Research Article

젖산균 첨가가 억새 사일리지의 사료가치 및 품질에 미치는 영향

스리고팔람 스리세스하람¹, 쿠푸사미 팔라니셀밤¹, 일라베닐 사운드라잔¹, 박형수¹, 김지혜¹, 윤용희², 김영진¹, 정종성¹, 최기춘¹*

1국립축산과학원, 2㈜정농바이오

Effect of Addition of Lactic Acid Bacteria on Fermentation Quality of Miscanthus sinnensis

Srisesharam Srigopalram¹, Palaniselvam Kuppusamy¹, Soundharrajan Ilavenil¹, Hyung-Su Park¹, Ji Hye Kim¹, Yong Hee Yoon², Young Jin Kim,¹ Jeong Sung Jung¹ and Ki-Choon Choi^{1,*}

¹Grassland and Forages Division, National Institute of Animal Science, RDA, Cheonan 331-808, Republic of Korea.

²Jungnong Bio Inc, Goksung, Chonnam, 57509, Republic of Korea.

ABSTRACT

This study was conducted to investigate the effect of microbial inoculation as additive consisting of novel lactic acid bacteria on quality and fermentation characterization of *Miscanthus sinnensis* silages.

The contents of crude protein, acid detergent fiber, neutral detergent fiber in treatments of additive of lactic acid bacteria (ALAB) inoculation had similar to control. pH of *Miscanthus sinnensis* (MS) silage in treatments of ALAB inoculation significantly decreased as compared to control (p<0.05). The content of lactic acid in treatments of ALAB inoculation significantly increased (p<0.05), but the content of acetic acid in treatments of ALAB inoculation decreased. In addition, number of lactic acid bacteria in treatments of ALAB inoculation significantly increased as compared to control (p<0.05). Therefor, we suggest that MS silage improved by inoculation of additive consisting of novel lactic acid bacteria.

(Key words: Miscanthus sinnensis, Lactic acid bacteria, Silage)

I. 서 론

최근 국내 축산업의 여건 변화 및 정책방향 전환에 따라 산지축산에 대한 관심이 높아지고 있으며 특히 산지를 활용 한 환경 친화적 지속가능한 축산업에 대한 공감이 높아가고 있는 실정이다. 그리고 국제곡물 가격의 불안정 그리고 양질 의 조사료 가격의 급상승으로 인하여 일부 양축농가는 억새 나 갈대 등 새로운 조사료 자원의 개발 및 확보에 많은 관심 을 갖기 시작했다.

우리나라의 산지초지는 일부 개량초지로써 이용되고 있으나 대부분 자연초지(야초지)의 형태로 이용되고 있다. 자연초지에는 억새 등 많은 야초가 우점 되어 있기 때문에 채초 또는 방목을 위해서는 야초의 사료가치 측면을 반드시 고려해야 한다. 야초류는 질이나 양적인 면에서 개량 목초에 비해다소 떨어지는 단점은 있으나 이용시기를 적절히 조절하여

이용하면 새로운 조사료 자원으로 이용할 수 있다고 Han et al. (1965)은 보고하였다. 야초류는 생육초기에 단백질 함량이 높으나 생육시기가 늦어짐에 따라 섬유소 함량이 증가되어 사료가치가 저하되기 때문에 이용시기가 매우 중요하다. Han et al. (1965)은 사료로 이용이 가능한 야초류의 계절적 성분 함량 변화에 대하여 보고하였으며 또한 Seo et al. (2011, 2012)도 억새와 갈대에 대한 사료성분 변화를 보고하였다. 이처럼 여러 연구자들의 보고에서 보는 바와 같이 야초류도 양질의 조사료원로써 이용이 가능하기 때문에 야초류에 대한 연구도 새로운 측면에서 접근해야 한다. 야초의 사일리지화에 관한 일환으로 Kim and Lim (1987)은 칡 사일리지를 제조하여 품질변화를 보고하였다.

최근 바이오에너지 산업의 관심으로 인하여 많은 사료작물과 야생식물이 바이오에너지 생산에 이용되고 있는 실정이다. 따라서 화본과(poaceae)에 속하는 대표적인 바이오에너지

^{*} Corresponding author: Ki Choon Choi, National Institute of Animal Science, RDA, Cheonan 331-808, Korea. Tel: +82-41-580-6755, Fax: +82-41-580-6779, E-mail: choiwh@korea.kr

작물인 억새(Miscanthus)를 조사료원으로 이용성 검정은 매우 중요할 것으로 생각된다. 억새는 다년생 C4 식물로 광합성 효율과 수분 이용효율이 높아 척박한 환경에서도 높은 생산성을 유지할 수 있는 장점이 있는 작물이기 때문에 조사료원으로써 충분한 가치가 있다고 많은 연구자들은 보고하였다(Seo et al., 2011, 2012; Lee, 1985)

한편 국내 사일리지는 과다한 수분함량, 제조기술 부족과 유통 및 보관 부주의 인한 곰팡이 발생으로 매년 막대한 경제적 손실 발생하고 있다. 또한 곰팡이에 오염된 사일리지는 기호성 저하, 영양적 손실 등을 떨어뜨리는 요인이 되기 때문에 경종농가와 양축농가 그리고 TMR 제조업체에서는 조사료의 안정적 보관을 위해 곰팡이 억제 젖산균첨가제에 관심을 갖기 시작했다. 근래 우리연구팀은 곰팡이 억제능이 우수한 Lactobacillus plantarum KCC-10, K-46 KCC-19 젖산균으로 각각 분리 동정하여 보고하였으며(Valan Arasu et al., 2014a,b,c; Valan Arasu et al., 2014a,b,c; Valan Arasu et al., 2017, 현재 이들 균주를 이용하여 첨가제로 현재 농가에서 이용되고 있다.

따라서 본 연구에서는 억새의 이용성을 증진시키기 위해서 본 연구팀이 개발한 젖산균 첨가제를 이용하여 억새 사일리 지를 제조한 다음 사일리지 품질 및 사료가치에 미치는 영향 을 조사하였다.

Ⅱ. 재료 및 방법

1. 포장시험 및 사일리지 제조

본 연구는 충남 천안 국립축산과학원 사료작물 재배지에서 자생하고 있는 억새를 이용하여 수행되었다. 억새는 2016년 4월 28일(초장 50~65cm)에 예취하여 실험실로 옮긴 후 12기 간동안 예건하여 사일리지를 제조하였으며 이때 젖산균 첨가제(정농바이오, 한국)를 처리하여 각 처리당 3반복으로 하였다. 젖산균의 첨가제의 양은 첨가제 제조회사에서 제시한 권장량을 증류수에 녹여 사일리지를 제조하였다(Choi et al., 2015; Srigopalram et al., 2015).

2. 사료가치 분석

억새 사일리지의 사료가치를 조사하기 위한 시료는 처리구당 약 200 g을 취하여 일부는 65℃ 순환식 송풍건조기에서 3일 이상 건조 후 분쇄하여 시료의 조단백질(Crude protein, CP)은 AOAC법 (1990)에 의해 분석하였고, Neutral detergent

fiber (NDF) 및 Acid detergent fiber (ADF) 함량은 Goering 및 Van soest법 (1970)으로 분석하였다. 그리고, 가소화영양소 총 량(total digestible nutrients, TDN)은 88.9-(ADF%*0.79)에 의해서 산출하였다(Choi et al., 2015; Srigopalram et al., 2015).

3. 사일리지의 pH 및 유기산 함량 조사

사일리지의 pH와 유기산 성분은 개봉한 사일리지 10g을 증류수 100 ml에 넣고 냉장고에서 주기적으로 흔들어 주면서 24시간 보관 후 4중 거즈로 1차 거른 뒤 여과지(Whatman No. 6)를 통과한 추출액을 조제하여 사일리지의 pH는 pH meter(HI 9024; HANNA Instrument Inc. UK)로 측정하였고 젖산함량은 0.22/m 실린지 필터를 사용하여 여과시킨 다음 HPLC(HP1100. Agilent Co. USA)로 분석하였다. 초산과 낙산함량은 Gas chromatography(GC-450, Varian Co., USA)를 이용하여 분석하였다(Choi et al., 2015; Srigopalram et al., 2015). 추출액은 분석에 이용할 때까지 −70℃에서 냉동보관하였다.

4. 사일리지 미생물상 조사

젖산균은 28°C에서 4일 동안 MRS(de Man, Rogosa and Sharpe) 배지에서 배양하였으며, 효모는 3M petrifilm (3M Microbiology Products, St.Paul, USA)에서, 곰팡이는 Potato Dextrose agar (PDA)를 이용하여 28°C에서 4일 동안 배양한후 계수화 하였다(Choi et al., 2015; Srigopalram et al., 2015).

5. 통계분석

본 시험에서는 Windows 용 SPSS/PC(Statistical Package for the Science, ver 12.0. USA) 통계프로그램을 이용하여 모든 결과를 분석(*t*-tsest)하였으며 최소유의성을 검정은 *P*-value가 0.05로 평가하였다.

Ⅲ. 결과 및 고찰

1. 억새 사일리지의 사료가치 변화

젖산균 첨가제를 접종하여 억새 사일리지를 제조한 다음 사일리지의 사료가치를 조사하였는데 그 결과는 Table 1과 같다. 젖산균 첨가제 접종구에서 억새 사일리지의 조단백질, 섬유소 및 TDN 함량은 무접종구와 통계적으로 차이는 보이지 않았다. 이처럼 억새 사일리지 조제시 젖산균 첨가제 처리는 사료가치에 영향을 주지 않았는데 이는 이Choi et al. (2016) 및 Choi et al. (2015)의 연구과와 유사한 경향을 보였다. 그리고 Table 1에서 보는바와 같이 억새의 사료가치는 수확적기에 수확된 이탈리안 라이그라스, 호밀, 청보리 등의 사료가치보다 우수한 것으로 나타났는데 이는 억새가 월동 후이듬해 4월 28일에 수확되었기 때문이다. 이 시기는 억새의 생육특성상 어린 잎과 줄기로 구성되기 때문이다. 이상의 결과에서 보는 바와 같이 억새도 출수나 개화 이전에 이용하면일반 개량목초와 유사한 양질의 사료가치를 가지고 있기 때문에 수확 및 이용측면에서 다양한 접근이 이루어져야 할 것으로 보여진다.

2. 억새 사일리지의 pH 및 유기산 함량 변화

젖산균 첨가제를 접종하여 억새 사일리지를 제조한 다음 사일리지의 pH와 유기산 함량은 Table 2에 나타낸바와 같다. 젖산균 첨가제 접종구는 무접종구에 비해 pH가 현저하게 감소되었다 p<0.05). 그리고 젖산함량은 무접종구에 비해 젖산

균 첨가제 접종구에서 현저한 증가가 나타났으며(p<0.05), 초산 및 낙산 함량은 비슷한 수준을 보였다. 또한 사일리지 등급은 무접종구 보다 젖산균 첨가제 접종구에서 등급이 현저하게 향상되었다. Choi et al. (2016) 및 Muck and Bolsen (1991)은 사일리지 제조시 젖산균을 접종하면 pH를 떨어뜨리고 발효속도를 증가한다고 하였는데 본 연구와 유사한 결과를 보고하였다. 그리고 일반적으로 양질의 사일리지 제조시 젖산균 접종은 사일리지 발효 및 저장을 위해 중요하다고 많은 연구자들은 보고하였다(Ilavenil et al., 2016; Ilavenil et al., 2015; Choi et al., 2014a,b; Ilavenil et al., 2014; Valan Arasu등, 2014a). 이상의 결과에서 보는 바와 같이 갈대 사일리지제조할 경우 반드시 젖산균을 접종함으로써 갈대의 품질을 항상 시킬 수 있기 때문에 억새와 같은 야초류를 사일리지로이용할 때는 반드시 젖산균 접종이 필요할 것으로 생각된다.

3. 억새 사일리지의 미생물상 변화

젖산균 첨가제를 접종하여 억새 사일리지를 제조한 다음 억새 사일리내 미생물상 변화를 조사하였는데 그 결과는 Table 3에서 보는바와 같다. 억새 사일리지 대조구에서는 젖 산균이 약 5.3.0x10⁶cfu/g의 정도를 보였으나 젖산균 첨가제를

Table 1. Effect of inoculation of lactic acid bacteria on nutritive values of Miscanthus sinnensis silage

Treatment	CP ²⁾	$ADF^{3)}$	NDF ⁴⁾	TDN ⁵⁾
	(%)	(%)	(%)	(%)
Control	14.20	26.19	52.80	68.21
LAB ¹⁾	15.66	27.34	51.03	67.30

¹⁾LAB: Lactic acid bacteria ²⁾CP: Crude protein, ³⁾ADF: Acid detergent fiber, ⁴⁾NDF: Neutral detergent fiber, ⁵⁾TDN: Total digestible nutrient,

Table 2. Effect of inoculation of lactic acid bacteria on pH and organic acids of Miscanthus sinnensis silage

Treatment	рН	Lactate (%/DM ¹⁾)	Acetate (%/DM)	Butyrate (%/DM)	Flieg's score
Control	6.05 ^a	0.03 ^b	0.70	0	poor
$LAB^{1)}$	4.45 ^b	2.74 ^a	0.83	0	Excellent

¹⁾LAB: Lactic acid bacteria 1)DM: Dry matter,

Table 3. Effect of inoculation of lactic acid bacteria on microbes of Miscanthus sinnensis silage

Treatment	$LAB^{1)}$ (×10 ⁶ CFU ²⁾ /g)	Yeast (×10 ³ CFU/g)	Fungi (×10 ² CFU/g)
Control	5.3 ^b	6.7 ^a	-
$LAB^{1)}$	23.0^{a}	3.3^{b}	-

¹⁾LAB: Lactic acid bacteria ²⁾CFU: Colony forming unit, ³⁾CA: cholrella additive.

a,b Means with different letters within a column are significantly different at the 5% level.

a,b Means with different letters within a column are significantly different at the 5% level.

접종함으로써 $2.3 \times 10^7 \mathrm{cfu/g}$ 의 증가되었다(p < 0.05). 그리고 효모의 경우 젖산균 첨가제를 접종함으로써 감소되었다 (p < 0.05). 그리고 곰팡이($10^2 \mathrm{cfu/g}$)는 나타나지 않았다.

Srigopalram et al. (2015)은 이탈리안 라이그라스, Choi et al. (2015)은 호밀에서 젖산균 접종에 따라 젖산균 수는 증가하고 효모나 곰팡이 수는 감소한다고 하였는데 본 연구에서도 유사한 결과를 보였다. 특히 갈대 사일리지의 젖산균 수와양질의 목초 사일리지 젖산균 수는 비슷한 수를 유지하는 것으로 나타났는데 이는 양질의 억새 사일리지를 제조하기 위해서는 반드시 젖산균 첨가제를 접종이 필요하다는 것을 의미하기 때문에 억새 사일리지 제조시에는 반드시 젖산균 접종이 필요 할 것으로 생각된다.

IV. 요약

본 연구는 젖산균 첨가제 접종이 억새 사일리지 사료가치, 품질 및 미생물상의 변화에 미치는 영향을 조사하기 위해 수행되었다. 억새 사일리지의 사료가치는 젖산균 첨가제 접종구와 무접종구간에 크게 변화는 나타나지 않았다. 그리고 억새 사일리지의 젖산함량은 젖산균 첨가제 접종구가 현저하게 높은 경향을 보였으나(p<0.05) 초산은 젖산균 첨가제 접종구가 약간 낮아지는 경향을 보였으나 유의적인 차이는 보이지 않았다. 그리고 억새 사일리지의 젖산균 수는 무접종구에 비해 젖산균 첨가제 접종구에서 현저하게 증가하였다(p<0.05). 이상의 결과를 요약해 보면 야생 억새 사일리지 제조시 젖산균 첨가제 접종에 의해 사일리지의 품질이 향상되었다.

V. 사사

본 논문은 농촌진흥청 공동연구사업(과제번호 PJ01091601) 의 지원에 의해 이루어진 것임.

VI. REFERENCES

- AOAC. 1990. Official method of analysis. 15thed. Washington, DC. Choi, K.C., Ilavenil, S., Valan Arasu, M., Park, H.S. and Kim, W.H. 2015. Effect of addition of lactic acid bacteria on fermentation quality of rye silage. Journal of the Korean Society of Grassland and Forage Science. 35:277-282.
- Choi, K.C., Valan Arasu, M., Ilavenil, S., Park, H.S., Jung, M.W. Kim,

- J.H., Jung, J.S., Hwangbo, S., Kim, W.H. and Lim, Y.C. 2014a. Effect of addition of lactic acid bacteria and chlorella on nutritive values and quality of Italian ryegrass-hairy vetch silage. Journal of the Korean Society of Grassland and Forage Science. 34:39-44.
- Choi, K.C., Valan Arasu, M., Ilavenil, S., Park, H.S., Jung, M.W. and Lee, S.H. 2014b. Effect of lactic acid bacteria and chlorella on nutritive values and quality of Italian Ryegrass-alfalfa silage. Journal of the Korean Society of Grassland and Forage Science. 34:33-38.
- Goering, H.K. and Van Soest, P.J. 1970. Forage fiber analysis. Agic. Handbook 379, U. S. Gov. Print. Office, Washington, DC.
- Han I.K. The Growth, Yield and Sesonal changes of chemical composition of native herbage plants. Agricultural Research Report. 11:65-74
- Ilavenil, S., Vijayakumar, M., Kim, D.H., Valan Arasu, M., Park, H.S., Ravikumar, S., Choi, K.C. 2016. Assessment of probiotic, antifungal and cholesterol lowering properties of Pediococcus pentosaceus KCC-23 isolated from Italian ryegrass. Journal of the science of food and agriculture. 96:593-601.
- Ilavenil, S., Srigopalram S., Park, H.S., Kim W.H., Lee K.D. and Choi, K.C. 2015. Beneficial Effects of Lactic Acid Bacteria Inoculation on Oat Based Silagein South Korea. Journal of the Korean Society of Grassland and Forage Science 35:207-211.
- Ilavenil, S., Valan Arasu, M., Vijayakumar, M., Jung, M.W., Park, H.S., Lim, Y.C. and Choi, K.C. 2014. *Lactobacillus plantarum* improves the nutritional quality of Italian Ryegrass with alfalfa mediated silage. Journal of the Korean Society of Grassland and Forage Science. 34:174-178.
- Kim D.J. and Lim W. 1987. Quality of Silage from Domestic Herbage II. Comparative experiment of feeding value of arundinella hirta silage on additives. Journal of the Korean Society of Grassland and Forage Science. 8:169-174.
- Lee S.K. 1985. Study on the characteristics of growh\th and regrowth in Miscanthus sinnensis 5(1):1-7
- Muck, R.R. anf Bolsen, K.K. 1991. Silage preservation and silage additives. p. 105-125. In Bolsen, K.K., Baylor, J.E. and McCullough, M.E. (eds) Hay and Silage Management in North America. Nat. Feed Ingreed. Assoc., West Des Moines, Iowa.
- Seo S., Kim W.H., Jung M.W., Park H.S., Shim J.J., Park J.G., Sung H.G., Kim J.D and Lee J.K. 2011. Studies on Utilization Survey and Forage Quality of Phragmites communis and Miscanthus sinensis as Native Grasses in Paju and Ansan District, 2010. Journal of the Korean Society of Grassland and Forage Science. 31:151-158.
- Seo S., Han D.D., Jang S.S., Kim W.H., Jung M.W., Choi J.H., Kim J.S., Kim H.Y. and Lee J.K. 2012. Utilization Survey and Forage Quality of *Phragmites communis* and Native Grasses in Haenam, Pyeongchang and Wonju Regions, 2010. Journal of the Korean Society of Grassland and Forage Science. 32:1-8.

- Srigopalram S., Ilavenil, S., Vijayakumar M, , Park, H.S. Lee K.D. and Choi K.C. 2015. Addition of Novel *Lactobacillus plantarum* KCC-10 and KCC-19 to Improve Fermentation Quality and Characterization of Italian Ryegrass Silage. Journal of the Korean Society of Grassland and Forage Science. 35:195-200.
- Valan Arasu, M., Ilavenil, S., Jane, M., Kim, D.H., Lee, K.D., Park, H.S. and Choi K.C. 2014a. Effect of addition of chlorella with Lactobacillus plantarum on quality, microbial contents and fermentation metabolites of barley and pea silages. Journal of Pure and Applied Microbiology. 8:4017-4023.
- Valan Arasu, M., Jung, M.W., Ilavenil, S., Jane, M., Kim, D.H., Lee, K.D., Park, H.S., Huh, T.Y., Choi, G.J., Lim, Y.C., Al-Dhabi N.A. and Choi, K.C. 2013. Isolation and characterization of antifungal compound from Lactobacillus plantarum KCC-10 from forage silage

- with potential beneficial properties. Journal of Applied Microbiolology. 115:1172-1185.
- Valan Arasu, M., Jung, M.W., Kim, D.H., Ilavenil, S., Lee, K.D., Choi, G.J., Al-Dhabi, N.A. and Choi, K.C. 2014b. Isolation and characterization of *Lactobacillus plantarum* KCC-19 from crimson silage. Journal of Pure and Applied Microbiology. 8:3575-3587.
- Valan Arasu, M., Kim D.H., Kim P.I., Jung, M.W., Ilavenil, S., Mariamichael J., Lee, K.D., Al-Dhabi N.A., and Choi K.C. 2014c. In vitro antifungal, probiotic and antioxidant properties of novel Lactobacillus plantarum K46 isolated from fermented sesame leaf Annals Microbiology 64:1333-1346.

(Received: March 28, 2017 | Revised: May 13, 2017 | Accepted: May 15, 2017)