

볏짚 발효사료 제조시 과산화수소 전처리 효과

최윤희^{1*} · 이상복¹ · 김명숙² · 홍재식²

¹호남작물시험장, ²전북대학교 식품공학과

초록 : 볏짚의 사료가치를 증진시키기 위하여 과산화수소에 의한 전처리와 섬유소 및 리그닌분해력이 강한 *Pleurotus florida* 균주로 발효사료를 제조하고 화학성분, 결정도 및 *in vitro* 소화율을 조사하여 사료적가치를 검토하였다. *P. florida*에 의한 볏짚발효시 hemicellulose, cellulose 및 lignin은 각각 22.5%, 11.4%, 28.1% 감소하였고, H₂O₂나 H₂O₂(pH 11.5) 전처리 후 발효시에는 4% 이하의 저농도에서 감소가 심하였으며 발효기간이 경과할수록 cellulose, lignin 등이 감소하였고 아미노산함량은 무처리 볏짚에 비하여 배양 30일 후에 약 28.9% 증가하였으며 4% H₂O₂ 전처리 후 발효시는 35.1% 증가하였다. 볏짚 섬유소의 결정도는 H₂O₂ 처리 및 *P. florida*에 의한 발효처리로 감소하였고 H₂O₂(pH 11.5) 처리시 증가하였으며 H₂O₂(pH 11.5)처리 후 수세의 잔류볏짚의 결정도는 더욱 증가하였고 *P. florida*에 의한 볏짚배양 30일 후 *in vitro* 소화율은 17.1% 증가하였으며, H₂O₂ 전처리 후 발효시킨 볏짚은 6% 이하의 저농도에서 소화율 상승효과가 있었다(1994년 8월 16일 집수, 1994년 9월 22일 수리).

서 론

볏짚은 저질 조사료의 범주를 벗어나지 못하고 있어 생산량에 비하여 조사료로써 이용도가 낮으나^{1,2)} 영양가 및 소화율을 높여 사료가치를 증진시킨다면 조사료자원 대체와 함께 부존자원의 활용효과도 얻을 수 있을 것이다. 볏짚의 사료가치증진을 위하여 물리화학적처리 및 농산부산물을 첨가하거나 미생물을 이용한 발효사료의 제조 또는 물리화학적 전처리 후 발효를 병행하여 소화율이나 영양가치를 향상시키는 방법들이 있는데 이들 방법 중 물리화학적처리 후 단백질의 공급원인 미생물을 이용한 발효를 병행한다면 소화율 및 영양가를 증진시킬 수 있는 바람직한 방안이 될 것이다. 담자균류에 속하는 white rot fungi는 섬유소 뿐만 아니라 lignin 분해력이 강한 것으로^{3,4)} 알려져 있어 발효사료 제조에의 이용이 기대되며 물리화학적 처리와 white rot fungi를 이용한 미생물처리를 병행한다면 사료의 소화율 뿐만 아니라 균체에 의한 단백질 등 영양성분의 증가를 가져올 수 있을 것으로 사료된다.

본 연구에서는 볏짚의 사료가치를 증진시키기 위하여 과산화수소 처리와 볏짚에서 생육이 양호하고 식용 가능한 버섯균 중에서 섬유소 분해효소활성이 우수하고 균 생육속도가 빠른 균주를 선정하여 발효사료를 제조하고

화학성분, *in vitro* 소화율 및 결정도 등을 조사하였다.

재료 및 방법

균주 및 배양

균주는 전북대학교 농과대학 식품공학과 발효미생물학연구실에서 보존중인 *Pleurotus sajor-caju*, *Pleurotus florida*, *Pleurotus ostreatus*, *Ganoderma lucidum* 7004, *Ganoderma lucidum* S₂의 5균주를 공시균주로 사용하였다. 보관용 배지로는 malt extract 20 g, proteose peptone 2 g, agar 15 g을 물 1l에 녹인 후 pH를 5.5로 조정하였다. 배지는 동진품종 볏짚을 2 cm로 절단하여 균 생육 촉진을 위해 예비 실험시 균생육에 효과적이었던 쌀겨와 밀기울의 양을 각각 10%씩 가하고 수분조절을 위해 가하는 물의 pH를 HCl과 NaOH를 사용하여 5.5로 하고 수분은 70%가 되게 조정하여 250 ml 광구 배양병에 150 g씩 넣고 1.2 kg/cm² 압력에서 30분간 살균하였다.

균배양은 보관용 배지에서 일정기간 배양한 종균을 cork borer를 사용하여 일정량씩 취한 다음 볏짚배지가 주입된 배양병 상면 중앙에 접종하고 온도별 비교실험(15~35℃)을 제외하고는 25℃에서, 배양기간 비교실험(10~40일)을 제외하고는 15일간 배양하였다. 균주를 볏짚배지에 각각 배양한 후 균 생육정도를 조사하고 섬

Key words : Rice straw, hydrogen peroxide, fermented feed

*Corresponding author : Y.-H. Choi

유소분해효소의 활성을 측정하여 균 생육속도 및 섬유소분해효소 활성이 양호한 균주를 발효사료 제조용 균주로 선정하였다.

과산화수소 전처리 및 발효사료 제조

H₂O₂ 및 H₂O₂(pH 11.5)를 농도별로 전처리한 후(pH를 11.5로 조정한 처리는 중화될 때 까지 수세하여) 배양병에 150 g씩 넣어 1.2 kg/cm² 압력에서 30분간 살균하고 선정된 균을 접종하여 배양하였다.

조효소액의 제조 및 섬유소분해효소 활성측정

섬유소분해효소 활성 측정을 위한 효소액 조제를 위하여는 배양이 끝난 배양물을 건물로 환산하여 10배량의 증류수를 가한 후 waring blender(DUPONT사)로 3분간 마쇄하고 냉장고(5°C)에서 하루밤 방치하여 추출한 후 filter paper(Whatman No. 2)로 여과하고, 8,000 rpm에서 20분간 원심분리 (Hitachi scp 55H)하여 상정액을 조효소액으로 사용하였다.

Avicelase^{5,6)}는 0.1 M sodium acetate buffer(pH 5.0)에 용해시킨 1% avicel 현탁액 4 ml를 L형 시험관에 취하고 효소액 1 ml를 가하여 45°C 진탕수조(120 ml)에서 120 분간 반응시킨 후 유리되는 환원당을 DNS법⁷⁾에 의하여 비색정량(spectrophotometer GILFORD)하여 효소액 1 ml로 생성된 환원당(glucose)의 μmol을 활성의 비교단위로 하였다. CMCcase는 0.1 M sodium acetate buffer(pH 5.0)에 용해시킨 1% CMC용액 2 ml에 효소액 1 ml를 가하여 40°C 에서 60분간 반응시킨 후 유리되는 환원당을 avicelase와 같은 방법^{5,6)}으로 측정하였다. β-Glucosidase는 0.1 M sodium acetate buffer(pH 5.0)에 용해시킨 5 mM salicin용액 2 ml에 효소액 1 ml를 가하여 40°C 에서 60분간 반응시킨 후 유리되는 환원당을 avicelase와 같은 방법⁵⁾으로 측정하였다.

성분분석

회분은 회화법⁹⁾으로, 조지방은 ether extract법⁹⁾으로 전질소는 습식분해 후¹⁰⁾ TECHNICON autoanalyzer를 사용하여 정량하였고 neutral detergent fiber(NDF), acid detergent fiber(ADF), lignin 및 cellulose는 Goering과 Van Soest의 방법¹¹⁾으로 분석하였으며 hemicellulose는 NDF, ADF의 차이로 계산하였다. 아미노산의 정량은 Mason 등¹²⁾의 방법을 응용하여 Ultropac-11 cation exchange resin(11 μm ± 2 μm) column을 이용 amino acid analyzer(LKB4150 Alpha)로 분석하여 표준 아미노산과 비교 정량하였다.

벗짚 결정도 조사

벗짚의 결정도는 powder method로 X-ray diffractometer(Rigaku)에 의하여 구하였으며 이때의 조건은 수평으로 고정된 시료에 Geiger counter를 수직으로 이동하면서 Ni-filter 에 의한 Cuka target를 사용하였고, tube전압은 35 KV, 전류는 20 mA로 하여 2θ를 5°에서 30°까지 주사하면서 조사하였다.

Crystallinity index(CrI)는 Segal 등¹³⁾의 방법에 준하였다.

$$CrI(%) = [(I_{002} - I_{am}) / I_{002}] \times 100$$

I₀₀₂: 2θ = 22°인 peak의 intensity(결정성 부분에 상당)
I_{am}: 2θ = 18°인 peak의 intensity(무정형 부분에 상당)

In vitro 소화율 측정

Menke 등¹⁴⁾ 및 정 등¹⁵⁾의 방법에 따라 gas test분석법에 의하여 다음과 같이 측정하였다. 100 ml 주사기형 실린더에 200 mg(DM)의 시료와 30 ml의 소의 제1위에서 채취한 위액을 혼합하여 39 ± 0.5°C 의 회전용 항온기에 24시간 방치 후 탄산가스와 메탄가스의 혼합발생량을 측정한다 다음 시료내 유기물소화율 산출공식에 대입하여 계산하였다.

$$\begin{aligned} \text{소화율(organic matter, \%)} &= 1.33Gb - 0.005Gb^2 + \\ &+ 0.511\% \text{ CP} + 0.076\% \text{ EE} + 8.9 \\ \text{Gb: 가스 발생량(ml), CP: 조단백질 함량,} \\ \text{EE: 조지방 함량} \end{aligned}$$

결과 및 고찰

균주의 선정

Pleurotus속 3균주와 Ganoderma속 2균주를 벗짚배지에서 25°C 로 15일간 배양하여 균 생육속도와 섬유소분해효소 활성을 비교한 결과 Table 1과 같다. 균 생육속도는 P. florida가 빠르고 효소활성은 avicelase와 CM-Case는 P. florida 및 G. lucidum S₂, β-glucosidase는 G. lucidum S₂와 G. lucidum 7004가 높았다. 따라서 균생육과 섬유소분해효소 활성이 비교적 양호한 느타리버섯 균인 P. florida를 발효사료용 균주로 선정하였다.

효소활성 및 균생육에 미치는 H₂O₂농도의 영향

벗짚에 H₂O₂를 농도별로 2배량 전처리하여 균생육 및 섬유소분해효소 활성을 검토한 결과 Table 2와 같다. 2%와 4% 처리에서 균 생육이 양호하였고 효소활성 또한 균 생육이 양호한 0~4% 처리에서 높아 avicelase와

Table 1. Mycelial growth and enzyme activities of Basidiomycetes

| Strain | Cellulase activity (glucose $\mu\text{mol}/\text{ml}$) | | | Mycelial ¹⁾ growth (mm) |
|---|---|--------|----------------------|------------------------------------|
| | Avicelase | CMCase | β -Glucosidase | |
| <i>Pleurotus sajor-caju</i> | 7.4 c ²⁾ | 11.5 c | 5.8 c | 90 |
| <i>Pleurotus florida</i> | 11.1 a | 16.7 a | 7.9 b | 98 |
| <i>Pleurotus ostreatus</i> | 6.6 c | 10.6 c | 5.4 c | 94 |
| <i>Ganoderma lucidum</i> 7004 | 8.4 bc | 14.1 b | 8.5 b | 89 |
| <i>Ganoderma lucidum</i> S ₂ | 9.2 b | 15.6 a | 10.2 a | 93 |

¹⁾ 15days at 25°C.

²⁾ The different letters differ significantly ($p=0.05$) according to Duncan's multiple range test.

Table 2. Influence of H₂O₂ treatment of the rice straw on the mycelial growth and enzyme production by *Pleurotus florida*

| H ₂ O ₂ conc. (%) | Cellulase activity (glucose $\mu\text{mol}/\text{ml}$) | | | Mycelial ¹⁾ growth (mm) |
|---|---|---------|----------------------|------------------------------------|
| | Avicelase | CMCase | β -Glucosidase | |
| 0 | 11.1 b ²⁾ | 16.7 a | 7.9 ab | 98 |
| 2 | 14.0 a | 17.0 a | 8.5 ab | 103 |
| 4 | 13.0 a | 15.8 ab | 8.9 a | 100 |
| 6 | 11.3 b | 14.5 b | 7.6 b | 88 |
| 8 | 10.3 b | 12.5 c | 6.3 c | 76 |

¹⁾ 15days at 25°C.

²⁾ The different letters significantly ($p=0.05$) according to Duncan's multiple range test.

Table 3. Influence of H₂O₂ (pH 11.5) pretreatment of rice straw on the enzyme production by *Pleurotus florida*

| H ₂ O ₂ conc. (%) | Cellulase activity (glucose $\mu\text{mol}/\text{ml}$) | | | Mycelial ¹⁾ growth (mm) |
|---|---|--------|----------------------|------------------------------------|
| | Avicelase | CMCase | β -Glucosidase | |
| 0 | 11.6 c ²⁾ | 17.4 c | 8.0 c | 100 a |
| 2 | 14.7 a | 18.6 b | 9.6 ab | 108 ab |
| 4 | 15.4 a | 20.3 a | 10.2 a | 110 a |
| 6 | 14.6 a | 17.1 c | 9.1 b | 105 bc |
| 8 | 12.8 b | 15.3 d | 7.1 d | 102 cd |

¹⁾ 15days at 25°C.

²⁾ The different letters significantly ($p=0.05$) according to Duncan's multiple range test.

CMCase는 2%처리에서, β -glucosidase는 4% 처리에서 가장 높았으며 그 이상의 농도에서는 감소하였다. H₂O₂ 처리로 효소활성이 증가되었던 것은 벚지 중 lignin의 일부가 제거되고 섬유소가 팽윤화되었기 때문인 것¹⁶⁾으로 생각되며 6% 이상에서는 균생육 및 효소활성이 저조하였는데 그 이유로는 H₂O₂의 처리농도가 증가함에 따라 H₂O₂가 충분히 휘발되지 못하였기 때문인 것으로 생각된다.

한편, pH를 11.5로 조정된 H₂O₂를 농도별로 전처리

하여 균 생육 및 효소활성에 미치는 영향을 검토한 결과는 Table 3과 같다. H₂O₂(pH 11.5) 처리로 균 생육 및 효소활성이 증가하여 4% 처리에서 avicelase와 CMCase 및 β -Glucosidase의 활성이 가장 높았으며 그 이상의 농도에서는 감소하였고 Table 2의 pH를 11.5로 조정하지 않은 처리에 비하여 효소활성 및 균 생육이 양호하였다. 이것은 pH조정에 사용된 NaOH가 lignin 등을 분해시켜 균 생육 및 효소활성이 촉진된 것으로 생각된다.

Table 4. Influence of fermentation periods on the chemical composition of the rice straw by *Pleurotus florida* (Unit: %, dry basis)

| Days | NDF | ADF | Hemi-cellulose | Cellulose | Lignin | Ash | T-N | Crude fat |
|------|----------------------|--------|----------------|-----------|--------|---------|----------|-----------|
| 0 | 76.9 a ¹⁾ | 51.6 a | 25.3 a | 35.3 a | 7.6 a | 14.9 e | 0.53 d | 0.89 d |
| 10 | 74.1 b | 51.0 b | 23.1 b | 35.0 ab | 7.4 ab | 15.3 de | 0.55 cd | 1.09 c |
| 15 | 72.9 b | 50.8 b | 22.1 c | 34.8 ab | 7.1 bc | 15.6 d | 0.56 cd | 1.12 bc |
| 20 | 69.9 c | 50.3 c | 19.6 d | 34.4 b | 7.0 c | 16.4 c | 0.59 bcd | 1.23 abc |
| 25 | 69.2 c | 49.9 c | 19.3 d | 32.4 c | 5.8 de | 16.9 b | 0.61 abc | 1.23 abc |
| 30 | 68.7 cd | 49.1 d | 19.6 d | 31.3 d | 5.5 e | 17.0 b | 0.69 abc | 1.26 ab |
| 35 | 67.4 de | 50.0 c | 17.4 f | 30.6 e | 6.0 d | 17.6 a | 0.72 ab | 1.39 a |
| 40 | 66.7 e | 48.5 e | 18.2 e | 31.4 d | 6.1 d | 17.7 a | 0.77 a | 1.09 c |

¹⁾ The different letters differ significantly (p=0.05) according to Duncan's multiple range test.

Table 5. Influence of H₂O₂ pretreatment on the chemical composition of the 15day- fermented rice straw by *Pleurotus florida* (Unit: %, dry basis)

| H ₂ O ₂ conc. (%) | NDF | ADF | Hemi-cellulose | Cellulose | Lignin | Ash | T-N | Crude fat |
|---|----------------------|--------|----------------|-----------|--------|--------|--------|-----------|
| 0 | 72.9 a ¹⁾ | 50.8 a | 22.1 a | 34.9 a | 7.1 a | 15.6 d | 0.56 a | 1.12 d |
| 2 | 69.6 b | 49.1 b | 20.5 c | 32.4 b | 6.0 b | 15.9 c | 0.61 a | 1.15 d |
| 4 | 68.4 c | 48.9 b | 19.5 d | 31.3 c | 5.5 c | 16.1 b | 0.63 a | 1.96 b |
| 6 | 67.7 d | 47.3 c | 20.4 c | 30.1 d | 5.1 d | 16.9 a | 0.57 a | 2.23 a |
| 8 | 67.9 cd | 46.8 d | 21.1 b | 29.5 e | 5.2 d | 16.8 a | 0.55 a | 1.28 c |

¹⁾ The different letters differ significantly (p=0.05) according to Duncan's multiple range test.

성분변화

1) 발효기간의 영향

볏짚배지에서 *P. florida*의 발효기간중 경시적인 성분변화를 보면 Table 4와 같다. 발효기간이 경과함에 따라 회분, 전질소, 조지방 함량은 증가하였고 NDF, ADF, hemicellulose, cellulose 및 lignin은 감소하는 경향이었는데 이러한 결과는 Detroy 등¹⁷⁾의 *Pleurotus ostreatus*의 볏짚배양시 배양기간이 경과함에 따라 cellulose, hemicellulose, lignin이 감소하였다는 보고와 유사하였으며 Hiroi 등¹⁸⁾은 *P. ostreatus*의 30~40일 배양시 목재의 lignin분해에 효과적이었다고 하였고 Han 등¹⁹⁾은 *Trichoderma viride*에 의한 rye grass straw의 배양시 hemicellulose는 감소하고 회분은 2배 이상 증가하였다고 보고한 바 있다. 김¹⁾은 *Aspergillus sp.*의 볏짚배양시 조지방함량이 1.0%에서 1.12~1.56%로 증가하였다고 하였는데 이것은 본 시험 결과와 유사하였으며 전질소함량은 40일 배양시 무처리 볏짚보다 1.45배 증가하였다.

2) H₂O₂ 및 H₂O₂(pH 11.5) 전처리농도의 영향

볏짚을 H₂O₂농도별로 전처리한 후 *P. florida*를 15일간

배양하였을 때 성분변화를 보면 Table 5와 같다. H₂O₂의 농도가 증가할수록 회분과 조지방함량은 증가하였고 ADF, cellulose, NDF, hemicellulose 및 lignin은 점진적으로 감소하는 경향이였다. 감소의 정도는 lignin과 cellulose가 심하였는데 이것은 Detroy 등¹⁷⁾이 밀짚의 화학적 전처리가 효소적 분해를 용이하게 하였다고 보고한 바와 같이 H₂O₂의 전처리로 *P. florida*에 의해 생산된 cellulase가 볏짚 등 섬유질 자원의 분해를 촉진시킨 것을 의미한다. 또한 8% 처리시 NDF, hemicellulose, lignin의 증가는 Table 3에서와 같이 H₂O₂가 충분히 휘발되지 못하여 균 생육이 저조했기 때문인 것으로 생각되며 H₂O₂ 전처리 농도가 증가하여도 전질소함량은 큰 차이가 없었으나 6% 이상의 농도에서는 균 생육의 저조로 인하여 약간의 감소를 보였다. 반추가축 사료로서 볏짚의 제한요소는 단백질과 인의 함량이 극히 낮기 때문이라 하였는데²⁰⁾ H₂O₂ 처리 및 미생물 발효처리로 균체 생육에 의한 전질소, 조지방함량 등의 증가는 섬유소자원의 사료 제조시 부족하기 쉬운 단백질 등 영양원의 증가라고 볼 때 의의가 크다고 생각된다. 한편, 알카리성 과산화수소

Table 6. Influence of H₂O₂ (pH 11.5) pretreatment and washing on the chemical composition of the 15 day-fermented rice straw by *Pleurotus florida* (Unit: %, dry basis)

| H ₂ O ₂ conc. (%) | NDF | ADF | Hemi-cellulose | Cellulose | Lignin | Ash | T-N | Crud fat |
|---|----------------------|---------|----------------|-----------|--------|---------|----------|----------|
| 0 | 72.0 a ¹⁾ | 45.4 c | 26.6 a | 35.5 a | 7.5 a | 16.3 b | 0.56 c | 0.92 c |
| 2 | 70.4 b | 46.7 bc | 23.7 b | 33.9 b | 6.6 ab | 16.7 ab | 0.66 ab | 0.98 c |
| 4 | 69.1 bc | 47.0 b | 22.1 c | 32.6 bc | 6.1 ab | 16.9 a | 0.68 a | 1.15 b |
| 6 | 68.0 c | 47.6 ab | 20.4 d | 31.6 cd | 5.7 b | 17.0 a | 0.63 abc | 1.26 a |
| 8 | 68.2 c | 48.4 a | 19.8 d | 30.9 d | 5.5 b | 17.0 a | 0.59 bc | 1.12 b |

¹⁾ The different letters differ significantly (p=0.05) according to Duncan's multiple range test.

Table 7. Amino acid contents of the 30 day-fermented rice straw by *Pleurotus florida* (Unit: µg/g, dry basis)

| Amino acid | Control (raw) | Fermented | |
|---------------|---------------|------------------|---|
| | | Non-pretreatment | 4% H ₂ O ₂ pretreatment |
| Aspartic acid | 73.31 | 102.53 | 101.26 |
| Threonine | 41.13 | 53.18 | 54.25 |
| Serine | 39.19 | 51.95 | 54.09 |
| Glutamic acid | 87.93 | 104.78 | 140.31 |
| Proline | 24.60 | 29.76 | 39.09 |
| Glycine | 39.39 | 47.15 | 50.68 |
| Alanine | 39.26 | 43.86 | 55.67 |
| Cysteine | — | 0.82 | 0.91 |
| Valine | 31.36 | 31.98 | 37.17 |
| Methionine | — | 1.12 | 1.49 |
| Isoleucine | 18.33 | 26.09 | 27.09 |
| Leucine | 62.68 | 64.47 | 66.14 |
| Tyrosine | 16.73 | 25.27 | 22.44 |
| Phenylalanine | 21.43 | 22.23 | 22.91 |
| Histidine | 3.39 | 27.18 | 19.66 |
| Lysine | 31.84 | 54.14 | 55.16 |
| Arginine | 230.41 | 296.48 | 280.57 |
| Total | 760.98 | 980.99 | 1,027.89 |
| Index | 100 | 128.91 | 135.07 |

를 농도별로 전처리 후 수세하여 *P. florida*로 발효 시켰을 때 성분의 변화는 Table 6과 같다. 농도가 증가할수록 ADF와 회분은 증가하였고 NDF, hemicellulose, cellulose 및 lignin은 대체로 감소하였는데 cellulose와 lignin은 4% 이하의 저농도 처리에서 감소가 심하였으며 Table 5의 pH를 조정하지 않은 처리와 비교하여 볼 때 cellulose, lignin 및 회분의 함량이 높은 경향이었는데 이는 수세로 인한 가용성분들이 제거되었기 때문인 것으로 생각된다. 전질소 및 조지방 함량은 각각 H₂O₂(pH 11.5)의 4%와 6%까지는 농도의 증가와 함께 증가하였

으나 그 이상의 농도에서는 감소하였는데 이것은 Table 3에서와 같이 군사생육에 따른 균체성분의 증가에 기인한 것으로 생각된다.

3)아미노산 함량

볏짚에 4% H₂O₂를 전처리하거나 전처리를 생략하고 *P. florida*로 30일간 발효시켰을 때 아미노산함량은 Table 7과 같다. 17종의 아미노산은 무처리볏짚에 비하여 발효처리시 전반적으로 높았으며 발효처리 중 4% H₂O₂로 전처리하였을 때는 전처리를 생략한 경우에 비하여 12종의 아미노산 함량이 약간씩 높았다. 또한 발효처리에

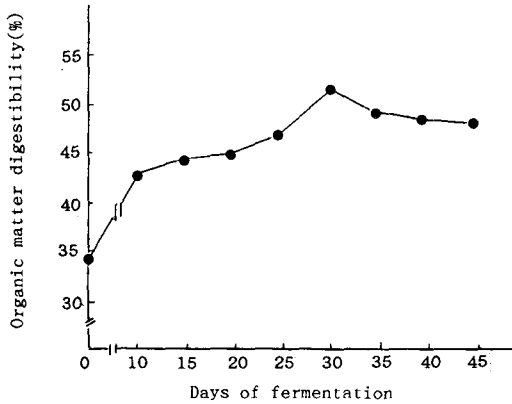


Fig. 1. *In vitro* digestibility of rice straw fermented by *Pleurotus florida*.

서는 무처리 볏짚에서 검출되지 않았던 황 함유 아미노산인 cysteine이나 methionine도 미량이나마 검출되었으며 총 아미노산함량은 무처리 볏짚에 비하여 발효처리시는 28.91%, 4% H₂O₂ 전처리후 발효처리시는 35.07% 증가하였는데 이러한 결과는 4% H₂O₂ 전처리로 *P. florida*의 생육이 촉진되어 균체성분이 증가되었기 때문인 것으로 사료된다. 한편, 필수아미노산 중 동물조직에 필요한 histidine 함량의 경우 발효처리 볏짚이 무처리 볏짚에 비하여 5~8배나 높았는데 Han¹⁹⁾은 볏짚에 *Celulomonas sp.*와 *Alcaligenes faecalis*을 혼합배양하여 알팔파 단백질과 비교하여 볼 때 필수아미노산 중 arginine, threonine, leucine 등의 함량이 높은 경향이었다고 하였다.

In vitro 소화율

1) 발효기간의 영향

*P. florida*를 볏짚에 10~45일간 배양시 발효기간에 따른 볏짚의 *in vitro* 소화율은 Fig. 1과 같다. 발효기간이 경과함에 따라 소화율도 점진적으로 증가하여 10일의 42.2%에서 30일 발효 후에는 51.8%로 9.6% 증가하였으며 그 이후에는 점차 감소하였는데 김¹⁾의 볏짚에 *Aspergillus kawachii*를 배양했을 경우 건물소화율이 28.2%에서 30.9%로 2.7% 증가하였던 보고 및 홍 등²¹⁾의 *Lyo-phyllum decastes*를 이용하여 볏짚을 45일간 배양했을 경우 건물소화율이 무처리보다 7.7% 증가하였던 보고와 비교하여 볼때 높은 증가율을 나타냈다. 소화율이 30일까지 증가한 것은 Table 2에서와 같이 볏짚의 분해가 서서히 진행되어 소화에 저해를 주는 lignin이 상당히 감소하였기 때문이며 발효후기에는 소화되지 않는 silica

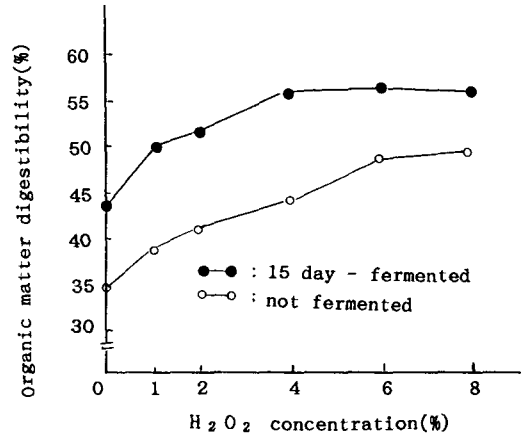


Fig. 2. *In vitro* digestibility of rice straw pretreated with H₂O₂ and fermented by *Pleurotus florida*.

등의 증가로 소화율이 감소된 것으로 생각된다.

2) H₂O₂농도 및 발효의 영향

볏짚을 H₂O₂로 전처리하여 발효전후의 *in vitro* 소화율을 검토한 결과 Fig. 2와 같다. H₂O₂의 처리농도가 증가함에 따라 소화율도 증가하여 1~6% 범위에서 비교적 높은 증가율을 나타냈으며 H₂O₂ 전처리 후 *P. florida*로 15일간 발효시켰을 때 6% 이하의 농도에서는 H₂O₂의 농도가 증가함에 따라 소화율도 증가하여 H₂O₂ 전처리를 생략하고 발효처리한 구의 44.6%에 비하여 6% H₂O₂ 전처리 후 발효시는 56.8%로 증가하였으나 8% 처리시에는 약간의 감소를 보였다. 이러한 결과는 고농도 처리시 H₂O₂의 휘발이 충분치 못하여 균 생육이 저조했기 때문인 것으로 보여진다.

볏짚 결정도의 변화

발효전후나 4% H₂O₂ 처리 조건별로 볏짚의 결정구조 변화에 따른 X-ray diffractogram의 차이를 검토한 결과는 Fig. 3과 같다. Cellulose fiber는 결정성영역과 무정형영역이 있는데 볏짚의 처리 조건별 X-ray 회절모양은 차이를 보여 회절각도 2θ가 22°일 때와 16°일 때 peak가 나타나 결정성 섬유소의 전형적인 모양²²⁾을 보여 주었으며 결정성의 주 peak인 2θ=22°일 때의 peak 강도는 4% H₂O₂ 전처리 후 *P. florida*로 발효시킨 처리 E가 가장 낮아 결정구조 파괴에 가장 효과적인 것으로 보였으며, cellulase는 우선적으로 002 peak(2θ=22°)에 작용하여 결정도를 감소시킨다는 Lee 등²³⁾의 보고와 유사하였다. pH를 조정하지 않은 4% H₂O₂를 처리한 A에서는 무처리 F에 비하여 peak의 강도가 약간 감소한

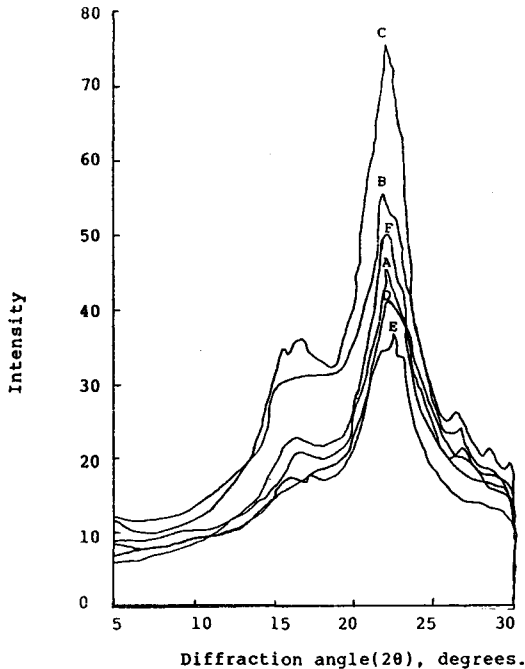


Fig. 3. X-ray diffractogram of rice straw treated with H_2O_2 and fermented by *Pleurotus florida*. A, 4% H_2O_2 ; B, 4% H_2O_2 (pH 11.5); C, 4% H_2O_2 (pH 11.5) treated and washed D, 15 day-fermented; E, 4% H_2O_2 pretreated and 15 day-fermented; F, Untreated.

반면 4% H_2O_2 처리시 pH를 11.5로 조정하여 처리한 B는 약간 증가하였으나 처리 후 수세한 C는 그 강도가 급격히 증가하였는데 이는 수세에 의하여 가용성분이 제거되었기 때문에 처리 후 볏짚 잔류물 중의 cellulose는 결정성영역의 cellulose가 대부분인 것으로 생각되며 4% H_2O_2 를 처리한 A는 발효처리한 D에 비하여 강도가 약간 높아 4% H_2O_2 처리보다는 *P. florida*에 의한 발효가 볏짚의 결정구조 파괴에 효과적인 것으로 보여진다. 田中²²⁾에 의하면 1% NaOH처리 볏짚의 결정화도는 무처리 볏짚의 40.0%에서 51.7%로 11.7%증가하였는데 이것은 NaOH처리로 볏짚 중 cellulose의 결정구조 파괴는 적고 다른 협잡물(lignin 및 hemicellulose)이 추출된 것을 나타내준다고 하였으며, Tanaka 등²³⁾은 cellulose의 결정화도 저하는 효소적 분해율을 증대시킨다고 하였다.

이상의 결과로 볏짚의 발효사료 제조시 과산화수소 전처리에는 lignin 등을 분해시켜 균생육을 촉진시키고 이에 따라 영양성분의 보강과 소화율을 향상시켜 사료가치를 개선시킬 수 있을 것이다.

참 고 문 헌

1. 김범태 (1983) 발효처리 볏짚과 alkali처리 볏짚의 *in vitro* 소화율에 관한 시험. 한축지, 25(2), 90-94
2. 김동암 (1986) 2000년대의 조사료 생산전략. 한축지, 28(5), 352-360
3. Kirk T. K. (1973) Polysaccharide integrity as related to the degradation of lignin in wood by white rot fungi. *Phytopathology*, 63, 1504-1507.
4. Reade, A. E., R. E. McQueen. (1983) Investigation of white-rot fungi for the conversion of poplar into a potential feedstuff for ruminants. *Can. J. Microbiol.*, 29, 457-463
5. Berghem, L. E. R. and L. G. Pettersson. (1973) The mechanism of enzymatic cellulose degradation: Purification of a cellulolytic enzyme from *Trichoderma viride* active on highly ordered cellulose. *Eur. J. Biochem.*, 37, 21-30
6. Kanda, T., K. Wakabayashi, and K. Nisizawa. (1976) Purification and properties of an endocellulase of avicelase type from *Irpex lacteus* (*Polyporus tuliferiae*). *J. Biochem.*, 79, 977-988
7. Miller, G. L. (1959) Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Anal. Chem.*, 31, 426-428
8. Tokao, S., Y. Kamgata, and H. Sasaki. (1985) Cellulase production by *Penicillium purpurogenum*. *J. Ferment. Tech.*, 63, 127-134
9. 맹원재, 윤광로, 신형태, 김대진 (1986) 사료분석실험 137-147
10. 농업기술연구소 (1988) 토양화학분석법-토양, 식물체, 토양미생물- 219-230
11. Goering, H. K., D. J. Van Soest. (1970) Forage fiber analysis (apparatus, reagents, procedures, and some application.) USDA. Agr. Hand Book No. 379
12. Mason, V. C., Bech-Andersen, S. and Rudemo, M. (1980) Hydrolysate preparation for amino acid determinations in feed constituents. Proc. 3rd EAAP symp. on protein metabolism and nutrition, 1
13. Segal, L., J. J. Creelt, A. E. Martin, Jr., and C. M. Conrad. (1959) Text Res. J., 29, 786
14. Menke, K. H, I. Raab, A. Salewski, H. steingass, D. Fritz and W. schnexder. (1979) The estimation of the digestibility and metabolizable energy content of ruminant feeding stuffs from the gas production when they are incubated with rumen liquor *in vitro*. *J. Agri. Sci. Camb.*, 93, 217-222
15. 정인걸 (1987) 반추가축 사료의 유효에너지가 간이

- 측정방법 비교. 한영사료, 11(1), 33-47
16. Gould, J. M. (1984) Alkaline peroxide delignification of agricultural residues to enhance enzymatic saccharification. *Biotec. Bioeng.*, 26, 46-52
 17. Detroy, R. W., L. A. Lindenfelser, G. ST. Julian, JR., and W. L. Orton. (1980) Saccharification of wheat-straw cellulose by enzymatic hydrolysis following fermentative and chemical pretreatment. *Biotec. Bioeng. Symp.*, 10, 135-148
 18. Hiroi, T., K. E. Eriksson. (1976) Microbiological degradation of lignin. part 1. Influence of cellulose on the degradation of lignins by the white rot fungus *Pleurotus ostreatus*. *Svensk papperstidning nr* 5, 157-161
 19. Han, Y. W., J. D. S. Lee, and A. W. Anderson. (1975) Chemical composition and digestibility of ryegrass straw. *Agricultural and Food Chemistry*, 23(5), 928-931
 20. 맹원재, 오세정, 최승익 (1979) 볏짚의 사료가치개선에 관한 연구, 1. 알카리처리가 통일볏짚의 화학적 성분과 *in vitro* 소화율에 미치는 영향. *한축지*, 21, 343-349
 21. 홍재식, 김중만, 정진철, 이태규, 김동한, 김명곤, 이극로 (1985) 담자균을 이용한 발효사료에 관한 연구. *한축지*, 13, 157-168
 22. Tanaka, M., M. Tasayuki, T. Morita, R. Matsunno, and T. Kamikubo, (1979) Effect of chemical treatment on solubilization of crystalline cellulose and cellulosic wastes with *Pellicularia filamentosa* cellulase. *J. Ferment. Tech.*, 57, 186-190
 23. Lee, S. B., I. H. Kim, D. D. Y. Ryu, H. Taguchi, (1983) Structural properties of cellulose and cellulase reaction mechanism. *Biotec.*, 25, 33-51
 24. 田中三男 (1980) 셀로로스성 資源의再利用. *日農工誌*, 58, 145-155

The Effects of Hydrogen Peroxide Pretreatment on Rice Straw Fermentation for Feed

Yoon-Hee Choi^{1*}, Sang-Bok Lee¹, Myeong-sook Kim² and Jai-Sik Hong² (¹Honam crop Experiment station, RDA, Iri, Korea, ²Department of Food Science and Technology, Chonbuk National University, Chonju, Korea)

Abstract : *Pleurotus florida* with high cellulase activity as well as lignin degradability was selected out among strains for fermentation of the rice straw to improve the nutritive value. When the rice straw was fermented by *P. florida*, the contents of hemicellulose, cellulose and lignin were decreased to 22.5%, 11.4% and 28.1%, respectively, whereas the contents of rice straw fermented after pretreatment with H₂O₂ or alkaline hydrogen peroxide were decreased much in the lower concentration. The content of T-N (total-nitrogen) and crude fat was increased with the longer fermentation period. The amino acid content of rice straw fermented by *P. florida* in 30 days was increased to 28.9% and 35.1% as the rice straw was fermented after pretreatment without and with 4% H₂O₂, respectively. The crystalline intensity of rice straw was decreased by pretreatment with 4% H₂O₂ and fermentation by *P. florida*. However, the crystall intensity was increased by treatment with alkaline hydrogen peroxide and the more when the straw was washed after the treatment. When the rice straw was fermented by *P. florida* for 30 days, the *in vitro* organic matter digestibility was increased up to 6% of H₂O₂ pretreatment.