뽕잎과 잠분 추출물 급여가 육계의 생산성, 혈액 성상 및 맹장 내 미생물군에 미치는 영향

한상훈 · 김동욱¹ · 지상윤¹ · 홍성구¹ · 김상호^{1*} · 이희삼^{*}
국립농업과학원, ¹국립축산과학원

Effects of Dietary Supplementation of Mulberry Leaves and Silkworm Excreta Extracts on Weight Performance, Blood Characteristics and Cecal Microflorae of Chicks

Sang-Hoon Han, Dong Wook Kim¹, Sang Yoon Ji¹, Seong Koo Hong¹, Sang-Ho Kim^{1*}, Heui-Sam Lee^{*}

National Academy of Agricultural Science, R.D.A., Korea

¹National Institute of Animal Science, R.D.A., Korea

(Received May 22, 2012, Accepted October 17, 2012)

Abstract

The object of this study was to evaluate the effects of dietary supplementation of mulberry leaves and silkworm excreta ethanol extracts on weight performances, blood characteristics, cecal microflorae of chickens. Two hundred forty male broiler chicks(Ross) were fed diets for five weeks containing 0.1%(MLA) and 1%(MLB) of mulberry leaves ethanol extracts, and 0.1%(SEA) and 1%(SEB) of silkworm excreta ethanol extracts. Weight performance did show no significant difference in all test groups which were fed with supplementation of mulberry leaves and silkworm excreta ethanol extracts. They showed better weight gain and feed conversion than the negative control group which was fed only with forage without antibiotics. ABTS(2'-azine-bis[3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid]) test was conducted to investigate free radical scavenging activity of blood in tested groups. ABTS scavenging activities of tested groups were higher than control groups in significant level, though there was no significant difference($P = 0.396$). Specifically, MLB group showed the highest scavenging activity. Blood-level concentration of MDA, which is an indicator of lipid peroxidation, was also decreased in tested groups and the lowest level was observed in SEA($P = 0.001$). As storage time increased at 4°C, muscle-level MDA concentrations of all tested groups were generally increased and significant difference was observed between tested groups and controls in total increase of MDA concentration($P = 4.417 \times 10^{-3}$). In cecal microflorae, SEA and SEB showed decreased total microbe population compared to NC($P = 6.462 \times 10^{-5}$) and even to PC. Supplementation of mulberry leave and silkworm excreta ethanol extract did show a similar inhibition effect against *Salmonella* sp., furthermore, MLB did enhanced the growth of *Lactobacillus* sp.($P = 3.636 \times 10^{-7}$). In summary, ethanol extract of silkworm excreta may be a potential alternative of antibiotics for chicks. In addition, both of ethanol extracts supplementation to broiler chicks would be very useful not only to improve antioxidant effect of blood but also to suppress lipid peroxidation without any loss of weight performance in poultry farming.

Key words : Mulberry leaves, Silkworm excreta, Dietary supplementation, Weight performance, Blood characteristics, Cecal microflora.

서 론

오늘날 고품질 축산물에 대한 소비자들의 개념은 안전성과 신선도 같은 식품의 기본 요건을 갖추길 원하고 있으며, 생리활성물질과 같은 기능성 물질 함유에 대한 요

구도 높아지고 있는 실정이다. 특히 식품 내 콜레스테롤 함량은 소비자들의 주요 관심 대상으로 자리 잡고 있다. 과도한 콜레스테롤 섭취는 비만 및 각종 성인병의 원인으로 축산식품의 콜레스테롤 함량을 저하시키려는 많은 연구들이 수행되고 있다(Park et al. 2010). 식품의 안전성

*Corresponding author. E-mail: ksr319@korea.kr

은 가축사료 내 항생제 첨가 거부로 이어짐에 따라, 천연물 유래의 항생제 대체재에 대한 연구가 활발히 진행되고 있으며, 신선도는 유통 상의 품질 유지를 위한 저장성 증진기술이 요구되는 시점이다. 안전성과 신선도는 가축의 건강과 밀접한 관계를 가지며 이를 위해 항산화물질, 면역증강물질 등과 같은 천연소재를 개발 이용하고 있으나 효과 및 경제성 문제로 실질적으로 이용되는 예는 극히 드물다. 천연물질은 현재도 상용되고 있으나 고가의 원료물질 유래 성분들로서 추가적인 사료비 상승이 불가피하므로 농가의 부담이 가중되고 있다. 오늘 날 식품으로 사용되는 재료는 기본적으로 유용물질을 다량 함유한 것들로 선별, 이용되고 있지만 관련 부산물 역시 유사물질이 상당량 함유되어 있으나 재활용되지 않고 폐기되는 경우가 대부분이다. 일례로 녹즙부산물과 같은 각종 건강식품 부산물은 충분히 재활용가치가 있으나 이용되지 않고 있으며 폐기비용 및 환경오염 등의 문제가 발생하고 있다.

팽나무(*Morus alba* L.)는 우리나라와 중국을 원산지로 현재 세계 각지에서 널리 재배되고 있으며, 뿌리와 껍질 등이 오래전부터 약제로 사용되어 왔다. 팽잎은 우리 민족이 2,200여 년 전부터 식용 및 약용으로 섭취하여 왔으며, 세계 최초의 의학서인 신농본초경과 동의보감에 약제로서의 기능에 대해 기록되어 있다(Park et al. 2007, Park et al. 2010, Shim and Lim 2008, Lee et al. 2004, Cho et al. 2007). 또한 칼슘, 칼륨과 철 등 무기질이 풍부하고(Kondo 1957), 메치오닌 등 21종의 아미노산이 함유되어 있다고 보고되었으며 혈압강하 작용을 가지는 것으로 보고된 flavonoid 계열의 kuwanon 등 유기성분을 60종 이상 함유하고 있음이 분석되었다. 또한 팽잎은 강력한 α -glycosidase의 저해물질로서 혈당 강하 물질인 1-deoxynojirimycin(DNJ)를 다량 함유하고 있어 당뇨병에도 효과를 보인다(Ahn et al. 2001, Jeon et al. 2009, Kim et al. 2003, Lee et al. 2003). 팽잎 성분이 첨가된 축산물 사료에 대한 기능성 연구들은 팽잎 물 추출물을 사료에 첨가하였을 때 육계의 콜레스테롤과 중성지방의 혈중농도를 감소시킨다고 발표하였고, volatile basic nitrogen(VBN)과 thiobarbituric acid reactive substance(TBARS)의 혈중농도 측정 결과를 통해 육계의 저장성 개선에 대해 팽잎 추출물이 효과가 있음을 보고하였다(Park and Kim 2010, Park et al. 2010).

잠분은 팽잎을 먹은 누에의 배설물로 함암효과, 노화억제, 중풍억제, 혈압과 콜레스테롤 저하 및 당뇨병 치료 등의 다양한 생리활성 효과가 관찰되어 관련분야에서 다양한 연구가 활발히 진행되고 있다(Lee et al. 2004, Lee et al. 2005, Sohn et al. 2007, Shim and Lim 2008). 잠분에는 팽잎으로부터 유래한 엽록소인 클로로필이 다량 함유

되어 있어 암, 위장병, 당뇨병, 빈혈, 심장병, 고혈압, 간경화 등에 효과가 있는 것으로 알려져 있다(Ahn et al. 2001). 누에는 팽잎에 포함되어 있는 단백질의 40%만을 소화할 수 있다는 사실이 알려지면서 단백질 및 vitamin A, xanthophyll이 풍부한 가축사료 첨가물로서의 잠분의 효과에 대한 연구들이 1960년대 말에 비교적 활발히 이루어 졌으나(Lee 1969, Lee and Lee 1971), 사료의 비용 절감에 주로 초점을 맞추어 잠분의 사료 첨가 가능 여부에 관한 연구가 진행되었고, 가축에 미치는 생리적 영향에 관한 기능성 연구는 거의 이루어 지지 못하다가 최근 들어 관련 연구가 다시 진행되고 있다.

전술한 바와 같이, 팽잎과 잠분은 생체에서 다양한 생리적 활성을 가지는 기능성 물질들을 함유하고 있음이 밝혀져 있는 잠상부산물로 가축 사료 첨가물로서의 이용 가능성이 긍정적으로 평가되었음에도 실용적으로 활용되지 못하고 있는 실정이다. 따라서 본 연구는 팽잎과 잠분 내에 함유되어 있는 유용 성분들에 대한 기존 연구결과들을 바탕으로 팽잎과 잠분의 에탄올 추출물을 양계용 사료에 첨가하였을 때 육계의 생산성 및 저장성에 미치는 영향과 혈액 내 항산화 활성인자 및 장내 미생물상에 대한 영향을 조사함으로써 사료 첨가제로서의 잠상 부산물 활용에 대한 객관적 평가를 수행하고자 하였다.

재료 및 방법

1. 실험동물 및 시험설계

본 실험은 부화 1일령 육계 수평아리(Ross) 240수를 공시하여 10수로 구성된 실험군을 6 처리군으로 분류하여 5주간 사육하였으며 4반복 진행하였다. 실험군은 시판사료(Table 1)에 항생제 무첨가구(Negative Control, NC), 항생제 첨가구(Positive Control, PC: Avilamycin 10 ppm + salinomycin 60 ppm)를 각각 대조군으로 하였으며, 항생제가 첨가되지 않은 시험사료에 각각 팽잎 에탄올 추출물(ML)과 잠분 에탄올 추출물(SE)을 첨가하여 최종 함량이 0.1%(MLA, SEA), 1.0%(MLB, SEB) 되도록 조제하여 급여하였다. 각 첨가물은 시료 분말 1 kg에 80% 에탄올(발효주정, 대한주정라이프) 1 L을 혼합하여(중량비 1:1~1:2), 30~40°C에서 30분간 300 rpm으로 교반 또는 침지하여 추출액을 여과하여 추출된 유효성분을 급이용 사료에 각각 첨가 혼합하였다. 시험사료는 육계 전기(0~3주)와 육계 후기(3~5주) 사료로 나누어 공급하였는데 전기는 대사에너지 3,100 kcal/kg으로 조단백 함량이 22%가 되도록 하였으며, 후기 사료는 3,100 kcal/kg으로 조단백 함량이 20%가 되도록 공급하였다. 사양 실험 전 기간 동안 평사에서 사육하였고 사료 급이기 및 급수기는 반복구별 동

Table 1. Formula and chemical composition(%) of the basal diet

Ingredient	Starter (0 ~ 3 week)	Finisher (3 ~ 5 week)
Corn	53.44	61.64
Soybean meal	33.65	27.88
Corn gluten meal	4.16	4.00
Soybean oil	4.68	3.06
Tricalcium phosphate	2.01	1.31
Limestone	1.02	1.23
Salt	0.25	0.25
DL-methionine	0.27	0.08
Lysine-HCL	0.02	0.05
Vitamin-mineral mixture ¹	0.50	0.50
Total	100	100
Calculated value		
ME(kcal/kg)	3,100	3,100
Crude protein(%)	22.0	20.0
Methionine(%)	0.50	0.38
Lysine(%)	1.10	1.00
Ca(%)	1.00	0.90
Available P(%)	0.50	0.35

¹Vitamin-mineral mixture provided following nutrients per kg of diet: vitamin A, 15,000 IU; vitamin D3, 1,500 IU; vitamin E, 20 mg; vitamin K3, 0.7 mg; vitamin B12, 0.02 mg; niacin, 22.5 mg; thiamin, 5 mg; folic acid, 0.7 mg; pyridoxine, 1.3 mg; riboflavin, 5 mg; pantothenic acid, 25 mg; chlorine chloride, 175 mg; Mn, 60 mg; Zn, 45 mg; I, 1.25 mg; Cu, 10.0 mg; Fe, 72 mg; Co, 2.5 mg

일하게 배치하여 자유 채식 및 자유 음수 시켰다. 사육 개시 후 3일간 24시간 점등을 실시하였고 이후 실험 종료까지 야간 간헐 점등을 실시하였다. 본 동물실험은 농촌진흥청 국립축산과학원의 동물실험 계획서에 의거 동물보호법 및 국립축산과학원 동물실험윤리위원회에서 승인된 동물실험 방법에 따라 수행되었다.

2. 조사 항목 및 방법

가. 육계 생산성

뿔요 및 잠분 추출물 급여 후 1, 2, 3, 4, 5주째 각 처리 구별로 수평아리의 체중을 측정하였다. 사료 섭취량은 전일 급여량에서 잔량을 빼고 매일 측정하였으며, 사료 요구율은 총 사료 섭취량을 총 증체량으로 나누어 계산하였다.

나. 혈액 항산화활성 측정

혈액 항산화 활성은 Re 등(1999)의 방법을 응용하여 ABTS [2'-azine-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)] radical 소거활성을 측정하여 나타냈다. 시험 종료 시 처

리 당 6수씩 선발하여 익하정맥에서 혈액을 채취하여 분석에 이용하였다. 7 mM ABTS와 2.45 mM potassium persulfate 용액을 혼합하여 상온의 암실에서 12-16시간동안 반응시킨 후 pH 7.4의 phosphate buffer saline(PBS) 용액으로 희석하여 732 nm에서 흡광도 값이 0.70 ± 0.02 가 되도록 하였다. 희석된 ABTS 용액 3 ml에 혈액 10 μ l를 넣고 15분 동안 반응시키고 732 nm에서 흡광도를 측정하였다. Trolox로 작성한 표준곡선을 이용하여 Trolox equivalent antioxidant capacity(TEAC) mM/ml로 나타내었다.

다. 혈액 지질과산화물 측정

혈액 내 지질과산화물인 malondialdehyde(MDA) 함량은 Buege and Aust(1978)의 방법을 수정하여 측정하였다. 혈액 500 μ l에 10% butylated hydroxyanisole(BHA) 50 μ l 및 thiobarbituric acid(TBA)/trichloroacetic acid(TCA) 혼합 용액 4 ml를 넣어 혼합하고, 이를 90°C 항온 수조에 넣어 15분 동안 반응시켜 냉각한 후, 원심분리(3,000 rpm $\times$ 10 분)하여 상등액을 회수하고 532 nm에서 흡광도로 측정하였다. 1,1,3,3-tetra-ethoxypropane로 제조한 MDA 표준용액을 이용하여 작성한 표준곡선으로 혈액 내 MDA 함량을 결정하였다.

라. 저장기간에 따른 지질과산화물 변화 측정

닭고기의 저장성을 측정하기 위해서 시험 종료 시 생체 중의 평균 범위에 해당하는 개체를 처리구별로 6수씩을 선발하여 가슴살을 채취한 후, 균질기를 이용하여 균질화하였다. 균질화된 닭 가슴살을 5 g씩 정량하여 4°C에서 10일간 저장하면서 1일, 5일, 10일차에 지방산패도(TBARS, thiobarbituric acid reactive substances)를 Buege and Aust(1978)의 방법에 준해서 측정하였다. 닭 가슴살 5 g, 증류수 15 ml와 10% butylated hydroxyanisole 50 μ l를 혼합하고 균질기(Tissue grinder, 1102-1, Japan)를 이용하여 13,500 rpm에서 5분간 균질화한 뒤, 균질액 1 ml와 10% butylated hydroxyanisole 50 μ l, 90°C에서 용해한 thiobarbituric acid 1.3%(wt/vol)를 함유하는 50%의 trichloroacetic acid 혼합용액(TBA/TCA) 2 ml를 가하여 혼합하였다. 발색을 위하여 혼합물을 90°C 항온 수조에서 15분 동안 가온한 다음 실온까지 냉각시켜서 원심분리(3,000 rpm $\times$ 15분) 후 상등액을 채취하여 spectrophotometer (Shimadzu, UV mini-1240, Japan)에서 532 nm의 흡광도로 측정하였다. 흡광도 값에 상용계수 5.88을 곱해서 TBARS 양을 MDA(malondialdehyde)mg/kg으로 표시하였다.

마. 맹장내 미생물 군총

뿔요 및 잠분 추출물이 육계의 맹장내 미생물 군집에

Fig. 1. Statistical analyses of antioxidant activities and MDA quantities of blood in the experimental broiler groups. To investigate the effect of mulberry leaves and silkworm excreta ethanol extracts on decreasing oxidative stress in experimental broiler groups, ABTS radical scavenging activity and quantities of MDA in blood samples were measured. Each measured values of experimental groups was analyzed by using one-way ANOVA and Duncan's new multiple range test. ABTS radical scavenging activities did not show significant difference among all experimental groups($P = 0.396$) in one-way ANOVA. In contrast, quantities of MDA blood level showed significant difference($P = 0.001$), especially, in the experimental broiler groups(SEA, SEB) which were given mixed feed with silkworm excreta ethanol extracts as supplementation. The result of Duncan's new multiple range test for blood levels of MDA shows that SEB and SEA were classified into an entirely different group from the two control groups(NC, PC).

Table 2. Effect of supplementation of ethanol extracts of mulberry leaves and silkworm excreta on growth performance in broiler chicks

	NC	PC	ML		SE		ANOVA P Value
			A(0.1%)	B(1.0%)	A(0.1%)	B(1.0%)	
Initial Body Weight (g)	47.55	47.65	47.75	47.70	47.65	47.75	0.963
(SEM)	(0.25)	(0.10)	(0.10)	(0.21)	(0.13)	(0.21)	
Final Body Weight (g)	1,726.45	1,782.00	1,737.43	1,797.15	1,755.50	1,733.25	0.907
(SEM)	(17.75)	(37.89)	(110.03)	(5.30)	(13.58)	(49.07)	
Body Weight gain (g)	1,678.90	1,734.35	1,689.68	1,749.45	1,707.85	1,685.50	0.907
(SEM)	(17.71)	(37.80)	(109.98)	(5.14)	(13.66)	(49.19)	
Feed Intake (g)	2,895.65	2,810.60	2,829.88	2,880.43	2,819.35	2,812.43	0.931
(SEM)	(35.76)	(83.79)	(80.10)	(7.82)	(27.19)	(69.58)	
Food Conversion Ratio	1.665	1.620	1.695	1.645	1.650	1.670	0.903
(SEM)	(0.009)	(0.015)	(0.110)	(0.009)	(0.007)	(0.015)	

NC : Negative control which was fed without any supplementation
 PC : Positive control which was supplemented only with antibiotics
 ML : Ethanol extract of mulberry leaves
 SE : Ethanol extract of silkworm excreta
 SEM : Standard error of means

미치는 영향을 조사하기 위하여 사육 종료 후 평균 체중과 건강 상태가 양호한 육계를 처리별 5수씩 선발한 후 맹장 내용물 양쪽 모두를 채취하여 맹장내 미생물 분포를 조사하였다. 내용물은 채취 직후 멸균식염수를 이용하여 10^{-8} 까지 계단 희석하여 Rogosa SL agar(유산균, Difco 2011001), anaerobic agar(혐기성균, Difco 1283000), McConkey plate(*E. coli*, Difco 1262002), SS agar(*Salmonella*, Difco 1354006)에 접종하여 장내 미생물을 조사하였다. Rogosa SL agar와 anaerobic agar plate에 대한 배양 조건으로는 CO_2 incubator(Forma 311, USA)에서 $37^\circ C$ 로 48시간 배양하였으며, MacConkey와 SS agar의 배양조건은 $37^\circ C$ 에서 24시간 호기조건으로 배양 후 colony를 계수하였다.

간 배양하였으며, MacConkey와 SS agar의 배양조건은 $37^\circ C$ 에서 24시간 호기조건으로 배양 후 colony를 계수하였다.

3. 통계분석

본 실험에서 얻어진 결과는 통계프로그램인 R version 2.15.1(2012)을 이용하여 일원 분산 분석(analysis of variance, ANOVA)을 실시하였고, 처리구간 및 저장 기간에 따른 평균간 유의성 검정은 Duncan의 다중 검정법(Duncan's new multiple range test)을 사용하여 5% 수준($P < 0.05$)에서 유의성 검정을 실시하였다.

Fig. 2. Statistical analyses on muscular MDA quantities and total increase during storage time at 4°C. To investigate the effect of mulberry leaf and silkworm excreta ethanol extracts supplementation on quantity variation of MDA in muscular tissues of broilers by storage time, each 5 g of chicken breast fillets were grinded and MDA quantity was measured. Each measured values of experimental groups was analyzed by using one-way ANOVA and Duncan's new multiple range test. Significant difference of MDA blood level among the experimental groups were observed in day 1 and day 10. In an additional analysis, totally increased quantities of MDA blood level among the groups showed significant difference ($P = 4.417 \times 10^{-3}$). To us interest, MLB group showed the smallest total MDA increase. It suggests was mulberry leaf ethanol extract may be more effective on antioxidant activity in long-period storage of chicken.

결과 및 고찰

1. 생산성

팽잎 및 잠분 에탄올 추출물을 육계에 5주간 첨가 급여 한 후의 생산성은 Table 2에 제시하였다. Table에서 나타난 바와 같이 종료 시 평균체중은 팽잎 추출물 1% 첨가군(MLB)에서 1,797.15 g으로 가장 높게 측정되었으며 실험군 내 개체간의 오차도 가장 낮았으며(표준오차, 5.30 g), 다음으로 항생제 첨가군(PC)과 잠분 추출물 0.1% 첨가군(SEA)에서 각각 1,782.00 g(표준편차, 37.89), 1,755.50 g(표준편차, 13.58)으로 측정되었으며, 무처리군(NC)에서 가장 낮은 평균체중을 보였다. 생산성 주요 지표인 증체량 결과 역시 MLB, PC, SEA의 순으로 관찰되었으며, 무처리

군에서 가장 낮은 값을 보였다. 사료 섭취량은 MLB, MLA, SEA 순으로 높았고, 사료 요구율의 경우는 MLA, SEB, NC 순이었다. 그러나 일원분산분석 결과를 보면 개체중, 종료체중, 증체량, 사료섭취량 및 사료요구율에서 모든 처리군들이 유의한 수준에서의 차이는 보이지 않는 것으로 분석되었다. 폐사량은 MLA군에서 3개체(7.5%)로 가장 높았으며, MLB군에서 2개체(5%), NC군에서 1개체(2.5%)로 관찰되었고 나머지 처리군들에서는 관찰되지 않았다. 이상의 결과들을 바탕으로 보면 팽잎 및 잠분 에탄올 추출물의 첨가급여가 항생제 첨가급여에 비해 생산성 향상 효과에 있어 비슷한 효과를 보이는 것으로 판단되지만 폐사율을 감안했을 때 잠분 에탄올 추출물이 더 안정적이라 할 수 있을 것이다. Park et al.(2010)은 육계 사

Table 3. Effect of supplementation of ethanol extracts of mulberry leaves and silkworm excreta on antioxidant factors of the blood

	NC (SEM)	PC (SEM)	ML(SEM)		SE(SEM)		ANOVA P value
			A (0.1%)	B (1.0%)	A (0.1%)	B (1.0%)	
ABTS (TEAC, mM/mL)	33.13 (1.02)	33.01 (1.14)	34.10 (0.30)	35.27 (0.99)	33.72 (0.71)	34.64 (0.64)	0.396
MDA (μg/mL)	0.457 (0.014)	0.453 (0.016)	0.445 (0.007)	0.433 (0.009)	0.401 (0.006)	0.410 (0.004)	0.001

NC : Negative control which was fed without any supplementation
 PC : Positive control which was supplemented with only antibiotics
 ML : Ethanol extract of mulberry leaves
 SE : Ethanol extract of silkworm excreta
 ABTS : 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid)
 TEAC : Trolox equivalent antioxidant capacity
 MDA : Malondialdehyde
 SEM : Standard error of means

Table 4. Effect of supplementation of ethanol extracts of mulberry leaves and silkworm excreta on TBARS(MDA, mg/kg) of chicken meat during storage at 4°C

Storage periods (Day)	TBARS(MDA, mg/kg)						ANOVA P Value ANOVA
	NC (SEM)	PC (SEM)	ML		SE		
			A (0.1%) (SEM)	B (1.0%) (SEM)	A (0.1%) (SEM)	B (1.0%) (SEM)	
1	0.390 (0.010)	0.388 (0.002)	0.372 (0.028)	0.372 (0.016)	0.296 (0.006)	0.330 (0.015)	1.108×10^{-3}
5	0.608 (0.019)	0.602 (0.024)	0.600 (0.029)	0.542 (0.017)	0.566 (0.037)	0.566 (0.016)	3.840×10^{-1}
10	1.110 (0.022)	1.134 (0.007)	1.078 (0.010)	1.046 (0.007)	1.096 (0.018)	1.014 (0.005)	1.019×10^{-5}
Total Increase (10d-1d)	0.716 (0.024)	0.746 (0.015)	0.706 (0.036)	0.674 (0.019)	0.798 (0.015)	0.686 (0.013)	4.417×10^{-3}

NC : Negative control which was fed without any supplementation
 PC : Positive control which was supplemented with only antibiotics
 TBARS : Thiobarbituric acid reactive substances
 MDA : Malondialdehyde
 ML : Ethanol extract of mulberry leaves
 SE : Ethanol extract of silkworm excreta
 SE : Standard error of means

료 내 뽕잎 물 추출물을 2% 수준으로 첨가 급여하였을 때 처리군에서 증체량이 유의적으로 증가하였다고 보고한 바 있으며, 사료 섭취량에서는 차이가 없다고 보고하여 본 연구와 유사한 결과를 나타내었다. 또한 Lee(1969)은 Leghorn 종에게 건조 분말 잠분을 10% 첨가 급여하였을 때 증체량이 소폭으로 저하하였다고 보고하였으나, 소량의 잠분 에탄올 추출물을 첨가 급여한 본 실험에서는 유의한 수준에서의 증가 또는 감소 효과는 관찰되지 않았다. 특이한 점은 사료섭취량과 증체량의 경우 MLB군이 유의한 수준은 아니지만 가장 높은 값을 보였으며, 실험 군내의 개체간 표준오차값도 현저하게 낮았다(Fig. 2). 사료 요구율에서도 PC군을 제외하고 가장 낮은 값을 보임으로써 첨가량을 늘렸을 경우 폐사량(5%)이 감소하는지

에 대한 후속 실험을 진행할 필요성이 있을 것으로 판단된다.

2. 혈액 내 항산화능 측정

실험군들의 혈액 내 항산화능을 측정하기 위하여 혈액의 ABTS radical 소거 능력 측정과 혈액 내 MDA 함량을 측정하였으며 각 실험군의 측정 결과는 Table 3에 제시하였다. 항산화능의 경우 뽕잎과 잠분의 에탄올 추출물을 첨가 급여한 모든 실험군에서 대조군(NC, PC)들에 비하여 항산화능이 소폭 증가함을 보여주었으나 유의한 수준은 아니었다($P = 0.396$). 한편, 지질과산화 지표 물질인 MDA의 혈중 농도는 실험군들 간에 유의한 수준에서의 ($P = 0.001$) 차이를 보였는데, Duncan 다중검정 결과 MDA 혈중 농도는 대조군들에 비해 SEA와 SEB군이 유의한 수

Table 5. Effect of supplementation of ethanol extracts of mulberry leaves and silkworm excreta on cecal microflora of broiler chicks

	NC	PC	ML		SE		ANOVA P value
			A (0.1%)	B (1.0%)	A (0.1%)	B (1.0%)	
			log ₁₀ cfu/g				
Total microbes	9.325 (0.018)	9.173 (0.027)	9.235 (0.014)	9.342 (0.020)	9.126 (0.062)	9.117 (0.028)	6.462 × 10 ⁻⁵
Coliform bacteria	5.364 (0.039)	5.005 (0.028)	5.319 (0.032)	5.276 (0.025)	5.211 (0.030)	5.102 (0.033)	1.182 × 10 ⁻⁷
<i>Salmonella</i> sp.	3.175 (0.017)	2.950 (0.083)	3.151 (0.055)	3.141 (0.064)	3.121 (0.050)	3.054 (0.120)	3.438 × 10 ⁻¹
<i>Lactobacillus</i> sp.	8.759 (0.010)	8.613 (0.019)	8.655 (0.013)	8.776 (0.024)	8.643 (0.011)	8.657 (0.015)	3.636 × 10 ⁻⁷

NC : Negative control which was fed without any supplementation

PC : Positive control which was supplemented with only antibiotics

ML : Ethanol extract of mulberry leaves

SE : Ethanol extract of silkworm excreta

cfu : Colony forming unit

SEM : Standard error of means

준에서 낮은 농도를 보였으며, SEA 실험군의 혈중 MDA 농도가 가장 낮게 측정되었다(Fig. 1).

뿌잎에 함유되어 있는 rutin, quercetin, quercitrin, isoquercitrin 등은 flavonoid 계통의 물질로 식품에서 항산화작용을 나타낸다고 알려진 성분들이며(Yoshikumi 1994, Katsube et al. 2006), 뿌잎의 메탄올 추출물은 과산화 지질 생성 억제 효과가 있을 뿐만 아니라 토코페롤보다 항산화 효과가 강하다고 보고되었다(Yen et al. 1996). 뿌잎은 강력한 항산화력을 갖는 quercetin의 중요 공급원으로 양파보다 그 함량이 높아 항산화 효과가 우수하다고 하였다(Vinson et al. 1995). Jeon and Kim(2011)은 뿌잎의 메탄올 추출물로 부터 flavonoid 성분인 wogonin과 linarin을 분리하였고 이 두 가지 성분이 매우 강력한 항산화작용을 나타내었다고 보고하였다. Lee et al.(2011)은 건조 뿌잎 분말을 물과 에탄올로 추출하여 추출물의 전자공여능을 측정 한 결과 목단, 황금, 산수유, 작약 등 국내산 생약 추출물에 비해 높은 전자공여능을 보였으며, superoxide dismutase(SOD) 유사활성 효과 분석에서도 사과, 케일, 키위, 무 등의 착즙액에 비해 높은 SOD 유사활성을 나타낸다고 보고하였다. Park et al.(2010)은 뿌잎 물 추출물을 사료 중량의 2% 비율로 첨가 급여한 육계의 혈액에서 total cholesterol 및 low-density lipoprotein(LDL)의 함량이 줄어들고 high-density lipoprotein(HDL)의 양은 증가하였다고 보고하였다. 이러한 결과들은 본 연구의 결과와 함께 소화과정을 거친 뿌잎의 기능성 물질들이 실험동물의 혈액 성상에 긍정적인 영향을 미친다는 사실을 뒷받침 해 주고 있다. 또한 뿌잎 에탄올 추출물의 경우 1% 이상을 사료에 첨가한 경우에 대한 추가 실험도 병행된다면 가축 사료 첨가물로서 뿌잎 및 잠분 기능성 물질들의 연구

에 유용하게 사용되어 질 것이다.

3. 저장육의 지질산패도

뿌잎과 잠분 추출물을 첨가 급여한 계육을 4°C에서 10 일간 저장하면서 가슴살에 존재하는 gram 당 MDA의 양을 측정하였으며, 그 결과는 Table 4에 제시하였다. 혈중 반응물질인 MDA의 양은 1일부터 10일까지 전체 실험군의 가슴살에서 증가하는 경향을 보였으며, 1일차(P = 0.001) 및 10일차에서(P = 1.019 × 10⁻⁵) 실험군간 유의한 수준에서의 차이가 관찰되었다. 저장 기간동안 증가한 전체 MDA의 양을 보면 Duncan의 다중검정결과 유의한 수준에서의 차이가(P = 0.004) 관찰되었는데, 대조군들에 비해 MLB 실험군에서 유의적으로 가장 낮은 증가값을 보였다. 이러한 결과는 시험사료 급여 종료 후 익하 정맥에서 채취한 혈액 내 MDA 농도를 측정한 실험의 결과와 비교하였을 때, 다른 결과를 보여주는데 1일차 혈중 MDA 평균농도는 MLB 실험군에서 비교적 높았던 반면, SEA 실험군의 혈중 MDA 평균농도가 가장 낮게 측정 되었다(Fig. 1) 그러나 저장 시간이 증가함에 따라 SEA 실험군의 가슴살 내 MDA 농도가 MLB 실험군 가슴살 내 MDA 농도보다 더 빠르게 증가하였음을 알 수 있다(Fig. 2). 또한 가슴살 내 MDA 농도의 증가는 전체 실험군에서 MLB 실험군만이 대조군에 비해 유의한 차이를 보였다(Fig. 2). Park and Kim(2010)은 뿌잎 물 추출물을 첨가하여 급여한 육계 실험군에서 저장육 내의 MDA양이 대조군에 비해 2주까지는 그 차이가 유의수준을 벗어나지 않았고 저장 3주 후에 유의 수준에서의 차이가 관찰되었다고 보고하였다. 따라서 본 연구의 뿌잎 에탄올 추출물 첨가 급여에 따른 저장육의 지질산패도에 대한 영향은 추가 실험을 통해 확

Fig. 3. Statistical analyses on chicken cecal microflora. To investigate the effect of mulberry leave and silkworm excreta ethanol extracts supplementation on cecal microflora of experimental broiler groups, 5 chicks were randomly picked out from each experimental group. Total bacteria, coliform bacteria, *Salmonella* sp., and *Lactobacillus* sp. were grown on selective agar media and counted. Significant differences were observed in the number of total bacteria ($P = 6.462 \times 10^{-5}$), coliform bacteria (1.182×10^{-7}), *Lactobacillus* sp. (3.636×10^{-7}). SEA and SEB groups showed similar antibacterial activities with PC group. Furthermore, MLB and SEB groups showed less suppression activities against *Lactobacillus* sp. than PC groups. Curiously, MLB group was classified the same group with NC group. It suggests that supplementation of mulberry leave ethanol extract may promote the growth of *Lactobacillus* sp. in chicken cecum.

인해 불 필요가 있을 것이며, 뽕잎과 잠분 추출물의 혼합 급여에 따른 상승효과에 대해서도 추가 연구가 고려되어야 할 것이다.

4. 맹장 내 미생물군총의 변화

장내 미생물군은 숙주의 장내에서 상호공생 또는 길항 관계를 유지하면서 증식 및 배설 된다. 사람의 경우 장내 미생물들의 조성은 노화, 변비, 장 관련 질환발생들과 밀접한 관계를 가지는 것으로 알려져 왔다(Lee et al. 2001). 특히, 장내 미생물군은 숙주에 대한 병원성 세균들의 과다 증식을 막는 일종의 경쟁적 장벽 역할을 수행한다(Guarner and Malagelada 2003). 그러나 가축의 전염병을 예방하기 위해 사료 내에 첨가되는 항생제는 유해균 뿐

만 아니라 이러한 유익균들의 성장도 저해함은 물론 혼합 투여 및 과다 사용함으로써 항생제에 대한 내성균의 출현을 야기시키고 축산물 내 잔류에 의한 인체에서의 감수 반응과(Linton et al. 1977, Solomons et al. 1978), 축산 분뇨에 의한 환경오염의 문제점이 제기되면서 항생제 사용의 규제 및 금지가 확산되어 2011년 7월 이후 국내 축산 배합사료제조용으로 항생제의 사용이 전면 금지되었다. 따라서 사료에 첨가 시 가축의 생산성 및 상품성에 영향을 주지 않으면서 항생제를 대체할 수 있는 재료 물질에 대한 개발에 대한 연구가 활발히 진행되고 있다.

이러한 배경 하에 뽕잎과 잠분 추출물의 첨가 급여가 육계의 장내 미생물군총에 미치는 영향을 조사하기 위하여 처리군당 5수씩을 선발하여 맹장 내용물 중 총 균수

및 coliform bacteria, salmonella, lactic acid bacteria의 개체수를 측정하였으며 그 결과를 Table 5에 제시하였다. 맹장 내 총 균수는 뽕잎 추출물 급여군들(MLA, MLB)의 경우 항생제를 첨가 급여하지 않은 NC 실험군과 비슷한 총 균수를 보여주었으나, 잠분 에탄올 추출물을 첨가 급여한 실험군들(SEA, SEB)은 항생제 첨가 실험군과 함께 Duncan의 다중검정 분석결과 유의한 수준에서($P = 6.462 \times 10^{-5}$) 줄어드는 경향을 보였다. Coliform bacteria의 경우 항생제 첨가 급여군에 비해서는 성장 억제 효과가 적었지만, 주요 병원성 세균인 salmonella의 성장 억제 작용은 유의한 수준에서의 차이를 보이지 않았다. 장내유익세균인 lactic acid bacteria의 성장은 Duncan의 다중검정 분석에서 MLB가 NC와 같은 그룹으로 묶이면서 다른 그룹들과 유의한 수준에서 성장을 저해하지 않는 것으로 관찰되었다(Fig. 3). 따라서 에탄올을 이용한 잠분 추출물의 경우 육계에 급여 시 우수한 항생제 대체 효과를 볼 수 있을 것으로 기대되며, 뽕잎 에탄올 추출물과 혼합 첨가 급여 시 유산균 성장을 덜 저해할 것으로 보이는데 이는 추가실험을 통해서 확인하여야 할 것이다.

국내 양잠업이 쇠퇴함에 따라, 2006년 현재 뽕나무 재배 면적은 749 ha로 양잠업이 활성화 되었던 시기의 재배 면적 91,000 ha에 비해 크게 감소하였고 과거 양잠용으로 재배되었던 뽕나무의 활용성 또한 현재 크게 저하되어 그 활용 방안을 높일 수 있는 대책이 필요한 상황이다(Jeon et al. 2009). 뽕나무는 단백질 및 비타민과 무기질이 풍부하여 예로부터 해열제 및 시력개선, 관절강화, 고혈압의 치료제로 많이 이용되어 왔으며(Choe et al. 2008) 뽕잎 추출물을 사료에 첨가하여 육계에 급여하였을 경우 증체량이 증가하고 고밀도지단백(HDL)의 함량이 증가하며 중성지방 함량이 유의적으로 감소한다고 보고되었으며(Park et al. 2010), 돈육 패티에 첨가하였을 경우 저장성이 유의적으로 증가한다고 보고되었다(Choe et al. 2008). 한편 사료에 건조 잠분 추출물을 1~3% 섞어 급여한 양돈에서 포화지방산의 함량은 감소되고 불포화지방산 함량은 증가하며, 저장육의 일반성분, 조직적 특성 및 이화학적 성질에는 영향을 미치지 않는다고 보고하였다(Lee et al. 2004, Lee et al. 2005).

국내에서 소비되는 축산배합사료의 원료는 94%가 수입에 의존하고 있어 사료의 가격이 가격국제 곡물가격에 따라 등락을 거듭하고 있는 실정이다. 따라서 축산물 생산비용의 절감을 위해 이용가능한 부산물 자원들을 개발함으로써 축산물 가격경쟁력은 물론 해당 농가의 소득증대를 도모하고 해당 부산물 폐기에 따른 환경오염 문제를 해결할 수 있는 관련 연구가 활성화 되어야 할 것이다(Kim 2010). 양잠 부산물 자원은 고부가가치 자원으로서의

개발을 통해 관련 산업의 성장 및 신소득원 창출이 가능하며 각종 자원의 재활용 모델을 제시함으로써 국가가 정책적으로 추진하고 있는 녹색성장 및 유기축산 발전에 중요한 역할을 담당할 수 있을 것으로 사료된다. 부산물 생산업체의 경우 부산물에 의한 신소득원으로 연결되어 안정적인 산업 영위를 할 수 있고, 유용물질을 축산산업에 접목하여 지속가능한 축산업 발전에도 기여할 수 있을 것이다.

적 요

본 연구는 뽕잎과 잠분의 에탄올 추출물을 첨가 급여하였을 경우, 육계의 생산성 및 저장성에 미치는 영향을 규명하기 위하여, 부화 1일령 육계 수평아리(Ross) 240수를 공시하여 항생제 무첨가군, 항생제 첨가군을 대조군으로 하고, 뽕잎 에탄올 추출물 0.1%와 1% 첨가군, 잠분 에탄올 추출물 0.1%와 1% 첨가군 등 6 처리군으로 분류하고 5주간 사육하여 육계의 생산성, 혈액 생화학, 혈액 내 항산화 관련 인자, 계육의 저장성, 맹장 내 미생물 군총 등에 대한 조사를 수행하였다. 뽕잎 추출물 및 잠분 추출물 첨가 급여 시 육계의 증체량에서는 대조군들에 비해 유의한 수준의 차이를 보이지 않았고, 사료 요구율은 항생제 첨가 사료를 사용한 대조군에 비해 개선되어 생산성 향상 효과를 관찰할 수 있었고, 혈액 총항산화 활성을 나타내는 TEAC 수치 및 혈액 내 지질과산화물인 malondialdehyde(MDA) 함량을 조사한 결과 대조군에 비해 잠분 추출물 첨가 급여 시 혈액 성상의 긍정적 영향을 관찰할 수 있었다($P = 0.001$). 또한 큰 차이는 아니었지만, 저장 기간별 지질산패도를 조사한 결과 뽕잎 추출물 및 잠분 추출물 첨가 급여 시 저장기간에 따른 지질산화가 다소 감소하는 경향을 보였는데, 사육 종료 후 혈액을 채취하여 혈중 MDA 농도를 측정한 결과는 SEA 실험군에서 가장 낮은 값을 보였지만, 10일 동안 총 증가한 MDA의 농도는 MLB군에서 가장 낮았다($P = 4.417 \times 10^{-3}$). 맹장 내 미생물 군총에 대한 영향은 잠분 추출물 첨가 급여 시 항생제 무첨가군에 비해 총 균수의 감소가 유의한 수준에서 관찰되었고($P = 6.462 \times 10^{-5}$), coliform bacteria의 경우 항생제 무첨가군에 비해 유의한 수준에서($P = 1.182 \times 10^{-7}$) 감소하는 경향을 보여주었다. Salmonella sp.에 대한 생장저해 효과는 전실험군에서 유의한 차이를 보이지 않았다($P = 0.343$). 흥미로운 점은 다른 처리군들과 달리 MLB 실험군의 경우 무항생제 실험군에 비해 유의한 수준은 아니지만 *Lactobacillus* sp.의 성장을 향상시키는 경향을 보였다. 따라서 본 연구의 결과는 육계용 사료에 있어서 뽕잎과 잠분의 에탄올 추출물 첨가 급여가 생산성을 저하시키지 않으면서도 혈액성상에 유의한 영향

을 제공함으로써 계육의 품질 개선에 긍정적인 효과를 제공할 수 있을 것으로 사료되며, 실용화 될 경우 잠업 농가의 수익성 개선에 도움이 될 것으로 기대된다.

감사의 글

본 연구는 농촌진흥청 공동연구사업(과제번호: PJ0068532012)의 지원에 의해 이루어진 것임.

인용문헌

- Ahn MY, Ryu KS, Kim I, Kim SY(2001) Cytotoxicity of the ethanol extracts of mulberry leaves, branches and silkworm feces. Korean J Seric Sci **43**(1), 26~28.
- Beuge JA, Aust SD(1978) Microsomal lipid peroxidation. Methods Enzymol **52**, 302~310.
- Cho YJ, Ju IS, Kim BO, Kim JH, Lee BG, An BJ, Choo JW(2007) The antimicrobial activity against *Helicobacter pylori* and antioxidant effect from the extracts of mulberry leaves(*Morus alba* L.). J Korean Soc Appl Biol Chem **50**(4), 334~343.
- Choe JH, Jang A, Lee BD, Liu XD, Song HP, Jo C(2008) Antioxidant and antimicrobial effects of medicinal herb extract mix in pork patties during cold storage. Korean J Food Sci Ani Resour **28**(2), 122~129.
- Duncan DB(1955) Multiple range and multiple F test. Biometrics **11**(1), 1~42.
- Guarner F, Malagelada JR(2003) Gut flora in health and disease. Lancet **361**(9356), 512~519.
- Jeon BT, Kim YK, Lee SM, Park JH, Sung SH, Park PJ, Kim SJ, Moon SH(2009) A study on the analysis of functional components and antioxidative activity in mulberry(*Morus alba*) silage. J Kor Grassl Forage Sci **29**(3), 263~268.
- Jeon YS, Kim MW(2011) The Antioxidative effects and isolation and characterization of the extracts from *Morus alba* L.. Korean J Food Nutr **24**(1), 94~100.
- Katsube T, Imawaka N, Kawano Y, Yamazaki Y, Shiwaku K, Yamane Y(2006) Antioxidant flavonol glycosides in mulberry leaves isolated based on LDL antioxidant activity. Food Chem **97**(1), 25~31.
- Kim DW, Kim JH, Kang GH, Kang HK, Park SB, Park JH, Bang HT, Kim MJ, Na JC, Chae HS, Choi HC, Suh OS, Kim SH, Kang CW(2010) Studies for antibiotic free chicken production using water extracts from *Artemisia capillaris* and *Camellia sinensis*. Korean J Food Sci Ani Resour **30**(6), 975~988.
- Kim JW, Kim SU, Lee HS, Kim I, Ahn MY, Ryu KS(2003) Determination of 1-deoxynojirimycin in *Morus alba* L. leaves by derivatization with 9-fluorenylmethyl chloroformate followed by reversed-phase high-performance liquid chromatography. J Chromato A **1002**(1-2), 93~99.
- Kim YJ(2010) Effects of dietary supplementation of garlic by-products on total phenol contents, dpph radical scavenging activity, and physicochemical properties of chicken meat. Korean J Food Sci Ani Resour **30**(5), 860~866.
- Kondo Y(1957) Trace constituents of mulberry leaves. Nippon Sanshigaku Zasshi **26**, 349~353.
- Lee HS, Jeon HJ, Lee SD, Moon JY, Kim AJ, Ryu KS(2001) Effect of dietary mulberry leaf on the composition of intestinal microflora in SD rats. Korean J Food Sci Technol **33**(2), 252~255.
- Lee HY, Jung HA, Kim DH, Kwon HJ, Lee MH, Kim AN, Park CS, Yang KM, Bae HJ(2011) Studies on functional properties of mulberry leaf extracts and quality characteristics of mulberry leaf muffins. Korean J Food Cookery Sci **27**(4), 27~34.
- Lee JI, Lee JD, Ha YJ, Jung JD, Lee JW, Lee JR, Kwack SJ, Kim DH, Do CH(2004) Effect of dietary silkworm droppings on chemical composition of pork loin. J Anim Sci & Technol **46**(6), 1013~1022.
- Lee JI, Lee JD, Ha YJ, Jung JD, Lee JW, Lee JR, Kwack SJ, Kim DH, Do CH(2005) Effect of Dietary Silkworm Droppings on quality characteristics of pork loin. Korean J Food Sci Ani Resour **25**(2), 175~188.
- Lee KH, Lee IH(1971) The feeding value of silk^o worm excreta for the laying hen. J Anim Sci & Technol **13**(3), 182~185.
- Lee WC, Kim AJ, Kim SY(2003) The study on the functional materials and effects of mulberry leaf. Food Science and Industry **36**(1), 2~14.
- Lee YS(1969) A study on the feeding value of silk-worm excreta in the diet of growing chickens. J Anim Sci & Technol **11**(1), 53~56.
- Linton AH, Howe K, Bennett PM, Richmond MH, Whiteside EJ(1977) The colonization of the human gut by antibiotic resistance *Escherichia coli* from chicken. J Appl Bacteriol **43**(3), 465~469.
- Park CI, Shon JC, Kim YJ(2010) Effects of Dietary Supplementation of Mulberry Leaves and Dandelion Extracts on Performance and Blood Characteristics of Chickens. Korean J Poult Sci **37**(2), 173~180.
- Park CI, Kim YJ(2010) Effects of Dietary Supplementation of Mulberry Leaves and Dandelion Extracts on Storage of Chicken Meat. Korean J Poult Sci **37**(4), 313~321.
- Park SS, Ryu YB, Lee YH, Cho YW, Cho SJ, Choi YJ, Park KH, Gal SW(2007) Inhibition of Melanin Synthesis by Mycelial Culture Broth of *Paecilomyces japonica* in the Mulberry. J Life Sci **17**(6), 816~821.
- Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice-Evans C(1999) Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. Free Radic Biol Med **26**(9-10), 1231~1237.
- Shim JU, Lim KT(2008) Glycoprotein isolated from *Morus indica* Linne enhances detoxicant enzyme activities and lowers plasma cholesterol in ICR mice. Korean J Food Sci Technol **40**(6), 691~695.
- Sohn BH, Chung WT, Kang PD, Ryu KS, Jung IY, Kim YS, Kim KY, Kim MJ, Chung IS(2007) Analysis of general ingredient and amino acid contents in silkworm feces with different extracting methods and collecting time. Korean J Seric Sci **49**(2), 43~46.
- Solomons IA(1978) Antibiotics in animal feeds-human and animal

- safety issues. J Anim Sci **46**(5), 1360~1368.
- Vinson JA, Dabbagh YA, Serry MM, Jang J(1995) Plant flavonoids, especially tea flavonoids, are powerful antioxidants using in vitro oxidation model from heart disease. J Agri Food Chemi **43**(11), 2800~2802.
- Yen GC, Wu SC, Duh PD(1996) Extraction and identification of antioxidant component from the leaves of mulberry. J Biol Chem **261**(3), 879~882.
- Yoshikumi Y(1994) Inhibition of intestinal glucosidase activity and postprandial hyperglycemia by moranoline and its N-alkyl derivatives. Agric Biol Chem **52**(1), 121~126.
- Yen GC, Wu SC, Duh PD(1996) Extraction and identification of