

仔豚에 대한 生菌製劑의 成長 促進效果

김선기* · 원송대 · 연정웅

Effect of Growing Pigs fed Probiotic (*Lactobacillus acidophilus* KC8, *Streptococcus faecalis* KC8) on Performance.

S. K. Kim* · S. D. Weon · J. W. Yon

ABSTRACT

40 three way crossbreed(LYXHXD) were used to investigate the effect of *L. acidophilus*, *Str. faecalis*(domestic products as animal probiotics) on the gain, feed efficiency, frequency of diarrhea, fecal lactobacillus and coliform bacteria for 2 months. The results were as follows;

1. ADG(Average Daily Gain) was significantly improved by the addition of *L. acidophilus*($p<0.1$) compared to control. But, significant difference was not found in *Str. faecalis* treatment.
2. Although significant difference was not tested in feed efficiency, there was similar to ADG.
3. Frequency of diarrhea was highly scored in early weanling pigs(0~2 weeks) of all treatments. Thereafter, it was not found the diarrhea.
4. Counting the fecal lactobacillus and coliform bacteria, it was not found the increase of fecal lactobacillus compared to control. Decrease of coliform bacteria was clear at last stage(5~8 Weeks) compared to early stage(0~4 weeks).

I. 서 론

현재 항생제는 가축 질병의 예방과 치료뿐 아니라 가축의 성장을 촉진하고 사료효율을 개선할 목적으로 축산농가에 보편적으로 이용되고 있는 실정이다.

그러나 항생물질의 연용으로 내성을 지닌 미생물이 증가하여 그 효능이 떨어지거나 ¹⁰⁾ 축

산물등에 잔류되어 인체에 영향을 초래한다는 것이⁹⁾ 밝혀져 치료이의 수준의 항생제사용을 규제하고 있다.

이러한 항생제의 문제점을 개선할 수 있는 제품으로써 또한, 장내균총의 정상 상태를 유지하여 세균성 소화기 질병의 예방과 치료의 방법으로 국내의 사용량도 점차 증가하고 있는 추세이다.

* 코린화학(주) 연구실 (Lab. Kolin Chem. Co., Ltd.)

소련의 노벨의학상 수상자인 Metchnikoff(1908)가 소화기 장관내에 적정수의 유산균을 정착시킴으로써 여러 부패균에 의한 독성 대사산물이 숙주에 미치는 해로운 영향을 제거할 수 있어 체내 건강과 장수에 유익하다고 주장한 이래, 유산균의 효과에 대해 많은 학자들이 이를 입증하여 왔다.

유산균의 효과에 대해 다음과 같이 몇가지로 나눌수가 있다.

- 1) 장내 균총의 균형과 대장균군의 감소^{24) 25)}
- 2) 유산균 자체의 항생물질 생성^{26) 27)}
- 3) 장내 PH 저하^{14) 17) 25)}
- 4) 소화기내 유산균 집락 형성과 정착^{4) 6) 22)}
- 5) 독성 아민 합성의 방지¹⁴⁾
- 6) 항암 효과^{1) 26)}
- 7) 유산균이 H₂O₂로 인한 병원성 세균의 발육 억제 효과^{7) 16)}
- 8) 타유산균과의 Symbiosis³⁾

위에 나열한 유산균의 효과로 인한 가축의 증체율, 사료효율에 미치는 영향에 대하여 국내외의 많은 연구보고에 의하여 생균제제로써의 성장 촉진제 역할을 입증하여 왔다.

본 시험은 현재 국내에 시판중인 생균제제들이 원료를 외국에서 수입에 의존하여 제조 판매하고 있는 바, 이에 따른 문제점이 적지 않으리라 생각되어 순수한 국내 기술로도 원료 생균제제의 제조가 가능한 것으로 판단하여 여러 source로부터 유산균을 분리 동정하여

Bergey's manual의⁵⁾ 방법에 의거 확인한 후 이 중 생균제제로 적합하다고 인정된 L-L-*actobacillus acidophilus* KC8, C8, *Streptococcus faecalis* KC8, 두 균주를 가지고 새끼 돼지의 성장촉진 효과와 분의 미생물 변화를 관찰함으로써 생균제제로써의 가능성을 규명하고자 실시하였다.

II. 재료 및 방법

1. 시험시기 및 장소

연암 축산원에 전문대 양돈장에서 포유가 끝난 평균 체중이 14~16kg사이의 삼원교잡종(Large Yorkshire x Hampshire x Duroc)자돈 40두를 선발하여 1987년 11월 23일부터 88년 1월 18일까지 2달간 시험하였다.

2. 처리방법

대조구, *L. acidophilus*구, *Str. faecalis*구, *L. acidophilus*+*Str. faecalis*구로 나누어 각 처리구당 임의로 새끼돼지 10두를 설정하여 시험에 이용하였다.

시험에 이용된 사료의 영양소 성분은 표1과 같으며 사료와 물은 자유 무제한 급여토록 하였고 기타 사양관리는 연암대 양돈장의 관행에 준하였다.

Table 1. Chemical Composition of Experimental Diets

	젖먹이 사료	육성된 사료
Crude Protein(%)	18	15
Crude fat(%)	2.0	2.5
Crude fibre(%)	5.5	5.5
Crude ash(%)	8.0	8.0
Ca(%)	0.6	0.6
P(%)	0.6	0.4

3. 생균제제 제조 및 투여 방법

시험에 사용된 생균제제는 성환에 소재하는 코린화학(주)의 실험실에서 제조하였으며 제조 방법과 사용된 균주 및 투여량은 다음과 같다.

- 1) 사용 균주 : *L. acidophilus* KC8.
Str. faecalis KC7.
- 2) 투여량 : 5×10^8 cfu/g수주의 두 균주를 젖먹이 및 육성된 돼지사료에 kg당 5g씩 혼합하여 무제한 사료 급여를 행하였다.

3) 생균제제 제조

Bergey's manual에 의해 *L. acidophilus*, *Str. faecalis*로 인정된 균주를 MRS Broth에서 배양후 그림1과 같은 공정을 거쳐 생균제제를 제조하였다.

일반 제조공정과는 달리 농축 Cell들을 비특성 물질인 gel matrix내에 가두었기 때문에 수분 흡수로 인한 균체활성 억제등을 통해 생균 자체의 수명을 연장시킬 수 있는 제조공정을 이용하였다.

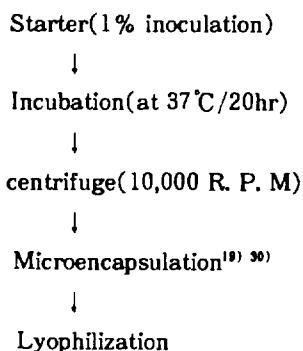


fig. 1. Process of Probiotics manufacture using microencapsulation.

4. 체중조비 및 사료효율 조사

체중 및 사료효율은 격주간격으로 조사하였으며 증체율 및 사료효율에 관한 유의성 검정

은 국립종축원 전산실에서 실시하였다.

5. 설사 빈도

각 처리군별로 분의 상태에 따라 설사(3점), 연변(2점), 약간연변(1점), 설사없음(0점)으로 점수를 주어 설사 정도의 유무를 관찰하였다.

6. 미생물 검사

돼지의 분을 매주 전분 채취법에 의하여 수거한 후 코린화학(주) 실험실에서 유산균수와 대장균수를 조사하였다.

균수 조사는 APHA²¹⁾ 방법에 준하였으며 배지는 BCP Agar+0.02% NaN₃(유산균 검출용 배지)와 VRB Agar(대장균 검출용 배지)를 사용하였다.

III. 결과 및 고찰

1. 증체량, 사료섭취량 및 사료효율

새끼 돼지에 대한 *L. acidophilus*, *Str. faecalis*의 첨가 효과는 표2에서와 같다.

일당 증체량은 대조구 705g, *S. faecalis*구 709g *L. acidophilus*+*Str. faecalis*구 752g, *L. acidophilus*구 770g순으로 *L. acidophilus*구가 가장 우수한 것으로 나타났으며(<0.1), *Str. faecalis*구는 유의성을 인정할 수 없었다.

각 처리 기간별로 보면 2~4주, 6~8주 사이에 증체량은 5%수준에서 유의성이 인정되었다.

사료효율은 대조구 2.59 *Str. faecalis* 2.47, *L. acidophilus*+*Str. faecalis* 2.47, *L. acidophilus* 2.39순으로 나타났으며 처리군 별로 한 cage내에서 사료를 급여한 관계로 유의성 검정은 할 수 없었으나 일당 증체량과 마찬가지로 *L. acidophilus*구가 가장 우수한 것으로 나타났다.

Table 2. Effect of *L. acidophilus*, *Str. faecalis* on daily gain feed intake, feed efficiency of baby pigs.

Item	treatm	Control	<i>L. acidophilus</i>	<i>Str. faecalis</i>	Mixed Strain
0-2 Weeks Wt. gain(Kg)		8.8	8.7	8.9	8.9
2-4	"	8.6	10.0	7.6	10.1
4-6	"	10.7	10.1	9.6	11.1
6-8	"	11.3	14.3	13.6	12.0
total Wt. gain		39.5	43.2	39.7	42.2
Av. daily Wt. gain(g)		705 ^a	770 ^b	709 ^a	752 ^b
0-2 Weeks feed intake		21.6	19.3	19.1	20.2
2-4	"	19.0	19.4	21.5	22.8
4-6	"	30.0	30.4	26.1	31.1
6-8	"	31.8	33.9	32.2	30.0
total feed intake		102.4	103.0	97.9	104.1
0-2 Weeks feed effic.		2.45	2.23	2.14	2.28
2-4	"	2.19	1.94	2.82	2.26
4-6	"	2.80	2.99	2.73	2.78
6-8	"	2.82	2.36	2.30	2.49
Av. feed efficiency		2.59	2.39	2.47	2.47

위의 결과로 볼 때 *L. acidophilus* 투여에 의한 효과가 뚜렷한 반면 *Str. faecalis* 투여에 의한 효과는 인정되지 않았다.

*L. acidophilus*에 대한 효과는 Pollman 등(1980), Pillman 등(1981), Lyons(1986), 등이 돼지에 있어 생균제 투여시 증체율, 사료효율이 개선되었다는 보고와 닭에 있어서의 개선 효과에 대한 여러 학자의 보고와 ^{1) 2) 15) 22)} 일치되고 있다. 그러나 *Str. faecalis* 구의 경우

정확하게 어떠한 이유로 효과가 나타나지 않았는지는 모르나, 장내정착 결핍, 담즙산, 항생제 내성 결여등의 이유가 추측되며 앞으로 연구가 더 진행되어야 할 것이다.

2. 설사 빈도

설사의 정도를 다음과 같이 점수를 주어 조사한 결과는 표3과 같다.

Table 3. Scour index of baby pigs fed probiotics.

	Control	<i>L. acidophilus</i>	<i>Str. faecalis</i>	Mixed strain
0-2 Weeks	1.7	3.7	0.4	1.4
2-4	"	0.3	0.9	0.0
4-6	"	0	0.2	0.0
6-8	"	0	0.2	0.0
total	2.0	4.3	1.7	1.4

0 ; normal.

1 ; Slightly fecal looseness.

2 ; looseness.

3 ; diarrhea.

설사빈도를 조사한 결과 설사는 이유 초기에 전 처리구에 걸쳐 산발적으로 일어났으며 특히 *L. acidophilus*구에 설사가 많았는데 이는 개체별로 장기산 설사하는 자돈이 없는 것으로 보아 주로 포유에서 이유로의 전환에 따른 사료의 변화, 과식에 의한 일과성 하리로 판명된다.

자돈 설사의 원인은 사료의 변화, 이유등의 과정중에 장내 미생물 균총의 변화에 기인하며 전염성 대장균의 수가 급증한다는 보고^{14) 24)}와, 모든 동물에 있어 이유직 후 amine생성이 증가하며 설사시 다시 높아지는데 *L. acidophilus*를 투여한 구에 있어 amine의 생성과 분비가 줄고 amine의 생성과 분비의 주된 장소도 결장이었으나 대조구에서 이들의 주위치는 소장이었고 이 경우 설사는 심하고 오래간다는 보고¹⁴⁾에서 장내 대사산물인 amine, ammonia 등이 원인이 되는 것을 알 수 있다.

이유 2주후 부터는 거의 설사가 없었으며 처리구간에 별 차이를 볼 수 없었다. 이는 Cage 사양에 의한 위생청결, 이유후 사료에 대한 적응 등으로 인해 직접적으로 설사를 할 수 있는 요인이 배제되었기 때문으로 추측된다.

이러한 결과로 볼 때 생균제제의 투여시기는 포유기에서부터 시작해야 하며 어느정도 자란 후에는 심한 설사가 오는 경우가 드물다는 것을 알 수 있다.

3. 미생물 검사

매주 자돈분을 전분법으로 채취하여 조사한 결과는 그림 2, 3, 4, 5와 같다. 그림에서 알 수 있는 바와같이, 유산균수의 경우 대조구에 비해 각 처리구에 있어 증가를 인정할 수 없었다.

대장균군의 경우, 정확한 수의 감소는 인정할 수 없었으나 전반기(0~4주)에 비해 후반기(5~8주)에서 그 수의 감소를 나타내었다.

*L. acidophilus*구와 *Str. faecalis*구 사이에 대장균군 수의 차이는 인정할 수 없었다.

이와같이 정확한 결과를 볼 수 없고 단지 경향치만 관찰할 수 밖에 없었던 이유는 처리군 내 10두중 어느 특정한 개체를 지정하여 분을 채취할 수 없어서 임의로 분산되어 있는 분을 채취 혼합하여 검사하였기 때문이다.

그러나, 그림에 나타난 바와같이 대조구에 비해 처리구에 있어 유산균수의 증가를 확인할 수 없던 것은 Muralidhara등(1977)의 실험결과에서처럼 유산균의 증가는 인정할 수 없고 대장균 군수의 뚜렷한 감소를 보였다는 보고와 같은 경향임을 알 수 있다.

대장균군에 있어 유산균의 명백한 효과는 *acidophilus Milk*를 섭취한 쥐의 분을 검사한바 유산균수의 증가와 대장균군의 감소를 보고한 실험²⁵⁾, Sandine(1972)이 설사, 변비, 석증독 환자에 있어 *L. acidophilus*제제 투여시 약 90%이상 치료 효과를 보고한 임상 실험과 *in vitro*에서 유산균과 대장균 및 병원성 미생물의 경합 관계를 실험한 여러 학자의 data^{11) 29)}에서 쉽게 알 수 있다.

이러한 대장균등 병원성 미생물의 억제 기작²¹⁾은 장내 PH의 저하, 유산균이 생성하는 항생물질과 H₂O₂등에 기인한다는 많은 연구 보고가 있다.

이상의 결과로 볼때, *L. acidophilus*에 의한 성장촉진 효과, 대장균군의 감소등의 효과로 생균제제로써의 가능성은 확인되었으나 *Str. faecalis*에 의한 효과는 나타나지 않았다.

생균제제에 대한 긍정적 반응 뿐 아니라 부정적 견해도 학자들 사이에서 발표되고 있는 경우도 있다.

아직 국내에는 생균제제에 대한 인식이 부족하며 그 판매량도 미미한 것은 사실이다.

앞으로 항생제의 사용규제등을 대비, 국내에서도 생균제제의 개발이 시급한 실정이며 많은 연구가 이루어져야 할 것이다.

IV. 요 약

국내에서 제조된 *L. acidophilus*와 *Str. faecalis*의 동물에 급여한 결과가 증체율, 사료 효율, 설사빈도, 분내 미생물의 변화등에 미치는 효과를 관찰하여 성장촉진제로써의 가능성 을 조사하기 위해 삼원교잡종(LYxHxD)자돈 40두를 공시하여 2개월간 사양 시험한 결과를 요약하면 다음과 같다.

1. 일당 증체량 경우 *L. acidophilus*구가 우수하게 나타났으나(<0.1) *Str. faecalis*구는

유의성을 인정할 수 없었다.

2. 사료효율 경우도 유의성 검정은 할 수 없었으나 일당 증체량과 유사한 경향을 나타냈다.

3. 설사빈도의 경우 이유초기에(0~2주) 처리구에 관계없이 높게 나타났으며 그 이후는 거의 없었다.

4. 유산균수를 조사한 결과, 대조구에 비해 유산균수의 증가는 인정할 수 없었으나 대장균균수의 감소는 전반기(0~4주)보다 후반기(5~8주)에 감소하는 경향을 나타내었다.

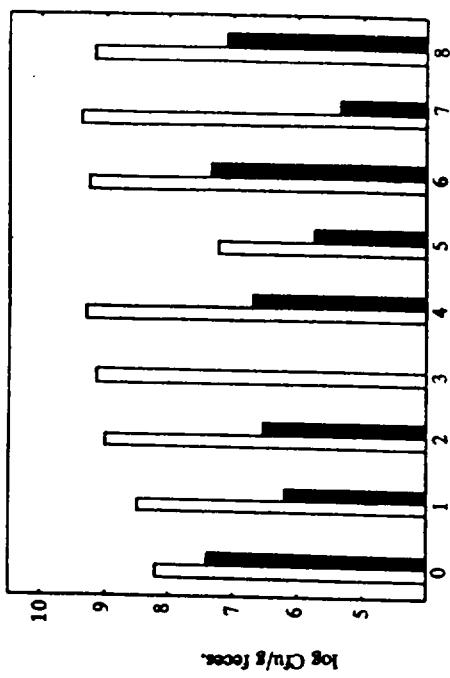


FIG. 2. Geometric means of fecal Lactobacillus and coliform bac. counts in control at 2 month.

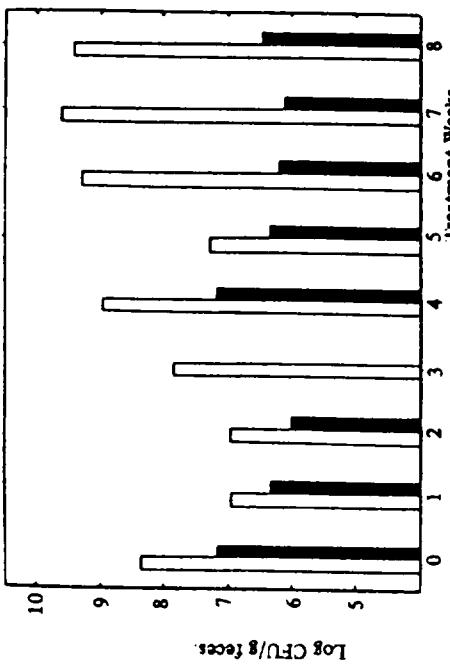


FIG. 3. Geometric means of fecal Lactobacillus and Coliform bac. counts in L. acidophilus + S. faecalis Treatment.

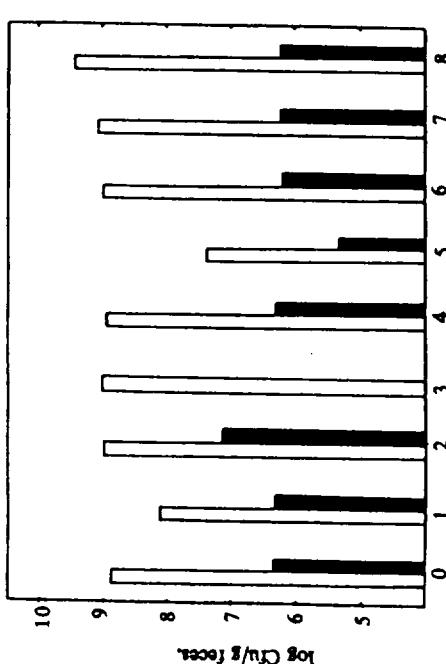


FIG. 4. Geometric means of fecal Lactobacillus and coliform bac. counts in S. faecalis Treatment

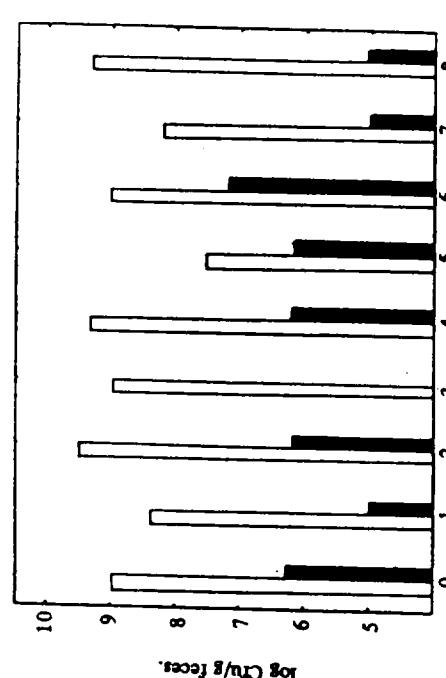


FIG. 5. Geometric means of fecal Lactobacillus and Coliform bac. counts in L. acidophilus + S. faecalis Treatment.

V. 引用文献

1. Anonymous. 1980. Antitumor effect of *L. casei* YIT 9018. Report on Yakult Beverage and Yakult strain. No. 11(June);138 – 139.
2. Anonymous. 1980. *Lactobacillus acidophilus*. – A review. CHR. Hansen Lab. Inc.
3. Branen. A. L. and T. W. Keenan. 1969. Growth stimulation of lactobacillus species by lactic streptococci. Appl. Microbiology. 17;280 – 285.
4. Brooker B. E., and R. Fuller, 1975. Adhesion of Lactobacilli to the chicken crop epithelium. J. Ultrastructure Research. 52:21 – 31.
5. Buchanan, R. E., and N. E. Gibbons. 1974. Bergey's manual of determinative bacteriology. 8th ED. Williams and Wilkins Co. Baltimore.
6. Conway P. L., S. L. Gorbach., B. R. Golrin 1987. Survival of Lactic acid bacteria in the human stomach and adhesion to intestinal cells. J. Dairy Sci. 70;1 – 12.
7. Dahiya, R. S. and M. L. Speck. 1968. H_2O_2 Formation by lactobacilli and it's effect on *staphyl aureus*. J. Diary Sci. 51:1568 – 1572.
8. Eyssen, H and P. De Somer. 1967. Effects of *streptococcus faecalis* and a filterable agent on growth and nutrient absorption in gnotobiotic chicks. Poultry sci. 46:323 – 333.
9. Francis. C., D. M. Janky. A. S. Arafa and R. H. Harms. 1978. Interrelationship of lactobacillus and zinc bacitracin in the diets of turkey Poult. Poultry sci. 57;1687 – 1689.
10. Gilliland. S. E. and M. L. Speck. 1971. Interactions of food starter cultures and food borne pathogens : lactic Str. versus staphylococci and salmonellae. J. Milk Fd. Tech. 35:307 – 310.
11. Gilliland S. E. and M. L. Speck. 1977. Antagonistic action of *lactobacillus acidophilus* toward intestinal and foodborne Pathogens in associative cultures. J. Food prot. 40:820 – 823.
12. Gilliland, S. E., M. L. Speck, G. F. Nauyok. Jr., and F. G. Giesbrecht. 1978. Influence of consuming non-fermented milk containing *Lactobacillus Acidophilus* on fecal flora of healthy males. J. Dairy Sci. 61:1 – 10.
13. Hale. O. M. and G. L. Newton. 1979. Effects of a nonviable lactobacillus species fermentation product on performance of pigs. J. Animal Sci. 48:770 – 775.
14. Hill. I. R., R. Kenworthy and P. Porter. 1970. Studies of the effect of dietary lactobacilli on intestinal and urinary amines in pigs in relation to weaning and post-weaning diarrhoea. Res. Vet. Sci. 11:320 – 326.
15. Huhtanen. C. N. and J. M. Pensack. 1965. The role of *streptococcus faecalis* in the antibiotic growth effect in chickens. Poultry Sci. 44:830 – 834.
16. Jang. H. W. 1980. Inhibitory action of lactobacillus against some Pathogenes.
유산균과 건강에 관한 제2회 학술세미나 주제 발표문
18. Kao C. T. and W. C. Frazier. 1966. Effect of lactic acid bacteria on growth of *staphylococcus aureus*. Applied Microbiology. 14:251 – 255.

18. Kemp, G., and J. Kiser. Microbial resistance and public health aspects of use of medicated feeds. *J. Animal Sci.* 31:1107–1117.
19. F. Lim. 1984. Microencapsulation of living cells and tissues theory and practice in Biomedical Applications of Microencapsulation. CRC Press Inc. Boca Raton, Florida. 137–154.
20. Lyons, P. 1986. Biological tools for improving feed efficiency. Alltech's 2nd annual biotech. symposium. 15–18.
21. Marth, E. H. 1978. Standard methods for the examination fo dairy products. 14ED. ApHA.
22. Metchnikoff, E. 1907. The prolongation of life. 2nd ED. Lodon Heinemann.
23. Morotomi, M., K. Sakai, K. Yazawa, N. Suegara and Y. Kawai. 1981. Effect and fate of orally administered lactic acid in rats. *J. Nutritional Sci and Vitaminology.* 27:117–128.
24. Muralidhara, K. S., G. G. Sheggeby., P. R. Elliker., D. C. England and W. E. Sandine. 1977. Effect of feeding lactobacilli on the coliform and lactobacillus flora of intestinal tissue and feces from Piglets. *J. food prot.* 40:288–295.
25. Pollmann, D. S., D. M. Danielson and E. R. Peo. 1980. Effect of *lactobacillus acidophilus* on starter pigs fed a diet supplemented with lactose. *J. Animal Sci.* 51: 638–644.
26. Sandine, W. E, 1979. Roles of lactobacillus in the intestinal tract. *J. food Prot.* 42:259 –262.
27. Sandine, W. E., K. S. Muralidiara, P. R. Elliker and D. C. England. 1972. Lactic acid bacteria in food and health : A review with special reference to enteropathogenic *Escherichia coli* as well as certain enteric diseases and their treatment with antibiotics and lactobacilli. *J. Milk and food tech.* 35:691–702.
28. Shahani, K. M., and A. D. Ayebo. 1980. Role of dietary *Lactobacillus* in gastrointestinal microecology. *Am. J. Clin Nutrition* 33:2248–2457.
29. Shahani, K. M., J. R. Vakil, and A. Kilara. 1976. Natural antibiotic activity of *L. acidophilus* and *bulgaricus*. 1. Cultural conditions for the production of antibiotics. *Cultured Dairy Products. J.* 11:14–17.
30. Sinacore, S. M. 1984. Gel Entrapment : Applications in production of biologicals and mass culturing of animal cells. *Karyon Technology news.* 2:(No. 2)
31. Speck, M. L. 1976. Interactions among Lactobacilli and man. *J. Dairy Sci.* 59:338–343.
32. Tortuero, F. 1972. Influence of the implantation of *lactobacillus acidophilus* in chicks on the growth feed conversion malabsorption of fats syndrome and intestinal flora. *Poultry Sci.* 52:197–203.
33. Underdahl, N. R., A. Torres-Medina and A. R. Doster. 1982. Effect of *Streptococcus Faecium* C-68 in control of *Escherichia coli*-induced diarrhea in gnotobiotic pigs. *Am. J. Vet. Res.* 43:2227–2231.
34. Vincent, J. G., R. C. Veomett and R. F. Riley. 1959. Antibacterial activity associated with *Lactobacillus acidophilus*. *J. Bac.* 78:477–484.
35. Watanabe, T., M. Mortomi, Y. Kawai and M. Mutai. 1978. Reduction of population levels of some indigenous bacteria by lactobacilli in the gastrointestinal tract of gnotobiotic rats. *Microbiology and Immunology.* 21:495–503.