.34 ^{aA}	2.01 ^{bB}	4.49 ^{aA}	1.40 ^{bB}	0.262
24	4.24 ^{aA}	2.05 ^{ba}	4.30 ^{aA}	2.12 ^{ba}	0.275
SEM	0.230	0.157	0.296	0.093	
..... Butyrate, mM					
0	0.08 ^D	0.03 ^D	0.06 ^D	0.05 ^E	0.022
6	0.46 ^{aC}	0.30 ^{bcC}	0.24 ^{cC}	0.40 ^{abC}	0.045
12	0.85 ^{aB}	0.35 ^{bBC}	0.94 ^{aB}	0.45 ^{bB}	0.055
18	1.20 ^{aA}	0.46 ^{baB}	1.28 ^{aA}	0.31 ^{bD}	0.091
24	1.15 ^{aA}	0.45 ^{ba}	1.17 ^{aA}	0.51 ^{ba}	0.114
SEM	0.091	0.050	0.100	0.024	
..... Isobutyrate, mM					
0	0.03 ^{aA}	0.01 ^{bC}	0.02 ^{aE}	0.01 ^{abC}	0.006
6	0.01 ^{bB}	0.04 ^{aB}	0.03 ^{aD}	0.02 ^{abB}	0.005
12	0.02 ^{cB}	0.10 ^{ba}	0.19 ^{aA}	0.18 ^{aA}	0.013
18	0.06 ^{ba}	0.05 ^{bcB}	0.11 ^{aB}	0.02 ^{cB}	0.012
24	0.01 ^{bB}	0.01 ^{bC}	0.08 ^{aC}	0.01 ^{bC}	0.014
SEM	0.007	0.009	0.014	0.007	
..... Valerate, mM					
0	0.04 ^C	0.42 ^A	0.02 ^D	0.33 ^A	0.154
6	0.07 ^{abA}	0.04 ^{abC}	0.08 ^{aC}	0.02 ^{bC}	0.015
12	0.05 ^{bC}	0.05 ^{bC}	0.18 ^{aB}	0.07 ^{bBC}	0.016
18	0.52 ^{aAB}	0.14 ^{bB}	0.34 ^{abA}	0.08 ^{bBC}	0.100
24	0.21 ^{BC}	0.12 ^B	0.29 ^A	0.15 ^B	0.061
SEM	0.090	0.115	0.028	0.089	
..... Isovalerate, mM					
0	0.03 ^B	0.01 ^D	0.03 ^C	0.01 ^C	0.010
6	0.01 ^{bC}	0.05 ^{aC}	0.02 ^{ab}	0.03 ^{abB}	0.009
12	0.02 ^{cBC}	0.10 ^{ba}	0.19 ^{aA}	0.18 ^{aA}	0.013
18	0.07 ^{ba}	0.09 ^{bB}	0.15 ^{aB}	0.01 ^{cC}	0.016
24	0.01 ^{bC}	0.02 ^{bD}	0.12 ^{aB}	0.04 ^{bB}	0.025
SEM	0.010	0.010	0.026	0.009	

¹⁾ *Aspergillus niger* + *Bacillus licheniformis*²⁾ SEM, standard error of means.^{a-c} Means in the same row with different superscript differ significantly in row ($p < 0.05$).^{A-E} Means in the same row with different superscript differ significantly in column ($p < 0.05$).

발효 후에는 7.43 $\mu\text{mol/ml/min}$ 로 *A. niger*구에서 효소활력이 가장 높았다. 일반적으로 exogenous enzyme과 DFM(direct-fed microbial)을 반추동물사료에 첨가 할 경우 섬유소분해효소 활성에 따른 사료의 소화율 향상에 기인하는 것으로 보고되어지고 있지만 (Beauchemin 등, 1997; 1999; McAllister 등, 1999; Kung 등, 2001), Hristov 등 (2000)은 exogenous enzyme을 반추동물에 공급하였을 때 효소 활력이 증가하지 않았다고 하였다. 이는 공급한 효소의 활력이 반추위내 미생물 군집에 충분한 영향을 미치지 못하였기 때문이다 (박 등, 2009). 본 실험에서 배양 후 24시간에 처리구의 섬유소 분해활력이 대조구에 비해 유의하게 높았으며 ($p<0.05$), 이는 가스발생량의 결과와 마찬가지로 처리구의 높은 ADF 함량으로 인한 낮은 초기 발효 속도가 원인이라 생각된다.

5) 휘발성 지방산

VFA 농도의 결과는 Table 6, 7과 같다. 본 실험에서 24시간 최종 발효 후 acetate 농도는 대조구 (6.06 mM)와 비교하여 발효사료 처리구가 높았으나 유의성은 확인되지 않았다. Propionate 농도는 대조구 (4.24 mM)와 *B. licheniformis*구 (4.30mM)에서 유의하게 증가하였다. 그리고 butyrate 농도 역시 propionate와 비슷한 경향을 보여주었는데, 대조구 (1.15mM)와 *B. licheniformis*구 (1.17mM)에서 유의하게 증가하였다. 이는 *A. niger*와 Mixture구에서 상대적으로 높은 조섬유 함량에 의해 (Table 3) propionate와 butyrate의 발생량이 줄어든 것으로 생각된다. Isobutyrate (0.08mM) 및 isovalerate (0.29mM) 농도는 *B. licheniformis*구에서 다른 처리구에 비해 유의하게 높았다 ($p<0.05$). 일반적으로 isovalerate와 isobutyrate는 단백질 유래 휘발성 지방산으로 대조구와 비교하여 조단백질은 증가하고 조섬유가 감소된 *B. licheniformis*구의 사료 정상변화에 기인한 것으로 생각된다. 총 VFA 농도는

Table 7. Effects of whole crop barley treated with cellulolytic microorganisms on total volatile fatty acid production(mM) in *in vitro* colonic fermentation

Incubation time(hr)	Control	<i>Aspergillus niger</i>	<i>Bacillus licheniformis</i>	Mixture ¹⁾	SEM ²⁾
0	1.89 ^D	1.54 ^E	1.26 ^D	1.63 ^D	0.378
6	5.90 ^C	4.96 ^D	5.21 ^C	4.73 ^C	0.469
12	7.22 ^{bb}	6.05 ^{cc}	8.39 ^{ab}	7.80 ^{abB}	0.317
18	14.74 ^{aa}	9.00 ^{ba}	13.58 ^{aa}	6.87 ^{bb}	0.841
24	11.68 ^{abA}	8.81 ^{cb}	12.61 ^{aa}	9.79 ^{bcA}	0.811
SEM	0.583	0.654	0.694	0.463	

¹⁾ *Aspergillus niger* + *Bacillus licheniformis*

²⁾ SEM, standard error of means.

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

^{A-E} Means in the same row with different superscript differ significantly in column ($p<0.05$).

Table 8. Effects of dried whole crop barley treated with cellulolytic microorganisms on *in vitro* whole tract digestibility (% , DM basis)

Control	<i>Aspergillus niger</i>	<i>Bacillus licheniformis</i>	Mixture ¹⁾	SEM ²⁾
45.65 ^b	38.12 ^c	49.61 ^a	37.46 ^c	0.756

¹⁾ *Aspergillus niger* + *Bacillus licheniformis*

²⁾ SEM, standard error of means.

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

대조구 (11.68mM)와 *A. niger*구 (8.81mM)는 18 시간에서, *B. licheniformis* (12.61mM)와 Mixture구 (9.79mM)는 24시간에서 가장 높았으며, *B. licheniformis*구에서 총 VFA의 함량이 증가되었다 (Table 7). 이것 또한 Table 1에서 보듯이 청보리에 *B. licheniformis*로 발효시켰을 때 NFE의 함량이 가장 높았고, 반대로 조섬유 함량이 가장 적은 결과로 대장 내에서의 총 VFA 발생량이 증가한 것으로 생각된다.

3. 전장소화율

각 발효사료의 전장소화율에 대한 결과는 Table 8과 같다. *In vitro* 전장 소화율은 대조구, *A. niger* 및 Mixture구와 비교하여 *B. licheniformis*구에서 유의하게 높았다 ($p<0.05$). 이는 *B. licheniformis*를 이용하여 제조한 발효사료 급여 시 전장 소화율을 향상시킬 뿐만 아니라 (Beauchemin 등, 1999), 비육돈에 생균제를 첨가하면 영양소 소화율이 개선된다는 길 등 (2004)의 보고와 일치 하였다. 하지만 *A. niger*와 Mixture구는 소화율이 오히려 감소하였는데, 이는 증가한 조섬유 함량이 소화율에 부정적인 영향을 주는 것으로 생각된다 (Table 3). 이러한 결과는, 성장을 위해 단위동물의 주 에너지원인 전분과 당을 우선적으로 소비하는 *A. niger*의 생리적 특성 (Vandenbergh 등, 2000)에 기인한 것으로 생각된다.

결론적으로, *in vitro* 대장발효 및 전장소화율의 결과, 섬유질 함량이 높은 청보리를 돼지에 급여시 일부 소화율 및 소화기관 개선에 도움을 줄 것으로 판단되었다. 이러한 결과는 대장 발효 성상변화와는 차이가 있는데, 본 실험은 효소를 이용한 *in vitro* 실험인 반면, 대장발효 실험은 돼지의 실제 장내 미생물 군총이 발효사료의 미생물과 미생물의 분비효소에 직접적인 영향을 주어 전장소화율을 촉진시킨 결과이며, 특히 *A. niger*구에서 유익 미생물의 활력이 더욱 활발했던 것으로 생각된다. 이 외에도 각 처리구에 따른 분해율의 차이는 미생물이 갖는 특징과 배양조건 차이의 결과로 판단된다.

IV. 요약

본 연구는 높은 섬유소 분해력을 검증 받은 *Aspergillus niger* (KCCM 60357)와 *Bacillus licheniformis* (KCCM 40934)를 단독 및 혼합 배양한 미생물제제로 양돈용 청보리 발효사료를 제조하였을 때 사료 성상변화, *in vitro* 대장발효 및 전장소화율에 미치는 영향을 평가하였다. 실험 설계는 건조 청보리 (control), *A. niger* (control + *A. niger*), *B. licheniformis* (control + *B. licheniformis*) 및 Mixture (control + *Aspergillus niger* + *Bacillus licheniformis*)구로, 군주를 첨가시킨 발효사료에 따라 네 처리군으로 나누었다. 사료 성분변화는 발효사료의 일반 성분분석을 통해 확인하였으며, 그 결과 *A. niger* 및 *B. licheniformis*구에서 조단백질과 조지방 함량이 유의하게 증가하였다 ($p<0.05$). *In vitro* 대장 발효성상의 변화는 배양 후 24시간에 건물 분해율이 *A. niger*와 Mixture구에서 각각 55 및 57.42%로 대조구 및 *B. licheniformis*구와 비교하여 유의하게 높았다 ($p<0.05$). 가스 발생량은 대조구에서 유의적으로 가장 높았으며, 메탄가스 농도는 모든 처리구가 대조구에 비해 증가되었다. pH는 대조구를 비롯한 모든 처리구가 6.8로 확인되었으며, 암모니아 질소는 모든 발효사료에서 유의하게 증가되었다. Xylanase 활력은 *A. niger*구가 유의적으로 높았으며 모든 처리구의 활력이 증가하였다 ($p<0.05$). 총 VFA 농도는 배양 후 24시간에 *B. licheniformis*구에서 높은 농도 (12.61mM)를 보여주며 VFA 개선 효과를 나타냈다 ($p<0.05$). *In vitro* 전장 소화율은 *B. licheniformis*구에서 49.61%로 대조구의 45.65% 보다 소화율이 유의적으로 증진되었다 ($p<0.05$). 따라서 본 실험에 사용된 미생물을 이용하여 청보리 발효사료를 제조하였을 때 전장 소화율 및 대장발효 환경 개선에 충분한 효과가 있을 것으로 기대된다.

V. 사 사

본 연구는 농촌진흥청 Agenda (과제번호 :

200806A01081020)의 지원에 의한 결과의 일부이며, 연구비 지원에 감사드립니다.

VI. 인 용 문 헌

1. 길동용, 임종선, 전경철, 김법균, 김경수, 김유용. 2004. 지속적인 생균제의 첨가가 돼지의 성장, 영양소 이용률, 혈중 요소태 질소 및 면역능력에 미치는 영향. 한국동물자원학회지. 46(1):39-48.
2. 김원호, 서 성, 윤세형, 김기용, 조영무, 박태일, 고종민, 박근제. 2003. 사일리지용 우량 보리품종 선발 2. 사료가치 및 TDN 수량. 한국초지학회지. 23(4):283-288.
3. 농림부·농촌진흥청 축산기술연구소. 2007. 한국 사양표준(돼지). 상록사.
4. 박중국, 정찬성, 박도연, 김현철, 이승철, 김창현. 2009. 반추위 섬유소분해 박테리아 배양액의 투여 수준에 따른 한우 반추위 발효에 미치는 영향. 한국동물자원과학회지. 51(1):45-52.
5. 송영민, 하지희. 2007. 부산물을 이용하여 제조한 발효사료의 사료적 가치평가에 관한 연구. 농업 기술연구소보. 20:153-162.
6. 신승오, 한영근, 조진호, 김해진, 진영걸, 유종상, 황광연, 김정우, 김인호. 2007. 호맥사일리지의 급여기간이 비육돈의 생산성, 혈액 성분 및 도체 특성에 미치는 영향. 한국축산식품학회지 27(4): 392-400.
7. 정만재. 1997. *Aspergillus niger*가 생성하는 생전 분 분해효소의 정제와 특성. 산업미생물학회지. 25(2):166-172.
8. 한인규, 최창애, 박태진, 정숙근. 1967. 고구마 양돈사료에 관한 시험. 축산시험연구소보. pp. 453-481.
9. AOAC. 1995. Official Methods of Analysis(16th ed.) Association of Official Analytical Chemists Washington, D.C, USA.
10. Barry, J.L., Hoebler, C. and Macfarlane, G.T. 1995. Estimation of the fermentability of dietary fibre *in vitro*: A European interlaboratory study. Br. J. Nutr. 74:303-322.
11. Beauchemin, K.A., Yang, W.Z. and Rode, L.M. 1999. Effects of grain source and enzyme additive on site and extent of nutrient digestion in dairy cows. J. Dairy Sci. 82:378-390.
12. Beauchemin, K.A., Rode, L.M. and Yang, W.Z. 1997. Effects of nonstructural carbohydrates and source of cereal grain in high concentrate diets of dairy cows. J. Dairy Sci. 80:1640-1650.
13. Beuvinck, J.M.W. and Spoelstra. S.F. 1993. Interactions between substrate, fermentation end-products, buffering systems and gas production upon fermentation of differing carbohydrates by mixed rumen microorganisms *in vitro*. Appl. Microbil. Biotechnol. 37:505-509.
14. Boisen, S. and Fernandez, J.A. 1997. Prediction of the total tract digestibility of energy in feedstuffs and pig diets by *in vitro* analyses. Anim. Feed Sci. Technol. 68:277-286.
15. Chaney, A.L. and Marbach, E.P. 1962. Modified reagents for determination of urea and ammonia. Clin. Biochem. 8:130-132.
16. Dierick, N.A., Vervaeke, I.J., Demeyera, D.I. and Decuyper, J.A. 1989. Approach to the energetic importance of fibre digestion in pigs. I. Importance of fermentation in the overall energy supply. Anim. Feed Sci. Technol. 23:141-167.
17. Duncan, D.B. 1955. Multiple range and multiple F test. Biometrics. 11:1-42.
18. Hristov, A.N., McAllister, T.A. and Cheng, K.J. 2000. Intraruminal supplementation with increasing levels of exogenous polysaccharide degrading enzymes: Effects on nutrient digestion in cattle fed a barley grain diet. J. Anim. Sci. 78:477-487.
19. Kapoor, K.K., Chaudhary, K. and Tauri P. 1982. Citric acid, in *Prescott and Dunn's industrial microbiology*. Chapman & Hall. USA. pp. 709-711.
20. King, R.H. 1989. Effects of live weight and body composition of gilt at 24 week of age on subsequent reproductive efficiency. Anim. Prod. 49:105-116.
21. Kung, L. 2001. Developments in rumen fermentation commercial applications : In Recent advances in animal nutrition, Edited by P.C. Garnsworthy and D.J.A. Cole. Nottingham. Univ. Press. pp. 281-295.
22. Langston, C.W. and Bouma, C. 1960. A study of the microorganisms grass silage : II The Lactobacill. Appl. Microbiol. 8:223-234.
23. McBurney, M.I. and Sauer, W.C. 1993. Fiber and large bowel energy absorption: Validation of the integrated ileostomy-fermentation model using pigs. J. Nutr. 123:721-727.
24. McAllister, T.A., Oosting, S.J., Popp, J.D., Mir, Z., Yanke, L.J., Hristov, A.N., Treacher, R.J. and

- Cheng, K.J. 1999. Effect of exogenous enzymes on digestibility of barley silage and growth performance of feedlot cattle. *Can. J. Anim. Sci.* 79:353-360.
 25. Miller, G.L. 1959. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugars. *Anim. Chem.* 31:426-428.
 26. Mroz, Z., Partridge, G., Mitchell, G. and Keal, H.D. 1986. The effects of oat hulls added to the basal ration for pregnant sows on reproductive performance, apparent digestibility, rate of passage and plasma parameters. *J. Sci. Food Agric.* 37:239-247.
 27. Oboh, G., Akindahunsi, A.A. and Oshodi, A.A. 2002. Nutrient and anti-nutrient contents of *Aspergillus niger*-fermented cassava products (flour and gari). *J. Food Compos. Anim.* 15:617-622.
 28. Pollman, D.S. 1986. Probiotics in pig diets. In: *Advances in animal nutrition*. (Ed. Haresign, W. and Cole, D.J.A.). Butterworths, London. pp. 193- 205.
 29. Ramonet, Y., Meunier-Salaun, M.C. and Dourmad, J.Y. 1999. High-fiber diets in pregnant sows: digestive utilization and effects on the behavior of the animals. *J. Anim. Sci.* 77:591-599.
 30. Roso, R., Mendoza, G.D., gonzalez, S.S., Landosis, L., Barcena, R. and Crosby M.M. 2005. Effects of exogenous amylases from *Bacillus licheniformis* and *Aspergillus niger* on ruminal starch digestion and lamb performance. *Anim. Feed Sci. Technol.* 124:655-665.
 31. Rymer, C. and Givens, D.I. 2002. Relationships between patterns of rumen fermentation measured in sheep and *in situ* degradability and the *in vitro* gas production profile of the diet. *Anim. Feed Sci. Technol.* 101:31-44.
 32. SAS. 1996. SAS/STAT® Software for PC. SAS Institute Inc., Cary, NC, USA.
 33. Scheuermann G.N, Maier J.C, Bellaver C. and Fialho F.D. 1995. Metionina elisina no desenvolvimento de frangos de corte. *Revista Brasileira de Agrociencia.* 1:75-86.
 34. Schoenherr, W.D., Stahly, T.S. and Cromwell, G.L. 1989. The Effects of dietary fat or fiber addition on yield and composition of milk from sows housed in a warm or hot environment. *J. Anim. Sci.* 67:482-495.
 35. Stahly, T.S. and Cromwell, G.L. 1986. Responses to dietary additions of fiber (alfalfa meal) in growing pigs housed in a cold, warm or hot thermal environment. *J. Anim. Sci.* 63:1870-1876.
 36. Theodorou, M.K., Daivies, D.R., Nielsenm B.B., Lawrence, M.I.G. and Trinci, A.P.J. 1998. Principles of techniques that rely on gas measurement in ruminant nutrition. In: *In vitro Techniques for Measuring Nutrient Supply to Ruminants*. (Ed. Deaville, E.R., Owen, E., Adesogan, A.T., Remyer, C., Huntington, J.A. and Lawrence, T.L.J). Occasional publication, No. 22. British Society of Animal Science, UK. pp. 55-63.
 37. Theodorou, M.K., Williams, B.A., Dhanoa, M.S., McAllan, A.B. and 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.
 38. Underdahl, N.R., Torres-Median, A. and Doster, A.R. 1982. Effect of *Streptococcus faecium* C-68 in the control of *Escherichia coli* induced diarrhea in gnotobiotic pigs. *J. Vet. Res.* 43:2227-2232.
 39. Vandenberghe, L.P.S., Soccol, C.R., Pandey, A. and Lebeault, J.M. 2000. Solid-state fermentation for the synthesis of citric acid by *Aspergillus niger*. *Bioresource Technol.* 74:175-178.
 40. Visek, W.J. 1978. The mode of growth promotion by antibiotics. *J. Anim. Sci.* 46:1447-1469.
 41. Wilfart, A., Montagne, L., Simmins, P.H., Van Milgen, J. and Noblet, J. 2007. Sites of nutrient digestion in growing pigs: Effect of dietary fiber. *J. Anim. Sci.* 85:976-983.
 42. Williams, A., Amat-Marco, M. and Collins, M.D. 1996. Pylogenetic analysis of *Butyrivibrio* strains reveals three distinct groups of species within the *Clostridium subphylum* of gram-positive bacteria. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 46:195-199.
 43. Zoopoulous, P.E., English, P.R. and Topps, J.H. 1982. High-fibre diets for *ad libitum* feeding of sows during lactation. *Anim. Prod. J. Agric. Sci.* 59:381-385.
 44. Zoopoulous, P.E., English, P.R. and Topps, J.H. 1983. A note on intake and digestibility of a fibrous diet self fed to primiparous sows. *Anim. Prod. J. Agric. Sci.* 37:153-156.
- (접수일: 2010년 4월 2일, 수정일 1차: 2010년 4월 13일, 수정일 2차: 2010년 4월 20일, 게재확정일: 2010년 6월 3일)