

## 조사료의 종류와 사료 내 영양소 수준이 흑염소의 반추위 *in vitro* 발효성상과 메탄생성에 미치는 영향\*

이진욱\*\* · 김관우\*\* · 류채화\*\*\* · 이성수\*\* · 이상훈\*\* · 전다연\*\* · 노희종\*\* · 최낙진\*\*\*\*

### Effect of Different Forage Source and Nutrient Levels in Diet on *in vitro* Goat Rumen Fermentation and Methane Production

Lee, Jinwook · Kim, Kwan-Woo · Ryu, Chaehwa · Lee, Sung-Soo ·  
Lee, Sang-Hoon · Jeon, Dayeon · Roh, Hee-Jong · Choi, Nag-Jin

The present study investigated the effect of forage sources and their inclusion levels in diet on the rumen fermentation of Korea traditional goat. Timothy and alfalfa were used as forage sources. Forages were mixed with concentrate diet in different ratios. The ratios of forage to concentrate diets were varied to 1:9, 5:5 and 9:1. The rumen fluid of goat was gathered from slaughter house. Dry matter digestibility was decreased and methane production was increased as forage levels in diet was increased. When forage sources, timothy and alfalfa, were compared, groups with timothy showed greater methane production than the groups of alfalfa. Molar ratio of produced acetate and valerate were increased when forage level in diet was increased. In the case of propionate and butyrate, they were decreased as elevated forage levels in diet. The result of this study provided a basic information for rumen fermentation of Korean traditional goat and these information could be applied in the development of nutritional and feeding strategy.

Key words : *forage, Korean black goat, methane, rumen, volatile fatty acid*

---

\* 본 논문은 농촌진흥청 연구사업(세부과제명 : 양질조사료 급여에 따른 염소 장내발효 온실가스 배출량 조사, 세부과제번호 : PJ01359005)의 지원에 의해 이루어진 것임.

\*\* 국립축산과학원 가축유전자원센터

\*\*\* 전북대학교 입학본부

\*\*\*\* Corresponding author, 전북대학교 동물자원과학과(nagjin@jbnu.ac.kr)

## I. 서 론

최근 지구의 평균기온이 높아짐에 따라 전 세계적으로 환경에 많은 관심을 가지고 있다. 특히 기온상승과 밀접한 관련이 있는 지구 온난화는 매우 중요한 사안이며, 다양한 분야에서 지구온난화를 늦추고자 노력하고 있다. 지구온난화의 주범이 되는 온실가스는 이산화탄소(CO<sub>2</sub>)가 가장 널리 알려져 있으며, 그 외에도 메탄(CH<sub>4</sub>), 프레온(CFCs) 및 오존(O<sub>3</sub>) 등이 있다. 이 중 메탄은 이산화탄소보다 온난화효과가 21배 이상 강력하여 많은 주목을 받고 있다. 메탄가스는 주로 논, 습지대 및 화석연료의 연소 등으로부터 발생되며, 또한 반추동물의 호흡을 통해서도 발생된다(Ok et al., 2011). 온실가스 중 메탄은 약 15~17%를 차지하며(IPCC, 2006), 반추동물의 장관 내에서 발생하여 호흡으로 배출되는 메탄은 전체 메탄발생량의 약 22% 정도로 예측되고 있다(Hwang, 2014a). 반추동물에 의한 메탄발생은 지구 환경적 문제뿐만 아니라, 반추가축의 경제적 손실과도 연관되어 있다. 반추위 내에서 발생하는 메탄은 가축의 생산성과 연관 되는 사료 총 에너지의 손실과 연관되기 때문이다(Ok et al., 2012). 따라서 반추동물의 장내발효에 의해 발생하는 메탄가스를 줄이고자 다양한 연구가 시도되고 있다.

메탄을 생성하는 반추동물에는 육우와 젖소가 가장 대표적이며 염소, 양, 사슴 및 낙타 등이 있다. 염소와 같은 중소가축의 생산 및 수요량이 매우 적게 나타나 연구의 대부분이 대형 반추동물을 대상으로 시행되어왔으나 최근 소비자의 인식변화와 함께 염소의 육용소비 및 사육두수 증가하여 염소에 대한 연구의 필요성이 대두되고 있다(Jeong et al., 2006; Kim et al., 2012). 또한 염소의 경우 생육환경 특성상 부드러운 목초류보다 거친 야초류를 선호하고(Gihad et al., 1980), 대형 반추가축보다 반추위 내 섬유소 소화율이 높다고 알려져 있다(Devendra and Burns, 1983; Hwang, 2014b). 따라서 축종에 따라 사료원을 분해하는 능력이 다르기 때문에 대형 반추동물의 연구를 중소가축인 염소에 적용하기엔 어려움이 있다.

따라서 본 연구에서는 조사료의 종류와 사료 내 영양소 수준이 흑염소 반추위 발효성상 및 메탄발생량에 미치는 영향을 구명하고자 수행되었다.

## II. 재료 및 방법

### 1. 시험설계

본 시험은 조사료 종류(티모시(TIM)와 알팔파(ALF))와 3가지의 조농비율(1:9, LF; 5:5, MF 및 9:1, HF)을 요인으로 설정하여 총 6개의 시험구를 설정하였다. 조사료의 초종별 특성을 보기 위해 동일한 배합사료를 설정된 비율에 맞추어 혼합하여 사용하였고 시험에 사

Table 1. Chemical composition of diet

	TLF	TMF	THF	ALF	AMF	AHF
CP, %DM	14.43	11.36	8.29	15.44	16.40	17.36
EE, %DM	4.53	3.28	2.03	4.54	3.35	2.16
NDF, %DM	36.17	48.71	61.25	33.96	37.65	41.33
ADF, %DM	19.59	28.13	36.66	18.92	24.78	30.63
CA, %DM	7.78	8.03	8.27	7.89	8.55	9.21
NFC, %DM	37.09	28.62	20.16	38.17	34.05	29.94

T, timothy; A, alfalfa; LF (low forage) 9:1; MF (medium forage) 5:5; HF (high forage) 1:9 (concentrate to forage). CP, crude protein; EE, ether extract; NDF, neutral detergent fiber; ADF, acid detergent fiber; CA, crude ash; NFC, non fibrous carbohydrate (NFC = 100 - CP - NDF - EE - CA)

용된 사료의 성분은 Table 1에서 보는 것과 같다.

## 2. 공시축 사양관리 및 위액채취

실험을 위한 염소 반추위액은 농업회사법인 녹색흑염소(주)의 도축장에서 채취하였다. 채취된 위액은 4겹의 cheese cloth로 여과 후 O<sub>2</sub>-free CO<sub>2</sub>가 충전된 2 L, flask (39°C)에 head space가 없도록 하고 산소의 침입을 차단하여 혐기 조건을 유지하였다.

## 3. 분석항목 및 분석방법

실험 배양개시 30분 전 반추위액을 O<sub>2</sub>-free CO<sub>2</sub>로 bubbling하여 pH를 6.5로 보정하고 NaHCO<sub>3</sub> 9.8 g, Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>·2H<sub>2</sub>O 4.62 g, KCl 0.57 g, NaCl 0.47 g, MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 0.12 g, CaCl<sub>2</sub>(CaCl<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O)/100 mL 4 g로 구성된 McDougall's buffer solution (Troelsen and Hanel, 1966)과 반추위액을 4:1로 혼합하여 rumen inoculum으로 사용하였다. 또한 위액의 희석 및 여과 과정 동안 O<sub>2</sub>-free CO<sub>2</sub>를 분사하여 위액이 산소에 노출되지 않도록 혐기상태를 유지하였으며 Tilley와 Terry (1963)의 방법에 따라 3반복하여 실시하였다.

총 가스 생성량은 실험용 100 mL 주사기를 이용하여 배양병에 있는 총 가스를 측정하였다. 측정이 완료된 가스는 수소 및 메탄발생량 측정을 위해 rubber stopper가 장착된 aluminium pack에 포집하였다. 포집한 가스는 Carboxen<sup>TM</sup> fused silica capillary column (0.53 mm I.d × 30 m length, SUPELCO, USA)이 장착된 gas chromatography (HP 7890, Aiglant, CA., USA)를 이용하여 분석하였다. 분석조건으로 oven 100°C, injector 150°C 및 thermal conductivity detector 150°C를 사용하였다. pH는 발효가 종료된 배양병을 개봉한 후 pH meter (S20

Seven Easy™, Mettler-Toledo)를 이용하여 반추위액의 pH를 측정하였다. 반추위액의 암모니아태 질소 함량은 Chaney와 Marbach (1962)의 방법에 따라 진행되었으며, 4,000 rpm으로 15분간 원심 분리하여 사료입자가 제거된 반추위액의 상등액 20 uL에 phenol color reagent 1 mL 및 alkali hypochlorite reagent 1 mL를 완전히 혼합하여 37°C에서 15분간 반응 후 spectrophotometer (Optizen UV2120, Mecasis, Korea)를 이용하여 optical density 630 nm에서 측정하였다. 휘발성 지방산은 Erwin 등(1961)의 방법에 따라 실시되었다. 사료입자가 제거된 반추위액의 상등액 1 mL에 metaphosphoric acid 200 uL를 첨가하여 30분 동안 정치 후, 13,000 rpm에서 원심분리 하는 전처리 과정을 거친 시료를 Nukol™, fused silica capillary column (0.25 mm I.d. × 30 m length, SUPELCO, USA)이 장착된 gas chromatography (HP4890, Agilent, CA. USA)로 분석하였다(oven = 180°C, injector = 220°C 및 detector = 200°C). 건물소화율은 Moore (1970)의 방법에 따라 수행하였으며, 배양이 완료된 샘플을 filter paper (Whatman, No. 541)에 여과 후 60°C에서 48시간 건조하여 dessicator에서 방냉 후 아래공식으로 산출하였다.

$$\text{건물소화율 (\%)} = \frac{\text{발효전기질의무게} - (\text{여과후남은기질의무게} - \text{blank})}{\text{발효전기질의무게}} \times 100$$

#### 4. 통계분석

반추위 발효 및 메탄생성량에 대한 처리효과의 유의성은 일반선형모형(General Linear Model)의 분산분석(Analysis of variance)으로 검정하였다. 각 시험구들에 대한 다중비교는 Duncan's multiple range test로 수행하였다. 일련의 통계분석은 SPSS 프로그램(Version 18, IBM, NewYork, USA)을 사용하였다. 반추위 내 휘발성 지방산들의 생성량에 대한 몰 비율과 메탄 생성량간의 회귀분석은 선형회귀모형(Linear regression model)을 사용하여 분석하였고, 회귀모형분석은 R 프로그램(R core Team, 2013)을 사용하였다.

### Ⅲ. 결과 및 고찰

본 시험은 조사료의 종류와 사료 내 영양소 수준이 반추위 발효 및 메탄생성량에 미치는 영향을 확인하기 위해 시행되었다.

#### 1. 반추위 발효 특성

조사료의 종류와 사료 내 영양소 수준이 흑염소 *in vitro* 반추위 발효 12시간과 24시간대

Table 2. Effect of different forage sources and levels on *in vitro* rumen fermentation of goat at 12 h

	TLF	TMF	THF	ALF	AMF	AHF	SEM	p-value
pH	6.44 <sup>b</sup>	6.50 <sup>c</sup>	6.57 <sup>d</sup>	6.37 <sup>a</sup>	6.49 <sup>c</sup>	6.56 <sup>d</sup>	0.015	<0.001
TG, mL	67.33 <sup>d</sup>	57.33 <sup>c</sup>	43.00 <sup>a</sup>	64.33 <sup>d</sup>	59.00 <sup>c</sup>	52.67 <sup>b</sup>	1.970	<0.001
CH <sub>4</sub> , mL	13.18 <sup>b</sup>	7.20 <sup>a</sup>	15.46 <sup>bc</sup>	13.18 <sup>b</sup>	18.38 <sup>c</sup>	17.64 <sup>c</sup>	0.985	<0.001
CH <sub>4</sub> , mL/g DDM	26.10 <sup>a</sup>	24.00 <sup>a</sup>	63.45 <sup>c</sup>	25.25 <sup>a</sup>	44.35 <sup>b</sup>	47.75 <sup>b</sup>	3.900	<0.001
H <sub>2</sub> , mL	0.05 <sup>ab</sup>	0.03 <sup>a</sup>	0.05 <sup>ab</sup>	0.08 <sup>cd</sup>	0.11 <sup>d</sup>	0.07 <sup>bc</sup>	0.007	0.001
H <sub>2</sub> , mL/g DDM	0.09 <sup>a</sup>	0.09 <sup>a</sup>	0.20 <sup>bc</sup>	0.16 <sup>ab</sup>	0.26 <sup>c</sup>	0.20 <sup>bc</sup>	0.01	0.008
NH <sub>3</sub> -N, mg/dL	31.93 <sup>a</sup>	30.97 <sup>a</sup>	30.71 <sup>a</sup>	31.64 <sup>a</sup>	33.75 <sup>b</sup>	36.09 <sup>c</sup>	0.479	<0.001
DMD, %	50.58 <sup>d</sup>	30.94 <sup>b</sup>	24.48 <sup>a</sup>	52.11 <sup>d</sup>	41.44 <sup>c</sup>	36.97 <sup>c</sup>	2.465	<0.001
Total VFA, mM	56.10 <sup>c</sup>	49.74 <sup>b</sup>	42.52 <sup>a</sup>	57.51 <sup>f</sup>	53.91 <sup>d</sup>	52.55 <sup>c</sup>	1.200	<0.001
Acetate, mM	29.79 <sup>d</sup>	26.59 <sup>b</sup>	23.11 <sup>a</sup>	30.66 <sup>e</sup>	28.94 <sup>c</sup>	29.17 <sup>c</sup>	0.615	<0.001
Propionate, mM	14.07 <sup>c</sup>	12.06 <sup>b</sup>	10.15 <sup>a</sup>	14.47 <sup>f</sup>	13.20 <sup>d</sup>	12.36 <sup>c</sup>	0.348	<0.001
iso-Butyrate, mM	0.95 <sup>b</sup>	0.93 <sup>b</sup>	0.87 <sup>a</sup>	0.97 <sup>b</sup>	1.03 <sup>c</sup>	1.08 <sup>d</sup>	0.017	<0.001
n-Butyrate, mM	7.24 <sup>e</sup>	6.09 <sup>c</sup>	4.59 <sup>a</sup>	7.22 <sup>e</sup>	6.24 <sup>d</sup>	5.16 <sup>b</sup>	0.237	<0.001
iso-Valerate, mM	1.76 <sup>b</sup>	1.80 <sup>bc</sup>	1.68 <sup>a</sup>	1.85 <sup>c</sup>	2.03 <sup>d</sup>	2.17 <sup>c</sup>	0.041	<0.001
n-Valerate, mM	2.30 <sup>bc</sup>	2.27 <sup>b</sup>	2.13 <sup>a</sup>	2.35 <sup>c</sup>	2.47 <sup>d</sup>	2.60 <sup>c</sup>	0.037	<0.001
AP ratio	2.12 <sup>a</sup>	2.21 <sup>b</sup>	2.28 <sup>c</sup>	2.12 <sup>a</sup>	2.19 <sup>b</sup>	2.36 <sup>d</sup>	0.021	<0.001

T, timothy; A, alfalfa; LF (low forage) 9:1; MF (medium forage) 5:5; HF (high forage) 1:9 (concentrate to forage). TG, total gas; DDM, digested dry matter; DMD, dry matter digestibility; VFA, volatile fatty acid; AP ratio, acetate to propionate ratio.

<sup>a-f</sup> Different superscripts in same row mean significantly different (p<0.05).

에 미치는 결과는 각각 Table 2와 Table 3에서 보는 것과 같다. 반추위 pH의 경우 THF와 AHF에서 유의적으로 높게 관찰되었고, ALF에서 유의적으로 낮게 나타났다. 반추위 내 pH는 반추위 내 발효 속도 및 정도를 파악할 수 있는 기본적인 지표이다. 일반적으로 반추위로 유입된 사료가 빠르게 분해될 경우, 즉 비구조탄수화물(NSC, nonstructural carbohydrate)와 같이 분해속도가 빠른 탄수화물이 많을 경우, 반추위 pH는 낮아지게 된다(Plaizier et al., 2009).

총 가스 발생량의 경우 사료 내 NDF 함량이 증가할수록 감소하는 결과를 나타내었고, TLF와 ALF에서 유의적으로 높게 나타났다. 메탄 생성량은 총 가스 생성량과 반대되는 경향을 나타내었다. 시험구들 중에서 THF, AMF 그리고 AHF에서 유의적으로 높게 나타났다. 반추위 암모니아태 질소의 경우, AHF에서 유의적으로 높게 나타났고 티모시를 포함하는

Table 3. Effect of different forage sources and levels on *in vitro* rumen fermentation of goat at 24 h

	TLF	TMF	THF	ALF	AMF	AHF	SEM	p-value
pH	6.40 <sup>a</sup>	6.48 <sup>c</sup>	6.51 <sup>d</sup>	6.41 <sup>a</sup>	6.46 <sup>b</sup>	6.50 <sup>cd</sup>	0.011	<0.001
TG, mL	83.67 <sup>d</sup>	70.33 <sup>b</sup>	63.00 <sup>a</sup>	78.00 <sup>c</sup>	75.67 <sup>c</sup>	74.67 <sup>bc</sup>	1.634	<0.001
CH <sub>4</sub> , mL	11.33 <sup>abc</sup>	11.90 <sup>abc</sup>	14.80 <sup>c</sup>	10.56 <sup>ab</sup>	10.11 <sup>a</sup>	14.61 <sup>bc</sup>	0.622	0.082
CH <sub>4</sub> , mL/g DDM	21.32 <sup>a</sup>	30.68 <sup>b</sup>	47.02 <sup>c</sup>	18.59 <sup>a</sup>	20.00 <sup>a</sup>	34.04 <sup>b</sup>	0.260	<0.001
H <sub>2</sub> , mL	0.02 <sup>a</sup>	0.04 <sup>ab</sup>	0.06 <sup>b</sup>	0.03 <sup>ab</sup>	0.06 <sup>b</sup>	0.06 <sup>b</sup>	0.005	0.053
H <sub>2</sub> , mL/g DDM	0.04 <sup>a</sup>	0.09 <sup>ab</sup>	0.19 <sup>c</sup>	0.05 <sup>a</sup>	0.11 <sup>ab</sup>	0.14 <sup>bc</sup>	0.015	0.004
NH <sub>3</sub> -N, mg/dL	40.08 <sup>b</sup>	38.86 <sup>ab</sup>	37.35 <sup>a</sup>	37.98 <sup>ab</sup>	40.09 <sup>b</sup>	43.23 <sup>c</sup>	0.515	0.001
DMD, %	53.04 <sup>d</sup>	38.80 <sup>b</sup>	31.48 <sup>a</sup>	57.13 <sup>e</sup>	50.86 <sup>d</sup>	43.05 <sup>c</sup>	2.176	<0.001
Total VFA, mM	63.93 <sup>d</sup>	56.58 <sup>b</sup>	52.75 <sup>a</sup>	61.41 <sup>c</sup>	62.03 <sup>cd</sup>	62.58 <sup>cd</sup>	0.984	<0.001
Acetate, mM	33.10 <sup>c</sup>	29.61 <sup>b</sup>	28.10 <sup>a</sup>	31.95 <sup>c</sup>	33.00 <sup>c</sup>	34.29 <sup>d</sup>	0.537	<0.001
Propionate, mM	15.73 <sup>c</sup>	13.66 <sup>a</sup>	13.10 <sup>a</sup>	15.13 <sup>b</sup>	14.91 <sup>b</sup>	14.79 <sup>b</sup>	0.227	<0.001
iso-Butyrate, mM	1.22 <sup>bc</sup>	1.15 <sup>ab</sup>	1.13 <sup>a</sup>	1.16 <sup>ab</sup>	1.24 <sup>c</sup>	1.35 <sup>d</sup>	0.020	<0.001
n-Butyrate, mM	8.69 <sup>f</sup>	7.26 <sup>c</sup>	5.76 <sup>a</sup>	8.26 <sup>e</sup>	7.63 <sup>d</sup>	6.51 <sup>b</sup>	0.244	<0.001
iso-Valerate, mM	2.18 <sup>bc</sup>	2.07 <sup>ab</sup>	1.99 <sup>a</sup>	2.09 <sup>ab</sup>	2.28 <sup>c</sup>	2.51 <sup>d</sup>	0.043	<0.001
n-Valerate, mM	3.00 <sup>cd</sup>	2.83 <sup>b</sup>	2.67 <sup>a</sup>	2.84 <sup>bc</sup>	2.98 <sup>bc</sup>	3.14 <sup>d</sup>	0.040	<0.001
AP ratio	2.11	2.17	2.15	2.11	2.21	2.32	0.018	<0.001

T, timothy; A, alfalfa; LF (low forage) 9:1; MF (medium forage) 5:5; HF (high forage) 1:9 (concentrate to forage). TG, total gas; DDM, digested dry matter; DMD, dry matter digestibility; VFA, volatile fatty acid; AP ratio, acetate to propionate ratio.

<sup>a-f</sup> Different superscripts in same row mean significantly different (p<0.05).

모든 시험구와 알팔파를 포함하는 ALF 시험구에서 유의적으로 낮게 나타났다. 건물 소화율의 경우, 사료 내 NDF 수준이 증가할수록 낮게 나타났으며, THF에서 유의적으로 낮게 나타났다. 염소 반추위액을 이용한 *in vitro* 발효 실험을 보고한 Islam 등(2000)의 연구에 의하면 염소 반추위액의 암모니아태 질소 농도는 13~26 mg/dL로 나타났으며, 본 연구의 결과와 유사한 범위였다. 한우를 이용한 *in vitro* 반추위 발효 실험 결과(Lee et al., 2014)와 비교하면 약 2배 정도로 높은 수치이다. 반추위액의 암모니아태 질소 농도는 반추위 내 단백질 이용성을 나타낸다고 할 수 있다(Choi et al., 2002). 즉 반추위 내 단백질 분해 정도가 증가하거나, 사료 내 단백질 함량이 높을 경우, 암모니아태 질소가 증가한다고 할 수 있다. 본 연구에서는 티모시를 사용한 시험구에 비하여 알팔파를 사용한 시험구의 조단백질 함량이 높다. 따라서 반추위 내 암모니아태 질소도 알팔파를 사용한 시험구들에서 상대적으로 높

게 나타났다.

## 2. 반추위 메탄 생성량

반추위에서 분해된 건물 g 당 메탄생성량은 메탄생성량과 같은 경향을 나타내었고 THF에서 유의적으로 높게 나타났고, TLF와 TMF 그리고 ALF에서 유의적으로 낮게 나타났다. 반추위에서 생성되는 메탄은 섭취된 사료가 가지고 있는 에너지의 2~15%에 해당하며, 사료 에너지의 손실로 알려져 있다(Zhong et al., 2016). 따라서 반추위 내 메탄 생성을 억제하는 것은 사료 에너지의 이용성을 향상시켜 궁극적으로는 사료 효율을 향상 시킬 수 있다. 염소 반추위액을 이용한 *in vitro* 실험을 보고한 Zhong 등(2016)의 연구에 의하면, 조단백질 10%, NDF 70% 그리고 NSC 15% 수준의 조사료를 염소 반추위에 발효시킨 결과, 발효 12시간대에 건물소화율은 50%로 나타났으며, 소화된 건물 g당 약 20 mL의 메탄이 생성되었다. 본 연구에서도 건물소화율이 50% 수준인 TLF와 ALF 시험구에서 각각 26 mL/g DDM (digested dry matter)과 25 mL/g DDM의 메탄생성량을 나타내었다. 또한 본 연구에서 배양 12시간대와 24시간대 가장 건물소화율이 낮은 시험구로는 THF가 나타났으나, 메탄 생성량은 티모시 시험구(TLF, TMF, THF)들에서 가장 높게 나타났다. 특히 배양 24시간대에서는 THF 시험구에서 다른 시험구에 비해 유의적으로 높은 메탄 생성량을 나타내었다. 높은 메탄생성량은 NDF 함량에 기인한 것을 판단되었다. Na 등(2018)은 반추동물에서 축종에 관계없이 사료 내 구조탄수화물(SC, structural carbohydrate)의 함량이 메탄생성량에 영향을 미친다고 하였다. 특히 NDF와 ADF의 함량이 높고 NDF와 NFC의 비율이 높은 경우 장내발효 메탄생성량이 증가하는데, 이는 반추동물들 간의 채식습성과 형태학적인 차이에도 대형 반추동물인 소와 중소가축인 염소에서 유사하게 관찰되었다(Varga et al., 1985; Benchaar et al., 2001). 반추위 휘발성 지방산들을 이용하여 메탄생성량을 예측하는 이론적 모형에서 초산과 뷰틸산은 양의 계수값을 가지고 있으며, 프로피온산과 측쇄사슬 지방산은 음의 계수를 가지고 있다(Alemu et al., 2011). 즉 반추위에서 초산과 뷰틸산이 생성될수록 메탄생성량은 증가하고, 반대로 프로피온산과 iso-형태의 측쇄사슬 지방산 생성량이 증가할수록 메탄은 감소하게 된다. 그리고 초산과 뷰틸산은 구조탄수화물의 분해를 통해 주로 생성된다(Bannink et al., 2006).

반추위 발효 24시간대의 결과(Table 3)에서 티모시 시험구들(TLF, TMF, THF)에 비해 알팔파 시험구들(ALF, AMF, AHF)에서 낮은 메탄생성량을 나타내었다. 각 시험구들의 메탄생성량을 조사료 비율에 관계없이 초종(티모시, 알팔파)에 따른 효과를 일원분산분석으로 분석한 결과 티모시에 비해 알팔파의 메탄생성량이 낮은 경향이 있는 것으로 나타났다( $p=0.095$ ). 또한 초종과 사료 내 조사료의 비율에 대한 이원분산분석을 실시한 결과, 발효 12시간대에서는 조사료의 비율과의 상호관계(초종 × 조사료 비율)에서 유의적인 효과가 관찰되

었다( $p<0.05$ ). 그리고 발효 24시간대에서는 초종 및 조사료의 비율에서 유의적인 효과가 관찰되었다( $p<0.05$ ).

### 3. 반추위 휘발성 지방산 생성

총 휘발성 지방산의 경우, 건물소화율과 같은 경향을 나타내었으며 TLF와 ALF에서 유의적으로 높게 나타났다. 초산의 경우 ALF에서 가장 높게 나타났으며 다음으로는 TLF에서 유의적으로 높게 나타났다. 프로피온산의 경우 초산과 같은 경향을 나타내었으며 ALF에서 가장 높게 나타났으며 다음으로는 TLF에서 유의적으로 높게 나타났다(Table 2, Table 4). 개별적인 휘발성 지방산 생성량들의 결과는 총 휘발성 지방산 생성량이 감소함에 따라서 모

Table 4. Molar ratio (%) of produced volatile fatty acids in the rumen with different forages and their ratio in diet

Time, hr	VFAs	TLF	TMF	THF	ALF	AMF	AHF	SEM	p-value
12	C2	53.10 <sup>c</sup>	53.47 <sup>d</sup>	54.36 <sup>b</sup>	53.32 <sup>d</sup>	53.68 <sup>c</sup>	55.52 <sup>a</sup>	0.19	<0.01
	C3	25.07 <sup>a</sup>	24.25 <sup>b</sup>	23.88 <sup>c</sup>	25.15 <sup>a</sup>	24.48 <sup>b</sup>	23.53 <sup>d</sup>	0.14	<0.01
	iC4	1.68 <sup>c</sup>	1.88 <sup>b</sup>	2.04 <sup>a</sup>	1.68 <sup>c</sup>	1.91 <sup>b</sup>	2.06 <sup>a</sup>	0.04	<0.01
	nC4	12.90 <sup>a</sup>	12.24 <sup>c</sup>	10.79 <sup>e</sup>	12.55 <sup>b</sup>	11.58 <sup>d</sup>	9.83 <sup>f</sup>	0.25	<0.01
	tC4	14.58 <sup>a</sup>	14.12 <sup>b</sup>	12.82 <sup>d</sup>	14.23 <sup>b</sup>	13.49 <sup>c</sup>	11.89 <sup>e</sup>	0.23	<0.01
	iC5	4.10 <sup>c</sup>	4.56 <sup>b</sup>	5.00 <sup>a</sup>	4.09 <sup>c</sup>	4.59 <sup>b</sup>	4.94 <sup>a</sup>	0.09	<0.01
	nC5	3.14 <sup>e</sup>	3.61 <sup>d</sup>	3.94 <sup>b</sup>	3.21 <sup>e</sup>	3.76 <sup>c</sup>	4.12 <sup>a</sup>	0.09	<0.01
	tC5	7.24 <sup>c</sup>	8.17 <sup>b</sup>	8.94 <sup>a</sup>	7.30 <sup>c</sup>	8.35 <sup>b</sup>	9.06 <sup>a</sup>	0.17	<0.01
24	C2	51.78 <sup>d</sup>	52.34 <sup>c</sup>	53.27 <sup>b</sup>	52.02 <sup>d</sup>	53.20 <sup>b</sup>	54.79 <sup>a</sup>	0.25	<0.01
	C3	24.61 <sup>a</sup>	24.14 <sup>b</sup>	24.83 <sup>a</sup>	24.63 <sup>a</sup>	24.04 <sup>b</sup>	23.64 <sup>c</sup>	0.11	<0.01
	iC4	1.91 <sup>cd</sup>	2.04 <sup>b</sup>	2.15 <sup>a</sup>	1.88 <sup>d</sup>	1.99 <sup>bc</sup>	2.15 <sup>a</sup>	0.03	<0.01
	nC4	13.59 <sup>a</sup>	12.84 <sup>b</sup>	10.92 <sup>d</sup>	13.45 <sup>a</sup>	12.30 <sup>c</sup>	10.41 <sup>e</sup>	0.30	<0.01
	tC4	15.50 <sup>a</sup>	14.87 <sup>b</sup>	13.07 <sup>d</sup>	15.33 <sup>a</sup>	14.29 <sup>c</sup>	12.56 <sup>c</sup>	0.27	<0.01
	iC5	4.70 <sup>b</sup>	5.00 <sup>a</sup>	5.07 <sup>a</sup>	4.63 <sup>b</sup>	4.80 <sup>b</sup>	5.01 <sup>a</sup>	0.05	<0.01
	nC5	3.41 <sup>c</sup>	3.66 <sup>b</sup>	3.77 <sup>b</sup>	3.40 <sup>c</sup>	3.68 <sup>b</sup>	4.01 <sup>a</sup>	0.05	<0.01
	tC5	8.11 <sup>d</sup>	8.65 <sup>bc</sup>	8.84 <sup>ab</sup>	8.03 <sup>d</sup>	8.47 <sup>c</sup>	9.02 <sup>a</sup>	0.09	<0.01

T, timothy; A, alfalfa; LF (low forage) 9:1; MF (medium forage) 5:5; HF (high forage) 1:9 (concentrate to forage). VFAs, volatile fatty acids; C2, acetate; C3, propionate; iC4, iso-butyrate; nC4, n-butyrate; tC4, total butyrate; iC5, iso-valerate; nC5, n-valerate; tC5, total valerate.

<sup>a-f</sup> Different superscripts in same row mean significantly different ( $p<0.05$ ).



두 감소하는 경향을 나타내었다. 이는 건물소화율이 감소하였기 때문으로 판단된다. 초종과 조사료의 비율을 요인으로 하여 이원분산분석을 실시한 결과 발효 시간에 관계없이 초종, 조사료의 비율 그리고 상호관계 모두에서 유의적인 효과가 관찰되었다( $p < 0.05$ ). 개별적인 휘발성 지방산들의 생성비율, 즉 총 휘발성 지방산 생성량을 기준으로 각 휘발성 지방산들의 몰(mole) 비율을 계산하면 Table 4에서 보는 것과 같다. 티모시와 알팔파 시험구들 모두 사료 내 조사료 비율이 증가할수록 초산의 생성비율이 증가하였고, 초산의 생성비율이 증가할수록 프로피온산의 생성비율은 감소하였다. 일반적으로 반추위 내 초산은 구조탄수화물의 함량과 정의 상관관계를 가지고 있으며, 프로피온산은 사료 내 비구조 탄수화물과 정의 상관관계를 가지고 있으며, 반추위 내 초산 생성량과는 부의 상관관계를 가지고 있다(Bannik et al., 2006). 뷰틸산의 경우, iso 형태의 뷰틸산은 사료 내 조사료 비율이 증가함에 따라서 증가하였고, normal 형태의 뷰틸산은 반대로 감소하였다. 총 뷰틸산 생성량은 조사료 함량이 증가함에 따라서 감소하였다. 일반적으로 반추위 내 뷰틸산 생성량은 사료 내 구조탄수화물의 함량과 정의 상관관계를 갖고, 반대로 비구조 탄수화물과는 부의 상관관계를 갖는다(Bannik et al., 2006). 그러나 본 연구에서는 사료 내 NDF가 증가함에 따라서 오히려 뷰틸산이 감소하는 결과를 나타내었다. 발러릭산의 경우, normal 및 iso 형태 그리고 총량 모두 사료 내 조사료 함량이 증가함에 따라서 증가하였다.

#### 4. 반추위 메탄 생성량과 휘발성 지방산 몰 비율간의 상관관계

흑염소 반추위 내 메탄생성량과 휘발성 지방산들의 몰비율에 대한 선형회귀 분석결과는 Table 5에서 보는 것과 같다. 초산과 뷰틸산에서 유의적인 관계가 관찰되었다. 흑염소 반추위 메탄발생량은 반추위에서 생성된 휘발성 지방산들 중에서 초산의 생성량이 증가할수록

Table 5. Regression coefficient for methane production and individual volatile fatty acid molar ratio (%)

Items	Estimate	SE	t-value	p-value
Intercept	-251.094	132.011	-1.902	0.079
Acetate	5.133	2.097	2.448	0.029
Propionate	8.366	42.388	0.197	0.846
Butyrate	-3.473	1.039	-3.343	0.005
Valerate	4.634	7.875	0.588	0.566

Model formula: Methane (mL/g DDM) = mC2+mC3+mC4+mC5

In the model, mC2, mC3, mC4 and mC5 were molar ratio of acetate, propionate, butyrate and valerate, respectively.

Residual standard error: 6.446 on 13 degree of freedom

R-squre value: 0.7459, F-statistics: 9.541 on 4 and 13 df, p-value: 0.008

유의적으로 증가하였고, 반대로 뷰틸산이 증가하면 반추위 내 메탄생성량은 감소하는 것으로 나타났다. 일반적으로 초산과 뷰틸산의 증가는 메탄 증가와 관련이 있는 것으로 알려져 있으나(Alemu et al., 2011), 본 연구에서는 뷰틸산은 메탄생성량과 부의 상관관계가 있는 것으로 나타났다. 본 회귀 분석에서 사용된 자료의 개수가 부족하여 좀 더 많은 연구를 통해서 상관성을 분석할 필요가 있을 것으로 판단된다.

[Submitted, September. 30, 2019 ; Revised, November. 11, 2019 ; Accepted, November. 14, 2019]

## References

1. Alemu, A. W., J. Dijkstra, A. Bannink, J. France, and E. Kebreab. 2011. Rumen stoichiometric models and their contribution and challenges in predicting enteric methane production. *Anim. Feed Sci. Technol.* 166-167: 761-778.
2. Bannink, A., J. Kogut, J. Dijkstra, J. France, E. Kebreab, A. M. Van Vuuren, and S. Tamminga. 2006. Estimation of the stoichiometry of volatile fatty acid production in the rumen of lactating cows. *J. Theor. Biol.* 238: 36-51.
3. Benchaar, C., C. Pomar, and J. Chiquette. 2001. Evaluation of dietary strategies to reduce methane production in ruminants: a modelling approach. *Can. J. Anim. Sci.* 81: 563-574.
4. Chaney, A. L. and E. P. Marbach. 1962. Modified reagents for determination of urea and ammonia. *Clin. Chem.* 8: 130-132.
5. Choi, Y. J., N. J. Choi, S. H. Park, J. Y. Song, J. S. Um, J. Y. Ko, and J. K. Ha. 2002. Effect of Passtein<sup>®</sup> supplement on protein degradability ruminal fermentation and nutrient digestibility. *J. Anim. Sci. Technol.* 44(5): 549-560.
6. Devendra, C. and M. Burns. 1983. Goat production in the tropics. Technical Communications. Commonwealth Agricultural Bureaux, England VII.
7. Erwin, E. S., G. J. Marco, and E. M. Emery. 1961. Volatile fatty acid analyses of blood and rumen fluid by gas chromatography. *J. Dairy. Sci.* 44: 1768-1771.
8. Gihad, E. A., T. M. El-Bedawy, and A. Z. Mehrez. 1980. Fiber digestibility by goats and sheep. *J. Dairy. Sci.* 63: 1701-1706.
9. Hwang, H. S. 2014a. Effects of medicinal herb extracts on rumen fermentation, microbial growth and methane emission. Ph.D. Thesis. Gyeongsang National University. Jinju.
10. Hwang B. S. 2014b. Effects of the grazing and barn feeding system on growth performance

- and carcass characteristics in Korean black goats. J. Agri. Life Sci. 48(2): 123-131.
11. IPCC (Intergovernmental Panel on Climate Change). 2006. IPCC Guidelines for national green house gas inventories. Chapter 10: Emission from live stock and manure management.
  12. Islam, M., H. Abe, Y. Hayashi, and F. Terada. 2000. Effects of feeding Italian ryegrass with corn on rumen environment, nutrient digestibility, methane emission, and energy and nitrogen utilization at two intake levels by goats. Small. Ruminant. Res. 38: 165-174
  13. Jeong, C. H., K. I. Seo, and K. H. Shin. 2006. Effects of fermented grape feeds on physico-chemical properties of Korean goat meat. J. Korean. Soc. Food. Sci. Nutr. 35: 145-149.
  14. Kim, S. W., S. H. Yoon, J. H. Kim, Y. G. Ko, D. H. Kim, G. H. Kang, Y. S. Kim, S. M. Lee, and S. W. Suh. 2012. Effects of feeding levels of concentrate on the growth, carcass characteristics and economic evaluation in feeds based on rice-straw of Korean black goats. J. Kor. Grassl. Forage. Sci. 32: 429-436.
  15. Lee, A. L., H. R. Park, M. S. Kim, S. Cho, and N. J. Choi. 2014. A comparative study between microbial fermentation and non-fermentation on biological activities of medicinal plants with emphasis on enteric methane reduction. Korean. J. Org. Agric. 22: 801-813.
  16. Moore, J. 1970. Procedures for the two-stage *in vitro* digestion of forages. Nutrition Research Techniques for Domestic and Wild animals 1: 5001-5003.
  17. Na, Y., S. Hwang, Y. Choi, G. Park, and S. Lee. 2018. Nutrient digestibility and green house gas emission in castrated goats (*Capra hircus*) fed various roughage sources. J. Kor. Grassl. Forage. Sci. 38: 39-43.
  18. Ok, J. U., Y. C. Baek, K. H. Kim, S. C. Lee, Y. J. Seol, K. Y. Lee, C. W. Choi, C. O. Jeon, S. S. Lee, S. S. Lee, and Y. K. Oh. 2011. Effects of saponin contained plant extracts on ruminal fermentation characteristics and methane production. J. Anim. Sci. Technol. 53: 147-154.
  19. Ok, J. U., D. U. Ha, S. J. Lee, E. T. Kim, S. S. Lee, Y. K. Oh, K. H. Kim, and S. S. Lee. 2012. Effects of organic acids on *in vitro* ruminal fermentation characteristics and methane emission. J. Life Sci. 22: 1324-1329.
  20. Plaizier, J. C., D. O. Krause, G. N. Gozho, and B. W. McBride. 2009. Subacute ruminal acidosis in dairy cows: The physiological causes, incidence and consequences. Vet. J. 176: 21-31.
  21. R core Team. 2013. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <http://www.R-project.org/>.
  22. Tilley, J. M. A. and R. A. Terry. 1963. A two-stage technique for the *in vitro* digestion of forage crops. J. Br. Grassl. Soc. 18: 104-111.

23. Troelsen, J. E. and D. J. Hanel. 1966. Ruminant digestion *in vitro* as affected by inoculum donor, collection day, and fermentation time. *Can. J. Anim. Sci.* 46: 149-156.
24. Varga, G. A., H. F. Tyrrell, D. R. Waldo, G. B. Huntington, and B. P. Glenn. 1985. Effect of alfalfa or orchard grass silage on energy and nitrogen utilization for growth by Holstein steers.: P. W. Mue, H. F. Tyrell, P. J. Reynolds (eds). *Energy Metabolism of Farm Animals*. Ronman and Littlefield, USA. pp. 86-89.
25. Zhong, R., Y. Fang, H. Sun, M. Wang, and D. Zhou. 2016. Rumen methane output and fermentation characteristics of gramineous forage and leguminous forage at differing harvest dates determined using an *in vitro* gas production technique. *J. Integr. Agric.* 15: 414-423.