종설
Food Preserv Process Ind 2026;25(1):42-57
https://doi.org/10.11002/fppi.2026.25.1.42

식품저장과 가공산업
Food Preservation and Processing Industry
pISSN: 1598-7418, eISSN: 3092-0116

# 발효 혼합사료의 저장 중 품질 변화에 대한 고찰

이윤수[1] · 추교문[2*]

[1]광주여자대학교 반려동물보건학과, [2]인제대학교 반려동물보건학과

# A review on quality changes in total mixed fermentation during storage periods

Youn-Su Lee[1], Gyo-Moon Chu[2*]

*[1]Department of Pet Health, Kwangju Women's University, Gwangju, Korea*

*[2]Department of Companion Animal Health, Inje University, Gimhae, Korea*

## Abstract

This study was conducted to review the physicochemical and microbiological quality changes in total mixed fermentation (TMF) during storage and their subsequent effects on cattle productivity. TMF is an advanced feeding system that integrates fermentation technology into a total mixed ration (TMR), primarily designed to preserve high-moisture agricultural by-products and enhancing feed self-sufficiency. During anaerobic fermentation, lactic acid bacteria (LAB) become dominant, resulting in a rapid decline in pH that effectively inhibits the growth of spoilage microorganisms and enhances aerobic stability. Biochemical shifts during storage include the degradation of complex carbohydrates and proteins into more soluble forms, such as organic acids and non-protein nitrogen (NPN). In particular, fermentation facilitates degradation of the protein matrix surrounding starch granules and reduces anti-nutritional factors such as phytate, thereby improving nutrient digestibility and mineral bioavailability. Feeding trials in dairy and beef cattle demonstrate that despite a potential reduction in dry matter intake, TMF improves ruminal fermentation efficiency, milk components and growth performance while reducing enteric methane emissions through increased propionate production. In conclusion, systematic management of TMF quality during storage is a critical strategy for improving feed efficiency and ensuring sustainable livestock production. Moreover, further studies integrating

**Date Received:** Apr. 01, 2026, **Date Revised:** May. 19, 2026, **Date Accepted:** May. 27, 2026
***Corresponding author:** Gyo-Moon Chu, Tel: +82-55-320-3223, E-mail: chu@inje.ac.kr

Copyright © 2026 The Korean Society of Food Preservation. This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

precision feeding technologies and rumen microbiome monitoring are warranted to expand the practical application of these findings.

**Key words:** total mixed fermentation, cattle, fermentation pattern, rumen microbiome, methane mitigation

## Ⅰ. 서론

대한민국의 축우산업이 직면한 주요 과제는 생산비 중에서 가장 높은 비율을 차지하는 사료비 절감의 문제이다. 사람이 이용하고 남은 농산 부산물을 사료원료로 활용하고 축우에서 소화이용성을 높여야만 한다(Saleem 등, 2019). 이를 위해 현재 축우산업에서 많이 사용되고 있는 것이 완전혼합사료(total mixed ration; TMR)이다. TMR은 조사료, 부산물, 농후사료, 미네랄, 비타민 및 각종 첨가제를 혼합하여 제조되며, 축우는 체유지와 생산에 필요한 영양소를 균형 있게 섭취할 수 있게 된다(Schingoethe, 2017).

축우는 세균(bacteria), 혐기성 곰팡이(anaerobic fungi) 및 프로토조아(protozoa) 등으로 구성된 반추위 미생물 군집(ruminal microbes)이 형성되어야만 사료를 효과적으로 분해할 수 있다(Hobson과 Stewart, 1997). 이러한 반추위 미생물 군집은 상호 협력하며 사료 성분의 분해와 휘발성 지방산(volatile fatty acids; VFA), 젖산, 아미노산, 지질 및 수소를 생성하며, 축우의 유지, 성장 및 생산성 등에 필수적인 역할을 한다(Shabat 등, 2016). 최근에는 차세대 염기서열 분석 기반의 마이크로바이옴 연구가 활성화되면서, 사료의 발효 상태와 반추위 미생물 군집 구조 간의 상관관계가 더욱 정밀하게 규명되고 있다(Kong 등, 2025). 축우에서 다양한 사양환경 및 사료의 급여방법에서 반추위 미생물 군집을 조절하고 최적화하는 것은 반추위 기능 및 사료 효율 향상을 위해 매우 중요하다(Zhou 등, 2018).

발효 혼합사료(total mixed fermentation; TMF)는 수분 함량이 높은 부산물과 수분 함량이 낮은 사료원료를 혼합하여 제조되는 사료형태로, 고수분의 부산물을 효과적으로 보존하고 활용할 수 있는 방법으로 보고되고 있다(Cao 등, 2009). TMF 기술은 최근에 개발된 개념이 아니라, 1960년대 미국에서 최초로 관련된 연구가 보고된 이후(Owen과 Howard, 1965), 일본, 중국, 대한민국을 비롯하여 베트남, 태국, 인도네시아, 네팔, 이스라엘, 이탈리아, 남아프리카공화국, 아르헨티나 및 브라질 등 다양한 국가의 축우 생산 산업에서 활용되고 있다(Schingoethe, 2017). 특히 일본에서는 기존 TMR에 미생물을 활용한 발효 공정을 접목하여 저장성 및 기호성을 개선하는 방법으로 발전시켜 TMF 기술의 실용화를 이루었다(Nishino 등, 2003b).

TMF는 전통적인 TMR에 발효 공정을 통합한 개념으로, 미생물 접종으로 사료 내 유산균 우점화를 유도하여 pH를 낮춤으로써 하절기 저장성을 개선하고(Lee 등, 2009), 발효 과정에서 생성된 대사산물이 사료의 기호성과 기능성을 극대화한 사료 형태이다(JIRCAS, 2021). 따라서 TMR과 TMF의 가장 큰 차이는 발효 공정의 적용 여부에 있으며, TMF는 발효로 사료의 저장성, 기호성 및 기능성 등을 높인 형태라고 할 수 있다.

TMF은 발효 과정에서 젖산균(lactic acid bacteria; LAB) 수와 젖산 농도를 증가시켜 사료의 pH를 감소시키므로 곰팡이와 효모의 생장을 억제하고 저장성을 향상할 수 있다(Wang과 Nishino, 2008). 또한 LAB 수의 증가는 프로바이오틱스의 기능을 하고(Han 등, 2014), 사료의 단거리 운송이 쉬워지는 실용적인 장점이 있다(Wang 등, 2010).

TMF는 축우 농가에서 TMF 공장으로부터 구매하여 사용하면 노동력 및 기계 사용 등의 비용을 절감할 수 있고, 저장 기간 동안 균일한 사료 조성을 유지할 수 있다. 발효 과정은 기호성이 낮은 부산물을 개선하여 사료원료로서의 활용 가능성을 높이고, 축우에 급여된 이후에도 높은 호기적 안정성을 유지한다(Nishino 등,

2003a; Weinberg 등, 2011). 특히 TMF는 지대(paper bag), 백(bag), 베일(bale), 파우치(pouch) 등의 소형 포장 형태로 유통이 되기 때문에 축우농가에서 이용성이 높은 사료이다 (Coblentz와 Akins, 2018).

최근에는 정밀사양 기술과 결합한 TMF의 발효 품질 실시간 모니터링과 사료 배합 최적화 연구가 있고 (Trapanese 등, 2024), 사물인터넷(IoT) 기반 TMF의 pH, 온도 및 가스 발생량 등을 추적하여 발효 이상을 조기에 감지하는 기술이 보고되고 있다(Lovarelli 등, 2020).

TMF는 발효 공정으로 사료의 저장성, 기호성 및 영양적 가치를 높이며, 수분 함량이 높은 부산물을 축우의 사료원료로 활용하여 사료 자원 부족 문제를 해결할 수 있는 기술이다(Bueno 등, 2020). 또한 TMF는 발효, 저장 기간 및 미생물 사용 등으로 pH, 미생물 균수의 변화, 유기산 조성의 변동, 영양소 손실 및 호기적 안정성 저하 등 다양한 변화가 나타난다(Kung 등, 2018). 이러한 변화는 사료의 이용성 및 가축의 생산성과 건강에도 직접적인 영향을 주기 때문에 저장 중 품질 변화를 체계적으로 이해하고 관리하는 것이 중요하다. 따라서 본 고찰에서는 발효 혼합사료의 저장 과정에서 나타나는 이화학적 및 미생물학적 품질 변화와 축우 생산성 영향을 최신 연구 결과를 중심으로 고찰하고자 한다.

## Ⅱ. 본론

### 2.1. 축우 사료의 종류 및 특성

축우 사료는 기능 및 조성에 따라 다양하게 구분되며, 반추동물의 소화 생리와 생산성에 직접적인 영향을 미친다.

조사료(roughage)는 조섬유(crude fiber; CF) 함량이 높은 사료로 건초(hay), 생초(forage) 및 사일리지(silage) 등이 포함되며, 반추위의 정상적인 기능 유지에 필수적이다. 조사료는 저작활동과 타액 분비를 촉진하여 반추위 내 pH를 안정시키고 과산증을 예방하는 역할을 하나, 에너지와 단백질 함량이 상대적으로 낮아 과다 급여 시 생산성이 저하될 수 있다(Van Soest, 1994).

혐기적 조건에서의 사일리지 제조는 수분 함량이 높은 사료작물 및 부산물을 보존하기 위해 전 세계적으로 널리 이용되는 방법이다. 고수분 원료를 사일리지화하면 건조 과정에서 소요되는 에너지와 비용을 절감할 수 있는 장점이 있으나, 최종 품질은 원료의 건물(dry matter; DM) 함량, 수용성 탄수화물(water soluble carbohydrate; WSC) 농도 및 LAB 개체수 등에 의해 결정된다(Pahlow 등, 2003). 특히 수용성 당이 풍부하고 동형발효 LAB이 우점하면 발효 품질이 향상되며, 원료로 이형발효를 적절히 유도하면 사일리지의 호기적 안정성이 증진된다(Bueno 등, 2020).

농후사료(concentrate)는 곡류 및 곡류부산물을 주원료로 하며, 에너지와 조단백질(crude protein; CP) 함량이 높아 축우의 증체 및 유량 증가 등 생산성 향상에 효과적이다. 그러나 농후사료의 과다 급여는 과산증과 같은 대사성 질환을 유발하고, CF 부족에 따른 반추위 기능 저하를 나타낸다(Nagaraja와 Titgemeyer, 2007). 또한 국제 곡물 가격 변동에 따른 경제적 부담이 증가하는 단점이 있다. 이러한 문제 예방을 위해 일반적으로 농후사료는 제한급여하고, 조사료는 자유채식 방식으로 공급하여 반추위 기능 유지와 생산성 간의 균형을 맞춘다(RDA, 2022).

완전혼합사료(TMR)는 조사료, 농후사료, 비타민 및 미네랄 등을 영양학적 요구량에 맞춰 균형 있게 혼합한 사료이다(Schingoethe, 2017). TMR은 반추위 기능의 향상, 영양소 이용 효율 증대, 생산성 향상 등 경제적으로 유리한 장점이 있다(Dey 등, 2025). TMR은 축우의 선택섭식을 방지하여 일정한 영양소 공급을 가능하게 하며, 이는 반추위 pH를 안정화시키고 미생물 활성을 촉진한다. 그 결과 일당증체량이 증가하고, 산유량이 약 3-5% 향상되며, 사료효율도 개선된다(Li 등, 2024). 또한 TMR은 사료 낭비를 최소화하고, 지

역에서 이용·가능한 부산물을 활용하여 정밀한 영양 설계가 가능하다(Ferrari 등, 2024). 하지만 전용 혼합 장비와 고도의 관리기술이 요구되며, 혼합 불량 시 성분 분리가 발생하거나 초기 투자 비용이 높다는 단점이 있다(Miller-Cushon과 DeVries, 2009). 최근에는 정밀사양 기술과 결합한 TMF의 발효 품질 연구(Trapanese 등, 2024), IoT 기반 TMF의 발효 이상을 조기에 감지하는 기술(Lovarelli 등, 2020) 등으로 TMR 시스템의 효율성을 더욱 높이기 위한 다양한 기술적 발전이 이루어지고 있다.

TMF는 TMR에 발효 공정을 접목하여 저장 기술을 활용하여 저장 기간을 연장하고, 영양소 소화율 및 호기적 안정성을 향상시키는 방법이다(Kondo 등, 2015). TMF는 혐기적 환경을 조성하여 젖산 발효를 촉진하고, 영양소를 보존하는 동시에 부패 미생물의 생장을 억제한다(Chen 등, 2014). 또한 발효 과정은 CF 및 CP를 분해하여 VFA 생성과 에너지 이용성을 증가시켜 건물섭취량(dry matter intake; DMI) 증가와 성장 향상 및 반추위 발효를 프로피온산 생성 방향으로 유도하여 메탄 발생을 감소시킨다(Cao 등, 2012). TMF는 고수분 부산물의 효율적 활용을 가능하게 하여 노동력 및 운송 효율을 높이는 장점이 있으나, 원료 및 발효 환경 조건에 따라 품질 변동이 발생할 수 있으므로, 적절한 수분 조절과 미생물 제어 등 정밀한 기술적 관리가 요구된다(Wang 등, 2020).

TMR과 TMF는 모두 영양소를 균형 있게 공급하는 혼합사료라는 공통점을 가지지만, 발효 공정의 적용 여부에 따라 저장성, 기호성, 영양소 이용성, 반추위 발효 양상 및 환경 친화성 등에 뚜렷한 차이가 있다. 두 사료의 주요 특성을 Table 1에 비교하였다.

## 2.2. TMF의 수분 함량 및 발효특성

실제 축우 농가 및 TMF 공장에서 제조되는 TMF의 DM 함량은 급여 기준(as fed basis)으로 40-65%를 유지한다. 그러나 동일한 원료 조성을 유지하면서 수분 함량의 변화만을 독립 변인으로 하여 TMF의 품질을 평가한 연구는 여전히 제한적이다. TMF의 수분함량은 물리적 성상, 발효 양상, CP 및 전분 등 주요 영양소 이용성에도 직접적인 영향을 미친다(Bueno 등, 2020).

수분 함량이 높은 TMF는 발효 과정 중 미생물 대사

Table 1. Comparison of TMR and TMF

| Items | TMR | TMF | References |
|---|---|---|---|
| Process | Simple mixing of forage, concentrate, by-products | TMR mixing + anaerobic sealing & LAB fermentation | Schingoethe(2017) |
| Storage stability | 1–3 days (short) | Weeks to months (excellent) | Bueno 등(2020), Kung 등(2018) |
| pH | 5.5–6.5 (near neutral) | 3.8–4.5 (rapid LAB acidification) | Kung 등(2018), Cao 등(2010) |
| Aerobic stability | Rapid spoilage (low) | 〉24 h extended (high) | Bueno 등(2020), Kung 등(2018) |
| Digestibility | Standard | Improved starch & NDF digestibility | Miyaji와 Nonaka(2018) |
| Rumen VFA & $CH_4$ | Standard acetate : Propionate ratio | ↑ Propionate, ↓ $CH_4$ 5–15% | Song 등(2023), Miyaji와 Nonaka(2018) |
| By-product utilization | 〈50% moisture (limited) | up to 60–65% (excellent) | Bueno 등(2020), Cao 등(2010) |
| Production (milk/ADG) | Standard | Similar or improved feed efficiency | Schingoethe(2017), Miyaji와Nonaka(2018) |
| Limitations | Daily mixing required, component separation risk | Fermentation variability, precise moisture & microbial control needed | Schingoethe(2017), Kung 등(2018) |

활동의 촉진으로 WSC의 소비가 증가해 결과적으로 최종 산물의 당 함량은 낮아지는 경향을 보인다(Hao 등, 2015). 또한 곡류 기반 TMF에서 수분 함량의 증가는 전분 소화율을 높이는데, 이는 고수분 환경에서 단백질 분해(proteolysis)가 활발히 진행되어 전분 입자를 둘러싼 단백질 매트릭스가 약화되었기 때문이다(Benton 등, 2005).

TMF의 수분 함량 차이가 CP, WSC, 중성세제불용섬유(neutral detergent fiber; NDF) 함량 및 *in vitro* DM 소화율에는 영향을 미치지 않으나, 젖산, 초산 및 암모니아태 질소와 같은 발효 대사산물의 농도는 수분 함량에 비례하여 증가한다(Hao 등, 2015).

따라서, TMF의 수분 함량이 증가할수록 발효 대사산물의 축적과 CP 분해가 증가해 DM 손실이 높아진다. 그러나 40-65% DM 함량에서는 수분함량 변화가 사료의 호기적 안정성에 결정적인 저해 요인으로 작용하지 않는 것으로 판단된다.

## 2.3. TMF 발효과정 중 탄수화물의 변화 및 대사산물

자당, 포도당 및 과당 등의 WSC은 발효 과정에서 미생물 성장의 기질로 이용되며, 발효가 진행됨에 따라 대사산물이 축적되는 반면 WSC의 함량은 초기 대비 점차 감소한다(Rooke와 Hatfield, 2003). TMF의 WSC 함량은 발효 전 초기 WSC 농도와 발효 기간에 의해 결정되는데 이미 발효가 된 원료를 TMF 제조에 재사용하면 WSC 함량은 낮아지고, 초기 pH가 저하되어 추가적인 탄수화물 소비가 억제된다(Kondo 등, 2015). 이와 같이 사전 발효된 사료원료의 활용은 실제 산업 현장에서는 성공적으로 적용되고 있다.

TMF의 발효 대사산물은 저장 및 급여 과정에서 사료의 저장성 결정에 필수적이며, 축우의 영양소 공급, 사료섭취량 조절 및 반추위 내 대사 경로 변화를 통해 생산성에 영향을 준다(Daniel과 Nussio, 2011). TMF 발효는 주로 LAB에 의해 주도되며, 젖산이 주요 생성물로 나타난다. 이 외에도 발효 환경에 따라 VFA, 알코올, 에스테르, 알데하이드 및 케톤 등 다양한 화합물이 생성된다(Wang과 Nishino, 2013). 이러한 최종 대사산물의 조성은 사료 원료의 종류, DM 함량, 저장 온도 및 첨가제 유무에 따라 달라지며, 최적 조건에서는 높은 수준의 젖산 농도를 유지한다(Chen 등, 2014). 요소, 미네랄, 석회석 및 중탄산나트륨 등과 같은 완충제의 첨가는 사료의 완충능력 향상으로 젖산 생성을 촉진한다(Klosterman 등, 1961). 사료를 통해 섭취된 젖산은 반추위 내 메탄 생성 감소, 프로피온산 비율 증가 및 pH 안정화를 유도하여 축우의 생산성 향상에 영향을 준다(Daniel 등, 2013). 한편, 발효 개선 및 호기적 안정성 확보를 위해 LAB 및 프로피온산 등을 사용하며, 이는 DM 함량이 낮은 조건에서 효과가 높으나, 일반적인 TMF는 별도의 첨가제를 사용하지 않더라도 발효 손실이 적고 우수한 호기적 안정성을 나타내는 특징이 있다(Nishino와 Hattori, 2007). 최근 연구에서는 *Lactiplantibacillus plantarum*과 *Lentilactobacillus buchneri*의 혼합 접종이 TMF의 호기적 안정성을 24시간 이상 추가로 연장하는 것으로 보고된 바 있다(Xu 등, 2022).

TMF 발효에 관여하는 주요 미생물들은 전분 분해효소 활성이 상대적으로 낮아 발효 과정 중 전분 함량의 감소는 나타나지 않으나(Der Bedrosian 등, 2012), 장기 저장 시에는 전분 손실이 나타난다(Miyaji 등, 2016). 그런데도 발효 과정 중 WSC 등 타 영양소의 소모율이 전분 분해율보다 높아 최종 발효 산물의 전분 농도는 초기의 TMF와 유사한 수준을 유지한다.

발효 과정이 전분 자체의 함량 변화보다는 전분 소화율을 향상시키는 것이다(Daniel 등, 2013). 이는 고수분 옥수수 사일리지에서도 유사하게 보고되며(Da Silva 등, 2019), 전분 소화율의 향상은 사료 효율 개선 및 축우의 생산성 증대와 밀접한 관련이 있다(Hibbs와 Conrad, 1976). 특히 프로라민 함량이 높은 곡류 사료에서 두드러지는데 이는 발효 과정 중 미

생물 유래 단백질 분해효소 및 유기산의 작용으로 전분 입자를 견고하게 둘러싸고 있는 단백질 구조가 분해됨으로써, 전분에 대한 소화 효소의 접근성 및 이용성이 증가하기 때문이다(Hoffman 등, 2011).

조사료의 세포벽은 셀룰로오스, 헤미셀룰로오스 및 펙틴이 복잡하게 얽힌 구조로 이루어져 있다. TMF 발효 과정에서는 주로 WSC가 미생물의 주요 기질로 이용되지만, 발효 환경에 따라 일부 세포벽 성분 또한 분해되어 에너지원으로 활용될 수 있다(Rooke와 Hatfield, 1998). 이러한 세포벽의 구조적 붕괴 및 분해 현상은 특히 수분 함량이 높은 조건에서 더욱 촉진되는 경향이 있다.

TMF 발효 과정에서 NDF 함량의 감소와 함께 CF 함량이 감소되는 경향이 보고되고 있으며(Weinberg 등, 2011), 특히 저장 기간이 경과할수록 헤미셀룰로오스가 지속적으로 감소하는 특성을 나타낸다. 이는 발효 과정에서 생성된 유기산에 의한 산 가수분해에 주로 기인하는 것이다(Ning 등, 2016). 실제로 TMF 내 NDF는 감소하는 반면, 산성세제불용섬유 함량은 일정하게 유지되는 결과는 세포벽 성분 중 상대적으로 분해가 쉬운 헤미셀룰로오스의 선택적 분해 가능성을 제시하였다(Wang과 Nishino, 2008).

비탄수화물 성분인 리그닌은 세포벽 구조를 견고하게 지지하는 핵심인자로, 일반적으로 혐기적 발효 조건에서 분해되지 않는다. 하지만 Machado (2017)의 연구에 따르면, 특정 발효 조건에서 리그닌 회수율이 감소함과 동시에 항산화 물질의 농도가 증가하는 현상이 나타나, 리그닌 구조의 부분적인 변성이나 분해가 TMF의 기능적 특성 향상에 연관된 것이다.

따라서, TMF 발효 과정에서 가용성 탄수화물은 주요 발효 기질로서 빠르게 이용되는 반면, 전분과 섬유소 성분은 저장 환경 및 원료 특성에 따라 부분적인 구조변화를 거치며, 최종 사료의 소화율 및 영영소 이용성에 영향을 미치는 것으로 판단된다.

## 2.4. TMF 발효과정 중 단백질의 변화

TMF의 발효 과정에서 질소 손실이 발생할 수는 있으나, 이는 WSC 소모량에 비해 상대적으로 적어 전체 CP 함량에는 영향을 미치지 않는다(Rooke와 Hatfield, 2003). 하지만, 발효 과정 중 단백질 분해는 광범위하게 진행되며, 특히 순단백질(true protein)이 식물 및 미생물 유래 효소에 의해 비단백질태 질소화합물로 전환되는 과정이 나타난다(McDonald 등, 1991). TMF는 다양한 원료가 혼합된 복합 사료이므로 단백질 분해에 미치는 식물 효소와 미생물의 역할을 명확히 구분하기는 한계가 있으나, 주로 장내세균(Enterobacteriaceae), 클로스트리디아(*Clostridia*) 및 바실러스(*Bacillus*) 등이 주요 단백질 분해 미생물로 작용한다(Pahlow 등, 2003).

두과 및 한지형 목초와 같은 고단백 조사료에서의 과도한 단백질 분해는 축우의 질소 이용 효율(nitrogen use efficiency; NUE)을 저하할 수 있으나(Huhtanen 등, 2008), 옥수수 및 기반의 사료에서는 발효 과정 중 단백질 분해 효소가 전분 입자를 둘러싼 소수성 단백질 매트릭스인 프로라민을 분해하여 전분 소화율을 증가시킨다(Hoffman 등, 2011). 이러한 전분 이용성의 증대는 반추위 내 미생물 단백질 합성을 촉진하여 축우의 NUE를 향상한다(Emeterio 등, 2000). 일반적으로 TMR 사양에서는 저장 중에 발생하는 단백질 손실을 보전하기 위해 열처리 대두박 등을 추가하여 대사단백질 요구량을 충족시키지만, TMF 모든 배합 원료가 동시에 발효 과정에 노출되므로 모든 단백질원이 분해 과정을 거친다는 고유한 특성을 갖는다(Bueno 등, 2020).

TMF 발효 과정에서 단백질 분해는 두 단계로 구분된다. 1단계에는 식물 및 미생물 유래 단백질 분해효소에 의한 가수분해가 일어나 펩타이드와 유리 아미노산으로 전환되며(McDonald 등, 1991), 2단계에서는 아미노산의 탈탄산 반응으로 생리활성 아민과 이산화탄소가 생성되거나, 탈아민 반응으로 암모니아와 유기산이 생성된다(Scherer 등, 2015).

단백질 분해는 pH, 수분 함량, 온도 및 저장 기간에 의해 결정된다. TMF의 pH가 4.0 이하로 빠르게 감소하면 단백질 분해는 억제되는 경향을 보이나(Heron 등, 1986), 저장 기간이 길어질수록 분해 현상은 지속해서 진행된다(Hoffman 등, 2011). 한편, TMF는 옥수수 사일이지 및 목초 사일리지에 비해 생리활성 아민의 생성량이 적은데, 이는 건조 곡류나 열처리된 부산물과 같이 단백질 분해에 덜 민감한 원료가 다량 포함되어 있기 때문이다(Nishino 등, 2003a).

따라서, TMF에서의 단백질 분해는 고단백 조사료 단일 발효 시에 비해 상대적으로 완만하게 일어나며, 이는 높은 DM 함량과 원료 특성에 영향을 받는다. 발효 과정에서 반추위 난분해성 단백질은 감소하는 반면, 반추위 분해성 단백질(ruminally degradable protein; RDP)은 증가하여, 전체 사료 배합 비율 조정을 통해 영양학적 균형을 충분히 확보할 수 있는 범위이다(Bueno 등, 2020).

## 2.5. TMF 발효과정 중 지질의 변화

TMF의 주요 지질 공급원은 곡류, 유지종자 및 다양한 농업부산물이다. 조사료에서는 리놀렌산이 주된 지방산이며, 곡류와 유지종자에서는 리놀레산이 풍부하며, 팔미트산, 스테아르산 및 올레산 등도 조사료와 농후사료의 대표적인 지방산 구성 성분을 형성한다(Liu 등, 2019).

혐기적 발효 과정에서는 NADH와 같은 환원형 보조인자가 축적되어, 지방산은 환원적 대사를 통한 에너지 생성에 제한되어(Nelson, 2008), TMF 내 지방산은 미생물의 주요 에너지원으로 거의 활용되지 않으며(Mackie 등, 1991), 결과적으로 TMF의 총 지질 함량은 원료 배합 시점과 유사한 수준을 유지하게 된다. 하지만, 발효 기전 및 효소 활성에 의해 개별 지방산의 구성 비율에는 변화가 나타난다(Liu 등, 2019).

TMF 발효 과정 중에는 비에스트화 지방산인 유리지방산의 비율이 증가하는데(Elgersma 등, 2003), 이러한 지질 분해는 주로 식물 및 미생물 유래 리파아제와 리폭시게나아제에 의해 이루어진다. 리파아제는 트리글리세리드의 에스테르 결합을 가수분해하여 글리세롤과 유리지방산을 생성하며(Gadge 등, 2011), 생성된 유리지방산은 특정 조건에서 리폭시게나아제에 의해 산화될 수 있다. 특히 리폭시게나아제는 리놀레산과 리놀렌산을 산화시켜 과산화물을 형성하고, 이후 알데하이드 및 케톤류로 분해되어 사료의 풍미와 품질에 영향을 미친다(Feussner와 Wasternack, 2002).

리파아제와 리폭시게나아제의 활성은 발효 상태가 불량한 TMF에서 높게 나타나며, 특히 TMF의 pH와 온도에 영향을 받는다. 리파아제는 약 24℃ 및 pH 8.0에서 최대 활성이 나타나고(Gadge 등, 2011), 리폭시게나아제는 pH 6.5-8.0에서 최적의 활성을 나타낸다(Malekian, 2000). 이로 인해 발효 초기 단계에서 pH가 빠르게 낮추면 지방산의 분해 및 산화 반응을 억제할 수 있다.

TMF 저장 온도와 기간 또한 지방산 조성에 영향을 주는 인자로 작용한다. 발효 초기에는 총 지방산 및 올레산, 리놀렌산 등 불포화 지방산의 감소폭이 가장 크게 나타나며, 특히 45℃ 이상의 고온 환경에서는 이러한 감소가 심화된다. 장기 저장 시 저온 조건에서도 미생물 및 효소 활성에 의해 지방산 감소가 나타날 수 있다(Ding 등, 2013).

따라서, 발효 과정이 적절히 관리된 TMF에서는 지방산이 미생물 기질로 거의 이용되지 않아 총 지질 함량의 변화는 없으나, 발효 및 저장 환경에 따라 유리지방산의 증가와 불포화 지방산의 감소 등 개별 지방산 조성의 변화가 나타나며, 이러한 변화는 특히 초기 pH 관리가 미흡하거나 고온 조건에서 더욱 두드러지게 나타난다.

## 2.6. TMF 발효과정 중 비타민과 미네랄의 변화

반추동물은 비반추동물에 비해 외부 비타민 공급에 대한 의존도가 상대적으로 낮은 특성을 보이는데, 이는

반추위 미생물에 의해 비타민 B군과 K가 합성되며, 비타민 D는 체표면에서 자외선에 의해, 비타민 C 체내에서 자체적으로 합성되기 때문이다(NRC, 2001). 축우의 사양관리에서는 비타민 A와 E와 같은 지용성 비타민의 외부 공급이 필수적이며, 이들 성분은 주로 푸른색의 조사료에 함유된 카로틴과 토코페롤로 일부 공급된다(Nozière 등, 2006).

TMF 발효 과정은 일반적으로 카로티노이드와 토코롤 함량을 감소시키나, 그 감소폭은 건초 및 예건 조사료에 비해 상대적으로 적다(Carter, 1960). 조사료 내 카로틴과 토코페롤은 수확 후 산화 반응에 매우 취약하며, 특히 자외선 노출, 산소 접촉, 고온 및 리폭시게나아제 활성에 의해 분해가 촉진된다(Cardinault 등, 2004). 토코페롤은 항산화 기전을 통해 다른 영양소의 산화를 억제하는 과정에서 자체적으로 소모 및 분해되는 특징을 갖는다(McDowell, 2000).

TMF의 발효 과정 중 카로티노이드는 pH 3.7-4.2의 낮은 산도 조건에서도 산소에 노출되면 급격히 분해되며, 특히 30-40℃의 온도에서 분해 속도가 빨라진다(Kalac와 Kyzlink, 1979). 반면, 혐기적 상태에서 LAB의 대사가 신속히 진행되어 pH가 저하되면 카로틴 및 토코페롤의 보존율에 긍정적인 영향을 준다(Müller 등, 2007). 실제 TMF 발효 과정에서 카로틴 함량은 리폭시게나아제 활성으로 인해 약 20-25.5% 감소하는 것으로 나타났지만(Nozière 등, 2006), 토코페롤은 약 11.6% 감소하여 카로틴 대비 상대적으로 높은 안정성을 보였다. 이는 토코페롤이 혐기 조건에서 화학적 안정성이 높을 뿐만 아니라 일부 반추위 미생물에 의해 합성되기 때문이다(Liu 등, 2019). 또한 저장기간이 장기화됨에 따라 토코페롤 함량은 점진적으로 감소하는 경향을 보이나(Jareš, 2018), 30℃의 특정 온도에서는 토코페롤을 합성하는 미생물 활성이 촉진되어 토코페롤 함량이 증가하게 된다(Liu 등, 2016).

미네랄의 경우 양호한 TMF 발효 과정에서는 유기물 감소에 따른 효과로 인해 발효 전 원료 대비 조회분 함량이 상대적으로 증가한다(Meschy 등, 2005). 발효 과정 중 망간 65%, 나트륨 33%, 셀레늄 27%, 아연 13% 및 마그네슘 12% 함량이 증가하였는데, 이는 가용성 영양소 손실에 따른 상대적 농도 상승에 따른 것이며, 칼슘, 인, 칼륨, 염소, 황 및 구리 등의 함량 변화는 거의 없는 것으로 나타났다(Schlegel 등, 2018).

중요한 점은 TMF 발효 과정이 미생물 증식과 산성 환경 조성을 통해 미네랄의 생체이용률이 향상되는 것이다. 발효 과정 중 LAB는 아셀렌산나트륨과 같은 무기태 셀레늄을 유기태 셀레늄으로 전환하여 체내 흡수율을 높이며(Lee 등, 2019), 산성 환경은 철 등의 금속이온 용해도를 높여 이용성을 증가시킨다(Hansen과 Spears, 2009). 또한, 칼슘, 마그네슘, 아연 및 철 등과 결합하여 미네랄 이용성을 저해하는 피틴산과 옥살산과 같은 항영양 인자들이 발효 과정을 통해 분해된다. 실제로 발효 중 피틴산은 약 32% 감소하며(Humer 등, 2014), 옥살산은 약 59% 감소하는 것으로 보고되어(Giang, 2010), TMF의 발효 과정은 미네랄이 영양학적 가치를 높인다.

따라서 TMF 발효 과정에서 카로틴과 토코페롤의 일부 손실이 발생할 수 있으나, 신속한 혐기 상태 확보를 통해 보존율을 높일 수 있다. 또한 미네랄의 총 함량 변화는 크지 않지만, 미생물 대사 및 항영양 인자의 제거를 통해 생체이용률이 향상된다. TMF 발효 과정 중의 주요한 변화는 Table 2에 요약하여 정리하였다.

## 2.7. 축우에서의 TMF 급여 효과 및 생산성 변화

미국의 낙농 산업은 1960년대 이후 개체당 산유량 증대, 사육 규모의 대형화, 프리스톨 우사 도입 및 자동화 착유 시스템의 발전과 함께 TMR 사양 방식이 급격히 확산되었으며, 이를 기점으로 TMF에 관한 초기 연구가 시작되었다(Schingoethe, 2017). 초기 연구에 따르면, TMR의 수분 함량이 낮을수록 DMI는 증가하고 유지율 또한 높게 나타났으나, 최종적으로 지방보정유량(fat corrected milk; FCM)에는 차이가 없는 것

Table 2. Fermentation process and quality changes during storage periods of TMF

| Items | Mechanism | Indicators | References |
|---|---|---|---|
| LAB dominance | Rapid proliferation of lactic acid bacteria under anaerobic conditions lowers pH and suppresses spoilage microorganisms | ↑ lactic acid<br>↓ pH, yeast and mold counts | Wang과 Nishino(2008), Nishino와 Hattori(2007), Kung 등(2018) |
| Carbohydrate fermentation | WSC are utilized as substrates for microbial fermentation producing organic acids | ↑ lactic acid, VFA<br>↓ WSC | Rooke와 Hatfield(2003), Kondo 등(2015) |
| Protein degradation | True protein degraded into peptides, amino acids and NPN by microbial and plant enzymes | ↑ $NH_3$-N, NPN, CP | McDonald 등(1991), Hao 등(2015) |
| Starch accessibility improvement | Breakdown of prolamin surrounding starch granules enhances enzymatic accessibility | ↑ starch digestibility, stable starch content | Hoffman 등(2011), Benton 등(2005) |
| Fiber degradation | Partial hydrolysis of hemicellulose and cell wall components due to organic acid production | ↓ NDF, stable ADF | Ning 등(2016), Weinberg 등(2011) |
| Lipid transformation | Lipolysis increases free fatty acids; oxidation of unsaturated fatty acids under certain conditions | ↑ FFA<br>↓ unsaturated FA | Elgersma 등(2003), Liu 등(2019) |
| Vitamin degradation | Oxidative degradation of carotenoids and tocopherols during storage | ↓ carotene, tocopherol | Kalac과 Kyzlink(1979), McDowell(2000) |
| Mineral bioavailability | Reduction of phytate, oxalate and microbial transformation enhances mineral availability | ↑ bioavailability of Ca, Fe, Zn, Se | Hansen과 Spears(2009), Humer 등(2014), Lee 등(2019) |
| Aerobic stability | Production of organic acids inhibits spoilage during air exposure | ↑ aerobic stability<br>↓ spoilage rate | Nishino와 Hattori(2007), Weinberg 등(2011) |

으로 보고되었다(Owen과 Howard, 1965).

이후 진행된 TMF와 TMR의 비교 연구에서는 TMF 급여 시 총 소화관의 DM 소화율이 향상되고, DMI는 감소하는 경향을 보였으나, 산유량 및 FCM에는 비슷한 수준을 유지하였다. 이는 발효 공정이 사료 효율을 개선하여 결과적으로 TMF의 사료효율을 TMR보다 높였다(Hibbs와 Conrad, 1976). 또한 TMF와 동일한 사료원료를 분리 급여한 결과, 생산성에는 차이가 없었으나, TMF 급여구에서 반추위 내 VFA 농도가 높게 나타나 반추위 내 분해율이 증가를 확인하였다(Pardue 등, 1975).

또한, 고수분 부산물 활용한 TMF 조제 기술에 관한 관심이 증대되었다. TMF와 TMR을 비교 분석한 결과, pH, 암모니아($NH_3$) 및 VFA 등 반추위 발효 특성과 생산성은 유사한 경향을 보였으나, TMF 급여 시 우유 내 올레산 비율이 감소하였다. 이는 발효 과정 중 불포화 지방산의 부분적 생물학적 수소첨가가 진행된 결과라고 하였다(Wongnen 등, 2009).

Miyaji와 Nonaka(2018)의 연구에 따르면, TMF 급여는 전분 및 DM 소화율을 향상시켜 DMI, 산유량 및 반추위 VFA 농도를 모두 증가시키는 것으로 나타났다. 다만 반추위 내 $NH_3$ 농도 및 요 중 질소 배설량이 함께 증가하였는데, 이는 발효 중 진행된 단백질 분해로 인해 RDP 함량이 높아진 것이지만, 최종적으로 유단백 생산량이 증가하여, TMF가 고능력 젖소의 영양학적 관리 전략으로 충분한 활용 가치가 있음을 증명하였다.

TMF는 비육우의 사양관리에도 효과적으로 활용되고 있다. *Lactobacillus plantarum*을 접종하여 제조한 TMF는 TMR에 비해 가소화 에너지와 가소화 조단

백질 함량을 높여 분으로 배설되는 질소 함량을 감소시켰다. 또한 TMF 급여 2-4시간 후 VFA 농도가 더 높게 유지되었으며, 1일 기준 약 10 L의 $CH_4$ 발생량을 저감시킴과 동시에, DMI, 대사 체중 및 에너지 섭취량의 감소 효과가 확인되었다. 이러한 결과는 발효 과정에서 생성된 젖산이 반추위 내에서 프로피온산으로 전환되면서 전자를 소비하는 반응이 촉진한 결과라고 보고하였다(Cao 등, 2010).

최근에는 TMF 급여에 따른 반추위 마이크로바이옴의 변화도 정밀하게 분석되고 있다. Song 등(2023)은 16S rRNA 시퀀싱을 통해 TMF 급여구에서 섬유소 분해균인 *Fibrobacter succinogenes*와 프로피온산 생성균인 *Selenomonas ruminantium*의 상대 풍부도가 증가하고, 메탄생성균(*Methanobrevibacter* spp.)의 비율이 감소함을 보고하여, TMF의 메탄 저감 효과가 미생물 군집 구조의 변화에 기인함을 분자생물학적으로 확인하였다. 또한 Kong 등(2025)은 메타게놈 및 메타볼로믹 분석을 결합하여 TMF 급여 시 반추위 내 프로피온산 생합성 경로 관련 유전자 발현이 증가함을 보고하였다. Trapanese 등 (2024)은 정밀사양 플랫폼 기반의 TMF 급여가 개체 단위에서 사료효율을 약 6-9% 향상시킨다고 보고하였다. 축우에서의 TMF 급여효과는 Table 3에 정리하였다.

따라서 젖소에 대한 TMF 급여는 DMI의 일부 감소에도 불구하고 소화율 향상 및 반추위 발효 환경개선을 통해 전체적인 사료효율을 높인다. 이는 산유량 유지 및 유성분 개선에 긍정적인 영향을 미쳐 경제성과 생산성을 동시에 확보할 수 있는 사양 기술로 평가된다. 또한, 비육우 사양에도 TMF는 TMR과 유사한 수준의 생산성을 유지하면서 반추위 발효 개선 및 메탄저감 효과를 나타낼 수 있는 사양기술이다. 특히 단백질원의 형태에 따른 생산성 차이는 적으나, 유지종자와 같이 에너지 밀도가 높은 원료의 활용은 비육 성적 향상을 위한 효과적인 전략으로 고려될 수 있다.

Table 3. Effects of dietary TMF on cattle productivity

| Items | Mechanism | Indicators | References |
|---|---|---|---|
| Feed efficiency improvement | Enhanced nutrient digestibility and rumen fermentation efficiency | ↑ feed efficiency, DM digestibility | Hibbs와 Conrad(1976), Bueno 등(2020) |
| Dry matter intake(DMI) | Increased fermentation products may reduce intake, but compensated by higher digestibility | ↑ nutrient utilization ↓ DMI | Cao 등(2010), Wongnen 등(2009) |
| Milk production and composition | Improved rumen fermentation enhances milk yield and components | ↑ milk yield, milk protein and fat | Miyaji 등(2016), Schingoethe(2017) |
| Growth performance | Increased digestible energy and protein availability | ↑ ADG, weight gain | Li 등(2024), Ferrari 등(2024) |
| Rumen fermentation pattern | Shift toward propionate production due to lactate utilization | ↑ propionate ↓ acetate to propionate ratio | Cao 등(2010), Daniel 등(2013) |
| Methane mitigation | Hydrogen utilization for propionate formation reduces methanogenesis | ↓ $CH_4$ emission | Cao 등(2010), Zhou 등(2018) |
| Nitrogen utilization | Increased RDP may enhance microbial protein synthesis but also $NH_3$ production | ↑ microbial protein, $NH_3$ | Emeterio 등(2000) Hao 등(2015) |
| Rumen microbial activity | Stabilized rumen environment promotes microbial growth and activity | ↑ VFA, microbial biomass | Shabat 등(2016) Han 등(2014) |

## Ⅲ. 결론

본 고찰은 TMF의 저장 과정 중 품질 변화와 축우 생산성에 미치는 영향을 분석하였다. TMF는 사료 보존 기술과 발효 과정으로 축우 사료의 영양적 가치와 체내 이용률을 극대화할 수 있는 사양 시스템이다. TMF의 저장 과정에서 형성되는 혐기적 환경과 LAB의 우점화는 사료의 pH를 신속하게 낮춰 유해 미생물의 증식을 억제하며, 장기 저장 시에도 우수한 호기적 안정성을 확보한다. 이러한 특성은 고수분 부산물의 효율적인 자원화를 가능하게 하여 사료비 절감 측면에도 도움이 된다. 또한 발효 과정 중 일어나는 생화학적 변화는 영양소의 이용성을 향상시키는데, 특히 전분을 둘러싼 단백질 매트릭스의 분해와 세포벽 성분의 부분적 가수분해는 반추위 미생물의 기질 접근성을 증가시켜 소화율을 개선한다. 또한, 피틴산 및 옥살산과 같은 항영양 인자의 감소는 미네랄의 생체이용률을 높여 축우의 영양 상태를 최적화한다. TMF 급여는 반추위 발효 환경을 개선하여 사료 효율을 증진하며, 젖산 유래 프로피온산 생성 촉진은 에너지 이용을 향상하는 동시에 메탄 발생을 저감 효과를 통해 탄소 중립형 축우 생산 시스템을 구축할 수 있다. 이러한 생리적·대사적 이점은 젖소의 산유량 유지 및 비육우의 증체량 향상으로 이어져 실질적인 생산성 증대로 이어진다.

따라서, TMF는 원료 조성, 수분 함량, 저장 온도 및 저장 기간에 따라 품질 변동성이 발생할 수 있으므로, 최적의 발효 품질 유지를 위한 체계적인 관리 기술의 확립이 필수적이다. 앞으로 지금보다 TMF 제조 및 발효 기술이 더욱 정밀화된다면, 국내 축우 산업은 사료 자원 의존 문제를 극복하고 지속·가능한 고효율 생산 체계를 구축할 수 있을 것이다.

## Ⅳ. 향후 연구 방향

최근 다중 오믹스 기법이 빠르게 도입됨에 따라 TMF의 원료 조성, 발효 조건, 반추위 미생물 군집 변화 및 메탄·프로피온산 생성 경로 등의 연구가 진행되고 있으며(Kong 등, 2025), IoT 센서, 머신러닝 기반 사료섭취 예측 모델 및 자동 급이 시스템과 TMF를 연계한 개체 단위의 정밀영 양·사양기술 개발이 필요할 것이다(Trapanese 등, 2024). 또한 GreenFeed 및 호흡 챔버 등을 활용한 장기 *in vivo* 검증과 전과정평가 기반의 메탄 저감효과 평가(Hristov 등, 2022)와 호기적 안정성을 연장할 수 있는 이종발효 유산균(*L. buchneri* 등), 효모·곰팡이 억제 펩타이드 및 천연 항산화제 등을 결합한 복합 첨가제의 최적 조합과 작용기전에 관한 연구(Xu 등, 2022) 등을 활용한다면 TMF는 향후 국내 축우 산업의 사료자원 자급률 제고와 메탄 저감을 통한 지속·가능한 축우산업을 실현하는 핵심 기술로 자리매김할 수 있을 것으로 판단된다.

## 감사의 글

본 연구는 2026학년도 광주여자대학교 교내 연구비 지원으로 이루어진 것입니다(KWU26-063).

## Conflict of Interests

No potential conflict of interest relevant to this article was reported.

## ORCID

Youn-Su Lee
https://orcid.org/0009-0007-0025-5248
Gyo-Moon Chu
https://orcid.org/0000-0001-7688-0217

## 참고문헌

Benton JR, Klopfenstein T, Erickson GE. Effects of corn moisture and length of ensiling on dry matter digestibility and rumen degradable protein. Nebraska Beef Cattle Reports, University of

Nebraska-Lincoln, Lincoln, NE, USA, p 31-33 (2005)
Bueno AVI, Lazzari G, Jobim CC, Daniel JLP. Ensiling total mixed ration for ruminants: A review. Agronomy, 10, 879 (2020)
Cao Y, Takahashi T, Horiguchi K, Yoshida N, Zhou D. *In vitro* ruminal dry matter digestibility and methane production of fermented total mixed ration containing whole-crop rice and rice bran. Grassl Sci, 58, 133-139 (2012)
Cao Y, Takahashi T, Horiguchi K. Effects of addition of food by-products on the fermentation quality of a total mixed ration with whole crop rice and its digestibility, preference, and rumen fermentation in sheep. Anim Feed Sci Technol, 151, 1-11 (2009)
Cao Y, Takahashi T, Horiguchi KI, Yoshida N, Cai Y. Methane emissions from sheep fed fermented or non-fermented total mixed ration containing whole-crop rice and rice bran. Anim Feed Sci Technol, 157, 72-78 (2010)
Cardinault N, Doreau M, Nozière P. Fate of carotenoids in the rumen. Rencontres Rech Rumin, 11, 82 (2004)
Carter WRB. A review of nutrient losses and efficiency of conserving herbage as silage, barn-dried hay and field-cured hay. Grass Forage Sci, 15, 220-230 (1960)
Chen L, Guo G, Yuan X, Shimojo M, Yu C, Shao T. Effect of applying molasses and propionic acid on fermentation quality and aerobic stability of total mixed ration silage prepared with whole-plant corn in Tibet. Asian-Australas J Anim Sci, 27, 349-356 (2014)
Coblentz WK, Akins MS. Silage review: Recent advances and future technologies for baled silages. J Dairy Sci, 101, 4075-4092 (2018)
Da Silva NC, Nascimento CF, Campos VM, Alves MA, Resende FD, Daniel JLP, Siqueira GR. Influence of storage length and inoculation with *Lactobacillus buchneri* on the fermentation, aerobic stability, and ruminal degradability of high-moisture corn and rehydrated corn grain silage. Anim Feed Sci Technol, 251, 124-133 (2019)
Daniel JLP, Amaral RC, Goulart RS, Zopollatto M, Santos VP, Filho SGT, Cabezas-Garcia EH, Lima JR, Nussio CMB. Short-term effects of silage volatile compounds on feed intake and digestion in beef cattle. J Anim Sci, 91, 2321-2331 (2013)
Daniel JLP, Nussio LG. Contribution of silage volatile compounds for the animal nutrition. In: Proceedings of the II International Symposium on Forage Quality and Conservation, São Pedro, Brazil, p 279-306 (2011)
Der Bedrosian MC, Nestor KE, Kung L. Effects of hybrid, maturity, and length of storage on the composition and nutritive value of corn silage. J Dairy Sci, 95, 5115-5126 (2012)
Dey MC, Jairath G, Gadzama IU, Alves SP, Ponnampalam EN. Impact of mixed rations on rumen fermentation, microbial activity and animal performance: Enhancing livestock health and productivity—Invited review. Ruminants, 5, 42 (2025)
Ding W, Long R, Guo X. Effects of plant enzyme inactivation or sterilization on lipolysis and proteolysis in alfalfa silage. J Dairy Sci, 96, 2536-2543 (2013)
Elgersma A, Ellen G, Van der Horst H, Muuse B, Boer H, Tamminga S. Comparison of the fatty acid composition of fresh and ensiled perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.), affected by cultivar and regrowth interval. Anim Feed Sci Technol, 108, 191-205 (2003)
Emeterio FS, Reis R, Campos W, Satter LD. Effect of coarse or fine grinding on utilization of dry or ensiled corn by lactating dairy cows. J Dairy Sci, 83, 2839-2848 (2000)
Ferrari VB, Bondurant RG, Erickson GE, Wilke KH, MacDonald JC. Effects of displacing modified distillers grains with dry-rolled corn in a total mixed ration on performance of growing beef steers consuming cornstalk residue from different harvest methods. Appl Anim Sci, 40, 717-724 (2024)
Feussner I, Wasternack C. The lipoxygenase pathway.

Annu Rev Plant Biol, 53, 275-297 (2002)
Gadge PP, Madhikar SD, Yewle JN, Jadhav UU, Chougale AD, Zambare VP, Padul MV. Biochemical studies of lipase from germinating oil seeds (*Glycine max*). Am J Biochem Biotechnol, 7, 141-145 (2011)
Giang NT. Effect of taro (*Colocasia esculenta*) foliage on the performance of growing common ducks. MS Thesis, Swedish University of Agricultural Sciences, Sweden (2010)
Han H, Ogata Y, Yamamoto Y, Nagao S, Nishino N. Identification of lactic acid bacteria in the rumen and feces of dairy cows fed total mixed ration silage to assess the survival of silage bacteria in the gut. J Dairy Sci, 97, 5754-5762 (2014)
Hansen S, Spears JW. Bioaccessibility of iron from soil is increased by silage fermentation. J Dairy Sci, 92, 2896-2905 (2009)
Hao W, Wang HL, Ning TT, Yang FY, Xu CC. Aerobic stability and effects of yeasts during deterioration of non-fermented and fermented total mixed ration with different moisture levels. Asian-Australas J Anim Sci, 28, 816-826 (2015)
Heron SJE, Edwards RA, McDonald P. Changes in the nitrogenous components of gamma-irradiated and inoculated ensiled ryegrass. J Sci Food Agric, 37, 979-985 (1986)
Hibbs JW, Conrad HR. Complete ensiled corn rations for lactating dairy cows. Ohio Agricultural Research and Development Center, Wooster, OH, USA, p 3-18 (1976)
Hobson PN, Stewart CS. The Rumen Microbial Ecosystem. Springer, Berlin/Heidelberg, Germany (1997)
Hoffman P, Esser N, Shaver R, Coblentz W, Scott M, Bodnar A, Schmidt R, Charley R. Influence of ensiling time and inoculation on alteration of the starch-protein matrix in high-moisture corn. J Dairy Sci, 94, 2465-2474 (2011)
Hristov AN, Melgar A, Wasson D, Arndt C. Symposium review: Effective nutritional strategies to mitigate enteric methane in dairy cattle. J Dairy Sci, 105, 8543-8557 (2022)
Huhtanen P, Nousiainen JI, Rinne M, Kytölä K, Khalili H. Utilization and partition of dietary nitrogen in dairy cows fed grass silage-based diets. J Dairy Sci, 91, 3589-3599 (2008)
Humer E, Wetscherek W, Schwarz C, Schedle K. Effects of maize conservation techniques on the apparent total tract nutrient and mineral digestibility and microbial metabolites in the faeces of growing pigs. Anim Feed Sci Technol, 197, 176-184 (2014)
Jareš M. Changes in content of tocols during storage of ensiled rehydrated maize grain. MS Thesis, University of Zagreb, Faculty of Agriculture, Zagreb, Croatia (2018)
JIRCAS. Preparation technology manual: Silage and fermented TMR. Japan International Research Center for Agricultural Sciences (2021)
Kalac P, Kyzlink V. Losses of beta-carotene in red clover in an acid medium during ensiling. Anim Feed Sci Technol, 4, 81-89 (1979)
Klosterman EW, Moxon AL, Johnson RR, Scott HW, Van Stavern J. Feeding value for fattening cattle of corn silages treated to increase their content of organic acids. J Anim Sci, 20, 493-496 (1961)
Kondo M, Shimizu K, Jayanegara A, Mishima T, Matsui H, Karita S, Goto M, Fujihara T. Changes in nutrient composition and *in vitro* ruminal fermentation of total mixed ration silage stored at different temperatures and periods. J Sci Food Agric, 96, 1175-1180 (2015)
Kong M, Pan Z, Wang X, Huang J, Tulafu H, Xu Y, Sulaiman Y, Wu W. Integrated multi-omics analysis reveals rumen and rectal microbiota–metabolite interaction features in polytocous fine-wool sheep with divergent residual feed intake. Front Microbiol, 16, 1712307 (2025)
Kung L Jr, Shaver RD, Grant RJ, Schmidt RJ. Silage review: Interpretation of chemical, microbial, and organoleptic components of silages. J Dairy Sci, 101, 4020-4033 (2018)

Lee MRF, Fleming HR, Cogan T, Hodgson C, Davies DR. Assessing the ability of silage lactic acid bacteria to incorporate and transform inorganic selenium within laboratory scale silos. Anim Feed Sci Technol, 253, 125-134 (2019)

Lee SJ, Shin NH, Jeong HS, Moon YH, Lee SS. Effects of synbiotics prepared with anaerobic bacteria, yeast and mold on chemical composition changes and fermentation characteristics of total mixed ration for cattle. J Life Sci, 19, 241-248 (2009)

Li W, Ye B, Wu B, Yi X, Li X, A R, Cui X, Zhou Z, Cheng Y, Zhu X, Zhang Y, Gao S. Effect of total mixed ration on growth performance, rumen fermentation, nutrient digestion, and rumen microbiome in Angus beef cattle during the growing and fattening phases. Fermentation, 10, 205 (2024)

Liu Q, Shao T, Bai Y. The effect of fibrolytic enzyme, *Lactobacillus plantarum* and two food antioxidants on the fermentation quality, alpha-tocopherol and beta-carotene of high moisture Napier grass silage ensiled at different temperatures. Anim Feed Sci Technol, 221, 1-11 (2016)

Liu Q, Wu J, Shao T. Roles of microbes and lipolytic enzymes in changing the fatty acid profile, $\alpha$-tocopherol and $\beta$-carotene of whole-crop oat silages during ensiling and after exposure to air. Anim Feed Sci Technol, 253, 81-92 (2019)

Lovarelli D, Bacenetti J, Guarino M. A review on dairy cattle farming: Is precision livestock farming the compromise for an environmental, economic and social sustainable production? J Clean Prod, 262, 121409 (2020)

Machado AM. Lignin and antioxidants of total mixed ration silage. MS Thesis, Federal University of Viçosa, Viçosa, Brazil (2017)

Mackie RI, White BA, Bryant MP. Lipid metabolism in anaerobic ecosystems. Crit Rev Microbiol, 17, 449-479 (1991)

Malekian F. Lipase and lipoxygenase activity, functionality, and nutrient losses in rice bran during storage. Ph.D. Dissertation, Louisiana State University, Baton Rouge, LA, USA (2000)

McDonald P, Henderson N, Heron S. The Biochemistry of Silage, 2nd ed. Chalcombe Publications, Marlow, UK, p. 1-340 (1991)

McDowell LR. Vitamins in Animal and Human Nutrition, 2nd ed. Iowa State University Press, Ames, IA, USA, p. 1-793 (2000)

Meschy F, Baumont R, Dulphy JP, Nozières MO. Effect of conservation on the major mineral concentration of forages. Rencontres Rech Rumin, 12, 116 (2005)

Miller-Cushon EK, DeVries TJ. Effect of dietary dry matter concentration on the sorting behavior of lactating dairy cows fed a total mixed ration. J Dairy Sci, 92, 3292-3298 (2009)

Miyaji M, Matsuyama H, Nonaka K. Effect of ensiling process of total mixed ration on fermentation profile, nutrient loss and *in situ* ruminal degradation characteristics of diet. Anim Sci J, 88, 134-139 (2016)

Miyaji M, Nonaka K. Effects of altering the proportion of dietary forage by replacement with fermented total mixed ration containing soybean curd residue or wet brewers grains on lactational performance in dairy cows. Anim Sci J, 89, 154-161 (2018)

Mizrahi I, Wallace RJ, Moraïs S. The rumen microbiome: Balancing food security and environmental impacts. Nat Rev Microbiol, 19, 553-566 (2021)

Müller CE, Möller J, Krogh Jensen S, Udén P. Tocopherol and carotenoid levels in baled silage and haylage in relation to horse requirements. Anim Feed Sci Technol, 137, 182-197 (2007)

Nagaraja TG, Titgemeyer EC. Ruminal acidosis in beef cattle: The current microbiological and physiological concepts. J Dairy Sci, 90, E17-E38 (2007)

National Research Council. Nutrient Requirements of Dairy Cattle, 7th ed. The National Academies Press, Washington, DC, USA, p. 1-381 (2001)

Nelson DL. Lehninger Principles of Biochemistry, 5th

ed. W. H. Freeman and Company, New York, NY, USA (2008)

Ning T, Wang H, Zheng M, Niu D, Zuo S, Xu C. Effects of microbial enzymes on starch and hemicellulose degradation in total mixed ration silages. Asian-Australas J Anim Sci, 30, 171-180 (2016)

Nishino N, Harma H, Sakaguchi E. Changes in soluble sugars and fermentation products of TMR silages prepared with high and low malt type brewer's grains. Grassl Sci, 49, 367-372 (2003b)

Nishino N, Hattori H. Resistance to aerobic deterioration of total mixed ration silage inoculated with and without homofermentative or heterofermentative lactic acid bacteria. J Sci Food Agric, 87, 2420-2426 (2007)

Nishino N, Wada H, Yoshida M, Shiota H. Microbial counts, fermentation products, and aerobic stability of whole crop corn and a total mixed ration ensiled with and without inoculation of *Lactobacillus casei* or *Lactobacillus buchneri*. J Dairy Sci, 87, 2563-2570 (2003a)

Nozière P, Graulet B, Lucas A, Martin B, Grolier P, Doreau M. Carotenoids for ruminants: From forages to dairy products. Anim Feed Sci Technol, 131, 418-450 (2006)

Owen F, Howard W. Effect of ration moisture level on value of alfalfa plus cracked corn as a complete-feed silage for lactating cows. J Dairy Sci, 48, 1310-1314 (1965)

Pahlow G, Muck RE, Driehuis F, Elferink SJWHO, Spoelstra SF. Microbiology of ensiling. Silage Science and Technology. In: Buxton DR, Muck RE, Harrison JH (Editors), American Society of Agronomy, Crop Science Society of America, and Soil Science Society of America, Madison, WI, USA, p. 31-93 (2003)

Pardue F, Fosgate O, O'Dell G, Brannon C. Effects of complete ensiled ration on milk production, milk composition, and rumen environment of dairy cattle. J Dairy Sci, 58, 901-906 (1975)

RDA. Standard Management Manual for Hanwoo (Korean native beef cattle). National Institute of Animal Science, Rural Development Administration (2022)

Rooke JA, Hatfield RD. Biochemistry of ensiling. Silage Science and Technology. In: Buxton DR, Muck RE, Harrison JH, eds. American Society of Agronomy, Crop Science Society of America, and Soil Science Society of America, Madison, WI, USA, p. 95-139 (2003)

Saleem AM, Ribeiro GO, Sanderson H, Alipour D, Brand T, Hünerberg M, McAllister TA, Beauchemin KA. Effect of exogenous fibrolytic enzymes and ammonia fiber expansion on the fermentation of wheat straw in an artificial rumen system (RUSITEC). J Anim Sci, 97, 3535-3549 (2019)

Scherer R, Gerlach K, Südekum KH. Biogenic amines and gamma-amino butyric acid in silages: Formation, occurrence and influence on dry matter intake and ruminant production. Anim Feed Sci Technol, 210, 1-16 (2015)

Schingoethe DJ. A 100-year review: Total mixed ration feeding of dairy cows. J Dairy Sci, 100, 10143-10150 (2017)

Schlegel P, Wyss U, Arrigo Y, Hess HD. Mineral concentrations of fresh herbage from mixed grassland as influenced by botanical composition, harvest time and growth stage. Anim Feed Sci Technol, 219, 226-233 (2018)

Shabat SKB, Sasson G, Doron-Faigenboim A, Durman T, Yaacoby S, Miller MEB, White BA, Shterzer N, Mizrahi I. Specific microbiome-dependent mechanisms underlie the energy harvest efficiency of ruminants. ISME J, 10, 2958-2972 (2016)

Song J, Ma Y, Zhang H, Wang L, Zhang Y, Zhang G. Fermented total mixed ration alters rumen fermentation parameters and microbiota in dairy cows. Animals, 13, 1062 (2023)

Trapanese L, Bifulco G, Calanni Macchio A, Aragona F, Purrone S, Campanile G, Salzano A. Precision livestock farming applied to the dairy sector: 50 years of history with a text mining and topic

analysis approach. Anim Sci Proc, 16, 385-386 (2024)

Van Soest PJ. Nutritional Ecology of the Ruminant, 2nd ed. Cornell University Press, Ithaca, NY, USA (1994)

Wang F, Nishino N. Ensiling of soybean curd residue and wet brewers grains with or without other feeds as a total mixed ration. J Dairy Sci, 91, 2380-2387 (2008)

Wang J, Wang J, Bu D, Guo W, Song Z, Zhang J. Effect of storing total mixed rations anaerobically in bales on feed quality. Anim Feed Sci Technol, 161, 94-102 (2010)

Wang M, Franco M, Cai Y, Yu Z. Dynamics of fermentation profile and bacterial community of silage prepared with alfalfa, whole-plant corn and their mixture. Anim Feed Sci Technol, 270, 114702 (2020)

Weinberg Z, Chen Y, Miron D, Raviv Y, Nahim E, Bloch A, Yosef E, Ashbell G. Preservation of total mixed rations for dairy cows in bales wrapped with polyethylene stretch film—A commercial scale experiment. Anim Feed Sci Technol, 164, 125-129 (2011)

Wongnen C, Wachirapakorn C, Patipan C, Panpong D, Kongweha K, Namsaen N, Cherdthong A. Effects of fermented total mixed ration and cracked cottonseed on milk yield and milk composition in dairy cows. Asian-Australas J Anim Sci, 22, 1625-1632 (2009)

Xu D, Ding Z, Wang M, Bai J, Ke W, Zhang Y, Guo X. Modulation of metabolome and bacterial community in whole crop corn silage by inoculating homofermentative *Lactobacillus plantarum* and heterofermentative *Lactobacillus buchneri*. Front Microbiol, 12, 791009 (2022)

Zhou M, Peng YJ, Chen Y, Klinger CM, Oba M, Liu JX, Guan LL. Assessment of microbiome changes after rumen transfaunation: Implications on improving feed efficiency in beef cattle. Microbiome, 6, 62 (2018)