

## 이눌로프리바이오틱스의 브로일러에 대한 비피더스균 활성 효과

박 병 성\*

강원대학교 동물생명공학과

Received August 26, 2008 / Accepted November 14, 2008

**Bifidogenic Effects of Inuloprebiotics in Broiler Chickens.** Byung-Sung, Park\*. Dept. of Animal Biotechnology, Kangwon National University, Chuncheon, 200-701, Korea - Recent studies have suggested that inulin might be utilized as a prebiotics for the promotion of antimicrobial growth, but a major obstacle to the use of inulin has been its low bifidogenic effects, which were initially observed in the ceca of broiler chickens. Inulin has some problems with related to denaturation in air and lowering passage rate from upper digestive tract to caecum. To solve this problems, a newly developed compound derived by microencapsulation, inuloprebiotics, was hypothesized to enrich cecal bifidobacterial populations and reduce the colonization levels of *Salmonella* in the ceca of broiler chickens. The *in vitro* growth of intestinal beneficial bacteria including *Bifidobacterium longum*, *Bifidobacterium bifidum*, *Lactobacillus acidophilus*, and *Lactobacillus casei* grew effectively on the medium containing inulin, whereas the growth of *Streptococcus aureus* and *Clostridium perfringens* was not differences among the treatment groups. Broiler chickens consumed chow diets containing 0.5%, 0.7% or 1.0% inuloprebiotics, or a control diet without inuloprebiotics supplementation. The chickens on the inuloprebiotics-supplemented diets evidenced significantly higher cecal levels of *Bifidobacterium* and *Lactobacillus* species as compared with the chickens on the control diet. The population of cecal *E. coli* and *Salmonella* was specifically reduced as the result of treatment with inuloprebiotics. However, we noted no significant differences in *Bifidobacterium* species, *E. coli* and *Salmonella* counts among the inuloprebiotics treatment groups. The inuloprebiotics-supplemented diets induced an increase in the serum IgG concentration. The thymus index was significantly increased in the broiler chickens that consumed diets containing 0.7% or 1.0% inuloprebiotics, with the exception of the chickens consuming the diet supplemented with 0.5% inuloprebiotics. These results indicate that the inuloprebiotic preparations exerted an immune system-promoting effect or selectively enriched the cecal *Bifidobacterium* species populations in the broiler chickens, and also suggest that inuloprebiotics may prove useful as a stable natural antimicrobial agent.

**Key words :** Inulin, inuloprebiotics, ceca, bifidobacteria, salmonella, broiler

### 서 론

최근 돼지감자로부터 추출한 비분해성 올리고당, 이눌린이 프리바이오틱스로서 가금 사료용 항균성장촉진제 즉 항생제의 대체, 활용가능성이 검토되기 시작하였다[17]. 1928년 알렉산더 플레밍에 의해서 최초의 항생물질 "페니실린"이 개발된 이후에 항생물질은 원래 세균감염의 예방과 치료를 위해서 사용되었다. 1950년대부터 일부 항생제가 브로일러와 같은 가축의 성장촉진, 사료효율 개선을 통하여 생산성을 증대할 목적으로 축산분야에서 사용되기 시작하였다[3]. 그러나 항균성장촉진제로서 항생제의 지속적인 사용은 인간의 건강과 농업에 있어서 내성균의 국제적인 출현으로 심각한 사회문제로서 대두되었다. 동물에게 사용된 대부분의 항생제는 인간에게 사용된 항생제의 유사물이며, 세균은 인간 항생제에 대하여 저항성을 키우는 능력이 있다[22].

프리바이오틱스란 대장 내 미생물에 의하여 발효되어 젖산과 짧은 사슬지방산의 생성을 증가시켜서 대장의 산도를 낮추고, 유익한 균주인 비피도박테리아의 성장을 선택적으로 자극함으로써 유해균주의 성장을 억제하는 비피더스균의 활성 효과(bifidogenic effect)를 지닌 비분해성 올리고당이 다. 프리바이오틱스로서 잘 알려진 물질로는 이눌린, 프락토올리고당, 만난올리고당, 이소말토올리고당, 글루코올리고당 및 갈락토올리고당이 있으며, 이들은 사람과 동물의 소장에서 분해되지 않고 사람의 결장과 브로일러의 맹장에 도달할 수 있으며, 살모넬라와 같은 병원성미생물[11]의 성장을 억제하는 비피도박테리아[21] 그리고 일부 젖산균[6]과 같은 유익한 미생물의 성장을 위한 탄수화물 기질을 제공할 수 있다 [1,8]. 프리바이오틱스로서 복합탄수화물인 비분해성 올리고당의 활용은 가금에서 살모넬라의 조절에 대한 접근을 가능하게 하였고, 그 생체활성 효과는 여러 나라에서 많은 연구에 의해서 확인되었다[4].

이눌린은 과당이  $\beta$ -2,1 결합으로 연결된 선형 과당중합체로써, 사람의 위액과 소화효소에 의하여 분해되지 않고 약 80%

#### \*Corresponding author

Tel : +82-33-250-8615, Fax : +82-251-7719

E-mail : bspark@kangwon.ac.kr

이상이 대장에 도달하여 비피더스균의 활성화효과를 갖는 것으로 알려져 있다[2,15,16]. 궁극적으로 동물사료에 대한 프리바이오틱스의 첨가는 항생제를 사용하지 않고서 장 미생물 균형을 유지하는데 도움을 주고 더욱 일정하게 높은 생산성을 나타낼 수 있어야 한다. 그러나, 프리바이오틱스로서 이눌린을 가금사료에 직접 혼합하게 되면, 공기 중 보관 및 유통 상태에서 이눌린이 쉽게 변성될 수 있는 문제점이 있으며, 배합사료에 직접 혼합, 급여된 이눌린을 동물이 섭취할 경우, 위와 소장에서 내산성이 약하여 대장에 도달하기 전에 분해흡수율이 높아져서 프리바이오틱스로서의 기능이 낮아지는 문제점이 있다[2]. 따라서 이러한 문제점을 보완하고 프리바이오틱스로서의 기능을 극대화하기 위해서는, 이눌린을 항산화제인 비타민 E와 함께 고압균질화시킨 후, 위와 소장에서 안정된 강산성 및 대장 용해성이 높은 장용성 피복제제를 선택하여 미세캡슐화-이눌로프리바이오틱스를 제조[14]할 필요가 있다. 그러나, 이와 관련한 연구결과는 보고된 것이 거의 없다. 본 연구자는 미세캡슐화된 이눌로프리바이오틱스가 브로일러의 맹장에서 유익한 미생물 비피도박테리아의 증식을 통하여 유해한 미생물의 수를 낮출 것이라는 가설을 세웠다.

본 연구의 목표는 선행연구에서 확립된 국산 돼지감자로부터 추출한 이눌린의 미생물 체외배양(*in vitro*)에 의한 비피도박테리아의 성장 및 배합사료 내 이눌로프리바이오틱스의 혼합, 급여가 브로일러의 맹장에서 비피도박테리아의 선택적 증식(*in vivo*) 효과를 나타내는 비피더스균 활성화효과에 대한 가설을 조사하여 가설에 대한 이론을 확립하는 것이었다.

## 재료 및 방법

### 실험 재료

실험에 사용된 재료는 국산 돼지감자로부터 French [7]에 의해서 제시된 열수, 냉각추출방법으로 평균 중합도(degree of polymerisation, DP) 26을 지닌 이눌린을 추출, 건조하였으며, 비타민 E ( $\alpha$ -tocopheryl acetate)와 이눌린을 70°C의 따뜻한 물과 혼합하여 고압균질기(T25 Basic, IKA, German)를 이용하여 고압균질물을 수득하고, 상기 고압균질물에 장용피복제로써 슈레테릭(Sureteric; Colorcon, UK)을 압축공기로 쏘아서 초미세분체 피복물(고압균질물 9: 슈레테릭 1)을 제조하고, 분무건조기(B-191, Buchi, Swiss)에 의해서 건조하여, 브로일러 사료첨가용 미세캡슐화-이눌로프리바이오틱스(microencapsulated-inuloprebiotics)를 제조하였으며, 미세캡슐화-이눌로프리바이오틱스의 입자는 100-200  $\mu\text{m}$ 이며, 비타민 E 0.08% 및 이눌린 90% 이상을 함유하였다[14].

### 미생물 체외 배양

#### 사용 균주 및 배지

상기 이눌린에 대한 미생물 체외배양 효과를 알아보기 위하

여 장내 4종류의 유익한 미생물 즉, 2종류의 혐기성 유익균(*Bifidobacterium longum*, *Bifidobacterium bifidum*), 2종류의 호기성 유익균(*Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei*) 그리고 2종류의 유해한 미생물로서 혐기성 유해균(*Clostridium perfringens*), 호기성 유해균(*Staphylococcus aureus*)을 한국식품연구원으로부터 분양받아 계대배양하여 사용하였으며, 사용 배지는 RCM broth, MRS broth, Nutrient broth (Difco, USA)이었다.

### 액체 배양

미생물의 성장능력에 관한 이눌린의 효과를 알아보기 위해서 국산 돼지감자로부터 추출한 이눌린 5 g을 증류수 50 ml와 함께 혼합한 후 70°C로 가온해서 용해한 다음에 여과지(Whatman No.2)를 사용하여 여과하였다. 여과된 이눌린 추출물을 멸균필터(membrane filter sterilized, pore size 0.2  $\mu\text{m}$ )로 체균, 감압농축하여 미생물배양용 이눌린을 조제하였다. 액체 배지 10 ml에 활성화된 균주 100  $\mu\text{l}$ 를 분주하고, 체균, 감압농축한 이눌린을 각각 0, 0.3%, 0.5% (wt/vol) 농도로 조절하여 37°C에서 24시간 배양하면서, 각각 0, 10, 15, 20, 24, 36, 48시간째 배지에서 Spectrophotometer를 이용하여 미생물의 증식을 알아보고자 660 nm에서 흡광도를 측정하였다. 혐기성 균주에 대한 모든 처리는 anaerobic chamber (5% hydrogen, 5% CO<sub>2</sub>, balanced nitrogen, Sheldon Manufacturing Inc., Cornelius, OR, UK)에서 수행하였다. 혐기성 균주의 배양은 Gas-Pak<sup>®</sup> system (BBL microbiology system, Cockeysville, USA)을 이용하여 혐기적인 조건하에서 실시하였다.

### 시험 동물 및 실험 설계

로스(Ross× Ross)계통의 성감별을 실시한 부화 1일령 수컷 브로일러 120수를 4처리구× 3반복으로 완전임의 배치하였다. 5개의 처리구는 T1 (대조구), T2 (이눌로프리바이오틱스 0.5% 첨가구), T3 (이눌로프리바이오틱스 0.7% 첨가구), T4 (이눌로프리바이오틱스 1.0% 첨가구)로 구분하였으며, 각 처리구 당 30수씩 배치하였고 반복구 당 10수씩으로 조절하였다.

### 실험 사료 및 사양 관리

실험 사료는 미국의 NRC 사양표준(1994)에서 제시한 브로일러의 영양소 요구량을 충족할 수 있도록 배합하여 급여하였다. 실험 사료는 옥수수 대두박에 기초하여서 배합하였으며 이눌로프리바이오틱스의 첨가에 따른 사료원료의 부족부분은 옥수수로 조절하였고, 조단백질과 대사에너지 함량을 동일한 수준으로 조절해 주었다. 실험 사료는 서늘한 장소에 보관하면서 35일 동안 물과 함께 무제한 급여하였으며 24시간 연속조명을 실시하였다. 기타 일반 사양 관리는 본 대학 관행 실험 방법에 의해서 실시하였다.

### 혈청 면역물질

35일째에 각 처리구의 반복구로 부터 3수씩을 선정하여

CO<sub>2</sub> 흡입에 의해서 마취하였다. 심장으로부터 plain 처리된 주사기를 이용해서 혈액 2 ml를 채취한 다음 혈액이 응고하도록 허용하였다. 3,000 rpm에서 10분간 원심분리하여 응고된 혈액으로부터 혈청을 분리하였고, -196°C의 액화질소에 급속냉동한 다음, 혈액 면역물질을 측정하기 위하여 -20°C에서 냉동보관하였다. 즉시, 브로일러를 경추탈골(cervical dislocation)에 의해서 안락사하였으며, 흉선, 비장 및 F낭(bursa of Fabricius)을 수집하여 무게를 측정하였다. 혈청 면역물질 IgG, IgM 함량은 Mockett 과 Rose [12]에 의해서 제시된 ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay, Bethyl laboratories., Inc., USA)에 의해서 측정하였다.

맹장 미생물 변화

3개의 반복구에서, 3마리의 브로일러를 각각 분리된 반복단 위로부터 임의로 선택하여 경추탈골(cervical dislocation)에 의해서 안락사하였다. 즉시, 맹장을 CO<sub>2</sub> 하에서 유리용기 속으로 채취하여 밀봉하였고 실험실에 도착할 때까지 얼음위에서 유지하였다. 분석 시까지 AnaeroGen sachets가 부착된 anaerobic jar (Oxoid, Hampshire, UK)에서 혐기상태로 유지한 후, *Bifidobacterium* 과 *Lactobacillus species*, *E.coli* 및 *Samonella* 균수를 조사하였다. 즉시, 맹장 내용물을 CO<sub>2</sub> 하에서 멸균생리식염수(NaCL, 9 g/l)에 혼합, 균질화하였고, 동일한 배지에서 계단식으로 10<sup>8</sup> 희석하였다. 적절하게 희석된 용액 100 µl를 멸균된 각각의 평판 선택고체배지(*Bifidobacterium species*, BS배지; *Lactobacillus species*, BL배지; *Salmonella*, SS 배지; *E. Coli*, MacConkey 배지)속으로 분주하였다. 혐기성균에 대한 모든 처리 및 배양은 anaerobic chamber 및 Gas-Pak<sup>®</sup> system으로 조절된 혐기조건하에서 수행하였다. 혐기성균에 대한 모든 배지는 37°C의 CO<sub>2</sub> incubator를 이용해서 40시간 배양하였으며, 모든 미생물 균수는 미생물 카운터로써 조사하였다. 측정된 결과는 맹장 내용물 g당 균수(CFU, colony forming unit/g cecal content)로서 상용로그를 취하여 제시하였다.

통계 처리

본 실험에서 얻어진 자료는 완전임의배치로서 분석하였다. 처리의 평균은 SAS software의 최소제곱 평균절차 및 일반화 선형모형(Generalized linear model, GLM)을 이용하여 분석하였다[19]. 박테리아 균총은 log<sub>10</sub>으로 변환시킨 후 분석하였으며, 평균의 차이는 최소유의차(Least significant difference, LSD)에 의해서 비교하였다. 모든 통계적 유의성은 p<0.05로 정하였다.

결과 및 고찰

미생물의 체외 배양(in vitro)

국산 돼지감자로부터 추출한 이눌린의 장 내 유익한 미생물

의 탄소급원으로서 활용능력과 유해한 미생물의 성장억제 능력을 조사한 결과는 Fig. 1부터 Fig. 6에서 보는 바와 같다. RCM 액체배지(Reinforced clostridial medium)에서 배양한 결과, 모든 처리구에서 *B. longum* 균주의 성장률과 탄소급원의 활용을 나타내는 배양배지의 O.D 값 (Fig. 1)은 배양 10시간 까지 급격한 증가를 보여 빠른 성장이 일어남을 관찰할 수 있었다. 이눌린 첨가구가 대조구와 비교할 때 10시간 이후부터 급격한 성장을 보였고 15시간째 이눌린 0.3% 첨가구와 대조구 사이에 통계적 유의성이 없었음을 제외하면, 이눌린 첨가구에서 48시간 동안 *B. longum* 균주의 성장이 더욱 촉진되었고 통계적 유의성이 나타났다(p<0.05). *B. bifidum* 균주는 배양 20시간 까지 모든 처리구에서 일정한 증가를 나타내면서 빠른 성장이 일어남을 관찰할 수 있었으나, 20시간 이후부터 48시간 동안 이눌린을 첨가한 실험구에서 *B. bifidum* 균주의 성장이 더욱 촉진됨을 알 수 있었으며 대조구와 비교할 때 통계적 유의성이 나타났다(p<0.05). MRS 액체배지에서 배양한 젓산

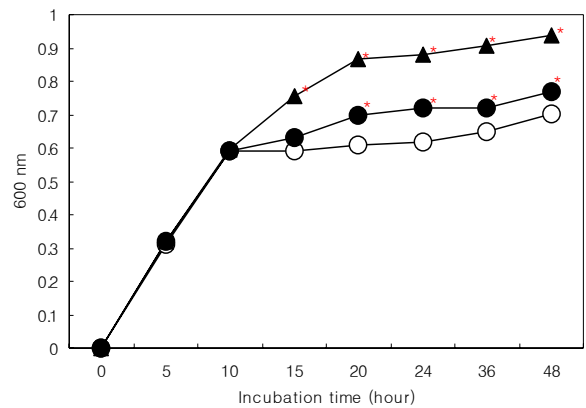


Fig. 1. Effect of inulin on the growth of *Bifidobacterium longum*. ○: Control, ●: 0.30% inulin, ▲: 0.50% inulin. \*p<0.05 compared with the control.

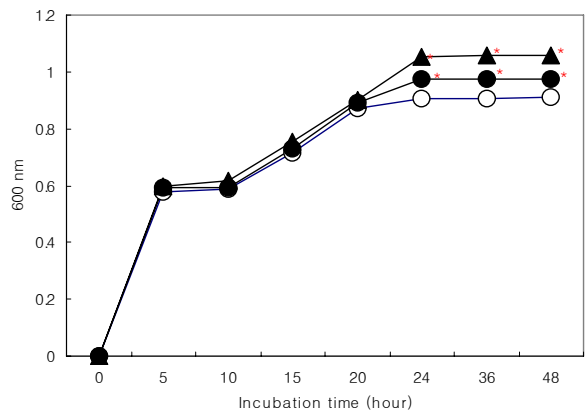


Fig. 2. Effect of inulin on the growth of *Bifidobacterium bifidum*. ○: Control, ●: 0.30% inulin, ▲: 0.50% inulin. \*p<0.05 compared with the control.

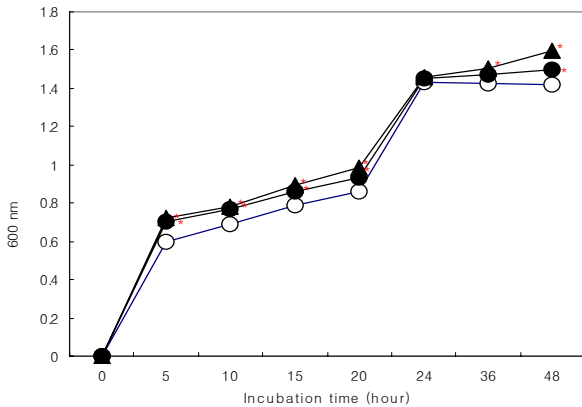


Fig. 3. Effect of inulin on the growth of *Lactobacillus acidophilus*. ○: Control, ●: 0.30% inulin, ▲: 0.50% inulin. \* $p < 0.05$  compared with the control.

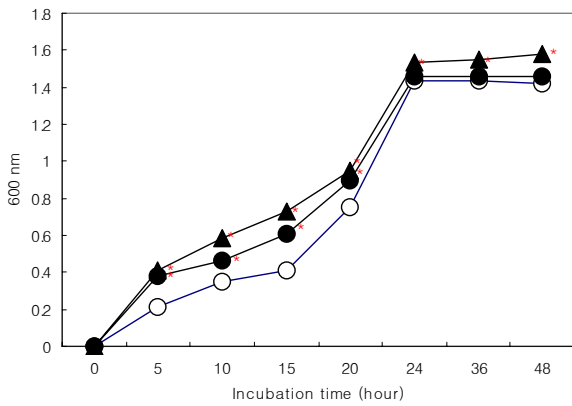


Fig. 4. Effect of inulin on the growth of *Lactobacillus casei*. ○: Control, ●: 0.30% inulin, ▲: 0.50% inulin. \* $p < 0.05$  compared with the control.

균주의 성장률을 조사한 결과, *L. acidophilus* 균주(Fig. 3)는 이눌린을 첨가한 실험구에서 대조구와 비교할 때 배양초기부터 배양 20시간째까지 높은 증가를 나타냈으며, 24시간째 처리구간 통계적 유의성이 없었고 36시간째 이눌린 0.3% 첨가가 대조구와 유의적인 차이가 없었던 점을 제외하면, 이눌린 첨가구가 대조구에 비해서 48시간 동안 통계적으로 유의하게 빠른 증식효과를 나타냈다( $p < 0.05$ ). *L. casei* 균주(Fig. 4)에서도 역시 *L. acidophilus*와 비슷한 양상으로 이눌린을 첨가한 실험구가 배양초기부터 대조구 보다도 높은 증가를 나타냈고, 특히 48시간 동안 균주의 증식속도는 모든 처리구 가운데서 이눌린 0.5% 첨가구가 가장 빠르게 나타났으며 통계적 유의성이 있었다( $p < 0.05$ ). RCM 액체배지에서 배양한 *S. aureus* 균주의 성장률(Fig. 5) 그리고 Nutrient 액체배지에서 배양한 *Cl. perfringens* 균주의 성장률(Fig. 6)은 배양 48시간 동안 모든 처리구에서 서로 비슷한 성장률을 보였으며, 처리구간 통계적으로 유의한 차이가 없었다.

이와 같은 결과로 볼 때, 이눌린은 유익한 미생물로 알려진

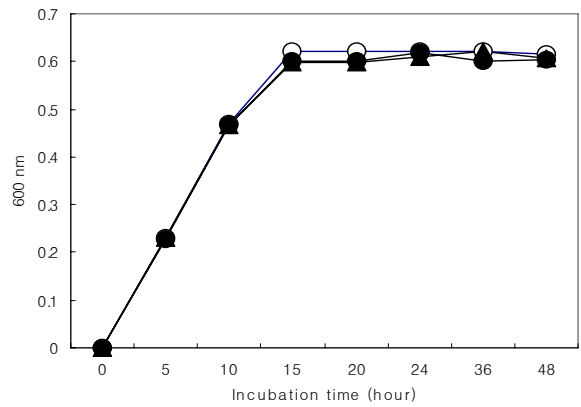


Fig. 5. Effect of inulin on the growth of *Streptococcus aureus*. ○: Control, ●: 0.30% inulin, ▲: 0.50% inulin.

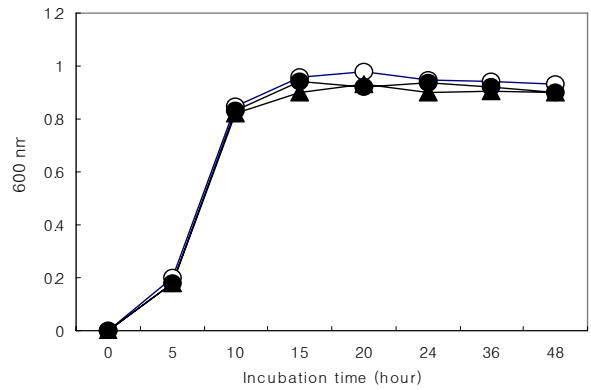


Fig. 6. Effect of inulin on the growth of *Clostridium perfringens*. ○: Control, ●: 0.30% inulin, ▲: 0.50% inulin.

*Bifidobacterium*과 *Lactobacillus species*에 의해서 이용되고, *S. aureus* 및 *Cl. perfringens* 등 장내 일부 유해균들은 이용하지 못하는 것을 알 수 있었으며 특히, *Bifidobacterium species*의 성장을 촉진하는 비피도스균의 증식효과가 큰 것으로 나타나서, 실제 이눌린을 브로일러 사료용 프리바이오틱스로서 활용할 경우 장내 유익균의 증식에 도움이 될 수 있을 것으로 사료된다. 유해한 미생물의 경우, 초기 성장에 있어서 이눌린을 첨가한 실험구와 대조구가 서로 비슷한 생육을 나타내지만 배양후기에는 미생물의 성장이 억제되는 것으로 보아서 장내 유해균의 생육을 위한 영양원으로서 이눌린을 이용하지 못하는 것으로 본다. 장내에서는 많은 미생물들이 서로 영양원에 대한 치열한 섭취경쟁을 하고 있어서 영양원의 부족현상이 일어나므로[5], 이눌린은 비피도박테리아와 같은 유익균을 선택적으로 증식시켜 장내 균총을 개선할 수 있을 것으로 생각한다.

맹장 미생물

이눌로프리바이오틱스를 섭취한 브로일러의 맹장 내용물

Table 1. Cecal bacterial populations of 35 days old broilers fed inuloprebiotics-supplemented diets

Bacteria <sup>1)</sup>	Treatment <sup>2)</sup>				PSE <sup>3)</sup>
	T1	T2	T3	T4	
<i>Bifidobacterium species</i>	8.07 <sup>b</sup>	8.74 <sup>a</sup>	8.85 <sup>a</sup>	8.77 <sup>a</sup>	0.1735
<i>Lactobacillus species</i>	8.41 <sup>b</sup>	9.08 <sup>a</sup>	8.87 <sup>ab</sup>	8.33 <sup>b</sup>	0.1515
<i>E. coli</i>	7.75 <sup>a</sup>	7.14 <sup>b</sup>	7.06 <sup>b</sup>	6.97 <sup>b</sup>	0.1716
<i>Salmonella</i>	7.84 <sup>a</sup>	7.03 <sup>b</sup>	6.89 <sup>b</sup>	7.01 <sup>b</sup>	0.1772

<sup>1)</sup>Bacteria: log cfu/g of cecal content.

<sup>2)</sup>T1: control, T2: 0.5% inuloprebiotics, T3: 0.7% inuloprebiotics, T4: 1.0% inuloprebiotics.

<sup>3)</sup>PSE: pooled standard error.

<sup>ab</sup>Means within the same row followed by different superscript letters are significantly different ( $p < 0.05$ ).

에서 조사한 미생물의 변화는 Table 1에서 보는 바와 같다. 장 내 유익한 미생물로 알려진 *Bifidobacterium species*는 이눌로프리바이오틱스 처리구가 대조구와 비교하였을 때, 통계적으로 유의한 증가를 나타냈으나, 이눌로프리바이오틱스 처리구 (0.5%, 0.7%, 1.0%) 사이에 있어서는 유의한 차이가 나타나지 않았다. *Lactobacillus species*는 이눌로프리바이오틱스 0.5% 처리구가 대조구와 비교하였을 때 유의적인 증가를 나타냈으나, 이눌로프리바이오틱스 0.7%, 1.0% 처리구와 대조구 간 그리고 이눌로프리바이오틱스 0.5% 처리구와 이눌로프리바이오틱스 0.7% 처리구 간 통계적인 유의차는 나타나지 않았다. 장 내 유해한 미생물로 알려진 *E. coli* 와 *Salmonella*는 이눌로프리바이오틱스 처리구가 대조구와 비교하였을 때, 통계적으로 유의하게 감소를 나타냈으나, 이눌로프리바이오틱스 처리구 사이에 있어서는 유의차는 없었다. 이러한 결과로 볼 때, 브로일러의 맹장 내 *Bifidobacterium*과 *Lactobacillus species* 증식을 자극하고 *E. coli* 와 *Salmonella*의 성장을 억제하기 위한 기질로서 사료 내 이눌로프리바이오틱스의 적정 첨가수준은 0.5%일 것으로 사료되며, 그 이상의 수준에서는 기질포화도에 의해 장 내 균총을 크게 변화시키지 않고 일정하게 유지되는 안정상태 (Plateau)로서 나타내는 것으로 볼 수 있다.

이눌로프리바이오틱스를 섭취한 브로일러의 맹장에서 *Bifidobacterium* 과 *Lactobacillus species*의 증가 및 *E. coli*, *Salmonella* 균의 감소는 돼지에게 프럭토올리고당을 급여한 후 맹장미생물의 변화를 조사한 Xu 등[24]의 보고와 비슷한 결과이다. 비분해성 올리고당이 프리바이오틱스가 *Lactobacillus* 와 *Bifidobacterium species* 등의 유익한 장 내 미생물 성장을 자극함으로써 *E. coli*, *Salmonella*, *Campylobacter*, *Cl. perfringens* 등의 유해한 미생물 균총을 낮춘다는 점은 잘 알려져 있으며 [8,9,16], 결과적으로 장 내 미생물과 숙주동물 사이의 유사성은 프리바이오틱스에 의해서 최적화될 수 있다[20]. 소화관에서 유익미생물의 중요성은 결장 상피세포에 필요한 에너지를 공급해주는 발효산물의 합성에 있어서 장 미생물의 역할, 소화관 면역체계의 자극, 비타민 K의 합성 그리고 외인성 병원

세균의 군락화에 대한 저항성을 나타내는 것이다[20]. *Bifidobacterium* 과 *Lactobacillus species*의 장 내 균총은 영양소와 장 부착부위에 대하여 잠재적인 병원체와 경쟁하고 있기 때문에 장 내 병원균 집단을 낮추며, 또한, *Bifidobacterium* 및 *Lactobacillus species*는 *E. coli*에 대하여 활성적인 물질의 박테리옌(bacteriocin)을 분비하며, *Bifidobacterium species*는 유기산과 기타 미생물에 대한 기질을 생성한다. *Lactobacillus species*의 발효로부터 생성된 대부분의 유기산은 젖산과 초산으로서 이러한 모든 기질은 병원균에 의한 장 군락화를 억압할 수 있다[9,18,25]. 이눌로프리바이오틱스 첨가구에서 나타난 맹장 *E. coli*, *Salmonella* 균수의 유의적인 감소는 바로 이러한 기질의 일부라고 생각할 수 있다.

Rada 등[16]은 1주령 산란계에게 이눌린 함유 사료를 급여하였을 때 맹장의 *Bifidobacterium species*에 있어서 유의적인 증가를 보고하여 본 결과를 뒷받침해주고 있다. Xu 등[24]은 브로일러에게 프럭토올리고당을 함유하는 사료를 급여했을 때, 프럭토올리고당 0.4% 첨가구의 맹장 내용물에서 총혐기성균, *Bifidobacterium* 및 *Lactobacillus species*는 유의적으로 증가하였으나, *E. coli* 균수는 유의적인 감소를 나타냈다고 하였으며, 본 결과는 이들의 보고와 맥락을 같이하고 있다. Zhang 등[25]은 이소말토올리고당을 섭취한 브로일러의 맹장에서 *Lactobacillus species*, *E. coli* 그리고 총호기성균수는 차이가 없다고 하여 본 연구 결과와 차이가 있었다.

닭에서 *Salmonella* 군락화의 주요 장소는 맹장이며, *Salmonella*는 병아리에서 설사 및 심각한 체중 손실과 같은 살모넬라 감염증을 일으킨다는 점은 널리 알려져 있는 사실이다. 이눌로프리바이오틱스를 섭취한 브로일러에서 *E. coli* 와 *Salmonella*가 낮아진 점은 맹장 내 존재하는 *Bifidobacterium* 과 *Lactobacillus species*의 유의적인 증가와 관련이 있다(Table 1). 이눌린을 미세캡슐화하여 제조된 이눌로프리바이오틱스가 브로일러의 위와 소장에서 이눌린의 분해율과 흡수율을 더욱 낮출 수 있었기 때문에, 이눌로프리바이오틱스가 하부 장관 및 맹장으로 이동하게 되고, 궁극적으로 맹장에서 용해된 이눌린이 *Lactobacillus* 와 *Bifidobacterium species*의 성장을 위한 기질로서 더욱더 활용되었을 것으로 판단된다[10]. Fernandez 등[4]은 4주의 기간에 걸쳐서 암탉 맹장 내용물의 미생물변화에 관한 분말사료와 2.5% 만노스올리고당 또는 팜핵분말 첨가 사료의 효과를 조사하였다. 그들은 만노스올리고당과 팜핵분말 첨가사료는 *Bifidobacterium* 및 *Lactobacillus species* 증가 및 장내유해균총의 감소에 의해서 장 미생물에 영향하였음을 확인하였으며, 또한 사료는 *Salmonella*에 의한 4주령 암탉의 군락화에 대한 감수성을 낮추는 것으로 보고하였는 바, 이는 본 연구 결과와 맥락을 같이하고 있다. 본 연구결과 이눌로프리바이오틱스를 섭취한 브로일러의 맹장 내용물에서 건강을 증진시키는 *Bifidobacterium*과 *Lactobacillus species*의 성장을 선택적으로 자극하는 효과가 나타났으며, 이익이 되지 않거나 또

Table 2. Indices of main immune organs and immunoglobulin of 35 days old broilers fed inuloprebiotics-supplemented diets

Parameter <sup>1)</sup>	Treatment <sup>2)</sup>				PSE <sup>3)</sup>
	T1	T2	T3	T4	
IgG (mg/ml)	5.28 <sup>b</sup>	9.07 <sup>a</sup>	9.25 <sup>a</sup>	8.87 <sup>a</sup>	0.4031
IgM (mg/ml)	0.19	0.15	0.20	0.17	0.1087
Bursa(F-sac)	1.01	1.05	1.130	1.08	0.2140
Spleen	2.01	1.99	2.08	2.05	0.1588
Thymus	4.81 <sup>b</sup>	5.62 <sup>ab</sup>	6.47 <sup>a</sup>	7.27 <sup>a</sup>	0.4523

<sup>1)</sup>% weight of bursa, spleen and thymus based on body weight.

<sup>2)</sup>T1: control, T2: 0.5% inuloprebiotics, T3: 0.7% inuloprebiotics, T4: 1.0% inuloprebiotics.

<sup>3)</sup>PSE: pooled standard error.

<sup>ab</sup>Means within the same row followed by different superscript letters are significantly different ( $p < 0.05$ ).

는 유해한 병원체 *E. coli*, *Salmonella*의 증식을 억제하는 것으로 나타났다. 또한, 대조구와 비교해 볼 때, 이눌로프리바이오틱스 처리구의 맹장에서 건강에 유익한 *Lactobacillus* 와 *Bifidobacterium species*의 성장이 촉진되었고, 혈청 면역물질 IgG의 농도가 높아진 점(Table 2)으로 보아서, 이눌로프리바이오틱스를 실제로 이용할 경우, 동물의 설사를 예방하고 성장을 촉진할 수 있는 항균성장촉진제로서 비피더스균의 활성 효과를 갖을 것으로 사료된다[13,15].

**혈청 면역물질 및 면역기관 무게**

이눌로프리바이오틱스를 섭취한 후 조사된 브로일러의 혈청 면역물질 및 면역기관 무게 변화는 Table 2에서 보는 바와 같다.

혈청 IgG 함량은 대조구와 비교할 때 이눌로프리바이오틱스의 처리구가 유의적으로 높게 나타났으나, 이눌로프리바이오틱스 처리구 간 통계적인 유의차는 없었다. 혈청 IgM 함량은 대조구와 차이가 없었다. 혈청 IgG 함량은 이눌로프리바이오틱스의 처리구가 대조구에 비해서 166.8~175.1% 증가한 것으로 조사되었다. 혈청 면역글로블린 역가(immunoglobulin titre)는 체액성면역의 지표이다. 본 연구 결과, 이눌로프리바이오틱스를 섭취한 브로일러에서 혈청 IgG가 높았던 점은 체액성면역 능력을 향상시키는 데 있어서 이눌로프리바이오틱스의 효율성이 높았음을 나타낸다. 그러나, 이눌로프리바이오틱스 처리구간 차이가 없었던 점은 브로일러의 사료 내 이눌로프리바이오틱스 0.5% 이상 수준을 첨가할 경우, 맹장 미생물이 이용할 수 있는 기질포화도가 나타나서 유익한 균총을 더 이상 증가시키지 않기 때문에 결국 면역물질이 일정하게 유지되는 안정상태로서 나타내는 것으로 볼 수 있다. 프리바이오틱스는 브로일러의 맹장에서 비피더스균의 증식을 자극함과 동시에 병원성미생물의 장점막 부착을 차단하고 수지상세포와 M 세포를 자극함으로써 면역조절에 관여하는 것으로 알려

져 있다(26).

홍선은 항체생산을 위한 중요한 기관이며, 이눌로프리바이오틱스 0.5% 처리구를 제외한 이눌로프리바이오틱스의 0.7%, 1.0% 처리구에서 대조구와 비교할 때, 홍선지수가 유의적으로 증가하였음을 볼 수 있다. 그러나, 이눌로프리바이오틱스 처리구 사이에 있어서 통계적인 유의차는 나타나지 않았다. Zhang 등[25]은 이소말토올리고당 0.3% 수준을 섭취한 브로일러에서 홍선지수가 유의적으로 증가하였다고 했으며, 이는 본 연구결과와 비슷하였다. 홍선지수(thymus index)에 관한 자료는 이눌로프리바이오틱스가 브로일러에서 홍선세포의 증식능력을 증가시켰음을 시사해주며, 또한 혈청 면역글로블린 IgG의 생산에 있어서 일정한 증가를 유지할 수 있음을 나타내고 있다. 닭의 면역체계는 흰쥐, 생쥐와 같은 포유동물과 약간 차이가 있다. F낭은 가슴에서 일정한 편이며 B-림프구(B-lymphocyte)의 발달 및 기능적인 성숙연구에 사용되었다. 닭이 성숙하면 홍선과 F낭이 발달하고, 이후 닭의 면역반응은 비장과 림프절에 의존하게 된다. 닭의 면역상태의 조절은 유익한 효과를 나타낼 수 있으며, 생산성을 증가시키는 효과를 기대할 수 있다[23].

결론적으로, 브로일러 사료 내 이눌로프리바이오틱스의 첨가는 맹장 미생물에 있어서 *Bifidobacterium* 과 *Lactobacillus species*의 집단을 증가시켰고, *E. coli*, *Salmonella*의 균수를 감소하였으며, 혈청 면역글로블린 IgG 함량을 높일 수 있었고, 주요 면역기관인 홍선세포의 증식 능력을 개선할 수 있었다. 따라서 이눌로프리바이오틱스가 세균에 대한 항생제 저항성의 위험을 낮추고 안전한 가공생산물 생산하는 데 있어서 유기축산을 위한 천연 항균성장촉진제로서 활용될 수 있을 것으로 판단된다.

**요 약**

브로일러에서 항균성장촉진을 위한 프리바이오틱스로서 이눌린의 활용가능성이 제시되었지만, 맹장에서 비피더스균의 활성효과를 개선할 필요가 있다. 이눌린은 공기 중 유통에 의한 변성 및 소화관 상부에서 맹장으로의 이동 시 낮은 통과율과 관련한 몇 가지 문제점이 있다. 이러한 문제를 해결하기 위해서 미세캡슐화, 이눌로프리바이오틱스가 브로일러의 맹장에서 비피도박테리아 균총을 증식시키고 살모넬라균의 집락을 낮출 수 있을 것이라는 가설을 세웠다. 국산 돼지감자로부터 추출한 이눌린을 미생물 배양한 후 대조구와 비교하였을 때, *B. longum*, *B. bifidum*, *L. acidophilus*, *L. casei* 균주의 성장률은 이눌린 첨가가 높았으나, *S. aureus*, *Cl. perfringens* 균주의 증식은 처리구 간 차이가 없었다. 브로일러는 이눌로프리바이오틱스를 함유하지 않은 대조구 사료, 이눌로프리바이오틱스 0.5%, 이눌로프리바이오틱스 0.7%, 이눌로프리바이오틱스 1.0% 혼합사료를 섭취하였다. 이눌로프리바이오틱스를 섭취한 브로일러의 맹장에서 유익한 *Bifidobacterium species*는 대조

구에 비해서 유의적으로 높았고, 유해한 미생물로 알려진 *E. coli* 와 *Salmonella*는 감소하였으나, 이눌로프리바이오틱스 처리구 사이에 있어서 *Bifidobacterium species*, *E. coli* 와 *Salmonella* 균수의 유의차는 없었다. 혈청 면역물질 IgG 함량은 이눌로프리바이오틱스 처리구가 대조구에 비해서 유의적으로 증가하였으나, 흉선지수는 이눌로프리바이오틱스 0.5% 첨가구를 제외한 이눌로프리바이오틱스 0.7%, 1.0% 처리구에서 유의적으로 증가하였다. 본 연구 결과는 돼지감자로부터 추출한 DP 26을 지닌 이눌린을 함유하는 이눌로프리바이오틱스를 브로일러 사료에 첨가, 급여하였을 때, 맹장에서 비피도박테리아의 선택적인 증식 및 면역능력을 강화해 줌으로서, 유기축산을 위한 사료첨가용 항균성장촉진제로서 활용가능성을 시사해 준다.

### 감사의 글

본 연구는 태화사초사료(주)의 2006년도 연구비지원 및 강원대학교 동물자원공통연구소의 일부지원으로 수행되었으며 이에 감사드립니다.

### References

- Chung, C. H. and D. F. Day. 2004. Efficacy of *Leuconostoc mesenteroides* (ATCC 13146) isomaltooligosaccharides as a poultry prebiotic. *Poult. Sci.* **83**, 1302-1306.
- Dorotea, L. M. and D. N. M. Maris. 2005. Molecular properties and prebiotic effect of inulin obtained from artichoke (*Cynara scolymus* L.). *Phytochemistry* **66**, 1476-1484.
- Fuller, R. 1989. Probiotics in man and animals. *J. Appl. Bacteriol.* **66**, 365-378.
- Fernandez, F., M. Hinton and B. van Gils. 2002. Dietary mannan-oligosaccharides and their effect on chicken caecal microflora in relation to *Salmonella* Eenteritidis colonization. *Avian Pathol.* **31**, 49-58.
- Feter, R., H. Brickner and M. Botney, D. Cleven and A. Aranki. 1983. Mechanisms which control bacterial population in continuous flow culture models of mouse large intestinal flora. *Infec. Immun.* **39**, 676-685.
- Flickinger, E. A. and G. C. Fahey Jr. 2002. Pet food and feed applications of inulin, oligofructose and other oligosaccharides. *Brit. J. Nutr.* **87**, S297-S300.
- French, A. D. 1989. Chemical and physical properties of fructans. *Plant Physiol.* **134**, 125-136.
- Gibson, G. R., E. R. Bead., X. Wang and J. H. Cummings. 1995. Selective stimulation of bifidobacteria in the human colon by oligofructose and inulin. *Gastroenterology* **108**, 975-982.
- Gibson, G. R. and X. Wang. 1994. Bifidogenic properties of different types of fructooligosaccharides. *Food Microbiol.* **11**, 491-498.
- Gong, J., R. J. Forster, H. Yu, J. R. Chambers, P. M. Sabour, R. Wheatcroft and S. Chen. 2002. Diversity and phylogenetic analysis of bacteria in the mucosa of chicken ceca and comparison with bacteria in the cecal lumen. *FEMS Microbiol. Lett.* **208**, 1-7.
- Isolauri, E., Y. Sutas, P. Kankaanpaa, H. Arvilommi and S. Salminen. 2001. Probiotics: Effects on immunity. *Am. J. Clin. Nutr.* **73** (Suppl. 2), 444S-450S.
- Mockett, A. P. A. and M. E. Rose. 2007. Immune responses to eimeria: quantification of antibody isotypes to *Eimeria tenella* in chicken serum and bile by means of the ELISA. *Parasite Immunology* **8**, 481-489.
- Modler, H. W., R. C. Mckellar and M. Yaguchi. 1990. Bifidobacteria and bifidogenic factors. *Can. Inst. Food. Sci. Technol. J.* **23**, 29-41.
- Park, B. S. and D. H. Son. 2008. Manufacturing method of microencapsulated-inuloprebiotics as a resources of bioactive materials. Patent 2008-70316.
- Patterson, J. A. and K. M. Burkholder. 2003. Application of prebiotics in poultry production. *Poult. Sci.* **82**, 627-631.
- Rada, V., D. Duskova, M. Marounek and J. Petr. 2001. Enrichment of *Bifidobacteria* in the hen caeca by dietary inulin. *Folia Microbiol.* **46**, 73-75.
- Rehman, H., P. Hellweg, D. Taras and J. Zentek. 2008. Effects of dietary inulin on the intestinal short chain fatty acids and microbial ecology in broiler chickens as revealed by denaturing gradient gel electrophoresis. *Poult. Sci.* **87**, 783-789.
- Rolfe, R. D. 2002. The role of probiotic cultures in the control of gastrointestinal health. *J. Nutr.* **130**(2S Suppl.), 396S-402S.
- SAS Institute. 2001. User's manual, version 8.0. SAS Institute Inc., Cary, NC.
- Tako, E., R. P. Glahn, R. M. Welch, X. Lei, K. Yasuda and D. D. Miller. 2008. Dietary inulin affects the expression of intestinal enterocyte iron transporters, receptors and storage protein and alters the microbiota in the pig intestine. *Brit. J. Nutr.* **99**, 472-480.
- Tomomatsu, H. 1994. Health effects of oligosaccharides. *Food Technol.* **48**, 61-65.
- Turnidge, J. 2004. Antibiotic use in animals-prejudices, perceptions and realities. *J. Antimicrob. Chemother.* **53**, 26-27.
- Wang, Y. W., C. J. Field and J. S. Sim. 2000. Dietary polyunsaturated fatty acids alter lymphocyte subset proportion and proliferation, serum immunoglobulin G concentration, and immune tissue development in chicks. *Poult. Sci.* **79**, 1742-1748.
- Xu, Z. R., C. H. Hu and M. O. Wang. 2002. Effects of fructooligosaccharide on conversion of L-tryptophan to skatole and indole by mixed populations of pig fecal bacteria. *J. Gen. Appl. Microbiol.* **48**, 83-89.
- Zhang, W. F., D. F. Li., W. Q. Lu and G. F. Yi. 2002. Effects of isomalto-oligosaccharides on broiler performance and intestinal microflora. *Poult. Sci.* **82**, 657-663.
- Zleessen, B., N. A. A. E. Elsayed, U. Loehren, W. Schroedl and M. Krueger. 2003. Jerusalem artichokes stimulate growth of broiler chickens and protect them against endotoxins and potential cecal pathogens. *J. Food Protection* **66**, 2171-2175.