

## 복합 생균제의 생산과 산란계에서 생균제의 적정 급여 수준에 의한 산란 효과

김형준<sup>1</sup> · 이봉기<sup>2</sup> · 석호봉<sup>3\*</sup>

<sup>1</sup>(주)대호 중앙연구소, <sup>2</sup>금강LF, <sup>3</sup>단국대학교 동물자원학과

### Production of Multiple Probiotics and the Performance of Laying Hens by Proper Level of Dietary Supplementation

Hyung Jun Kim<sup>1</sup>, Bong Ki Lee<sup>2</sup> and Ho Bong Seok<sup>3\*</sup>

<sup>1</sup>Central Research Institute of DAEHO Co. Ltd., Hwasung 445-933, Korea

<sup>2</sup>KK Layer Farms Co. Ltd., Nonsan 320-952, Korea

<sup>3</sup>Department of Animal Science, Dankook University, Cheonan 330-714, Korea

**ABSTRACT** This experiment was conducted to evaluate the dietary effects of multiple mixture of probiotics on laying performance and the faecal examination in laying hens (Hy-line Brown) at the early (21~40 wk) and middle (41~65 wk) laying term. Multiple probiotics were produced by developing products and the properties of microorganisms were examined for detecting of acid-resistance, bile salt-resistance and antibacterial activity against pathogenic enteric bacteria. Probiotics produced to the fermenting cultures of four selected organisms and soybean meal substrates by nine steps of NK proliferating system. The most microorganisms were shown higher resistance of acidity and bile salt. High antibacterial activities against *Bacillus subtilis*, *Lactobacillus plantarum* and *Enterococcus faecium* were observed, but was not against *Saccharomyces cerevisiae*. Total egg production of the treatment was significantly higher than control group but was not statistically different between 0.1% and 0.2% treatments ( $P>0.05$ ). Average egg weight of the treatment in early laying term was also significantly higher than control but was not significantly different between 0.1% and 0.2% treatments ( $P>0.05$ ). But the egg weight of the treatment in middle laying term was significantly higher than control and between 0.1% and 0.2% treatments ( $P>0.05$ ). The mortality of 0.2% treatment was significantly lower than control ( $P<0.05$ ), and 0.2% treatment in the early laying term was tended to decreased than 0.1% treatment and control. But there was not significantly between 0.1% and 0.2% treatments in middle laying term. In feed intake, 0.2% treatment in middle laying term was significantly increased than control and 0.1% treatment ( $P<0.05$ ) but not in early laying term. In faecal examination, the total number of *Lactobacillus* of 0.1% treatment was significantly increased than control in whole laying term ( $P<0.05$ ), but *Coli* form of the treatment was decreased than control in middle laying term. In conclusion, dietary long term supplementation of multiple probiotics improved performance of lay hens, egg weight and mortality drop by regulating enteric bacteria.

(Key words : multiple probiotics, laying hens, performance, mortality, dietary supplementation)

## 서 론

금년 7월부터 가축의 무항생제 급여가 실시되고 있고, 그 대안으로 항생제 대체 물질인 direct-fed microbials(DFM) 형태의 생균제 사용이 중요시 되고 있다(Fuller, 1989; Martin and Nisbet, 1992). 생균제를 가축에 급여함으로써 장내에서 *E. coli*를 억제하고(Fuller, 1973; Baba et al., 1991), *Salmonella*와 *Campyrobacter*의 증식을 조절하는 기능 외에 장내의

유익한 미생물 수를 증가시킨다는 보고가 있으며(Weinack et al., 1985), 가금에 있어서는 단일제제보다 2종 이상이 조합된 복합 생균제의 사용이 효과적이며(Timmerman et al., 2004), 특히 산란계에서는 복합 생균제 급여가 산란율, 사료 효율, 난중 및 난백의 품질을 개선시켰다는 보고가 있다(Tortuero and Fernandez, 1995). 생균제의 가축에 미치는 총괄적인 효과는 증체량, 사료 효율, 장내 세균 총 개선 및 암모니아가스 감소, 파리 유충 감소가 있다. 또한 생균제와 항생제

\* To whom correspondence should be addressed : hobong@dankook.ac.kr

의 급여 효과를 비교 실험한 결과에서는 유산균 제제를 급여할 경우 항생제 투여 시 보다 증체량 개선 및 장내 대장균의 감소가 더 크게 나타났다는 보고가 있다(Francis et al., 1978). 사료에 첨가되는 생균제의 균수의 경우 산란계에서  $4.4 \times 10^7$  cfu/g 수준의 급여에 의해 난중 및 산란율이 증가되었으며(Nahashon et al., 1993), 사료에  $4 \times 10^6$  cfu/g 수준으로 급여하면 산란율 및 사료 효율이 개선되었고, 난황의 콜레스테롤을 약 18.8% 감소시켰다는 보고가 있다(Haddadin et al., 1996). 그러나 Watkins and Kratzer(1984)는 생균제의 급여가 가축의 생산성에 영향을 미치지 못하였으며, Cerniglia et al.(1983)과 Goodling et al.(1987)은 산란계에서 *Lactobacillus* 계통의 생균제 급여구는 대조구와 산란율, 사료 효율, 난중의 차이가 없었다고 하였다.

동물의 소화 기관에는 혐기성 세균이 우점하고 있으며, 소화기 상부에는 *L. acidophilus*, 중부에는 *B. subtilis*, 하부에는 *S. facium*이 정착하기 알맞기 때문에 이를 고려한 혼합 생균제를 이용하면 그 효과를 증진시킬 수 있다고 하였다(백인기, 1989). 지금까지 국내외에서 복합 생균제에 대한 많은 연구가 진행되어 왔으나, 생균제의 생산에 사용된 균주의 특성이 미흡하고 시험 기간이 비교적 짧으며, 대단위 산란 농장 적용 시험 사례가 거의 없었다. 따라서 본 연구는 복합 균주에 의한 고상식 발효의 복합 생균제 생산과 균 특성을 조사하고 산란 전용 농장에서 장기간 적정 급여에 의한 산란계의 생산성과 산란 효과에 미치는 영향을 조사하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 공시 동물 및 실험 사료

본 시험은 17~18주령의 Hy-Line Brown 산란계 농장에서 8단 6월의 케이지 구간을 각 2열씩 나누어 모두 3개 처리구(Control, T1, T2)로서 처리 당 3반복, 반복 당 33,000수씩 공시하였다. 시험 구간은 T1, T2에 대하여 복합 생균제를 각각 0.1%, 0.2%를 첨가하였고, Control은 무첨가하여 급여하였다(Table 1). 처리수별 산란율, 난중, 폐사율과 사료 섭취량을 산란 초기 21~40주, 산란 중기 41~65주까지 나누어 조사하였다. 시험 기간 동안 물과 사료는 무제한 급여를, 점등은 16L:8D로 일정하게 유지하였으며, 기타 사양 관리는 국내 일반사양관리 방법에 준하여 실시하였다. 실험 기간은 2010년 2월 28일부터 2011년 4월 16일까지 조사하였다. 사료는 옥수수-대두박을 기초로 하여 대사 에너지 2,904 kcal/kg 과 15.0%의 조단백질 그리고 기타 영양소의 수준은 NRC 요구량(1994)에 맞추거나 상회하도록 기초 사료를 배합하여

Control 사료로 사용하였다.

### 2. 실험 시료

사용한 생균제(Table 2)는 (주)대호 중앙연구소 개발제품으로 사료 내에 무첨가, 0.1% 및 0.2% 비율로 혼합하여 공급하였다.

제품의 생산 과정은 효모(*Saccharomyces cerevisiae*)를 제외한 3종의 균주를 각각 121°C에서 30분간 멸균된 대두박을 기질로 하여 48시간 동안 발효, 건조한 후 분말 과정을 통하여 생산된 원료를 최종 제품화 과정에서 혼합하여 생산하였

**Table 1.** Diet composition (as-fed basis)

Ingredient	%
Corn	50.4
Soybean meal	18.7
Wheat grain	10.0
Corn gluten meal	2.00
Wheat bran	5.00
Animal fat	4.40
Limestone	7.50
Tricalcium phosphate, P 18%	1.40
Salt	0.30
DL-methionine, 50%	0.10
Vitamin premix <sup>1</sup>	0.10
Mineral premix <sup>2</sup>	0.10
Chemical composition <sup>3</sup>	
ME (kcal/kg)	2,904
Crude protein (%)	15.00
Lysine (%)	0.80
Methionine (%)	0.32
Calcium (%)	3.25
Phosphorus (%)	0.61

<sup>1</sup>Provided per kg of diet: 125,000 IU vitamin A; 2,500 IU vitamin D<sub>3</sub>; 10 mg vitamin E; 2 mg vitamin K<sub>3</sub>; 1 mg vitamin B<sub>1</sub>; 5 mg vitamin B<sub>2</sub>; 1 mg vitamin B<sub>6</sub>; 15 mg vitamin B<sub>12</sub>; 500 mg folic acid; 35,000 mg niacin; 10,000 mg Ca-pantothenate and 50 mg biotin.

<sup>2</sup>Provided per kg of diet: 8 mg Mn; 60 mg Zn; 25 mg Cu; 40 mg Fe; 0.3 mg.

<sup>3</sup>Calculated values.

**Table 2.** The number of microorganism population in the product<sup>1</sup>

Item	Content
<i>Lacobacillus plantarum</i> <sup>a</sup>	2.0×10 <sup>8</sup> cfu/g
<i>Enterococcus faecium</i> <sup>b</sup>	2.0×10 <sup>8</sup> cfu/g
<i>Bacillus subtilis</i> <sup>c</sup>	3.5×10 <sup>8</sup> cfu/g
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> <sup>d</sup>	1.0×10 <sup>7</sup> cfu/g
Chemical composition (As fed basis)	
Dry matter (%)	92.7
Crude protein (%)	35.09
Crude fiber (%)	2.72
Crude fat (%)	0.04
Ca	0.85
P	0.45
Cd	nd*
Hg	nd
Aflatoxin	nd
<i>E. coli</i>	nd
<i>Salmonella</i>	nd

<sup>1</sup>Product was originated from Daeho Co., Ltd. <sup>a</sup>KCTC 0608BP,

<sup>b</sup>KCTC0609BP, <sup>c</sup>KCTC11427BP, <sup>d</sup>KCTC0610BP.

\*nd=not detected.

으며, 효모는 액상 발효(30℃, 24 hr) 후 회수된 균주를 분말 제조한 원료를 최종 제품화 과정에 첨가하여 생산하였다.

### 3. 복합 생균제 생산

#### 1) 사용 균주 및 특성

사용된 복합 균주는 모두 판매사의 특허 균주이며, *Bacillus subtilis*(KCTC11427 BP)는 nutrient broth(Difco Co., USA)에서 37℃, 24 hr 진탕배양(shaking incubator 180 rpm)하여 사용하였으며, *Lctobacillus plantarum*(KCTC0608 BP)과 *Enterococcus faecium*(KCTC0609 BP)는 MRS broth(Difco Co., USA)에서 37℃, 24 hr 정지 배양하여 사용하였고, *Saccharomyces cerevisiae*(KCTC0610 BP)는 Rogosa broth(Difco Co., USA)를 이용하여 각각 배양하였다.

제품을 구성하는 균주의 가축병원성 세균에 대한 항균 활성은 *Salmonella enteritidis*, *Escherichia coli*(KCCM21052), *Staphylococcus aureus*(KCCM40050)을 검정균으로 사용하였다.

Agar plate에 멸균된 penicylinder로 홈을 내서 각 분리 균 배양액 100  $\mu$ L를 분주하여 37℃에서 배양한 후 inhibition zone의 직경을 측정하는 agar diffusion method를 사용하였다(Lee et al., 1999). 내산성 측정은 0.05 M sodium phosphate 완충 용액(pH 7.0)과 HCl을 사용하여 pH 2.5로 조정된 0.05 M sodium phosphate에 각 균접종하고 37℃에서 2시간 진탕한 다음 nutrient agar, MRS agar, m-Enterog agar, Rogosa agar에 각각 도말하여 배양한 후 생균수를 측정하여 생존율을 계산하였다. 내담즙산 시험은 0.3% oxgall(Difco co.)가 첨가된 내산성 측정용 배지를 사용하였다(김유진 등, 2009).

#### 2) 생균제 생산

NK 증자 system을 이용하여 대두박을 121℃에서 30분간 멸균을 하고, 자동 이송 냉각 장치를 이용하여 시료 온도를 45℃ 이하로 냉각시킨 뒤 액상배지에서 확장 배양된 각각의 균주(*Bacillus subtilis*, *Lctobacillus plantarum*, *Enterococcus faecium*)를 시료에 접종하고, 소량씩 담은 Tray(5×50×100 cm)에 옮겨 37℃, 45% 수분에서 24 hr 동안 발효시킨 다음 45℃에서 16 hr 동안 건조하여 생산된 원료를 분쇄하여 생균제 실험 재료로 사용하였다.

### 4. 산란계 조사 항목

#### 1) 산란율, 난중, 폐사율 및 사료 섭취량

자동화 집란, 분별 system(다이아몬드 System, Innova 400)에 의해 구간별 처리구 각동 6열 8단에서 각각 2열 단위로 수집된 난에 대하여 산란율, 난중 등을 조사하였고, 폐사율 및 사료 섭취량에 대하여서는 일일 조사하였다.

#### 2) 분내 미생물 균총

분내 미생물 수를 측정하기 위하여 우선 신선한 계분재료를 채취하였다. 채취는 21주와 51주에 각 처리구별 24시간 동안 배설된 분을 10 g 정도 채취하고, 멸균된 생리식염수에 현탁화하여 10<sup>-3</sup>에서 10<sup>-8</sup>까지 단계 희석하여 생균수를 측정을 하였다. 세균 배양을 위해 총세균수는 total plate agar(Difco)에, lactic acid bacteria는 MRS agar에, Coli forms는 MacConkey agar(Difco)에 각각 배양하였고, 균수 측정은 37℃에서 배양 후 24~48시간 배양한 후 측정하였다.

#### 3) 통계처리

모든 자료는 SAS(1996)의 General Linear Model procedure를 이용하여 Duncan's multiple range test(Duncan, 1955)

로 처리하였으며, 평균 간의 유의성은 0.5% 신뢰 수준에서 검정하였다.

### 결과 및 고찰

#### 1. 복합 생균제 생산 및 균주의 특성

복합 생균제 생산 과정의 flow chart는 Fig. 1과 같다. 생균제 생산을 위한 원료 주입부터 제품 생산까지 9단계 과정을 거쳐 생산 소요 기간이 약 3~4일 소요되며, 전 생산 과정은 (주) 대호에서 개발하여 현재 동물의약품으로 허가를 받아 사용하고 있다. 균주는 실험실에서 종균 배양하고 생산 라인에 본 배양한 후 온도, 습도를 조절하여 고상식 발효를 하였다. 건조 장치와 분쇄 과정을 거쳐 최종 각 균주별 생산물을 혼합하여 실험 사료에 첨가하였다.

복합 생균제를 구성하는 미생물의 시험관내 항균력은 Table 3과 같다.

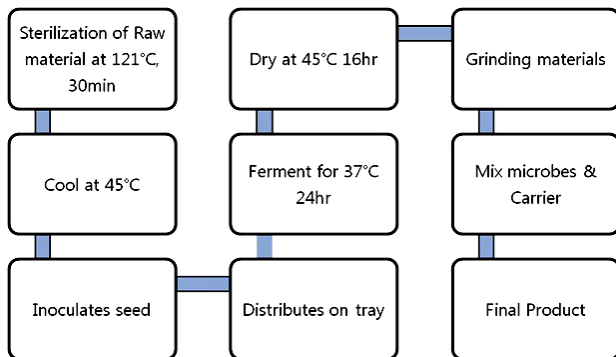


Fig 1. Flow chart for production of multiple probiotics.

Table 3. Antibacterial activity of microorganism

Microorganism	Inhibition zone (mm) <sup>1</sup>		
	Se <sup>2</sup>	Ec <sup>3</sup>	Sa <sup>4</sup>
<i>Lactobacillus plantarum</i>	21	12	18
<i>Enterococcus faecium</i>	21	15	17
<i>Bacillus subtilis</i>	5	6	5
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	nd*	nd	nd

<sup>1</sup>Inhibition zone was determined by the size on their cultured agar plate(average values of three replicates).

<sup>2</sup>Se; *Salmonella enteritidis*.

<sup>3</sup>Ec; *Escherichia coli* KCCM 21052

<sup>4</sup>Sa; *Staphylococcus aureus* KCCM40050

\*nd = not detect inhibition zone.

*Lactobacillus plantarum*과 *Enterococcus faecium*은 모두 *Salmonella enteritidis*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*에 대하여 각각 12~21 mm의 inhibition zone을 보이는 높은 항균력을 나타내었고, *Bacillus subtilis* 역시 5~6 mm의 inhibition zone을 보여 항균력이 존재하는 것으로 관찰되었으나, *Saccharomyces cerevisiae*는 inhibition zone이 detect되지 않아 균 억제 효과가 낮은 것으로 관찰되었다.

내산성(pH 2.5), 내담즙성(Oxgall 0.3%) 시험을 한 결과는 Table 4와 같다. Probiotics가 갖추어야 할 조건 중 상부 소화기관을 통과하면서 사멸하지 않아야 한다는 조건에 부합되는지 확인하였다(Annuk et al., 2003).

Table 4에서 *Bacillus subtilis*는 내산성, 내담즙성 시험에서 95% 이상의 생존율을 나타내었고, 그 외 유산균과 효모균 모두 내산성과 내담즙성에 80% 이상의 생존율을 나타내었다. 시험관 내 반응은 생체 반응과 반드시 일치하지 않으나, 동물 위장 내의 최악의 산성 환경과 담즙염 환경에도 80% 이상의 생존 가능성을 보여주고 있어 유산균 제조 균주로 적합함을 확인할 수 있었다.

#### 2. 산란계 산란율, 난중, 폐사율 및 사료 섭취율에 미치는 영향

생균제 급여 후 현장 사육의 각 동에서 산란, 난중, 폐사 및 사료 섭취를 구간별로 수집된 자료를 구간별 성적 평균값으로 집계하여 통계처리한 결과는 Table 5와 같다. 입주시부터 급여를 시작하여 21~40주간의 평균 산란율과 난중을 비교하였을 때 대조구에 비하여 급여구 모두 산란율 및 난중이 유의적으로 높았다( $P<0.05$ ). Hy-Line 표준사양과 비교하였을 때 생균제를 0.1% 이상 급여한 T1, T2 모두 표준 산란율보다 높은 산란율을 나타내며 지속적으로 높은 산란율을 유지하는 것을 알 수가 있었다. 산란 중기 이후인 41~65주의 산란 성적 및 난중은 T1, T2 모두 대조구에 비하여 유의적으로 높았다( $P<0.05$ ). 난중에 있어서는 0.2% 급여구가 중기

Table 4. Survival rate of environments at pH 2.5 and at 0.3% bile salt

Microorganism	Survival rate(%) at	
	Acid	Bile salt
<i>Lactobacillus plantarum</i>	82	98
<i>Enterococcus faecium</i>	78	97
<i>Bacillus subtilis</i>	96	99
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	89	97

**Table 5.** Effect of dietary probiotics on performance of laying hens

Item	CON <sup>1</sup>	T1	T2	SEM
21~40 weeks				
Total egg production (%)	88.15 <sup>b</sup>	90.63 <sup>a</sup>	90.33 <sup>a</sup>	0.56
Egg weight (g)	59.68 <sup>b</sup>	60.84 <sup>a</sup>	60.35 <sup>a</sup>	0.18
Mortality (%)	0.098 <sup>a</sup>	0.124 <sup>a</sup>	0.054 <sup>b</sup>	0.015
Feed intake (g)	109.62	107.46	107.98	1.42
41~65 weeks				
Total egg production (%)	83.84 <sup>b</sup>	88.39 <sup>a</sup>	87.57 <sup>a</sup>	0.30
Egg weight (g)	63.94 <sup>c</sup>	64.54 <sup>b</sup>	65.56 <sup>a</sup>	0.10
Mortality (%)	0.043 <sup>a</sup>	0.037 <sup>b</sup>	0.037 <sup>b</sup>	0.002
Feed intake (g)	111.64 <sup>b</sup>	112.41 <sup>b</sup>	115.96 <sup>a</sup>	1.80

<sup>1</sup>CON (basal diet), T1 (basal diet + 0.1% fermented meal), T2 (basal diet + 0.2% fermented meal).

<sup>a-c</sup>Means in the same row with different superscripts differ ( $P < 0.05$ ).

이후에 더 높게 나타나는 것으로 관찰되었다. 첨가되는 유산균의 균수에 의해서 영향을 받는데, Nahashon et al.(1993)은 산란계에서  $4.4 \times 10^7$  cfu/g 수준의 유산균 급여에 의해 난중 및 산란율이 증가되었다는 주장과 Mahdavi et al.(2005)의  $10^9$  cfu/g 이상의 생균제의 첨가만이 난중의 증가에 영향을 미칠 수도 있다고 각자 보고하고 있다. 본 제품은 복합 유산균 수가  $7.5 \times 10^8$  cfu/g의 고농도 제품으로 급여 후 산란율과 난중이 증가되는 것으로 보아 Nahashon et al.(1993)의 주장과 부합되고 있다.

폐사율(%)의 경우는 산란 초기에는 0.2% 급여구가 낮게 나타나는 경향을 보였으나, 산란 중기에는 0.1% 급여구와 차이가 없었다. 그러나 대조구와 비교하였을 때는 0.2% 급여구에서 상당한 유의차가 있는 것으로 나타났다( $P < 0.05$ ). 사료 섭취량에 있어서는 전기 21~40주간에는 유의차가 없는 것으로 나타났으나, 산란 중기 41~65주간에는 0.2% 급여구에서 유의적으로 섭취량이 증가되는 것이 확인되었다( $P < 0.05$ ). Nahashon et al.(1993)은 산란계 사료 내 *Lactobacillus* spp.의 생균제의 급여가 산란계의 식욕을 촉진시키는 효과가 있다고 하였고, Mahdavi et al.(2005)은 과다 수준의 *Bacillus subtilis*의 급여는 사료 섭취량을 증가시킬 수 있다고 한 반면, Cerniglia et al.(1983)과 Goodling et al.(1987)은 처리구간에 차이가 없었다고 하였다. 산란계 사료 내 생균제 첨가로서 나타나는 생산성에 미치는 영향이 연구자에 따라

다르게 나타나는 경우가 많은데, 이는 생균제의 종류, 첨가되는 양, 사용 기간 등의 차이에 따른 것으로 추정된다.

### 3. 분내 미생물의 미치는 영향

분변 미생물의 성장 조사는 생균제를 급여한 산란계의 분변 내 미생물수를 측정하기 위하여 21주, 51주에 채취한 분을 이용하여 비교하였다(Table 6).

산란 21주의 전기에서 분변 조사의 분석 결과, 총 균수 및 *Lactobacillus*에서 T1 급여구와 대조구간에 유의차가 인정되었고( $P < 0.05$ ), *Lactobacillus*에서도 T1이 T2보다 유의차를 나타내었으나( $P < 0.05$ ), Coli form에서는 유의차가 인정되지 않았다. 산란 중기 51주의 분변 조사에서는 *Lactobacillus*가 T1, T2 모두 대조구에 유의차가 나타났으며( $P < 0.05$ ), T1, T2 간에는 유의차가 인정되지 않았다. Coli form에서는 전기와 달리 T1, T2 급여구와 유의차가 나타나는 것을 확인할 수 있었다( $P < 0.05$ ). 유산균의 주요 기능 중 장내 유해균의 증식 억제(Aiba et al., 1998)기능 및 장내 균 총의 개선에 의한 이상 발효 저지와 정상 작용으로 유해 미생물인 *enterogenic E. coli*, *Salmonella*, *Staphylococcus*, *Clostridium* spp., *Shigella*에 의한 설사를 치유하고, 이러한 효능은 사람과 동물에 공통적이라고 보고하였다(Bussarin and Sudip, 2006). 분변의 미생물의 성장조사를 통하여 급여구에서 Coli form의 숫자가 줄어드는 것과 *Lactobacillus*가 유의적으로 증가하는 것으로 보아( $P < 0.05$ ) 사료 내 생균제 첨가는 유익균의 증식을 도움으로서 유익균의 수를 증가시키고, Coli form의 수를 감소시켜 정상적인 장 내 세균총을 유지함으로써 결과적으로 생산성이 향상되고 폐사율이 감소되는 것으로 사

**Table 6.** Fecal microflora number (cfu log/g) of laying hens for laying term

Fecal microflora	cfu log/g				
	Control <sup>1</sup>	T1	T2	SEM	
21 week	Total microflora	3.10 <sup>b</sup>	3.30 <sup>a</sup>	3.16 <sup>ab</sup>	3.9
	<i>Lactobacillus</i>	5.45 <sup>b</sup>	5.64 <sup>a</sup>	5.41 <sup>b</sup>	3.9
	Coli form	4.43	4.23	4.27	5.1
51 week	Total microflora	3.38 <sup>ab</sup>	3.30 <sup>b</sup>	3.41 <sup>a</sup>	2.4
	<i>Lactobacillus</i>	5.76 <sup>b</sup>	6.60 <sup>a</sup>	6.85 <sup>a</sup>	9.0
	Coli form	4.56 <sup>a</sup>	4.16 <sup>b</sup>	4.23 <sup>b</sup>	1.9

<sup>1</sup>Control: Control diet, T1: Control diet+0.1% probiotics, T2: Control diet+0.2% probiotics.

료된다.

## 적 요

본 연구는 복합 생균제를 사료 공급을 통하여 갈색 산란계(Hy-Line Brown)에 산란 초기 21~40주, 산란 중기인 41~65주로 나누어 산란계의 생산성과 산란에 미치는 영향을 조사하였다. 복합 생균제를 생산하고 생균제를 구성하는 균주의 특성에 대하여 내산성(pH 2.5), 내담즙성(Oxgall 0.3%) 및 특정 병원균에 대한 항균력을 시험하였고, 산란 시기별로 분변 내 미생물의 변화를 조사하였다. 생균제는 4종의 복합생균으로 각각의 대두박 기질에 의한 고상식 발효물로서 원료에서 생산까지 9단계 과정을 거쳐 생산하였다. 복합 생균제를 구성하는 *Bacillus subtilis*, *Lactobacillus plantarum*, *Enterococcus faecium*에서 높은 내산성, 내담즙성, 항균력 등이 나타나는 것을 확인하였으며, *Saccharomyces cerevisiae*는 항균력이 낮은 것으로 나타났다.

산란 생산성은 급여 후 대조구에 비해 높은 산란율을 보였으나, 0.1% 급여구와 0.2% 급여구 사이의 유의차는 없었다( $P>0.05$ ). 난중에 있어서 산란 초기 21~40주는 대조구와 유의차를 보였으나, 0.1% 급여구와 0.2% 급여구간에는 유의차가 인정되지 않았다( $P>0.05$ ). 그러나 산란 중기에서 0.2% 급여구와 0.1% 급여구 사이에 유의차를 보였으며, 대조구와도 유의성 각각 인정되었다( $P<0.05$ ). 폐사율은 대조구와 비교하였을 때 0.2% 급여구에서 폐사율이 격감되는 유의차가 있었고( $P<0.05$ ) 산란 시기별로는 산란 초기에 0.2% 급여구가 폐사율 감소를 보였으나, 산란 중기에는 0.1% 급여구와의 유의차가 나타나지 않았다. 사료 섭취량은 산란 전기에는 유의성이 없었으나, 산란 후기의 0.2% 급여구에서 유의적인 증가가 인정되었다( $P<0.05$ ). 분변 미생물 조사에서 복합 생균제 급여 후 0.1% 급여구의 전기, 중기 모두 *Lactobacillus*가 유의적으로 증가되었으나, *Coli form*은 중기에 0.1%, 0.2% 급여구에서 각각 유의적으로 감소하는 경향을 나타내었다( $P<0.05$ ). 결론적으로 산란계 사료 내 복합 생균제의 첨가는 산란율과 난중의 향상과 분변 미생물의 정상적인 변화로 폐사율을 감소시키는 것으로 사료된다.

(색인어 : 복합 생균제, 산란계, 생산성, 폐사율, 사료 급여)

## 사 사

본 연구는 (주)대호 중앙연구소 제품개발실의 기술 및 장비 활용과 금강 LF의 자료 수집 협조로 수행되었습니다.

## 인용문헌

- Aiba Y, Suzuki N, Kabir AMA, Takagi A and Koga Y 1998 Lactic acid-mediated suppression of *Helicobacter pylori* by the oral administration of *Lactobacillus salivarius* as a probiotic in a gnotobiotic murine model. *Am J Gastroenterol* 93: 2097-2101.
- Annuk H, Shchepetova J, Kullisaar T, Songisepp E, Zilmer M, Mikelsaar M 2003 Characterization of intestinal *Lactobacilli* as putative probiotic candidates. *J Appl Microbiol* 94:403-412.
- Baba E, Nagaishi S, Fukata T, Arakawa A 1991 The role of intestinal microflora on the prevention of salmonella colonization in gnotobiotic chickens. *Poultry Sci* 70:1902-1907.
- Bussarin K, Sudip KR 2006 Microbial and processing criteria for production of probiotics: A Review *Food Biotechnol* 44(3):371-379.
- Cerniglia GJ, Goodling AC, Hebert JA 1983 The response of layers to feeding *Lactobacillus* fermentation products. *Poultry Sci* 62:1339(abstract).
- Duncan DB 1955 Multiple range and multiple F test. *Biometric* 11:1-4.
- Francis C, Janky DM, Arafa AS, Harms RH 1978 Interrelationship of *Lactobacillus* and zinc bacitracin in the diets of turkey poults. *Poultry Sci* 57:1687-1689.
- Fuller R 1973 Ecological studies on the *Lactobacillus flora* associating with the crop epithelium of the fowl. *J Appl Bacteriol* 36:131-139.
- Fuller R 1989 Probiotics in man and animals. *J Appl Bact* 66:365.
- Goodling AC, Cerniglia GJ, Hebert JA 1987 Production performance of White Leghorn layers fed *Lactobacillus* fermentation products. *Poultry Sci* 66:480-486.
- Haddadin M, Abdulrahim SM, Hashlamoun EAR, Robinson RK 1996 The effect of *Lactobacillus acidophilus* on the production and chemical composition of hen's eggs. *Poultry Sci* 75:491-494.
- Lee HJ, Park CS, Joo YJ, Kim SH, Yoon JH, Park YH, Hwan IK, Ahn HS, Mheen TI 1999 Identification and characterization of bacteriocin-producing lactic acid bacteria isolated from kimchi. *Korean J Microbiol Biotechnol* 9:282-291.

- Mahdavi AH, Rahmani HR, Pourreza J 2005 Effect of probiotic supplements on egg quality and laying hen's performance. *Int J Poult Sci* 4:488-492.
- Martin SA, Nisbet DJ 1992 Effect of direct-fed microbials on rumen microbial fermentation. *J Dairy Sci* 75:1736.
- Nahashon SN, Nakaue HS, Mirosh LW 1993 Effects of direct-fed microbials on nutrient retention and production parameters of single comb White Leghorn pullets. *Poultry Sci* 72(suppl 1):87(abstract).
- NRC 1994 Nutrient Requirements of Poultry. 9th ed. National Academy Press, Washington DC.
- SAS Institute, 1996. SAS/STAT Software for PC, Release 6.12. SAS Institute Inc Cary NC USA.
- Timmerman HM, Koning CJ, Mulder L, Rombouts FM, Beynen AC 2004 Mono-strain, multi-strain and multi-species probiotics: A comparison of functionality and efficacy. *J Food Microbiol* 96:219-233.
- Tortuero F, Fernandez E 1995 Effects of inclusion of microbial cultures barley-based diets feed to laying hens. *Animal Feed Sci Technol* 53:255-265.
- Watkins BA, Kratzer FH 1984 Drinking water treatment with commercial preparation of a concentrated *Lactobacillus* culture for broiler chickens. *Poultry Sci* 63:1671-1673.
- Weinack OM, Snoeyenbos GH, Soerjadi-Liem AS 1985 Further studies on competitive exclusion of *Salmonella typhimurium* by *Lactobacilli* in chickens *Avian Dis* 29:1273-1276.
- 김유진 장서정 박정민 김창욱 박영서 2009 사료용 생균제 개발을 위한 마늘내성 유산균의 분리. *산업식품공학* 13(4): 352-359.
- 백인기 1989 생균제(Probiotics)의 사용효과. *한국영양사료학회지* 13:175-183.  
(접수: 2011. 6. 1, 수정: 2011. 9. 13, 채택: 2011. 9. 19)