

커피박과 녹차박 부산물 유래 폴리페놀의 수준이 *in vitro* 반추위 발효와 메탄발생량에 미치는 영향

이진욱*, 김관우*, 이성수*, 최봉환*, 장승호**, 전은정**, 원미영**, 최낙진**

*국립축산과학원 가축유전자원센터

**전북대학교 축산학과

e-mail:koreatop5@korea.kr

Effects of Dietary Polyphenol from Coffee and Green Tea By-product on *in vitro* Rumen Fermentation and Methane Production in Hanwoo

Jinwook Lee*, Kwan-Woo Kim*, Sung-Soo Lee*, Bong-Hwan Choi*, Seungho Jang**,

Eunjeong Jeon**, Mi-Young Won**, Nag-Jin Choi**

*Animal Genetic Resources Research Center, NIAS, RDA

**Dept. of Animal Science, Jeonbuk National University

요약

본 연구는 국내에서 버려지는 부산물인 커피박과 녹차박을 사료첨가제로 활용 시 반추위 발효 및 메탄생성에 미치는 영향을 알아보기 위해 수행되었다. 본 실험은 폴리페놀 3종류(커피박, 녹차박 및 혼합물)와 첨가수준(10 μ L, 20 μ L, 30 μ L)을 요인으로 수행하였으며, 반추위 캐놀라가 장착된 한우 2두(780 \pm 6.5 kg)를 공시하여 실험에 이용하였다. 실험결과 폴리페놀 첨가는 대조구에 비해 소화율, 가스발생량 및 발효성상이 유의적으로 감소하는 것으로 나타났다($p < 0.05$). 메탄발생량은 폴리페놀 첨가수준에 따라 감소하는 것으로 나타났으며($p < 0.05$), 30 μ L 첨가 시 대조구에 비해 메탄발생량이 감소하는 것으로 나타났다($p < 0.05$). 일련의 실험 결과 식물추출물의 폴리페놀 첨가 수준이 높을수록 대조구에 비해 처리구가 반추위에 부(-)의 영향이 있으며, 메탄 저감이 함께 일어났고, Total gas, ammonia, TVFA 등이 함께 유의적으로 낮아지는 결과를 보였다. 따라서 반추위 내 미생물에 부(-)의 영향을 미치지 않는 적정 수준의 폴리페놀 함량을 조사하고, 각 폴리페놀 성분이 발효에 미치는 영향을 알아보기 위한 추가 실험이 필요하다고 사료된다.

1. 서론

메탄은 지구온난화의 주요 원인인 온실가스 중 하나로, 가축에서 사료로 섭취한 에너지의 3~10%의 손실을 유발한다 [1]. 따라서, 반추가축의 온실가스 저감은 에너지 이용성과 생산성 측면에서도 중요하다. 식물에서 유래한 폴리페놀은 반추위 대사조절 및 메탄 저감에 영향을 준다고 보고되었다[2]. 최근 커피, 녹차 등 폴리페놀 함유량이 높은 음료 부산물이 증가하고 있는데, 이를 사료원으로 활용하기 위한 연구는 부족한 실정이다. 따라서 본 연구는 국내에서 버려지는 커피와 녹차부산물에서 추출한 폴리페놀의 첨가가 반추위 발효성상 및 메탄발생량에 미치는 영향을 확인하고자 수행되었다.

2. 재료 및 방법

2.1 실험설계 및 공시사료

본 실험은 완전 임의배치 방법으로 수행되었으며, 폴리페

놀 종류(3종: 커피박, 녹차박 및 혼합물)와 폴리페놀 수준(10 μ L, 20 μ L, 30 μ L)을 요인으로 설정하였다. 공시가축은 전라북도 전주시 소재의 농촌진흥청 국립축산과학원에서 반추위 캐놀라가 장착된 한우(780 \pm 6.5 kg) 2두를 공시했으며, 사료는 오전(08:00)과 오후(17:30)에 볏짚 3 kg과 농후사료 5 kg을 같은 양으로 나누어 급여하였다. 물과 미네랄 블록은 자유 섭취하도록 하였다. 폴리페놀 추출을 위해 건조한 커피박, 녹차박 시료를 고압멸균기에서 100 $^{\circ}$ C, 30분간 추출하였으며, 추출한 혼합물은 감압농축기를 이용해 농축하여 사용하였다. 폴리페놀 농도는 spectrophotometer를 이용하여 725nm에서 측정하였다.

2.2 반추위 *in vitro* 배양실험

반추위액은 오전 사료급여 1시간 후에 공시축으로부터 채취하였다. 채취 후 4겹의 cheese cloth로 여과하여 사료입자를 제거하고, 즉시 CO₂ gas가 충전된 병에 담아 실험실로 운반하였다. 반추위액과 멸균한 McDougall buffer를 1:4의 비율로 혼합한 후 CO₂ gas를 충전하면서 혐기상태에서 배양액을 분주하였으며, 배양시간은 24시간 동안 배양하였다. 배양

에 사용된 기질은 알팔파를 이용하였다. 배양이 끝난 후 100 mL 유리주사기를 이용하여 가스 발생량을 측정하고 가스를 포집하였으며, 포집된 가스는 실리콘 마개로 밀봉한 알루미늄백에 옮겨담아 Gas Chromatograph로 분석하였다. 휘발성 지방산과 암모니아태 질소 함량은 [4]의 방법을 이용하여 분석하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1 반추위 pH, 가스발생량 및 메탄발생량

반추위 내 pH, 가스발생량 및 메탄발생량에 대한 결과는 [표 1]에 나타내었다. 반추위 pH는 처리구 사이에 차이는 있었으나, 6.62~6.66으로 적정범위 내에서 관찰되었다[5]. 총 가스 발생량은 대조구에서 가장 높게 관찰되었으며, 폴리페놀 첨가 시 유의적으로 감소하였다($p < 0.05$). 메탄발생량은 폴리페놀 첨가수준에 따라 유의적으로 감소하였으며($p < 0.05$), 30 μ L 첨가수준에서 대조구에 비해 감소되는 것으로 나타났다. 암모니아태 질소 생성량은 처리구에 따라 유의적인 차이가 나타나지 않았으나($p < 0.05$), 첨가수준에 따른 변화는 나타나지 않았다. 또한, 반추위 미생물의 생육에 있어 암모니아태 질소의 최적 농도는 최소 5 mg/dL에서 최대 35 mg/dL로 알려졌는데, 본 실험의 처리구에서 발생된 암모니아태 질소 생성량은 26.74~36.42 mg/dL로 적정범위 내에서 측정되었다[6].

[표 1] 커피박과 녹차박 부산물 유래 폴리페놀 수준에 따른 *in vitro* 반추위 pH, 소화율 및 가스발생량

Contents	pH	Total gas, mL	CH ₄ , mL	NH ₃ -N, mg/dL	
Control	6.62 ^c	114.00 ^a	3.68 ^{abcd}	32.15 ^{ab}	
G	10	6.66 ^{ab}	109.00 ^{abc}	4.50 ^a	30.98 ^b
	20	6.64 ^{bc}	103.00 ^{bc}	3.87 ^{abc}	36.42 ^d
	30	6.66 ^{ab}	101.67 ^c	3.58 ^{bdc}	26.74 ^{cd}
C	10	6.64 ^{bc}	112.33 ^a	4.34 ^{ab}	29.25 ^{bcd}
	20	6.65 ^{ab}	108.33 ^{abc}	4.09 ^{abc}	31.23 ^{ab}
	30	6.66 ^{ab}	112.00 ^a	3.22 ^{cd}	31.31 ^{ab}
PG	10	6.68 ^{bc}	102.00 ^{bc}	3.24 ^{dc}	35.33 ^a
	20	6.66 ^{ab}	109.33 ^{ab}	3.50 ^{bdc}	30.57 ^{bc}
	30	6.66 ^{ab}	109.33 ^{ab}	2.90 ^d	33.36 ^{ab}
SEM	0.003	0.983	0.114	0.585	
p-value	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	

C, polyphenl from spent coffee ground, G, polyphenol from green tea by-product, CG, coffee + green tea, SEM, standard error of means, NH₃-N, ammonia-nitrogen

3.2 반추위 휘발성 지방산 변화

녹차박 부산물 유래 폴리페놀 추출물 첨가는 반추위 내 휘발성 지방산 생성량을 유의적으로 감소시켰다[표 2]. 반면, 커피박과 폴리페놀 혼합물의 첨가는 처리구에 따른 유의적 차이는 있었으나($p < 0.05$), 첨가수준에 따른 변화는 나타나지 않

았다. 본 실험결과 반추위 내 폴리페놀의 첨가는 휘발성 지방산 생성량에 차이를 보이지만, 첨가수준에 따른 영향을 확인하기 위해서는 보다 광범위한 수준에서의 실험결과 축적이 필요한 것으로 나타났다.

[표 2] 커피박과 녹차박 부산물 유래 폴리페놀 수준에 따른 *in vitro* 반추위 휘발성 지방산 변화

Contents	Total VFA, mM	A/P ratio	Acetate, mM	Propionate, mM	Butyrate, mM	Valerate, mM	
Control	98.06 ^a	2.71 ^c	56.68 ^a	20.92 ^a	13.79 ^{bc}	6.67 ^d	
G	10	99.26 ^a	2.72 ^c	55.87 ^a	20.55 ^a	14.96 ^a	7.88 ^{bc}
	20	79.79 ^b	2.93 ^a	48.22 ^{cd}	16.44 ^b	10.54 ^d	4.59 ^e
	30	79.31 ^b	2.91 ^a	47.60 ^d	16.37 ^b	10.69 ^d	4.66 ^e
C	10	92.70 ^a	2.79 ^b	53.72 ^{abc}	19.28 ^a	13.33 ^c	6.37 ^d
	20	95.40 ^a	2.70 ^c	53.51 ^{abcd}	19.82 ^a	14.41 ^{abc}	7.66 ^{bc}
	30	94.30 ^a	2.72 ^{bc}	53.36 ^{abcd}	19.59 ^a	13.98 ^{abc}	7.37 ^b
PG	10	82.02 ^b	2.93 ^a	49.31 ^{bcd}	16.82 ^b	11.05 ^d	4.83 ^e
	20	98.00 ^a	2.79 ^b	55.01 ^{ab}	19.77 ^a	14.53 ^{ab}	8.69 ^a
	30	93.90 ^a	2.79 ^b	52.84 ^{abcd}	18.97 ^a	13.86 ^{bc}	8.23 ^{ab}
SEM	1.588	0.017	0.738	0.351	0.31	0.276	
p-value	<0.05	<0.05	0.019	<0.05	<0.05	<0.05	

C, polyphenl from spent coffee ground, G, polyphenol from green tea by-product, CG, coffee + green tea, SEM, standard error of means

참고문헌

- [1] Appuhamy, JA., France, J. and Kebreab, E. 2016. Models for predicting enteric methane emissions from dairy cows in North America, Europe, and Australia and New Zealand. *Global Change Biology*. 22:3039-3056.
- [2] Makkar, HPS. 2003. Effects and fate of tannins in ruminant animals, adaptation to tannins, and strategies to overcome detrimental effects of feeding tannin-rich feeds. *Small Ruminant Research*. 49:241-256.
- [3] 이진욱, 김관우, 류채화, 이성수, 이상훈, 전다연, 노희중, 최낙진, "Effect of different forage sources and nutrient levels in diet on *in vitro* goat rumen fermentation and methane production" 한국유기농업학회지, 제27권 4호, pp, 529-540, 11월, 2019년.
- [4] Hiltner, P. E. G. G. Y. and Dehority, B. A. 1983. Effect of soluble carbohydrates on digestion of cellulose by pure cultures of rumen bacteria. *Applied and Environmental Microbiology*. 46:642-648.
- [5] Hristov, A. N., Ropp, J. K. and Hunt, C. W. 2002. Effect of barley and its amylopectin content on ruminal fermentation and bacterial utilization of ammonia-N *in vitro*. *Animal feed science and technology*. 99: 25-36.