

대두박 대체 부산물 위주의 TMR 사료가 반추위 내 미생물의 *In Vitro* 발효특성에 미치는 영향

배귀석¹ · 김은중² · 송태호¹ · 송태화³ · 박태일³ · 최낙진⁴ · 권찬호⁵ · 장문백^{1*}

¹중앙대학교 동물생명공학과, ²경북대학교 축산학과, ³국립식량과학원,

⁴전북대학교 동물자원학과, ⁵경북대학교 말특수동물학과

Effect of Byproducts Supplementation by Partically Replacing Soybean Meal to a Total Mixed Ration on Rumen Fermentation Characteristics *In Vitro*

Gui Seck Bae¹, Eun Joong Kim², Tae Ho Song¹, Tae Hwa Song³, Tae Il Park³, Nag Jin Choi⁴,
Chan Ho Kwon⁵ and Moon Baek Chang^{1*}

¹Department of Animal Science and Technology, Chung-Ang University, Anseong, 456-756, Republic of Korea,

²Department of Animal Science, Kyungpook National University, Sangju 742-711, Republic of Korea, ³National Institute of Crop Science, Rural Development Administration, Iksan 570-080, Republic of Korea, ⁴Department of Animal Science, Chonbuk National University, Jeonju, 561-756, Republic of Korea, ⁵Department of Horse and Exotic Animal Science, Kyungpook National University, Sangju 742-711, Republic of Korea

ABSTRACT

This study was performed to evaluate the effects of replacing basic total mixed ration (TMR) with fermented soybean curd, *Artemisia princeps* Pampanini cv. Sajabal, and spent coffee grounds by-product on rumen microbial fermentation *in vitro*. Soybean in the basic TMR diet (control) was replaced by the following 9 treatments (3 replicates): maximum amounts of soybean curd (SC); fermented SC (FSC); 3, 5, and 10% FSC + fermented *A. princeps* Pampanini cv. Sajabal (1:1, DM basis, FSCS); and 3, 5, 10% FSC + fermented coffee meal (1:1, DM basis, FSCC) of soybean. FSC, FSCS, and FSCC were fermented using *Lactobacillus acidophilus* ATCC 496, *Lactobacillus fermentum* ATCC 1493, *Lactobacillus plantarum* KCTC 1048, and *Lactobacillus casei* IFO 3533. Replacing dairy cow TMR with FSC treatment led to a pH value of 6 after 8 h of incubation—the lowest value measured ($p < 0.05$), and FSCS and FSCC treatments were higher than SC and FSC treatment after 6 h ($p < 0.05$). Gas production was higher in response to 3% FSC and FSCC treatments than the control after 4 - 10 h. Dry matter digestibility was increased 0 - 12 h after FSC treatment ($p < 0.05$) and was the highest after 24 h of 10% FSCS treatment. $\text{NH}_3\text{-N}$ concentration was the lowest after 24 h of FSC treatment ($p < 0.05$). Microbial protein content increased in response to treatments that had been fermented by the *Lactobacillus* spp. compared to control and SC treatments ($p < 0.05$). The total concentration of volatile fatty acids (VFAs) was increased after 6 - 12 h of FSC treatment ($p < 0.05$), while the highest acetate proportion was observed 24 h after 5% and 10% FSCS treatments. The FSC of propionate proportion was increased for 0 - 10 h compared with among treatments ($p < 0.05$). The highest acetate in the propionate ration was observed after 12 h of SC treatment and the lowest with FSCS 3% treatment after 24 h. Methane (CH_4) emulsion was lower with *A. princeps* Pampanini cv. Sajabal and spent coffee grounds treatments than with the control, SC, and FSC treatments. These experiments were designed to replace the by-products of dairy cow TMR with SC, FSC, FSCS, and FSCC to improve TMR quality. Condensed tannins contained in FSCS and FSCC treatments, which reduced CH_4 emulsion *in vitro*, decreased rumen microbial fermentation during the early incubation time. Therefore, future experiments are required to develop a rumen continuous culture system and an *in vivo* test to optimize the percentages of FSC, FSCS, and FSCC in the TMR diet of the dairy cows.

(Key words) : Fermented soybean curd byproducts, *Artemisia princeps* Pampanini cv. Sajabal, Spent coffee grounds, Gas production, *in vitro*)

* Corresponding author : Moon Baek Chang, Department of Animal Science and Technology, Chung-Ang University, Anseong, 456-756, Republic of Korea. Tel: +82-0-31-670-3029, Fax: +82-675-7481, E-mail: moonbaek@cau.ac.kr

I. 서 론

최근 국제 가축사료용 곡물과 조사료 가격은 지구 온난화에 의한 기상이변과 바이오 연료 생산을 위한 곡물 수요 증가, 유가 상승에 의한 물류비 그리고 중국 축산산업 확장 등 다양한 요인 등에 의해 지속적으로 증가하고 있는 실정이다(Meehl et al., 2000; Han et al., 2012; Tang and Xiong, 2012). 국내 축산업의 경우 배합사료원과 조사료의 수입의존도가 높아 생산성 향상을 위한 경쟁력에 장애가 되고 있는 실정이며(Kim et al., 2007), 가축사료비 절감을 위한 농·식품부산물물을 이용한 사료개발에 대한 연구가 지속적으로 이루어지고 있는 실정이다(Park et al., 2011).

가축의 사료원으로 사용될 수 있는 농·식품부산물로써 비지는 대두에 포함되어 있는 가용성단백질이 제거되어 있지만, 가공공정에 따라 조단백질 25~50%, 조지방 12~20%, 가용무질소물 33~34%, 조섬유 10~13% 함유하고 있으며, 반추가축에 대한 가소화영양소 총량이 84.99%로 영양학적 가치가 매우 높다(Shin and Lee, 2002; National Institute of Animal Science, 2012). 반추가축 사료원으로써 커피박(spent coffee grounds)은 단백질 함량이 낮고 조지방과 조섬유 함량이 높아 반추가축의 TMR사료원으로 이용이 가능하며(Campbell et al., 1976; National Institute of Animal Science, 2012; Senevirathne et al., 2012), 커피의 가공방법인 열수 추출 과정에서 커피박에 잔존하는 항산화 물질인 polyphenolic과 nonpolyphenolic 성분에 대한 연구도 이루어지고 있다(Delgado-Andrade et al., 2005). 또한 열수 추출 커피박은 TMR 내 10% 이하 첨가할 경우 건물섭취량 및 소화율에 영향 미치지 않아 반추가축 사료원으로 이용이 가능하다(Xu et al., 2007). 사자발약썩은 오랜 기간 동안 지혈, 천식, 소화기 장애 치료 등을 목적으로 사용되고 있는 자생약초이다. 특히 사자발약썩에 다량 함유 물질로 eupatilin과 jaceosidin은 동물 체내에서 항산화 효과가 높은 것으로 알려져 있으며(Tan et al., 1998; Hong et al., 2007), Kim et al. (2012)의 보고에 의하면 웅추 사료 내 미생물발효 사자발약썩 첨가 시 장내 *Lactobacillus* spp. 함량은 증가하였고 *Salmonella* spp. 함량은 감소하였을 뿐만 아니라 육질이 향상되었다고 하였다. 반면 커피박과 사자발약썩에 포함되어 있는 condensed tannin은 반추위 내 섬유소분해 미생물들의 carboxymethyl cellulase(CMCase)와 xylanase 효소활력 감소에 의해 섬유소 분해율을 감소시키며(Barry et al., 1986; Barahona et al., 2006), 병원성 미생물 발육 저해 및 살균효과 그리고 반추위 내 메탄생성 박테리아의 생육을 억제하는 특성을 가지고 있다(Min et al., 2003; Tavendale

et al., 2005; Hess et al., 2006).

따라서, 본 연구는 *Lactobacillus* spp.를 접종하여 발효된 농·식품부산물인 비지, 커피박 그리고 사자발약썩의 젖소 급여용 TMR에 수준별 첨가에 의한 반추위 내 미생물 발효 특성에 미치는 영향을 조사하기 위하여 *in vitro* 시험을 실시하였다.

II. 재료 및 방법

1. 실험계획

본 실험에 사용된 대조구는 soybean, corn 그리고 ryegrass를 이용한 기본 섬유질배합 사료(TMR)에 대하여 비지(soybean curd byproducts, SC)와 유용미생물발효 비지(fermented soybean curd byproducts, FSC)와 FSC + 유용미생물 발효 사자발약썩 부산물[fermented SC and *Artemisia princeps* Pampanini cv. Sajabal, 1:1(w/w DM basis), FSCS], FSC + 유용미생물발효 커피박[fermented SC and spent coffee grounds, 1:1 (w/w DM basis), FSCC]을 제조하였다. 각 FSCS와 FSCC 처리구는 3, 5 그리고 10%를 기본 TMR에 사료원으로 이용하였다. 모든 처리구의 배합비는 대두박 우선으로 대체한 후 corn과 ryegrass 배합수준을 미세조절하여 시험사료를 제조하였으며, 대조구를 포함하여 9처리 3반복으로 *in vitro* 시험을 실시하였다.

2. 시험사료의 제조

FSC, FSCS 그리고 FSCC의 미생물 발효는 *Lactobacillus* spp.인 *L. acidophilus* ATCC 496, *L. fermentum* ATCC 1493 (American Type Culture Collection: Virginia, US), *L. plantarum* KCTC 1048 (Korean Collection Type Culture, Daejeon, Korea), and *L. casei* IFO 3533 (Korea Food Research Institute, Daejeon, Korea) 4균종을 각 MRS broth (Difco, Madrid, Spain) 10 g, sucrose 10 g 그리고 980 mL 증류수와 제조된 배지 1 L에 건물 650 g의 각 시험 사료원료 혼합 후 10^9 cfu/mL의 각 *Lactobacillus* spp. 균주를 2 mL씩 접종하여 36°C에서 24시간 동안 배양 후 시험 TMR 사료원을 제조하였다. 각 기본 TMR 및 시험사료 중 SC 처리구는 가소화 영양소총량을 79%로 하였고 조단백질 함량은 18.90~19.06%로 하였다. 기본 TMR 원료에 대하여 각 처리구들에 대하여 SC, FSC, FSCS 3, 5, 10% 그리고 FSCC 3, 5, 10% 최대 대체 함량 이용하여 배합비를 작성하였으며(Table 1), 대조구 및 시험사료에 대한 일반성분은 Table 2와 같다.

Table 1. Feed formulation of experimental diets

Items	Soybean meal	Corn	Ryegrass	Soybean curd byproducts or fermented soybean curd byproducts	
				% DM	
Control	21.12	39.04	39.84	—	—
SC ¹⁾	13.87	38.66	36.13	11.34	—
FSC ²⁾	14.98	38.46	37.25	9.31	—
FSCS ³⁾	3%	18.23	38.21	36.59	6.98
	5%	15.23	38.62	36.18	9.98
	10%	13.17	38.06	36.44	12.33
FSCC ⁴⁾	3%	18.23	38.62	36.59	6.57
	5%	15.63	38.62	36.59	9.16
	10%	14.69	38.78	35.92	10.61

¹⁾ SC: soybean curd byproducts.

²⁾ FSC: fermented soybean curd byproducts.

³⁾ FSCS: mixture of soybean curd byproducts and *Artemisia princeps* Pampanini cv. Sajabal (5:5, dry matter basis).

⁴⁾ FSCC: mixture of soybean curd byproducts and spent coffee grounds (5:5, dry matter basis).

Table 2. Chemical composition of experimental diets¹⁾

Items	Control	SC ²⁾	FSC ³⁾	FSCS ⁴⁾			FSCC ⁵⁾		
				3%	5%	10%	3%	5%	10%
				% DM					
Dry matter	87.78	88.61	88.49	88.64	88.66	88.66	88.58	88.54	88.58
Crude protein	19.06	18.91	19.02	18.99	18.93	18.90	18.97	18.98	18.95
Ether extract	3.36	4.21	4.03	4.13	4.11	4.05	4.12	4.11	4.18
Crude fiber	10.00	10.62	10.64	10.82	10.78	10.93	10.72	10.74	10.70
Crude ash	5.96	5.42	5.48	5.44	5.43	5.52	5.47	5.42	5.37
NFE ⁶⁾	49.41	49.46	49.32	49.25	49.40	49.27	49.31	49.28	49.38
NFC ⁷⁾	53.18	54.64	54.28	54.41	54.58	54.40	54.53	54.46	54.57
NDF ⁸⁾	24.70	26.45	26.15	26.77	26.77	27.07	26.68	26.67	26.65
ADF ⁹⁾	13.25	13.56	13.63	13.76	13.85	14.04	13.67	13.65	13.64
Ca	0.08	0.10	0.09	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10
P	0.24	0.24	0.24	0.25	0.25	0.24	0.25	0.25	0.25

¹⁾ Total digestible nutrients: 79%, crude protein: 18.90~19.06% of control and experimental diets.

²⁾ SC: Soybean curd byproducts.

³⁾ FSC: Fermented soybean curd byproducts

⁴⁾ FSCS: Mixture of soybean curd byproducts and *Artemisia princeps* Pampanini cv. Sajabal (5:5, dry matter basis).

⁵⁾ FSCC: Mixture of soybean curd byproducts and spent coffee grounds (5:5, w/w, dry matter basis).

⁶⁾ NFE: Nitrogen free extract.

⁷⁾ NFC: Non fiber carbohydrate.

⁸⁾ NDF: Acid detergent fiber.

⁹⁾ ADF: Neutral detergent fiber.

3. 접종액 및 *in vitro* 시험 준비

In vitro 시험을 위한 반추위 내 미생물 접종액 제조는 cannular가 장착된 젓소의 반추위 내에서 채취한 반추위내 용물을 8겹의 cheesecloth로 거른 후 보온병을 이용하여 실험실로 운반 후 artificial saliva (McDougall, 1948)와 1:1로 혼합하였고 39°C에서 CO₂ gas를 주입하여 혐기상태를 유지하였다. 1 mm screen이 장착된 분쇄기 (Cyclotech tm

1093, FOSS, DK-3400 Hilleod, Denmark)를 이용하여 분쇄된 TMR 사료 (40 g/L)와 혼합하여 rubber stopper를 장착 후 shaking water bath (100 rpm)를 이용하여 39°C에서 24시간 동안 계대배양을 실시하였다. 배양이 끝난 후 반추위 미생물 혼합액은 2,500 rpm에서 15분간 원심분리하여 상층 액만을 채취하여 접종액으로 이용하였다.

In vitro 배양은 serum bottle (150 mL)에 대조구와 각 시험사료를 건물 1.7 g과 혐기적 방법 (Miller and Wolin,

1974)을 이용하여 artificial saliva (McDougall, 1948) 100 mL 주입 후 CO₂ gas 주입과 반추위 내 미생물 접종액 (5%, v/v)을 주입 하였으며, rubber stopper와 알루미늄 고 정장치를 이용하여 밀봉하였다. 접종 후 배양은 39°C incubator를 이용하였으며, 각 시료의 채취는 0, 2, 4, 6, 8, 10, 12 그리고 24 시간대에 실시하였다. 각 시간대에 채취 된 시료 중 gas 생성량은 gas 측정장치(model PSGH-28PCCA, DECO Co., Seoul, Korea)와 digital 압력 측정기 (DPT-03, Daeil Information Co., Seoul, Korea)를 이용하여 측정하였다. Gas 샘플은 vial에 주사기를 이용하여 포집하 여 -70°C에 보관 후 gas chromatography (7890B GC, Agilent Technologies, California, USA)에 Carboxsphere 80/100 column (Alltech Inc., Deerfield, Illinois, USA)을 이용하여 CH₄ gas 함량을 측정하였다. 이후 샘플들은 2,500rpm에서 15분간 원심분리 후 상층액을 이용하여 pH를 측정하였고 분석을 위해 -20°C에서 저장 후 NH₃-N (Chaney and Marbach, 1962), volatile fatty acid (VFA) (Erwin et al., 1961)과 microbial protein synthesis (Lowry et al., 1951)를 측정하였다. 분리된 내용물은 건물소화율, neutral detergent fiber (NDF) 소화율 (Van Soest et al., 1991)을 측정하였고, undegradable protein (UDP)는 조단백질분석기 (Kjeltec 2300, FOSS, DK-3400 Hilleod, Denmark)를 이용하여 분석하였다 (AOAC, 1984).

4. 통계처리

반추위 내 미생물발효 특성에 대한 0, 2, 4, 6, 8, 10, 12 그리고 24시간대의 각 결과의 pH, gas 생성량, DM소화율,

NDF소화율, UDP 함량, NH₃-N, 미생물단백질 합성량, VFA, Acetate/Propionate 비율 그리고 CH₄ gas 생성량은 각 처리구의 샘플의 반복수에 대해 LSMEANS를 이용하여 MIXED procedure SAS program package (SAS, 1999)를 이용하였으며, 각 처리구들의 평균에 대한 F-test (p<0.05)를 실시하였다.

III. 결과 및 고찰

1. pH의 변화

대조구와 모든 처리구에서 배양기간 동안 pH 수준은 6.42~7.07로 반추위 내 적정 수준을 유지하였다. 배양 2시간대에서 대조구는 모든 처리구 보다 높았으나 (p<0.05), 처리구간에는 차이가 없었다. 배양 4시간대에서 FSC 처리구가 가장 높았으며 (p<0.05), FSCS 처리구에서 다음으로 높은 결과를 나타내었다 (p<0.05). 배양 6~8시간대에 FSCS와 FSCC 처리구는 대조구에 비해 낮았고 SC와 FSC 처리구에 비해 높은 결과를 나타내었다 (p<0.05). 배양 8시간대에서 FSC와 처리구가 가장 낮은 결과를 나타내었으며 (p<0.05), FSCS와 FSCC 처리구 간에는 차이가 없었다. 배양 10시간대 각 FSCS 5, 10% 처리구와 FSCC 5, 10% 처리구에서 가장 낮은 결과를 나타내었고 (p<0.05), 배양 12시간대 FSC와 FSCS 처리구는 대조구에 비해 낮은 pH수준을 나타내었지만 (p<0.05) FSCC 처리구에 비해 유의적으로 높은 pH수준을 유지하였다. FSC와 FSCC 3% 처리구의 경우 배양 24시간대 가장 높은 결과를 나타내었다 (p<0.05) (Table 3). 이와 같은 결과는 대조구에 SC 및 FSC 대체에

Table 3. Effect of fermented soybean curd byproducts with *Artemisia princeps* Pampanini cv. Sajabal or spent coffee grounds on ruminal pH *in vitro*

Incubation time (h)	Control	SC ¹⁾	FSC ²⁾	FSCS ³⁾			FSCC ⁴⁾			SEM ⁵⁾	P value
				3%	5%	10%	3%	5%	10%		
0	7.06	7.06	7.06	7.07	7.06	7.07	7.06	7.06	7.06	0.004	0.5618
2	7.00 ^{ab}	7.01 ^a	7.01 ^a	6.99 ^{ab}	7.00 ^{ab}	7.00 ^{ab}	6.98 ^{ab}	6.98 ^{ab}	6.99 ^{ab}	0.021	0.0572
4	6.78 ^{bc}	6.77 ^{bcd}	6.73 ^d	6.85 ^a	6.84 ^a	6.84 ^a	6.74 ^{cd}	6.74 ^{cd}	6.78 ^{bc}	0.015	0.0002
6	6.83 ^a	6.67 ^{cd}	6.61 ^d	6.75 ^b	6.76 ^b	6.76 ^b	6.73 ^{bc}	6.75 ^b	6.63 ^d	0.021	0.0001
8	6.71 ^a	6.68 ^{ab}	6.53 ^d	6.58 ^{cd}	6.56 ^{cd}	6.59 ^{cd}	6.55 ^{cd}	6.53 ^{cd}	6.59 ^{cd}	0.027	0.0024
10	6.75 ^a	6.63 ^b	6.61 ^{bc}	6.57 ^{cd}	6.55 ^d	6.55 ^d	6.57 ^{cd}	6.58 ^{bcd}	6.62 ^{bc}	0.020	0.0001
12	6.50 ^a	6.45 ^{bcd}	6.48 ^{ab}	6.47 ^{ab}	6.47 ^{ab}	6.47 ^{ab}	6.42 ^{cd}	6.42 ^{cd}	6.42 ^d	0.016	0.0280
24	6.64 ^{abc}	6.65 ^{ab}	6.67 ^a	6.63 ^{abc}	6.66 ^{ab}	6.65 ^{ab}	6.64 ^{abc}	6.62 ^{bc}	6.61 ^c	0.016	0.1735

¹⁾ SC: Soybean curd byproducts.

²⁾ FSC: Fermented soybean curd byproducts.

³⁾ FSCS: Mixture of soybean curd byproducts and *Artemisia princeps* Pampanini cv. Sajabal (5:5, dry matter basis).

⁴⁾ FSCC: Mixture of soybean curd byproducts and spent coffee grounds (5:5, w/w, dry matter basis).

⁵⁾ SEM: Standard error of the mean.

The lowercase letters above the spots indicate statistical significance; mean values with different letters are significantly different (p<0.05).

의해 non fiber carbohydrate (NFC) 함량이 대조구에서 53.18% 보다 높은 54.28~54.64% 때문에 사료되며 (Sievert and Shaver, 1993; Valadares et al., 1999; Ishida et al., 2012), 배양 초기 8시간대까지 FSCS와 FSCC 처리구는 커피박과 사자발약쭉의 높은 NDF 함량과 condensed tannin에 의해 높은 pH 수준을 유지한 것으로 사료된다 (Barry et al., 1986). Xu et al. (2007)의 보고에 의하면 거세면양을 이용한 *in vivo* 시험에서 TMR 사료 원을 커피박 10% 수준까지 대체하여 급여 시 12시간 후 반추위 내 pH 수준에 영향을 미치지 않는다고 하였지만, FSCS와 FSCC 처리구에서 배양 초기 시험사료 내 FSC에 의해 대조구에 비해 낮은 pH 수준을 유지하였다. 배양 6시간대까지 SC와 FSC 처리구에 비해 높은 pH를 유지한 것은 condensed tannin의 반추위 내 미생물 발효 저해 효과 때문이며, 이후 반추위 내 섬유소 분해활력이 높아졌기 때문에 사료된다.

2. Gas 생성량 변화

배양기간 동안 gas 생성량은 배양 2시간대까지 대조구와 모든 처리구에서 차이가 없었으며, 4~12시간대까지 FSC 처리구가 가장 높은 결과를 나타내었다 ($p < 0.05$). FSCS와 FSCC 처리구는 배양 4~10시간대까지 대조구 보다 유의적으로 높은 gas 생성량을 나타내었으나 ($p < 0.05$), SC와 FSC 처리구 보다 유의적으로 낮은 결과를 나타내었다 ($p < 0.05$). FSCS 처리구는 배양 6시간대부터 사자발약쭉 함량이 증가할수록 gas 생성량이 증가하는 경향을 나타내었는데, FSCS

처리구는 FSCC 처리구보다 배양 10시간때부터 유의적으로 높은 gas 발생량을 나타내었다 ($p < 0.05$) (Table 4). 이와 같은 결과는 FSCS 처리구와 FSCC 처리구에 포함되어 있는 FSC에 의해 NFC 함량이 증가되어 반추위 내 미생물의 발효에 영향을 미친 것으로 사료되며 (Valadares et al., 1999; Park et al., 2011), 사자발약쭉과 커피박의 높은 섬유소 함량은 배양 후기 반추위 내 미생물 발효를 지속적으로 유지시켰기 때문이다 (Bartley et al., 1978).

3. 건물소화율 변화

건물소화율은 배양 2시간대 대조구가 유의적으로 낮았으며 ($p < 0.05$), 배양 12시간대까지 FSC 처리구에서 가장 높았다 ($p < 0.05$). 배양 24시간대 건물소화율은 FSCS 10% 처리구에서 유의적으로 높았으며 ($p < 0.05$), FSC 처리구에서 가장 낮은 결과를 나타내었다 (Table 5). 이와 같은 결과는 FSC 처리구가 배양 시간이 지남에 따라 가장 낮은 pH 수준을 유지되었고, gas 생성량이 높았던 결과와 일치하였다. 또한 다른 모든 처리구에서도 배양 시간에 따른 건물소화율에 따라 gas 발생량이 높아지는 결과를 나타내었다 (Theodorou et al., 1994; Theodorou et al., 1995). 특히, FSCS와 FSCC 처리구의 경우 SC와 FSC 처리구에 비해 배양 초기 건물소화율은 낮은 경향을 나타내었는데, 24시간 대에는 사자발약쭉과 커피박 함량이 증가할수록 높은 건물소화율을 나타내었다.

Table 4. Effect of fermented soybean curd byproducts with *Artemisia princeps* Pampanini cv. Sajabal or spent coffee grounds on gas production *in vitro*

Incubation time (h)	Control	SC ¹⁾	FSC ²⁾	FSCS ³⁾			FSCC ⁴⁾		FSCC 10%	SEM ⁵⁾	P value
				3%	5%	10%	3%	5%			
..... mL											
0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
2	7.48	7.48	7.48	7.49	7.49	7.49	7.48	7.48	7.48	0.334	0.8638
4	30.39 ^b	30.73 ^{ab}	31.99 ^a	22.26 ^d	22.21 ^d	27.75 ^c	22.45 ^d	20.44 ^e	18.50 ^f	0.529	0.0001
6	48.47 ^d	59.60 ^a	61.93 ^a	51.33 ^c	56.33 ^b	67.70 ^b	55.73 ^b	56.60 ^b	57.40 ^b	1.568	0.0001
8	88.66 ^d	112.17 ^b	127.40 ^a	104.67 ^{bc}	109.28 ^{bc}	110.31 ^{bc}	109.28 ^{bc}	110.06 ^{bc}	110.31 ^{bc}	3.021	0.0001
10	107.23 ^e	165.80 ^a	169.33 ^a	151.23 ^{bc}	151.10 ^{bc}	153.00 ^b	141.80 ^c	138.07 ^c	140.67 ^c	3.651	0.0001
12	156.00 ^e	205.13 ^d	233.53 ^a	224.33 ^b	224.00 ^b	225.90 ^b	205.60 ^c	208.67 ^c	209.00 ^c	2.172	0.0001
24	269.07 ^b	259.63 ^d	242.97 ^f	269.00 ^b	269.30 ^b	277.80 ^a	263.40 ^{cd}	259.47 ^d	251.30 ^e	1.834	0.0001

¹⁾ SC: Soybean curd byproducts.

²⁾ FSC: Fermented soybean curd byproducts.

³⁾ FSCS: Mixture of soybean curd byproducts and *Artemisia princeps* Pampanini cv. Sajabal (5:5, dry matter basis).

⁴⁾ FSCC: Mixture of soybean curd byproducts and spent coffee grounds (5:5, dry matter basis).

⁵⁾ SEM: Standard error of the mean.

The lowercase letters above the spots indicate statistical significance; mean values with different letters are significantly different ($p < 0.05$).

Table 5. Effect of fermented soybean curd byproducts with *Artemisia princeps* Pampanini cv. Sajabal or spent coffee grounds on dry matter digestibility *in vitro*

Incubation time (h)	Control	SC ¹⁾	FSC ²⁾	FSCS ³⁾			FSCC ⁴⁾		FSCC	SEM ⁵⁾	P value
				3%	5%	10%	3%	5%			
0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
2	24.72 ^b	27.07 ^a	27.23 ^a	26.85 ^a	27.34 ^a	26.59 ^a	27.36 ^a	26.53 ^a	27.31 ^a	0.554	0.0559
4	29.03 ^b	29.193 ^b	31.79 ^a	25.84 ^d	25.58 ^d	27.09 ^c	25.23 ^{de}	24.13 ^e	22.52 ^f	0.371	0.0001
6	31.45 ^d	36.78 ^a	36.92 ^a	33.46 ^c	36.40 ^{ab}	36.76 ^a	34.84 ^{bc}	34.38 ^c	36.56 ^{ab}	0.597	0.0001
8	36.07 ^c	38.86 ^b	42.78 ^a	38.22 ^b	38.08 ^b	37.79 ^b	37.79 ^b	38.06 ^b	38.28 ^b	0.430	0.0001
10	40.03 ^e	41.34 ^d	47.83 ^a	45.87 ^b	47.84 ^a	48.38 ^a	43.62 ^c	43.45 ^c	43.37 ^c	0.293	0.0001
12	46.36 ^e	49.24 ^d	58.74 ^a	53.44 ^b	52.97 ^b	52.7 ^b	50.25 ^c	50.01 ^c	50.49 ^c	0.5070	0.0001
24	69.12 ^b	64.55 ^e	64.32 ^e	70.81 ^b	71.14 ^b	72.70 ^a	66.67 ^d	67.19 ^{cd}	68.32 ^c	0.457	0.0001

¹⁾ SC: Soybean curd byproducts.

²⁾ FSC: Fermented soybean curd byproducts.

³⁾ FSCS: Mixture of soybean curd byproducts and *Artemisia princeps* Pampanini cv. Sajabal (5:5, dry matter basis).

⁴⁾ FSCC: Mixture of soybean curd byproducts and spent coffee grounds (5:5, dry matter basis).

⁵⁾ SEM: Standard error of the mean.

The lowercase letters above the spots indicate statistical significance; mean values with different letters are significantly different (p<0.05).

4. NH₃-N 함량 변화

사료 내 포함되어 있거나 단백질원이 반추위 내 미생물에 의해 분해되어 생성된 NH₃-N은 반추위 내 미생물 성장에 필수적인 질소공급원으로 작용을 하는데, 본 시험에서 배양 시간에 따른 NH₃-N 함량은 배양 4시간대까지 대조구에서 가장 낮았고 (p<0.05), 배양 종료 시 FSC 처리구가 가장 높은 결과를 나타내었다 (p<0.05). 배양 4시간대 대조구

를 제외한 모든 처리구의 NH₃-N 함량은 차이가 없었으며, 배양 8시간대 FCS 처리구가 유의적으로 높은 결과를 나타내었다 (p<0.05). 이와 같은 결과는 대조구의 대두박이 비지보다 rumen undegradable protein (RDP)이 높기 때문이고 (Park et al., 2011), 배양 24시간대 FSCS와 FSCC 처리구의 사자발약쭉과 커피박의 높은 섬유소함량 때문에 반추위 내 섬유소 분해미생물 발효가 지속적으로 이루어졌기 때문으로 사료된다 (Campbell et al., 1976; Bartley et al., 1978) (Table 6).

Table 6. Effect of fermented soybean curd byproducts with *Artemisia princeps* Pampanini cv. Sajabal or spent coffee grounds on NH₃-N concentration *in vitro*

Incubation time (h)	Control	SC ¹⁾	FSC ²⁾	FSCS ³⁾			FSCC ⁴⁾		FSCC	SEM ⁵⁾	P value
				3%	5%	10%	3%	5%			
..... mg/100 mL											
0	14.07 ^c	16.22 ^{abc}	17.54 ^a	16.34 ^{abc}	16.43 ^{abc}	15.15 ^{bc}	15.34 ^{bc}	15.22 ^{bc}	15.64 ^{bc}	0.783	0.1654
2	15.62 ^e	16.70 ^{bcde}	16.46 ^{cde}	16.49 ^{abcd}	17.96 ^a	17.78 ^{ab}	17.84 ^{ab}	17.66 ^{abc}	16.46 ^{cde}	0.422	0.0078
4	10.95 ^c	15.16 ^{ab}	14.49 ^b	16.52 ^{ab}	15.44 ^{ab}	14.96 ^{ab}	14.78 ^{ab}	16.82 ^a	15.74 ^{ab}	0.748	0.0019
6	12.75 ^c	15.68 ^b	15.26 ^b	15.56 ^b	16.22 ^{ab}	15.39 ^b	17.30 ^a	16.34 ^{ab}	15.98 ^{ab}	0.529	0.0013
8	17.24 ^a	14.55 ^c	11.82 ^d	15.08 ^{bc}	15.48 ^{bc}	15.35 ^{bc}	16.78 ^b	16.48 ^b	16.04 ^b	0.382	0.0001
10	15.00 ^a	14.25 ^{ab}	14.13 ^b	14.44 ^{ab}	14.52 ^{ab}	14.37 ^{ab}	14.97 ^{ab}	12.93 ^c	13.55 ^c	0.290	0.0044
12	14.43 ^a	10.80 ^d	12.33 ^{bc}	13.77 ^{ab}	14.55 ^a	14.37 ^a	13.05 ^{abc}	12.09 ^{cd}	10.71 ^d	0.513	0.0001
24	3.50 ^{bcd}	3.53 ^{bcd}	5.62 ^a	4.01 ^{bc}	4.60 ^{ab}	4.24 ^b	3.47 ^{bcd}	2.93 ^{cd}	2.87 ^d	0.381	0.0001

¹⁾ SC: Soybean curd byproducts.

²⁾ FSC: Fermented soybean curd byproducts.

³⁾ FSCS: Mixture of soybean curd byproducts and *Artemisia princeps* Pampanini cv. Sajabal (5:5, dry matter basis).

⁴⁾ FSCC: Mixture of soybean curd byproducts and spent coffee grounds (5:5, dry matter basis).

⁵⁾ SEM: Standard error mean.

The lowercase letters above the spots indicate statistical significance; mean values with different letters are significantly different (p<0.05).

5. 반추위 미생물단백질 함량 변화

배양 시작과 함께 대조구와 SC 처리구는 FSC, FSCS 그리고 FSCC 처리구에 비해 유의하게 낮은 미생물단백질 함량을 유지하였으며 (p<0.05), 각 FSCS와 FSCC 처리구에서 사자발약썩과 커피박 함량이 증가할수록 높은 결과를 나타내었다. 이와 같은 결과는 시험사료원의 발효를 위해 4종의 *Lactobacillus* spp. 균종을 이용했기 때문이며, 배양 2시간대까지 반추위 내 미생물단백질 함성량은 차이가 없었다.

배양 6~8시간대 FSC 처리구에서 가장 높은 미생물단백질 함량을 나타내었으며 (p<0.05), 배양 10시간대 FSC 처리구보다 SC, FSCS, FSCC 처리구에서 유의하게 높은 결과를 나타내었다 (p<0.05). 배양 12시간대에 FSCC 10% 처리구에서 가장 높은 반추위 내 미생물 함량을 나타내었는데 (p<0.05) (Table 7), 이와 같은 결과는 배양 초기 4종의 *Lactobacillus* spp.의 유용미생물 첨가와 배양 초기 FSC, FSCS 그리고 FSCC 처리구의 높은 NFC 함량 때문이며, 또한 배양 후기 섬유소 함량이 높아 반추위 내 미생물 발

Table 7. Effect of fermented soybean curd byproducts with *Artemisia princeps* Pampanini cv. Sajabal or spent coffee grounds on microbial protein synthesis *in vitro*

Incubation time (h)	Control	SC ¹⁾	FSC ²⁾	FSCS ³⁾			FSCC ⁴⁾			SEM ⁵⁾	P value
				3%	5%	10%	3%	5%	10%		
mg/100 mL											
0	40.03 ^c	45.77 ^{bc}	49.95 ^{ab}	51.12 ^{ab}	53.44 ^a	55.70 ^a	50.37 ^{ab}	50.39 ^{ab}	54.15 ^a	2.017	0.0013
2	46.82 ^b	58.51 ^a	58.27 ^a	58.33 ^a	57.55 ^a	58.05 ^a	58.05 ^a	58.45 ^a	60.36 ^a	1.440	0.0002
4	47.57 ^d	53.37 ^c	54.96 ^{bc}	57.53 ^{ab}	58.05 ^a	58.23 ^a	58.82 ^a	56.70 ^{ab}	59.11 ^a	0.922	0.0001
6	53.62 ^c	61.29 ^b	65.77 ^a	65.46 ^a	65.12 ^a	65.72 ^a	62.11 ^b	61.62 ^b	62.72 ^b	0.981	0.0001
8	57.20 ^e	64.58 ^b	66.55 ^a	64.27 ^{bc}	63.28 ^{bc}	64.06 ^{bc}	62.93 ^{cd}	62.53 ^{cd}	61.05 ^d	0.645	0.0001
10	61.30 ^e	68.22 ^{abc}	65.60 ^{cd}	66.06 ^{bcd}	66.45 ^{abcd}	67.21 ^{abcd}	68.66 ^{ab}	69.31 ^a	68.42 ^{abc}	0.989	0.0008
12	53.01 ^d	55.02 ^d	67.23 ^c	67.33 ^c	68.88 ^{bc}	72.29 ^a	68.17 ^{bc}	68.09 ^{bc}	70.36 ^{ab}	0.821	0.001
24	71.86 ^{ab}	70.39 ^{ab}	68.80 ^{ab}	67.94 ^b	69.31 ^{ab}	68.00 ^b	71.56 ^{ab}	69.42 ^{ab}	72.08 ^a	1.329	0.2370

¹⁾ SC: Soybean curd byproducts.

²⁾ FSC: Fermented soybean curd byproducts.

³⁾ FSCS: Mixture of soybean curd byproducts and *Artemisia princeps* Pampanini cv. Sajabal (5:5, dry matter basis).

⁴⁾ FSCC: Mixture of soybean curd byproducts and spent coffee grounds (5:5, dry matter basis).

⁵⁾ SEM: Standard error of the mean.

The lowercase letters above the spots indicate statistical significance; mean values with different letters are significantly different (p<0.05).

Table 8. Effect of fermented soybean curd byproducts with *Artemisia princeps* Pampanini cv. Sajabal or spent coffee grounds on undegradable protein content *in vitro*

Incubation time (h)	Control	SC ¹⁾	FSC ²⁾	FSCS ³⁾			FSCC ⁴⁾			SEM ⁵⁾	P value
				3%	5%	10%	3%	5%	10%		
%											
0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
2	9.81 ^a	7.63 ^{ef}	7.47 ^f	7.98 ^{cde}	8.36 ^{bc}	8.50 ^b	7.83 ^{def}	7.92 ^{cdef}	8.22 ^{bcd}	0.1628	0.0001
4	9.03 ^a	7.23 ^{bc}	7.04 ^c	7.06 ^{bc}	7.17 ^{bc}	7.20 ^{bc}	7.14 ^{bc}	7.19 ^{bc}	7.53 ^b	0.1648	0.001
6	8.89 ^a	7.06 ^{bc}	6.83 ^{bc}	7.09 ^{bc}	7.08 ^{bc}	7.26 ^{bc}	7.09 ^{bc}	7.36 ^{bc}	7.23 ^{bc}	0.0953	0.001
8	8.33 ^a	6.51 ^d	6.43 ^d	6.49 ^{cd}	6.58 ^{cd}	6.70 ^{cd}	6.91 ^{bcd}	7.05 ^{bc}	7.12 ^{bc}	0.1398	0.001
10	8.06 ^a	6.23 ^{cd}	6.11 ^{bcd}	6.14 ^d	6.42 ^{bcd}	6.43 ^{bcd}	6.56 ^{bc}	6.72 ^b	6.73 ^b	0.1305	0.002
12	8.01 ^a	6.08 ^d	6.07 ^d	6.09 ^d	6.21 ^c	6.25 ^c	6.44 ^{bc}	6.71 ^{bc}	6.83 ^b	0.1390	0.001
24	7.12 ^a	5.95 ^{bc}	5.69 ^c	5.67 ^c	5.68 ^c	5.70 ^c	6.27 ^{bc}	6.16 ^{bc}	6.46 ^b	0.1145	0.001

¹⁾ SC: Soybean curd byproducts.

²⁾ FSC: Fermented soybean curd byproducts.

³⁾ FSCS: Mixture of soybean curd byproducts and *Artemisia princeps* Pampanini cv. Sajabal (5:5, dry matter basis).

⁴⁾ FSCC: Mixture of soybean curd byproducts and spent coffee grounds (5:5, dry matter basis).

⁵⁾ SEM: Standard error of the mean.

The lowercase letters above the spots indicate statistical significance; mean values with different letters are significantly different (p<0.05).

Table 9. Effect of fermented soybean curd byproducts with *Artemisia princeps* Pampanini cv. Sajabal or spent coffee grounds on total VFA concentration *in vitro*

Incubation time (h)	Control	SC ¹⁾	FSC ²⁾	FSCS ³⁾	FSCS	FSCS	FSCC ⁴⁾	FSCC	FSCC	SEM ⁵⁾	P value
				3%	5%	10%	3%	5%	10%		
..... Total VFA (mM)											
0	8.10 ^c	9.73 ^{ab}	9.93 ^a	9.66 ^{abc}	8.96 ^{abcd}	8.80 ^{abcd}	8.86 ^{bcd}	8.84 ^{ab}	8.63 ^{cd}	0.3551	0.0144
2	8.71 ^c	8.92 ^c	8.92 ^c	9.08 ^{bc}	9.66 ^{abc}	9.90 ^{ab}	10.16 ^a	9.17 ^{bc}	9.07 ^{bc}	0.3206	0.0767
4	9.44 ^{bc}	11.47 ^a	11.05 ^a	11.23 ^a	9.81 ^{bc}	9.25 ^{bc}	10.39 ^{ab}	9.32 ^{bc}	9.22 ^{bc}	0.4056	0.0012
6	10.43 ^c	12.82 ^{ab}	12.91 ^a	12.65 ^{ab}	12.91 ^{ab}	11.78 ^{ab}	12.08 ^{ab}	12.72 ^{ab}	11.80 ^b	0.3459	0.0010
8	20.97 ^c	23.73 ^a	23.73 ^a	22.18 ^b	22.36 ^b	22.84 ^{ab}	22.51 ^{ab}	22.99 ^{ab}	23.01 ^{ab}	0.4462	0.0062
10	21.20 ^d	23.29 ^c	25.70 ^a	25.46 ^{ab}	23.68 ^{bc}	22.99 ^{cd}	22.37 ^{cd}	22.09 ^{cd}	22.80 ^{cd}	0.6246	0.0011
12	29.76 ^c	29.07 ^c	34.19 ^a	33.62 ^a	33.52 ^a	34.83 ^a	34.56 ^a	34.02 ^a	31.87 ^b	0.5255	0.0001
24	48.09 ^c	51.20 ^{ab}	50.69 ^{bc}	53.96 ^a	54.12 ^a	53.92 ^a	52.08 ^{ab}	51.61 ^{ab}	50.67 ^{bc}	1.0054	0.0081
..... Acetate (mM)											
0	5.23 ^c	5.43 ^{bc}	5.88 ^a	5.72 ^{ab}	5.64 ^{abc}	5.49 ^{abc}	5.53 ^b	5.35 ^b	5.46 ^b	0.2604	0.0124
2	5.23 ^c	5.43 ^{bc}	5.88 ^a	5.72 ^{ab}	5.64 ^{abc}	5.49 ^{abc}	5.63 ^{abc}	5.48 ^{abc}	5.41 ^{bc}	0.1360	0.1084
4	6.42 ^a	5.96 ^{ab}	6.45 ^a	6.45 ^a	5.35 ^b	5.46 ^b	5.53 ^b	5.35 ^b	5.46 ^b	0.2604	0.0124
6	6.96 ^c	8.59 ^{ab}	8.71 ^a	8.35 ^{ab}	8.38 ^{ab}	8.60 ^{ab}	8.14 ^{ab}	8.61 ^{ab}	7.98 ^b	0.2239	0.0011
8	17.09 ^d	19.51 ^{ab}	19.67 ^a	18.51 ^{abc}	18.34 ^{bc}	18.04 ^{cd}	17.63 ^{cd}	17.49 ^{cd}	16.81 ^d	0.4154	0.0010
10	17.28 ^c	19.62 ^b	19.75 ^a	19.77 ^{ab}	19.22 ^{ab}	19.25 ^{ab}	19.26 ^{ab}	19.26 ^{ab}	18.93 ^{ab}	0.3329	0.0042
12	18.80 ^c	18.33 ^c	22.85 ^a	22.40 ^{ab}	22.34 ^{ab}	22.12 ^a	22.07 ^a	22.87 ^a	21.40 ^b	0.3433	0.0001
24	25.28 ^a	24.43 ^{ab}	24.39 ^{ab}	23.40 ^b	25.41 ^a	25.48 ^a	23.72 ^b	24.72 ^{ab}	24.22 ^{ab}	0.4712	0.0566
..... Propionate (mM)											
0	0.90 ^{ab}	1.19 ^a	1.11 ^a	1.01 ^{ab}	0.80 ^{bc}	0.75 ^{cd}	0.76 ^{cd}	0.61 ^d	0.69 ^d	0.0687	0.0001
2	1.58 ^{cd}	1.77 ^{abc}	1.85 ^a	1.80 ^{ab}	1.69 ^{abcd}	1.62 ^{bcd}	1.64 ^{bcd}	1.67 ^{abcd}	1.57 ^d	0.0645	0.0063
4	1.66 ^c	1.87 ^a	1.88 ^a	1.83 ^{ab}	1.83 ^{ab}	1.75 ^{abc}	1.67 ^{abc}	1.68 ^{bc}	1.65 ^{bc}	0.0688	0.1061
6	1.57 ^c	1.90 ^a	1.91 ^a	1.89 ^a	1.87 ^{ab}	1.84 ^{ab}	1.73 ^{bc}	1.77 ^{ab}	1.69 ^{bc}	0.0541	0.0042
8	1.80 ^{abc}	2.04 ^a	2.07 ^a	2.03 ^{ab}	1.80 ^{abc}	1.57 ^{cde}	1.53 ^{cde}	1.47 ^{de}	1.38 ^e	0.0960	0.0002
10	1.93 ^c	2.23 ^{ab}	2.24 ^a	2.11 ^{ab}	2.07 ^{bc}	2.00 ^{ab}	2.07 ^{bc}	2.07 ^{bc}	2.05 ^{bc}	0.0512	0.0536
12	1.63 ^{cd}	1.45 ^d	2.14 ^b	2.21 ^{ab}	2.22 ^{ab}	2.48 ^a	2.37 ^{ab}	2.16 ^b	1.85 ^c	0.0981	0.0001
24	18.76 ^c	19.17 ^c	18.89 ^c	21.01 ^a	20.08 ^{abc}	19.20 ^c	20.68 ^{ab}	20.63 ^{ab}	19.60 ^{bc}	0.4653	0.0168
..... Acetate/Propionate											
0	8.52 ^e	4.56 ^g	5.66 ^f	5.66 ^f	7.05 ^d	7.32 ^c	7.27 ^c	8.76 ^a	7.91 ^b	0.0299	0.0001
2	3.31 ^{cd}	3.07 ^f	3.18 ^e	3.17 ^e	3.34 ^{bc}	3.39 ^{ab}	3.43 ^a	3.28 ^d	3.45 ^a	0.0188	0.0001
4	3.87 ^a	3.18 ^e	3.43 ^c	3.52 ^b	2.92 ^f	3.12 ^a	3.31 ^d	3.15 ^e	3.31 ^d	0.0273	0.0001
6	4.43 ^d	4.52 ^d	4.55 ^{cd}	4.48 ^d	4.48 ^d	4.71 ^b	4.86 ^a	4.71 ^b	4.72 ^{ab}	0.0485	0.0001
8	9.49 ^e	9.56 ^e	9.49 ^e	9.12 ^f	10.19 ^d	11.49 ^c	11.52 ^c	11.89 ^b	12.18 ^a	0.0667	0.0001
10	8.95 ^e	8.80 ^f	8.82 ^f	9.37 ^c	9.29 ^{cd}	9.64 ^b	9.90 ^a	9.90 ^a	9.23 ^d	0.0320	0.0001
12	11.53 ^b	12.64 ^a	10.14 ^d	10.06 ^d	8.92 ^f	8.92 ^f	9.30 ^e	10.59 ^c	11.57 ^b	0.1016	0.0001
24	1.35 ^a	1.27 ^{bcd}	1.29 ^{abc}	1.11 ^f	1.17 ^{abc}	1.33 ^{ab}	1.15 ^{ef}	1.20 ^{de}	1.24 ^{cd}	0.0256	0.0001

¹⁾ SC: Soybean curd byproducts.

²⁾ FSC: Fermented soybean curd byproducts.

³⁾ FSCS: Mixture of soybean curd byproducts and *Artemisia princeps* Pampanini cv. Sajabal (5:5, dry matter basis).

⁴⁾ FSCC: Mixture of soybean curd byproducts and spent coffee grounds (5:5, dry matter basis).

⁵⁾ SEM: Standard error of the mean.

The lowercase letters above the spots indicate statistical significance; mean values with different letters are significantly different ($p < 0.05$).

효작용이 지속적으로 이루어졌기 때문에 사료된다.

6. Undegradable protein (UDP) 함량 변화

배양 기간 동안 UDP 함량은 대조구에서 가장 높았고 (p<0.05), FSC 처리구는 가장 낮은 결과를 나타내었으며, 배양 24시간에 FSC 처리구는 FSCS 처리구와 같이 대조구와 다른 처리구들에 비해 유의하게 낮은 UDP 함량을 유지하였다. FSCC 처리구는 다른 모든 처리구들에 비해 배양 10시간대부터 UDP 함량이 감소하는 결과를 나타내었는데 (Table 8), 이와 같은 결과는 사자발약쭉과 커피박에 포함되어 있는 saponin이 반추위 내에서 질소 대사를 증진시키고 미생발효조건을 개선한 것으로 사료되며 (Wallace, 2004), 본 시험에서 FSCS와 FSCC 처리구에서 배양 후기 건물소화율, NH₃-N 함량 그리고 UDP 함량이 대조구 및 SC 그리고 FSC 처리구에 대해 차이를 나타내었다. 또한 Wen-Shyg Chiou et al.(1998)의 면양을 이용한 시험에서 대조구 사료에 비지를 대체한 시험구에서 사료 섭취 후 반추위 내에서 질소 흡수율과 질소 함량이 비지처리구에서 낮았던 결과와 일치하였다.

SC와 FSCS 5% 처리구와 비슷하였고, 배양 종료 시에는 FSCS 처리구가 높은 결과를 나타내었다 (p<0.05). 또한 acetate 농도는 배양 0~12시간대까지 FSC 처리구에서 가장 높았으며(p<0.05), 배양 24시간대 FSCS 5, 10% 처리구에서 가장 높은 결과를 나타내었다(p<0.05). FSCC 5, 10% 처리구는 배양 12~24시간대에 SC 처리구에 비해 유의적으로 높았으며 (p<0.05), acetate 농도는 배양 12~24시간대에 FSC 처리구와 비슷한 경향을 나타내었다. 이와 같은 결과는 SC와 FSC 처리구의 높은 NFC 함량에 의해 배양초기 건물소화율이 증가와 배양 후기 FSCC 처리구에서 건물소화율이 증가한 결과와 일치하였다. FSC 처리구의 propionate 농도는 배양 24시간대를 제외하고 모든 처리구에서 유의하게 높은 결과를 나타내었다 (p<0.05). FSCS 3% 처리구는 대조구와 비슷한 결과를 나타내었으나 FSCS 5, 10% 처리구와 FSCC 처리구에 비해 전체 배양 기간 동안 높은 경향을 나타내었다. Acetate/Propionate 비율은 SC 처리구에서 배양 12시간대 가장 높았으며, 배양 24시간대에는 FSCS 3% 처리구가 가장 낮은 결과를 나타내었다(p<0.05). 모든 처리구의 acetate/propionate 비율은 배양 24시간대에 급격하게 감소하는 경향을 나타내었다 (Table 9).

7. Volatile fatty acid (VFA) 농도의 변화

Total VFA 농도는 배양 6~12시간대 FSC 처리구에서 유의하게 높은 결과를 나타내었으며 (p<0.05), 4시간대에는

8. CH₄ 발생량 변화

CH₄ 가스 발생량은 FSC 처리구에서 배양 0~10시간대까지 모든 처리구에 비해 유의하게 높았으며 (p<0.05), 24시

Table 10. Effect of fermented soybean curd byproducts with *Artemisia princeps* Pampanini cv. Sajabal or spent coffee grounds on CH₄ production *in vitro*

Incubation time (h)	Control	SC ¹⁾	FSC ²⁾	FSCS ³⁾			FSCC ⁴⁾		FSCC 10%	SEM ⁵⁾	P value
				3%	5%	10%	3%	5%			
..... mL											
0	0.23 ^c	1.73 ^b	2.87 ^a	0.65 ^c	0.56 ^c	0.45 ^c	0.39 ^c	0.46 ^c	0.22 ^c	0.2272	0.0001
2	0.91 ^c	3.63 ^b	7.43 ^a	3.39 ^b	1.62 ^c	2.81 ^b	2.81 ^b	1.35 ^c	0.91 ^c	0.2970	0.0001
4	3.08 ^{de}	5.97 ^b	10.07 ^a	4.06 ^{de}	3.12 ^{cde}	2.26 ^e	4.10 ^c	2.26 ^e	3.08 ^{de}	0.3426	0.0001
6	4.13 ^{cd}	7.90 ^b	12.52 ^a	5.17 ^c	4.02 ^d	4.67 ^{cd}	4.89 ^{cd}	2.69 ^e	4.47 ^{cd}	0.3580	0.0001
8	5.66 ^e	11.08 ^b	14.39 ^a	11.49 ^b	4.81 ^{de}	6.74 ^c	6.10 ^c	6.81 ^c	5.66 ^{cd}	0.4080	0.0001
10	5.59 ^e	13.81 ^b	16.38 ^a	10.83 ^c	8.46 ^e	9.64 ^d	10.00 ^{cd}	8.46 ^e	6.92 ^f	0.3149	0.0001
12	16.18 ^a	13.83 ^{bc}	11.47 ^c	12.66 ^d	8.92 ^f	14.43 ^b	12.52 ^{de}	11.57 ^e	13.26 ^{cd}	0.3562	0.0001
24	17.20 ^{ab}	15.79 ^{cd}	12.96 ^f	18.12 ^a	17.22 ^{ab}	16.44 ^{bc}	17.71 ^a	14.87 ^{de}	14.37 ^e	0.4010	0.0001

¹⁾ SC: Soybean curd byproducts.

²⁾ FSC: Fermented soybean curd byproducts.

³⁾ FSCS: Mixture of soybean curd byproducts and *Artemisia princeps* Pampanini cv. Sajabal (5:5, dry matter basis).

⁴⁾ FSCC: Mixture of soybean curd byproducts and spent coffee grounds (5:5, dry matter basis).

⁵⁾ SEM: Standard error mean.

The lowercase letters above the spots indicate statistical significance; mean values with different letters are significantly different (p<0.05).

간대에는 가장 낮은 결과를 나타내었다 ($p < 0.05$). 배양 24 시간대 CH_4 가스 생성량은 FSCS 3%와 FSCC 3% 처리구에서 유의적으로 높은 결과를 나타내었으며 ($p < 0.05$), SC와 FSC 처리구는 대조구, FSCS 그리고 FSCC 처리구 보다 높은 CH_4 가스 생성량은 나타내었다 ($p < 0.05$). 배양 4~10 시간대까지 FSCS와 FSCC 처리구는 SC와 FSC 처리구에 비해 유의하게 낮은 CH_4 가스 생성량을 나타내었고 ($p < 0.05$), 사자발약썩과 커피박 함량이 증가할수록 배양 종료 시까지 낮은 경향을 나타내었다 (Table 10). 이와 같은 결과는 사자발약썩과 커피박에 phenolic compound인 tannin, saponin, caffeine이 많이 함유되어 있고 (Belitz et al., 2009; Negesse et al., 2009; Mussatto et al., 2011), Puchala et al. (2005)의 보고에 의하면 반추동물에 있어서 tannin이 포함된 청초 급여 시 CH_4 가스 발생량이 감소하였으며, phenolic compound가 함유된 coffee와 green tea가 함유된 사료를 이용한 *in vitro* 시험에서 24시간 배양시간 후 건물소화율은 다소 감소하였으나 CH_4 가스 발생량은 감소하였다는 결과와 일치하였다 (Senevirathne et al., 2012).

IV. 요약

본 연구는 농·식품부산물 중 비지박, 사자발약썩 그리고 커피박의 유효미생물 (*L. acidophilus* ATCC 496, *L. fermentum* ATCC 1493, *L. plantarum* KCTC 1048, *L. casei* IFO 3533) 발효 사료원이 젖소 급여용 TMR (대조구) 중 대두박을 주로 대체한 각 비지박 (SC), 발효 비지박 (FSC), 발효 비지박 + 발효 사자발약썩 부산물 (1:1, DM basis, FSCS) 3, 5, 10% 그리고 발효 비지박 + 발효 커피박 (1:1, DM basis, FSCC) 3, 5, 10%의 반추위 내 미생물 발효특성을 알아보기 위해 9처리구를 이용하여 3반복으로 *in vitro* 시험이 실시되었다. 배양 6~8 시간대에 FSCS와 FSCC 처리구는 SC와 FSC 처리구에 비해 높은 pH 수준을 유지하였고, 대조구에 비해 낮은 pH 수준을 유지하였다 ($p < 0.05$). 또한 배양 24 시간대 FSC와 FSCC 3% 처리구는 가장 높은 pH를 유지하였다 ($p < 0.05$). Gas 생성량은 배양 4~10 시간대까지 FSCS와 FSCC 처리구가 대조구 보다 유의적으로 높았으나 SC와 FSC 처리구 보다 낮은 결과를 나타내었다 ($p < 0.05$). 건물소화율은 배양 12 시간대까지 FSC 처리구에서 유의적으로 높았고 ($p < 0.05$), 24 시간대에는 FSCS 10% 처리구가 가장 높은 결과를 나타내었다 ($p < 0.05$). NH_3 -N 함량은 배양 4 시간대까지 대조구에서 가장 낮았고 ($p < 0.05$), 24 시간에서는 FSC 처리구가 가장 높은 결과를 나타내었다 ($p < 0.05$). 미생

물단백질 합성량은 배양 시작 시 FSC, FSCS 그리고 FSCC 처리구가 4종의 *Lactobacillus* spp.에 의한 발효 때문에 대조구와 SC 처리구에 비해 높았으며 ($p < 0.05$), 배양 10 시간대 FSC 처리구 보다 SC, FSCS 그리고 FSCC 처리구에서 유의하게 높은 결과를 나타내었다 ($p < 0.05$). Total VFA 농도는 배양 6~12 시간대에는 FSC 처리구에서 유의하게 높았고 ($p < 0.05$), 배양 24 시간대에는 FSCS 처리구에서 가장 높았다 ($p < 0.05$). Acetate 농도는 배양 0~12 시간대에 FSC 처리구에서 가장 높았으며 ($p < 0.05$), 24 시간대에는 FSCS 5, 10% 처리구에서 가장 높은 결과를 나타내었다 ($p < 0.05$). Propionate 농도는 FSC 처리구가 배양 0~10 시간대까지 가장 높았으며 ($p < 0.05$), 전체 배양기간 동안 FSCS 5, 10% 처리구와 FSCC 처리구에 비해 높은 경향을 나타내었다. Acetate/Propionate 비율은 배양 12 시간대에 SC 처리구에서 가장 높았으며, 배양 24 시간대에는 FSCS 3% 처리구가 가장 낮은 결과를 나타내었다 ($p < 0.05$). CH_4 가스 생성량은 FSC 처리구에서 배양 0~10 시간대까지 가장 높았으며 ($p < 0.05$), 24 시간대에는 가장 낮은 결과를 나타내었다 ($p < 0.05$). 배양 4~10 시간대까지 FSCS와 FSCC 처리구는 SC와 FSC 처리구에 비해 유의하게 낮은 CH_4 가스 생성량을 나타내었고 ($p < 0.05$), 사자발약썩과 커피박 함량이 증가할수록 CH_4 가스 생성량은 배양 종료 시까지 낮은 경향을 나타내었다.

따라서, 본 *in vitro* 시험에서 젖소 급여용 TMR에 SC, FSC, FSCS 그리고 FSCC의 대체효과는 FSC 처리구에서 배양 초기부터 12 시간대까지 반추위 내 미생물 발효 특성이 가장 높았다. FSCS와 FSCC 처리구는 배양 6~8 시간대부터 반추위 내 미생물 작용이 높아지는 특징을 나타내었으나, 배양 시작 후 6~8 시간대까지 gas 생성량 및 CH_4 가스 발생량은 낮아지는 특징을 나타내었다. 이와 같은 결론은 FSC는 젖소용 TMR 사료원 대체 효과가 높으며, TMR 사료원 중 FSCS와 FSCC 대체효과는 배양 초기 다소 낮은 반추위 내 미생물 발효 특성을 나타내었으나 CH_4 저감효과를 나타내었다. 또한 배양 후기에는 SC와 FSC의 반추위 내 미생물 발효 특성과 비슷한 경향을 나타내어 TMR 사료원으로써 이용 가치가 높을 것으로 사료된다.

V. 사 사

본 논문은 농촌진흥청 공동연구사업 (과제번호: PJ00915)의 지원에 이루어진 것임.

VI. REFERENCES

- AOAC. 1984. Official methods analysis (12th ed.), Association of Official Analytical Chemists, Arlington, VA. Washington D. C., USA.
- Barahona, R., Solange, S., Carlos, E.L., Emyr, O., Phillip, M. and Theodorou, M.K. 2006. Effect of condensed tannins from tropical legumes on the activity of fibrolytic enzymes from the rumen fungus *neocallimastix hurleyensis*. *Enzyme and Microbial Technology*. 39:281-288.
- Barry, T.N., Manley, T.R. and Duncan, S.J. 1986. The role of condensed tannins in the nutritional value of lotus pedunculatus for sheep. 4. Sites of carbohydrate and protein digestion as influenced by dietary reactive tannin concentration. *British Journal of Nutrition*. 55:123-137.
- Bartley, E.E., Ibbetson, R.W., Chyba, L.J. and Dayton, A.D. 1978. Coffee grounds. II. Effects of coffee grounds on performance of milking dairy cows and feedlot cattle, and on rumen fermentation and dry matter removal rate. *Journal of Anim Science*. 47:791-799.
- Belitz, H.D., Grosch, W. and Schieberle, P. 2009. Coffee, tea, cocoa. In H. D. Belitz, W. Grosch & P. Schieberle (eds.), *Food Research International*. 29:185-189.
- Campbell, T.W., Bartley, E.E., Bechtle, R.M. and Dayton, A.D. 1976. Coffee grounds. I. Effects of coffee grounds on ration digestibility and diuresis in cattle, on *in vitro* rumen fermentation, and on rat growth. *Journal of Dairy Science*. 59: 452-1460.
- Chaney, A.L. and Marbach, E.P. 1962. Modified reagents for determination of urea and ammonia. *Clinical Chemistry*. 8: 30-132.
- Delgado-Andrade, C., Rufian-Henares, J.A. and Morales, F.J. 2005. Assessing the antioxidant activity of melanoidins from coffee brews by different antioxidant methods. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53:7832-7836.
- Erwin, E.S., Sterner, W., Gordon, R.S., Machlin, L.J. and Tureen, L.L. 1961. Etiology of muscular dystrophy in the lamb and chick. *Journal Nutrition*. 75:45-50.
- Han, S.H., Han, K.S., Seung, J.H., Kwon, N.K. and Shin, I.A. 2012. Operation of world grain market information system No. R661-1. Korea Rural Economic Institute.
- Hess, H.D., Tiemann, T.T., Noto, F., Carulla, J.E. and Kreuzer, M. 2006. Strategic use of tannins as means to limit methane emission from ruminant livestock. *International Congress Series*. 1293:164-167.
- Hong, J.H., Jeon, J.L., Lee, J.H. and Lee, I.S. 2007. Antioxidative properties of *artemisia princeps* pamp. *Journal of Korean Society Food Science and Nutrition*. 36:657-662.
- Ishida, K., Yani, S., Kitagawa, M., Oishi, K., Hirooka, H. and Kumagai, H. 2012. Effects of adding food by-products mainly including noodle waste to total mixed ration silage on fermentation quality, feed intake, digestibility, nitrogen utilization and ruminal fermentation in wethers. *Animal Science Journal*. 83:735-742.
- Kim, C.H., Kim, G.B., Chang, M.B., Bae, G.S., Paik, I.K. and Kil, D.Y. 2012. Effect of dietary supplementation of lactobacillus-fermented *artemisia princeps* on growth performance, meat lipid peroxidation, and intestinal microflora in hy-line brown male chickens. *Poultry Science*. 91:2845-2851.
- Kim, Y.I., Jung, S.H., Yang, S.Y., Huh, J.W. and Kwak, W.S. 2007. Effects of cellulolytic microbes inoculation during deep stacking of spent mushroom substrates on cellulolytic enzyme activity and nutrients utilization by sheep. *Journal Animal Science and Technology*. 49:667-676.
- Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L. and Randall, R.J. 1951. Protein measurement with the folin phenol reagent. *Journal of Biological Chemistry*. 193:265-275.
- McDougall, E.I. 1948. Studies on ruminant saliva. 1. The composition and output of sheep's saliva. *Biochemical Journal*. 43:99-109.
- Meehl, G.A., Karl, T., Easterling, D.R., Changnon, S., Pielke, R., Changnon, D., Evans, J., Groisman, P.Y., Knutson, T.R., Kunkel, K.E., Mearns, L.O., Parmesan, C., Pulwarty, R., Root, T., Sylves, R.T., Whetton, P. and Zwiers, F. 2000. An introduction to trends in extreme weather and climate events: Observations, socioeconomic impacts, terrestrial ecological impacts, and model projections. *Bulletin of the American Meteorological Society*. 81:413-416.
- Miller, T.L. and Wolin, M.J. 1974. A serum bottle modification of the hungate technique for cultivating obligate anaerobes. *Applied Microbiology*. 27:985-987.
- Min, B.R., Barry, T.N., Attwood, G.T. and McNabb, W.C. 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.
- Mussatto, S., Machado, E.S., Martins, S. and Teixeira, J. 2011. Production, composition, and application of coffee and its industrial residues. *Food and Bioprocess Technology*. 4:661-672.
- National Institute of Animal Science R. 2012. Korean feeding standard for dairy cattle, National Institute of Animal Science, RDA.
- Negesse, T., Makkar, H.P.S. and Becker, K. 2009. Nutritive value of

- some non-conventional feed resources of ethiopia determined by chemical analyses and an *in vitro* gas method. *Animal Feed Science and Technology*. 154:204-217.
- Park, J.K., Lim, D.H., Kim, S.B., Ki, K.S., Lee, H.J., Kwon, E.G., Cho, W.M. and Kim, C.H. 2011. Effects of partial replacement of corn grain and soybean meal with agricultural by-product feeds on *in vitro* rumen fermentation characteristics and optimum levels of mixing ratio. *Journal of Animal Science and Technology*. 53:441-450.
- Puchala, R., Min, B.R., Goetsch, A.L. and Sahl, T. 2005. The effect of a condensed tannin-containing forage on methane emission by goats. *Journal of Animal Science*. 83:182-186.
- SAS. 1999. Sas procedures guide, version 8, SAS Institute Inc., Cary, NC, USA.
- Senevirathne, N.D., Okamoto, T., Takahashi, J., Umetsu, K. and Nishida, T. 2012. Effect of mixed microbial culture treatment on the nutritive value of coffee, green tea and oolong tea residues and the effect of the fermented residues on *in vitro* rumen fermentation. *APCBEE Procedia*. 4:66-72.
- Shin, D.H. and Lee, Y.W. 2002. Quality attributes of bread with soybean milk residue-wheat flour. *Korean Journal of Food and Nutrition*. 15:314-320.
- Sievert, S.J. and Shaver, R.D. 1993. Carbohydrate and aspergillus oryzae effects on intake, digestion, and milk production by dairy cows. *Journal of Dairy Science*. 76: 245-254.
- Tan R.X., Zheng, W.F. and Tang, H.Q. 1998. Biologically active substances from the genus artemisia. *Planta Medical*. 64:295-302.
- Tang, K. and Xiong, W. 2012. Index investment and the financialization of commodities. *Financial Analysts Journal*. 68:54-74.
- Tavendale, M.H., Meagher, L.P., Pacheco, D., Walker, N., Attwood, G.T. and 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*. 123-124, Part 1:403-419.
- Theodorou, M.K., Davies, D.R., Nielsen, B.B., Lawrence, M.I.G. and Trinci, A.P.J. 1995. Determination of growth of anaerobic fungi on soluble and cellulosic substrates using a pressure transducer. *Microbiology*. 141:671-678.
- Theodorou, M.K., Williams, B.A., Dhanoa, M.S., McAllan, A.B. and France, J. 1994. A simple gas production method using a pressure transducer to determine the fermentation kinetics of ruminant feeds. *Animal Feed Science and Technology*. 48:185-197.
- Valadares, R.F.D., Broderick, G.A., Valadares, S.C. and Clayton, M.K. 1999. Effect of replacing alfalfa silage with high moisture corn on ruminal protein synthesis estimated from excretion of total purine derivatives. *Journal of Dairy Science*. 82:2686-2696.
- 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.
- Wallace, R.J. 2004. Antimicrobial properties of plant secondary metabolites. *Proceeding of the Nutrition Society*. 63:621-629.
- Wen-Shyg Chiou, P., Chen, C.-R., Chen, K.-J. and Yu, B. 1998. Wet brewers' grains or bean curd pomace as partial replacement of soybean meal for lactating cows. *Animal Feed Science and Technology*. 74:123-134.
- Xu, C.C., Cai, Y., Zhang, J.G. and Ogawa, M. 2007. Fermentation quality and nutritive value of a total mixed ration silage containing coffee grounds at ten or twenty percent of dry matter. *Journal of Animal Science*. 85:1024-1029.

(Received April 22, 2014 / Revised May 22, 2014 / Accepted May 26, 2014)