

Research Article

## 개미산과 유산균제 첨가 베일 사일리지의 발효 차이가 반추위 발효 특성에 미치는 영향

김자연<sup>1</sup>, Rajaraman Bharanidharan<sup>2</sup>, 방금휘<sup>3,4</sup>, 정순우<sup>5</sup>, 박설화<sup>6</sup>, 오영균<sup>3</sup>, 김종근<sup>1,3</sup>, 김경훈<sup>1,3,\*</sup>  
<sup>1</sup>서울대학교 국제농업기술대학원, <sup>2</sup>서울대학교 농업생명과학대학, <sup>3</sup>서울대학교 그린바이오과학기술연구원,  
<sup>4</sup>건국대학교 상허생명과학대학, <sup>5</sup>천안시농업기술센터, <sup>6</sup>국립축산과학원 영양생리팀

## Effect of Ensilage of Rye Treated with Formic Acid and Lactic Acid Bacteria Inoculant on Ruminal Fermentation Characteristics

Jayeon Kim<sup>1</sup>, Rajaraman Bharanidharan<sup>2</sup>, Geumhwi Bang<sup>3,4</sup>, Soonwoo Jeong<sup>5</sup>, Seol Hwa Park<sup>6</sup>,  
Young Kyoon Oh<sup>3</sup>, Jong GeunKim<sup>1,3</sup> and Kyoung Hoon Kim<sup>1,3\*</sup>

<sup>1</sup>Graduate School of International Agriculture Technology, SNU, Pyeongchang, 25354, Korea

<sup>2</sup>College of Agriculture and Life Science, SNU, Seoul, 08826, Korea

<sup>3</sup>Institute of Green Bio Science & Technology, SNU, Pyeongchang, 25354, Korea

<sup>4</sup>Department of Animal Science and Technology, KGU, Seoul, 27478, Korea

<sup>5</sup>Cheonan City Agricultural Technology Center, Cheonan, 31233, Korea

<sup>6</sup>Animal Nutritional & Physiology TEAM, NIAS, Wanju, 55365, Korea

### ABSTRACT

This study investigated the effects of silage additives on rumen fermentation characteristics of rye silage. Rye was harvested at ripening stage and treated with different additives in quadruplicate following: without additive (control), with either lactic acid bacteria inoculant (LAB), formic acid (FA), or Ca-formate (Ca-FA). Overall, ensiling characteristics of FA and Ca-FA silages contained 4-fold more ( $P<0.05$ ) butyrate and 2-fold more ( $P<0.05$ )  $\text{NH}_3\text{-N}$  concentration (% total nitrogen) than those of control and LAB silages. Cows fed LAB silage showed a diurnal trend with the highest values of propionate concentration compared to the control at 1, 2 and 3 hr after feeding. In contrast, FA and Ca-FA silages increased the proportion of butyrate significantly ( $P<0.05$ ) at all sampling times compared to control and LAB silage. In conclusion, Forage rye treated with FA or Ca-FA showed different fermentation characteristics during ensilage and in the rumen compared to LAB silage. Further studies are needed to evaluate whether different fermentation characteristics in the rumen between LAB and FA silages had effect on partitioning of nutrients between milk production and body tissue.

(Key words: Calcium-formate, Formic acid, Ruminal fermentation, Silage fermentation )

### I. 서론

사일리지를 제조할 때에 첨가제를 사용하는 목적은 저장과정에서 낙산발효(butyric acid fermentation)로 대표되는 부패가 일어나지 않도록 하려는 것이다. 대표적인 첨가제로는 유산발효(lactic acid fermentation) 촉진 목적의 유산균제(lactic acid bacteria inoculant)와 제한발효(restrictively fermented silage)용의 개미산(formic acid) 등이 있다. 우리나라에서 제조되는 모든 사일리지는 재료초를 일정 수분 함량까지 예جن을 하고, 최대한 유산발효를 유도하기 위해서 유산균제를 첨가한다(Kim et al., 2015). 유산 발효에 의해 pH가 4.2이하로 낮아지면 저장기간 중 침출액

에 의한 건물 손실율도 낮고(Kim et al., 2015) 낙산발효 사일리지 보다 가축생산성이 높기 때문이다. 그러나 호밀(Rye), 이탈리아 안 라이그라스(Italian ryegrass) 또는 사료용 벼(Whole crop rice) 등의 재료초를 수확 또는 예جن해야 하는 봄과 가을은 비교적 자주 비가 내리기 때문에 사일리지 제조 시기 지연, 예جن 기간 중 비의 피해뿐 아니라 유산발효 유도 실패로 품질이 나쁜 원형 베일(round bale) 사일리지들이 많이 나타난다. 개봉 후에도 피복 필름이 손상된 상태로 장기간 농장 주변 또는 재배 포장에 야적되어 있는 과정에서 사일리지 품질은 더욱 나빠질 수 있다. 개미산 첨가는 낙산균(clostridia)과 같은 부패균을 직접 억제하기 때문에 사일리지 장기 보관이 가능한 첨가제이지만 국내에

\*Corresponding author: Kyoung Hoon Kim, Graduate School of International Agricultural Technology, Seoul National University, Pyeongchang 25354, Korea, Tel: +82-33-339-5726, E-mail: khkim@snu.ac.kr

서는 1~2L의 소형 용기를 이용한 연구만 매우 제한적으로 수행되었다(Park et al., 1984; Shin and Bae, 1986; Kim et al., 2004). 과거에는 기계화 작업이 가능하지 않았기 때문에 부식성이 강하고 호흡기 피해를 일으킬 수 있는 개미산 85% 농도의 용액을 현장에서 이용하기 어려웠다. 반면에 유럽에서는 80~90년대에도 수확부터 사일리지 제조까지 기계화 작업이 가능했기 때문에 제한발효에 의한 사일리지 발효 특성과 가축생산성에 미치는 연구가 많이 수행되었다(Cushnahan and Mayne, 1995; Cushnahan et al., 1995; Huhtanen et al., 1997; Miettinen and Huhtanen, 1997). 특히, 유산발효 사일리지를 섭취한 젖소는 우유 생산에너지 보다 체내 축적에너지가 더 증가하고, 제한발효 사일리지를 섭취한 젖소는 체중적 보다 우유 생산에너지가 더 증가하는 결과는 지금에도 매우 흥미롭다.

우리나라도 이제는 원형 베일사일리지 제조 전과정이 기계화되어 있어서 개미산 또는 개미산염을 과거 보다 안전하게 이용가능하기 때문에 비옥우용 그리고 착유우용의 맞춤형 사료로 유산발효 사일리지와 함께 제한발효 사일리지 도입을 위한 연구가 필요하다. 따라서 본 연구는 호밀을 수확하여 유산균제, 개미산, 개미산칼슘염(Ca-formate)을 처리한 원형베일 사일리지를 제조하여 발효 특성을 조사하고 반추위 캐놀라가 장착된 공시축을 이용하여 반추위 발효 특성을 조사하였다.

## II. 재료 및 방법

### 1. 사일리지 제조 및 시료 채취

호밀은 서울대학교 평창캠퍼스 경사지 조사료 생산 포장에서 재배되었고, 2018년 5월 26일 오전에 예취를 하고 무첨가 및 유산균제, 개미산, 개미산칼슘염을 이용한 원형 베일사일리지를 각각 제조하였다. 유산균제(*Lactobacillus plantarum*  $1.5 \times 10^{10}$  CFU/g fresh matter; CM bio, Anseong, Korea)를 g/L 농도로 희석하여 1 ton의 재료초에 4L를, 개미산은 85%액을 4L, Ca-FA는 16% 용액을 만들어서 6.6L 단위로 각각 분사하였다. 베일러(baler)가 500kg 베일을 제조하는 동안에 계획대로 처리 용액량이 분사되도록 하기 위해서 최적의 베일러 주행속도와 분사량을 모의실험을 통해서 사전에 결정하였다. 완성된 베일은 15겹으로 감아서 서울대 목장에 야적하였다. 처리구별 각각의 원형 베일사일리지 작업에 앞서서 해당 재료초를 약 10m 간격으로 채취하였고 사일리지는 제조 18주 후에 각 처리별로 4개의 베일사일리지를 선택하여 sampler (Uniforage sampler, Canada)를 이용하여 상, 중 하 부위로부터 각각 3곳씩, 총 9개소의 시료를 얻은 후에 전체를 베일별로 혼합하여 분석 전까지 냉동 보관하였다.

### 2. In vivo 반추위 발효특성 조사

반추위 캐놀라가 장착된 홀스타인 암소 4두(평균체중 563kg)를 공시하여 4×4 Latin square design으로 실험을 수행하였다. 실험사료로는 무처리, 유산균제 첨가 사일리지, 개미산 첨가 사일리지, 개미산칼슘염 첨가 사일리지를 각 65% 그리고 농후사료 35% 비율로 혼합급여 하였다. 1일 사료급여량은 암소 유지의 1.2배로 하였고(RDA, 2017), 건물(DM: dry matter) 기준으로 체중의 1.2%를 아침(09:00)과 저녁(06:00)에 2회 균등 분할 급여하였다. 각 period는 10일로 하였고, 9일간의 사료 적응과 10일째에 반추위액을 채취하였다. 반추위액은 5회(아침 사료급여 전 1회, 사료급여 후 1, 2, 3, 5시간째 4회) 채취하였고 현장에서 4겹의 cheese cloth를 이용하여 사료를 제거한 후에 pH meter (model AG 8603; Seven Easy pH, Mettler-Toledo, Schwerzenbach, Switzerland)를 이용하여 pH를 측정된 후에 VFA (volatile fatty acid)와 NH<sub>3</sub>-N분석을 위해 -20℃에 보관하였다.

### 3. 시료 및 통계 분석

재료초인 호밀과 사일리지는 건조기(65℃)로 72시간 건조한 후, 건물 함량을 계산하였고, 1mm 체를 통과하도록 분쇄(Thomas Scientific Model 4, New Jersey, USA)한 후에 질소(AOAC Method 990.0), 조회분(AOAC Method 942.05)을 분석하였다. NDF (neutral detergent fiber)와 ADF (acid detergent fiber)는 Van Soest 방법(1991)으로 heat stable amylase를 이용하여 조회분을 보정한 값을 구하였다. 재료초의 WSC (water soluble carbohydrate) 함량 분석은 Anthrone 시약(Yemm and Willis, 1954)을 이용하였다.

사일리지 원물 시료 10g을 증류수 100ml에 넣어 하루 밤 보관한 후에 거름종이(Whatman No. 6, AVAVTEC)를 통과한 추출액을 얻은 후 바로 pH (Mettler-Toledo, Schwerzenbach, Switzerland)를 측정된 후, -20℃에 보관하였다가 NH<sub>3</sub>-N (Broderic and Kang, 1980), WSC(Yemm and Willis, 1954) 그리고 Megazyme assay kit (Bray Co. Wicklow, Ireland)를 이용하여 유산(lactic acid)을 분석하였다. 사일리지 VFA (volatile fatty acid) 분석은 추출액을 3000 rpm으로 4℃에서 15분간 원심분리(Hanil Science Industrial, South Korea)한 후에, 그리고 반추위액 VFA는 Erwin et al. (1961) 방법으로 전처리한 후에 Agilent 7890B GC (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA)를 이용하여 분석(Bharanidharan et al., 2018) 하였다. 반추위액의 NH<sub>3</sub>-N농도 분석은 modified colorimetric method (Charmley et al., 2016)를 이용하였다.

본 실험에서 얻은 결과들은 데이터 분석과 통계처리는 SAS ver. 9.4 (SAS Institute, Cary, NC, USA) Mixed model을 이용하여 수행하였다. 사일리지의 재료초 간의 일반성분과 NDF, ADF 그리고 WSC 평균 함량 비교, 그리고 각 사일리지 발효 후의 발

효특성(pH 그리고 VFA 및  $\text{NH}_3\text{-N}$ 의 평균 농도) 비교를 위해 일원배치 분산분석(one way ANOVA)하였다. 사일리지 발효특성과 반추위 발효특성은 Tukey 방법을 이용하여 사후검정 하였다. 반추위 발효특성의 시간적 변화는 반복측정 분산분석 (repeated measure ANOVA) 후에, Tukey 방법을 이용하여 사후검정 하였다.

### III. 결과 및 고찰

Table 1은 사일리지 제조를 위한 호밀 재료초와 18주 보관 후의 사일리지 일반성분을 보여주고 있다. 사일리지 4 종류의 각 건물 함량은 처리 간에 유의성 있는( $P<0.01$ ) 차이가 있었고, 이는 재료초의 건물 함량에서 확인된 약 4~5% 차이가 반영된 것으로 생각된다. 재료초 건물 함량 차이는 경사지 시험포장에서 볼 수 있는 호밀의 성장 차이와 사일리지 제조 순서 때문이었다. 개화기 호밀(Kim et al., 2001)의 건물 함량 30%, 건물(DM)당 8%의 조단백질(CP)과 비교해 보면 본 실험의 호밀은 건물 함량이 37~48% 그리고 조단백질 함량은 건물당 4.5%로 황숙기에 예취된 것으로 보인다. 또한 숙기별로 조사된 호밀의 NDF 함량 (Srigopalram et al., 2017)과 비교해도 본 실험의 예취시기가 예취적기를 지났다는 것을 알 수 있고 그 이유는 봄 장마의 영향으

로 예취가 지연되었기 때문이었다.

재료초와 발효 18주 후의 사일리지 일반성분에서는 큰 차이가 없었으나, 수용성탄수화물(WSC) 함량은 재료초와 비교하여 사일리지 약 80% 감소하였다. 무첨가와 유산균제 첨가 사일리지 발효에서 보여준 WSC 함량 감소는 이탈리아인 라이그라스(Kim and Uchida, 1990), 두과와 화본과의 혼합목초(Cussen et al., 1995) 등 많은 연구에서 보고되었다. 그러나 본 실험에서 개미산과 개미산칼슘염 첨가 사일리지의 WSC 함량이 대조구와 유산균제 첨가 사일리지 수준까지 감소한 것은 이들 첨가제에서 기대했던 발효억제 효과가 없었다는 것을 말해준다. 혼합목초를 이용하여 개미산과 유산균제를 첨가한 사일리지의 제조 실험(Huhtanen et al., 1997)에서는 발효 후의 WSC 함량(%DM)이 각각 17.7%와 6.8%로 개미산에 의한 발효억제 효과가 확인되었고, 건물당 약 12.5%의 WSC를 함유한 혼합목초를 이용한 사일리지 제조 실험(Haigh, 1998)에서도 개미산칼슘염 첨가 사일리지 WSC 함량이 4.3%로 무첨가 사일리지 0.6% 보다 높았다.

Table 2는 사일리지 발효 18주 후의 발효 특성을 보여주고 있다. 무첨가 사일리지의 pH는 유산균제 첨가 사일리지 보다 높았지만 낙산함량은 차이가 없고, 총 질소중  $\text{NH}_3\text{-N}$ 비율도 10% 미만으로 차이가 없었다. 유산균제 처리 사일리지의 pH는 무첨가 사일리지와 비교하여 유의성 있게( $P<0.05$ ) 낮았고 유산 함량도

Table 1. Chemical compositions of forage ryes and round bale rye silages

Item <sup>1</sup>	Additives <sup>2</sup>				SEM <sup>3</sup>	P value
	Control	LAB	FA	Ca-FA		
Forage rye (% DM)						
Dry matter, %	48.4	45.3	39.1	36.9		
Crude protein	4.5	4.3	4.6	4.5		
Ash	4.4	4.2	4.3	4.4		
NDF	70.4	68.4	70.6	62.6		
ADF	44.3	39.2	44.7	43.9		
WSC	13.0	13.2	12.8	11.0		
Silage (% DM)						
Dry matter, %	52.4	41.4	34.3	38.8	2.49	0.002
Crude protein	4.6	5.0	5.1	4.4	0.35	NS
Ash	6.0	5.0	6.0	5.6	0.32	NS
NDF	71.3	69.8	69.8	70.4	0.69	NS
ADF	45.6	44.8	44.7	44.3	0.62	NS
WSC	2.4	2.5	1.6	2.3	0.55	NS

<sup>1</sup>NDF, neutral detergent fiber; ADF, acid detergent fiber; WSC, water soluble carbohydrate.

<sup>2</sup>Control, without additive; LAB, lactic acid bacteria inoculant; FA, formic acid; Ca-FA, calcium-formate;

<sup>3</sup>Standard error of least squares means and P values represents statistical comparison; NS, not significant.

Table 2. Effect of silage additives on fermentation characteristics of round bale rye silages

Item <sup>1</sup>	Additives <sup>2</sup>				SEM <sup>3</sup>	P value
	Control	LAB	FA	Ca-FA		
pH	4.9 <sup>a</sup>	4.5 <sup>b</sup>	5.0 <sup>a</sup>	4.8 <sup>a</sup>	0.08	<0.01
Acetic acid, % DM	3.5	2.4	4.4	2.9	0.86	NS
Butyric acid, % DM	6.3 <sup>b</sup>	7.2 <sup>b</sup>	26.3 <sup>a</sup>	23.5 <sup>a</sup>	3.86	<.0001
Lactic acid, % DM	0.6 <sup>b</sup>	1.1 <sup>a</sup>	0.6 <sup>b</sup>	0.5 <sup>b</sup>	0.11	0.009
NH <sub>3</sub> -N, % Total-N	9.2 <sup>b</sup>	9.0 <sup>b</sup>	18.2 <sup>a</sup>	17.7 <sup>a</sup>	2.50	0.133

<sup>a,b</sup>Means within a row with different superscripts differ ( $P<0.05$ ).

<sup>1</sup>NDF, neutral detergent fiber; ADF, acid detergent fiber; WSC, water soluble carbohydrate.

<sup>2</sup>Control, without additive; LAB, lactic acid bacteria inoculant; FA, formic acid; Ca-FA, calcium-formate.

<sup>3</sup>Standard error of least squares means and  $P$  values represents statistical comparison; NS, not significant.

상대적으로 높았지만( $P<0.05$ ), 유산 함량이 1.1%로 일반적인 유산발효 사일리지 보다 낮았다. 이러한 결과는 재료초의 건물 함량이 원인일 것으로 생각된다. 수확 시기가 황숙기에 이르러서 재료초의 건물 함량이 50% 정도로 비교적 높았고, 그 결과 무첨가와 유산균제 첨가 사일리지는 미생물의 활동이 어느 정도 억제되었을 것이라 생각된다. 수분 15%의 이탈리아 리아그라스에 포도당을 첨가해서 유산발효를 유도한 사일리지(Kim and Uchida, 1991)의 pH는 3.9이었고 유산 함량은 6% 정도였지만, 수분을 30%와 50%까지 예견한 사일리지(Kim and Uchida, 1990)의 pH는 각각 4.5와 4.8로 높아졌고, 유산 함량은 4.3%와 2.3%로 낮아졌던 결과들이 본 실험의 무첨가와 유산균제 첨가 사일리지의 발효 특성을 설명해주고 있다.

개미산과 개미산칼슘염 첨가 사일리지는 발효 자체를 억제하는 효과를 기대하였지만 무처리 사일리지 보다 낙산 함량이 4배 정도 높았고( $P<0.05$ ), 총 질소중 NH<sub>3</sub>-N의 평균 농도도 무첨가 보다 2배 높았던 결과( $P<0.05$ )를 볼 때, 활발한 낙산발효가 있었고 clostridia 억제에 실패한 것으로 사료된다. 낙산발효에서 saccharolytic clostridia는 유산을 낙산으로 전환시키고, amino acid fermenting clostridia는 아미노산으로부터 NH<sub>3</sub>를 생산하면서 낙산 생산에도 영향을 준다(Leibensperger and Pitt, 1987). 이 연구에 의하면, NH<sub>3</sub> 농도와 낙산 농도 간에는 정의 상관성이 있었고( $R^2=80.7%$ ), 본 실험도 같은 결과를 보였다( $R^2=89.9%$ ,  $n=14$ ).

Table 3과 Fig. 1은 유산균제 첨가, 개미산 그리고 개미산칼슘염을 첨가한 사일리지를 섭취한 반추위액의 발효 특성을 보여주고 있다. 시간별로 5회 채취한 반추위액의 평균 pH와 총 VFA의 평균 농도 그리고 총 VFA 중 초산(acetic acid)과 프로피온산(propionic acid)의 평균 비율은 유산균제 첨가 사일리지와 다른 사일리지들 간에 유의적인 차이가 없었다. 그러나 유산균제 첨가 사일리지를 섭취한 후 1, 2 그리고 3시간에서 반추위의 propionic acid 비율(% 총 VFA)이 개미산 첨가 사일리지 보다 높은 경향( $P=0.1$ )이

확인되었다. 본 실험의 사일리지들은 같은 재료초를 사용해서 제조되었기 때문에 반추위 propionate 비율이 높아진 결과는 일반 성분의 영향 보다는 사일리지의 유산 함량의 차이 때문으로 생각된다. Chamberlain et al. (1983)은 면양의 반추위에 유산을 주입하는 실험을 통해 유산이 약 25분 안에 대사되어서 미생물에게 에너지를 제공함으로써 미생물에 의한 propionic acid 생산에 기여하고 약간의 낙산 생산과 함께 총 VFA도 증가한다고 하였다. 그 후의 연구들도(Newbold et al., 1987; Jaakkola et al., 1991; Martin et al., 1994) 유산 함량이 높은 전형적인 유산발효 사일리지를 섭취한 반추위 발효는 총 VFA 중 propionic acid 비율 높다는 결과를 보였다.

개미산첨가 그리고 개미산칼슘염 첨가 사일리지를 섭취한 공시축의 반추위 낙산 평균 비율은 무첨가와 유산균제 첨가 사일리지와 비교하여 유의적으로 높았다( $P<0.05$ ). 또한 반추위액 iso-낙산 평균 비율에 있어서도 개미산칼슘염 첨가 사일리지는 무처리와 유산균제 첨가 사일리지보다 유의성 있게 높았고( $P<0.05$ ), 개미산 첨가 사일리지는 무처리와 유산균제 첨가 사일리지 보다 높은 경향(각각  $P=0.090$ ,  $0.101$ )이 확인되었다. 반추위 valeric acid 평균 비율에 있어서도 개미산 첨가 사일리지 급여가 유산균제 첨가 사일리지 급여보다 유의성 있게 높았다( $P<0.05$ ). Iso-valeric acid 비율에 있어서도 개미산 첨가 사일리지는 유산균제 첨가 사일리지보다 높은 경향( $P=0.068$ )이 있었고, 개미산칼슘염 첨가 사일리지는 유의성 있게 높았다( $P<0.05$ ). 이러한 결과는 사일리지 섭취 후 시간별 발효특성에서도 명확히 나타났다. 개미산 첨가 사일리지와 개미산칼슘염 첨가 사일리지를 섭취한 공시축의 반추위 낙산 비율은 사료섭취 후 1, 2, 3 그리고 5시간 모두에서 무처리와 유산균제 첨가 사일리지보다 유의성 있게 높았다( $P<0.05$ ). 또한 iso-낙산 비율과 valeric acid 그리고 iso-valeric acid에서도 2, 3 그리고 5시간에서도 같은 결과를 보였다. 이러한 반추위 발효 특성은 제한발효 사일리지를 섭취한 유우의 반추위에서 많이 보

Table 3. Effect of silage additives on rumen fermentation characteristics of cows fed round bale rye silages

	Additives				SEM	P value
	Control	LAB	FA	Ca-FA		
pH	6.7	6.8	6.7	6.6	0.12	NS
Total VFA, mM	64.1	65.2	68.1	67.0	4.82	NS
Acetic acid, % mM	69.9	68.8	66.9	67.7	1.49	NS
Propionic acid, % mM	18.3	19.2	17.5	17.8	0.81	NS
Butyric acid, % mM	8.4 <sup>c</sup>	8.8 <sup>bc</sup>	11.7 <sup>a</sup>	10.5 <sup>ab</sup>	0.72	0.025
Iso-butyric acid, % mM	0.95 <sup>bc</sup>	0.97 <sup>bc</sup>	1.15 <sup>ab</sup>	1.21 <sup>a</sup>	0.080	0.067
Valeric acid, % mM	0.90 <sup>ab</sup>	0.87 <sup>b</sup>	1.0 <sup>a</sup>	0.95 <sup>ab</sup>	0.034	0.103
Iso-valeric acid, % mM	1.58 <sup>ab</sup>	1.37 <sup>bc</sup>	1.78 <sup>ab</sup>	1.86 <sup>a</sup>	0.149	0.133
NH <sub>3</sub> -N, mg/dL	6.2	7.1	7.0	7.6	1.02	NS

<sup>a,b,c</sup>Means (means of five samples during the day in each of four cows) within within a row with different superscripts differ ( $P < 0.05$ ).

<sup>1</sup>NDF, neutral detergent fiber; ADF, acid detergent fiber; WSC, water soluble carbohydrate.

<sup>2</sup>Control, without additive; LAB, lactic acid bacteria inoculant; FA, formic acid; Ca-FA, calcium-formate.

<sup>3</sup>Standard error of least squares means and  $P$  values represents statistical comparison; NS, not significant.

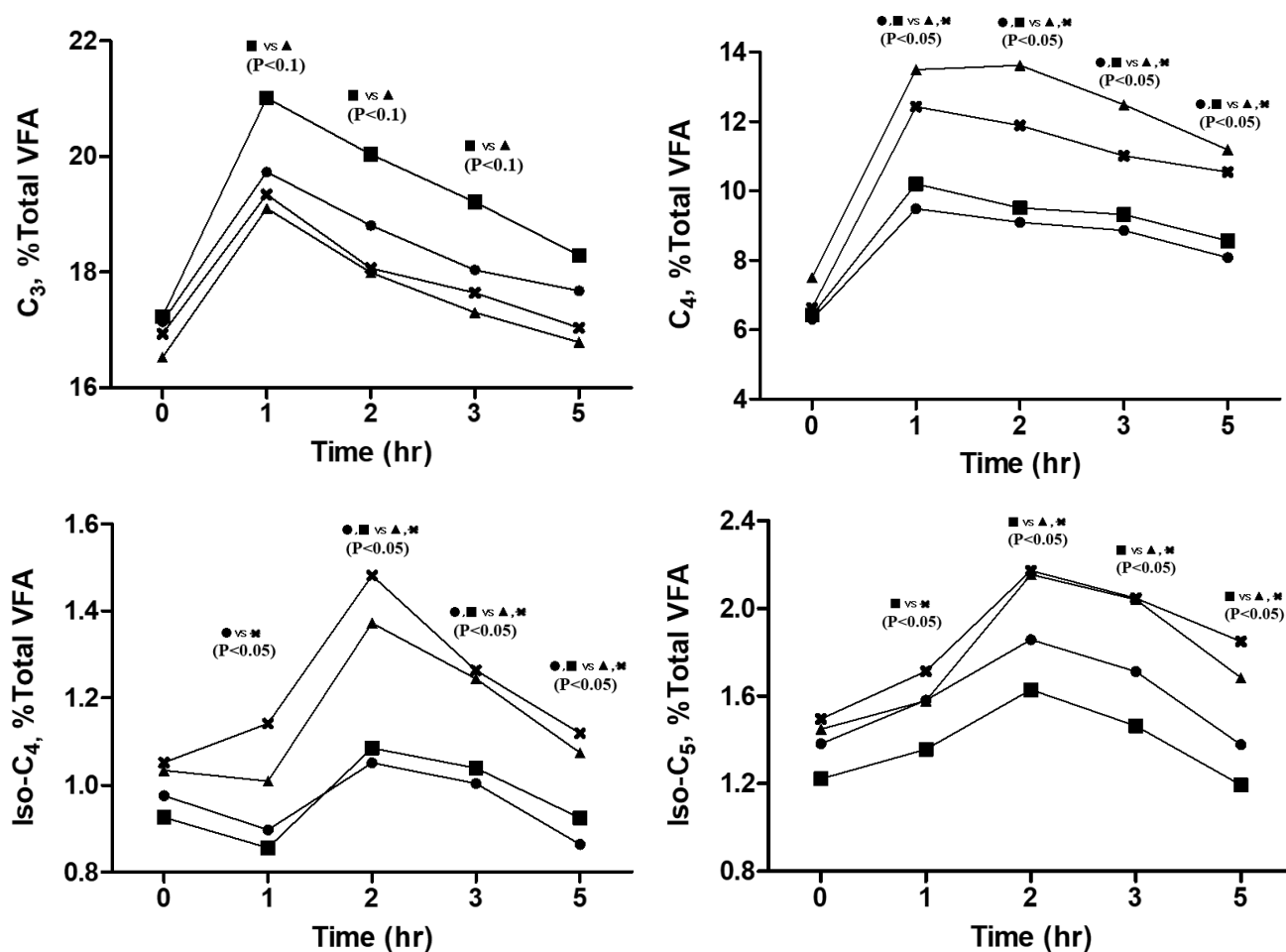


Fig. 1. Changes of rumen propionate (C<sub>3</sub>), butyrate (C<sub>4</sub>), iso-C<sub>4</sub> and iso-C<sub>5</sub> during 5 hr after morning feeding of cows fed rye silages with different additives; control (without additive, ●), LAB (with lactic acid bacteria inoculant, ■), FA (with formic acid, ▲) and Ca-FA (with calcium formate, ×).

고되었고 (Cushnahan et al., 1995; Huhtanen et al., 1997), 사일리지에 상대적으로 많이 잔류한 WSC가 이용된 것이라고 설명하고 있다. 그러나 본 연구의 개미산첨가 그리고 개미산칼슘염 첨가 사일리지는 전형적인 제한발효 효과를 보여주지 않았고, 잔류 WSC 함량도 적었지만 낙산(lipogenic VFA)이 증가하는 반추위 발효특성을 보여주고 있는 것은 매우 흥미로운 결과이다.

사일리지 제조에 있어서 개미산의 발효억제 효과는 소형 용기를 이용한 실험에서는 많이 확인되지만(Park et al., 1984; Shin and Bae, 1986; Kim et al., 2004), 현장 규모에서는 발효 억제 효과가 일정하지 않았다(Haigh, 1992, 1998; Davies and Haigh, 1993). 특히 Chamberlain and Quig (1987)에 의하면 개미산을 이용한 발효제한은 4 L/ton 보다 6 L/ton에서 더 효과적이며 저장 기간도 영향을 준다고 하였다. Haigh (1992)는 bunker silo에 높은 수준(6 L/ton)으로 개미산을 첨가하여 제조한 87개의 사일리지 중에서 발효가 억제된 것은 약 20% 정도뿐이었고 하였고, 수분함량이 높은 것 보다는 낮은 때에 개미산에 의한 발효억제 효과가 더 크다고 하였다. 또한 현장 상황에서 실제로 권장량대로 첨가가 되는지 의문을 가졌고, 본 실험에서도 권장량이 정확히 분사되도록 베일리 주행속도와 노즐의 개방 정도를 사전 실험에서 점검하였지만 흠먼지가 노즐을 막거나 탱크 내 첨가제 용액의 양이 줄어들면서 압력이 낮아지는 등 많은 요인들이 분사량에 영향을 주었다.

Cushnahan and Mayne (1995), Cushnahan et al. (1995) 그리고 Huhtanen et al. (1997)의 논문에서는 매우 전형적인 유산발효 사일리지와 제한발효 사일리지의 발효 특성을 보여주고 있다. 유산 발효는 pH가 4이하, 유산이 건물기준으로 10% 이상, 낙산은 2% 이하, 그리고 총 질소중  $\text{NH}_3\text{-N}$ 의 비율은 5% 이하였고, 제한발효 사일리지는 pH 4~5, 재료초 WSC가 사일리지에 약 40~50%이상 잔류, 총 질소중  $\text{NH}_3\text{-N}$ 비율이 8% 미만이었다. 본 실험의 유산발효 사일리지와 제한발효 사일리지의 발효특성이 위 연구자들의 결과와 같지 않더라도 유산발효 사일리지는 반추위 propionic acid (glucogenic) 비율을 증가시키고, 제한발효 사일리지는 반추위 낙산 비율을 증가시킨다는 결과들을 본 실험의 유산균제 첨가와 개미산 및 개미산칼슘염 첨가 사일리지에서도 확인하였다.

유산발효 사일리지와 제한발효 사일리지 간의 발효특성 차이는 반추위 발효와 미생물단백질 합성량에 영향을 줄 뿐 아니라 섭취에너지의 대사와 유조성 변화에까지 영향을 준다는 연구 결과(Cushnahan and Mayne, 1995; Cushnahan et al., 1995; Huhtanen et al., 1997; Miettinen and Huhtanen, 1997)가 있다. 유산발효 사일리지를 섭취한 젖소는 반추위 propionic acid 공급이 상대적으로 높고, 혈중 포도당 공급이 많아져서 단백질이 더 많이 증체에 이용되며, 제한발효 사일리지는 유선에서 포도당 이용효율이 높아져서 유생산에 이용되는 에너지 비율이 상대적으로 더 많으며, 유지방과 유단백 비율도 증가한다는 것이다. 그동안 우리나라는 유산발

효만을 목적으로 사일리지를 제조해 왔지만 다른 유형의 제한발효 사일리지를 활용한다면 각각 비육우용 그리고 한우 포유우나 젖소 비육우 맞춤형의 정밀 사일리지 이용이 가능할 것으로 생각된다.

#### IV. 요약

본 실험은 개미산 첨가 방법으로 제조한 제한발효 사일리지의 효용성을 증명하기 위하여 반추위 발효 특성 변화에 미치는 영향을 유산발효 사일리지와 비교하였다. 호밀 재배 포장에서 4종의 베일사일리지(무첨가, 유산균제 첨가, 개미산 첨가, 개미산칼슘염 첨가)을 제조하였고, 18주 후에 각각 4개의 베일을 선택하여 발효품질을 조사하였다. 재료초의 건물 함량이 50% 정도로 비교적 높았던 무첨가 사일리지와 유산균제 첨가 사일리지는 예전 사일리지와 유사한 발효특성을 보였다. 그러나 개미산과 개미산칼슘염 첨가 사일리지는 무처리 사일리지 보다 낙산 함량이 4배 정도 높았고( $P<0.05$ ), 총 질소중  $\text{NH}_3\text{-N}$ 의 평균 농도도 무첨가 보다 2배 높은 ( $P<0.05$ ) 낙산발효 특징을 보여주었다. 반추위 발효 특성 조사는 반추위 캐놀라가 장착된 4두의 홀스타인 암소(평균체중 563kg)를 공시하여 4×4 Latin square design으로 실험을 수행하였다. 사료섭취 후 1, 2, 3 시간에서 유산균제 첨가 사일리지가 개미산 첨가 사일리지보다 반추위 propionic acid 비율(%총 VFA)이 높은 경향( $P=0.1$ )을 보였고, 개미산 첨가 사일리지와 개미산칼슘염 첨가 사일리지를 섭취한 공시축의 반추위 낙산 비율은 사료섭취 후 1, 2, 3, 5시간 모두에서 무처리와 유산균제 첨가 사일리지 보다 유의성 있게 높았다( $P<0.05$ ). 이상에서 보여주고 있는 반추위 발효 양상의 차이를 볼 때, 유산균제 첨가 사일리지와 함께 제한발효 사일리지 도입은 사일리지 이용효율을 높이기 위한 하나의 방안이 될 것이다.

#### V. 사사

본 논문은 농촌진흥청 연구사업(과제번호: PJ013823012020)의 지원에 의해 이루어진 것임.

#### VI. REFERENCES

- AOAC. 2007. Official method of analysis of AOAC Int. 18th edn. Rev. 2. AOAC Int., Gaithersburg, MD.  
Bharanidharan, R., Arokiyaraj, S., Kim, E.B., Lee, C.H., Woo, Y.W., Na,

- Y.J., Kim, D.I. and Kim, K.H. 2018. Ruminant methane emissions, metabolic, and microbial profile of Holstein steers fed forage and concentrate, separately or as a total mixed ration. *PLoS ONE*. 13: e0202446. doi:10.1371/journal.pone.0202446
- Broderick, G.A. and Kang, J.H. 1980. Automated simultaneous determination of ammonia and total amino acids in ruminal fluid and in vitro media. *J. Dairy Sci.* 63:64-75.
- Chamberlain, D.G. and Quig, J. 1987. The effect of the rate of addition of formic acid and sulfuric acid on the ensilage of perennial ryegrass in laboratory silos. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 38:217-228.
- Chamberlain, D.G., Tomas, P.C. and Anderson, F.J. 1983. Volatile fatty acid proportions and lactic acid metabolism in the rumen in sheep and cattle receiving silage diets. *Journal of Agriculture Science, Cambridge*. 101:47-58.
- Charmley, E., Williams, S.R.O., Moate, P.J., Hegarty, R.S., Herd, R.M., Oddy, V.H., Reyenga, P., Staunton, K.M., Anderson, A. and Hannah, M.C. 2016. A universal equation to predict methane production of forage-fed cattle in Australia. *Animal Production Science*. 56:169-180.
- Cushnahan, A. and Mayne, C.S. 1995. Effect of ensilage of grass on performance and nutrient utilization by dairy cattle. 1. Food intake and milk production. *Animal Science*. 60:337-345.
- Cushnahan, A., Mayne, C.S. and Unsworth, E.F. 1995. Effect of ensilage of grass on performance and nutrient utilization by dairy cattle. 2. Nutrient metabolism and rumen fermentation. *Animal Science*. 60:347-359.
- Cussen, R.F., Merry, R.J., Williams, A.P. and Tweed, K.S. 1995. The effect of additives on the ensilage of forage of differing perennial ryegrass and white clover content. *Grass and Forage Science*. 50:249-258.
- Davies, O.D. and Haigh, P.M. 1993. A comparison of formic acid and acid-salt type additive on the performance of dairy cows in early lactation. *Grass and Forage Science*. 48:64-69.
- Erwin, E.S., Marco, G.J. and Emery, E.M. 1961. Volatile fatty acid analysis of blood and rumen fluid by gas chromatography. *Journal of Dairy Science*. 44:1768-1771.
- Haigh, P.M. 1992. The effect of an acid salt-type additive on the fermentation of grass silages made in bunker silos on commercial dairy farms in Wales. *Grass and Forage Science*. 47:353-357.
- Haigh, P.M. 1998. Effect of additives on grass silage fermentation and effluent production, and on intake and liveweight change of young cattle. *Journal of Agricultural Engineering Research*. 69:141-148.
- Huhtanen, P.J., Miettinen, H.O. and Toivonen, V.F.J. 1997. Effect of silage fermentation and post-ruminal casein supplementation in lactating dairy cows: 1-Diet digestion and milk production. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 74:450-458.
- Jaakkola, S., Huhtanen, P. and Hissa, K. 1991. The effect of cell wall degrading enzymes or formic acid on fermentation quality and on digestion of grass silages by cattle. *Grass and Forage Science*. 46:75-87.
- Kim, B.W., Kim, G.S. and Sung, K.I. 2004. Effect of lactic acid bacteria and formic acid on the silage quality of whole crop rice at different maturity. *Journal of Korean Society of Grassland Science*. 24:61-70.
- Kim, G.G., Park, H.S., Lee, S.H. Kim, M.J., Kim, J.K., Lim, Y.C. and Chung, E.S. 2015. Effect of harvest maturity, wilting and inoculant on the DM losses and morphological changes of round baled rye silage. *Journal of Korean Society of Grassland and Forage Science*. 35:283-289.
- Kim, J.G., Chung, E.S., Seo, S., Ham, J.S., Kang, W.S. and Kim, D.A. 2001. effects of maturity and wilting days on quality of round baled rye silages. *Asian Australasian Journal of Animal Science*. 14: 1233-1237.
- Kim, K.H. and Uchida, S. 1990. Comparative studies of ensiling characteristics between temperate and tropical species. 1. The effect of various ensiling conditions on the silage quality of Italian ryegrass (*Lolium multiflorum* LAM.) and Rhodes grass (*Chloris gayana* KUNTH.). *Journal of Japanese Society of Grassland Science*. 36:292-299.
- Kim, K.H. and Uchida, S. 1991. Comparative studies of ensiling characteristics between temperate and tropical species. 3. The effect of addition of glucose and formic acid on fermentation and proteolysis during ensilage. *Journal of Japanese Society of Grassland Science*. 37:253-260.
- Leibensperger, R.Y. and Pitt, R.E. 1987. A model of clostridial dominance in ensilage. *Grass and Forage Science*. 42:297-317.
- Martin, P.A., Chamberlain, D.G., Robertson, S. and Hirst, D. 1994. Rumen fermentation patterns in sheep receiving silages of different chemical composition supplemented with concentrates rich in starch or in digestible fibre. *Journal of Agricultural Science, Cambridge*. 122:145-150.
- Miettinen, H.O. and Huhtanen, P.J. 1997. Effect of silage fermentation and post-ruminal casein supplementation in lactating dairy cows: 2-Energy metabolites and plasma amino acids. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 74:459-468.
- Newbold, C.J., Williams, A.G. and Chamberlain, D.G. 1987. The in-vitro metabolism of D, L-lactic acid by rumen microorganisms. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 38:9-18.
- Park, N.B., Kwak, C.H. and Ko, Y.D. 1984. Effect of formic acid addition on the quality of barley silage in accordance with growth stage. *Journal of Animal Science and Technology(Korean)*. 4:214-219.
- Rural Development Administration(RDA). 2017. Korean feeding standards for dairy cattle. National Institute of Animal Science, Korea.
- Shin, C.N. and Bae, D.H. 1986. Effects of formic acid on the quality of rye silages at different dry matter levels. *Journal of Korean Society of Grassland Science*. 6:6-13.
- Srigopalram, S., Ilavenil, S., Kuppusamy, P., Yoon, Y.H., Kim, W.H. and Choi, K.C. 2017. Silages of rye harvested at different stages: A study on microbial inoculants responses in improving rye silage fermentation quality. *Journal of the Korean Society of Grassland and Forage Science*. 37(3):189-194.
- Van Soest, P.J., Robertson, J.B. and Lewis, B.A. 1991. Methods for dietary fiber, neutral-detergent fiber and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *Journal of Dairy Science*. 74:3583-3597.
- Yemm, E.W. and Willis, A.J. 1954. The estimation of carbohydrates in plant extracts by anthrone. *The Biochemical Journal*. 57:508-514.

(Received : October 29, 2020 | Revised : November 16, 2020 | Accepted : November 24, 2020)