

# 식물원료 첨가가 *In vitro* 반추위 메탄가스 발생에 미치는 영향

양승학 · 이세영\* · 조성백 · 박규현 · 박중국 · 최동윤 · 유용희

국립축산과학원

## The Effect of Vegetable Sources Supplementation on *In vitro* Ruminant Methane Gas Production

Yang, Seung-Hak, Lee, Se-Young\*, Cho, Sung-Back, Park, Kyu-hyun, Park,

Joong-Kook, Choi, Dong-Yoon and Yoo, Yong-Hee

National Institute of Animal Science, R.D.A.

### Summary

The researchers have tried to reduce ruminal methane gas (CH<sub>4</sub>) and to convert it into beneficial nutrient for several decades. This study was conducted to screen the methane-reducing vegetables among lettuce, hot pepper, spring onion, onion, turmeric, sesame leaf, garlic, radish sprout, leek and ginger nutritiously on the *in vitro* ruminal fermentation. The heat-treated vegetables at the 10% of substrate (timothy) were used to reduce methane production on the *in vitro* anaerobic experiment of 0, 6, 12, 24 and 48 h incubation time. Total gas production, pH, ammonia, H<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub>, CH<sub>4</sub>, and volatile fatty acid (VFA) were measured as indicators of *in vitro* fermentation product containing methane gas. All treatments except garlic showed a tendency to increase in total gas production. The result of ammonia showed that garlic and hot pepper affected rumen bacteria concerned protein metabolism and that lettuce and spring onion increased ammonia production. Garlic decreased CH<sub>4</sub> production in inverse proportion to H<sub>2</sub>. Lettuce, spring onion, onion, garlic, radish sprout, leek and ginger increased propionate of VFA. Garlic balanced the ruminal fermentation in the pH, H<sub>2</sub>, CH<sub>4</sub>, acetate and propionate. This results showed that methane production at *in vitro* study was inhibited by heat-treated garlic supplementation. In conclusion, this study suggests that ruminal fermentation covering methane production might be controlled by proper vegetables.

(Key words : *In vitro*, Rumen, Garlic, Methane)

### 서 론

일반적으로 지구온난화를 가속시키는 주된 원인으로서 메탄가스는 이산화탄소가스보다 복사열의 흡수능력이 20~30배 높은데 지구상

에서 메탄가스 배출량은 총 500 Tg (Teragram, 1 Tg = 10<sup>12</sup> g)이며 이중 동물의 장내 발효에 의해서는 65~100 Tg이고 분뇨에 의해서는 20~30 Tg가 배출되는 것으로 추정되며<sup>10)</sup>, 반추가축에 의해 방출되는 메탄가스는 연간 78 Tg

\* 천안연암대학 (Cheonan Yonam College)

Corresponding author : Seung-Hak Yang, Animal Environment Division, National Institute of Animal Science, R.D.A, 77 Chuksan-gil, Gwonsun-gu, Suwon, 441-706, Korea. Tel: +82-31-290-1714, E-mail:y64h@korea.kr

2011년 10월 31일 투고, 2011년 12월 16일 심사완료, 2011년 12월 19일 게재확정

으로 추정된다<sup>22)</sup>. 가축으로부터의 메탄생성량의 약 97%가 반추가축에 의해 생성, 그 중에서 젖소가 75%를 차지하고, 젖소는 약 200~400, 비육우는 70~100, 산양은 10~30g/일의 메탄을 방출한다<sup>6)</sup>. 특히 반추동물은 반추위의 특성상 반추위미생물들이 이산화탄소, 메탄가스를 24시간 배출하고 있으며 배출하지 않으면 생명을 유지할 수 없다. 에너지대사면에 있어서는 섭취한 사료부산물로서 총 에너지 섭취량의 2~12%가 메탄가스로 전변되고 있다<sup>15)</sup>. 한편으로 메탄 발생억제를 위한 사료급여체계에 대한 연구가 실시되었으며, Blaxter와 Clapperton (1965)는 면양을 이용하여 사료 섭취량 및 소화율로부터 최초로 메탄발생량을 추정하였고, 가축의 종류<sup>28)</sup>, 사료 섭취량<sup>14)</sup>, 조사료와 농후사료의 비율<sup>28)</sup>, 탄수화물의 종류<sup>21)</sup> 및 조사료의 가공<sup>3)</sup> 많은 요인에 대한 시험이 수행되었는데 장내발효에 의한 메탄생성을 효율적으로 줄이기 위해 반추위내 사료의 발효율과 통과속도를 높여 프로피온산을 증가시켜야 하며, 이로써 에너지이용효율을 개선할 수 있다고 보고하였다<sup>26)</sup>. 반추동물의 메탄 발생억제를 위한 첨가제 개발 연구에서, 불포화지방산<sup>7)</sup>, 지방<sup>8), 29)</sup>, 질산<sup>16)</sup> 등 메탄생성의 전구물질인 수소를 이용할 수 있는 화합물군과 메탄생성박테리아가 기생하는 프로토조아의 억제제로서 ionophore계 항생제<sup>17), 25)</sup>, 할로겐화합물<sup>4)</sup>과 같은 화합물 등에 대한 연구가 수행되었으며, 2-bromoethanesulfonic acid와 ruminococcus product의 첨가에 의해 총에너지가 36.6% 증가하였다고 보고되었다<sup>23)</sup>. 일부 메탄생성 억제제는 동물이나 반추미생물에게 독성을 함유, 대표적으로 질산의 첨가는 반추위내에서 nitrite로 전환되어 동물의 체내로 흡수될 경우 세포에 필요한 산소 공급의 부족을 초래할 수 있으며, ionophore 계통의 항생제를 장기간 투여시 프로토조아가 항생제 내성을 나타내어 메탄생성 억제효과가 감소되는 등<sup>5), 12), 27)</sup>의 문제점

이 발생되고 있어 아직까지 효과적인 첨가제가 개발되지 못하고 있는 실정이다<sup>20)</sup>. 또한 메탄가스가 저감되더라도 화학공업성분으로 만들어졌을 경우 동물의 생체에 미치는 영향에 대한 연구가 이루어져야 하므로 기본적으로는 천연성분 함유 메탄가스 저감물질의 개발이 필요하다. 그러므로 본 연구는 식물원에서 반추위 메탄가스 생성을 억제하는 물질을 찾고자 수행되었다.

## 재료 및 방법

### 1. 공시축

볏짚과 농후사료를 6:4의 비율로 체중의 2% (풍건물 기준)를 급여한 반추위 캐놀라장작의 홀스타인 수소를 공시했다.

### 2. 공시 첨가물질 및 전처리방법

상추, 고추, 대파, 양파, 강황, 깻잎, 마늘, 무순, 부추, 생강에 대해 동결건조 및 열처리를 실시하고 1 mm로 분쇄한 후 공시하였다.

### 3. 반추위 미생물의 혼합배양

#### ① 기질 및 첨가물질:

곱게 갈은 티모시 1 g을 120 ml serum bottle에 넣었으며 첨가물질은 2군 (A: 상추, 고추, 대파, 양파; B: 강황, 깻잎, 마늘, 무순, 부추, 생강)으로 나눠 기질 (티모시)의 10%이 되도록 칭량하여 공시하였다. 대조구를 포함한 모든 시험구는 3반복으로 수행되었다.

#### ② 반추위액의 채취:

공시축의 반추위 캐놀라를 통하여 반추위액과 반추위 고형물을 채취하여 미리 보온되어 있는 이산화탄소 충전 용기를 이용, 실험실로 운반하였다.

#### ③ 배양액 제조:

채취한 반추위액과 Table 1에 기록된 McDougall's buffer를 1:3의 비율로 섞어 30분 이상 O<sub>2</sub>-free CO<sub>2</sub>로 bubbling하였다.

④ 접종 및 배양:

③에서의 배양액을 ①에서의 기질과 첨가 물질이 담겨 있는 bottle에 50 ml씩 분주한 후 butyl rubber stopper와 aluminum cap으로 밀봉하였다. 그 후 밀봉된 bottle을 39°C shaking incubator에서 0, 6, 12, 24, 48시간동안 Hungate (1966)의 anaerobic gassing 방법으로 혐기배양을 실시하였다.

⑤ 시간대별 배양이 끝난 후 조사항목 분석을 실시하였다.

Table 1. The composition of McDougall's buffer

Ingredients	Amount (/L)
NaHCO <sub>3</sub>	9.80g
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> · 2H <sub>2</sub> O	4.62g
KCl	0.57g
NaCl	0.47g
MgSO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O	0.12g
CaCl <sub>2</sub>	0.00004g

4. 조사항목 및 분석방법

(1) total gas production

전체 가스발생량은 serum bottle내의 head space에 축적된 가스에 의해 생긴 가스압을 압력센서를 이용하여 측정하고 이를 부피로 환산하여 가스발생량을 구하였다.

(2) pH

배양이 완료된 serum bottle의 gas production을 측정한 후, tube의 뚜껑을 열고 pH meter (Gmbh 8603, Mettler-Toledo, Switzerland)로 pH를 측정하였다.

(3) 암모니아 분석

Chaney와 Marbach (1962)의 방법에 따라 phenol 용액으로 위액중의 암모니아를 발색시킨 후 spectrophotometer (UV-2401, Shimadzu, Japan)를 이용하여 630 nm에서 흡광도를 측정하여 계산하였다.

(4) VFA

Erwin 등 (1961) 방법에 의해 수행하였다. pH 측정 후 VFA를 측정할 반추위액을 micro-tubes (MCT-175-C, Axygen, U.S.A)에 1 ml씩 회수한 후 미생물의 작용을 정지하기 위해 0.1 ml의 포화 HgCl<sub>2</sub> 용액과 25% HPO<sub>3</sub> 용액 0.2 ml를 첨가하여 혼합 후 실온에서 30분간 정치시켰다. 실온에서 정치시킨 배양액은 분석 전까지 -20°C의 냉동고에 보관하였다가 micro centrifuge (5415R, Eppendorf, Germany)를 이용하여 13,000 rpm에서 10분간 원심분리한 후 상층액을 채취하였으며, gas chromatography (GC-2010, Shimadzu, Japan)를 이용하여 VFA 표준용액을 기준으로 분석하였다.

(5) H<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub> 및 CH<sub>4</sub>

가스의 성분분석을 위한 발생가스 중 5 mL을 가스포집용 주사기로 채취하여 TCD (Thermal Conductivity Detector)가 장착된 gas chromatography (GC2010, Shimazhu, Japan)를 이용하였다. 가스성분은 H<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub> 및 CH<sub>4</sub>를 분석하였으며, GC의 조건은 injector 150°C, column 90°C, detector 200°C이었으며, column은 packed column (Shincarbon ST 50/80, Shimazhu, Japan)을 사용하였다. Carrier gas로는 He gas를 사용하였다.

(6) 건물분해율

원심분리 후 남은 펠렛을 glass filter에 통과하여 오븐에서 48시간 건조 후 칭량하여 건물소화율을 계산하였다.

5. 통계분석

시험결과에 대한 통계분석은 SAS package (2002)의 분산분석 (ANOVA)를 이용하고, 각 처리구별 유의성 검정은 Tukey's test를 이용하였다.

### 결과 및 고찰

#### 1. 식물원료 첨가에 의한 *in vitro* 배양의 pH, NH<sub>3</sub> 및 VFA 발생량 분석

반추위의 주된 메탄가스 생성원인 조사료 (티모시)를 기질로 한 시험에서 그룹 1은 상추와 대파첨가구에서 암모니아 농도가 높았고 고추첨가구에서 낮았으며 (P<0.05), 그룹 2는 마늘첨가구에서 암모니아 농도가 낮았고 (P<0.05) 깻잎, 무순과 부추첨가구에서 높았다 (P<0.05). Nugent와 Mangan (1981)은 단백질원 분해산물인 암모니아는 박테리아와 프로토조아에 의해 발생이 조절되며, 주로 작용을 하는 것은 박테리아라고 보고했다. 그

리므로 마늘과 고추첨가구에서 단백질분해과정 중 아미노산에서 암모니아로 분해되는 과정에 영향을 미쳤을 것으로 예상된다. Monensin을 급여한 시험에서 반추위내의 단백질의 분해가 감소되었고 암모니아 농도가 낮아졌다고 했으며<sup>30)</sup>, *in vitro* 배양시험에서도 monensin의 첨가시 암모니아태 질소의 양이 줄었다고 했다<sup>31)</sup>. 배양시간에 있어서는 24시간에서 48시간사이에 NH<sub>3</sub> 발생량이 많았다.

총 VFA 농도는 대파첨가구에서 유의적으로 높았으나 (P<0.05) 그 외 시험구에서는 대조구와 차이가 없었다. Acetate와 propionate의 비율에서 볼 때 마늘첨가구가 propionate의 양이 상대적으로 증가한 것으로 나타났다. 특히 propionate는 반추동물체내에 흡수되어 주로 glucose 생산에 사용되는 중요한 영양소로서 작용하기 때문에 마늘첨가에 의해 반추동물의 생산성이 높아질 것으로 사료된다.

지난 시험<sup>33)</sup>에서 마늘 시험구의 첨가량을 분말형태로 기질의 1.25~2.5%로 하였을 때 2.5

Table 2. Changes in pH value and NH<sub>3</sub> during *in vitro* incubation by using different vegetables

Item	pH					NH <sub>3</sub> (mg/100ml) <sup>†</sup>				
	0	6	12	24	48	0	6	12	24	48
Group 1 control	7.01	6.87	6.85	6.45	6.27	1.45 <sup>a</sup>	0.45 <sup>c</sup>	0.41 <sup>cd</sup>	0.43 <sup>b</sup>	6.29 <sup>bc</sup>
Lettuce	7.00	6.85	6.83	6.39	6.25	1.45 <sup>a</sup>	3.10 <sup>a</sup>	3.09 <sup>a</sup>	1.97 <sup>a</sup>	8.63 <sup>a</sup>
Hot pepper	7.03	6.87	6.83	6.38	6.18	1.61 <sup>a</sup>	1.60 <sup>b</sup>	1.40 <sup>b</sup>	0.45 <sup>b</sup>	5.60 <sup>c</sup>
Spring onion	7.05	6.87	6.83	6.36	6.15	1.36 <sup>a</sup>	1.38 <sup>b</sup>	0.75 <sup>c</sup>	0.46 <sup>b</sup>	8.30 <sup>a</sup>
Onion	7.04	6.88	6.81	6.32	6.11	1.85 <sup>a</sup>	0.61 <sup>c</sup>	0.17 <sup>d</sup>	0.44 <sup>b</sup>	7.36 <sup>ab</sup>
Group 2 control	6.87	6.66	6.52	6.43	6.25	1.04 <sup>c</sup>	0.91 <sup>c</sup>	1.20 <sup>c</sup>	2.38 <sup>c</sup>	9.79 <sup>c</sup>
Turmeric	6.89	6.63	6.45	6.31	6.19	1.03 <sup>c</sup>	0.99 <sup>c</sup>	0.90 <sup>cd</sup>	2.35 <sup>c</sup>	10.18 <sup>c</sup>
Sesame leaf	6.91	6.60	6.45	6.31	6.22	1.44 <sup>b</sup>	1.72 <sup>b</sup>	1.23 <sup>c</sup>	3.31 <sup>bc</sup>	11.80 <sup>b</sup>
Garlic	6.90	6.52	6.37	6.21	6.07	1.44 <sup>b</sup>	0.87 <sup>c</sup>	0.95 <sup>c</sup>	1.86 <sup>c</sup>	7.01 <sup>d</sup>
Radish sprout	6.90	6.58	6.44	6.29	6.22	1.46 <sup>ab</sup>	4.09 <sup>a</sup>	3.14 <sup>a</sup>	6.31 <sup>a</sup>	15.24 <sup>a</sup>
Leek	6.88	6.57	6.41	6.31	6.20	1.71 <sup>a</sup>	3.81 <sup>a</sup>	2.47 <sup>b</sup>	6.19 <sup>a</sup>	14.33 <sup>a</sup>
Ginger	6.87	6.58	6.46	6.30	6.16	1.56 <sup>ab</sup>	2.03 <sup>b</sup>	0.47 <sup>d</sup>	4.27 <sup>b</sup>	9.25 <sup>c</sup>

<sup>†</sup>a,b,c,d Means with different superscripts in the same column of each group are significantly different (p<0.05).

Table 3. Changes in total VFA and AP ratio during *in vitro* incubation by using different vegetables

Item	Total VFA (mM) <sup>†</sup>					Acetate / Propionate ratio				
	0	6	12	24	48	0	6	12	24	48
Group 1 control	20.6 <sup>a</sup>	42.5 <sup>b</sup>	51.7 <sup>a</sup>	78.8 <sup>b</sup>	116.7 <sup>ab</sup>	4.28	3.06	2.96	2.83	2.80
Lettuce	21.1 <sup>a</sup>	45.4 <sup>b</sup>	63.3 <sup>a</sup>	89.9 <sup>a</sup>	107.7 <sup>b</sup>	4.32	2.62	2.50	2.31	2.18
Hot pepper	19.8 <sup>a</sup>	46.9 <sup>ab</sup>	64.7 <sup>a</sup>	82.2 <sup>ab</sup>	115.7 <sup>ab</sup>	4.52	2.94	2.93	2.80	2.70
Spring onion	20.4 <sup>a</sup>	48.5 <sup>ab</sup>	62.3 <sup>a</sup>	88.2 <sup>ab</sup>	123.6 <sup>a</sup>	4.34	2.73	2.54	2.50	2.42
Onion	21.3 <sup>a</sup>	53.4 <sup>a</sup>	63.0 <sup>a</sup>	91.1 <sup>a</sup>	118.7 <sup>ab</sup>	4.35	2.82	2.59	2.63	2.48
Group 2 control	24.9 <sup>a</sup>	56.3 <sup>cd</sup>	78.1 <sup>b</sup>	107.0 <sup>bc</sup>	108.5 <sup>a</sup>	4.03	2.90	2.77	2.67	2.56
Turmeric	29.0 <sup>a</sup>	62.2 <sup>ab</sup>	84.0 <sup>ab</sup>	115.7 <sup>ab</sup>	118.4 <sup>a</sup>	4.71	2.82	2.70	2.66	2.54
Sesame leaf	27.4 <sup>a</sup>	62.8 <sup>ab</sup>	84.4 <sup>ab</sup>	117.0 <sup>ab</sup>	119.4 <sup>a</sup>	4.30	2.96	2.83	2.72	2.64
Garlic	25.0 <sup>a</sup>	58.5 <sup>bc</sup>	84.1 <sup>ab</sup>	117.8 <sup>a</sup>	125.5 <sup>a</sup>	4.18	2.35	1.83	1.65	1.66
Radish sprout	24.5 <sup>a</sup>	52.1 <sup>d</sup>	87.0 <sup>a</sup>	98.2 <sup>c</sup>	119.1 <sup>a</sup>	4.14	2.72	2.51	2.53	2.38
Leek	26.1 <sup>a</sup>	64.6 <sup>a</sup>	89.6 <sup>a</sup>	100.0 <sup>c</sup>	128.2 <sup>a</sup>	4.33	2.93	2.72	2.51	2.46
Ginger	27.3 <sup>a</sup>	63.2 <sup>ab</sup>	85.3 <sup>a</sup>	102.6 <sup>c</sup>	131.5 <sup>a</sup>	4.25	2.83	2.65	2.59	2.62

<sup>†a,b,c,d</sup> Means with different superscripts in the same column of each group are significantly different ( $p<0.05$ ).

%에서 발효가 감소되는 경향을 보였으나 본 시험에서는 10%의 고수준에서도 크게 영향을 받지 않은 결과로부터 동결건조 및 열처리에 의해 마늘의 특유의 살균작용이 나타나지 않았음을 알 수 있었다.

## 2. 식물원료 첨가에 의한 *in vitro* 배양의 총 가스발생량, CO<sub>2</sub>, CH<sub>4</sub> 및 H<sub>2</sub> 분석

그룹 1에서는 모든 처리구가 대조구에 비해 가스발생량이 대체로 높았으며, 대파와 양파첨가구가 유의적으로 높았다 ( $P<0.05$ ). pH의 변화와 총 가스발생량은 발효속도와 관련이 있는데, 2가지 항목을 고려할 때 그룹 1에서는 대파와 양파첨가가 *in vitro* 발효를 높일 수 있음을 알 수 있었다. 그룹 2에서는 마늘과 깻잎 첨가구를 제외한 모든 처리구에

서 가스발생량이 유의하게 높았다 ( $P<0.05$ ). 그룹 2에서는 생강목에 속하는 강황과 생강 첨가구는 pH와 총 가스발생량에서 비슷한 결과를 나타냈으며 *in vitro* 발효를 높였다. 마늘첨가구는 반추위내 총 가스발생량이 대조구와 유의적인 차이가 없었다 ( $P<0.05$ ).

CO<sub>2</sub> 발생량은 그룹 1에서 모든 처리구가 대체로 대조구보다 높았으나 차이가 없었다 ( $P>0.05$ ). 그룹 2에서는 깻잎을 제외한 모든 처리구가 48시간 배양 후 유의적으로 높았다 ( $P<0.05$ ). 모든 시험구에서 총 가스발생량과 CO<sub>2</sub> 발생량은 대체로 유사한 경향을 보였다. 마늘첨가구는 총 가스발생량은 대조구와 차이가 없었으나 CO<sub>2</sub> 발생량은 대조구보다 유의적으로 높았다 ( $P<0.05$ ).

Table 4와 같이 그룹 1은 양파와 대파첨가구의 CH<sub>4</sub> 발생량이 12시간 배양이후 다른

Table 4. Changes in total gas production, CO<sub>2</sub> and CH<sub>4</sub> during *in vitro* incubation by using different vegetables

Item	Total gas production (ml)				CO <sub>2</sub> (ml)				CH <sub>4</sub> (ml)			
	6	12	24	48	6	12	24	48	6	12	24	48
Group 1 control	33.4 <sup>a</sup>	49.5 <sup>b</sup>	91.9 <sup>b</sup>	128.3 <sup>b</sup>	30.6 <sup>b</sup>	44.3 <sup>b</sup>	79.3 <sup>b</sup>	105.1 <sup>a</sup>	1.3 <sup>b</sup>	2.8 <sup>c</sup>	11.0 <sup>b</sup>	17.5 <sup>c</sup>
Lettuce	36.4 <sup>a</sup>	57.4 <sup>a</sup>	99.4 <sup>ab</sup>	135.7 <sup>ab</sup>	33.5 <sup>b</sup>	51.6 <sup>a</sup>	86.4 <sup>a</sup>	112.8 <sup>a</sup>	1.1 <sup>b</sup>	2.9 <sup>c</sup>	10.9 <sup>b</sup>	17.9 <sup>c</sup>
Hot pepper	41.4 <sup>a</sup>	58.5 <sup>a</sup>	96.1 <sup>ab</sup>	133.6 <sup>b</sup>	37.6 <sup>a</sup>	52.0 <sup>a</sup>	82.8 <sup>ab</sup>	107.0 <sup>a</sup>	1.7 <sup>a</sup>	3.6 <sup>b</sup>	11.2 <sup>b</sup>	17.3 <sup>c</sup>
Spring onion	40.5 <sup>a</sup>	62.9 <sup>a</sup>	100.8 <sup>a</sup>	143.2 <sup>a</sup>	36.8 <sup>a</sup>	54.5 <sup>a</sup>	85.4 <sup>ab</sup>	105.7 <sup>a</sup>	1.7 <sup>a</sup>	4.0 <sup>ab</sup>	13.5 <sup>a</sup>	19.8 <sup>b</sup>
Onion	41.3 <sup>a</sup>	62.8 <sup>a</sup>	98.7 <sup>ab</sup>	142.2 <sup>a</sup>	37.5 <sup>a</sup>	55.5 <sup>a</sup>	83.1 <sup>ab</sup>	113.6 <sup>a</sup>	1.8 <sup>a</sup>	4.2 <sup>a</sup>	13.1 <sup>a</sup>	21.3 <sup>a</sup>
Group 2 control	51.4 <sup>b</sup>	80.0 <sup>b</sup>	111.8 <sup>b</sup>	136.4 <sup>c</sup>	46.8 <sup>b</sup>	71.9 <sup>b</sup>	97.9 <sup>c</sup>	115.7 <sup>b</sup>	3.4 <sup>c</sup>	7.1 <sup>a</sup>	13.4 <sup>d</sup>	19.7 <sup>c</sup>
Turmeric	59.8 <sup>a</sup>	85.2 <sup>ab</sup>	128.0 <sup>a</sup>	151.5 <sup>a</sup>	54.5 <sup>a</sup>	76.4 <sup>ab</sup>	110.8 <sup>a</sup>	127.8 <sup>a</sup>	4.5 <sup>ab</sup>	8.4 <sup>a</sup>	17.1 <sup>ab</sup>	23.3 <sup>a</sup>
Sesame leaf	57.7 <sup>ab</sup>	88.5 <sup>a</sup>	121.7 <sup>a</sup>	142.2 <sup>bc</sup>	52.6 <sup>a</sup>	79.7 <sup>a</sup>	105.9 <sup>abc</sup>	121.2 <sup>ab</sup>	4.2 <sup>abc</sup>	8.0 <sup>a</sup>	15.3 <sup>cd</sup>	20.3 <sup>bc</sup>
Garlic	54.9 <sup>ab</sup>	81.6 <sup>ab</sup>	112.5 <sup>b</sup>	135.6 <sup>c</sup>	50.8 <sup>ab</sup>	75.9 <sup>ab</sup>	102.3 <sup>bc</sup>	124.5 <sup>a</sup>	1.7 <sup>d</sup>	2.2 <sup>b</sup>	4.1 <sup>e</sup>	6.1 <sup>d</sup>
Radish sprout	57.0 <sup>ab</sup>	83.8 <sup>ab</sup>	120.2 <sup>ab</sup>	145.3 <sup>ab</sup>	52.2 <sup>ab</sup>	75.9 <sup>ab</sup>	103.5 <sup>abc</sup>	123.2 <sup>a</sup>	3.8 <sup>bc</sup>	7.1 <sup>a</sup>	15.1 <sup>cd</sup>	20.8 <sup>bc</sup>
Leek	58.8 <sup>a</sup>	87.7 <sup>a</sup>	121.9 <sup>a</sup>	147.3 <sup>ab</sup>	53.9 <sup>a</sup>	79.6 <sup>a</sup>	105.5 <sup>abc</sup>	124.6 <sup>a</sup>	3.8 <sup>bc</sup>	7.1 <sup>a</sup>	15.6 <sup>bc</sup>	22.4 <sup>ab</sup>
Ginger	59.9 <sup>a</sup>	84.7 <sup>ab</sup>	128.3 <sup>a</sup>	149.0 <sup>ab</sup>	53.8 <sup>a</sup>	75.6 <sup>ab</sup>	109.7 <sup>ab</sup>	124.3 <sup>a</sup>	4.7 <sup>a</sup>	8.4 <sup>a</sup>	17.9 <sup>a</sup>	24.1 <sup>a</sup>

<sup>a,b,c,d</sup> Means with different superscripts in the same column of each group are significantly different (p<0.05).

시험구보다 유의적으로 높았으며(P<0.05), 그룹 2는 부추, 강황과 생강첨가구의 CH<sub>4</sub> 발생량이 유의적으로 높았다(P<0.05). 시간대별로 볼 때 그룹 1, 2 모두 24시간 배양 이후 유의적인 차이가 나타났다. 이는 메탄생성균의 늦은 성장과 관련이 있으며 조사료 티모시를 기질로 한 결과로 사료된다. 마늘첨가구의 CH<sub>4</sub> 발생량은 배양시간과 관계없이 매우 낮은 수준을 유지했으며 48시간 배양 후 대조구의 약 1/3 수준으로 낮았다(P<0.05).

H<sub>2</sub>는 거의 모든 시험구에서 발생되지 않았는데, 대조적으로 마늘첨가구에서만 매우 높은 수준으로 검출되었다(Fig. 1). 추가로 마늘첨가구의 총 가스 발생량은 대조구와 차이가 없었는데, 대조구에 비해 총 가스 발생량 중 CO<sub>2</sub> 발생량이 차지하는 비율이 높아졌으며, CH<sub>4</sub> 발생량의 감소와 H<sub>2</sub> 발생량의 증가가 나타났다. 이 결과에서 마늘첨가에 의해

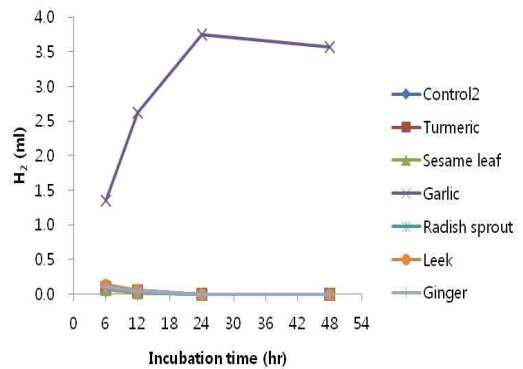


Fig. 1. Curves of H<sub>2</sub> production during *in vitro* incubation by using different vegetables.

CO<sub>2</sub>와 H<sub>2</sub>의 반응이 감소했으며 결과적으로 CH<sub>4</sub> 발생이 원활히 이루어지지 않았을 것으로 사료된다. 또한 NH<sub>3</sub> 발생량의 결과와 종합해 볼때 마늘첨가가 메탄생성균에 영향을 미칠 수 있음을 보여주었다.

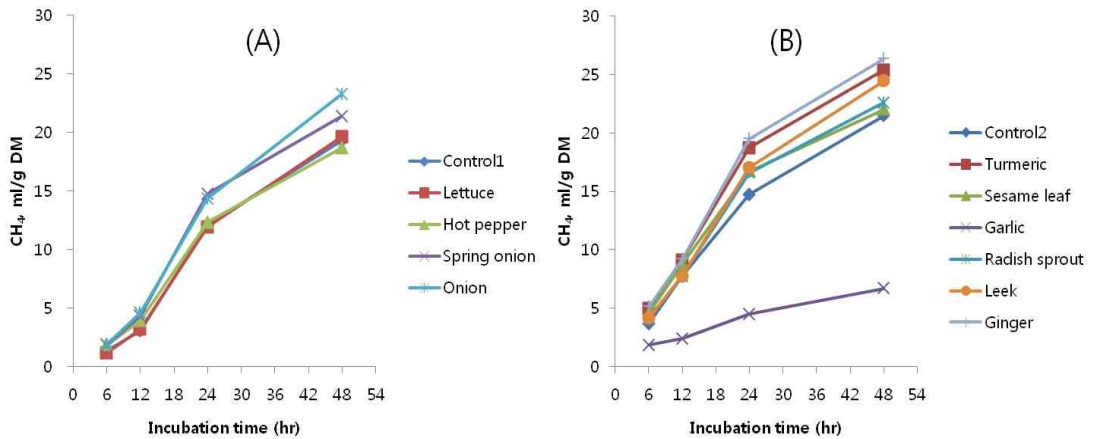


Fig. 2. Curves of CH<sub>4</sub> production during *in vitro* incubation by using different vegetables. (A) and (B) were expressed as ml/g DM in each group.

Fig. 2는 g단위 DM 당 CH<sub>4</sub> 발생량을 표시한 것인데, 마늘첨가구에서 CH<sub>4</sub> 발생량이 현저히 낮았으며 다른 처리구는 대체로 대조구에 비해 높음을 나타냈다. 마늘첨가에 의해 건물당 발생 가능한 CH<sub>4</sub>가 감소되었으며 모든 첨가구 중 CH<sub>4</sub> 감소에 가장 효율적일 것으로 사료된다.

마늘첨가구에서 pH의 변화폭이 다른 시험구보다 컸던 것은 CH<sub>4</sub>로 합성되지 못한 수소가 이온형태로 작용했을 것이 예상되며 추가적인 세부연구가 필요하다. 성상이 다른 마늘의 연구에서 다량의 건조마늘을 첨가했을 때 *in vitro* 발효자체를 억제시켰으며 다량의 액상마늘을 첨가했을 때는 발효에 아무런 영향을 주지 않았다<sup>33)</sup>. 마늘의 열처리수준에 따라 alliin 등의 성분변화가 현저히 관찰되었다고 보고되었는데<sup>18)</sup>, 시험결과와의 차이는 열처리의 시간과 온도에 기인한 것으로 생각되며 추가적인 관련연구가 필요하다.

본 시험에서는 allium속의 마늘, 부추, 양파, 파를 포함한 시판 중인 채소를 이용하여 *in vitro* 발효조절시험을 실시하였는데 특정 식물들은 *in vitro* 발효 대사에 영향을 주었으며 특히 마늘 첨가는 CH<sub>4</sub> 생성에 직접적으로 영향을 준 것으로 사료된다.

### 적 요

각 시판되고 있는 식물을 2개의 그룹으로 나눠 첨가 후 각 시간별 배양을 실시한 후 pH, NH<sub>3</sub>, VFA 발생량, 총 가스발생량, H<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub>, CH<sub>4</sub> 발생량을 조사하였다.

그룹 1은 상추와 대파첨가구에서 암모니아 농도가 높았고 고추첨가구에서 낮았다(P<0.05), 그룹 2는 마늘첨가구에서 암모니아 농도가 낮았고(P<0.05) 깻잎, 무순과 부추첨가구에서 높았다(P<0.05). 마늘과 고추첨가구에서 단백질분해과정 중 아미노산에서 암모니아로 분해되는 과정에 영향을 미쳤을 것으로 사료된다. 총 VFA 농도는 대파첨가구에서 유의적으로 높았으나(P<0.05) 그 외 시험구에서는 대조구와 차이가 없었다. Acetate와 propionate의 비율에서 볼 때 마늘첨가구가 propionate의 양이 상대적으로 증가한 것을 알 수 있었다. 모든 처리구가 대조구에 비해 가스발생량이 대체로 높았으며, 대파와 양파첨가구가 유의적으로 높았다(P<0.05). 마늘과 깻잎 첨가구를 제외한 모든 처리구에서 가스발생량이 유의적으로 높았다(P<0.05). 생강목에 속하는 강황과 생강첨가구는 pH와 총 가스발생량에서 비슷한 결과를 나타냈으며 *in*

*in vitro* 발효를 높였다. 마늘첨가구는 반추위내 총 가스발생량이 대조구와 유의적인 차이가 없었다 ( $P<0.05$ ). 모든 시험구에서 총 가스발생량과  $CO_2$  발생량은 대체로 유사한 경향을 보였다. 마늘첨가구는 총 가스발생량은 대조구와 차이가 없었으나  $CO_2$  발생량은 대조구보다 유의적으로 높았다 ( $P<0.05$ ). 마늘첨가구의  $CH_4$  발생량은 배양시간과 관계없이 매우 낮은 수준을 유지했으며 48시간 배양 후 대조구의 약 1/3 수준으로 낮았다 ( $P<0.05$ ).  $H_2$  는 거의 모든 시험구에서 미량 발생되었는데, 대조적으로 마늘첨가구에서만 매우 높은 수준으로 검출되었다. 마늘첨가구에서 g단위 DM 당  $CH_4$  발생량이 현저히 낮았으며 다른 처리구는 대체로 대조구에 비해 높았다.

본 시험에서는 *allium*속의 마늘, 부추, 양파, 파를 포함한 시판 중인 채소를 이용하여 *in vitro* 발효조절시험을 실시하였는데 특정 식물들은 *in vitro* 발효 대사에 영향을 주었으며 특히 마늘 첨가는  $CH_4$  생성에 직접적으로 영향을 준 것으로 사료된다.

### 인 용 문 헌

1. A.O.A.C. 1990. Official methods of analysis (14th Ed.). Association of official analytical chemists. Washington, D.C.
2. Blaxter, K. L. and Clapperton, J. L. 1965. Prediction of the amount of methane produced by ruminants. Br. J. Nutr. 19, 511-522.
3. Blaxter, K. L. 1989. Energy Metabolism in Animals and Man. Cambridge University Press, New York.
4. Bauchop T. 1967. Inhibition of rumen methanogenesis by methane analogues. J. Bacteriol. 94, 171-175.
5. Carmean, B. R. 1991. Persistence of monensin effects on nutrient flux in steers.

- M. S. Thesis. Colorado State Univ., Fort Collins.
6. Crutzen, P. J. 1995. On the role of  $CH_4$  in atmospheric chemistry: Sources, sinks and possible reductions in anthropogenic sources. Ambio 24, 52-55.
7. Czerkawski, J. W., K. L. Blaxter and Wainman, F. W. 1966. The metabolism of oleic, linoleic, and linolenic acids by sheep with reference to their effects on methane production. Br. J. Nutr. 20, 349-362.
8. Haaland, G. L. 1978. Protected fat in bovine rations. Ph.D. Dissertation. Colorado State University, Fort Collins.
9. IPCC (Intergovernmental Panel on Climate Change). 1992. Climate change 1992. Ed. Houghton, J.T. et al. Cambridge University Press, New York.
10. IPCC (Intergovernmental Panel on Climate Change). 1996. Guidelines for national greenhouse gas inventory. Green House Gas Inventory Workbook. 2.
11. Johnson, D. E., Wood, A. S., Stone, J. B. and Moran, E. J. 1972. Some effects of methane inhibition in ruminants (steers). Can. J. Anim. Sci. 52, 703-712.
12. Johnson, D. E. 1974. Adaptational responses in nitrogen and energy balance of lambs fed a methane inhibitor. J. Anim. Sci. 38, 154-157.
13. Johnson, D. E., Hill, T. M., Carmean, B. R., Lodman, D. W. and Ward, G. M. 1991. New perspectives on ruminant methane emissions. In Energy Metabolism of Farm Animals (C. Wenk and M. Boessinger, eds) pp. 376-379. ETH, Zurich, Switzerland.
14. Johnson, D. E., Hill, T. M., Ward, G. M., Johnson, K. A., Branine, M. E., Carmean,



- B. R. and Lodman, D. W. 1993. Principle factors varying methane emissions from ruminants and other animals. Atmospheric Methane: Source, Sinks, and Role in Global Change. M. A. K. Khalil. Berlin, Germany, Springer-Verlag. NATO ADI Series Vol 113.
15. Johnson, K. A. and Johnson, D. E. 1995. Methane emissions from cattle. *J. Anim. Sci.* 73, 2483-2492.
  16. Jones, G. A. 1972. Dissimilatory metabolism of nitrate by the rumen microbiota. *Can. J. Microbiol.* 18, 1783-1787.
  17. Joyner, A. E., Brown, L. J., Fogg, T. J. and Rossi, R. T. 1979. Effect of monensin on growth, feed efficiency and energy metabolism of lambs. *J. Anim. Sci.* 48, 1065-1069.
  18. Koch, H. P. and Lawson, L. D. 1996. Garlic; The science and therapeutic application of *Allium sativum* L. and related species, p. 95, Williams & Wilkins, Baltimore.
  19. Lee, H. J., Lee, S. C., Kim, J. D., Oh, Y. G., Kim, B. K., Kim, C. W. and Kim, K. J. 2003. Methane production potential of feed ingredients as measured by *in vitro* gas test. *Asian-Aust. J. Anim. Sci.* 16(8), 1143-1150.
  20. McAllister, T. A., Okine, E. K., Mathison, G. W. and Cheng, K. J. 1996. Dietary, environmental and microbiological aspects of methane production in ruminants. *Can. J. Anim. Sci.* 76, 231-243.
  21. Moe, P. W. and Tyrrell, H. F. 1979. Methane production in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 62, 1583-1586.
  22. Moss, A. R. 1993. Methane : global warming and production by animals. Chalcombe Publications, Kingston, UK.
  23. Nollet, L., Demeyer, D. and Verstraete, W. 1996. Stimulation of reductive acetogenesis in the ruminal ecosystem by selective inhibition of methanogenesis: effect of 2-bromo-ethanesulfonic acid (BES) and addition of *Peptostreptococcus productus* ATCC35244. *Appl. Environ. Microbiol.* 63, 194-200.
  24. Nugent, J. H. A. and Mangan, J. L. 1981. Characteristics of the rumen proteolysis of fraction I(18S) leaf protein from lucern (*Medicago sativa* L.). *Br. J. Nutr.* 46, 39-58.
  25. O'Kelly, J. C. and Spiers, W. W. 1992. Effect of monensin on methane and heat productions of steers fed lucerne hay. *Aust. J. Agric. Res.* 43, 1789-1793.
  26. Okine, E. K., G. W. Mathison, and R. T. Hardin. 1989. Effects of change in frequency of reticular contractions on fluid and particulate passage rates in cattle. *J. Anim. Sci.* 67:3388-3396.
  27. Rumpler, W. V., Johnson, D. E. and Bates, D. B. 1986. The effect of high dietary cation concentrations on methanogenesis by steers fed with or without ionophores. *J. Anim. Sci.* 62, 1737-1741.
  28. Shibata, M., Terada, F., Iwasaki, K., Kurihara, M. and Nishida, T. 1992. Methane production in heifers, sheep and goats consuming diets of various hay-concentrate rations. *Anim. Sci. Technol. (Jpn.)*, 63(12), 1221-1227.
  29. Van der Honing, Y., Wieman, B. J., Steig, A. and van Donselaar, B. 1981. The effect of fat supplementation of concentrates on digestion and utilization of energy by productive dairy cattle. *Neth. J. Agnc. Sci.*

- 29, 79-85.
30. Van Nevel, C. J. and Demeyer, D. I. 1977. Effect of monensin on rumen metabolism *in vitro*. Appl. Environ. Microbiol. 34, 251-257.
31. Whetstone, H. D., David, C. L. and Bryant, M. P. 1981. Effect of monensin on breakdown of protein by ruminal microorganisms *in vitro*. J. Anim. Sci. 53, 803-809.
32. Wolin, M. J. 1979. The rumen fermentation: a model for microbial interactions in anaerobic ecosystems. Adv. Microbial. Ecol. 3, 49-77.
33. 양승학, 조원모, 이현준, 김상범, 김현섭, 조성백, 박규현, 곽정훈, 최동윤, 이상철, 2011. 육질개선을 위한 미량물질 투여를 통한 *in vitro* 반추위환경 조절연구. 동물자원연구 22(1):19-27.