

지렁이 분변토 발효사료가 고품질 닭고기 생산에 미치는 영향

고용균 · 김진수[†] · 박병성[†]

강원대학교 동물생명과학대학
(2017년 10월 16일 접수: 2017년 11월 4일 수정: 2017년 11월 12일 채택)

Effect of fermented earthworm cast feed on the production of high-quality chicken meat

Yong-Gyun Goh · Jin-Soo Kim[†] · Byung-Sung Park[†]

College of Animal Life Science, Kangwon National University,
Chuncheon, Gangwondo, 200-701 Republic of Korea
(Received October 16, 2017; Revised November 4, 2017; Accepted November 12, 2017)

요약 : 본 연구는 *Bacillus subtilis*를 포함하는 3개의 균주를 지렁이 분변토에 접종하여 제조한 생균제인 분변토 발효사료가 육계의 사양성적 및 닭고기 품질에 미치는 영향을 조사하기 위하여 수행하였다. 육계 240마리를 4개의 처리구로 완전임의 배치하였다. 실험 처리구는 대조구, *Lactobacillus fermentum*으로 제조된 상업용 생균제 (CP) 0.2%, 분변토 발효사료 0.3% (FECF3), 분변토 발효사료 0.5% (FECF5)로 구분하였다. 평균 체중 증가량, 흉선, 비장, F낭의 무게는 대조구, CP 처리구와 비교할 때 FECF 처리구가 높았다. 혈액 IgG 함량은 대조구, CP 처리구와 비교할 때 FECF 처리구가 증가하였다. 맹장 *Lactobacillus*는 대조구, CP 처리구와 비교할 때 FECF 처리구가 높았으나 *Escherichia*, *Salmonella*, Coliform bacteria 및 total aerobic bacteria는 FECF 처리구가 낮았다. 닭고기의 보수력은 대조구, CP 처리구와 비교할 때 FECF 처리구가 높았다. 닭고기 n-6/n-3 지방산의 비율은 대조구, CP 처리구와 비교할 때 FECF 처리구가 낮게 나타났다.

주제어 : 생균제, 육계, 사양성적, 닭고기, 품질, n-6/n-3

Abstract : The present study was undertaken to investigate the effect of fermented earthworm cast feed prepared by using three probiotic mixture with *Bacillus subtilis* strain on meat quality and growth performance of broiler chickens. A total of 240 one-day-old broiler chickens were randomly assigned to four treatments: 1) control, 2) 0.2% commercial product contain strain of *Lactobacillus fermentum* (CP), 3) 0.3% fermented earthworm cast feed (FECF3); and 4) 0.5% fermented earthworm cast feed (FECF5). Mean body weight gain, thymus, spleen, and F-bursal weight of birds fed with FECF were higher than those of birds fed with control or CP. Serum IgG levels were higher in birds fed with FECF than those in birds fed with CP or control. Cecal *Lactobacillus* counts were higher whereas

[†]Corresponding author
(E-mail: kjs896@kangwon.ac.kr; bspark@kangwon.ac.kr)

Escherichia, *Salmonella*, Coliform bacteria, and total aerobic bacteria counts were lower in FECF groups than those in CP or control group. Water holding capacities in FECF groups were higher than those in CP or control group. Ratios of n-6/n-3 in chicken meat were lower in FECF groups compared to those in CP or control group.

Keywords : Probiotics, Broiler chicken, growth performance, chicken meat, quality, n-6/n-3

1. 서론

가축 생균제란 소화관 미생물 균형을 개선함으로써 숙주동물의 건강에 유익한 효과를 주는 살아있는 미생물 사료첨가제를 말한다[1,2]. 생균제는 소화관에 부착하는 능력이 높아서 병원성 세균이 소화관 벽에 부착하는 것을 방지하며 숙주동물의 면역능력을 향상시킨다[3]. 생균제는 선천적 면역을 활성화시켜 소화관 점막의 보호벽을 두껍게 할 뿐만 아니라 항균물질인 디펜신의 분비를 촉진시켜 동물의 성장을 촉진시킨다[4]. 사료 내 생균제의 첨가가 육계의 사양성적 및 사료 요구율을 개선하는 것으로 알려졌다[5]. 지렁이 분변토 발효사료는 *Bacillus subtilis*, *Streptomyces galilaeus*와 *Sphingobacteriaceae* 등 3개의 균주를 지렁이 분변토에 각각 g당 10^6 colony forming units (cfu)로 접종하여 제조한 특수 미생물 사료첨가제이다[6]. 이러한 균주의 혼합 제품인 지렁이 분변토 발효사료는 서로 다른 각각의 균주가 지닌 특성의 시너지 효과에 의한 상승작용을 갖는다. 지렁이 분변토 발효사료의 혼합 균주는 상당한 양의 전분 분해효소 아밀라아제, 단백질 분해효소 프로테아제 및 리파제와 같은 지질 분해 효소를 생성한다. 이러한 효소는 전분과 단백질을 쉽게 소화할 수 있는 작은 영양소로 효율적으로 분해하여 동물의 성장에 이용할 수 있도록 한다. 이러한 균주는 또한 많은 병원성 박테리아에 효과가 있는 항균 성분을 생산한다[1,4,6]. 따라서 제조자는 육계, 산란계, 돼지 및 송아지 배합사료 내 사료 첨가제로서 지렁이 분변토 발효사료 제품을 생산하였다[6]. 산란계 사료 내 지렁이 분변토 발효사료를 배합사료 위에 일일 급여하는 총 사료량의 3.5%를 추가로 뿌려주는 덧 급여(top dressing) 방식으로 공급하거나[7], 배합사료의 구성비 중 0.3%를 혼합하여 제조한 배합사료를 제공해주면[8] 계란 생산성과 난황의 n-6/n-3 지방산 비율을 개선함과 동시에

분변의 악취저감 효과를 기대할 수 있다. 고품질 닭고기란 수분을 유지하는 보수력이 높고 n-6/n-3 비율이 4:1 이하로 낮아진 닭고기를 말한다[9,10].

본 연구는 *Bacillus subtilis*를 포함하는 3개의 균주를 지렁이 분변토에 접종하여 제조한 생균제인 분변토 발효사료의 급여가 육계의 사양성적 및 고품질 닭고기 생산에 미치는 영향 및 그 작용 메커니즘을 조사하였다.

2. 재료 및 방법

2.1. 실험동물 및 실험설계

동물실험과 관련한 모든 과학적인 절차는 미국 국립연구회의(NRC)에서 제시한 과학적이고 윤리적인 방법[11]에 의하여 진행하였으며 강원대학교 동물실험윤리위원회의 승인(승인번호: KW-151117-1)을 받아서 진행하였다. 부화당일 육계(Ross 308) 240마리를 은관농장(경기도 안성)으로부터 구입하여 35일 동안 사육하였다. 4개의 처리구로 구분하여 각 처리구 당 60마리를 4반복(반복 당 15마리)으로 완전임의배치 하였다. 실험 처리구는 대조구 (control), *Lactobacillus fermentum*으로 제조된 상업용 생균제 0.2% (CP, commercial probiotics 0.2%), 분변토 발효사료 0.3% (FECF3, fermented earthworm cast feed 0.3%), 분변토 발효사료 0.5% (FECF5, fermented earthworm cast diet 0.5%)로 구분하였다.

분변토 발효사료는 *Bacillus subtilis* (KCTC2213), *Streptomyces galilaeus* (KCTC1919), *Sphingobacteriaceae* (BR5-29) 등 3종의 균주를 지렁이 분변토 배지에 접종하여 제조한 제품을 사용하였다. 지렁이 분변토 발효사료 1 g은 상기 열거한 3가지 균주를 각각 10^6 cfu의 동등한 양을 함유하였다[6]. 분변토 발효사료와

상업용 생균제 첨가에 따른 배합사료의 원료 혼합량은 옥수수 첨가량을 줄여서 조절하였다. 실험 사료는 NRC에 의해서 제시된 육계 사양표준[11]을 참고로 하여 영양소 요구량을 충족할 수 있도록 배합하였다(Table 1). 전체 실험기간 동안 병아리는 24시간 연속조명을 실시하였으며 음수 및 실험사료에 자유롭게 접근할 수 있도록 하였다. 양계장 깔짚은 왕겨를 바닥 10 cm 높이로 깔아 주었다. 사육실의 온도는 입추 당일에서 3일까지는 33°C로 유지하였고 그 다음부터 주당 2-3°C씩 낮았으며 22일부터는 일반 환경온도 및 상대

습도 70%를 유지하였다. 전기(1-21일)와 후기(22-35일) 및 전체 사양기간에 따른 사양성적(사료섭취량, 증체량, 사료효율)을 조사하였다. 개체간의 사료섭취에 의한 체중 변이를 줄이고 내장 적출의 편리를 위하여 실험종료 후 도계 12시간 전에 실험사료를 철회하여 절식을 유도하였다. 생체중의 평균 범위에 해당하는 개체를 처리구별 20%에 해당하는 12마리(각 펜 당 3마리)씩 선정하였다. 경추탈골에 의해서 스트레스를 주지 않고 안정적으로 희생하였다. 도체율[(생체중-머리, 털, 내장, 혈액, 정강이)/생체중*100]을 계산하였고,

Table 1. Chemical composition and formula of experimental diets for broiler chickens

Ingredients (%)	Growing stage	
	Starter (1-21 days)	Grower (22-35 days)
Yellow corn	52.00	50.00
Soybean meal	34.00	25.00
Corn gluten	4.70	5.70
Wheat bran	-	10.00
Tallow	5.00	5.00
Lime stone power	1.25	1.25
Dicalcium phosphotate	1.70	1.70
Salt	0.25	0.25
DL-methionine (50%)	0.30	0.30
L-lysine HCl (78%)	0.30	0.30
Mineral mix. ¹⁾	0.34	0.34
Vitamin mix. ²⁾	0.16	0.16
Total	100	100
Chemical composition		
ME (kcal/kg)	3,100	3,150
C. protein (%)	22.00	20.00
Lysine (%)	1.32	1.15
Methionine (%)	0.52	0.50
Met+Cys (%)	0.78	0.73
Calcium (%)	1.00	0.90
Available P (%)	0.45	0.40

¹⁾Supplement/kg of diet: Fe, 80 mg; Zn, 80 mg; Mn, 70 mg; Cu, 7 mg; I, 1.20 mg; Se, 0.30 mg; Co, 0.70 mg. ²⁾Supplement/kg of diet: vitamin A (retinyl acetate), 10,500 IU; vitamin D₃, 4,100 IU; vitamin E (DL- α -tocopheryl acetate), 45 mg; vitamin K₃, 3.0 mg; thiamin, 2.5 mg; riboflavin, 5 mg; vitamin B₆, 5mg; vitamin B₁₂, 0.02 mg; biotin, 0.18 mg; niacin, 44 mg; pantothenic acid, 17 mg; folic acid, 1.5 mg.

면역기관(흉선, 비장, F낭)의 무게를 측정하여 세 포조직의 발육변화를 조사하였다.

2.2. 혈액 면역물질

혈청 면역물질(immunoglobulin G, IgG) 분석을 위해 실험 종료 시에 각 그룹 당 8 마리의 동물에서 심장천공에 의하여 혈청을 얻었다. chicken IgG ELISA kit (Bethyl Laboratories, Montgomery, TX, USA)를 이용하여 제조사의 프로토콜에 따라서 IgG 함량을 측정하였다. precision microplate reader (Molecular Devices Inc, New York, USA)에 의해서 450 nm에서 흡광도를 측정하여 IgG의 량을 계산하였다.

2.3. 장내 미생물

도계 후 곧 바로 장 내 미생물을 조사하기 위해서 혐기적인 방법으로 맹장을 채취한 후 얼음 상자 위에서 유지하였다. 육계의 대장(맹장, 결장, 직장) 가운데 맹장은 미생물의 작용이 가장 활발하게 진행되며 소장으로부터 유입된 미분해 영양소 특히 지질과 당질을 발효, 분해하여 짧은 사슬 지방산으로 전환하여 동물에게 에너지 공급, 지질대사 개선 및 면역능력을 향상시켜 성장능력을 촉진하는데 중요한 부위가 된다. 따라서 육계의 성장능력과 관련한 미생물 변화는 맹장을 중심으로 진행되는 것이 일반적인 방법이다. 맹장은 분석 시 까지 anaeroGen sachets (Oxoid, Hampshire, UK)가 갖춰진 sealed anaerobic jars (Oxoid, Basingstoke, UK)에서 혐기상태로 유지하였다. 맹장 내용물을 멸균된 혐기성 생리식염수 (phosphorus buffered saline; PBS 0.1 M, pH 7.0)로 혼합하여 10배 희석(1:9, wt/vol) 한 다음에 일련의 희석을 계속하였다. 모든 절차는 anaerobic chamber (5% hydrogen, 5% CO₂, balanced nitrogen)에서 혐기상태로 이루어졌다. 배양은 희석된 10⁻²-10⁻⁷에서 각각 100 ul를 분주하여 멸균된 평판 선택배지 즉 *Escherichia* (McConkey purple agar), *Lactobacillus* (MRS agar, Oxoid, Basingstoke, UK), *Salmonella* (SS agar, Difco), Total aerobic bacteria (Nutrient agar, Difco), Coli form (Violet red bile agar, Difco)에서 실행하였다. *Escherichia coli*, *Salmonella*, Total aerobic bacteria는 37°C에서 24시간 호기배양 하였고 *Lactobacillus*는 anaeroGen sachets가 갖춰진 sealed anaerobic jars를 이용한 혐기상태 하에서 37°C 48시간 정

치배양한 후 각각의 평판배지에서 미생물 카운터로써 colony의 수를 조사하였다. 모든 미생물 균락의 수는 맹장 내용물 g당 균수(cfu, colony-forming unit/g of wet of cecum content)로써 상용로그를 취하여 제시하였다.

2.4. 닭고기의 pH와 보수력

닭고기의 보수력(WHC, water holding capacity)은 안락사 후 3시간 이내의 가슴살 10 g을 70°C의 항온수조에서 30분간 유지한 다음, 4°C에서 48시간 동안 보존하여 1,000 rpm에서 10분간 원심분리에 의해서 육즙 손실량을 측정하였다. 닭고기 가슴살의 수분 함량을 측정한 후 “수분 함량-육즙 손실량/수분 함량*100”의 공식을 이용하여 보수력(%)을 계산하였다 [12].

2.5. 닭고기의 지방산

닭고기의 지방산을 분석하기 위해서 닭다리 살로부터 지질을 추출하였다. 닭 다리살 5 g을 혼합 유기용매 (chloroform : methanol=2:1) 200 mL와 0.88% KCl 6 mL를 가한 후 ultra turrex 2,500 rpm에서 3분간 격렬하게 교반하고 원심분리 후 지질 층을 1차로 분리한 다음 이 과정을 3회 반복해서 추출된 지질을 질소 가스에 의하여 농축하였다. 농축된 지질 분획 10 mg을 검화용 반응용기에 넣고 새롭게 제조한 0.5N methanolic NaOH(2 g NaOH/100 mL methanol)를 1 mL 첨가하여 15분 간 가열한 후 냉각하였다. methylation 용 시약인 BF₃-methanol 2 mL를 가한 후 다시 15분 간 가열하여 메틸화하였다. 실온까지 충분히 냉각시킨 다음 다시 1 mL의 heptane과 2 mL의 NaCl 포화 용액을 가하여 1분 간 혼합한 다음 실온에서 30분 간 방치하였다. 상등액 1-2 μL를 취하여 지방산 분석용 GLC (ACEM 6000 model, 영인과학, 한국)에 주입하여 지방산 프로파일을 분석하였다. 지방산 분석에 사용한 표준용액으로는 미국 supelco 회사 제품(37 component FAME Mix, Sigma-Aldrich Co., St. Louis, MO)을 이용하였다. 컬럼은 SPTM-2560 Capillary GC Column (L×I.D. 100 m×0.25 mm, df 0.20 um omegawax 320 capillary column, USA)을 사용하였다. 8분 동안 150°C로 운전한 다음에 분당 2°C씩 높여서 150-190°C로 조절하였고 최종 온도를 190°C로 고정하였다. 헬륨을 carrier gas로써 분당 40 mL 유속으로 조절하였으며 split ratio는 100:1로 하였다. injection의 온도는 250°C, detector의 온도

는 265°C로 조절하였다. 표준물질의 피크 면적과 시료의 피크 면적을 비교하여 지방산 함량을 계산하였다 [13].

2.6. 통계처리

얻어진 모든 자료에 대한 통계적 분석은 SPSS/Windows 21.0 (statistical package for the social science, SPSS Inc., Chicago, IL, USA)을 이용하였다. 각 처리구에서 나타난 평균값에 대하여 일원배치 분산분석(one-way ANOVA)을 실시한 후 던칸의 다중검정법으로 95% 신뢰수준에서 자료의 통계적인 유의차($p < 0.05$)를 검증하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 생산성

전체 기간 동안 육계의 사양성적은 Table 2에서 보는 바와 같다. 증체량, 사료섭취량은 대조구와 비교할 때 FECF5, FECF3, CP 처리구 순서로 유의하게 높았다($p < 0.05$). FECF3과 FECF5 처리구 사이의 차이는 없었다. 닭고기 생산성과 관련한 마리 당 증체량(kg)은 대조구 1.72와 비교할 때 FECF5 처리구 2.08, FECF3 처리구 2.03, CP 처리구 1.83으로서 FECF 처리구가 대조구에 비하여 369 g 높게 나타났다. 사료효율은 대조구와 비교할 때 FECF5 처리구가 유의하게 높았으나($p < 0.05$) 대조구와 기타 처리구 사이의 차이는 없었다. 대조구, 상업용 생균제와 비교할 때 지렁이 분변토 발효사료 처리구에서 사양성적이 높았던 점은 발효사료에 포함된 각각의 균주가 지닌 생균제의 생리활성 및 복합적인 시너지 효과에 기인한 소화관 미생물 환경, 영양소의 효율적인

분해 및 흡수율 개선으로 나타난 것으로 볼 수 있다[1,2,14,15]. 생균제의 급여는 조류에서 소장 용모의 높이를 증가시키고 영양소의 흡수율을 개선하여 줌으로써 사료효율과 성장능력을 향상시킬 수 있다[2,16]. *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, 대장균 균 및 *Clostridium* 종으로 구성된 복합 생균제를 급여하였을 때 육계의 증체량이 유의하게 증가했다[17]. Rahman 등 [18]은 생후 2주, 4주, 5주 및 6주령의 육계에서 대조군에 비해 생균제를 섭취한 처리군에서 유의적인 체중 증가를 나타냈다. Shareef (2009)는 육계사료 내 1, 1.5, 2% 수준의 생균제를 급여하였을 때 체중 증가, 사료섭취량 및 사료요구율이 현저히 개선되었다[19].

3.2. 도체율, 면역세포 발육

도체율, 면역기관인 F낭(bursa of Fabricius), 흉선, 비장의 무게는 Table 3와 같다. 도체율, 간 무게는 처리구 사이의 차이가 없었다. F낭, 흉선, 비장의 무게는 대조구와 비교할 때 FECF, CP 처리구 순서로 유의하게 높았으나($p < 0.05$), F낭에서 FECF와 CP 처리구 사이의 차이는 없었다. 지렁이 분변토 발효사료 처리구에서 면역기관의 무게가 높았던 점은 소장 용모 세포의 발육이 증진됨으로써(측정하지 않았음) 영양소의 흡수 및 이용률이 개선되었기 때문일 것으로 본다[15, 20]. 육계에게 생균제를 급여하였을 때 면역기관 무게가 높아졌다는 보고는 본 결과와 비슷하였다[14,20]. Abudabos 등(2016)은 육계에 대한 생균제의 급여가 간, F낭, 흉선, 비장의 상대 무게에는 영향을 미치지 않았다고 하여 본 결과와 서로 다르게 나타났다[21]. Bitterncourt 등[22]은 육계에서 *Lactobacillus acidophilus*, *Streptococcus faecium*, *Bifidobacterium bifidum*을 포함하는 복

Table 2. Growth performance of broiler chickens for 35 days (g/head)

Item	Treatment groups			
	C	CP	FECF3	FECF5
Body weight, g	1,718 ± 38.29 ^{c1)}	1,834 ± 43.88 ^b	2,032 ± 37.55 ^a	2,087 ± 38.01 ^a
Feed intake, g	2,867 ± 12.80 ^c	3,015 ± 23.01 ^b	3,255 ± 33.17 ^a	3,215 ± 26.77 ^a
Feed efficiency ratio	0.60 ± 0.03 ^b	0.61 ± 0.02 ^b	0.62 ± 0.03 ^b	0.65 ± 0.02 ^a

C (control), CP (commercial probiotics 0.2%), FECF3 (fermented earthworm cast feed 0.3%), FECF5 fermented cast diet 0.5%). ¹⁾Mean values ± standard errors. ^{a,b,c} $p < 0.05$.

Table 3. Changes in organ weight and carcass rate in broiler chickens fed fermented-cast diet for 35 days (g/100g BW)

Item	Treatment groups			
	C	CP	FECF3	FECF5
Carcass rate, %	71.18±2.29 ¹⁾	71.55±4.18	71.80±3.14	71.38±4.02
Liver	2.19±0.80	2.25±0.31	2.23±0.55	2.55±0.34
F-sac	0.07±0.03 ^c	0.10±0.02 ^a	0.12±0.02 ^a	0.10±0.02 ^a
Thymus	0.13±0.02 ^c	0.17±0.02 ^b	0.21±0.03 ^a	0.21±0.02 ^a
Spleen	0.12±0.03 ^a	0.16±0.02 ^b	0.22±0.01 ^a	0.21±0.01 ^a

C (control), CP (commercial probiotics 0.2%), FECF3 (fermented earthworm cast feed 0.3%), FECF5 fermented cast diet 0.5%). ¹⁾Mean values±standard errors. ^{a,b,c}p<0.05.

Table 4. Concentrations of blood immunoglobulin G (IgG) in broiler chickens fed fermented-cast diet for 35 days (mg/dL)

Item	Treatment groups			
	C	CP	FECF3	FECF5
IgG	140.7±11.01 ^{c1)}	167.5±9.75 ^b	201.3±10.71 ^a	193.1±8.07 ^a

C (control), CP (commercial probiotics 0.2%), FECF3 (fermented earthworm cast feed 0.3%), FECF5 fermented cast diet 0.5%). ¹⁾Mean values±standard errors. ^{a,b,c}p<0.05.

합 생균제의 급여가 항생제 처리구에 비하여 F낭의 무게가 증가하였을 뿐 비장, 흉선의 무게변화에는 차이가 없다고 하였다. 이러한 보고가 본 결과와 차이를 보이는 점은 실험에 사용된 균주가 서로 다르기 때문으로 판단된다. 생균제의 급여는 육계의 면역반응을 향상시키고 질병에 대한 저항성을 높이는 것으로 보고되었다[23]. Haghghi 등의 연구 (2006)는 생균제가 닭에서 천연 항체의 유도가 강화되어 면역능력을 강화할 수 있다고 하였다 [24]. Peyer's의 패치, 맹장 편도선 및 F낭은 가금류에서 림프조직을 자극하는 부위이다. 이러한 기관은 소화관을 순환하는 항원을 포착하고 B 및 T 면역세포의 생산을 자극한다. 면역조직 무게의 변화는 면역세포 표현형, 면역세포 증식 및 항체 생산에 영향을 준다[21].

3.3. 혈액 면역물질

혈액 면역물질을 측정된 결과는 Table 4와 같다. IgG 함량은 대조구와 비교할 때 FECF3, FECF5, CP 처리구 순서로 유의하게 높았으며 각각 43.07, 37.25, 19.04% 증가하였다(p<0.05). 지렁이 분변 토 발효사료 처리구에서 IgG가 유의하게 높았던

점은 대조구 동물에서 소화관 미생물 집단의 불균형(Table 5)에 기인한 것으로 볼 수 있다[25]. 칠면조에서 *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei*, *Enterococcus faecium* 및 *Bifidobacterium thermophilus* 혼합 생균제의 급여가 IgG, IgM 수준을 높이고 사양성적, 생산성, 질병에 대한 저항성을 높일 수 있다는 보고는 본 결과를 지지해준다[26].

3.4. 장 내 미생물

맹장 미생물 변화는 Table 5에 나타났다. 유익균인 *Lactobacillus*는 대조구와 비교할 때 FECF, CP 처리구 순서로 높았으나 유해균인 *Escherichia*, *Salmonella*, Coliform bacteria 및 Total aerobic bacteria는 FECF, CP 처리구 순서로 유의하게 낮았다(p<0.05). 미생물학적 분석에 의해 얻어진 실험자료는 육계가 지렁이 분변 토 발효사료를 섭취하였을 때 *Lactobacillus* 집단이 지배적으로 증가했음을 나타냈다. 대조구의 맹장에서 *Lactobacillus* 군수는 유의하게 낮았다. 생균제의 가장 중요한 기능 중 하나는 소화관의 *Lactobacillus* 군수를 늘려줄과 동시에 병원균의

Table 5. Changes in cecal microorganism in broiler chickens fed fermented-cast diet for 35 days (log₁₀ cfu/g)

Item	Treatment groups			
	C	CP	FECF3	FECF5
<i>Lactobacillus</i>	7.07±0.16 ^{c1)}	7.65±0.13 ^b	7.97±0.22 ^a	8.01±0.31 ^a
<i>Escherichia</i>	4.52±0.28 ^a	3.97±0.03 ^b	3.71±0.02 ^c	3.68±0.08 ^c
<i>Salmonella</i>	4.80±0.17 ^a	3.97±0.06 ^b	3.55±0.23 ^c	3.57±0.06 ^c
Coliform bacteria	6.52±0.22 ^a	6.11±0.27 ^b	5.07±0.26 ^c	5.07±0.27 ^c
Total aerobic bacteria	6.07±0.43 ^a	5.12±0.38 ^b	4.22±0.27 ^c	4.12±0.22 ^c

C (control), CP (commercial probiotics 0.2%), FECF3 (fermented earthworm cast feed 0.3%), FECF5 fermented cast diet 0.5%). ¹⁾Mean values±standard errors. ^{a,b,c}p<0.05.

Table 6. pH, water holding capacity (WHC) in breast and leg meat from broiler chickens fed fermented-cast diet for 35 days

Item	Treatment groups			
	C	CP	FECF3	FECF5
pH, Breat muscle	6.07±0.17 ¹⁾	6.04±0.15	6.15±0.22	6.07±0.13
Leg muscle	6.66±0.08	6.64±0.06	6.55±0.16	6.67±0.07
WHC	65.15±3.27 ^b	66.09±3.45 ^b	68.07±4.12 ^a	67.79±3.77 ^a

C (control), CP (commercial probiotics 0.2%), FECF3 (fermented earthworm cast feed 0.3%), FECF5 fermented cast diet 0.5%). ¹⁾Mean values±standard errors. ^{a,b}p<0.05.

조절 및 제거이다[27]. Zhang 등(2016)은 육계에 게 생균제를 급여하였을 때 맹장의 젖산균과 *Bifidobacterium*의 균수를 높여줌과 동시에 대장균군의 균수를 낮춰줌으로써 흥선과 F낭의 발육을 자극하여 IgG 수준을 높여주고 육계의 증체량과 사료효율을 개선할 수 있다고 보고하여 본 결과를 지지해준다[28].

3.5. 닭고기의 pH, 보수력

닭고기 다리살, 가슴살에 대한 pH, 보수력을 측정된 결과는 Table 6과 같다. 다리살, 가슴살에 대한 pH는 처리구 사이에 큰 차이가 없었다. 닭 가슴살에서 측정된 닭고기의 보수력(%)은 FECF 처리구 67.79-68.07, 대조구 65.15, CP 처리구 66.09로서 FECF 처리구가 대조구에 비하여 4.48% 유의하게 높았으나(p<0.05) 대조구와 CP 처리구 사이의 차이는 없었다. 사후 근육 pH 및 단백질 변성은 고기에서 보수력의 주요 결정 인자로 간주된다[9]. 돼지고기와 칠면조에서 낮은

보수력은 과도한 사후 단백질 변성, 특히 미오신의 변성과 밀접하게 관련되어있다. 이러한 현상은 닭에서 보수력에 관한 문헌에서 일상적으로 인용되었지만 닭에서 보수력의 이론을 뒷받침하는 실제 자료는 거의 없거나 또는 모순된 결과를 보이고 있다. pH와 보수력은 서로 관계가 있으며 근육 myosin과 actomyosin 단백질의 등전점이 pH 5.0에 근접할 수 록 보수력은 낮으며 식육 단백질의 구조와 이온강도 변화에 따라서 보수력이 증가한다[9,29].

3.6. 닭고기의 지방산

닭 다리살의 지방산 분석결과는 Table 7과 같다. 오메가3 지방산 함량(%)은 대조구 11.21 및 CP 처리구 11.24와 비교할 때 FECF 처리구가 1.59-1.77로서 높았으나 오메가6/오메가3 지방산의 비율은 FECF 처리구가 10.18-11.47로서 대조구 35.03와 CP 처리구 17.03에 비하여 유의하게 낮았다(p<0.05). 닭고기 지방산의 이러한 변화

Table 7. Fatty acid composition of fresh leg meat from broiler chickens

(% of total fatty acids)

Fatty acid name	Treatment groups			
	C	CP	FECF3	FECF5
8:0 Octanoic acid	0.22±0.01 ^{a1)}	0.02±0.0001 ^c	0.10±0.0001 ^b	0.14±0.02 ^b
10:0 Decanoic acid	0.02±0.000 ^c	0.01±0.0001 ^c	0.08±0.0001 ^a	0.05±0.0001 ^b
12:0 Lauric acid	0.04±0.000 ^b	0.07±0.0001 ^a	0.06±0.0001 ^a	0.07±0.0001 ^a
14:0 Myristic acid	0.83±0.07	0.81±0.07	0.90±0.01	0.96±0.10
16:0 Palmitic acid	25.68±0.22 ^{ab}	26.40±0.31 ^a	24.67±0.18 ^{bc}	23.87±0.28 ^c
16:1n-9 Palmitoleic acid	10.25±0.17 ^a	11.01±0.21 ^a	7.32±0.10 ^b	6.96±0.15 ^b
18:0 Stearic acid	7.46±0.20	7.01±0.31	7.22±0.17	7.35±0.28
18:1n-9 Oleic acid	41.10±0.33 ^a	41.89±0.42 ^a	39.01±0.38 ^b	39.39±0.52 ^b
18:2n-6 Linoleic acid	11.21±0.27 ^b	11.24±0.18 ^b	18.02±0.31 ^a	18.27±0.21 ^a
18:3n-3 Linolenic acid	0.32±0.01 ^c	0.66±0.15 ^b	1.77±0.21 ^a	1.59±0.32 ^a
20:0 Arachidic acid	-	-	-	-
22:0 Behenic acid	0.25±0.06 ^c	0.20±0.08 ^a	0.17±0.05 ^b	0.29±0.02 ^a
22:1 Erucic acid	0.82±0.11 ^b	0.68±0.05 ^a	0.68±0.10 ^c	1.05±0.10 ^a
24:0 Lignoceric acid	-	-	-	-
Total	100	100	100	100
Saturated fatty acid	33.63±0.63	34.52±0.81	33.20±0.37	32.73±0.78
Unsaturated fatty acid	66.37±0.72 ^{ab}	65.48±0.31 ^b	66.80±0.82 ^{ab}	67.27±0.58 ^a
UFA/SFA ²⁾	1.97±0.02 ^{ab}	1.89±0.01 ^b	2.01±0.02 ^a	2.05±0.08 ^a
n-6/n-3 ratio	35.03±0.51 ^a	17.03±0.15 ^b	10.18±0.10 ^d	11.47±0.15 ^c

C (control), CP (commercial probiotics 0.2%), FECF3 (fermented earthworm cast feed 0.3%), FECF5 fermented cast diet 0.5%). ¹⁾Mean values±standard error. ²⁾UFA/SFA: unsaturated fatty acid/saturated fatty acid. ^{a,b,c,d}p<0.05.

는 지렁이 분변토 발효사료에 포함된 각각의 생균제가 복합적인 시너지 작용에 의해 나타난 결과로 판단된다. 생균제는 동물조직의 지방산 조성을 변형시킬 수 있음이 보고되었다[30]. Endo와 Nakano[31]는 *Bacillus*, *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Clostridium*, *Saccharomyces* 및 *Candida*가 포함된 생균제를 급여한 육계의 가슴 및 다리살에서 불포화지방산과 포화지방산의 비율이 높은 경향이 있다고 보고했다. Yang 등의 연구[32]는 육계 사료 내 생균제의 급여로 닭 가슴살의 n-3 지방산을 높일 수 있다고 하였다. n-6/n-3가 높은 식품의 섭취는 대사성 질환의 원인이 되기 때문에 건강을 위하여 4:1의 식품을

섭취하는 것이 중요하며 WHO에 의하면 식품 중의 비율 4:1이면 자연식품으로서 명명할 수 있도록 권장하였다[8].

본 연구에서 FECF를 섭취한 닭고기의 오메가 6/오메가3 지방산 비율은 10.18-11.47로서 고품질 닭고기로 평가할 수 있는 4:1[9]에 가까워졌음을 알 수 있었다. 따라서 앞으로 이 부분에 관한 추가적인 연구가 필요가 있을 것으로 사료된다.

4. 결론

본 연구는 *Bacillus subtilis*를 포함하는 3개의

균주를 지렁이 분변토에 접종하여 제조한 분변토 발효사료가 육계의 사양성적 및 닭고기 품질에 미치는 영향을 조사하기 위하여 수행하였다. 육계 240마리를 4개의 처리구로 구분하여 완전임의 배치하였다. 실험 처리구는 대조구, 상업용 생균제 (CP) 0.2%, 분변토 발효사료 0.3% (FECF3), 분변토 발효사료 0.5% (FECF5)로 구분하였다. 그 결과를 정리하면 다음과 같다.

1. 닭고기 생산성과 관련한 마리 당 증체량 (kg)은 대조구 1.72, CP 처리구 1.83과 비교할 때 FECF3 처리구 2.03, FECF5 처리구 2.08로서 FECF 처리구가 높았다.
2. 흉선, 비장, F낭의 무게는 대조구, CP 처리구와 비교할 때 FECF 처리구가 높았다.
3. 혈액 IgG 함량은 대조구, CP 처리구와 비교할 때 FECF 처리구가 증가하였다.
4. 맹장 *Lactobacillus*는 대조구, CP 처리구와 비교할 때 FECF 처리구가 높았으나 *Escherichia*, *Salmonella*, Coliform bacteria 및 Total aerobic bacteria는 FECF 처리구가 낮았다.
5. 닭고기의 보수력은 대조구 65.15%, CP 처리구 66.09%와 비교할 때 FECF 처리구 67.79-68.07%로써 높게 나타났다.
6. 닭고기 n-6/n-3 지방산의 비율은 대조구 35.03, CP 처리구 17.03과 비교할 때 FECF 처리구가 10.18-11.47로써 낮게 나타났다.

결론적으로 지렁이 분변토 발효사료를 육계에게 급여해주면 면역능력 및 맹장 미생물의 균형을 유지해줌으로써 사양성적 개선을 통한 생산성 및 닭고기 품질을 향상시킬 수 있을 것으로 보인다.

감사의 글

본 연구는 중소기업산학연협력센터 2016년 산학연협력 기술개발사업(일반첫걸음)사업 (C1013238-01-01)의 지원으로 이루어졌으며 이에 감사를 드립니다. 분변토 발효사료를 제공해주신 (주)후인바이오 부설 생명공학연구소에 깊은 감사를 드립니다.

References

1. V. Kurtoglu, F. Kurtoglu, E. Sekery, B. Coskuny, T. Baleviy, E. S. Polaty, "Effect of probiotic supplementation on laying hen diets on yield performance and serum and egg yolk cholesterol", *Food Additives and Contaminants*, Vol. 21, pp. 817-823, (2017).
2. T. Getachew, "Review on effects of probiotic supplementation in poultry performance and cholesterol levels of egg and meat", *Journal of World Poultry Research*, Vol. 6, pp. 31-36, (2016).
3. S. Lebeer, J. Vanderleyden, S. C. De Keersmaecker, "Genes and molecules of *Lactobacilli* supporting probiotic action microbiol", *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, Vol. 72, pp. 728-764, (2008).
4. V. Delcenserie, D. Martel, M. Lamoureux, J. Amiot, Y. Boutin, D. Roy, "Immunomodulatory effects of probiotics in the intestinal tract", *Current Issues in Molecular Biology*, Vol. 10, pp. 37-54, (2008).
5. L. Z. Jin, Y. W. Ho, N. Abdullah, S. Jalaludin, "Probiotics in poultry: modes of action", *World's Poultry Science Journal*, Vol. 53, pp. 351-68, (1997).
6. B. S. Park, "Probiotics manufactured from earthworm vermicomposts and preparing the same", *Korean Patent* 10-2017-0092670, (2017).
7. J. Hwangbo, S. O. Park, B. S. Park, "Effect of dietary fermented earthworm cast additives on odor reduction of poultry house and egg production", *Korean Journal of Poultry Science*, Vol. 41, pp. 1-5, (2014).
8. J. S. Shin, B. K. Yang, B. S. Park, "Effect of fermented earthworm cast feed on the production of high-quality eggs and odor

- reduction", *Journal of Korean Oil Chemists' Society*, Vol. 34, pp. 577-586, (2017).
9. S. Kalakuntla, N. K. Nagireddy, A. K. Panda, N. Jatoth, R. Thirunahari, R. R. Vangoor, "Effect of dietary incorporation of n-3 polyunsaturated fatty acids rich oil sources on fatty acid profile, keeping quality and sensory attributes of broiler chicken meat", *Animal Nutrition*, <https://doi.org/10.1016/j.aninu.2017.08.001>, (2017).
 10. B. Bowker, S. Hawkins, H. Zhuang, "Measurement of water-holding capacity in raw and freeze-dried broiler breast meat with visible and near-infrared spectroscopy", *Poultry Science*, Vol. 93, pp. 1834-1841, (2014).
 11. National Research Council, Guide for the care and use of laboratory animals, Eighth Edition. The national academies press. Washington, DC, USA, (2011).
 12. K. O. Honikel, "Reference methods for the assessment of physical characteristics of meat", *Meat Science*, Vol. 49, pp. 447-457, (1998).
 13. S. O. Park, B. S. Park, I. S. Yuh, J. Hwangbo, H. T. Bang, "Effect of Hanwoo diets containing linseed on plasma cholesterol levels of humans to beef consumption and change in n-6/n-3 fatty acid of loin fat", *Journal of Korean Oil Chemists' Society*, Vol. 31, pp. 265-276, (2014).
 14. A. Alkhalf, M. Alhaj, I. Al-homidan, "Influence of probiotic supplementation on blood parameters and growth performance in broiler chickens", *Saudi Journal of Biological Sciences*, Vol. 17, pp. 219-225, (2010).
 15. W. A. Awad, K. Ghareeb, S. Abdel-Raheem, J. Bohm, "Effects of dietary inclusion of probiotic and synbiotic on growth performance, organ weights, and intestinal histomorphology of broiler chickens", *Poultry Science*, Vol. 88, pp. 49-56, (2009).
 16. F. W. Edens, C. R. Parkhurst, I. A. Casas, W. J. Dobrogosz, "Principles of *ex vivo* competitive exclusion and *in vivo* administration of *Lactobacillus reuteri*", *Poultry Science*, Vol. 76, pp. 179-196, (1997).
 17. J. Song, "Effect of a probiotic mixture on intestinal microflora, morphology and barrier integrity of broilers subjected to heat stress", *American Historical Review*, Vol. 119, pp. 581-588, (2014).
 18. M. M. K. Rahman, M. B. Rahman, M. M. Rahman, S. U. Ahmed, M. L. Sani, "The dynamics of probiotics on growth performance and immune response in broilers", *International Journal of Poultry Science*, Vol. 3, pp. 361-364, (2004).
 19. A. M. Shareef, "Effect of probiotic (*Saccharomyces cerevisiae*) on performance of broiler chicks", *Iraqi Journal of Veterinary Sciences*, Vol. 23, pp. 23-29, (2009).
 20. A. Sikandar, H. Zaneb, M. Younus, S. Masood, A. Aslam, M. Shah, H. Rehman, "Growth performance, immune status and organ morphometry in broilers fed *Bacillus subtilis*-supplemented diet", *South African Journal of Animal Science*, Vol. 47, pp. 378-388, (2017).
 21. A. M. Abudabos, A. H. Alyemni, H. A. H. Zakaria, "Effect of two strains of probiotics on the antioxidant capacity, oxidative stress, and immune responses of *Salmonella*-challenged broilers", *Brazilian Journal of Poultry Science*, Vol. 18, pp. 175-180, (2016).
 22. L. C. Bitterncourt, C. C. da Silva, P. D. Silva, E. N. C. Tessari, "Effects of the use of probiotics on the immune response and blood parameters of broilers", *Revista Eletroonica Nutritime*, Vol. 11, pp. 3450-3464, (2014).
 23. M. K. Huang, Y. J. Choi, R. Houde, J. W. Lee, B. Lee, X. Zhao, "Effects of Lactobacilli and an acidophilic fungus on

- the production performance and immune responses in broiler chickens", *Poultry Science*, Vol. 83, pp. 788-795, (2004).
24. H. R. Haghghi, J. Gong, C. L. Gyles, M. A. Hayes, H. Zhou, B. Sanei, "Probiotics stimulate production of natural antibodies in chickens", *Clinical Vaccine Immunology*, Vol. 13, pp. 975-980, (2006).
 25. M. Midilli, M. Alp, N. Kocabağlı, Ö. H. Muğlalı, N. Turan, H. Yılmaz, S. Çkır, "Effects of dietary probiotic and prebiotic supplementation on growth performance and serum IgG concentration of broilers", *African Journal of Animal Science*, Vol. 38, pp. 21-27, (2008).
 26. N. Cetin, B. K. Güçlü, E. Cetin, "The effects of probiotic and mannanoligosaccharide on some haematological and immunological parameters in turkeys", *Journal of Veterinary Medicine*, Vol. 52, pp. 263-267, (2005).
 27. S. A. Denev, "Effect of different growth promoters on the cecal microflora and performance of broiler chickens", *Bulgarian Journal of Agricultural Science*, Vol. 12, pp. 461-474, (2006).
 28. T. Zhang, J. Xie, M. Zhang, N. Fu, Y. Zhang, "Effect of a potential probiotics *Lactococcus garvieae* B301 on the growth performance, immune parameters and caecum microflora of broiler chickens", *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, Vol. 100, pp. 413-421, (2016).
 29. E. R. L. Pelicano, P. A. Souza, H. B. A. Souza, A. Oba, E. A. Norkus, L. M. Kodawara, T. M. A. Lima, "Effect of different probiotics on broiler carcass and meat quality", *Brazilian Journal Poultry Science*, Vol. 5, pp. 207-216, (2003).
 30. M. Král, M. Angelovičková, E. Alfaig, M. Walczykca, "Fatty acids composition of broiler chickens fed diets with probiotics and malic acid", *Animal Science and Biotechnologies*, Vol. 46, pp. 26-29, (2013).
 31. T. Endo, M. Nakano, "Influence of a probiotic on productivity, meat components, lipid metabolism, caecal flora and metabolites, and raising environment in broiler production", *Japanese Society of Animal Science*, Vol. 70, pp. 207-218, (1999).
 32. X. Yang, B. Zhang, Y. Guo, P. Jiao, L. Fong, "Effects of dietary lipids and *Clostridium butyricum* on fat deposition and meat quality of broiler chickens" *Poultry Science*, Vol. 89, pp. 254-260, (2010).