

## 키틴분해효소를 분비하는 형질전환 *Bacillus subtilis*의 사료내 첨가가 비육돈의 성장, 영양소 소화율, 혈액성상 및 육질특성에 미치는 영향

김효진 · 조진호 · 진영걸 · 유종상 · 왕원 · 황엽 · 김인호\*

단국대학교 동물자원과학과

### Effects of Supplementation with Transgenic *Bacillus subtilis* Secreting Chitinase on Growth Performance, Nutrient Digestibility, Blood Characteristics, and Carcass Traits in Finishing Pigs

Hyo Jin Kim, Jin Ho Cho, Ying Jie Chen, Jong Sang Yoo, Yuan Wang, Yan Huang, and In Ho Kim\*  
Department of Animal Resource and Science, Dankook University, Cheonan 330-714, Korea

#### ABSTRACT

This study was conducted to investigate the effects of supplementation with transgenic *Bacillus subtilis* secreting chitinase on the growth performance, nutrient digestibility, blood characteristics and carcass traits in finishing pigs. A total of sixty-four pigs (50.82±0.82 kg, average initial body weight) were assessed over a period of 84 days. Dietary treatments included: 1) CON (basal diet without antibiotics), 2) AD (basal diet + 0.1% Virginiamycin), 3) CD0.5 (basal diet + 0.5% transgenic *B. subtilis*), 4) CD1.0 (basal diet + 1.0% transgenic *B. subtilis*). Each dietary treatment had 4 replicates of 4 pigs per pen in a randomized complete block design. In terms of growth performance, the ADG (average daily gain) and gain/feed ratio were significantly increased with the CD1.0 diet compared to the AD diet during weeks 0-4 ( $p<0.05$ ). During weeks 4-8, the ADG was significantly increased with the AD diet compared to the CON and CD0.5 diets ( $p<0.05$ ). The ADFI was also significantly increased with the AD diet compared to the other diets ( $p<0.05$ ). During weeks 8~12, the ADFI was significantly increased with the CON diet compared to the other diets ( $p<0.05$ ), and the gain/feed ratio was significantly increased with the CD0.5 and CD1.0 diets compared to the AD diet ( $p<0.05$ ). Over the entire 84 day test period, the ADFI was significantly increased with the AD diet compared to the CD0.5 and CD1.0 diets ( $p<0.05$ ). The gain/feed ratio was significantly increased with the CD0.5 and CD1.0 diets compared to the CON diet ( $p<0.05$ ). In terms of meat color, the L value was significantly increased with the CD0.5 diet compared to the CON and AD diets ( $p<0.05$ ), and the a value was significantly increased with the CON diet compared to the other diets ( $p<0.05$ ). In terms of sensory evaluation, meat color was significantly improved with the CON, CD0.5 and CD1.0 diets compared to the AD diet ( $p<0.05$ ). Marbling was significantly increased with the CON diet compared to the other diets ( $p<0.05$ ). Firmness was significantly increased with the CD0.5 diet compared to the AD diet ( $p<0.05$ ). In conclusion, supplementation with transformed *B. subtilis* secreting chitinase improved gain/feed ratios and influenced meat color. Thus, we suggest that transformed *B. subtilis* secreting chitinase can partially substitute for antibiotics.

**Key words :** *Bacillus subtilis*, growth performance, nutrient digestibility, blood and carcass traits, pig

#### 서 론

키틴은 게나 새우 등의 갑각류 껍질에 함유된 물질로서 낮은 용해성으로 인해 널리 이용되지 못하고 있는 실정이

다. 그러나, 용해성을 높이기 위해 키틴을 탈아세틸화하여 키토산으로 분해한 후 널리 이용되었으며 계속적으로 많은 연구들이 진행되어왔다(Landes *et al.*, 1976; Bough *et al.*, 1976; Gordon *et al.*, 1983; Huang, 1998; Kogan *et al.*, 1998). 키틴의 탈아세틸화에 의해 얻어지는 키토산은 높은 안전성과 항균작용, 제산작용, 콜레스테롤 저하 및 종양 억제 작용 등의 효능이 보고되었다(Balasa *et al.*, 1978; Kojima *et al.*, 1979; Hirano *et al.*, 1985; Nishimura

\*Corresponding author : In Ho Kim, Department of Animal Resource and Science, Dankook University, Cheonan 330-714, Korea. Tel: 82-41-550-3652, Fax: 82-41-550-3604, E-mail: inhokim@dankook.ac.kr

et al., 1986; Brine et al., 1992, 정 등, 2004).

키토산을 제조하는 방법에 있어 키틴을 NaOH로 탈아세틸화하여 제조하는 방법이 주로 이용되고 있으나 이는 제조에 있어 많은 양의 에너지를 필요로 하고 제조 후 다량의 강알칼리 용액성 폐기물로 인해 환경오염을 일으킬 수 있을 뿐만 아니라 특정한 분자량과 탈아세틸화도를 가진 키토산을 제조하기 어렵다는 여러 단점 때문에 chitin deacetylase를 이용한 효소적 방법이 주목을 받고 있다(국주희 등, 2005).

이러한 효소적 방법으로 생산된 chitinase는 사람 뿐만 아니라 단위동물인 돼지에서도 마찬가지로 소화관 내에 존재하지 않기 때문에 사료 내에 키틴과 함께 chitinase를 첨가하면 그 이용성을 높일 수 있을 것으로 여겨지며, 특히 장내 유익균인 *Bacillus subtilis*의 형질전환을 통한 chitinase의 분비는 특히 키토산의 항균작용과 더불어 항생제 대체 효과를 가져올 것으로 판단된다.

이에 본 시험에서는 형질전환에 의한 chitinase를 분비하는 *B. subtilis*를 사료 내에 첨가하였을 때 비육돈의 성장, 영양소 소화율, 혈액성상 및 육질에 미치는 영향에 대하여 알아보려고 실시하였다.

## 재료 및 방법

### 시험동물 및 시험설계

3원교잡종(Landrace×Yorkshire×Duroc) 비육돈 64두를 공시하였으며 시험 개시시 체중은  $50.82 \pm 0.82$  kg이었고 84일간 사양시험을 실시하였다.

처리구는 1) CON(basal diet without antibiotics), 2) AD(basal diet + 0.1% Virginiamycin), 3) CD0.5(basal diet + 0.5% transgenic *B. subtilis*), 4) CD1.0(basal diet + 1.0% transgenic *B. subtilis*)로 4처리로 하였으며 처리당 4반복, 반복당 4두씩 완전임의 배치하였다. 본 사양시험에 사용한 *B. subtilis* 농도는  $3 \times 10^8$  CFU/g이었다.

### 시험사료 및 사양관리

시험사료는 NRC(1998) 요구량에 따라 배합한 옥수수-대두박 위주의 사료(Table 1)로서 가루형태로 자유채식토록 하였으며, 물은 자동급수기를 이용하여 자유로이 먹을 수 있도록 조절하였다. Virginiamycin은 (주)다원케미칼의 사료첨가제용 virginiamycin제제를 사용하였으며 형질전환 *B. subtilis*는 (주)나람에서 특허출원한 균주를 사용하였다.

### 조사항목 및 방법

#### 일당증체량, 일당사료섭취량 및 사료효율

체중 및 사료섭취량은 시험 개시시와 4주, 8주, 종료시에 각각 측정하여 일당증체량, 일당사료섭취량 및 사료효

Table 1. Basal diet composition for finishing pigs(as-fed basis)

Ingredient	%
Ground Corn	65.05
Soybean meal	14.40
Rice bran	15.00
Fish meal	3.00
Phosphate	0.95
Oyster shell	0.70
Salt	0.30
Mineral premix	0.30
Vitamin premix	0.30
Total	100.00
Chemical composition	
ME, kcal/kg	3,219
Crude protein, %	15.20
Crude fiber, %	4.66
Crude fat, %	8.17
Lysine, %	0.76
Calcium, %	0.72
Phosphorus, %	0.43

율을 계산하였다. 사료섭취량은 매일 오전 08:00와 오후 08:00에 2회로 나누어 급여하였고, 잔량은 익일 오전 사료 급여 전에 칭량하여 1일 총 사료급여량에서 잔량을 제하여 사료섭취량을 계산하였고, 사료효율은 증체량을 사료섭취량으로 나누어 환산하였다.

### 영양소 소화율

영양소 소화율을 측정하기 위하여 시험 종료시에 표시물로서 산화크롬( $Cr_2O_3$ )을 사료 내 0.2% 첨가하였다. 크롬사료 급여 후 4일 후 분을 채취하였고, 채취한 분은 60°C 열풍건조기에서 72시간 건조시킨 후 Wiley mill로 분쇄하여 분석에 이용하였다. 사료의 일반성분과 표시물로 혼합된 Cr은 AOAC(1990)에 제시된 방법에 의해 분석하였다.

### 혈액성상

혈액채취는 각 처리구당 4두를 임의선발하여 개시와 종료에 각각 경정맥(Jugular vein)에서  $K_3EDTA$  Vacuum tube(Becton Dickinson Vacutainer Systems, Franklin Lakes, NJ)를 이용하여 혈액을 2 mL 채취하여 분석하였고, 자동혈액분석기(ADVID 120, Bayer, USA)를 이용하여 WBC(white blood cell), RBC(red blood cell) 및 lymphocyte를 조사하였다. 또한 혈청 생화학적 검사는 시험 개시와 종료시에 Vacuum tube(Becton Dickinson Vacutainer Systems, Franklin Lakes, NJ, USA)를 이용하여 혈액을 5 mL 채취하여 4°C에서 2,000 g로 30분간 원심분리하여 혈청을 분석에 이용하였다. 혈청 중 total protein 및 albumin은 각각 Biuret method와 BCG(bromo cresol green) 방법으로 자동생화학분석기(Hitachi 747, Japan)를 이용하여 분석하였고, IgG

는 nephelometry 방법으로 Nephelometer(Behring, Germany) 분석기계를 이용하여 분석하였다.

**육질특성**

육질분석에 사용된 돈육은 각 처리 별로 6두씩을 임의 선발하여 도살 후 4°C 냉장고에서 24시간 저장 후 반도체 등심 부위(*M. longissimus dorsi*)를 분할 정형하여 분석에 이용하였다. 육즙 손실(drip loss)은 시료를 2 cm 두께의 일정한 모양으로 정형한 후 polyethylene bag에 넣어 4°C 냉장실에서 7일간 보관하면서 1일, 4일, 7일 후 감량을 측정하여 백분율로 계산하였다. 육의 pH 값은 도살 후 2시간 이내에 모든 시료를 pH meter(Istek, model 77p)를 사용하여 측정하였으며 25°C에서 pH standard solution(pH 4, 7, 10)으로 보정한 후 등심부위를 시료 당 3반복씩 측정하였다. 육색은 Chromameter(Model CR-210, Minolta Co., Japan)를 사용하여 각 sample 당 5회 반복하여 측정하였으며, 이때 표준색판은 L(lightness)=89.2, a(redness)=0.921, b(yellowness)=0.783으로 하였다. 육안검사는 5명의 관능검사요원을 구성하여 수행하였으며, National Pork Procedure Council(NPPC, 1994) 기준안에 의해 신선육의 육색(color:1-5), 근내지방도(marbling:1-5), 경도(firmness: 1-5)를 조사하였다. 등심단면적은 구적기(MT precision model MT-10S)를 이용하여 등심단면적을 측정하였다. 도체 등급은 시험 종료시 충남 천안시 도축장에서 각 처리구마다 110 kg 도달시 도축(탕박)하여 축산물 등급판정소 소속 등급사에 의

해 수행하였다.

**통계처리**

모든 자료는 SAS(1996)의 General Linear Model procedure를 이용하여 Duncan's multiple range test(Duncan, 1955)로 처리하여 평균 간의 유의성을 검정하였다.

**결과 및 고찰**

비육돈에 있어 키틴분해효소를 분비하는 형질전환 *B. subtilis*의 사료내 첨가가 일당증체량, 일당사료섭취량 및 사료효율에 미치는 영향을 Table 2에 나타내었다. 0-4주 동안의 일당증체량과 사료효율에서는 CD1.0 처리구가 AD 처리구와 비교하여 유의적으로 증가하였다( $p < 0.05$ ). 그러나 일당사료섭취량에서는 처리구간에 거의 차이가 없었다( $p > 0.05$ ). 4-8주 동안의 일당증체량은 AD 처리구가 CON 과 CD0.5 처리구와 비교하여 유의적으로 증가하였다( $p < 0.05$ ). 일당사료섭취량에서는 AD 처리구가 CON, CD0.5 및 CD1.0 처리구와 비교하여 유의적으로 증가하였다( $p < 0.05$ ). 그러나 사료효율에서는 처리구간에 큰 차이를 보이지 않았다( $p > 0.05$ ). 8-12주 동안의 일당증체량은 처리구간에 차이가 없었으나( $p > 0.05$ ), 일당사료섭취량에서는 CON 처리구가 CD0.5 및 CD0.1 처리구와 비교하여 유의적으로 증가하였고( $p < 0.05$ ), 사료효율에서는 CD0.5와 CD1.0 처리구가 CON 처리구와 비교하여 유의적으로 증가하였다

**Table 2. Effects of transgenic *B. subtilis* secreting chitinase supplementation on growth performance in finishing pigs**

Item	CON <sup>1)</sup>	AD <sup>1)</sup>	CD0.5 <sup>1)</sup>	CD1.0 <sup>1)</sup>	SE <sup>2)</sup>
Initial BW, kg	50.89	50.75	50.86	50.76	
Finish BW, kg	116.00	119.13	116.04	118.88	
0-4 weeks					
ADG <sup>3)</sup> , kg	0.701 <sup>ab</sup>	0.611 <sup>b</sup>	0.669 <sup>ab</sup>	0.714 <sup>a</sup>	0.033
ADFI <sup>3)</sup> , kg	2.000	1.906	1.869	1.935	0.047
Gain/Feed	0.351 <sup>ab</sup>	0.321 <sup>b</sup>	0.358 <sup>ab</sup>	0.369 <sup>a</sup>	0.018
4-8 weeks					
ADG <sup>3)</sup> , kg	0.850 <sup>b</sup>	0.998 <sup>a</sup>	0.829 <sup>b</sup>	0.910 <sup>ab</sup>	0.031
ADFI <sup>3)</sup> , kg	2.715 <sup>b</sup>	3.006 <sup>a</sup>	2.526 <sup>b</sup>	2.687 <sup>b</sup>	0.077
Gain/Feed	0.313	0.332	0.328	0.339	0.015
8-12 weeks					
ADG <sup>3)</sup> , kg	0.775	0.834	0.829	0.808	0.031
ADFI <sup>3)</sup> , kg	2.595 <sup>a</sup>	2.498 <sup>ab</sup>	2.372 <sup>bc</sup>	2.283 <sup>c</sup>	0.069
Gain/Feed	0.299 <sup>b</sup>	0.334 <sup>ab</sup>	0.349 <sup>a</sup>	0.354 <sup>a</sup>	0.015
Overall					
ADG <sup>3)</sup> , kg	0.775	0.814	0.776	0.811	0.017
ADFI <sup>3)</sup> , kg	2.437 <sup>ab</sup>	2.470 <sup>a</sup>	2.256 <sup>c</sup>	2.302 <sup>bc</sup>	0.052
Gain/Feed	0.318 <sup>b</sup>	0.330 <sup>ab</sup>	0.344 <sup>a</sup>	0.352 <sup>a</sup>	0.009

<sup>1)</sup>Abbreviated CON, basal diet; AD, basal diet + 0.1% virginiamycin ; CD0.5, basal diet + 0.5% transgenic *B. subtilis*; CD1.0, basal diet + 1.0% transgenic *B. subtilis*.

<sup>2)</sup>Pooled standard error.

<sup>3)</sup>ADG, Average daily gain; ADFI, Average daily feed intake.

<sup>abc</sup>Means in the same row with difference superscripts differ ( $p < 0.05$ ).

( $p < 0.05$ ). 전체 사양시험기간동안, 일당증체량에서는 처리구간에 유의적인 차이를 보이지 않았다( $p > 0.05$ ). 일당사료섭취량에서는 AD 처리구가 CD0.5와 CD1.0 처리구와 비교하여 크게 증가하였고( $p < 0.05$ ), 사료효율에서는 CD0.5와 CD1.0 처리구가 CON 처리구보다 크게 증가하였다( $p < 0.05$ ). 하지만, 전체 사양기간동안 사료효율에서 CD0.5 및 CD1.0 처리구가 CON 처리구보다 매우 높은 결과를 나타내었다( $p < 0.05$ ).

Kim 등(2003)이 이유자돈에 Cu를 킬레이트한 Chitosan-Cu를 첨가급여한 시험에서 일당증체량에 있어 Chitosan-Cu 첨가구가 대조구보다 높은 경향을 나타냈으며 사료섭취량과 사료효율에서 처리 간 유의적인 차이가 없다는 보고와 Kil 등(2004)이 이유자돈에서 육성돈까지 생균제를 첨가급여한 시험에서 일당증체량은 대조구가 생균제 첨가구와 비교하여 유의적으로 높았으며 사료효율에서는 유의적인 차이를 보이지 않았다는 보고하였다. 또한, Kim 등(2003)은 비육돈 사료내 발효 키토산 첨가시 일당증체량이 향상되었으며 사료섭취량과 사료효율에는 아무런 영향을 미치지 않았다고 보고하였다. 이러한 연구결과들은 본 연구결과와 상이하였다. 그러나, Yang 등(1998)이 육성비육돈에 복합생균제를 첨가급여한 시험에서 일당증체량에 있어 생균제를 첨가한 처리구가 대조구와 비교하여 유의적으로 높았다는 보고와는 일치하였다. 본 시험에서는 사료효율에 있어서 항생제 처리구인 AD 처리구와 *B. subtilis* 첨가구인 CD0.5와 CD1.0 처리구간에 유의적인 차이는 없었으나 유사한 사료효율을 보이기 때문에 항생제를 부분적으로 대체할 수 있을 것으로 사료된다.

비육돈에 있어 키틴분해효소를 분비하는 형질전환 *B. subtilis*의 사료내 첨가가 영양소 소화율에 미치는 영향을 Table 3에 나타내었다. 건물, 질소 및 인 소화율에서 처리구간에 유의적인 차이를 보이지 않았다( $p > 0.05$ ). Kim 등(2003)이 이유자돈에 Chitosan-Cu를 첨가급여한 시험에서도 건물, 조단백, 조지방, 조회분과 NFE의 영양소 이용률에서 유의적인 차이를 보이지 않았다는 보고와 일치하였다. 그러나, Kil 등(2004)이 이유자돈에 생균제를 첨가급여한 시험에서는 건물, 질소 소화율에서 대조구가 생균제 처리구와 비교하여 유의적으로 낮았다는 보고와는 상이한

**Table 3. Effects of transgenic *B. subtilis* secreting chitinase supplementation on nutrient digestibility in finishing pigs**

Item, %	CON <sup>1)</sup>	AD <sup>1)</sup>	CD0.5 <sup>1)</sup>	CD1.0 <sup>1)</sup>	SE <sup>2)</sup>
DM	80.38	80.13	80.32	80.38	0.56
N	78.23	77.12	77.66	76.66	1.25
P	47.13	48.71	47.76	47.93	2.23

<sup>1)</sup>Abbreviated CON, basal diet; AD, basal diet + 0.1% virginiamycin; CD0.5, basal diet + 0.5% transgenic *B. subtilis*; CD1.0, basal diet + 1.0% transgenic *B. subtilis*.

<sup>2)</sup>Pooled standard error.

결과를 나타내었다.

비육돈에 있어 키틴분해효소를 분비하는 형질전환 *B. subtilis*의 사료내 첨가가 혈액성상에 미치는 영향을 Table 4에 나타내었다. 혈액 내 total protein, albumin, IgG, RBC, WBC 및 lymphocyte의 함량에서는 개시시, 종료시 및 변화량 모두 처리구간에 차이를 보이지 않았다( $p > 0.05$ ). Kim 등(2003)이 이유자돈에 Chitosan-Cu를 첨가급여한 시험에서 IgG 함량이 대조구에 비해 낮았다는 보고와 Kil 등(2004)이 이유자돈 및 육성돈에 생균제를 첨가급여한 시험에서 IgG 함량이 대조구에 비해 생균제 첨가구가 낮았다는 보고와는 상이하였다. 비록 본 시험에서는 면역과 관련하여 처리구간에 유의적인 차이를 보이지 않았으나 키토산은 일반적으로 면역증강효과가 있다고 알려져 있으며 이와 관련된 연구들도(Nishimura *et al.*, 1984, 1985, 1986; Suzuki *et al.*, 1986; Tokoro *et al.*, 1988, 1989) 다수 보고되어 있는바 좀 더 많은 연구가 필요하다고 사료된다.

비육돈에 있어 키틴분해효소를 분비하는 형질전환 *B. subtilis*의 사료내 첨가가 육질특성에 미치는 영향을 Table

**Table 4. Effects of transgenic *B. subtilis* secreting chitinase supplementation on blood characteristics in finishing pigs**

Item	CON <sup>1)</sup>	AD <sup>1)</sup>	CD0.5 <sup>1)</sup>	CD1.0 <sup>1)</sup>	SE <sup>2)</sup>
Total protein, g/dL					
Initial	6.90	7.30	6.88	6.93	0.30
Finish	7.23	6.83	7.13	7.20	0.18
Difference	0.33	-0.47	0.25	0.27	0.40
Albumin, g/dL					
Initial	3.78	3.33	3.48	3.43	0.16
Finish	4.03	4.08	4.20	4.08	0.11
Difference	0.25	0.75	0.72	0.65	0.19
IgG <sup>3)</sup> , mg/dL					
Initial	1071.25	1140.75	1112.00	938.00	67.87
Finish	893.30	890.50	920.50	973.30	81.78
Difference	-177.95	-250.25	-191.50	35.30	109.98
RBC <sup>3)</sup> , $\times 10^6/\mu\text{L}$					
Initial	6.36	6.41	5.92	5.67	0.36
Finish	7.51	7.76	7.32	7.49	0.16
Difference	1.15	1.35	1.40	1.82	0.35
WBC <sup>3)</sup> , $\times 10^3/\mu\text{L}$					
Initial	17.30	21.71	21.30	20.95	1.88
Finish	25.82	19.76	21.09	19.69	2.96
Difference	8.52	-1.95	-0.21	-1.26	3.27
Lymphocyte, %					
Initial	42.75	32.50	44.00	44.50	6.15
Finish	61.00	60.50	61.00	59.75	4.24
Difference	18.25	28.00	17.00	15.25	7.00

<sup>1)</sup>Abbreviated CON, basal diet; AD, basal diet + 0.1% virginiamycin; CD0.5, basal diet + 0.5% transgenic *B. subtilis*; CD1.0, basal diet + 1.0% transgenic *B. subtilis*.

<sup>2)</sup>Pooled standard error.

<sup>3)</sup>IgG, immunoglobulin G; RBC, red blood cell; WBC, white blood cell.



**Table 5. Effects of transgenic *B. subtilis* secreting chitinase supplementation on meat quality in finishing pigs**

Item	CON <sup>1)</sup>	AD <sup>1)</sup>	CD0.5 <sup>1)</sup>	CD1.0 <sup>1)</sup>	SE <sup>2)</sup>
Drop loss, %					
1 day	3.67	1.95	2.63	3.49	0.93
4 days	8.99	9.67	6.96	10.11	1.47
7 days	11.57	11.94	9.38	11.30	1.38
pH	5.50	5.49	5.49	5.50	0.01
Meat color					
Lightness (L)	40.54 <sup>b</sup>	37.81 <sup>c</sup>	42.83 <sup>a</sup>	42.58 <sup>ab</sup>	0.76
Redness (a)	13.54 <sup>a</sup>	8.18 <sup>c</sup>	10.05 <sup>b</sup>	9.17 <sup>bc</sup>	0.51
Yellowness (b)	2.70	3.19	2.48	2.75	0.24
Sensory evaluation					
Color	2.21 <sup>a</sup>	1.85 <sup>b</sup>	2.40 <sup>a</sup>	2.46 <sup>a</sup>	0.09
Marbling	2.58 <sup>a</sup>	2.04 <sup>b</sup>	2.04 <sup>b</sup>	1.90 <sup>b</sup>	0.09
Firmness	1.98 <sup>ab</sup>	1.73 <sup>b</sup>	2.04 <sup>a</sup>	1.94 <sup>ab</sup>	1.10
Loin area, cm <sup>2</sup>	44.22	45.08	43.94	45.39	2.01
Carcass Grade <sup>3)</sup>	1.75	1.50	1.88	1.75	0.45

<sup>1)</sup>Abbreviated CON, basal diet; AD, basal diet + 0.1% virginiamycin; CD0.5, basal diet + 0.5% transgenic *B. subtilis*; CD1.0, basal diet + 1.0% transgenic *B. subtilis*.

<sup>2)</sup>Pooled standard error.

<sup>3)</sup>1 : A grade, 2 : B grade, 3 : C grade

<sup>abc</sup>Means in the same row with difference superscripts differ ( $p < 0.05$ ).

5에 나타내었다. 육즙손실, pH, 등심 단면적 및 도체등급에서는 처리구간에 차이를 보이지 않았다( $p > 0.05$ ). 육색에서 L 값은 CD0.5 처리구가 CON과 AD 처리구보다 크게 높았으며( $p < 0.05$ ), a 값은 CON 처리구가 AD, CD0.5 및 CD1.0 처리구와 비교하여 크게 높았다( $p < 0.05$ ). 그러나 b 값은 처리구간에 유의적인 차이를 보이지 않았다( $p > 0.05$ ). 관능검사에서 육색은 CON, CD0.5 및 CD1.0 처리구가 AD 처리구와 비교하여 유의적으로 높았으며( $p < 0.05$ ), 근내지방도는 CON 처리구가 AD, CD0.5 및 CD1.0 처리구와 비교하여 매우 높았다( $p < 0.05$ ). 경도에서는 CD0.5 처리구가 AD 처리구와 비교하여 매우 높았다( $p < 0.05$ ).

Kim 등(2003)은 비육돈에 키토산 발효사료를 급여하였을 때 등심의 육색에서 a 값이 CON 처리구와 비교하여 낮았다는 보고와는 일치하였으나 L 값과 b 값에서는 상이한 결과를 나타내었다. 또한 Jin 등(2006)이 자돈시기부터 비육시기까지 복합생균제를 급여한 시험에도 육색에 있어 a 값이 복합생균제를 급여한 처리구가 생균제를 급여하지 않은 처리구와 비교하여 유의적으로 낮았다는 보고와 상이한 결과를 나타내었다. 그러나, Ha 등(2005)이 비육돈 사료에 생균제를 첨가급여한 시험에서는 생균제 처리구가 생균제를 첨가하지 않은 처리구와 비교하여 a 값이 월등히 높게 나타났다는 보고는 본 시험과 일치하였다.

본 시험에서 CD0.5와 CD1.0 처리구가 AD 처리구보다 관능검사의 경우 육색에서 유의적으로 높았을 뿐만 아니라 a 값에서 비록 CD0.5 처리구가 CON 처리구와 비교하

여 낮았으나 AD 처리구보다는 유의적으로 높은 결과를 보여 키틴분해효소를 분비하는 형질전환 *B. subtilis* 첨가급여로 인해 돈육의 육색을 개선시킬 수 있을 것으로 사료된다.

## 요 약

본 시험은 키틴분해효소를 분비하는 형질전환 *B. subtilis*의 사료내 첨가가 비육돈의 성장, 영양소 소화율, 혈액성상 및 육질에 미치는 영향을 알아보기 위하여 실시하였다. 3원교잡종(Landrace×Yorkshire×Duroc) 비육돈 64두를 공시하였으며 시험 개시시 체중은  $50.82 \pm 0.82$  kg이었고 84일간 사양시험을 실시하였다. 처리구는 1) CON(basal diet without antibiotics), 2) AD(basal diet + 0.1% Virginiamycin), 3) CD0.5(basal diet + 0.5% transformed *B. subtilis*) 및 4) CD1.0(basal diet + 1.0% transformed *B. subtilis*)로 4 처리로 하였으며 처리당 4반복, 반복당 4두씩 완전임의 배치하였다. 본 사양시험에 사용한 *B. subtilis* 농도는  $3 \times 10^8$  cfu/g이었다. 성장에 있어서 0-4주 동안에는 일당증체량과 사료효율에서 CD1.0 처리구가 AD 처리구보다 유의적으로 증가하였으며( $p < 0.05$ ), 4-8주 동안에는 일당증체량과 사료섭취량에서 있어 AD 처리구가 CON 처리구와 형질전환 *B. subtilis* 첨가구에 비해 향상되었다( $p < 0.05$ ). 8-12주 동안의 일당사료섭취량에서 CON 처리구가 형질전환 *B. subtilis* 첨가구와 비교하여 유의적으로 증가하였으며( $p < 0.05$ ) 사료효율에서는 형질전환 *B. subtilis* 첨가구가 AD 처리구보다 유의적으로 증가하였다( $p < 0.05$ ). 전체 사양기간 동안에는 일당사료섭취량에서 AD 처리구가 형질전환 *B. subtilis* 첨가구와 비교하여 유의적으로 증가하였으며( $p < 0.05$ ) 사료효율에서는 형질전환 *B. subtilis* 첨가구가 CON 처리구와 비교하여 유의적으로 증가하였다( $p < 0.05$ ). 육색에 있어서 명도를 나타내는 L 값은 CD0.5 처리구가 CON 처리구 및 AD 처리구에 비해 개선되었으며( $p < 0.05$ ), 적색도를 나타내는 a 값은 CON 처리구가 AD 및 CD0.5 처리구와 비교하여 유의적으로 증가하였다( $p < 0.05$ ). 관능검사에서 육색은 CON 처리구, 형질전환 *B. subtilis* 첨가구가 AD 처리구와 비교하여 유의적으로 증가하였으며( $p < 0.05$ ) 근내지방도는 CON 처리구가 다른 처리구들과 비교하여 유의적으로 증가하였다( $p < 0.05$ ). 경도에서는 CD0.5 처리구가 AD 처리구와 비교하여 유의적으로 증가하였다( $p < 0.05$ ). 본 시험결과, 사료효율, 육색에서 키틴분해효소를 분비하는 형질전환 *B. subtilis*의 첨가급여로 항생제의 부분적 대체가 가능하다고 사료된다.

## 참고문헌

1. AOAC (1990) Official Methods of Analysis. 15<sup>th</sup>ed. Association of Official Analytical Chemists. Arlington, VA, USA.

2. Balasa, L. L. and Pruden, J. F. (1978) Applications of chitin and chitosan in wound-healing acceleration, In: Proceedings of the first international conference on chitin/chitosan. Muzzarelli, R. A. A. and Pariser, E. R. (ed). Cambridge. pp. 296-305.
3. Bough, W. A. and Landes, D. R. (1976) Recovery and nutritional evaluation of proteinaceous solids separated from whey by coagulation with chitosan. *J. Dairy Sci.* **59**, 1874-1880.
4. Brine, C. J., Sandford, P. A., and Zikakis, J. P. (1992) Advanced chitin and chitosan. Elsevier, New York.
5. Gordon, D. T. and Williford, C. B. (1983) Chitin and chitosan: influence on element absorption in rats, ACS Symposium Series 214, Unconventional Source of Dietary Fibers. pp. 156-184.
6. Hirano, S., Tanaka, Y., Hasegawa, M., Tobetto, K., and Nishioka, A. (1985) Effect of sulfated derivatives of chitosan on some blood coagulant factors. *Carbohydr. Res.* **137**, 205-217.
7. Kogan G., Machora E., Chorvatovicova D. and Sandula J. (1998) Chitin-glucan complex of *Aspergillus niger* and its derivatives: Antimutagenic and antiinfective activity. *J. Chitin Chitosan* **3**, 405-405.
8. Kojima, K., Yoshikuni, M., and Suzuki, T. (1979) Tributylborane-initiated Grafting of methyl methacrylate onto chitin. *J. Appl. Polym. Sci.* **24**, 1587-1593.
9. Landes, D. R. and Bough, W. A. (1976) Effect of chitin-a coagulating agent for food processing wastes in the diets of rats on growth and liver and blood composition. *Bull. Environm. Contam. Toxicol.* **15**, 555-563.
10. Nishimura, K., Nishihara, S., Nishi, N., Tokura, S., and Azuma, I. (1984) Immunological activity of chitin and its derivatives. *Vaccine* **2**, 93-99.
11. Nishimura, K., Nishimura, S., Nishi, N., Numata, F., Tone, Y., Tokura, S., and Azuma, I. (1985) Adjuvant activity of chitin derivatives in mice and guinea-pigs. *Vaccine* **13**, 379-384.
12. Nishimura, K., Ishihara, C., Ukei, S., Tokura, S. and Azuma, I. (1986) Stimulation of cytokine production in mice using deacetylated chitin. *Vaccine* **4**, 151-156.
13. Nishimura, K., Nishihara, L., Seo, H., Nishi, N., Tokura, S., and Azuma, I. (1986) Macrophage activation with multiporous beads prepared from partially deacetylated chitin. *J. Biomed. Mat. Res.* **20**, 1359-1372.
14. Shih-Yow Huang. (1998) Chitine and chitosan as the carriers for enzyme immobilization and elicitors for plant cell culture. *J. Chitin Chitosan* **3**, 405-405.
15. Suzuki, k., Mikami, T., Okawa, Y., Tokoro, A., Suzuki, S., and Suzuki, M. (1986) Antitumor effect of hexa-*N*-acetylchitohexaose and chitohexaose. *Carbohydr. Res.* **151**, 403-408.
16. Tokoro, A., Tatewaki, N., Suzuki, K., Mikami, T., Suzuki, S. and Suzuki, M. (1988) Growth-inhiitory effect of hexa-*N*-acetylchitohexaose an chitohexaose against Meth-A solid tumor. *Chem. Pharm. Bull.* **36**, 784-790.
17. Tokoro, A., Kobayashi, M., Tatewaki, N., Suzuki, S., and Suzuki, M. (1989) Protective effect of *N*-acetyl chitohexaose on *Listeria monocytogenes* infection in mice. *Microbiol. Immunol.* **33**, 357-367.
18. Kuk J. H., Jung W. J., Kim K. Y., and Park R. D. (2005) Enzymatic characteristics and applications of microbial chitin deacetylases. *Kor. J. Microbiol. Biotechnol.* **33**, 9-15.
19. Kim B. H., Lim H. S., Namkung H., and Paik I. K. (2003) Effect of copper chelates (Methionine-Cu, Chitosan-Cu and Yeast-Cu) as the supplements to weaning pig. *J. Anim. Sci. Technol.(Kor.)* **45**, 49-56.
20. Kim J. W., Kim J. D., Seong K. S., and Kang S. N. (2003) Addition of fermented chitosan on carcass composition and physico-chemical characteristics of meat in finishing pigs. *J. Anim. Sci. & Technol.(Kor.)* **45**, 463-472.
21. Kil, D. Y., Lim, J. S., Tian, J. Z., Kim, B. G., Kim, K. S., and Kim, Y. Y. (2004) Effect of continuous feeding of probiotics on growth performance, nutrient digestibility, blood urea nitrogen and immune responses in pigs. *J. Anim. Sci. Technol.(Kor.)* **46**, 39-48.
22. Yang, S. J., Hyon, J. S., Yang, C. B., Ko, S. M., and Choi, H. H. (1998) Studies on the effects of feed additives fed to pigs - Effects of feeding probiotics on the growth performance and carcass quality in pigs. *Korean J. Anim. Sci.* **40**, 21-30.
23. Jung, B. Y., Paik, I. K., Lee, D. M., and Seo, S. B. (2004) Research papers : The effects of a chitosan product supplementation on the performance of broiler breeders, broilers, pigs and dairy cattle. *J. Chitin Chitosan* **9**, 168-174.
24. Jin, S. K., Kim, I. S., Song, Y. M., Ha, J. H., Park, K. H., Lee, J. I., Lee, J. R., and Lee, C. W. (2006) Effects of feeding probiotics on quality properties of pork. *Korean. J. Food Sci. Ani. Resour.* **26**, 49-57.
25. Hah, K. H., Lee, C. W., Jin, S. K., Kim, I. S., Song, Y. M., Hur, S. J., Kim, H. Y., Lyou, H. J., and Ha, J. H. (2005) Effect of feeding probiotics on physico-chemical properties and sensory evaluation of pork. *Korean. J. Food Sci. Ani. Resour.* **25**, 295-303.
26. 강문일 (2000) 축산분야내 Chitin 및 chitosan-oligomer의 활용; 친환경 안전사료 연구회 세미나 제3회 pp. 33-66.

(2007. 6. 11 접수/2008. 3. 25 수정1/2008. 5. 20 수정2/  
2008. 5. 23 채택)