

## 지렁이 분변토 발효 사료 첨가제가 계란 생산 및 악취 저감에 미치는 영향

황보 중<sup>3</sup> · 박상오<sup>2</sup> · 박병성<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>강원대학교 동물생명공학과, <sup>2</sup>동물자원공동연구소, <sup>3</sup>국립축산과학원 가금과

### Effect of Dietary Fermented Earthworm Cast Additives on Odor Reduction of Poultry House and Egg Production

Jong Hwangbo<sup>3</sup>, Sang-O Park<sup>2</sup> and Byung-Sung Park<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Dept. of Animal Biotechnology, <sup>2</sup>Institute of Animal Resources, Kangwon National University, Chuncheon 200-090, Korea,

<sup>3</sup>Poultry Science Division, National Institute of Animal Science, RDA, Seonghwan 330-801, Korea

**ABSTRACT** This study was carried out to investigate the effect of feeding fermented earthworm cast additives (FEC) on egg production, egg yolk fatty acids, blood lipid, cecal microorganism and fecal odor. The completely randomized experiment was applied, and the treatments were designed as 2 feeding regimens (control vs. FEC feeding), and FEC contained 3.5% top dressing to common diet. Egg production and egg weight of FEC group were significantly higher than that of control ( $p < 0.05$ ). Ratios of n-6/n-3 fatty acids in the egg yolk of FEC group were significantly higher than those in control group ( $p < 0.05$ ). Concentrations of HDL-C in FEC group was significantly higher than control group ( $p < 0.05$ ), but not triglyceride and total cholesterol. The caecal *Lactobacillus* of FEC group was significantly higher in FEC group than control group ( $p < 0.05$ ).  $\text{NH}_3$  concentrations from poultry house were significantly lower in FEC group than control ( $p < 0.05$ ). In conclusion, these study results showed that the addition of FEC at 3.5% to the diet has reduced odor of poultry house and improved the n-6/n-3 fatty acid of egg yolk and egg production in laying hens.

(Key words : earthworm cast, egg production, yolk n-6/n-3, fecal odor)

## 서 론

지렁이는 음식물 쓰레기, 가축분과 같은 유기성 폐자원의 효율적 처리를 위한 우수한 생물 전환 소재로 알려져 있다 (김중오 등 2000). 그 과정에서 생산되는 분변토(Earth worm casts)는 지렁이가 유기성 폐자원을 섭취 후 배설하는 유기 물질로써, 미생물에 의한 발효 조건을 부여하면 축사 내 악취 제거 및 친환경 안전 축산물을 생산할 수 있는 우수한 생물자원으로 평가되고 있다(Hauser et al., 1998; 유선경과 이은영, 2007). 지렁이 분변토는 100% 유기질 비료로써 널리 이용되며 악취 제거 효과가 뛰어난 것으로 보고되었다(Sharpley et al., 1977; 한영립 등, 2008).

산란계 사료 내 분변토와 지렁이 첨가 효과(이은영, 박장우, 2006), 지렁이 분변토와 광합성 세균 혼합물 급여 효과(안승열, 2008) 및 양계 사료 첨가제의 제조 방법(한국공개

특허, 2009)이 알려져 있다. 축사에서의 악취 발생을 감소시키는 방안으로 지렁이를 이용한 생물학적 처리 방법이 이용되고 있다. 자연환경 보호 차원에서는 물론 지속가능한 축산을 영위하기 위해 친환경적 축산 경영이 강력히 요구되는 시점에서 가축 분으로부터 발생하는 축사 내 악취 저감 기술은 매우 중요하다고 할 수 있다. 가축과 사육자의 건강은 물론 동물복지 측면에서 축사 내, 외부의 악취 물질 제거를 통한 축산 환경의 개선이 필요하다. 가축 사육에 따른 분뇨의 누적은 축산 농가로부터 악취, 침출수 등으로 인한 환경오염을 초래하고 있다. 공장집약형 축사에서 배출되는 가축 분뇨는 영양소가 미생물에 의해서 분해될 때 암모니아( $\text{NH}_3$ ), 휘발성 유기산, 황화수소( $\text{H}_2\text{S}$ )를 비롯한 다양한 악취 물질을 생성한다(Mackie et al., 1998; Jiang과 Sands, 1999). 그러나 지렁이 분변토를 고온처리 후 유해 미생물을 사멸시키고 유용 미생물을 활용하여 생산한 분변토 발효 사료 첨가제(대

\* To whom correspondence should be addressed : bspark@kangwon.ac.kr

한민국 특허, 2007)의 산란계에 대한 산란능력 및 분변 악취 저감 효과는 거의 알려진 것이 없다.

본 연구는 산란계 사료 내 분변토 발효 사료 첨가제의 급여로 인한 계란 생산, 난황의 지방산, 혈액 지질, 맹장 미생물 및 축사 내 악취 저감 효과를 조사하고자 수행하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 실험 동물 및 실험 설계

33주령 산란계로써 산란율 90% 이상을 유지하는 120수를 42주령까지 10주 동안 사육하였다. 2개의 처리구는 대조구와 분변토 발효 사료 첨가제군(FEC, fermented earthworm cast additives 3.5%)을 시판 사료에 덧 급여)으로 구분하여 처리구 당 60수(3반복, 반복 당 20 수씩) 2단 철제 케이지에서 완전임의 배치하였다. FEC를 3.5%로써 조절한 이유는 예비 실험에서 FEC를 3.5% 이상 첨가했을 때 더 이상 산란 성적이 증가하지 않은 일정한 수준의 안정점(Plateau)에 도달했기 때문이다. 실험에 쓰인 사료는 산란계 영양소 요구량을 충족할 수 있도록 조절하여 배합된 시판 사료를 자유 섭취하도록 하였다. 본 시험에 사용된 분변토 발효 사료 첨가제는 (주)후인바이오로부터 제공 받았으며, 모든 실험은 강원대학교 동물실험윤리위원회의 규정을 준수하였다.

### 2. 사양 성적

시험 사료 급여 시 매일 동일한 시간에 산란수와 난중을 측정하였으며, 산란율은 실험 기간 중 생산된 총 산란수를 공시수로 나누어 백분율로 계산하였다. 난황은 총 난중에서 흰자를 제거한 후 평균 난황을 측정하였다.

### 3. 산란계 혈액 지질

산란계 혈액은 실험 종료 12시간 전에 실험 사료를 철회하였다. 실험 종료 시에 각 처리구 당 27수씩(각 펜 당 9수)을 임의로 선정하여 헤파린이 처리된 주사기를 이용해서 날개 정맥 좌우로부터 각각 10 mL를 채혈하였다. 채혈 후 실험동물 안락사 권장에 따라 경추 탈골에 의해서 스트레스를 줄이고 안정적으로 희생하였다. 채취한 혈액은 3,000 rpm에서 15분간 원심분리하여 혈장을 분리하고, 분리된 혈장은 액체 질소 가스를 이용하여 급속 동결한 다음  $-20^{\circ}\text{C}$ 에서 냉동보관 하였다. 혈액 지질 중 중성 지방, 총콜레스테롤 그리고 고밀도 지단백 콜레스테롤을 측정용 키트(아산제약, 서울)을 이용하여 제조사의 프로토콜에 따라서 정량하였다.

### 4. 맹장 미생물

실험 종료 시에 희생시킨 산란계로부터 처리구 당 9수(반복펜 당 3수)를 선별하여 무균적인 방법으로 맹장을 채취하여 혐기적으로 보관 후 *Lactobacillus*, *Escherichia coli*, Coliform bacteria, Total aerobic bacteria 및 *Salmonella*의 총 균수를 조사하였다. 무균적으로 채취한 맹장 내용물 1 g을 멸균 생리식염수(phosphorus buffered saline; PBS 0.1M, pH 7.0) 9 mL에 혼합하여 10배 희석(1:9, wt/vol) 한 다음에 일련의 희석을 계속하였다. 미생물 배양은 희석된  $10^{-2}$ ~ $10^{-6}$ 에서 각각 100  $\mu\text{L}$ 를 분주하였고, 호기 미생물은  $37^{\circ}\text{C}$ 의 incubator에서 24시간 호기 배양하였고, 혐기 미생물 배양은  $37^{\circ}\text{C}$ 의  $\text{CO}_2$  incubator를 이용해서 혐기상태 하에서 48시간 정치배양한 후, 각각의 미생물 카운터로써 Colony의 수를 조사하였다. 측정된 미생물 균락의 수는 맹장 내용물 g당 균수(CFU, colony forming unit/g wet cecum content)로써 상용로그를 제시하였다.

### 5. 난황 지방산

난황 지방산의 지질 추출 및 지방산 분석은 Park과 Park (2012)의 방법을 적용하였다. Chloroform과 methanol(2:1)을 혼합한 용액 50 mL에 각각의 사료, 혈액과 난황 20 g을 homogenizer에서 1분간 교반한 후 여과하여 지질을 추출하였다. 추출된 지질 중 소량을 검화용 반응 용기에 취해서 methanolic 0.5 N NaOH 용액 1 mL를 넣은 후 15분간 가열하고 차가운 물로 냉각하였다. 냉각시킨 후 1 mL의  $\text{BF}_3$ -methanol을 넣어 다시 15분간 가열하고 methylation하였다. NaCl 과 heptane(8:1) 혼합 용액을 가하여 1분간 혼합 후 상등액 1 mL를 취해서 지방산 분석을 하였다. 사료, 혈액 및 난황에 사용된 지방산 분석용 기기는 GLC(ACEM 6000 model, Korea)를 사용하였으며, 지방산 표준시액은 미국 Supelco사의 PUFA No. 2 animal source를 이용하였다. Carrier gas로는 Helium(1 mL/min)을 이용하였으며, Oven temp.  $140^{\circ}\text{C}$ ~ $240^{\circ}\text{C}$  분당 승온 속도  $5^{\circ}\text{C}$ , Injector temp.  $230^{\circ}\text{C}$ , Detector temp.  $250^{\circ}\text{C}$ , Split 비율은 10:1로 하였다.

### 6. 암모니아 및 황화수소 측정

산란계 계분에 의해 발생하는 암모니아와 황화수소 농도는 가스 측정기(Gas Indicator AP-20, Axis Sensitive Co. Ltd, Japan)를 이용하였다. 측정기 제조사의 사용 매뉴얼에 따라서 가스를 흡입시킨 후, 표시된 수치를 기록하여 대조구와 비교하여 분석하였다.

## 7. 통계 처리

시험에서 분석한 자료의 통계 처리는 SAS Statical Package Program(SAS, Institute, 2004)에 의하여 분산분석을 실시하여 95% 수준에서 유의성 검사를 하였으며, 처리 평균 간의 유의성 검증은 *t*-검정에 의해서 실시하였다.

## 결과 및 고찰

### 1. 산란 성적

대조구와 분변토 발효 사료 첨가제군(FEC)의 산란 성적은 Table 1과 같다. 실험 기간 중 산란계의 산란율과 난중은 대조구에 비해 FEC가 각각 3.00, 1.05% 까지 유의하게 높았다( $p<0.05$ ). 난황 무게는 처리구 사이가 서로 비슷하였으며 통계적인 유의차가 없었다. 결과적으로 분변토 발효 사료 첨가제의 급여는 산란능력 개선 효과를 가진다는 사실을 확인하였다.

### 2. 산란계 혈액 지질

FEC에 의한 혈액 내 중성 지방, 총 콜레스테롤, HDL 콜레스테롤 함량은 Table 2와 같다. 혈액 내 중성 지방과 총 콜레스테롤 함량(mg/100 mL)은 FEC가 대조구에 비해 각각 221, 3.3까지 유의하게 감소되었으며 통계적 차이가 있었다( $p<0.05$ ). 혈액 내 HDL 콜레스테롤 함량(mg/100 mL)은 대조구와 비교할 때 FEC가 4.54 유의하게 증가하였다( $p<0.05$ ). 이러한 혈액 지질 감소는 산란계 사육 시 분변토 발효 사료 첨가제를 급여해 줄 경우, 일반 사료를 급여한 대조구에 비해서 계란 지질 개선(Table 4) 및 복강 지방 감소(조사하지 않았음)효과에 도움이 될 것으로 사료된다.

### 3. 맹장 미생물

FEC에 의한 산란계 맹장 내용물에서 조사한 미생물 변화는 Table 3에 표기되었다. 유익한 미생물 *Lactobacillus*는 FEC가 대조구와 비교할 때 높았고 통계적으로 유의차가 있었

**Table 1.** Changes in egg production and egg weight (33-42 weeks)

	Control	FEC 3.5%
Egg production(%)	92.43 ± 1.14	95.43 ± 1.26*
Egg weight(g)	64.74 ± 0.55	65.79 ± 0.39*
Egg yolk(g)	14.13 ± 1.20	14.77 ± 1.36

FEC : Fermented earthworm cast additives.

\*  $p<0.05$ (Means ± S.D, n=5).

**Table 2.** Changes in blood lipid profiles and glucose (mg/dL)

	Control	FEC 3.5%
Triglyceride	1,318±4.23*	1,097±2.21
Total cholesterol	80.11±1.09*	76.81±1.16
HDL-cholesterol	10.96±0.83	15.50±1.57*

FEC : Fermented earthworm cast additives.

\*  $p<0.05$ (Means ± S.D, n=5).

다( $p<0.05$ ). 유해한 미생물 *Escherichia coli*, Coliform bacteria는 대조구가 FEC에 비해서 유의하게 높았으나( $p<0.05$ ), Total aerobic bacteria 및 *Salmonella*는 서로 차이가 없었다. *Lactobacillus*는 *E. coli*에 대하여 활성적인 물질의 박테리오파지를 분비하고 젖산과 초산인 유기산을 생성하며 이러한 기전은 병원성 미생물에 의한 장 균락화를 억압할 수 있다(Rolfe, 2002). 장내 소화관에서 미생물은 장 상피세포에 필요한 에너지를 공급해 주는 발효산물의 합성에 있어서 장 미생물의 역할, 소화관 면역체계의 자극, 비타민 K의 합성 및 외인성 병원성 미생물의 균락화에 대해 저항성을 나타낸다(Tako et al., 2008). *Lactobacillus*는 동물의 건강에서 유익한 미생물로서 잘 알려져 있으며, *E. coli*, *Clostridium perfringens*와 같은 기타 미생물은 유해할 수 있다(Devaraj et al., 2002).

### 4. 난황 지방산

난황 지방산은 조성은 Table 4에 나타난 바와 같다. FEC를 섭취한 후 생산된 계란의 난황 중의 지방산 가운데 Oleic acid(18 : 1n-9)와 Linolenic acid(18 : 3n-3)는 대조군에 비해 각각 2.01, 0.48% 유의하게 증가하였으나, Linoleic acid(18 : 2n-6)는 1.35% 유의하게 감소하였다( $p<0.05$ ). 난황 중의 불포화 지방산 및 포화 지방산의 비율은 처리구간 유의적인

**Table 3.** Changes in caecal microorganism (log cfu/g content)

	Control	FEC 3.5%
<i>Lactobacillus</i>	7.77±0.04	8.17±0.03*
<i>Escherichia coli</i>	6.06±0.02*	4.77±0.09
Coliform bacteria	5.68±0.11*	3.92±0.06
Total aerobic bacteria	6.72±0.01	6.21±0.11
<i>Salmonella</i>	3.89±0.18	3.61±0.36

FEC : Fermented earthworm cast additives.

\*  $p<0.05$ (Means ± S.D, n=5).

**Table 4.** Changes in egg fatty acids (% of total fatty acid)

Fatty acid name		Control	FEC 3.5%
Formula	Common name		
C8:0	Octanoic acid	-	-
C10:0	Decanoic acid	-	-
C12:0	Lauric acid	0.22±0.02*	0.001±0.0001
C14:0	Myristic acid	0.76±0.07	1.07±0.06*
C16:0	Palmitic acid	26.41±0.25	26.62±0.17
C16:1n-9	Palmitoleic acid	5.03±0.06	5.67±0.07*
C18:0	Stearic acid	6.65±0.02*	6.27±0.06
C18:1n-9	Oleic acid	43.75±0.80	45.76±0.72*
C18:2n-6	Linoleic acid	15.21±0.43*	13.86±0.21
C20:0	Arachidic acid	-	-
C18:3n-3	Linolenic acid	0.26±0.05	0.74±0.02*
C22:0	Behenic acid	1.70±0.07*	0.001±0.0001
C22:1	Erucaic acid	-	-
C24:0	Lignoceric acid	-	-
Total		100.00	100.00
SFA		35.74±1.25	35.96±1.07
UFA		64.26±1.36	66.03±1.07*
n-6/n-3		58.50±1.20*	18.73±1.06
UFA/SFA		1.80±0.05	1.94±0.07*

FEC : Fermented earthworm cast additives.

SFA : Saturated fatty acids.

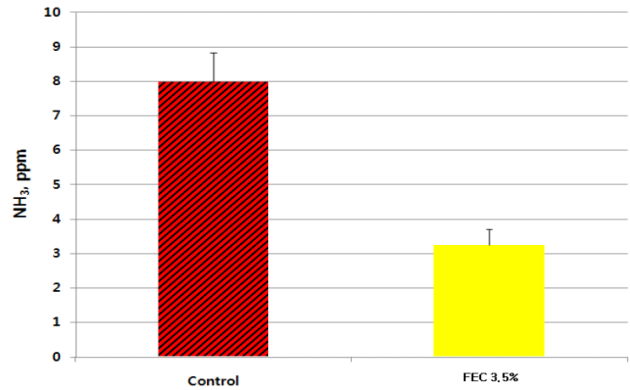
UFA : Unsaturated fatty acids.

\*  $p < 0.05$  (Means ± S.D, n=5).

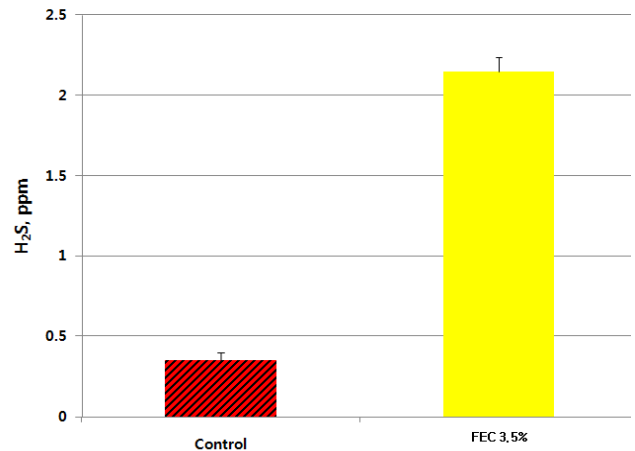
차이를 나타내었다( $p < 0.05$ ). 오메가6 지방산과 오메가3 지방산의 비율(n-6/n-3)은 FEC가 대조군에 비해 유의하게 39.77이 감소하였다( $p < 0.05$ ). 인간의 건강을 위하여 식품 속 n-6/n-3의 이상적인 비율은 4 : 1 이하로 알려져 있다(Park과 Park, 2012). 본 결과는 분변토 발효 사료 첨가제의 급여가 일반 계란과 비교할 때 이상적인 비율에 가까워짐을 나타내고 있기 때문에 고품질 계란 생산에 기여할 수 있음을 보여준다.

## 5. 암모니아 및 황화수소

산란계 계사 내의 악취 발생에 있어 암모니아와 황화수소는 Fig. 1, 2와 같다. 암모니아 가스는 FEC를 섭취한 처리구가 대조군과 비교할 때 4.76 ppm 유의하게 감소하였으나, 황



**Fig. 1.** Changes in NH<sub>3</sub> from poultry house.  $p < 0.05$  (control vs FEC 3.5%)



**Fig. 2.** Changes in H<sub>2</sub>S from poultry house.  $p < 0.05$  (control vs FEC 3.5%)

화수소 가스는 오히려 1.80 ppm 유의하게 증가하였다( $p < 0.05$ ). 따라서 분변토 발효 사료 첨가제의 급여는 산란계 축사 내 악취 발생의 원인인 암모니아 가스 저감 효과를 갖는다는 새로운 사실을 확인하였다.

## 적 요

본 연구는 산란계 사료 내 분변토 발효 사료 첨가제(Fermented earthworm cast additives, FEC)의 급여가 계란 생산, 난황 지방산, 혈액 지질, 맹장 미생물 및 분변의 악취 가스에 미치는 영향을 조사하였다. 2개의 처리구는 대조군과 FEC 3.5%를 함유하는 시험군으로 구분하였다. 계란 생산은 FEC가 대조군에 비해서 유의하게 높았다( $p < 0.05$ ). 난황 지방산의 n-6/n-3의 비율은 FEC가 대조군에 비해서 유의하게 높았다( $p < 0.05$ ). 혈액 HDL 콜레스테롤은 FEC가 대조군에 비해

유의하게 높았으나, 중성 지방 및 총 콜레스테롤의 경우 그 반대의 경향을 보였다( $p<0.05$ ). 맹장의 *Lactobacillus*는 FEC가 대조군과 비교할 때 유의하게 높았다( $p<0.05$ ). 축사 내 암모니아는 FEC가 대조군에 비해서 유의하게 낮았다( $p<0.05$ ). 결론적으로 본 결과는 산란계 사료 내 FEC 3.5%를 첨가 급여해 주면 계란 생산과 난황의 n-6/n-3 지방산 비율을 개선함과 동시에 분변의 악취 저감 효과를 갖는다는 점을 보여 준다.

(색인어 : 지렁이 분변토, 계란 생산, 난황 n-6/n-3, 분변 악취)

## 감사의 글

본 연구를 위하여 분변토발효 사료첨가제를 제공해주신 (주)후인바이오와 동물실험에 협조를 해주신 강원대학교 동물자원공동연구소에 감사드립니다.

## 인용문헌

- Devaraj S, Vega-Lopez S, Kaul N, Schonlau F, Rohdewald P, Jialal I 2002 Supplementation with a pine bark extract rich in polyphenols increases plasma antioxidant capacity and alters the plasma lipoprotein profile. *Lipids* 37:931-934.
- Hauser S, Asawalam DO 1998 A continuous sampling technique to estimate surface cast production of the tropical earthworm *Hyperiodrilus africanus*. *Appl Soil Ecology* 10: 179-182.
- Jiang JK, Sands JR 1999 Controlling noxious animal odors. *Asian-Aust J Anim Sci* 12:633-641.
- Mackie RI, Stroot PG, Varel VH 1998 Biochemical identification and biological origin of key odour components in livestock waste. *J Anim Sci* 76:1331-1342.
- McInerney M, Little DJ, Bolger T 2001 Effect of earthworm cast formation on the stabilization of organic matter in fine soil fractions. *Eur J Soil Biology* 37 251-254.
- NRC 1994 Nutrient Requirements of Poultry. 9th rev ed National Academic Press, Washington DC USA.
- Park BS, Park SO 2012 The consumption of low animal food with low n-6/n-3 ratio reduce LDL cholesterol in humans. *Res J Med Sci* 6:107-112.
- Rolfe RD 2002 The role of probiotic cultures in the control of gastrointestinal health. *J Nutr* 130(2S Suppl.):396S-402S.
- SAS 2004 SAS/STAT User's Guide: Statistics. 8th Edn., SAS Institute Inc., Cary, NC., USA.
- Sharpley AN, Syers JK 1977 Seasonal variation in casting activity and in the amounts and release to solution of phosphorus forms in earthworm casts. *Soil Biol Biochem* 9: 227-231.
- Shipitalo MJ, Protz R, Tomlin AD 1988 Effect of diet on the feeding and casting activity of *Lumbricus terrestris* and *L. rubellus* in laboratory culture. *Soil Biol Biochem* 20:233-237.
- Tako E, Glahn RP, Welch RM, Lei X, Yasuda K, Miller DD 2008 Dietary inulin affects the expression of intestinal enterocyte iron transporters, receptors and storage protein and alters the microbiota in the pig intestine. *Brit J Nutr* 99: 472-480.
- 김종오 이창호 홍석일 2000 지렁이를 이용한 음식물쓰레기 처리시 분변토 재활용 방안 연구. *유기성자원학회지* 8: 140-145.
- 김춘희 고경숙 안철우 2000 지렁이 분변토의 가스 흡착특성. *한국환경과학회지* 9:145-149.
- 이은영 박장우 2006 지렁이, 분변토 및 백강균 첨가에 의한 산란계의 생산성 및 계란의 영양적 조성 향상. *유기성자원학회지* 14:91-100.
- 안승열 2008 지렁이 분변토 및 광합성세균물 급여에 따른 산란계의 생산성 향상 계란의 영양적 조성에 대한 연구. 동아대학교 대학원 석사학위논문.
- 유선경 이은영 2007 지렁이 분변토를 이용한 생물담체가 충전된 바이오필터에 의한 황화수소 제거. *대한환경공학회지* 29: 820-825.
- 임정수 이은영 2007 폐우레탄, 분변토담체가 충전된 Biofilter에서 가스제거. *청정기술* 13:122-126.
- 한영립 김대용 안승열 2008 지렁이, 분변토 및 광합성세균물 급여에 따른 산란계의 생산성 향상과 악취 저감에 관한 연구. *한국환경과학회지* 2008년도 추계학술발표회 발표 논문집 Nov 20:181-185.
- 대한민국 공개특허 2009 지렁이 분변토와 미생물을 이용한 기능성 사료첨가제. 특허번호 0132491.
- 대한민국 특허등록 2007 발효제 및 그의 제조방법. 특허등록번호 10-0759008-0000.

(접수: 2013. 11. 19, 수정: 2013. 12. 2, 채택: 2013. 12. 20)