

# 미생물제제 및 유기산제제의 처리가 사일리지 품질에 미치는 영향: 메타분석

조상범<sup>1</sup> · 권찬호<sup>2</sup> · 김은중<sup>3\*</sup>

<sup>1</sup>건국대학교, 동물자원연구센터, 서울 143-701, <sup>2</sup>경북대학교 말특수동물학과, 상주 742-711,

<sup>3</sup>경북대학교 축산학과, 상주 742-711

## Effects of Bacterial Inoculants and Organic Acids on Silage Quality : Meta-analysis

Sangbuem Cho<sup>1</sup>, Chan Ho Kwon<sup>2</sup> and Eun Joong Kim<sup>3\*</sup>

<sup>1</sup>Animal Resources Research Center, Konkuk University, Seoul 143-701, South Korea,

<sup>2</sup>Department of Horse and Exotic Animal Science, Kyungpook National University, Sangju 742-711, South Korea,

<sup>3</sup>Department of Animal Science, Kyungpook National University, Sangju 742-711, South Korea

### ABSTRACT

This study was conducted to estimate and compare the effects of bacterial inoculants and organic acids on silage quality. Silage pH, lactate, acetate, lactate:acetate ratio, propionate, butyrate, water-soluble carbohydrate, crude protein, ammonia-N, neutral detergent fiber and acid detergent fiber (ADF) were used as parameters for quality analysis and a meta-analysis technique was employed to determine the effect size. As a data pool for analysis, we examined 14 research papers. Bacterial inoculants were found to elevate pH, lactate, acetate, lactate:acetate ratio, propionate and ADF contents compared to the controls ( $p < 0.01$ ). In contrast bacterial inoculants decreased butyrate, water-soluble carbohydrate, crude protein and ammonia-N contents ( $p < 0.01$ ). In the organic acid treatments, all parameters except ADF showed higher contents than the control ( $p < 0.01$ ). In the comparison of effect sizes between the two treatments, significant differences were detected in butyrate, water-soluble carbohydrate, crude protein and ammonia-N ( $p < 0.05$ ). It may be concluded that bacterial inoculants could improve silage quality in terms of the aforementioned four parameters compared with organic acid treatments.

**(Key words :** Silage quality, Fermentation, Bacterial inoculants, Organic acids, Meta-analysis)

### I. 서 론

사일리지는 미생물에 의하여 사료작물이 발효되고 젖산과 같은 유기산이 축적되는 과정을 통하여 만들어진다. 따라서 발효과정은 사일리지의 품질을 결정짓는 중요한 생물학적 과정이라고 할 수 있다(Gao et al., 2008; Mohd-Setapar et al., 2012). 사일리지의 발효를 촉진시킴으로써 품질을 향상시키는 첨가제에는 다양한 것들이 있으며, 미생물을 이용한 미생물제제(Cao et al., 2011)와 유기산을 이용한 유기산제제(Kung Jr et al., 2000) 등이 대표적이다. 미생물제제는 유산균을 이용하는 제품이 많으며, 단일 유산균 혹은 다양한 유산균들을 혼합하여 제조된다(Cao et al., 2011; Fang et al., 2012). 유기산제제는 프로피온산, 젖

산, 초산 및 시트르산과 같은 유기산 혹은 benzoic acid 및 potassium sorbate와 같은 보존제 등이 주성분으로 구성된 제품들이 많다(Kleinschmit and Kung Jr, 2006; Kung Jr et al., 2000). 두 가지 종류의 첨가제 모두 발효 초기에 pH를 빠른 시간 내에 안정화시킴으로써 사일리지 품질 저하의 원인이 되는 오염균의 발생과 이상발효를 억제시키는 효과를 지니고 있다. 그러나 두 가지 첨가제들은 서로 다른 특성을 가지고 있어, 최종 사일리지의 품질에 미치는 영향은 다르게 나타낼 수 있다. 따라서 두 가지 제제들이 사일리지 품질에 미치는 영향을 비교분석하는 것은 목적에 따른 제제의 선택에 있어 매우 중요한 자료를 제공할 수 있을 것이다. 이에 본 연구는 메타분석 기법을 이용하여 미생물제제와 유기산 제제들이 사일리지 품질에 미치는 효과에

\* Corresponding author : Eun Joong Kim, Department of Animal Science, Kyungpook National University, Sangju 742-711, South Korea, TEL: +82-(0)54-530-1228, FAX: +82-(0)-54-530-1229, E-mail: ejkim2011@knu.ac.kr

대한 비교분석을 수행함에 그 목적을 두고 있다.

## II. 재료 및 방법

### 1. 자료 구성

본 연구에서는 1998년부터 2012년까지 국제 학술지에 게재된 논문들 중에서 총 14편의 연구논문을 임의로 선정하여 분석에 사용하였으며, 검색된 논문들 중에서 다음과 같은 기준에 충족되는 논문들을 연구 자료로 활용하였다. 1) 사일리지 제작 및 품질 평가 결과 제시, 2) 첨가제를 사용한 처리구와 첨가제를 사용하지 않은 대조구로 구성된 실험설계, 3) 사용된 첨가제로서 미생물 제제 혹은 유기산 제제의 포함 여부, 그리고 4) 결과의 표기에 있어서 시험구들간의 평균표준오차 제공, 그리고 사일리지 품질 평가 항목으로 pH, 젖산, 초산, 젖산과 초산의 비율 (lactate:acetate ratio, L/A), 프로피온산, 낙산, 수용성탄수화물 (water-soluble carbohydrate, WSC), 조단백질 (crude protein, CP), 암모니아 (NH<sub>3</sub>-N), neutral detergent fiber (NDF) 및 acid detergent fiber (ADF) 등을 사용하였다.

### 2. 자료 분석

본 연구에 사용된 모든 연구결과들은 서로 동시에, 같은 장소에서, 동일한 재료를 이용하여 수행된 것이 아니기 때문에 결과치의 단순 비교가 불가능하다. 이에 본 연구에서는 자료들을 표준정규분포와 지수함수를 이용하여 자료들의 표준화 작업을 실시하였고, 그 상세한 수식은 아래와 같다.

$$X_{ij} = ae \frac{(x_{ij} - \mu_j) \sim N(0,1)}{\sigma_j b}$$

위 수식에서  $X_{ij}$ 는  $j$  번째 연구논문의  $i$  처리구 시험의 표준화 결과를 의미한다. 그리고  $x_{ij}$ 는  $j$  번째 연구논문의  $i$  처리구에 해당하는 결과를 말하며,  $\mu_j$ 와  $\sigma_j$ 는 각각  $j$  번째 연구논문의 결과에 대한 평균과 분산값을 의미한다. 수식의  $a$ 와  $b$ 는 모든 자료들의 표준화 결과들이 평균값 1.5와 분산값 0.5을 갖도록 하는 계수로서, 각각  $a=1.4142$ ,  $b=2.8854$ 로 설정하였다.

처리 효과는 미생물제제 혹은 유기산제제의 사용을 통하여 얻어진 사일리지 발효 특성에 대한 결과를 아무런 첨가제를 사용하지 않은 대조구에서 얻어진 결과와 비교하여 산출하였다. 처리 효과의 크기는 메타분석 기법 중 하나인

risk ratio 산출 방법에 따라서 수행하였고, 분석에 사용된 수식은 아래와 같다.

$$Y_{ij} = \frac{X_{ij}}{X_{cj}}$$

위 수식에서  $Y_{ij}$ 는  $j$  번째 연구논문의  $i$  처리구에 대한 처리효과를 나타내며,  $X_{cj}$ 는  $j$  번째 연구 결과 중 대조구의 결과의 표준화 결과값이다.

미생물제제 및 유기산제제의 처리효과는 Borenstein et al. (2009)의 방법에 따라서 산출하였고, 상세하게는 다음과 같다. 각 처리효과에 대한 종합적 효과분석은 역분산 가중치와 임의효과모형 (random effect model)을 이용하여 산출하였다. 각 연구논문 결과에서 주어진 표준평균오차 (standard error of the mean, SEM) 결과를 이용하여 분산을 추정한 후에, 얻어진 분산값에 대한 역분산값을 산출하고, 역분산 가중치를 계산하였다. 얻어진 역분산 가중치와 각 처리효과값들을 이용하여 DerSimonian and Laird (1986) 방법에 따라서  $T^2$  (tau squared) 값을 산출하고, 이어서 임의효과모형을 통한 종합결과를 산출하였다. 마지막으로  $T^2$  계산식에 기초하여  $I^2$  통계량을 산출하여 연구들 간의 이질성 (heterogeneity)을 평가하였다. 본 연구에서는 임의효과모형을 이용하여 종합결과를 산출하였기 때문에 별도의 publication bias 계산은 수행하지 않았다.

$$W_{ij} = \frac{1}{(V_{Y_{ij}} - T^2)}$$

$$M_i = \frac{\sum_{j=1}^k W_{ij} Y_{ij}}{\sum_{j=1}^k W_{ij}}$$

위 수식에서  $W_{ij}$ 는  $j$  번째 연구논문 결과의  $i$  처리 효과에 대한 역분산 가중치를 나타내며,  $M_i$ 는  $i$  처리에 대한 종합효과를 의미한다.

처리효과에 대한 종합결론 외에 미생물제제 처리와 유기산제제 처리의 비교는 student t-test 방법을 통하여 분석하였고, 각 사일리지 품질 특성들 간의 상관분석은 피어슨 상관계수 분석 방법을 이용하였다. 평균비교와 상관성 분석을 포함한 모든 통계분석은 SPSS 프로그램 (SPSS, version 18, IBM, USA)을 사용하여 수행하였다.

## III. 결 과

### 1. 자료의 구성

메타분석에 사용된 연구논문들의 요약 내용은 Table 1에

Table 1. Summary of studies used in meta-analysis

Study	Ensiling crop <sup>1)</sup>	DOE <sup>2)</sup>	Additives <sup>3)</sup>	Level of application <sup>4)</sup>	Ensiling days	Analytical item <sup>6)</sup>
Cao et al., 2011	Chinese cabbage, red cabbage, lettuce	CON, beet pulp, BI, combination	LP, beet pulp	1.0E+05 cfu/g FM, 300 g/kg FM	60 days	A, B, C, D, G, H, I, J, K
Taylor et al., 2002	Chopped barley forage	CON, BI, PABA	LB	1.0E+05~1.0E+06 cfu/g FM; 0.2% FM	120 days	A, B, C, D, E, F, G, H, I, J, K
Tabacco et al., 2011b	Corn and sorghum	CON, crops, BI	LB, LP	1.0E+06 cfu/g FM	90 days	A, B, C, D, I
Tabacco et al., 2011a	Whole corn crop	CON, BI	LB, LP, LC	1.0E+04 ~1.0E+05 cfu/ton FM	Unclear <sup>5)</sup>	A, B, C, D, E, H, I, J, K
McAllister et al., 1998	Chopped alfalfa	CON, BI	LP, EF	1.0E+05 cfu/ g FM	84 days	A, B, C, D, E, G, H, I, J, K
Fang et al., 2012	Rice straw	CON, BI, urea	LP	2.5E+05 cfu/ton FM	11 months	A, B, C, D, I
Contreras-Govea et al., 2011	Alfalfa, bmr corn, corn	CON, BI	LP, EF, PP, LL	1.0E+06 cfu/100 g FM	60 days	A, B, C, D
Higginbotham et al., 1998	Corn	CON, BI, combination	LP, PC, PA	~1.0E+06 cfu/g FM	90 days	A, B, C, D, G, I, J, K
Ranjit and Kung Jr, 2000	Corn	CON, BI, PABA	LB, LP, PABA	1.0E+06 cfu/g FM; 0.1% FM	100 days	A, B, C, D, E, G, H, I, J, K
Kleinschmit et al., 2005	Corn	CON, BI, PABA	LB, LP, Na-benzoate, EDTA, K-sorbate	1.0E+05 ~ 4.0E+05 cfu/g FM, 0.05% FM, 0.1% FM	108 days; 122 days	A, B, C, D, E, G, H, I, J, K
Kung Jr and Ranjit, 2001	Barley	CON, BI, PABA	LB, LP, PP, PF, PABA	1.0E+05 ~ 1.0E+06 cfu/g FM; 0.2% FM	69 days	A, B, C, D, F, G, H, I, J, K
Kung Jr et al., 1998	Corn	CON, blend A	Blend A	0.1 ~ 0.2% FM	95 days; 111 days	A, C, F, G,
Mills and Kung Jr, 2002	Barley	CON, PABA	PABA	0.1% FM	60 days	A, B, C, D, E, G, I,
Kung Jr et al., 2000	Corn	CON, blend B	Blend B	0.1 ~ 0.3% FM	36, 68, 114 days	A, B, C, D, E, F, G, H, I, J, K

<sup>1)</sup> brown midrib.

<sup>2)</sup> DOE, design of experiment; CON, control; BI, bacterial inoculant; PABA, propionic acid based additives; blend, commercial mixture of acids.

<sup>3)</sup> LP, *Lactobacillus plantarum*; LB, *Lactobacillus buchneri*; LC, *Lactobacillus casei*; EF, *Enterococcus faecium*; PC, *Pediococcus cerevisiae*; PA, *Propionibacterium acidipropionici*; PP, *Pediococcus pentosaceus*; PF, *Propionibacterium freudenreichii*; LL, *Lactococcus lactis*; LAB, lactic acid bacteria; PABA, propionic acid based additive; blend A: Ca, Na salts of propionic acid, acetic acid, citric acid, ammonium salts of propionic acid, propylene glycol, potassium sorbate, sodium benzoate, benzoic acid; blend B: ammonium salt of propionic acid, propylene glycol, potassium sorbate; sodium benzoate, ammonium hydroxide, commercial LAB.

<sup>4)</sup> FM, fresh matter.

<sup>5)</sup> Farm investigation, unclear for ensiling duration.

<sup>6)</sup> A, pH; B, total lactate; C, acetate; D, lactate: acetate; E, propionate; F, butyrate; G, water-soluble carbohydrate; H, crude protein; I, ammonia; J, neutral detergent fiber; K, acid detergent fiber.

서 보는 것과 같다. 사일리지 발효를 위한 미생물제제용 균주로는 *Lactobacillus plantarum*이 11편의 논문에서 사용되어 가장 많이 사용된 것으로 나타났다. 다음으로는 *Lactobacillus buchneri* 균주로 총 5편의 논문에서 사용되었다. 그 외에 *Lactobacillus casei*, *Lactococcus lactis*, *Enterococcus faecium*, *Pediococcus cerevisiae*, *Pediococcus pentosaceus*, *Propionibacterium acidipropionici*, *Propionibacterium freudenreichii* 등이 사용되었다. 미생물제제의 접종 비율은 생초 건물 1g을 기준으로  $1.0 \times 10^4 \sim 1.0 \times 10^6$  CFU로 나타났다. 유기산제제로는 프로피온산을 기반으로 한 유기산들이 많이 이용된 것으로 나타났다. 유기산제제의 첨가비율은 생초 건물 기준으로 0.1~0.2%로 나타났다. 사일리지 발효 기간은 36일에서 최대 120일로서 다양하게 적용되었다. 사일리지 제조를 위한 작물로는 옥수수, 보리, 알팔파 및 벧짚 등이 이용되었다.

사일리지 발효 특성별로 메타분석에 사용된 실험의 개수 (n)과 결과치들의 평균과 오차는 Table 2에서 보는 것과 같다. 발효 특성 항목 중 가장 많은 실험에서 측정된 항목은 미생물제제 처리구의 pH로 나타났으며, 가장 적은 실험의 수가 적용된 발효 특성 항목은 대조구의 낙산인 것으로 나타났다.

## 2. 미생물제제와 유기산제제의 처리효과

사일리지 발효 특성에 있어 미생물제제와 유기산제제의 처리의 종합적인 효과 및 그 유의성은 Table 3에서 보는

것과 같다. 본 연구에서는 메타분석의 하나의 기법 중 하나인 risk ratio, 즉 비율을 이용한 방법을 사용하였다. 대조구의 표준화된 결과를 분모로 하고 처리구의 표준화된 결과를 분자로 하여 얻어진 결과를 이용하여 종합적인 효과를 나타내었다. 이러한 분석결과 값이 나타내는 의미로 그 값이 1보다 크면 대조구보다 처리구의 결과 값이 높은 것을 나타내는 것이며, 반대로 그 값이 1 보다 작으면 대조구가 처리구보다 높은 결과 값을 갖는 것을 의미하게 된다. 사일리지 제조에 있어서 미생물제제의 적용은 대조구에 비하여 pH, 젖산, 초산, L/A 비율, 프로피온산 및 ADF 함량이 높아진 것으로 나타났다. 이와는 반대로 낙산, WSC, CP, NH<sub>3</sub>-N 및 NDF는 대조구에 비하여 감소하는 것으로 나타났다. 모든 분석항목들에서 처리의 효과에 대한 높은 유의성이 관찰되었다 (p<0.001).

유기산제제의 처리효과는 ADF 결과를 제외하고 모든 조사 항목에서 대조구에 비해 처리구에서 높은 결과를 갖는 것으로 나타났다. 그리고 모든 조사항목의 처리효과에서 높은 유의성이 나타났다 (p<0.001). 연구들 간의 이질성 (heterogeneity)을 나타내는 I<sup>2</sup> 값은 두 처리방법과 모든 조사항목에서 88~99%의 통계량을 나타내었다 (Table 3). 이러한 결과는 분석에 사용된 연구 결과들이 실험조건에 따라서 일정한 경향을 가질 수 있음을 시사하고, 이를 바탕으로 추가적인 메타회귀분석(meta regression analysis)이 가능하다고 볼 수 있다 (Cho et al., 2013). 본 연구에서는 독립 변수로 처리에 사용된 미생물제제의 농도 혹은 유기산제제의 농도 등을 설정할 수 있다.

Table 2. Data characteristics for the control, bacterial inoculants and organic acid treatments

Item <sup>1)</sup>	Control			Bacterial inoculants			Organic acids		
	n	Mean	SEM	n	Mean	SEM	n	Mean	SEM
pH	24	4.15	0.31	64	4.06	0.06	38	4.44	0.14
Total lactate, % DM	22	6.22	1.03	59	6.91	0.53	26	8.08	1.01
Acetate, % DM	23	2.80	2.12	59	2.57	0.21	38	2.00	0.38
Lactate:acetate ratio	22	3.35	0.94	59	3.52	0.25	25	3.02	0.15
Propionate, % DM	7	0.09	0.58	12	0.41	0.15	19	0.25	0.06
Butyrate, % DM	4	0.38	0.65	8	0.16	0.07	18	0.53	0.13
WSC, % DM	18	3.33	2.52	47	2.82	0.40	37	4.27	0.69
CP, % DM	12	14.04	1.54	27	12.54	0.90	23	14.04	3.52
Ammonia-N, % DM	19	2.14	3.66	47	2.92	0.46	26	1.31	0.99
NDF, % DM	13	45.19	1.87	32	48.61	1.88	23	49.01	1.79
ADF, % DM	13	31.54	1.25	32	32.16	1.27	23	29.44	1.33

<sup>1)</sup> WSC, water soluble carbohydrate; CP, crude protein; NDF, neutral detergent fiber; ADF, acid detergent fiber; SEM, standard error of the mean.

Table 3. Summarized effects and their probabilities in meta-analysis for the effects of silage additives

Item <sup>3)</sup>	Bacterial inoculants <sup>1)</sup>						Organic acids					
	SES	SE	LL	UL	p	I <sup>2)</sup>	SES	SE	LL	UL	p	I <sup>2)</sup>
pH	1.26	0.09	1.08	1.43	***	99.91	1.26	0.12	1.03	1.49	***	99.94
Total lactate	1.22	0.08	1.06	1.38	***	99.89	1.13	0.12	0.89	1.37	***	99.94
Acetate	1.28	0.08	1.13	1.43	***	99.88	1.12	0.10	0.93	1.31	***	99.92
Lactate: acetate	1.14	0.07	1.00	1.27	***	99.84	1.04	0.12	0.81	1.27	***	99.94
Propionate	1.50	0.18	1.15	1.84	***	99.95	1.47	0.14	1.18	1.75	***	99.96
Butyrate	0.44	0.03	0.37	0.50	***	88.61	1.72	0.16	1.41	2.03	***	99.88
WSC	0.84	0.08	0.69	0.99	***	99.69	1.10	0.11	0.87	1.32	***	99.94
CP	0.91	0.08	0.76	1.06	***	99.54	1.29	0.14	1.02	1.56	***	99.94
Ammonia-N	0.79	0.07	0.65	0.93	***	99.72	1.20	0.12	0.95	1.44	***	99.94
NDF	0.62	0.08	0.47	0.78	***	99.94	1.25	0.11	1.02	1.47	***	99.92
ADF	1.26	0.14	0.99	1.53	***	99.89	0.99	0.13	0.74	1.23	***	99.93

<sup>1)</sup> SES, summary effect size; SE, standard error; LL, lower limit; UL, upper limit; p, probability (\*\*\*, p<0.001);

<sup>2)</sup> I square value for heterogeneity.

<sup>3)</sup> WSC, water-soluble carbohydrate; CP, crude protein; NDF, neutral detergent fiber; ADF, acid detergent fiber.

### 3. 미생물제제 및 유기산제제의 처리효과 비교

역분산 가중치를 적용하지 않고 두 가지 처리에서 얻어진 표준화된 결과들을 이용한 처리효과들의 비교 결과는 Table 4에서 보는 것과 같다. 즉 각 연구들에서 얻어진 처리효과들을 두 가지 처리 방법에 따라 분류한 후에 어떠한 처리방법이 우수한가를 분석하였다. 그 결과 두 처리방법 간의 유의적인 차이는 낙산, WSC, CP 및 NH<sub>3</sub>-N에서 발견

되었다. 미생물 처리 방법이 유기산 처리방법에 비하여 낙산, WSC, CP 및 NH<sub>3</sub>-N 함량을 낮추는 것으로 나타났다 (p<0.05).

### 4. 사일리지 발효 특성 간의 상관관계

본 연구에서는 사일리지 발효 특성에 대한 조사항목에서 나타난 처리효과 간의 상관관계를 조사하였다. 미생물제제

Table 4. Effects of bacterial inoculants and organic acids on silage quality

Item <sup>1)</sup>	Bacterial inoculants			Organic acids			Significance <sup>2)</sup>			
	n	Mean	SEM	n	Mean	SEM	df	T-value	p-value	Leven's test
pH	64	1.21	0.08	38	1.26	0.11	100	-0.354	0.724	0.785
Total lactate	59	1.22	0.09	26	1.13	0.13	83	0.558	0.578	0.705
Acetate	59	1.28	0.09	38	1.12	0.10	95	1.134	0.260	0.066
Lactate: acetate	59	1.14	0.09	25	1.04	0.10	65	0.748	0.457	0.031
Propionate	12	1.53	0.18	19	1.47	0.14	29	0.277	0.784	0.875
Butyrate	8	0.44	0.04	18	1.72	0.17	19	-7.312	<0.001	0.011
WSC	47	0.83	0.06	37	1.10	0.11	57	-2.087	0.041	0.001
CP	27	0.91	0.08	23	1.29	0.13	48	-2.511	0.015	0.150
Ammonia-N	47	0.79	0.07	26	1.19	0.12	40	-2.924	0.006	0.034
NDF	32	1.15	0.10	23	1.25	0.13	53	-0.594	0.555	0.494
ADF	32	1.26	0.12	23	1.03	0.14	54	1.460	0.150	0.454

<sup>1)</sup> WSC, water-soluble carbohydrate; CP, crude protein; NDF, neutral detergent fiber; ADF, acid detergent fiber

<sup>2)</sup> df, degree of freedom.

처리효과들에 있어 조사항목 간의 상관관계는 Table 5에서 보는 것과 같다. 그 결과, NH<sub>3</sub>-N (p<0.05)는 pH와 유의적인 상관관계를 갖는 것으로 나타났다. 젖산은 L/A 비율 (p<0.01)과 NDF (p<0.01)에 대하여 유의적인 상관관계를 갖는 것으로 나타났다. 초산은 L/A 비율(p<0.01)과 낙산 (p<0.05)에 대하여 유의적인 상관관계를 갖는 것으로 나타났다. L/A 비율은 NH<sub>3</sub>-N (p<0.01)와 NDF (p<0.01)에 대하

여 유의적인 상관관계를 갖는 것으로 나타났다. 프로피온산은 NDF (p<0.05) 및 ADF (p<0.01)에 대하여 유의적인 상관관계를 갖는 것으로 나타났다. 낙산은 NH<sub>3</sub>-N (p<0.01), NDF (p<0.01) 및 ADF (p<0.01)에 대하여 유의적인 상관관계를 갖는 것으로 나타났다. CP는 NH<sub>3</sub>-N (p<0.05)와 NDF (p<0.05)에 대하여 유의적인 상관관계를 갖는 것으로 나타났다. NDF는 ADF (p<0.05)와 유의적인 상관관계를 갖는

Table 5. Correlation among fermentation parameters of silages treated with bacterial inoculants

	Item <sup>1)</sup>										
	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K
A	1	-0.405	0.228*	-0.413	-0.320	0.275	0.113	0.048	0.258*	-0.021	0.008
B		1	-0.159	0.514**	0.183	-0.505	0.172	-0.047	-0.089	0.346**	0.192
C			1	-0.737**	-0.186	-0.434*	0.001	0.127	0.186	-0.262	0.057
D				1	0.287	0.482	0.086	-0.235	-0.301**	0.392**	0.056
E					1	0.174	-0.188	-0.344	0.199	0.455*	0.538**
F						1	0.318	-0.207	0.762**	0.689**	0.813**
G							1	0.152	0.206	-0.151	-0.047
H								1	0.307*	-0.317*	-0.271
I									1	0.179	0.240
J										1	0.340*
K											1

<sup>1)</sup> A, pH; B, total lactate; C, acetate; D, lactate: acetate; E, propionate; F, butyrate; G, water-soluble carbohydrate; H, crude protein; I, ammonia-N; J, neutral detergent fiber; K, acid detergent fiber.

\* Correlation is significant at the 0.05 level (2-tailed).

\*\* Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed).

Table 6. Correlation among fermentation parameters of silages treated with organic acids

	Item <sup>1)</sup>										
	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K
A	1	-0.302*	0.396**	-0.442**	-0.291	0.177	0.088	-0.237	0.275	0.045	0.160
B		1	-0.326*	0.577**	0.398	-0.210	0.251	-0.055	-0.131	0.429*	0.396*
C			1	-0.820**	0.020	-0.444	-0.151	0.083	0.350*	-0.256	0.219
D				1	0.386	0.133	0.041	-0.136	-0.375**	0.446*	-0.038
E					1	-0.665	-0.371	-0.356	0.175	0.325	0.580*
F						1	0.498	0.092	0.785*	0.188	-0.011
G							1	0.116	0.163	-0.095	0.193
H								1	-0.158	-0.296	-0.363
I									1	0.104	0.420*
J										1	0.281
K											1

<sup>1)</sup> A, pH; B, total lactate; C, acetate; D, lactate:acetate; E, propionate; F, butyrate; G, water-soluble carbohydrate; H, crude protein; I, ammonia-N; J, neutral detergent fiber; K, acid detergent fiber.

\* Correlation is significant at the 0.05 level (2-tailed).

\*\* Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed).

것으로 나타났다. 상관성 분석의 결과, pH가 증가하면 초산과 NH<sub>3</sub>-N도 증가하는 것으로 나타났다. 젖산이 증가하면 L/A 비율이 증가하고 NDF 함량이 증가하는 것으로 나타났다. 초산이 증가하면 L/A 비율과 낙산이 감소하는 것으로 나타났다. L/A 비율이 증가하면 NH<sub>3</sub>-N 농도가 감소하고, NDF가 증가하는 것으로 나타났다. 프로피온산의 증가는 NDF 및 ADF의 증가와 연관이 있는 것으로 나타났다. 낙산이 증가하면 NH<sub>3</sub>-N, NDF 및 ADF가 증가하는 것으로 나타났다. CP가 증가하면 NH<sub>3</sub>-N과 NDF가 증가하는 것으로 나타났으며, NDF가 증가하면 ADF도 증가하는 것으로 나타났다.

유기산제제 처리효과에 있어 각 조사항목들 간의 상관관계는 Table 6에서 보는 것과 같다. 사일리지 발효 pH와 유의적인 상관관계를 갖고 있는 조사항목으로는 젖산 ( $p<0.05$ ), 초산 ( $p<0.01$ ), L/A 비율 ( $p<0.01$ )로 나타났다. 젖산에 대한 처리효과는 초산 ( $p<0.05$ ), L/A 비율 ( $p<0.01$ ), NDF ( $p<0.05$ ) 및 ADF ( $p<0.05$ )들과 유의적인 상관관계를 갖는 것으로 나타났다. L/A 비율은 NH<sub>3</sub>-N ( $p<0.01$ ) 및 NDF ( $p<0.05$ )와 유의적인 상관관계가 있는 것으로 나타났다. 프로피온산에 대한 처리효과는 ADF ( $p<0.05$ )와 유의적인 상관관계가 있는 것으로 나타났다. 낙산에 대한 처리효과에 대한 유의적인 상관관계는 NH<sub>3</sub>-N ( $p<0.05$ )에서 나타났다. 사일리지의 NH<sub>3</sub>-N 농도에 대한 처리효과는 ADF ( $p<0.05$ )와 유의적인 상관관계가 있는 것으로 나타났다. 유의적인 상관관계에 있는 모든 조사항목들의 상관성 경향은 미생물제제 처리효과의 상관관계와 동일하게 나타났다. 사일리지 발효 특성 조사항목들에 대한 두 처리방법들의 상관성 분석결과의 차이는 통계적 유의성을 갖는 항목들의 종류에서만 나타났으며, 상관성의 방향은 모두 동일한 것으로 나타났다.

#### IV. 고 찰

일반적으로 사일리지의 품질은 물리적 성상을 평가하는 외관상 방법과 화학적 방법으로 구분되어 평가되는데, 화학적 방법에는 pH, 유기산 함량, 일반성분, 소화율 및 건물함량 분석에 의하여 수행된다(Mohd-Setapar et al., 2012). 품질이 우수한 사일리지의 pH는 건물에 따라서 다르지만 4.0~4.7을 나타낸다. 사일리지 발효의 목적 중 하나로 빠른 pH 하강을 통한 안정화를 들 수 있다. 그러나 본 연구에서는 미생물제제의 처리가 오히려 대조구에 비해 pH를 상승시킨 것을 알 수 있었다. 하지만 pH의 변화를 검토하기 이전에 시험구들의 전체적인 pH의 범위를 살펴보면

(Table 2), 모두 안정적이고 우수한 품질의 사일리지 pH 범위인 3~4 사이에 위치하는 것을 알 수 있다. 비록 대조구에 비하여 pH가 다소 상승하는 결과를 나타내기는 하였으나, 그 변화 폭이 매우 적은 것으로 판단된다. 즉 처리의 효과는 나타났으나, 모두 안정적인 범위에 속함으로 궁극적인 효과는 찾아보기 어렵다고 할 수 있다. 사일리지 유기산은 젖산, 초산 및 낙산 등의 함량을 이용하여 평가하며, 총 유기산함량에 대한 비율을 기준으로 젖산은 70% 이상, 초산은 22% 미만 그리고 낙산은 3% 미만이 우수한 품질의 사일리지로 분류된다(Mohd-Setapar et al., 2012). 또한 사일리지 내 젖산과 초산의 비율은 3 이상인 것이 바람직하다고 보고된 바 있으며, 이를 위해서는 homolactic의 특성을 지닌 균주를 미생물제제로 사용하는 것이 좋다(Kleinschmit and Kung Jr, 2006). 젖산은 사일리지 발효의 주요한 최종대사산물이기도 하지만 분해되어 초산과 1,2-propanediol이 생산된다(Heinl et al., 2012; Kleinschmit and Kung Jr, 2006). 초산은 항진균활성이 있는 물질로서 사일리지 내 진균의 발생 및 오염을 억제할 수 있는 것으로 알려져 있다(Woolford, 1975). 그러나 초산이 과도하게 생성되면 사일리지의 기호성을 저하시키는 원인이 될 수 있다는 보고도 있다(Kleinschmit and Kung Jr, 2006). 본 연구에서 미생물제제와 유기산제제의 사일리지 내 초산함량에 대한 효과 비교에서는 유의적인 차이가 나타나지 않았으나, 유기산제제가 다소 높은 경향을 나타내었다( $p=0.066$ ). 미생물제제를 이용할 경우 위에서 언급한 것과 같이 heterolactic 보다는 homolactic 균주를 사용하는 것이 젖산 분해율을 낮추고 동시에 초산과 낙산과 같은 다른 유기산의 생성을 최소화 할 수 있다(Kleinschmit and Kung Jr, 2006). 그러나 homolactic 균주의 경우, 항진균성 유기산 생성량이 낮아짐으로서 사일리지 숙성완료 후에 곰팡이나 효모의 오염으로 인한 보존성이 낮아질 수 있다(Moon, 1983). 사일리지 내 프로피온산은 젖산이 분해되어 생성된 1,2-propanediol이 미생물 대사작용에 의해 전환되어 생성된다(Krooneman et al., 2002). 본 연구에서도 미생물제제를 사용한 사일리지에서 대조구에 비해 높은 프로피온산 생성량을 나타내었다(Table 2). 사일리지의 낙산은 젖산, 초산, 프로피온산 및 에탄올과 함께 생산되는 대사산물로 알려져 있다(Filya and Sucu, 2010). 그러나 과도한 낙산의 생성은 사일리지의 기호성 저하와 사료섭취량 감소를 야기할 수 있다(Buchanan-Smith, 1990). 사일리지 내 낙산 생성에 대한 미생물제제와 유기산제제의 효과 비교에서는 유의적인 차이가 나타났다( $p<0.05$ ). 미생물제제는 대조구에 비하여 낙산 생성을 저하시키는 반면, 유기산제제는 대조구에 비

하여 오히려 낙산을 증가시키는 것으로 나타났다. 이러한 유의적인 차이는 WSC 함량에서도 나타났으며 ( $p < 0.01$ ), 낙산에 대한 효과와는 반대로 미생물제제 처리가 WSC를 대조구에 비하여 감소시키고 유기산에 의한 처리 실험들에서는 증가되는 것으로 나타났다. 사일리지의 WSC는 젖산균의 발효에 있어 중요한 에너지원으로 작용한다. 따라서 젖산균의 원활한 증식을 위해서는 작물에 함유된 WSC가 충분하여야 하며, 발효가 진행될수록 WSC는 다른 유기산들로 전환된다(Contreras-Govea et al., 2011; Henderson, 1993).

본 연구에 의하면 미생물제제와 유기산제제 모두 좋은 사일리지 첨가제임을 확인할 수 있었다. 그러나 몇몇 사일리지 발효 특성에 대하여서는 서로 상반된 결과를 갖는 것 또한 확인할 수 있었다. 결론적으로 사일리지 제조 목적 및 대상 작물의 특성에 따라서 본 결과를 바탕으로 두 가지 처리방법 중 적절한 방법을 선택할 수 있을 것으로 판단된다. 그리고 작물별, 균주별, 유기산제제 특성별 및 발효기간별 처리효과에 분석이 추가로 수행되면 보다 구체적이고 종합적인 결론을 도출할 수 있을 것으로 판단된다.

## V. 요약

본 연구는 사일리지 발효 특성에 있어 미생물제제와 유기산제제의 처리효과를 분석하고 비교하기 위한 목적으로 수행되었다. 사일리지 pH, 젖산, 초산, L/A비율, 프로피온산, 낙산, WSC, CP, NH<sub>3</sub>-N, NDF 및 ADF 등을 발효 특성 항목으로 조사하였고, 메타분석기술을 이용하여 분석을 수행하였다. 총 14편의 연구논문들을 분석에 사용하였다. 미생물제제 처리는 대조구에 비하여 pH, 젖산, 초산, L/A 비율, 프로피온산 및 ADF 함량 향상시키는 것으로 나타났다 ( $p < 0.01$ ). 이와는 반대로 낙산, WSC, CP, NH<sub>3</sub>-N 및 NDF는 대조구에 비하여 감소하는 것으로 나타났다 ( $p < 0.001$ ). 유기산제제의 처리는 ADF 결과를 제외하고 모든 조사 항목에서 대조구에 비해 처리구에서 높은 결과를 갖는 것으로 나타났다 ( $p < 0.001$ ). 미생물제제와 유기산제제의 처리효과 비교에서 유의적인 차이는 낙산, WSC, CP 및 NH<sub>3</sub>-N에서 나타났고 ( $p < 0.05$ ), 미생물제제 처리가 유기산제제 처리에 비하여 낙산, WSC, CP 및 NH<sub>3</sub>-N 함량을 낮추는 것으로 나타났다 ( $p < 0.05$ ).

## VI. 사사

본 연구는 2012학년도 경북대학교 학술연구비에 의하여

수행되었으며 이에 감사드립니다.

## VII. REFERENCES

- Borenstein, M., Hedges, L.V., Higgins, J.P.T. and Rothstein, H.R. 2009. Introduction to Meta-Analysis. John Wiley & Sons Ltd. West Sussex, UK.
- Buchanan-Smith, J.G. 1990. An investigation into palatability as a factor responsible for reduced intake of silage by sheep. *Animal Science*. 50:253-260.
- Cao, Y., Cai, Y., Takahashi, T., Yoshida, N., Tohno, M., Uegaki, R., Nonaka, K. and Terada, F. 2011. Effect of lactic acid bacteria inoculant and beet pulp addition on fermentation characteristics and *in vitro* ruminal digestion of vegetable residue silage. *Journal of Dairy Science*. 94:3902-3912.
- Cho, S., Ryu, C., Yang, J., Mbiriri, D.T., Choi, C.-W., Chae, J.-I., Kim, Y.-H., Shim, K.-S., Kim, Y.J. and Choi, N.-J. 2013. Effect of conjugated linoleic acid feeding on the growth performance and meat fatty acid profiles in broiler: Meta-analysis. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*. 26:995-1002.
- Contreras-Govea, F.E., Muck, R.E., Mertens, D.R. and Weimer, P.J. 2011. Microbial inoculant effects on silage and *in vitro* ruminal fermentation, and microbial biomass estimation for alfalfa, bmr corn, and corn silages. *Animal Feed Science and Technology*. 163:2-10.
- DerSimonian, R. and Laird, N. 1986. Meta-analysis in clinical trials. *Controlled Clinical Trials*. 7:177-188.
- Fang, J., Matsuzaki, M., Suzuki, H., Cai, Y., Horiguchi, K.-i. and Takahashi, T. 2012. Effects of lactic acid bacteria and urea treatment on fermentation quality, digestibility and ruminal fermentation of roll bale rice straw silage in wethers. *Grassland Science*. 58:73-78.
- Filya, I. and Sucu, E. 2010. The effects of lactic acid bacteria on the fermentation, aerobic stability and nutritive value of maize silage. *Grass and Forage Science*. 65:446-455.
- Gao, L., Yang, H., Wang, X., Huang, Z., Ishii, M., Igarashi, Y. and Cui, Z. 2008. Rice straw fermentation using lactic acid bacteria. *Bioresource Technology*. 99:2742-2748.
- Heinl, S., Wibberg, D., Eikmeyer, F., Szczepanowski, R., Blom, J., Linke, B., Goesmann, A., Grabherr, R., Schwab, H., Pühler, A. and Schlüter, A. 2012. Insights into the completely annotated genome of *Lactobacillus buchneri* CD034, a strain isolated from stable grass silage. *Journal of Biotechnology*. 161:153-166.
- Henderson, N. 1993. Silage additives. *Animal Feed Science and Technology*. 45:35-56.
- Higginbotham, G.E., Mueller, S.C., Bolsen, K.K. and DePeters, E.J.



1998. Effects of inoculants containing propionic acid bacteria on fermentation and aerobic stability of corn silage. *Journal of Dairy Science*. 81:2185-2192.
- Kleinschmit, D.H. and Kung Jr, L. 2006. A meta-analysis of the effects of *Lactobacillus buchneri* on the fermentation and aerobic stability of corn and grass and small-grain silages. *Journal of Dairy Science*. 89:4005-4013.
- Kleinschmit, D.H., Schmidt, R.J. and Kung Jr, L. 2005. The effects of various antifungal additives on the fermentation and aerobic stability of corn silage. *Journal of Dairy Science*. 88:2130-2139.
- Krooneman, J., Faber, F., Alderkamp, A.C., Elferink, S.J.H.W.O., Driehuis, F., Cleenwerck, I., Swings, J., Gottschal, J.C. and Vancanneyt, M. 2002. *Lactobacillus diolivorans* sp. nov., a 1,2-propanediol-degrading bacterium isolated from aerobically stable maize silage. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 52:639-46.
- Kung Jr, L. and Ranjit, N.K. 2001. The effect of *Lactobacillus buchneri* and other additives on the fermentation and aerobic stability of barley silage. *Journal of Dairy Science*. 84:1149-1155.
- Kung Jr, L., Robinson, J.R., Ranjit, N.K., Chen, J.H., Golt, C.M. and Pesek, J.D. 2000. Microbial populations, fermentation end-products, and aerobic stability of corn silage treated with ammonia or a propionic acid-based preservative. *Journal of Dairy Science*. 83:1479-1486.
- Kung Jr, L., Sheperd, A.C., Smagala, A.M., Endres, K.M., Bessett, C.A., Ranjit, N.K. and Glancey, J.L. 1998. The effect of preservatives based on propionic acid on the fermentation and aerobic stability of corn silage and a total mixed ration. *Journal of Dairy Science*. 81:1322-1330.
- McAllister, T.A., Feniuk, R., Mir, Z., Mir, P., Selinger, L.B. and Cheng, K.J. 1998. Inoculants for alfalfa silage: Effects on aerobic stability, digestibility and the growth performance of feedlot steers. *Livestock Production Science*. 53:171-181.
- Mills, J.A. and Kung Jr, L. 2002. The effect of delayed ensiling and application of a propionic acid-based additive on the fermentation of barley silage. *Journal of Dairy Science*. 85:1969-1975.
- Mohd-Setapar, S.H., Abd-Talib, N. and Aziz, R. 2012. Review on crucial parameters of silage quality. *APCBEE Procedia*. 3:99-103.
- Moon, N.J. 1983. Inhibition of the growth of acid tolerant yeasts by acetate, lactate and propionate and their synergistic mixtures. *Journal of Applied Bacteriology*. 55:453-460.
- Ranjit, N.K. and Kung Jr, L. 2000. The effect of *Lactobacillus buchneri*, *Lactobacillus plantarum*, or a chemical preservative on the fermentation and aerobic stability of corn silage. *Journal of Dairy Science*. 83:526-535.
- Tabacco, E., Piano, S., Revello-Chion, A. and Borreani, G. 2011a. Effect of *Lactobacillus buchneri* LN4637 and *Lactobacillus buchneri* LN40177 on the aerobic stability, fermentation products, and microbial populations of corn silage under farm conditions. *Journal of Dairy Science*. 94:5589-5598.
- Tabacco, E., Righi, F., Quarantelli, A. and Borreani, G. 2011b. Dry matter and nutritional losses during aerobic deterioration of corn and sorghum silages as influenced by different lactic acid bacteria inocula. *Journal of Dairy Science*. 94:1409-1419.
- Taylor, C.C., Ranjit, N.J., Mills, J.A., Neylon, J.M. and Kung Jr, L. 2002. The effect of treating whole-plant barley with *Lactobacillus buchneri* 40788 on silage fermentation, aerobic stability, and nutritive value for dairy cows. *Journal of Dairy Science*. 85:1793-1800.
- Woolford, M.K. 1975. Microbiological screening of the straight chain fatty acids (C1-C12) as potential silage additives. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 26:219-228.

(Received June 12, 2014 / Revised June 17, 2014 / Accepted June 19, 2014)