

ANIMAL

# Effects of tannin supplementation on growth performance and methane emissions of Hanwoo beef cows

Sinyong Jeong<sup>†</sup>, Mingyung Lee<sup>†</sup>, Seoyoung Jeon, Yujin Kang, Heejin Kang, Seongwon Seo\*

Division of Animal and Dairy Sciences, College of Agriculture and Life Science, Chungnam National University, Daejeon 34134, Korea

\*Corresponding author: [swseo@cnu.kr](mailto:swseo@cnu.kr)

<sup>†</sup>These authors equally contributed to this study as first author.

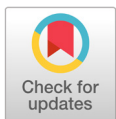
## Abstract

The objective of this study was to investigate the effects of dietary hydrolysable tannin on growth performance and methane emissions of Hanwoo beef cows. Fifteen cows participated in a seven-week experiment. The cows were stratified by initial methane emissions and assigned to one of two treatments: Control and tannin supplementation. Commercial hydrolysable tannin was top-dressed to a concentrate mix at 3 g/kg based on the dry matter. Enteric methane production was measured for 4 consecutive days at 1 week before and 1, 3 and 7 weeks after the initiation of the experiment using a laser methane detector. The feed intake was measured daily during the methane measurement periods and an additional two days prior to each measurement. The body weight of the cows was measured every 4 weeks. Hydrolysable tannin had no effect ( $p > 0.05$ ) on body weight, average daily gain, dry matter intake (DMI) and feed conversion ratio. After one week, the methane emission of the tannin supplementation group was 3.66 ppm-m / kg DMI, which was about 3.4% lower ( $p = 0.078$ ) than that of the control group; however, this tendency disappeared at 3 weeks after the start of the experiment ( $p > 0.05$ ). The results of this study show that hydrolysable tannin supplementation can reduce enteric methane emissions for a limited period in Hanwoo beef cows. More research, however, is needed to determine the optimal level of hydrolysable tannin supplementation to reduce enteric methane emissions for a longer period without adversely affecting the animal performance of Hanwoo beef cattle.

**Keywords:** growth performance, Hanwoo beef cattle, hydrolysable tannin, methane emission

## Introduction

세계 경제의 급격한 성장과 함께 지구 온난화가 가속화됨에 따라, 온실가스배출에 대한 국제적인 협약을 통해 각국 정부는 모든 산업 부문에서 온실가스를 감축하고자 하는 노력을 기울이고 있으며 이러한 노력은 축산업 분야에서도 마찬가지이다. 온실효과를 일으키는 온실가스로는 이산화탄소(CO<sub>2</sub>), 메탄(CH<sub>4</sub>), 아산화질소(N<sub>2</sub>O), 수소불화탄소(HFCs), 과불화탄소(PFCs), 육불화황(SF<sub>6</sub>)



### OPEN ACCESS

**Citation:** Jeong S, Lee M, Jeon S, Kang Y, Kang H, Seo S. 2018, Effects of tannin supplementation on growth performance and methane emissions of Hanwoo beef cows. Korean Journal of Agricultural Science. <https://doi.org/10.7744/kjoas.20180045>

**DOI:** <https://doi.org/10.7744/kjoas.20180045>

**Received:** January 2, 2018

**Revised:** June 15, 2018

**Accepted:** June 26, 2018

**Copyright:** © 2018 Korean Journal of Agricultural Science



This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

등이 있으며, 그 중 축산 분야에서 문제가 되는 온실가스는 메탄과 아산화질소이다(IPCC, 2007; Choi et al., 2017). 특히 반추동물이 연간 배출하는 메탄은 전세계적으로 8천만 톤에 이르며, 이는 인간의 활동으로 인해 인위적으로 발생하는 총 메탄 배출량의 약 28%를 차지한다(Beauchemin et al., 2008). 더욱이 장내 발효에 의한 메탄 가스의 생성과 배출은 반추동물이 사료로부터 얻는 총 에너지의 2 - 12% 정도의 손실이기 때문에 메탄 가스 생성으로 인해 사료 이용 효율의 감소와 생산성의 감소가 야기될 수 있다(Johnson et al., 1991; Ha et al., 2005). 이에 따라 반추위 내 메탄 발생량을 억제할 필요성이 제기되어, 각종 부산물, 식물 추출물, 식용 가능한 화합물 등을 사료첨가제로 이용해 메탄생성을 억제하는 연구가 활발히 진행되고 있다(Hristov et al., 2013). 특히 천연 물이면서 반추위 메탄생성에 억제효과가 있는 것으로 정유(essential oils), 탄닌(tannin), 사포닌(saponin) 등이 보고되고 있다(Hristov et al., 2013).

그 중 탄닌은 밤이나 도토리 등의 껍질이나 나무 껍질, 나뭇잎 등에 함유되어 있는 수용성 폴리페놀 화합물로서 일반적으로 가수분해성(hydrolysable) 탄닌과 축합형(condensed) 탄닌의 두 가지 형태로 분류된다. 과거 탄닌은 항기생충제 역할(Nguyen et al., 2005), 소장에 도달하는 필수 아미노산의 흡수량을 증가시키는 역할(McSweeney et al., 2001; Min et al., 2003) 등을 하는 물질로 알려졌으며, 탄닌을 반추동물에 사료에 급여할 경우 양모 성장, 유 단백질 증가, 번식효율 개선, 고창증 발병률 감소 등의 효과가 나타난 바 있다(Barry and McNabb, 1999). 최근의 연구 결과에 따르면, 탄닌은 반추위 메탄 발생량을 최대 20%까지 감소시키는 효과가 있으며(Woodward et al., 2001; Śliwiński et al., 2002; Waghorn et al., 2002; Zhou et al., 2011; Staerfl et al., 2012), 탄닌에 의한 반추위 메탄 발생 저감 효과는 직접 또는 간접적인 작용에 의해 이루어지는 것으로 보인다. 탄닌은 직접적으로 메탄생성균의 성장을 억제하거나, 반추위 내 섬유소 분해 미생물의 성장을 억제하여 간접적으로 메탄 생성을 억제하는 효과도 있다(Tavendale et al., 2005).

그 동안 탄닌의 메탄 저감 효과에 관한 연구는 주로 축합형 탄닌에 초점이 맞춰져 있었다(Wischer et al., 2014). 그러나 가수분해성 탄닌도 축합형 탄닌과 유사한 메탄 저감 효과를 지녔다는 연구 결과가 있고(Mueller-Harvey, 2006), 오히려 가수분해성 탄닌이 축합형 탄닌에 비해 메탄 저감에 더 효과적이라고 보고한 연구도 있다(Goel and Makkar, 2012; Jayanegara et al., 2015). 축합형 탄닌은 반추위에서 분해되지 않으며(Makkar et al., 1995), 위장관에 결합되어 부작용을 일으킬 수 있다(Makkar et al., 2007). 또한 일부 영양소 특히 단백질과 결합하여 탄닌-단백질 복합체를 형성하여 반추위 내 단백질의 소화율을 감소시킨다(Makkar, 2003). 반면, 축합형 탄닌과 다르게 가수분해성 탄닌은 이러한 부작용이 없는 것으로 알려져 있어(Field and Lettinga, 1987), 가수분해성 탄닌에 대한 추가적인 연구가 필요한 실정이다. 따라서 본 연구는 사료에 가수분해성 탄닌을 첨가하였을 때 한우 암소 비육우의 사양 성적 및 메탄 발생량에서의 차이를 규명하고자 실시하였다.

## Materials and methods

본 연구는 충청남도 청양군에 소재한 충남대학교 동물자원연구센터에서 수행되었다. 실험에 사용한 동물과 프로토콜은 충남대학교의 동물실험윤리위원회 심의를 거쳐 사전 승인을 획득하였다(승인번호: CNU-00856).

### 공시 동물, 실험 설계 및 처리구

본 시험은 한우 암소 비육우 15두(체중  $630 \pm 63.4$  kg)를 공시하여 수행하였다. 공시 사료로 라이그래스와 배합사료(Table 1)를 급여하였으며, 이들의 영양소 함량은 Table 2에 나타난 바와 같다. 탄닌 첨가제는 밤나무(*Castanea sativa* Mill.)에서 추출한 가수분해성 탄닌(에스테르 및 글리코시드 탄닌 혼합물)이 75% (w/w) 함유된, 사료첨가제로 시판중인 GLOBATAN® (Global Nutrition International, Fougères, France)를 이용하였다. 대조구와 달리 탄닌 처리구의 사료에는 판매처의 권장량(0.2 - 0.4% 건물)을 기준으로 배합사료 건물 kg 당 3 g (0.3%)의 탄닌을 첨가하였다.

실험 개시 1주 전 공시축의 체중을 측정하고, 휴대용 레이저 메탄 측정기(LaserMethane mini-G, Tokyo Gas Engineering Co., Ltd., Tokyo, Japan)를 이용하여 각 동물의 메탄 배출 농도를 4일간 측정하였다. 개시 메탄 배출 농도를 기준으로 한우 암소 비육우 15두를 블록으로 나누고, 대조구와 탄닌 처리구에 각각 7두, 8두씩 임의로 배치하였다. 시험 기간은 사료 적응기간 1주, 본 실험기간은 7주로 하여 수행하였다. 배합사료는 한국 사양표준 한우(RDA, 2012)에 따라 체중의 1.5%를 급여하였고, 라이그래스는 자유채식하도록 하였다. 사료는 오전 8시와 오후 5시에 동일한 양을 나누어 2회 급여하였고, 음수는 깨끗한 물을 자유롭게 섭취하도록 하였다.

## 메탄 농도 측정

본 연구는 장내 발효에 의해 생성된 메탄 배출 농도를 측정하기 위해 레이저 메탄 측정기(Laser methane detector; LMD)를 이용하는 LMD 법을 활용하였다. LMD법은 Chagunda et al. (2009)의 방법을 바탕으로 실험 환경에 맞게 일부 수정하여 실시하였다. 공시축들을 스탠치온에 고정된 후 LMD를 이용하여 메탄 배출 농도를 측정하였다. 동물과 약 2 m 떨어진 거리에서 LMD에서 발사되는 불빛이 동물의 코 아래 부분(바람이 부는 방향의 반대편)에 위치하도록 하여, 레이저가 코 아래 부분에 반사되어 돌아오도록 하였다. 레이저를 이용한 농도 측정은 0.5초 간격으로 6분간 실시하였다.

메탄 배출 농도는 실험 개시 1주일 전, 개시 1, 3, 7주 후 총 4일간 매일 오전 사료 급여 2 시간 후에 측정하였다. 총 6분 동안 0.5초 간격으로 측정된 수치가 0이거나, 1,000 ppm-m 을 초과한 경우에는 데이터에서 제외하였다. 총 4일간 측정치의 평균을 이용하여 결과 분석을 실시하였다.

**Table 1.** Diet formulation of the concentrate mix used in the experiment.

Ingredient	g/kg
Corn, flaked	249
Wheat, finely ground	237
Gluten feed	95
Palm kernel meal	83
Copra meal	61
Soy hulls	47
Corn ground	41
Whole cottonseed	36
Molasses	32
Rice barn	24
Wheat barn	24
Cottonseed hulls	18
Limestone	16
Beet pulp	12
Palm oil	8
CMS/MSG	7
Urea	6
Sodium bicarbonate	4
Salt	2
Vitamin and mineral mix <sup>z</sup>	2

CMS, condensed molasses solubles; MSG, monosodium glutamate.

<sup>z</sup>33,330,000 IU/kg vitamin A, 40,000,000 IU/kg vitamin D, 20.86 IU/kg vitamin E, 20 mg/kg Cu, 90 mg/kg Mn, 100 mg/kg Zn, 250 mg/kg Fe, 0.4 mg/kg I, and 0.4 mg/kg Se.

## 건물 섭취량 및 체중 측정

건물 섭취량은 LMD 측정 2일 전부터 4일간의 LMD 측정 기간을 포함한 총 6일간 측정하였다. 배합사료는 급여 30분 후에 잔여량을 측정하였으며, 라이그래스는 자동 사료 섭취량 측정 기기(Dawoon Co., Incheon, Korea)를 이용하여 일일 섭취량을 측정하였다. 체중은 실험 개시 후 4주마다 측정하였다.

## 화학 성분 분석

사료의 화학성분은 미국의 Cumberland Valley Analytical Services 사에 위탁하여 분석하였다(Table 2). 건물(dry matter, DM; #930.15), 조단백질(crude protein, CP; #990.03), 산성세제불용성섬유소(acid detergent fiber, ADF; #973.18), 조회분(ash; #942.05)은 AOAC (2005)에 따라 분석하였으며, 조지방(ether extract, EE; #2003.05)은 AOAC (2006)에 따라 분석하였다. 조단백질은 질소 함량의 6.25배로 계산하였고, 총 질소 함량은 Leco FP-528 Nitrogen Combustion Analyzer (Leco Inc., USA)를 이용하여 듀마스(Dumas) 건조 연소법으로 분석하였다. 산성세제불용성리그닌(acid detergent lignin, ADL)은 Goering and Van Soest (1970)에 따라 분석하였고, 중성세제불용성섬유소(neutral

**Table 2.** Nutrient composition of the experimental diets (g/kg DM or as stated).

Item	Concentrate	Ryegrass
DM (g/kg as fed)	873	912
OM	934	927
CP	155	65
SOLP	71	35
NDICP	27	15
ADICP	11	13
aNDF	311	748
ADF	155	512
ADL	38	88
Ether extract	43	7
Ash	66	73
Ca	10	4
P	5	1
K	9	20
Na	3	1
Cl	4	7
S	3	2
Mg	3	2
TDN	741	474
NEm (MJ/kg DM)	7.3	4.1
NEg (MJ/kg DM)	4.7	1.8
Total carbohydrate	737	855
NFC	453	122
Ethanol Soluble CHO	57	40
Starch	368	14

DM, dry matter; OM, organic matter; CP, crude protein; SOLP, soluble CP; NDICP, neutral detergent insoluble CP; ADICP, acid detergent insoluble CP; aNDF, neutral detergent fiber analyzed using a heat stable amylase and expressed inclusive of residual ash; ADF, acid detergent fiber; ADL, acid detergent lignin; TDN, total digestible nutrients; NEm, net energy for maintenance; NEg, net energy for growth; NFC, non-fiber carbohydrate; Ethanol Soluble CHO, ethanol soluble carbohydrates, starch, soluble fiber, available insoluble fiber, unavailable carbohydrate.

detergent fiber, NDF)는 Van Soest et al. (1991)에 따라 열 안정성 아밀레이스(heat-stable amylase)를 이용하여 분석하고 잔여 조회분을 포함한 값(aNDF)으로 표현하였다. 용해 단백질(soluble protein; SOLP)은 Krishnamoorthy et al. (1982)에 따라 분석하였고, 중성세제불용조단백질(neutral detergent insoluble crude protein, NDICP)과 산성세제불용조단백질(acid detergent insoluble crude protein; ADICP)은 Licitra et al. (1996)에 따라 분석하였다. 에탄올 용해 탄수화물(ethanol soluble carbohydrate; ESC)과 전분(starch)은 Hall (2009)에 따라 분석하였으며, 광물질은 AOAC (2000) 방법에 따라 분석하였다. 가스화영양소 총량(total digestible nutrients; TDN), 유지 정미에너지(net energy for maintenance; NEm), 성장 정미에너지(net energy for growth; NEg) 및 총 탄수화물과 비섬유소탄수화물(non-fiber carbohydrates; NFC)의 함량은 NRC (2001)에 제시된 방법에 따라 계산하였다.

## 메탄 농도 분석

동물이 배출하는 메탄 농도는 섭취량 차이로 인한 메탄가스 배출량을 보정하여 표현하였다. 즉, 각 동물의 메탄 농도(ppm-m/kg DMI)는 LMD로 측정된 수치(ppm-m)를 해당 동물의 메탄 농도를 6일(메탄 농도를 측정하기 전 2일과 메탄 농도를 측정하 4일) 간의 평균 건물섭취량으로 나눈 건물섭취량당 메탄 농도를 의미한다.

또한 표준 메탄 농도(standardized methane concentration)도 산출하였다. 표준 메탄 농도는 매 측정 시기 마다 해당 동물의 메탄 농도를 전체 실험 축(15두)의 메탄 농도의 중간값(median)으로 감하고, 그 값을 전체 실험 축(15두)의 메탄 농도의 중간값으로 나누는 방식으로 계산하였다. 요컨대, 표준 메탄 농도는 [(동물의 메탄 농도 - 전체 실험축의 메탄 농도의 중간값) / 전체 실험축의 메탄 농도의 중간값]과 같다.

## 통계 분석

섭취량, 체중 및 평균 메탄 발생 농도는 SAS version 9.4 (SAS Institute Inc., Cary, USA)의 PROC MIXED 를 이용하여 분석하였다. 측정 기간별 표준 메탄 농도의 Pearson 상관관계는 PROC CORR을 이용하여 분석하였다. 통계 분석을 통해 차이를 보일 확률이 5%보다 적은 경우에 통계적 유의성, 5%에서 10% 사이인 경우에 경향성이 있음을 가정하였다.

# Results and Discussion

## 사양 성적

탄닌의 첨가가 한우 암소 비육우의 사양 성적에 미친 효과는 Table 3에 나타난 바와 같다. 개시 체중 및 종료 체중에서

**Table 3.** The effects of tannin on growth performance in Hanwoo beef cows.

Item	Control <sup>y</sup>	Tannin <sup>z</sup>	SEM	p-value
Initial BW (kg)	633.40	627.20	24.850	0.859
Final BW (kg)	670.10	654.80	6.270	0.359
ADG (g)	635.20	392.50	99.510	0.359
DMI (kg/d)	8.20	7.56	0.526	0.194
CDMI (kg/d)	6.16	5.71	0.367	0.231
FDMI (kg/d)	1.91	1.82	0.207	0.427
FCR	16.1	26.50	6.230	0.887

BW, body weight ADG, average daily gain; DMI, dry matter intake; CDMI, concentrate dry matter intake; FDMI, forage dry matter intake; FCR, feed conversion ratio (DMI ÷ ADG, both in kg).

<sup>y</sup>no tannin supplementation.

<sup>z</sup>supplementation of hydrolysable tannin at 3 g/kg of concentrate on dry matter basis.



대조구가 탄닌 처리구 보다 각각 6.2 kg, 15.3 kg 더 높은 값을 보였으나 통계적 유의차는 존재하지 않았다( $p > 0.05$ ). 일당 증체량은 대조구가 탄닌 처리구에 비해 243 g 높았으나 개체 간의 변이로 인해 통계적으로 유의하지 않았다( $p > 0.05$ ). 배합사료의 건물섭취량과 조사료 건물섭취량은 대조구에서 각각 0.45 kg/d, 0.09 kg/d 더 높았지만 통계적 유의차가 존재하지 않았으며 ( $p > 0.05$ ), 마찬가지로 건물 섭취량도 대조구가 0.64 kg/d 더 높았지만 통계적 차이를 보이지 않았다( $p > 0.05$ ). 사료 요구율은 대조구와 탄닌 처리구에서 각각 16.1과 26.5 였으며 수치적으로 대조구에서 사료 요구율이 낮았으나 통계적인 차이를 보이지 않았다( $p = 0.887$ ).

반추동물 사료에 탄닌의 첨가는 사료 섭취량과 소화율을 감소시킴으로써 영양적 가치가 떨어지는 경향이 있다고 보고된다(McLeod, 1974). McLeod (1974)에 따르면 탄닌의 첨가에 따른 기호성 저하는 탄닌과 타액의 점액 단백질 사이의 반응을 통해 유발되거나 맛에 의한 직접적인 반응을 통해 유발된다.

그러나 탄닌에 의한 섭취량과 성장률의 저하 효과는 첨가하는 탄닌의 농도에 따라 차이를 보인다. 탄닌의 첨가 수준이 높지 않은 경우 섭취량에 미치는 영향이 적으며, 그에 따른 성장률에 변화도 크지 않은 것으로 보고된다. 탄닌은 면양 실험에서 조사료 내 축합형 탄닌(50 g/kg DM 이상)이 많이 함유된 경우에 섭취량이 유의적으로 감소하였으며, 반면 그보다 낮은 수준(50 g/kg DM 미만)을 첨가하는 경우에는 섭취량에 영향을 미치지 않았다 (Barry and Duncan, 1984; Waghorn et al., 1994). Beauchemin et al. (2007)은 비육 전기 사료에 케브라초(*Schinopsis quebracho-colorado*; red quebracho)에서 추출한 탄닌을 첨가한 결과 건물 섭취량과 성장률에서 유의적인 차이는 없었으나, 탄닌을 2% DM 첨가한 처리구에서 성장률이 수치적으로 감소하였고, 단백질 소화율은 유의적으로 낮은 결과를 얻었다. 비육후기에 chestnut (*Castanea sativa* Mill)에서 추출한 가수분해성 탄닌을 첨가한 경우 성장률이 1.89 kg에서 1.77 kg으로 수치적으로 감소한 결과를 보였으며, Mimosa (*Acacia mearnsii* black wattle)에서 추출한 축합형 탄닌의 경우는 1.92 kg으로 오히려 증가한 결과를 보인바 있다(Krueger et al., 2010). 본 연구에서는 이전 연구들 보다 더 적은 양의 탄닌(배합사료 kg 당 3 g)을 급여하였기 때문에, 동물의 성장률에는 영향을 미치지 않은 것으로 판단된다.

## 메탄 배출

탄닌의 첨가가 한우 암소 비육우의 메탄 발생 농도에 미치는 효과를 분석하기 위해 실험 개시 1주일 전, 실험 개시 1, 3, 7주일 후에 LMD를 이용하여 각 개체별 메탄 농도를 측정하였다. 실험 개시 1주일 후 대조구의 메탄 발생량은 3.79 ppm-m/kg DMI로 탄닌 처리구의 3.66 ppm-m/kg DMI에 비해 약 3.4% 높은 경향을 보여 탄닌에 의해 메탄 가스 배출의 감소가 관찰되었다( $p = 0.078$ , Table 4). 그러나 실험 개시 3주일 후부터는 대조구와 탄닌 처리구의 메탄 발생 농도에서의 차이는 존재하지 않았다(3 Week:  $p = 0.224$ , 7 Week:  $p = 0.737$ ).

시험 사료 급여 1주일 전의 표준 메탄 농도를 각 측정 기간(실험 개시 1, 3, 7주일 후) 별 표준 메탄 농도와 비교한 결과가 Fig. 1에 나타나 있다. 실험 개시 1주일 후에는 대조구에 비해 탄닌의 첨가에서 표준 메탄 농도가 감소한 개체(우/하)가 더 많았으나 유의적이지는 않았다(Fig. 1A). 실험 개시 3주일 후와 7주일 후는 실험 개시 1주일 전과 비교하였을 때, 실험 개시 1주일 후에서 보여준 메탄 저감 효과의 패턴이 나타나지 않았다(Fig. 1B, 1C). 실험 개시 1주일 후와 3주일 후의 표

**Table 4.** The effects of tannin on enteric methane production in Hanwoo beef cows.

Item	Control <sup>y</sup>	Tannin <sup>z</sup>	SEM	p-value
Initial (ppm-m/kg DMI)	5.03	4.44	0.535	0.325
1 Week	3.79	3.66	0.305	0.078
3 Week	4.25	4.06	0.431	0.224
7 Week	4.33	4.24	0.287	0.737

DMI, dry matter intake.

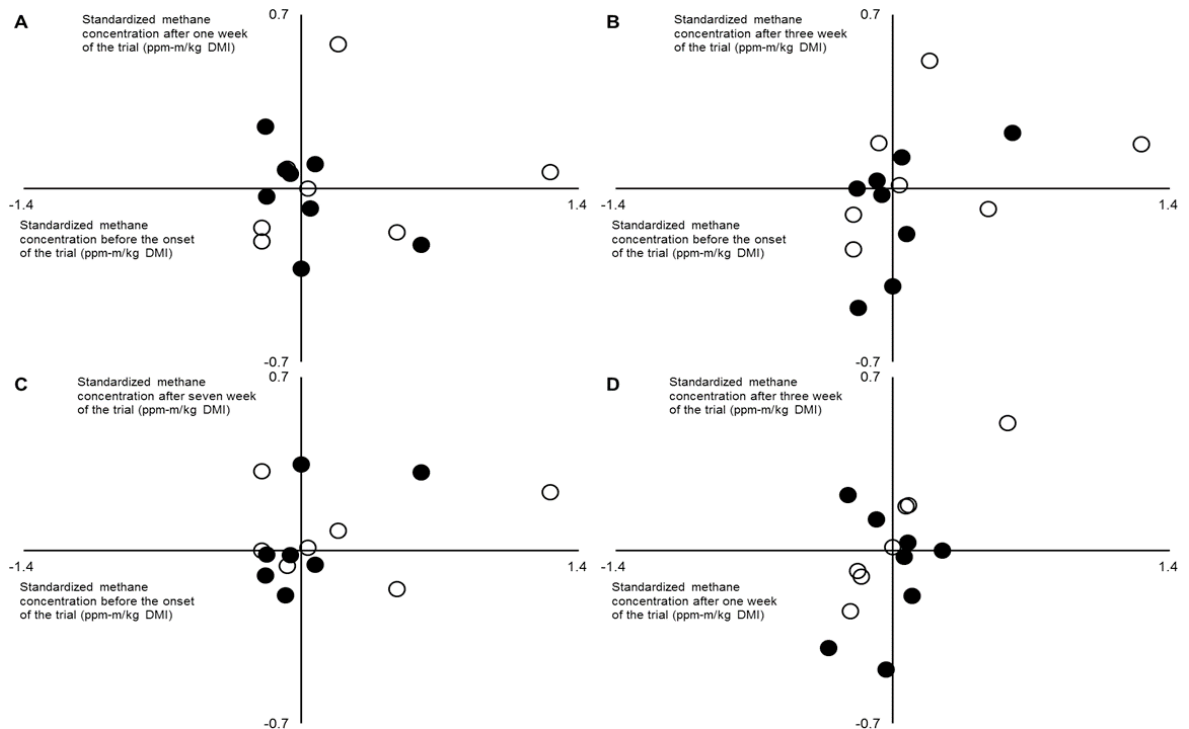
<sup>y</sup>no tannin supplementation.

<sup>z</sup>supplementation of hydrolysable tannin at 3 g/kg of concentrate on dry matter basis.

준 메탄 농도를 비교하였을 때, 탄닌 처리구( $r = 0.155$ ,  $p = 0.714$ )와 달리 대조구( $r = 0.968$ ,  $p < 0.001$ )에서는 유의적인 양의 상관관계를 보였다(Fig. 1D).

Krueger et al. (2010)는 chestnut 유래 가수분해성 탄닌을 TMR에 14.9 g/kg DM 첨가하여 비육우에 6주간 급여하였을 때, 성장률 및 메탄 발생량을 감소하는데 효과가 없었다고 보고하였다. Liu et al. (2011)는 chestnut 유래 가수분해성 탄닌을 면양에게 TMR 내 30 g/kg DM 을 급여하였을 때, 섭취량과 성장률에서는 효과는 없으나 메탄 발생량은 대조구에 비해 유의적으로 감소했다는 연구 결과(65.8 g/d vs. 48.5 g/d)를 보고한 바 있다. 또한 *in vitro* 반추위 발효 실험에서, chestnut 및 valonea에서 추출한 가수분해성 탄닌의 시료 내 첨가 수준이 20 g/kg DM일 때는 두 탄닌 종류 모두 대조구와 비교하여 메탄 발생량이 감소하지 않았으나(대조구 7.5 mL; chestnut tannin 7.5 mL; valonea tannin 7.6 mL), 50, 100, 150, 200 g/kg DM으로 첨가수준이 높아짐에 따라 유의적으로 메탄발생량이 감소함을 보고하였다(chestnut tannin 6.6, 5.8, 5.2, 4.5 mL; valonea tannin 6.7, 6.1, 5.5, 4.8 mL) (Hassanat and Benchaar, 2013).

본 연구에서 탄닌은 제품의 권장량인 배합사료 kg 당 3 g을 급여하였는데, 이는 메탄 저감의 효과를 나타낸 연구들의 급여수준 비해 낮은 수준임을 알 수 있다. *In vitro* 실험에서 시료 내 50 g/kg DM 이상 첨가 시부터 메탄 감소의 효과가 나타난 결과와 면양 사료 내 30 g/kg DM을 첨가하였을 때 메탄 감소의 효과를 확인한 것으로 보아 향후 연구에서는 첨



**Fig. 1.** Changes in standardized methane concentrations by the time of measurement in Hanwoo beef cows. (A) Comparison of the standard methane concentration (ppm-m/kg DMI) before the onset of the trial and after the 1 week of the trial. (B) Comparison of the standard methane concentration (ppm-m/kg DMI) before the onset of the trial and after the 3 weeks of the trial. (C) Comparison of the standard methane concentration (ppm-m/kg DMI) before the onset of the trial and after the 7 weeks of the trial. (D) Comparison of the standard methane concentration (ppm-m/kg DMI) after the 1 week of the trial and after the 3 weeks of the trial. The standardized methane concentration was calculated as dividing the difference between methane concentration of a cow and the median of methane concentration of all animals by the median of methane concentration of all animals for each measurement period. The open circles (○) represent the standardized methane concentration of the control group ( $n = 7$ ) and the closed circles (●) represent the standardized methane concentration of the tannin supplementation group ( $n = 8$ ).

가수준을 적어도 사료 내 30 g/kg DM 이상으로 증가시키는 것이 필요할 것으로 판단된다.

또한, 본 실험 결과 경산 비육우 사료에 탄닌을 첨가했을 때, 메탄 배출 감소의 효과가 탄닌 급여 후 1주에서만 그 경향성을 나타내고 그 이후에는 효과가 없었던 것은 반추위 혐기 미생물이 탄닌에 대한 내성 혹은 적응성을 나타냈기 때문인 것으로 보인다. 이러한 적응 과정에 의해 탄닌 급여구에서는 사료 급여 후 1주일 후와 3주일 후의 표준 메탄 농도 간에 상관관계가 없었지만, 탄닌에 대한 적응이 불필요한 대조구에서는 1주일 후와 3주일 후의 표준 메탄 농도가 매우 유의적으로 양의 상관관계를 보였다(Fig. 1).

이전 연구 결과에 따르면, 탄닌의 함량이 높은 사료를 섭취한 동물은 탄닌에 대항하는 방어 기작이 발달되는 것으로 나타난 바가 있다(Makkar, 2003). Odenyo et al. (1999)에 따르면 반추 미생물들이 가수분해성 탄닌을 빠르게 분해하여 이용 가능하게 하거나 폐놀기 수산화의 메틸화를 통한 가수분해성 탄닌의 활성을 감소시키는 적응할 수 있는 기작을 가지고 있을 수 있으며, 이러한 미생물들은 탄닌의 농도가 높은 수록 효율적으로 작용하였다. 또한, 반추위 내 *Selenomonas ruminantium* 및 *Streptococcus spp.* 등의 박테리아는 esterase나 tannin acylhydrolyase 등의 효소를 생산하여 가수분해성 탄닌의 에스테르 결합을 분해할 수 있는 탄닌 내성균으로 알려진 바 있다 (Skene and Brooker, 1995; Nelson et al., 1998; McSweeney et al., 1999). 반추 미생물이 가수분해성 탄닌에 대한 적응성을 보인 기존 연구 결과로 판단해 볼 때, 본 연구에서 탄닌 처리에 따른 메탄 발생량 저감 효과가 급여 1 주일 후에만 관찰된 결과와 상응하는 것으로 판단된다.

본 연구에서는 적응기간을 포함하여 8주간 동일한 양의 탄닌을 첨가하였는데, 향후 연구에서는 사료 내 가수분해성 탄닌의 첨가 수준을 증가시키고, 반추위 내성 가능성을 고려하여 메탄 발생량의 지속적인 감소를 보기 위해 실험기간 동안 탄닌을 점차 증가시켜 급여하거나 휴약기간을 두어 내성을 방지하는 등의 첨가기간을 조절하여 급여하는 전략이 필요할 것으로 생각된다.

## Conclusion

한우 암소 비육우에서 사료 내 가수분해성 탄닌의 첨가는 사양 성적에 부정적인 영향을 미치지 않으면서 반추위 발효에 의해 생성되는 메탄 가스의 배출량을 감소시키는 경향성이 있음이 확인되었다. 하지만, 본 실험에서 첨가한 탄닌의 첨가량은 메탄 가스 감소에 유의적이고 지속적인 효과는 줄 수 없었다.

## Acknowledgments

본 연구는 농림축산식품부 농림수산물기술평가원(iPET)의 지원으로 수행되었습니다(과제번호:313020-04).

## References

- AOAC (Association of Official Analytical Chemists). 2000. Official methods of analysis. AOAC, Gaithersburg, MD, USA.
- AOAC (Association of Official Analytical Chemists). 2005. Official methods of analysis. AOAC, Gaithersburg, MD, USA.
- AOAC (Association of Official Analytical Chemists). 2006. Official methods of analysis. AOAC, Gaithersburg, MD, USA.



- Barry T, Duncan S. 1984. The role of condensed tannins in the nutritional value of *Lotus pedunculatus* for sheep: 1. voluntary intake. *British Journal of Nutrition* 51:485-491.
- Barry T, McNabb W. 1999. The implications of condensed tannins on the nutritive value of temperate forages fed to ruminants. *British Journal of Nutrition* 81:263-272.
- Beauchemin K, Kreuzer M, O'mara F, McAllister T. 2008. Nutritional management for enteric methane abatement: A review. *Animal Production Science* 48:21-27.
- Beauchemin K, McGinn S, Martinez T, McAllister T. 2007. Use of condensed tannin extract from quebracho trees to reduce methane emissions from cattle. *Journal of Animal Science* 85:1990-1996.
- Chagunda M, Römer D, Roberts D. 2009. Effect of genotype and feeding regime on enteric methane, non-milk nitrogen and performance of dairy cows during the winter feeding period. *Livestock Science* 122:323-332.
- Choi EJ, Lee JH, Jeong HC, Kim SH, Lim JS, Lee DK, Oh TK. 2017. Analysis of research trends in methane emissions from rice paddies in Korea. *Korean Journal of Agricultural Science* 44:463-476.
- Field J, Lettinga G. 1987. The methanogenic toxicity and anaerobic degradability of a hydrolyzable tannin. *Water Research* 21:367-374.
- Goel G, Makkar H. 2012. Methane mitigation from ruminants using tannins and saponins. *Tropical Animal Health and Production* 44:729-739.
- Goering HK, Van Soest PJ. 1970. Forage fiber analyses (apparatus, reagents, procedures, and some applications). *Agriculture Handbook No. 379*. Agricultural Research Service, Washington, DC., USA.
- Ha J, Lee S, Moon Y, Kim C. 2005. Ruminant nutrition and physiology. Seoul National University, Seoul, Korea. [in Korean]
- Hall MB. 2009. Analysis of starch, including maltooligosaccharides, in animal feeds: A comparison of methods and a recommended method for AOAC collaborative study. *Journal of AOAC International* 92:42-49.
- Hassanat F, Benchaar C. 2013. Assessment of the effect of condensed (acacia and quebracho) and hydrolysable (chestnut and valonea) tannins on rumen fermentation and methane production *in vitro*. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 93:332-339.
- Hristov A, Oh J, Firkins J, Dijkstra J, Kebreab E, Waghorn G, Makkar H, Adesogan A, Yang W, Lee C. 2013. Special topics—mitigation of methane and nitrous oxide emissions from animal operations: I. a review of enteric methane mitigation options. *Journal of Animal Science* 91:5045-5069.
- IPCC (Intergovernmental Panel on Climate Change). 2007. *Climate change: Fourth assessment report*. IPCC, Geneva, Switzerland.
- Jayanegara A, Goel G, Makkar H, Becker K. 2015. Divergence between purified hydrolysable and condensed tannin effects on methane emission, rumen fermentation and microbial population *in vitro*. *Animal Feed Science and Technology* 209:60-68.
- Johnson D, Hill T, Carmean B, Lodman D, Ward G. 1991. New perspectives on ruminant methane emissions. In *Energy Metabolism of Farm Animals* edited by Wenk C, Boessinger M. pp. 376-379. Zurich, Switzerland.
- Krishnamoorthy U, Muscato TV, Sniffen CJ, Van Soest PJ. 1982. Nitrogen fractions in selected feedstuffs. *Journal of Dairy Science* 65:217-225.
- Krueger W, Gutierrez-Bañuelos H, Carstens G, Min B, Pinchak W, Gomez R, Anderson R, Krueger N,

- Forbes T. 2010. Effects of dietary tannin source on performance, feed efficiency, ruminal fermentation, and carcass and non-carcass traits in steers fed a high-grain diet. *Animal Feed Science and Technology* 159:1-9.
- Licitra G, Hernandez TM, Van Soest PJ. 1996. Standardization of procedures for nitrogen fractionation of ruminant feeds. *Animal Feed Science and Technology* 57:347-358.
- Liu H, Vaddella V, Zhou D. 2011. Effects of chestnut tannins and coconut oil on growth performance, methane emission, ruminal fermentation, and microbial populations in sheep. *Journal of Dairy Science* 94:6069-6077.
- Makkar H. 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.
- Makkar H, Francis G, Becker K. 2007. Bioactivity of phytochemicals in some lesser-known plants and their effects and potential applications in livestock and aquaculture production systems. *Animal* 1:1371-1391.
- Makkar H, Blümmel M, Becker K. 1995. *In vitro* effects of and interactions between tannins and saponins and fate of tannins in the rumen. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 69:481-493.
- McLeod M. 1974. Plant tannins-their role in forage quality. *Nutrition Abstracts and Reviews* 44:803-812.
- McSweeney C, Palmer B, McNeill D, Krause D. 2001. Microbial interactions with tannins: Nutritional consequences for ruminants. *Animal Feed Science and Technology* 91:83-93.
- McSweeney C, Palmer B, Bunch R, Krause D. 1999. Isolation and characterization of proteolytic ruminal bacteria from sheep and goats fed the tannin-containing shrub legume *Calliandra calothyrsus*. *Applied and Environmental Microbiology* 65:3075-3083.
- Min B, Barry T, Attwood G, McNabb W. 2003. The effect of condensed tannins on the nutrition and health of ruminants fed fresh temperate forages: A review. *Animal Feed Science and Technology* 106:3-19.
- Mueller-Harvey I. 2006. Unravelling the conundrum of tannins in animal nutrition and health. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 86:2010-2037.
- Nelson KE, Thonney ML, Woolston TK, Zinder SH, Pell AN. 1998. Phenotypic and phylogenetic characterization of ruminal tannin-tolerant bacteria. *Applied and Environmental Microbiology* 64:3824-3830.
- Nguyen TM, Van Binh D, Ørskov E. 2005. Effect of foliages containing condensed tannins and on gastrointestinal parasites. *Animal Feed Science and Technology* 121:77-87.
- NRC (National Research Council). 2001. Nutrient requirements of dairy cattle. NRC, Washington, DC., USA.
- Odenyo A, McSweeney C, Palmer B, Negassa D, Osuji P. 1999. *In vitro* screening of rumen fluid samples from indigenous African ruminants provides evidence for rumen fluid with superior capacities to digest tannin-rich fodders. *Australian Journal of Agricultural Research* 50:1147-1157.
- RDA (Rural Development Administration). 2012. Korean feeding standard for Hanwoo. 3rd ed. National Institute of Animal Science, Jeonju, Korea. [in Korean]
- Skene I, Brooker JD. 1995. Characterization of tannin acylhydrolase activity in the ruminal bacterium *Selenomonas ruminantium*. *Anaerobe* 1:321-327.
- Śliwiński BJ, Kreuzer M, Wettstein HR, Machmüller A. 2002. Rumen fermentation and nitrogen balance of lambs fed diets containing plant extracts rich in tannins and saponins, and associated emissions

- of nitrogen and methane. Archives of Animal Nutrition 56:379-392.
- Staerfl SM, Zeitz JO, Kreuzer M, Soliva CR. 2012. Methane conversion rate of bulls fattened on grass or maize silage as compared with the IPCC default values, and the long-term methane mitigation efficiency of adding acacia tannin, garlic, maca and lupine. Agriculture, Ecosystems & Environment 148:111-120.
- Tavendale MH, Meagher LP, Pacheco D, Walker N, Attwood GT, Sivakumaran S. 2005. Methane production from *in vitro* rumen incubations with Lotus pedunculatus and Medicago sativa, and effects of extractable condensed tannin fractions on methanogenesis. Animal Feed Science and Technology 123:403-419.
- Van Soest PJ, Robertson J, Lewis B. 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. Journal of Dairy Science 74:3583-3597.
- Waghorn G, Shelton I, McNabb W, McCutcheon S. 1994. Effects of condensed tannins in Lotus pedunculatus on its nutritive value for sheep. 2. Nitrogenous aspects. The Journal of Agricultural Science 123:109-119.
- Waghorn G, Tavendale M, Woodfield D. 2002. Methanogenesis from forages fed to sheep. Proceedings of New Zealand Grassland Association 64:167-172.
- Wischer G, Greiling A, Boguhn J, Steingass H, Schollenberger M, Hartung K, Rodehutschord M. 2014. Effects of long-term supplementation of chestnut and valonea extracts on methane release, digestibility and nitrogen excretion in sheep. Animal 8:938-948.
- Woodward S, Waghorn G, Ulyatt M, Lassey K. 2001. Early indications that feeding Lotus will reduce methane emissions from ruminants. Proceedings of New Zealand Society of Animal Production 61:23-26.
- Zhou HC, Lin YM, Wei SD, Tam NF. 2011. Structural diversity and antioxidant activity of condensed tannins fractionated from mangosteen pericarp. Food Chemistry 129:1710-1720.