

사료 내 생균 또는 사균 형태 김치 유산균의 첨가가 육계의 생산성, 영양소 이용률, 장내 미생물 및 계육 특성에 미치는 영향

이정현² · 김상윤³ · 이준엽⁴ · 무사비르 아메드¹ · 오상집^{1,†}
¹강원대학교 동물생명과학대학 · ²한일사료 · ³씨티씨바이오 · ⁴국립축산과학원

Effect of Dietary Live or Killed Kimchi Lactic Acid Bacteria on Growth Performance, Nutrient Utilization, Gut Microbiota and Meat Characteristics in Broiler Chicken

Jeong Heon Lee², Sang Yun Kim³, Jun Yeop Lee⁴, Musabbir Ahammed¹ and Sang Jip Ohh^{1,†}

¹College of Animal Life Sciences, Kangwon National University, Chuncheon 200-701, Korea

²Hamil Feeds Co, Yongin 446-930, Korea

³CTC Bio Inc, Hwaseong 445-909, Korea

⁴National Institute of Animal Sciences, Suwon 441-706, Korea

ABSTRACT This study was conducted to evaluate the effect of dietary *Weissella koreensis* (*Wk*), a prominent kimchi lactic acid bacteria supplementation on growth performance, nutrients utilization, gut microbiota and meat characteristics in broiler chicken. Both live and killed *Wk* was compared to know which could be more efficacious as a feed probiotics. Three *Wk* supplemented groups and no *Wk* supplemented group were designated according to supplementation levels and cell status. Those were; Control (no *Wk*), 0.1 % live *Wk* (*LWk* 0.1), 0.5% live *Wk* (*LWk* 0.5) and 0.5% killed *Wk* (*KWk* 0.5). Body weight gain and feed conversion efficiency were improved ($P<0.05$) by dietary *LWk* supplementation. *KWk* did not exert any benefit on growth performance. Crude protein utilizability of *KWk* supplemented diet was lower ($P<0.05$) than that of other diets. However, there were no differences among treatments in other nutrients utilization. Serum IgG concentration and relative weight of bursa of Fabricius was highest ($P<0.05$) in broiler chicken fed *KWk* 0.5 diet. Cecal anaerobic lactic acid bacteria count of *LWk* groups were higher ($P<0.05$) than those of control and *KWk* 0.5 groups. Dietary *Wk* supplementation failed to lower the count of cecal and fecal *E. coli*. There was no effect of dietary *Wk* on TBARS values and fatty acids profile of broiler leg meat. However, the dietary supplementation of *Wk* exerted characteristic difference on electronic nose flavor of broiler meat. This study showed that dietary supplementation of *LWk* was able to improve body weight gain, feed conversion efficiency and cecal lactic acid bacterial count in broiler chicken. Further, the result of this study implemented that a live kimchi lactic acid bacteria, *LWk*, but not killed *Wk*, could be used as a probiotic feed supplement for broiler.

(Key words : broiler, growth performance, gut microbiota, meat quality, *Weissella koreensis* (*Wk*))

서 론

사료용 항생제의 대체제로서 다양한 probiotics가 연구되어 왔다. 최근 우리나라 김치에 대한 과학적 연구가 이루어지면서 김치 유산균의 종류나 인체에서의 그 특·장점에 대한 연구 결과가 발표되고 있다. 이러한 과정에서 김치 유산균을 사료용 probiotics로 활용할 수 있을 것인가, 있다면 그 효능은 어떠한가에 대한 관심이 제기되었다.

이제까지 연구에 의하면 우리나라 김치의 주종 유산균의 하나가 *Weissella koreensis*(*Wk*)인 것으로 보고되었다(Lee et al., 2002; Park et al., 2010). *Wk*의 특징은 저온에서도 잘 성장하며(Cho et al., 2006), 타 유산균에 비하여 산 생성량이 상대적으로 낮은 것으로(Lee et al., 2010) 알려져 있다. 또한 *Wk*가 근육 증강 및 비만 예방(Park et al., 2012), 면역력 증진 역할을 담당하는 오르니틴을 생성시킬 수 있는 것으로 보고(Yu et al., 2009)된 바 있다. 따라서 *Wk*가 낮은 산 생성

[†] To whom correspondence should be addressed : sjohh@kangwon.ac.kr

으로 장벽 자극을 줄여 사료 섭취를 증진시키거나, 오르니틴을 통하여 증체, 면역 증진 효과를 발휘한다면 사료 첨가제로 활용될 수 있을 것이란 가설을 세우고, 본 실험을 통하여 이를 규명하고자 하였다.

유산균 *Wk*가 알려진 지 얼마 안 되어 지금까지 *Wk*를 사료용 probiotics로 활용한 경우는 거의 없다. 다만 Wang et al. (2011)이 돼지에 *Wk* 접종 마늘 발효물을 투여하여 성장 개선과 면역력 증진 효과가 나타났다고 보고하였다. 그러나 마늘 자체의 성장 촉진, 면역 증진 효과도 보고된 바 있어, 이를 *Wk* 만의 효과로 해석하기에는 문제가 있고, 이는 돼지에 대한 연구이므로 가금에서의 효과와는 다르다.

한편, 사료용 probiotics의 효과는 살아있는 균체의 종류나 그 균체가 생성하는 대사 부산물의 특성에 따라 다양하다. 따라서 우수한 probiotics란 생균일 경우에는 장내에서 유해균의 장벽 부착을 경쟁적으로 억제하고(Sherman et al., 2005), 잘 성장하는 균주를 의미한다. 그러나 균체는 죽었더라도 생성한 항균물질이나 유기산 등이 유해균을 억제하는 경우에도 훌륭한 probiotics로 활용될 수 있다. 따라서 본 실험에서 *Wk* 사균, 즉 이미 생성된 대사물질만의 효과가 존재하는가를 평가하고자 하였다. 이제까지 사료용 probiotics로서 생균과 사균을 비교한 연구는 전무하다. 다만 인체 연구에서 *Lactobacillus acidophilus*의 설사 방지 효과를 비교한 결과, 생균과 사균 간에 차이가 없었다(Rampengan et al., 2010). 그러나 타 인체 연구에서는 생균의 효과는 있으나, 사균의 효과는 없었다는 보고도 있다(Sherman et al., 2005; Indriyani et al., 2012).

따라서 본 연구는 김치 유산균의 하나인 *Wk*의 사료용 probiotics로서의 가치를 평가하고자 생균 및 사균 형태의 *Wk*를 육계사료에 첨가 급여하여 육계에서의 생산성, 영양소 이용성, 장내 미생물, 면역 반응 및 계육 품질에 미치는 영향을 평가하기 위하여 시행하였다.

재료 및 방법

본 실험에서의 동물 관리 및 실험 방법은 강원대학교 실험동물 관리 및 연구 윤리 위원회의 규정과 허가에 따라 시행되었다.

1. 실험 설계 및 사양 실험

1) 실험 설계

우리나라 김치의 주종 유산균인 *Weissella koreensis(Wk)*의 육계 사료용 생균제(probiotics)로서의 효과를 평가하기 위하여 본 실험을 수행하였다. 여기에 *Wk* 생균(live probiotics)과 사균(killed probiotics) 간 효능을 비교하기 위하여 사균 첨가구를 두었고, 아울러 무첨가 대조구를 두었다. 따라서 총 처리군은 *Wk* 무첨가 대조구(Control), *Wk* 생균 0.1% 첨가구(L*Wk*0.1), *Wk* 생균 0.5% 첨가구(L*Wk*0.5), *Wk* 사균 0.5% 첨가구(K*Wk*0.5) 등 총 4처리를 두었다. 본 연구에서 우선 사균의 영향이 있는가 여부를 평가하는 것이 주목적이어서 낮은 수준 첨가구는 설계하지 않았다. 연구에 사용된 *Wk* 제품(㈜리스나, 한국)은 *Weissella koreensis* 8.0×10^9 cfu/mL를 포함하며, 사균 제품은 앞의 생균을 완전 사균화하기 위하여 3 차례 가열로 틴달(tyndalization) 처리한 제품을 사용하였다. 이때 틴달 처리 가열온도는 100℃ 이었다.

2) 시험동물 및 관리

시험동물로는 1일령의 Ross 308종 육계 648 수를 공시하였고, 첫 3일간은 적응을 위하여 입불이 사료를 급여 후, 4일령(개시 평균 체중 75 g) 부터 4주간 사양 실험을 실시하였다. 시험동물은 4개 처리구에 처리 당 6반복, 반복 당 27수씩 암수 동수에 가깝게 선발하여 완전임의 배치하였다. 사양 실험은 평사 계사이었으며, 평사를 분획하여, 한 펜(펜 규격; 230 cm×200 cm×60 cm)당 한 반복으로 하였다. 시험사료는 전기(4~17일령)와 후기(18~31일령)로 나누어 옥수수과 대두박을 위주로 Table 1과 같이 배합하였고, 부족한 아미노산은 합성 아미노산제로 첨가하였다. 급여한 사료는 모두 크럼블(crumble) 형태로 가공하였고, 전기와 후기의 크럼블 크기를 달리하였다. 사료와 물은 자유롭게 섭취하도록 하였다. 점등 관리는 전 사양 시험기간 동안 24시간 지속 점등을 실시하였다.

3) 육성성적

증체량은 시험 개시일과 육성전기 종료일 그리고 육성후기 종료일에 반복 별로 계군의 체중을 측정하여 다음, 각 기간별 평균체중과 증체량을 나타내었다. 사료 섭취량 또한 육성전기 종료 시와 육성후기 종료 시 측정하여 누적 사료 섭취량으로 표시하였다. 사료 요구율은 측정된 사료 섭취량을 증체량으로 나누어 계산하였다.

4) 영양소 이용률

사료의 영양소 이용률을 평가하기 위해 사양 시험 종료 후 처리 당 3반복, 반복 당 2수씩, 총 24수를 A형 철제 케이

Table 1. Formula and nutrients composition of basal starter and finisher broiler diets

Formula and nutrients compositions	Starter diets (d4~17)	Finisher diets (d18~31)
Formula(%)		
Corn	60.70	62.74
Soy bean meal	25.28	23.20
Meat meal	3.00	3.00
Feather meal	2.00	2.00
Chicken meal	1.00	1.00
Limestone	0.55	0.61
DCP(29/19)	1.54	1.26
Salt	0.21	0.21
Beef tallow	4.52	4.80
Glucose	0.00	0.20
Choline chloride	0.14	0.16
DL-Methionine(99%)	0.25	0.22
L-Lysine(98.5%)	0.20	0.25
Lysine HCl(98%)	0.23	0.00
Threonine	0.03	0.00
Vit. premix ¹⁾	0.15	0.15
Min. premix ²⁾	0.12	0.12
Salinomycin	0.00	0.05
Clinacox	0.05	0.00
Oxister	0.03	0.03
Total	100.0	100.0
Nutrients, calculated (%)		
Dry matter	88.2	88.2
Crude protein	21.0	20.0
Crude fat	7.6	7.9
Crude fiber	3.3	3.2
Crude ash	5.1	4.8
Ca	0.9	0.9
P	0.7	0.7
Available P	0.5	0.4
ME(kcal/kg)	3,150	3,200

¹⁾ The vitamin premix contains the followings per kg of diet: vit.A, 18,000 IU; vit.D₃, 4,500IU; vit.E, 31.5 IU; menadione, 3.6 mg; thiamin, 1.8 mg; riboflavin, 4.8 mg; pyridoxine, 3.6 mg; cobalamin, 0.03 mg; niacin, 22.5 mg; panthothenic acid, 15mg; folic acid, 0.45 mg.

²⁾ The mineral premix contains the followings per kg of diet: Mn, 86.4 mg; Zn, 72 mg; Fe, 74.6 mg; Cu, 6 mg; I, 1.5 mg; Co, 0.288 mg; Se, 0.216 mg.

Abbreviations: DCP(29/19): Dicalcium phosphate containing 29% Ca and 19% P, ME: Metabolizable energy.

지에 수용하여 소화 시험을 실시하였다. 3일간 전분채취법으로 채취한 배설물을 60℃ 건조기에서 72시간 건조시킨 다음 분쇄하여 일반성분 분석을 실시하였고, 급여한 영양소의 총량에서, 분뇨로 배출된 영양소 총량을 감하여 백분율로 영양소 이용률을 계산하였다. 사료와 분뇨 시료의 일반성분 화학분석은 AOAC(2008)에 준하여 분석하였다.

2. 평가 항목 및 방법

1) 혈청 내 Total IgG, Total IgM 함량 조사

육계의 면역반응을 평가하기 위하여 혈청 내 total IgG, IgM의 함량을 측정하였다. 사양 시험 종료 후, 처리 당 평균 체중의 병아리 6수씩을 선발하여 24시간 절식 후, 익 정맥에서 4 mL의 혈액을 채혈 후 혈청을 분리하였고, 분리된 혈청은 분석 전까지 -70℃에 보관하였다. Total IgG의 분석에는 Chicken IgG ELISA Quantitation Kit(Bethyl laboratories, Inc., U.S.A)를 이용하였고, IgM의 분석에는 Chicken IgM ELISA Quantitation Kit(Bethyl laboratories, Inc., U.S.A)를 이용하였다. 흡광도는 ELISA reader(Biotek, powerwave XS, U.S.A)를 이용하여 측정하였다.

2) 면역관련 장기 무게 조사

사양 실험 종료 즉시 각 처리구 당 종료 평균 체중에 근접하는 수 병아리로 반복 당 1수, 처리 당 6수를 선발 도살한 후, 흉선(thymus), 비장(spleen), 그리고 F낭(bursa of Fabricius)을 적출하여 지방조직을 제거한 다음 0.9% 생리식염수로 2회 세척하고 흡습포를 이용하여 수분을 제거한 후, 면역 장기 무게를 측정하여 다음 생 체중 대비 장기무게로 표시하였다.

3) 맹장 및 분변 내 미생물 조사

사양 시험 종료 후, 각 처리구별로 종료 평균 체중에 근접하는 수 병아리 3수씩을 추가로 선발 도살 후 맹장을 수거하여 분석에 이용하였다. 맹장 내용물 1g을 취하여 멸균된 peptone(Merck)수 9 mL에 증량 대 부피로 연속 희석하여 anaerobic lactic acid bacteria 그리고 *E. coli*의 균수를 측정하였다. 배지는 각각 Tryptic Soy Agar(Difco), *Lactobacilli* MRS Broth(Difco)+Agar 1.5%(Difco)+NaN₃0.02%+L-Cysteine 그리고 Violet Red Bile Agar(Difco)를 이용하였다. 연속 희석을 실시하여 희석액이 10⁷~10⁹ 범위의 미생물을 포함하는 시점에서 각각 0.1 mL를 petri dish(SPL 90×15)에 도말 평판법으로 접종하였다. 접종 후 37℃에서 48시간 배양 후,

colony의 수를 측정된 다음 \log_{10} 으로 환산하였다.

분 내 대장균 수를 측정하기 위하여 사양 시험 종료 시 처리 별로 3반복씩 신선한 분을 채취하여 -80°C 에서 분석 시까지 보관하였다. 각 시료로부터 분 1 g을 채취하여 맹장 내용물에서의 분석 방법과 같이 *E. coli* 수를 측정하였다.

4) 계육의 항산화 능력 평가(TBARS)

사양 시험 종료 후, 처리 당 4수씩 총 16수를 도계하여 다 리육을 채취 후 4°C 에 냉장 보관하였다. 저장성 평가를 위하여 1, 4, 7, 10일 총 4번에 걸쳐 TBARS(Thio barbituric acid reactive substances)를 측정하였다. 분석 방법은 Sinnhuber and Yu(1977)의 방법을 수정하여 다음과 같이 실시하였다. 시험관에 세절육을 0.4g 정량하여 항산화 용액(propylene glycol+warm Tween+BHT+BHA) 2~3방울, TBA 용액 3 mL, TCA-HCL 17 mL를 넣고 vortex에서 2~3초간 혼합하였다. 시험관의 마개를 닫고 100°C 이상의 물에서 30분간 가열한 후 냉각하였다. 마개를 열어 5 mL의 반응액을 새 시험관에 옮기고, 여기에 chloroform 2 mL를 넣은 다음 3,000 rpm에서 15분간 원심 분리시켜 상등액을 530 nm의 파장에서 흡광도를 측정 후, 흡광도에 5.2를 곱하여 TBARS 값을 계산 하였다.

5) 계육 내 지방산 조성 평가

지질 추출은 Folch et al. (1957)의 방법에 따라 추출하였으며, 메틸화한 후 상층액을 분리하여 밀봉 후 냉동 보관 후 gas chromatography(680D, Youngin Scientific Co. LTD, Korea)로 분석하였다. 이때의 분석 조건은 column의 초기 온도는 145°C 로 조정하고, 분당 5°C 씩 온도를 높여, 최종 온도는 280°C 로 설정하였다. Carrier gas는 N_2 이었다.

6) 전자코(Electronic Nose)를 이용한 육향 평가

계육의 육향은 계육 1 g을 헤드스페이스 바이얼에 넣고 PTFE/rubber septa와 aluminum cap으로 밀봉한 후, 전자코 (FOX 3000, Alpha MOS, Toulouse, France)를 활용하여 분석하였다. 분석된 결과는 전자코 프로그램(Alpha soft version 8.01 software, Alpha MOS, Toulouse, France)의 주요 성분 분석법에 의해 처리하였다.

3. 통계처리

모든 분석 결과의 통계분석은 SAS program(2004)의 GLM procedure를 이용하여 5% 수준에서 유의성을 검증하였으며, 처리평균간 비교는 Duncan의 다중검정방법(Sned-

cor and Cochran, 1985)을 이용하였다. 이 때 육성 성적은 반 복(펜)의 수를 측정 단위로 하였고, 영양소 이용률 평가 시험은 한 케이지에 공시한 2 수를 측정 단위로, 혈액분석, 면역 장기 무게 측정, 장내 미생물 분석, 계육 특성 분석의 측정 단위는 선발한 병아리였다.

결과 및 고찰

1. 육성성적

육계 사료에 생균 또는 사균 형태의 *Wk*의 첨가가 육계의 증체량, 사료 섭취량, 사료 요구율에 미치는 영향은 Table 2와 같다. 증체량은 전기의 경우 처리구 간에 유의적인 차이를 보이지 않았지만, 후기와 전기 간 성적의 경우 생균 *Wk*를 0.1% 및 0.5% 첨가한 처리구가 가장 우수하였으며, 특히 사균 *Wk* 처리구와 비교할 때 유의적으로 높은 결과($P<0.05$)

Table 2. Effect of dietary live and killed *Weissella koreensis* supplementation on growth performance in broiler

Age	Items	Control	LWk0.1	LWk0.5	KWk0.5	SEM
Starter (d4~17)	Weight gain (g/bird)	587	597	592	600	16.70
	Feed intake (g/bird)	1,091 ^a	972 ^b	993 ^b	950 ^c	54.88
	F/G	1.86 ^a	1.63 ^{bc}	1.68 ^{bc}	1.58 ^c	0.09
Finisher (d18~31)	Weight gain (g/bird)	1,242 ^{ab}	1,264 ^a	1,271 ^a	1,178 ^b	46.68
	Feed intake (g/bird)	2,157	2,163	2,151	2,169	99.36
	F/G	1.74 ^{abc}	1.71 ^{bc}	1.69 ^c	1.84 ^a	0.07
Overall (d4~31)	Weight gain (g/bird)	1,829 ^{ab}	1,861 ^a	1,863 ^a	1,778 ^b	52.31
	Feed intake (g/bird)	3,248	3,135	3,145	3,119	125.98
	F/G	1.78 ^a	1.69 ^b	1.69 ^b	1.76 ^{ab}	0.05

n = 648 with average initial body weight, 75 g.

^{a,b} Values with different superscripts within the same row differ ($P<0.05$).

SEM: Standard error of means.

Control: No *Wk* supplementation, LWk0.1: Live *Weissella koreensis* (*Wk*) 0.1%, LWk0.5: Live *Wk* 0.5%, KWk0.5: Killed (tyndalized) *Wk* 0.5% supplementation to broiler diet.

를 나타내었다. 사료 섭취량의 경우, 전체 사육 기간에서는 처리구 간에 유의적인 차이를 보이지 않았지만, *Wk* 첨가구가 대조구에 비하여 적은 경향을 보였다. 특히 사육 전기의 경우에는 *KWk0.5* 처리구가 다른 처리구에 비하여 낮은 결과($P<0.05$)를 나타내었다. 이에 따라 사료 요구율은 전기에서 *KWk0.5* 처리구가 대조구에 비하여 낮은 결과($P<0.05$)를 보여 주었다. 그러나 전 사육기간의 사료 요구율을 살펴보면 증체도 비교적 우수하고, 상대적으로 사료 섭취량은 적었던 생균 *Wk* 0.1%, 0.5% 첨가구가 다른 처리구에 비하여 유의적으로 우수한 결과($P<0.05$)를 나타내었다. 이는 유산균의 첨가가 육계의 증체량을 개선하지는 못했으나, 사료 효율 개선에 효과가 있다는 보고(Farjardo et al., 2012)와 동일한 결과를 보여주었다. 그러나 유산균을 육계에게 첨가 급여하였을 때 증체량이 향상되었다는 보고(Bansal et al., 2011; Aliakbapour et al., 2012)와는 다소 상이하였다. 본 연구 결과, 김치 주종 유산균인 *Wk*의 경우 생균일 경우에만 성장에 긍정적인 영향을 미치는 것으로 나타났다. 이는 유산균 및 호산성 곰팡이 복합 probiotics의 사균도 육계 성장을 개선시켰다는 연구(Huang et al., 2004) 결과와는 다르다. 그러나 본 시험의 경우, 단일 제제이므로 이를 동일선상에서 비교하기는 어렵다. 따라서 *Wk*의 경우, 균체가 생성 분비한 기능성 성분이 생산성 개선에 영향한다기 보다는 생균 *Wk* 자체가 생산성 증진에 기여하는 것으로 판단되었다. 한편, 생균 *Wk*의 첨가수준 간 비교 결과, 0.1%와 0.5% 처리구 간에 차이가 크지 않아 육계의 성장 개선을 위해서는 생균 0.1% 첨가가 충분한 수준인 것으로 평가되었다.

2. 영양소 이용률

사료에 *LWk* 또는 *KWk*의 첨가에 따른 육계 사료의 영양소 이용률은 Table 3과 같다. 전체적으로 처리구 간에 유의적인 차이를 보이지 않았지만, 조단백질의 이용률은 다른 처리구에 비하여 *KWk*를 0.5% 첨가 급여한 처리구가 낮은 결과($P<0.05$)를 나타내었다. 육계에 유산균 등의 probiotics의 첨가가 장관 내 pH를 낮추어 유해균의 생성을 억제시키며, 유익균의 안정적인 정착을 도와 영양소의 이용성을 향상시킨다는 보고(Apata, 2008)가 있지만, 본 연구에서 *Wk*는 영양소 이용성 개선에는 효과가 없는 것으로 나타났다. 오히려 사균인 경우 조단백질의 이용성을 저해하였다. 이는 생균제의 첨가가 사육환경이 양호한 상황 하에서는 영양소가 유익균의 성장에 사용되므로 이용성 개선에 별 효과가 없었다는 종설 논문들(Yang et al., 2009; Ohh, 2011)의 고찰과 일부분 맥을 같이 한다. 역시 본 연구도 현상이 아닌 실

Table 3. Effect of dietary live and killed *Weissella koreensis* supplementation on nutrients utilizability in broiler

Nutrients	Control	<i>LWk</i> 0.1	<i>LWk</i> 0.5	<i>KWk</i> 0.5	SEM
Dry matter	79.2	78.8	77.6	76.0	2.97
Crude protein	64.4 ^a	64.2 ^a	62.4 ^a	56.1 ^b	3.28
Crude fat	92.0	91.0	85.4	90.4	5.64
Ash	38.2	40.1	31.7	32.1	7.93
Energy	80.0	79.7	78.6	77.6	3.05
Total CHO	84.9	84.4	83.9	83.0	1.88

^{a-c} Values with different superscripts within the same row differ ($P<0.05$).

Control: No *Wk* supplementation, *LWk*0.1: Live *Weissella koreensis* (*Wk*) 0.1%, *LWk*0.5: Live *Wk* 0.5%, *KWk*0.5: Killed (tyndalized) *Wk* 0.5% supplementation to broiler diet.

Abbreviations: SEM: standard error of means, CHO: carbohydrates.

험 농장에서 이루어진 점을 감안한다면 앞으로 생균제와 사료이용성과의 관계를 규명하기 위해서는 사육 환경을 구별하여 평가할 필요가 있음을 보여주었다.

3. 면역능력에 미치는 영향

육계사료에 *LWk*와 *KWk*를 첨가 급여한 결과가 혈청 내 total IgG, total IgM 함량, 그리고 면역 장기인 흉선, 비장, F낭의 상대적 중량에 미치는 영향은 Table 4와 같다. 사료 내 *Wk*의 첨가는 혈청 내 면역단백질의 수준에는 큰 영향을 미치지 못하였다. 다만 혈청 total IgG의 함량은 *KWk* 0.5% 첨가 급여구가 다른 처리구에 비하여 가장($P<0.05$) 높았다. 이러한 결과는 기존 사료용 생균제의 투여가 육계의 면역능력 향상에 영향을 미쳤다는 보고들(Nayebpor et al., 2007; Apata, 2008)과는 차이가 있다. 또한 본 시험에서 생균의 효과는 없었으나, *KWk* 첨가구에서 IgG 생성량이 높았던 점은 생균 자체보다 사균 내 특정 성분이 그 역할을 수행한 것으로 판단되었다.

면역 장기의 상대적 중량비를 비교하여 보면, 흉선의 상대 중량은 *LWk* 0.5% 첨가 구에서 대조구에 비하여 낮은 결과($P<0.05$)를 나타내었지만, 그 외 처리구와는 차이가 없어서 일정한 경향을 나타내지는 않았다. 비장의 경우, 전체적으로 유의적인 차이가 없었으며, F낭은 *KWk* 0.5% 첨가구에서 다른 처리구에 비하여 유의적으로 높은 결과($P<0.05$)를 보여주었고, 다른 처리구 간에는 유의적인 차이를 보이지 않

Table 4. Effect of dietary live and killed *Weissella koreensis* supplementation on serum total IgG and total IgM contents and relative immune organ weights in broiler

Items	Control	LWk0.1	LWk0.5	KWk0.5	SEM
Total IgG (mg/ml)	26.38 ^{ab}	24.15 ^{bc}	21.79 ^c	29.61 ^a	6.51
Total IgM (mg/ml)	2.16	2.13	2.11	2.12	0.15
Thymus (%)	0.36 ^a	0.28 ^{ab}	0.23 ^b	0.28 ^{ab}	0.06
Spleen (%)	0.09	0.08	0.09	0.08	0.01
Bursa of Fabricius (%)	0.18 ^{ab}	0.16 ^b	0.16 ^b	0.23 ^a	0.03

^{a-c} Values with different superscripts within the same row differ ($P<0.05$).

SEM: standard error of means.

Control: No *Wk* supplementation, LWk0.1: Live *Weissella koreensis* (*Wk*) 0.1%, LWk0.5: Live *Wk* 0.5%, KWk0.5: Killed (tyndalized) *Wk* 0.5% supplementation to broiler diet.

았다. Probiotic 급여로 산란계에서 면역 장기 발육이 우수하였다는 보고(Deng et al., 2012)가 있었으나, 본 연구만으로 *Wk*가 면역 장기 발달에 뚜렷하게 기여하였다고 평가할 수는 없었다. F낭은 조류에만 존재하는 독특한 면역기관으로 체액성 면역에 관여하는 세포를 형성시킨다(Lerner et al., 1971). 따라서 본 연구 사균 *Wk* 첨가구에서 혈청 내 IgG 수준이 높은 것은 해당 첨가구에서 F낭이 상대적으로 더 발달된 것과 관계가 있을 것으로 추정되었다. 본 실험에서 생균 *Wk*는 IgG 수준이나 F낭 발달을 자극하지 못했던 반면, 사균 *Wk*는 일정 수준 자극했던 것으로 보인다. 이는 생균의 틴달화로 사멸된 사균에서 유래된 특정성분이 IgG 생성이나 F낭 발달에 영향을 미친 것으로 추정된다.

4. 맹장 내용물 및 분변 내 미생물 균총에 미치는 영향

육계 사료에 각각 생균 및 사균 형태의 김치 주종 유산균 *Wk*의 첨가가 육계 맹장 내 미생물과 분 중 미생물에 미치는 영향은 Table 5와 같다. 사균이나 생균 *Wk* 모두 경쟁적 억제에 비하여 대장균의 수를 줄이지 못하는 것으로 나타났다. 이는 육계에 유산균 생균제를 급여 시 *Salmonella*와 *Clostridium* 균이 감소하였다는 보고(Kizerwetter-Swida and Binek, 2009)와는 상이한 결과이다. 실제 probiotics에 의한 장내 균총 제어 효과는 대상 균주의 종류나 장내 농도에 따라 서로 차이가 있다. 생균제를 투여한 후, *Salmonella*를 공격

Table 5. Effect of dietary live and killed *Weissella koreensis* supplementation on cecal microbial and fecal *E. coli* populations in broiler

Microorganisms	Control	LWk0.1	LWk0.5	KWk0.5	SEM
Cecal Anaerobic lactic acid bacteria (log cfu/g)	9.25 ^d	9.94 ^a	9.85 ^b	9.74 ^c	0.05
<i>E. coli</i> (log cfu/g)	7.10	7.38	7.70	7.30	0.32
Fecal <i>E. coli</i> (log cfu/g)	0.43	0.44	0.48	0.45	0.05

^{a-d} Values with different superscripts within the same row differ ($P<0.05$).

SEM: standard error of means.

Control: No *Wk* supplementation, LWk0.1: Live *Weissella koreensis* (*Wk*) 0.1%, LWk0.5: Live *Wk* 0.5%, KWk0.5: Killed (tyndalized) *Wk* 0.5% supplementation to broiler diet.

접종한 육계의 경우에 *Salmonella*의 증가 폭이 대조구에 비하여 낮아지기는 하였으나, 절대 수를 감축시키지는 못하는 것으로 나타났다(Higgins et al., 2010; Menconi et al., 2011). 그러나 본 시험에서 김치 유산균 *Wk*의 첨가는 맹장 내 총 혐기성 유산균 수 증가에 유의적으로($P<0.05$) 영향을 미치는 것으로 나타났다. 그리고 이 경우 KWk에 비하여 LWk가 더 효과가 있었으나, LWk의 첨가 수준에 따른 차이는 없었다.

5. 계육의 지질 산화 안정성, 지방산 조성 및 육향에 미치는 영향

사료에 LWk와 KWk의 첨가가 육계 다리육의 저장 중, TBARS 변화에 미치는 영향을 보면 Table 6과 같다. TBARS

Table 6. Effect of dietary live and killed *Weissella koreensis* supplementation on TBARS in broiler thigh at 4°C during storage

Storage time(d)	Control	LWk0.1	LWk0.5	KWk0.5	SEM
1	0.1985 ^a	0.1946 ^{ab}	0.1854 ^b	0.1985 ^a	0.0100
4	0.3314	0.3228	0.3236	0.3338	0.0256
7	0.5260	0.5115	0.5025	0.5109	0.0174
10	0.6034 ^{ab}	0.5937 ^b	0.6054 ^a	0.5896 ^b	0.0146

^{a-c} Values with different superscripts within the same row differ ($P<0.05$).

SEM: standard error of means.

Control: No *Wk* supplementation, LWk0.1: Live *Weissella koreensis* (*Wk*) 0.1%, LWk0.5: Live *Wk* 0.5%, KWk0.5: Killed (tyndalized) *Wk* 0.5% supplementation to broiler diet.

의 변화는 LWk0.5 첨가구에서 수치상으로 낮은 결과를 보였지만 유의적인 차이가 없었다. 따라서 Wk를 생균제로 첨가하는 것은 계육의 지질 산화 안정성 증진에 영향을 미치지 못하는 것으로 나타났다. 계육의 산패는 호기성 미생물 오염과 계육의 지방산 조성에 영향을 받는다(Nollet, 2012). 그러나 본 실험에서 계육의 지방산 조성에는 차이가 없었다 (Table 7 참조). 따라서 저장 중 미생물 변화량이 TBARS 변화의 주요한 변수로 남게 된다. 그러나 본 시험에서 계육의 미생물 변화를 측정하지 않았기에, 앞으로 생균제 급여 후 계육의 미생물 변화 정도를 병행 조사할 필요가 있음을 보여주었다. 이 결과는 계육의 저장성 평가에서 probiotics 급여 계육 내 총 미생물 오염 수준이 대조구에 비하여 낮았다

Table 7. Effect of dietary live and killed *Weissella koreensis* supplementation on fatty acids in broiler leg meats (% of total fatty acid)

Fatty acids	Control	LWk0.1	LWk0.5	KWk0.5	SEM
C14:0	0.46	0.43	0.41	0.44	0.03
C16:0	23.02	22.61	22.56	23.01	0.34
C16:1n7	0.55	0.55	0.36	0.49	0.01
C18:0	7.62	8.02	7.46	7.61	0.11
C18:1n9	35.79	35.35	35.26	35.78	2.45
C18:2n6	29.73	30.22	31.31	30.02	1.37
C18:3n3	0.65	0.55	0.56	0.55	0.01
C20:1n9	0.51	0.55	0.54	0.53	0.04
C20:4n6	0.97	0.88	0.87	0.88	0.09
C20:5n3	0.55	0.57	0.54	0.55	0.03
C22:6n3	0.15	0.13	0.13	0.14	0.02
SFA	30.12	30.22	29.99	30.01	1.33
USFA	69.88	69.78	70.01	69.99	3.27
MUFA	35.14	36.43	35.77	34.77	3.15
PUFA	60.16	61.22	60.79	62.17	4.39
USFA/SFA	2.32	2.31	2.33	2.33	0.08

Values with different superscripts within the same row differ ($P < 0.05$).

Control: No *Wk* supplementation, LWk0.1: Live *Weissella koreensis* (*Wk*) 0.1%, LWk0.5: Live *Wk* 0.5%, KWk0.5: Killed (tyndalized) *Wk* 0.5% supplementation to broiler diet.

Abbreviations: SEM: standard error of means, SFA: saturated fatty acids, USFA: unsaturated fatty acids, MUFA: medium unsaturated fatty acids, PUFA: polyunsaturated fatty acids.

는 연구(Mahajan et al., 2000; Kabir et al., 2005)와는 이론적으로 차이가 있었다. 따라서 본 실험의 결과는 계육의 저장성에 미치는 영향 정도는 probiotics의 균종에 따라서도 차이가 있을 수 있음을 시사하였다.

본 실험에 사용된 계육의 지방산 조성에 차이가 있었는가를 비교하기 위하여 사료에 LWk와 KWk의 첨가가 계육의 지방산 조성에 미치는 영향을 Table 7에 나타내었다. 타 연구(Nollet, 2012)에서 장내 미생물 상에 따라 생성된 휘발성 지방산 등이 계육의 지방산 조성과 풍미에 영향을 미칠 수 있다는 가능성은 제시된 바 있다. 그러나 본 실험에서 김치유산균의 사료 내 첨가는 계육 내 포화 및 불포화 지방산 함량, 지방산의 조성에는 영향을 미치지 않았던 것으로 나타났다.

사료에 LWk와 KWk 첨가가 육계 다리육의 육향에 미치는 정도를 전자코를 이용하여 분별한 결과를 살펴보면 Fig. 1과 같다. 본 실험에서 사료 내 생균 또는 사균 형태의 김치유산균, 그리고 그 첨가 수준이 전자코 분별 육향에서 차별화된 군락을 형성하며 뚜렷한 차이를 나타내었다. 이 결과는 사료를 통한 probiotics 급여가 계육의 풍미에 영향을 미쳤다는 보고(Mahajan et al., 2000; Kabir et al., 2005)와 같았다. 그러나 probiotics 급여가 계육의 풍미에 영향을 미치지

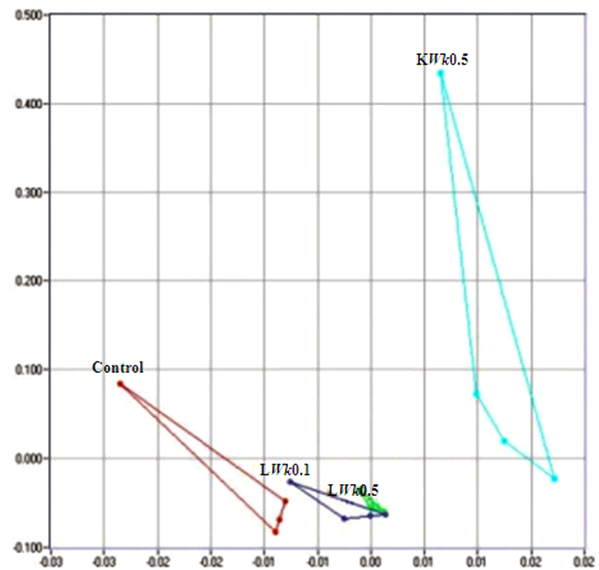


Fig 1. Effect of dietary live and killed *Weissella koreensis* supplementation on electronic nose flavor differentiation of broiler leg meats.

Where, Control stands for No *Weissella koreensis* (*Wk*) supplemented, LWk 0.1 for live *Wk* 0.1%, LWk 0.5 for live *Wk* 0.5%, and TWK 0.5 for killed(tyndalized) *Wk* 0.5% supplemented groups.

못했다는 보고도 있어(Loddi et al., 2000) 이를 probiotics의 분명한 효과로 일반화할 수는 없었다. 계육의 풍미는 계육의 지방산 조성과 가장 관계가 높다(Nollet, 2012). 그러나 본 실험에서 계육의 지방산 조성에서는 차이가 없었지만, 전자코 육향에서는 차이가 나타났다. 다만 전자코를 이용한 향기분석 결과가 소비자 선호도를 의미하는 것이 아니기 때문에 사료 내 *Wk* 첨가가 육향을 개선했다고 평가할 수는 없다. 결론적으로 본 연구는 육계사료를 통한 김치유산균 *Wk*의 첨가 급여가 육향에 분명히 영향을 미치며, 그 영향 정도는 생균과 사균, 생균 첨가 수준에 따라서도 차이가 있음을 보여 주었다.

적 요

김치의 주종 유산균의 하나인 *Weissella koreensis(Wk)*의 육계 사료용 probiotics로서 활용 가능성을 평가하기 위하여 육계 성장능력, 영양소 이용률, 면역능력, 장내 미생물, 계육 품질에 미치는 영향을 평가하였다. 무첨가 육계사료를 대조구(Control)로 설정하고, 처리구로 생균 형태의 *Wk*를 0.1% (*LWk* 0.1), 0.5%(*LWk* 0.5) 첨가한 구와 사균 형태의 *Wk* 0.5%를 첨가한 구(*KWk* 0.5) 등 총 4처리를 두었다. 본 연구 결과, 생균 형태의 *LWk* 첨가는 대조구와 사균 형태의 첨가구(*KWk* 0.5)에 비하여 증체율과 사료 효율을 유의적으로 개선시켰다. 영양소 이용률은 처리구 간에 차이가 없었으나, 조단백질 이용률이 사균(*KWk* 0.5) 첨가구에서 유의적으로 낮았다. 혈청 IgG 수준과 F양의 상대적 크기는 *KWk* 0.5 첨가구가 가장 높았다. 생균 형태의 *Wk* 첨가로 맹장 내 총 혐기성 유산균의 수가 유의적으로 높아졌으나, 대장균의 수에는 변화가 없었다. 사료 내 김치유산균의 첨가는 생균이나 사균 모두 계육 지방산 조성, 계육의 산패 지연에는 영향을 나타내지 못하였다. 그러나 생균이나 사균, 첨가수준 모두가 전자코를 통한 육향에서는 차이를 나타내었다. 본 연구는 생균 형태 *Wk*가 육계 사료용 생균제로 활용 가능성을 보여 주었다.

(색인어 : *Weissella koreensis(Wk)*, 육계, 성장, 장내 미생물, 계육 품질)

참고문헌

Aliakbarpour HR, Chamani M, Rahimi G, Sadeghi AA, Qujeq D 2012 The *Bacillus subtilis* and lactic acid bacteria probiotics influences intestinal mucin gene expression,

- histomorphology and growth performance in broilers. *Asian-Aust J Anim Sci* 25:1285-1293.
- Apata DF 2008 Growth performance, nutrient digestibility and immune response of broiler chicks fed diets supplemented with a culture of *Lactobacillus bulgaricus*. *J Sci Food Agric*. 88:1253-1258.
- AOAC 2008 Official Methods of Analysis. 18th Edition. Asso Offi Anal Chem USA.
- Bansal GR, Singh VP, Sachan N 2011 Effect of probiotic supplementation on performance of broilers. *Asian J Anim Sci* 5:277-284.
- Cho JH, Lee DY, Yang CN, Jeon JI, Kim JH, Han HU 2006 Microbial population dynamics of kimchi, a fermented cabbage product. *FEMS Microbiol Lett* 257:262-267.
- Deng W, Dong XF, Tong JM, Zhang Q 2012 The probiotic *Bacillus licheniformis* ameliorates heat stress-induced impairment of egg production, gut morphology, and intestinal mucosal immunity in laying hens. *Poultry Sci* 91:575-582.
- Fajardo P, Pastrana L, Méndez J, Rodríguez I, Fuciños C, Guerra P 2012 Effects of feeding of two potentially probiotic preparations from lactic acid bacteria on the performance and fecal microflora of broiler chickens. *Scientific World J* doi:10.1100/2012/562635.
- Folch J, Lees M, Stanley GHS 1957 A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J Biol Chem* 226:497-509.
- Higgins JP, Higgins SE, Wolfenden AD, Henderson SN, Torres-Rodriguez A, Vicente JL, Hargis BM, Tellez G 2010 Effect of lactic acid bacteria probiotic culture treatment timing on *Salmonella enteritidis* in neonatal broilers. *Poultry Sci* 89:243-7.
- Huang MK, Choi YJ, Houde R, Lee JW, Lee B, Zhao X 2004 Effects of Lactobacilli and an acidophilic fungus on the production performance and immune responses in broiler chickens. *Poultry Sci* 83:788-95.
- Indriyani A, Juffrie M, Setyati A 2012 Effects of live- versus heat-killed probiotics on acute diarrhea in young children. *Paediatr Indones* 52:249-254.
- Kabir SML, Rahman MM, Rahman MB. 2005 Potentiation of probiotics in promoting microbiological meat quality of broilers. *J Bangladesh Soc Agric Sci Technol* 2:93-96.

- Kizerwetter-Swida M, Binek M 2009 Protective effect of potentially probiotic *Lactobacillus* strain on infection with pathogenic bacteria in chickens. *Pol J Vet Sci* 12:15-20.
- Lee JS, Lee KC, Ahn JS, Mheen TI, Pyun YR, Park YH 2002 *Weissella koreensis* sp. nov., isolated from kimchi. *Int J Syst Evol Microbiol* 52:1257-1261.
- Lee KW, Park JY, Chun J, Han NS, Kim JH 2010 Importance of *Weissella* species during kimchi fermentation and future works. *Kor J Microbiol Biotechnol* 38:341-348.
- Lerner KG, Glick B, McDuffie FC 1971 Role of the bursa of Fabricius in IgG and IgM production in the chicken: Evidence for the role of a non-bursal site in the development of humoral immunity. *J Immunol* 107:493-503.
- Loddi MM, Gonzalez E, Takita TS, Mendes AA, Roca RO, Roca R 2000 Effect of the use of probiotic and antibiotic on the performance, yield and carcass quality of broilers. *Rev Bras Zootec* 29:1124-1131.
- Mahajan P, Sahoo J, Panda PC 2000 Effect of probiotic (Lacto-Sacc) feeding, packaging methods and season on the microbial and organoleptic qualities of chicken meat balls during refrigerated storage. *J Food Sci Technol* 37 :67-71.
- Menconi A, Wolfenden AD, Shivaramaiah S, Terraes JC, Urbano T, Kuttel J, Kremer C, Hargis BM, Tellez G 2011 Effect of lactic acid bacteria probiotic culture for the treatment of *Salmonella enterica* serovar Heidelberg in neonatal broiler chickens and turkey poults. *Poultry Sci* 90:561-565.
- Nayebpor M, Farhomand P, Hashemi A 2007 Effects of different levels of direct fed microbial (*Primalac*) on growth performance and humoral immune response in broiler chickens. *J Anim Vet Adv* 6:1308-1313.
- Nollet LML 2012 Handbook of Meat, Poultry and Seafood Quality. Ed. Nollet LML. ISBN: 978-0-8138-2446-8. Wiley-Blackwell.
- Ohh SJ 2011 Meta analysis to draw the appropriate regimen of enzyme and probiotic supplementation to pigs and chicken diets. *Asian-Aust J Anim Sci* 24:573-586
- Park JA, Tirupathi PB, Pichiah JJ, Yu SH, Oh JW, Daily III, Cha YS 2012 Anti-obesity effect of kimchi fermented with *Weissella koreensis* OK1-6 as starter in high-fat diet-induced obese C57BL/6J mice. *J Appl Microbiol* 113: 1507-1516.
- Park JM, Shin JH, Lee DW, Song JC, Suh HJ, Chang UJ, Kim JM 2010 Identification of the lactic acid bacteria in Kimchi according to initial and over-ripened fermentation using PCR and 16S rRNA gene sequence analysis. *Food Sci Biotech* 19:541-546.
- Rampengan NH, Manoppo J, Warouw SM 2010 Comparison of efficacies between live and killed probiotics in children with lactose malabsorption. *Southeast Asian J Trop Med Pub Health* 41:474-481.
- SAS Institute 2004 SAS/STAT User's Guide. Version 9.1. SAS Institute Inc, Cary, NC.
- Sherman P, Johnson-Henry K, Yeung H, Ngo P, Goulet J, Tompkins T 2005 Probiotics reduce enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7- and enteropathogenic *E. coli* O127:H6-induced changes in polarized T84 epithelial cell monolayers by reducing bacterial adhesion and cytoskeletal rearrangements. *Infect Immun* 73:5183-5188.
- Sinnhuber RO, Yu TC 1977 The 2-thiobarbituric acid reaction, an objective measure of the oxidative deterioration occurring in fat and oil. *J Jap Soc Fish Sci* 26:259-267.
- Snedecor GW, Cochran WG 1985 Statistical Methods. 8th edition. Oxford and IBM Publishing Co, Calcutta.
- Wang JP, Yoo JS, Jang HD, Lee JH, Cho JH, Kim IH 2011. Effect of dietary fermented garlic by *Weissella koreensis* powder on growth performance, blood characteristics, and immune response of growing pigs challenged with *Escherichia coli* lipopolysaccharide. *J Anim Sci* 89:2123-2131.
- Yang Y, Iji PA, Choct M 2009 Dietary modulation of gut microflora in broiler chickens: a review of the role of six kinds of alternatives to in-feed antibiotics *World's Poultry Sci J* 65:97-114
- Yu JJ, Park HJ, Kim SG, Oh SH 2009 Isolation, identification, and characterization of *Weissella* strains with high ornithine producing capacity from kimchi. *Kor J Microbiol* 45: 339-345.

(접수: 2013. 3. 18, 수정: 2013. 3. 25, 채택: 2013. 3. 25)