

지렁이 분변토 발효사료가 고품질 계란생산 및 악취 저감에 미치는 영향

신중서 · 양부근[†] · 박병성[†]

강원대학교 동물생명과학대학
(2017년 8월 10일 접수: 2017년 8월 29일 수정: 2017년 9월 6일 채택)

Effect of fermented earthworm cast feed on the production of high-quality eggs and odor reduction

Jong-Suh Shin · Boo-Keun Yang[†] · Byung-Sung Park[†]

College of Animal Life Science, Kangwon National University,
Chuncheon, Gangwondo, 200-701 Republic of Korea

(Received August 10, 2017; Revised August 29, 2017; Accepted September 6, 2017)

요약 : 본 연구의 목표는 분변토로부터 분리한 *Bacillus subtilis*의 2종의 복합 생균제를 이용하여 제조한 발효사료가 산란계 생산성, 계란품질 및 양계장 악취저감에 미치는 효과를 조사하는 것이었다. 산란계 240마리를 4개의 처리구로 구분하여 완전임의 배치하였다. 실험 처리구는 대조구, 분변토발효사료 0.3, 0.5% (FECF3, FECF5), 일반생균제 0.2% (CP)로 구분하였다. 산란율은 일반사료를 섭취한 대조구와 비교할 때 FECF 처리구는 유의하게 높았으나 CP 처리구는 차이가 없었다. 호우유닛, 난각두께, 파란강도, 난황색 지수 및 농후난백 높이는 대조구와 비교할 때 FECF 처리구가 증가하였으나 CP 처리구와 차이는 없었다. 계란의 n-3 함량은 대조구와 비교할 때 FECF 처리구가 높았으나 n-6/n-3 비율은 낮았으며 CP 처리구와의 차이는 없었다. 계분을 실온에서 5일간 방치 후 암모니아 발생량은 대조구와 비교할 때 CP와 FECF 처리구가 낮았다.

주제어 : 산란계, 산란율, 계란품질, n-6/n-3, 암모니아

Abstract : The aim of this study was to investigate the effects of fermented earthworm cast feed prepared with three complexed probiotics containing *Bacillus subtilis* separated from the earthworm casts, on egg production, egg quality and odor removal from poultry house. A total of 240 laying hens were divided into 4 treatments and completely randomized. Experimental groups were divided into control, 0.3 to 0.5% (fermented earthworm cast feed FECF3, FECF5) and 0.2% commercial probiotics (CP). The egg production rate was significantly higher in the FECF groups compared to the control group fed the normal feed, but there was no difference in the CP group. Haugh units,

[†]Corresponding author

(E-mail: bspark@kangwon.ac.kr, bkyang@kangwon.ac.kr)

egg shell thickness, breaking strength, egg yolk index and albumen height were increased in FECF groups compared to control but not in CP group. The n-3 content of eggs was higher in the FECF groups than in the control group, while the n-6/n-3 ratio was lower and there was no difference from the CP group. Ammonia production was lower in the CP and FECF groups compared to the control group after 5 days storage at room temperature to poultry feces.

Keywords : Laying hen, egg production, egg quality, n-6/n-3, ammonia

1. 서론

산란계에서 생균제를 이용하여 제조된 발효사료의 급여가 산란율, 계란품질을 개선한다는 보고가 있다[1,2]. 지난 10년간 동물생산과 관련된 환경오염 및 악취에 대한 불만은 급격히 증가했다. 동물의 소화관 내 미세한 환경은 영양, 사료조성과 숙주의 질병 상태에 따라서 일정한 세균 총(microbiota)을 유지하게 된다[3]. 장 내 세균 총은 물질대사, 면역 및 질병예방 능력을 가지고 있으며 짧은 사슬지방산(SCFA, short chain fatty acids, C2-C5)과 비타민 K를 생산하여 물질대사 조절능력을 발휘한다[4]. 대장 발효의 활성이 증가하면 분 중의 pH가 감소하며 대장발효의 주요 산물인 SCFA는 대장의 운동성에 중요한 역할을 한다[5]. 생균제는 발효 또는 수용체에 필요한 기질 경쟁에 의해서 유해세균의 장 부착을 방지하며 면역체계를 향상시켜 숙주동물에게 유익한 효과를 준다[6,7]. 생균제는 박테리오신, 디펜신을 비롯한 다양한 항균성 물질을 생성하며 소화관 점막의 유익한 균총을 형성한다[8].

축사에서 발생하는 악취는 주로 대기 환경의 질에 영향을 미치며 동물생산에 심각한 민원 발생의 원인이 된다. 특히, 산란계의 분뇨로부터 발생하는 악취의 원인인 암모니아 저감 및 제거와 관련한 문제는 양계산업에서 커다란 관심사가 되고 있는 중요한 현안이다[9]. 암모니아는 동물생산을 위해 가축에게 급여하는 사료 중 단백질을 비효율적인 전환으로 인하여 동물의 배설물로 배출되는 것이 일반적인 원인이다. 산란계는 동물의 영양소 요구량을 충족시키기 위하여 과잉의 질소를 포함하는 고단백질 사료를 공급해준다. 사료를 통하여 섭취된 단백질이 산란계의 소장에서 분해되지 않고 닭의 분뇨로 배설되었을 때 공기 중에 노출됨으로써 분뇨에 존재하는 유해세균이 활성화되고 배설된 단백질을 분해하는 과정에서 암모

니아가 증가한다[9]. 암모니아는 고온 환경에서 환기가 불량하고 동물 시설관리가 나쁠 경우 양계장 내부에 축적되어 악취 발생의 원인이 된다. 양계장 내 암모니아 농도의 상승은 동물의 건강과 생산에 해로운 영향을 미칠 수 있다[10,11]. 우리나라 양계장에서 산란계 생산성, 계란품질 개선 및 악취 제거와 관련한 생균제는 여러 종류가 사용되고 있으나 농민들이 피부로 느낄 수 있는 실질적인 효능이 확실하게 알려진 제품은 아직 없다. Hwangbo 등[12]은 산란계 사료 내 지렁이 분변토발효사료 3.5%를 급여해 주면 계란 생산과 난황의 n-6/n-3 지방산 비율을 개선함과 동시에 분변의 악취저감 효과를 보고하였다. 그러나 기존의 연구는 동물에게 사료를 급여하면서 일정한 량을 추가적으로 사료 위에 뿌려주는 덧 급여(top dressing) 방식으로 진행되었으며 일반생균제와의 결과를 서로 비교하지는 못하였다.

본 연구는 지렁이 분변토로부터 분리한 *Bacillus subtilis*의 2종의 복합 생균제를 이용하여 제조한 분변토 발효사료의 급여가 산란계 생산성, 계란 품질, 산란 양계장 악취발생 저감비율 및 그 작용 메커니즘을 구명하였다.

2. 재료 및 방법

2.1. 실험설계 및 사양관리

실험동물에 대한 과학적인 절차는 NRC에서 제시된 과학적이고 윤리적인 절차[13]를 따랐으며 강원대학교 동물실험위원회(IACUC, Institutional Animal Care and Use Committee of Kangwon National University)의 승인(승인번호: KW-151117-1)을 받아서 진행하였다. 50주령의 갈색산란계(Hyline brown) 240마리를 은관농장(경기도 안성 소재)으로부터 구입하여 강원대학교 동물사육장 철제 3단 산란케이지에서 1주일의 적

을기를 거친 후 6주(51주-56주령) 동안 실험에 사용하였다. 4개의 처리구로 구분하여 각 처리구 당 60마리씩 완전임의 배치 후 케이지 당 한 마리씩 사용하였다. 실험 처리구는 대조구(control), 분변토 발효사료 0.3%(FECF3, fermented earthworm cast feed 0.3%), 분변토 발효사료 0.5%(FECF5, fermented cast diet 0.5%), 일반생균제 0.2%(CP, commercial probiotics 0.2%)로 구분하였다. 분변토 발효사료는 지렁이 분변토로부터 분리한 *B. subtilis* (KCTC2213), *Streptomyces galilaeus* (KCTC1919), *Sphingobacteriaceae* (BR5-29) 등 3종의 균주를 혼합하여 제조한 제품(대한민국 특허 제 10-0092670호)을 사용하였다. 분변토 발효사료와 일반 생균제 첨가 수준은 배합사료 첨가규격을 준수하였으며 옥수수 첨가량을 줄여서 조절하였다. 실험사료는 한국가축사양표준 가금(2012)에 의해서 권장된 영양소 요구량을 충족할 수 있도록 배합하였다(Table 1). 물과 실험사료는 무제한 급여하였으며 18시간(08:30-24:30) 점등을 실시하였다.

2.2. 계란 생산성 및 계란품질 평가

실험사료를 공급한 후 30일째부터 생산한 계란을 수집하여 생산성 및 계란품질을 평가하였다. 산란수와 난중을 기록하였으며 실험기간 중 일일 평균 산란율 및 난중을 계산하였다. 실험사료를 공급한 후 21일째부터 생산한 계란을 수집하여 10일에 1회씩 계란품질평가를 측정 후 평균값으로 나타냈다. 호우유니트(Haugh unit, HU)는 난백의 높이와 난중을 측정하여 아래의 공식을 이용하여 계산하였다.

$$\text{Haugh unit} : 100 \log(H+7.57-1.7W^{0.37})$$

H : Albumin height(mm), W : Egg weight(g)

난황색은 로슈의 난황색 부채 (Roche egg color fan, 독일)를 이용하여 측정하였으며 난황색은 평균지수로 나타냈다. 난각두께 및 파란강도는 계란품질 측정기계(FHK, Co., Japan)를 이용하였다. 난각두께는 HU와 난황색 측정에 이용된 계란에서 난각의 둔단부, 중간부, 첨단부를 각각 4회씩 측정하여 평균값으로 나타내었다[14].

Table 1. Chemical composition and formula of experimental diets for laying hens

Ingredients	%
Yellow corn	58.86
Soybean oil meal	16.80
Distillers dried grains with solubles (HP-DDGS)	4.10
Feather meal	3.20
Rapeseed oil meal	2.00
Wheat bran	3.00
Tallow	1.00
Limestone	9.70
Salt	0.25
Shell powder	0.50
Calcium phosphotatate monobasic	0.40
Vit-min mix ¹⁾	0.10
Methionine	0.09
Total	100
Chemical composition, %	
Moisture	10.83
Crude protein	17.88
Crude fat	4.12
Crude fiber	2.94
Crude ash	13.17
Calcium	4.01
Available phosphorous	0.31
Lysine	0.75
Methionine	0.38
Methionine+Cystine	0.68
Metabolizable energy (ME), kcal/kg	2,750

¹⁾Supplement/kg of diet: vit. A, 10,000 KIU; vit. D3, 3,500 KIU; vit. E, 15.0 KIU; vit. K3, 2,000 mg; vit. B1, 1,500 mg; vit. B2, 5,000 mg; vit. B6, 3,000 mg; vit. B12, 20 mg; niacin, 25,000 mg; pantothenic acid, 6,000 mg; folic acid, 500 mg; biotin, 50 mg; Cu, 9,000 mg; I, 1,500 mg; Mn, 80,000 mg; Zn, 80,000 mg; Se, 250 mg; Fe, 50,000 mg; Co, 100 mg.

2.3. 난황 지방산 조성

계란난황의 지방산 조성을 분석하기 위해서 30일째부터 수집된 계란을 모아서 10일 간격으로 각 처리구당 10개씩 임의로 선정하였다. 계란의 지질은 삶은 계란으로부터 분리한 난황 5 g을 혼합 유기용매 (chloroform : methanol=2:1) 200

mL와 0.88% KCl 6 mL를 가한 후 ultra turrax T-25 homogenizer (US/IKA)을 이용하여 2,500rpm에서 3분간 격렬하게 교반하고 원심분리 후 지질 층을 1차로 분리한 다음 이 과정을 3회 반복해서 추출된 지질을 질소가스에 의하여 농축하였다. 지질의 메칠화 과정은 다음과 같다. 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. 메칠화를 위한 시약 BF₃-methanol 2 mL를 가한 후 다시 15분 간 가열하였다. 실온까지 충분히 냉각시킨 다음 다시 1 mL의 heptane과 2 mL의 NaCl 포화용액을 가하여 1분 간 혼합한 다음 실온에서 30분 간 방치하였다. 상등액 1-2 μ L를 취하여 지방산 분석용 GLC (ACEM 6000 model, 영인과학, 한국)에 주입하여 지방산 프로파일을 분석하였다. 지방산 분석에 사용한 표준용액으로는 미국 Supelco사 제품(37 component FAME Mix, Sigma-Aldrich Co., St. Louis, MO)을 이용하였다. 컬럼은 SPTM-2560 Capillary GC Column (L×I.D. 100m×0.25mm, df 0.20um Omegawax 320 capillary column, USA)을 사용하였다. 시작 온도를 8분 동안 150°C로 프로그램 하였고 그 다음에 분당 2°C씩 높여서 150-190°C로 온도를 올렸으며 최종 온도를 190°C로 고정하였다. 헬륨을 carrier gas로써 분당 40 mL 유속으로 조절하였으며 split ratio는 100:1로 하였다. injection의 온도는 250°C, detector의 온도는 265°C로 조절하였다. 표준물질의 피크 면적과 시료의 피크 면적을 비교하여 지방산 함량을 계산하였다[14].

2.4. 악취저감 평가

분변토 발효사료를 섭취 후 배설된 신선한 계분 2,500 g을 polycarbonate 상자(폭 27*직경 22.5*높이 13.5 cm)에 담아서 25°C에서 0(개시),

3, 5일 동안 보관하였다. 발생하는 암모니아 농도를 계분이 담긴 상자로부터 3-5 cm 높이에서 Gas sampling pump GV-100S (Gastec, Japan)를 이용하여 측정하였다. pH는 암모니아를 측정 한 바로 직 후 계분에서 개시 일 및 5일째에 각각 pH 미터(Eco testr pH1, Singapore)를 사용하여 측정하였다.

2.5. 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. 계란 생산성

분변토 발효사료를 급여한 이후 조사한 산란율 및 사료섭취량의 변화는 Table 2와 같다. 산란율은 일반사료를 섭취한 대조구 81.67%와 비교할 때 CP 89.33%는 차이가 없었으나 FECF를 급여한 처리군은 91.67-92.00%로서 12.65%까지 유의하게 높았다(p<0.05). FECF 처리구 사이의 통계적인 유의차는 없었으며 대조구와 CP 사이의 유의차도 나타나지 않았다. 산란율은 CP에서 더 이상 증가하지 않는 일정한 수준의 안정점(plateau)에 도달하였음을 확인하였다. 사료섭취량은 FECF 처리구가 대조구에 비해서 유의하게 많았으나(p<0.05) 처리구 사이의 차이는 없었다.

결과는 산란계에게 FECF를 0.3% 수준으로 공급해주면 사료섭취량 증가와 함께 산란율을 크게

Table 2. Growth performance of laying hens fed fermented earthworm cast feed during 51 to 56 weeks

Items	C	CP	FECF3	FECF5
Egg production, %	81.67±5.01 ^b	89.33±4.23 ^{ab}	91.67±3.64 ^a	92.00±2.78 ^a
Feed intake, g/head/day	102.9±6.81 ^b	144.6±4.05 ^a	144.7±5.01 ^a	147.8±6.55 ^a

C (control), CP (commercial probiotics 0.2%), FEFD3 (fermented earthworm cast feed 0.3%), FECF5 (fermented-cast diet 0.5%). ^{a1}) Mean values±standard errors. ^{a,b}p<0.05.

높일 수 있다는 점을 나타낸다. 이는 분변토 발효사료가 지닌 *B. subtilis*를 포함하는 복합생균제의 작용으로 인한 맹장 내 세균 숲의 유지 즉, 유익한 미생물의 성장촉진 및 유해한 미생물의 성장억제 그리고 면역능력 증강 메커니즘을 경유해서 산란율이 개선되었을 것으로 볼 수 있다 [15,16]. Gnanadesigan 등[1] 과 Xu 등 [2]은 산란계에게 *B. subtilis* 생균제 및 유용 미생물(EM, effective microorganism)을 각각 급여하였을 때 맹장 내 세균 숲 유지에 의한 생리활성 작용으로 산란율과 계란품질이 개선되었다고 보고하였다. 산란계에게 사료를 급여하면서 일일 급여량의 3.5%를 분변토 발효사료로써 추가로 공급해주면 산란성적이 개선되었다는 Hwangbo 등[12]의 보고는 본 결과를 지지해준다.

3.2. 계란품질

분변토 발효사료를 섭취한 산란계에서 난중, 계란의 HU, 난각두께, 파란강도, 난황색 지수 및 농후난백 높이의 변화 및 개선율은 Table 3과 같다. 난중은 처리구 사이의 차이가 없었다. HU, 난각두께, 파란강도, 난황색 지수 및 농후난백 높이는 FECF 처리구가 대조구와 비교할 때 각각 1.78, 24.32, 26.69, 23.66, 14.35%까지 유의하게 증가하였다($p < 0.05$). 계란품질 특히, 난각두께는 대조구 0.37 mm와 비교할 때 FECF 처리구가 0.45-0.46 mm로서 유의하게 증가하였다 ($p < 0.05$). 대조구와 CP 사이의 알부민 높이 ($p < 0.05$)를 제외한 처리구 사이의 계란품질 차이

는 없었다. 특히 FECF를 섭취한 계란의 난황색은 대조구와 CP에 비해서 월등하게 진한 황금색을 나타냈다(Fig. 1). 이러한 결과는 Hwangbo 등[12]의 보고와 일치하였다. 이는 분변토 발효사료 섭취로 계란품질 특히, 난각두께가 대조구에 비해서 높았던 점은 분변토 발효사료가 지닌 *B. subtilis*를 포함하는 복합생균제의 작용에 기인한 소장 용모 활성화를 통한 영양소의 흡수 이용을

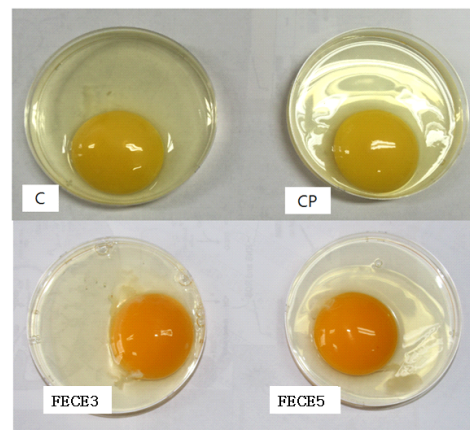


Fig. 1. Changes in egg yolk color by fermented earthworm cast feed. C (control), FECF3 (fermented earthworm cast feed 0.3%), FECF5 (fermented earthworm cast feed 0.5%), CP (commercial probiotics 0.2%).

Table 3. Changes in egg quality in laying hens fed fermented earthworm cast feed during 51 to 56 weeks

Items	C	CP	FECF3	FECF5
Egg weight, g	67.52 ± 3.77	67.57 ± 4.03	67.38 ± 2.72	67.48 ± 3.01
Haugh unit (HU)	92.52 ± 1.10 ^b	93.08 ± 0.93 ^b	94.09 ± 0.78 ^a	94.17 ± 1.13 ^a
Eggshell thickness, mm	0.37 ± 0.07 ^b	0.40 ± 0.06 ^b	0.45 ± 0.08 ^a	0.46 ± 0.05 ^a
Breaking strength, kg/cm ²	3.11 ± 0.03 ^b	3.39 ± 0.07 ^b	3.81 ± 0.05 ^a	3.94 ± 0.06 ^a
Egg yolk index	7.88 ± 0.33 ^b	8.01 ± 0.23 ^b	9.12 ± 0.18 ^a	9.20 ± 0.20 ^a
Albumin high, mm	8.24 ± 0.03 ^c	9.05 ± 0.05 ^b	9.73 ± 0.07 ^a	9.83 ± 0.02 ^a

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

증진 및 장 내 세균 숲의 유지를 경유한 칼슘의 흡수율을 향상시켰을 것으로 생각된다. 인간의 결장에서 증식한 *Lactobacillus*와 SCFA의 상승작용에 의해 미네랄 흡수율을 개선할 수 있음이 보고되었다[17]. 생균제를 산란계에게 급여하면 동물의 소화관에서 세균 숲의 유지로써 칼슘의 흡수 이용률이 증가하여 난각두께가 높아질 수 있다 [1,2]. HU, 난각두께, 파란강도 및 난황색은 계란 품질을 결정하는 데 중요한 요소이다. 웰빙시대 소비자 기호도와 관련하여 계란의 상품적인 가치를 높이는데 있어서 내부와 외부의 품질이 우수해야 하는데 특히, HU는 내부 품질의 척도가 된다. 로슈의 난황 칼러펜에 의하면 난황색의 등급은 1-14로 분류되는 데 본 실험에서 조사한 모든 처리구 계란의 난황색 등급은 7.44-9.20 범위로 나타났다[14].

3.3. 난황 지방산 조성

산란계에서 분변토 발효사료를 섭취한 계란의 지방산 조성은 Table 4에 나타났다. 계란의 오메

가 3 지방산(n-3)은 대조구, CP 처리구와 비교할 때 FECF5 처리구가 유의하게 높았다($p < 0.05$). 이와 반대로 n-6/n-3 비율은 대조구 42.06, CP 처리구 33.23과 비교할 때 FECF5 처리구가 9.88-9.95로서 유의하게 낮아졌다($p < 0.05$). 한편, 대조구와 CP사이의 계란 내 오메가 3 지방산은 CP가 높았으나 n-6/n-3 비율은 차이가 없었다 ($p < 0.05$). 결과는 산란계에게 분변토 발효사료를 급여하면 오메가 3 지방산 강화 및 n-6/n-3 비율이 이상적인 4:1 수준에 가깝게 낮아진 고기능성 고품질 계란 생산이 가능하다는 점을 시사해 준다. 오메가 지방산이란 지방산의 한쪽 끝에 위치한 메틸기(-CH₃)로부터 탄소원자 번호를 부여하였을 때 최초의 이중결합이 존재하는 위치를 나타내는 지방산으로써 n-6, n-3로 구분하며 식품으로부터 반드시 섭취해야 하는 필수지방산이다 Park & Hwangbo[18]. 건강을 위하여 n-6와 n-3 비율(n-6/n-3)이 높은 식품의 섭취는 혈액 내 LDL-C를 높여서 심장혈관질환 사망을 일으키는 원인이 될 수 있다는 점에서 관심사가 되고

Table 4. Fatty acid composition of egg by fermented earthworm cast feed

(% of total fatty acids)

Fatty acids	C	CP	FECF3	FECF5
8:0 Octanoic acid	0.03±0.000 ^b	0.43±0.02 ^{a1)}	0.41±0.002 ^a	0.41±0.003 ^c
10:0 Decanoic acid	-	0.45±0.004	0.18±0.003	0.03±0.000
12:0 Lauric acid	0.01±0.000	0.09±0.000	0.03±0.000	0.03±0.000
14:0 Myristic acid	0.52±0.02 ^{ab}	0.62±0.007 ^a	0.49±0.02 ^b	0.54±0.09 ^{ab}
16:0 Palmitic acid	25.82±4.12 ^b	27.08±5.04 ^a	24.95±4.76 ^{bc}	23.92±3.28 ^c
16:1n-9 Palmitoleic acid	4.36±0.08 ^b	5.31±0.11 ^a	4.03±0.10 ^b	4.44±0.10 ^b
18:0 Stearic acid	8.87±0.12 ^b	10.42±0.20 ^a	8.93±0.17 ^b	6.51±0.28 ^c
18:1n-9 Oleic acid	45.51±7.21 ^a	46.49±8.01 ^a	44.64±5.23 ^b	44.47±4.22 ^b
18:2n-6 Linoleic acid	14.30±2.27 ^b	14.29±3.01 ^b	14.53±4.33 ^b	17.49±3.21 ^a
18:3n-3 Linolenic acid	0.34±0.02 ^d	0.43±0.03 ^c	1.46±0.78 ^b	1.77±0.32 ^a
20:0 Arachidic acid	0.08±0.000	0.05±0.000	0.03±0.000	0.08±0.000
22:0 Behenic acid	0.02±0.000	0.03±0.000	0.03±0.000	0.03±0.000
22:1 Erucic acid	0.02±0.000	0.06±0.000	0.03±0.000	0.02±0.000
24:0 Lignoceric acid	0.12±0.000 ^b	0.13±0.002 ^b	0.25±0.007 ^a	0.25±0.002 ^a
Total	100	100	100	100
Saturated fatty acid	35.47±3.10 ^a	33.42±4.10 ^b	35.31±5.22 ^a	31.81±4.71 ^c
Unsaturated fatty acid	64.53±4.12 ^c	66.58±5.05 ^b	64.69±4.12 ^c	68.19±4.28 ^a
n-6/n-3 ratio	42.06±0.31 ^b	33.23±0.21 ^b	9.95±0.27 ^c	9.88±0.18 ^a

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

있다[14,19]. n-6와 n-3 지방산은 분자구조에서 약간의 차이가 있지만 생화학적 대사기전 및 생체활성 기능이 다르고 생체대사 경로 중 동일한 효소체계에 대하여 서로 경쟁적으로 작용하며 상호 전환 할 수 없는 대사적 특징이 있다. 혈액 및 조직에 축적된 n-6와 n-3 지방산은 건강증진을 위해서 작용하기 때문에 식품 내 n-6와 n-3의 균형을 유지하는 것은 매우 중요하다[20,21]. 필수지방산의 적절한 균형은 건강 유지 및 증진에 기여하지만 불균형 즉 n-6/n-3가 높으면 여러 가지 대사성질환의 원인이 된다[22,23]. 산업화가 진행되고 식용유 산업이 발달하면서 n-6 지방산의 과잉섭취에 따른 새로운 문제가 발생하였다. n-6 지방산의 과잉섭취 및 그 대사물의 과잉에 따른 n-6/n-3 증가는 심장혈관질환, 염증, 혈액 응고, 암, 비만, 제2형당뇨병, 자가면역질환의 원인이며 뼈 건강에도 중요한 영향을 준다[24,25]. 서방인의 식품 중 n-6/n-3는 12-30:1로 평가되었으나 농업화 초기의 비율은 1-2:1로 매우 낮았다. n-6 지방산이 높은 옥수수 위주 사료를 급여해서 생산한 축산식품으로부터 초래된 서방인의 식품에서 높은 n-6/n-3 그리고 옥수수 또는 해바라기 씨앗으로부터 추출한 식물성 기름으로부터 만들어진 섀러드 기름과 마가린 등 지방의 과잉섭취는 대사성질환의 원인으로 밝혀졌다. 연구자들은 건강을 위해 유익한 n-6/n-3의 이상적인 비율은 4:1 이하로 믿고 있으며 세계보건기구(WHO)는 2012년 4:1 비율을 갖을 경우 천연식품(natural food)로 명명할 것을 권장하였다[14,23,26].

3.4. 악취저감

분변토 발효사료를 섭취 후 신선한 계분을 25°C에서 5일간 방치하면서 조사한 암모니아 농도

및 pH의 변화는 Table 5에서 보는 바와 같다. 방치 일자별로 암모니아 발생은 대조군과 비교할 때 FECF 처리구에서 농도 의존적으로 뚜렷하게 줄어들었으며 각 처리구 사이의 유의차가 인정되었다($p < 0.05$). 신선한 분의 경우 FECF를 섭취한 처리구에서 63.39% 낮아 졌음을 확인하였으며 5일간 방치 후 암모니아 발생량(ppm)은 대조군 275.7과 비교할 때 FECF 처리구가 86.67-133.3로서 75.67, 68.56% 유의하게 낮아졌다($p < 0.05$). 신선한 분의 pH는 처리구 사이의 차이가 없었으나 5일 간 방치한 계분에서 측정된 pH는 FECF를 섭취한 처리군이 대조군에 비해서 유의하게 낮아졌다($p < 0.05$). 분변토 발효사료를 섭취한 산란계로부터 수집한 계분을 25°C에서 5일간 방치 후 측정된 세균수의 변화는 다음과 같았다(not presented). FECF를 섭취 후 배설된 신선한 계분(암모니아 측정 전)에서 대장균, 총호기성균, 대장균군, 살모넬라 균수는 대조군과 비교할 때 각각 22.07, 19.08, 21.27, 15.06% 유의하게 낮아졌다($p < 0.05$). FECF를 섭취 후 배설된 분을 5일간 방치 후 계분(암모니아 측정 후)에서 대장균, 총호기성균, 대장균군, 살모넬라 균수는 대조군과 비교할 때 각각 8.58, 17.78, 14.33, 14.83% 유의하게 낮아졌다($p < 0.05$). 분변토 발효사료 섭취로 계분으로부터 발생하는 암모니아의 농도가 낮았던 점은 분변토 발효사료가 지닌 *B. subtilis*를 포함하는 복합생균제의 작용에 기인한 것으로 볼 수 있다[12]. 분변토 발효사료를 섭취한 동물의 분에서 유해한 세균수가 낮았던 점은 생균제가 맹장에서 짧은 사슬지방산의 생성으로 장 내 세균 총을 유지해줌과 동시에 유해세균의 장 점막에 대한 부착 방지 메카니즘으로 추정해 볼 수 있다[27]. 생균제의 장 세균 총 유지 기능은 영양소와 장 점막의 부착 부위에 대하여 유해세균과

Table 5. Ammonia emission from laying hens feces storage as affected by fermented earthworm cast feed (ppm)

Days	C	CP	FECF3	FECF5
Initial	1.83±0.53 ^a	1.33±0.47 ^a	0.67±0.55 ^b	0.67±0.72 ^b
1 day	13.67±2.23 ^a	11.00±2.17 ^b	10.00±3.15 ^b	9.67±4.03 ^b
3 days	260.3±18.70 ^a	123.3±22.03 ^b	106.0±26.71 ^b	63.33±7.83 ^c
5 days	275.7±43.72 ^a	203.3±38.09 ^b	133.3±23.17 ^c	86.67±11.77 ^d

C (control), CP (commercial probiotics 0.2%), FECF3 (fermented earthworm cast feed 0.3%), FECF5 (fermented earthworm cast feed 0.5%). ^{a1)}Mean values±standard errors. ^{a,b,c,d} $p < 0.05$.

경쟁하고 있기 때문에 유해세균의 군수를 낮춤과 동시에 유해세균에 대한 항균물질인 박테리오파지를 분비하고 각종 유기산과 기타 미생물에 대한 기질을 생성한다. 생균제의 발효로부터 생성된 대부분의 유기산은 젖산과 초산이다. 이러한 항균물질은 장관 내에서 병원균의 증식을 억제한다 [11,28]. 분변토 발효사료를 섭취한 처리구에서 나타난 신선한 계분에서 유해한 세균수가 유의하게 낮아진 이유는 바로 이러한 메카니즘의 일부라고 생각할 수 있다. 닭에서 살모넬라 균락화의 주요 장소는 맹장이며 살모넬라는 병아리에서 설사 및 심각한 체중 손실과 같은 살모넬라 감염증을 일으킨다는 점은 널리 알려져 있는 사실이다 [29]. 분변토 발효사료를 섭취한 동물의 분에서 유해한 세균수가 낮아진 점은 맹장 세균 총에서 유익한 미생물 수가 높아져서 강력한 항균활성 작용을 나타냈을 것으로 추정할 수 있다 [17]. 본 연구결과 분변토 발효사료를 섭취한 산란계의 분에서 동물의 건강을 저해함과 동시에 악취를 발생시키는 유해한 세균수의 증식이 억제된다는 사실을 새롭게 발견하였다. 결론적으로 분변토 발효사료의 섭취가 조류의 맹장 내 균 총을 유지함으로써 면역능력을 높임과 동시에 영양소 흡수 이용율을 자극하는 메카니즘을 경유하여 산란능력 및 계란품질을 향상시키고 악취를 제거한다는 사실을 확인하였다.

4. 결론

본 연구는 분변토로부터 추출한 *B. subtilis*를 포함하는 복합생균제를 이용하여 제조한 발효사료의 산란계 생산성, 계란품질 및 양계장 악취저감에 관한 효과를 조사하였다. 산란계 240마리를 4개의 처리구로 구분하여 각 처리구 당 60마리씩 완전입의 배치하였다. 실험 처리구는 대조구, 분변토 발효사료 0.3%(FECF3), 분변토 발효사료 0.5%(FECF5), 일반생균제 0.2%로 구분하였다. 그 결과를 정리하면 다음과 같다.

1. 계란의 생산성은 일반사료를 섭취한 대조구 81.67%와 비교할 때 FECF를 급여한 처리군에서 91.67-92.00%로써 유의하게 높았다 ($p<0.05$).
2. 계란품질은 특히, 난각두께는 대조구 0.37

mm와 비교할 때 FECF 처리구가 0.45-0.46 mm로서 유의하게 증가하였다 ($p<0.05$).

3. 계란의 n-6/n-3 비율은 대조구 42.06와 비교할 때 FECF 처리구가 9.88-9.95로서 유의하게 낮아졌다($p<0.05$).
4. 계분을 실온에서 5일간 방치 후 암모니아 발생량(ppm)은 대조구 275.7과 비교할 때 FECF 처리구가 86.67-133.3로서 75.67, 68.56% 유의하게 낮아졌다($p<0.05$).

결론적으로 후인 생균제를 이용하여 제조한 발효사료를 산란계에게 급여해주면 계란 생산성, 품질 향상 및 양계장 악취저감 효과를 나타내는 것으로 판단된다.

감사의 글

본 연구는 중소기업산학연협력센터 2016년 산학연협력 기술개발사업(일반첫걸음)사업(C1013238-01-01)의 지원으로 이루어졌으며 이에 감사를 드립니다. 분변토 발효사료 제공 및 주관기관으로서 연구를 수행해주신 (주)후인바이오 부설 생명공학연구소에 깊은 감사를 드립니다.

References

1. M. Gnanadesigan, S. Isabella, P. Saritha, L. Ramkumar, N. Manivannan, R. Ravishankar, "Quality evaluation of egg composition and productivity of layers in EM (effective microorganisms) treatments: A field report", *Egyptian Journal of Basic and Applied Science*, Vol.1, pp. 161-166, (2014).
2. C. Xu, L. Ji, C. Ma, Q. Hao, K. Y. Jin, K. Li, "Effect of dried *Bacillus subtilis* culture on egg quality", *Poultry Science*, Vol.85, pp. 364-368, (2006).
3. R. Guarner, J. R. Malagelada, "Gut flora in health and disease", *The Lancet*, Vol.360, pp. 512-519, (2003).
4. O. C. Umu, M. Oostindjer, P. B. Pope, B.

- Svihus, B. Egeland, I. F. Nes, D. B. Diep, "Potential applications of gut microbiota to control human physiology", *Antonie Van Leeuwenhoek*, Vol.104, pp. 609-618, (2013).
5. C. Bourriaud, R. J. Robins, L. Martin, F. Kozłowski, E. Tenaillon, C. Cherbut, C. Michel, "Lactate is mainly fermented to butyrate by human intestinal microfloras but interindividual variation is evident", *Journal of Applied Microbiology*, Vol.99, pp. 201-212, (2005).
 6. N. Binns, Probiotics, "prebiotics and the gut microbiota", *ILSI Europe Concise Monograph*, pp. 1-32, (2013).
 7. S. Hemaiswarya, R. Raja, R. Ravikumar, I. S. Carvalho, "Mechanism of action of probiotics", *Brazilian Archives of Biology and Technology*, Vol.56, pp. 113-119, (2013).
 8. 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).
 9. S. W. Gay, K. F. Knowlton, "Ammonia emissions and animal agriculture", VCN Publication 442-110, *Virginia Tech*, pp. 1-5, (2009).
 10. J. L. Purswell, B. D. Lott, "Heating poultry houses with an attic ventilation system", *American Society of Agricultural and Biological Engineers*, pp. 1-9, (2007).
 11. W. F. Zhang, D. F. Li, W. Q. Lu, G. F. Yi, "Effects of isomaltoligosaccharides on broiler performance and intestinal microflora", *Poultry Science*, Vol.82, pp. 657-663, (2003).
 12. 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 J. Poult. Sci.*, Vol.41, pp. 1-5, (2014).
 13. National Research Council, Guide for the care and use of laboratory animals, Eighth Edition. The national academies press. Washington, DC. USA, (2011).
 14. S. O. Park, B. S. Park, "Effects of dietary inuloprebiotics on egg production and on the microbial ecology and blood lipid profile of laying hens", *Journal of Life Science* Vol.22, pp. 880-888, (2012).
 15. L. V. Hooper, J. I. Gordon, "Commensal host-bacteria relationships in the gut", *Science*, Vol.292, pp. 1115-1118, (2001).
 16. C. Lexopoulos, I. E. Georgoulakis, A. Tzivara, S. K. Kritas, A. Siochu, S. C. Kyriaki, "Field evaluation of the efficacy of a probiotic containing *Bacillus licheniformis* and *Bacillus subtilis* spores, on the health status and performance of sow and their litters", *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, Vol.88, pp. 381-392, (2004).
 17. B. S. Park, "Bifidogenic effects of inuloprebiotics in broiler chickens", *Korean Society of Life Science*, Vol.18, pp. 1693-1699, (2008).
 18. B. S. Park, J. Hwangbo, "Omega fatty acids, Hyoilmunhawsa", Seoul Korea, (2000).
 19. P. R. S. Burghardt, B. J. Kemmerer, A. J. Osetek, "Dietary n-3:n-6 fatty acid ratios differently influence hormonal signature in a rodent model of metabolic syndrome relative to healthy controls", *Nutrition Metabolism*, Vol.7, pp. 53-61, (2010).
 20. A. M. Coates, S. Sioutis, J. D. Buckley, P. R. C. Howe, "Regular consumption of n-3 fatty acid-enriched pork modifies cardiovascular risk factors", *British Journal of Nutrition*, Vol.101, pp. 592-597, (2009).
 21. C. A. Daley, A. Abbott, P. S. Doyle, G. A. Nader, S. Larson, "A review of fatty acid profiles and antioxidant content in grass-fed and grain-fed beef", *Nutrition Journal*, Vol.9, pp. 10-14, (2010).

22. U. Gogus, C. Smith, "n-3 Omega fatty acids: A review of current knowledge" *International Journal of Food Technology*, Vol.45, pp. 417-436, (2010).
23. A. P. Simopoulos, "The importance of the ratio of omega-6/omega-3 essential fatty acids", *Biomedicine and Pharmacotherapy*, Vol.56, pp. 365-379, (2002).
24. N. D. Riediger, R. A. Othman, M. Suh, "A systematic review of the roles of n-3 fatty acids in health and disease", *Journal of American Diet Association*, Vol.109, pp. 668-679, (2009).
25. W. C. Willett, S. Liu, J. E. Manson, "The role of dietary n-6 fatty acids in the prevention of cardiovascular disease", *Journal of Cardiovascular Medicine*, Vol.8, pp. S425, (2007).
26. 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 the Korean Oil Chemists Society*, Vol.31, pp. 265-276, (2014).
27. E. Tako, R. P. Glahn., R. M. Welch, X. Lei, K. Yasuda, D. D. Miller, "Dietary inulin affects the expression of intestinal enterocyte iron transporters, receptors and storage protein and alters the microbiota in the pig intestine", *The British Journal of Nutrition*, Vol.99, pp. 472-480, (2008).
28. R. D. Rolfe, "The role of probiotic cultures in the control of gastrointestinal health", *Journal of Nutrition*, Vol.130, pp. 396S-402S, (2002).
29. S. O. Park, B. S. Park, "Effect of dietary inuloprebiotics on performance, serum immunoglobulin and caecal microflora in broiler chickens", *Korea Association of Organic Agriculture*, Vol.17, pp. 539-555, (2009).