

이눌로프리바이오틱스의 사료 내 첨가가 육계의 성장능력, 혈액 면역물질 및 맹장 미생물에 미치는 영향*

박상오** · 박병성***

Effect of Dietary Inuloprebiotics on Performance, Serum Immunoglobulin and Caecal Microflora in Broiler Chickens

Park, Sang-Oh · Park, Byung-Sung

The potential of encapsulated inuloprebiotics from domestic Jerusalem artichokes (*Helianthus tuberosus*) as natural antibacterial growth promotor for an antibiotic replacement in broiler chickens was presently assessed through assays of growth performance, serum immunoglobulin production and influence on caecal microflora. Two hundred-forty, 1-day-old, male broilers (Ross 308) were randomly allotted to four treatments (T1-T4), with three replicate pens per treatment and 20 chicks per pen. Broiler chicks were fed a basal diet (T1: control) or basal diet plus antibiotics (T2: Chlorotetracycline, 0.10%), 300 ppm of the inuloprebiotics (T3), or 450 ppm of the inuloprebiotics (T4) for 35 days. Body weight, dressing percentage or weight of breast and thigh muscles relative to carcass weight of T3 and T4 broiler chickens was significantly ($P<0.05$) higher than T1 and T2 broiler chickens. The weight of abdominal fat from T3 and T4 broiler chickens were significantly ($P<0.05$) lower than that of T1 and T2 chickens. Serum immunoglobulins in the T3 and T4 groups were significantly ($P<0.05$) elevated compared to the T1 and T2 groups. The weight of immune organs, thymus and Bursa of Fabricius relative to live body weight in the T3 and T4 groups were significantly ($P<0.05$) higher than the T1 and T2 groups. *Bifidobacteria* and *Lactobacillus*, which are beneficial bacteria, were present in greater numbers in the caecum of T3 and T4 birds than T1 and T2 groups, whereas potentially harmful *Escherichiacoli* and *Salmonella* were present in lower numbers, with differences being significant ($P<0.05$). These results suggest that a diet supplemented with 300 ppm of inuloprebiotics has

* 본 연구는 2007년 (주)테화사초사료의 연구비 및 강원대학교 동물자원공동연구소의 일부 지원으로 이루어졌음.

** 강원대학교 동물생명과학대학

*** 교신저자, 강원대학교 동물생명과학대학

potential as an antibiotic replacement for organic livestock feed supplement intended to improve production of broiler chicken.

Key words : inuloprebiotics, performance, immnuoglobulin, caecum microbials

I. 서 론

항생제 내성균의 출현은 심각한 사회적 문제가 되었으며 친환경 유기축산이 시작되면서 사료용 항생제의 규제가 강화되고 있다. EU는 동물사료 내 성장촉진제로써 항생제의 사용 금지를 규정하였고 2006년 1월부터 시행하고 있다(European Union Commission, 2005). 우리나라는 농림부 농림부고시 제2004-72호에 의하여 2007년 12월부터 18종(항콕시뚱제 9종, 성장촉진제 9종)으로 제한하였고 2012년 가축에 대한 성장촉진제로서 항생제의 사용은 전면 금지할 예정이다.

공장집약형 축산업에서 사료용 항생제를 사용하지 않을 경우 발생할 수 있는 피해와 손실을 줄이고 지속적인 가축의 생산성 향상을 위해 항생제를 대체할 수 있는 새로운 항균성장촉진제의 개발이 시작되었다(Dibner and Richards, 2005; Hong et al., 2008). 프리바이오틱스는 동물의 상부소화관 효소에 의해 가수분해되지 않고 대장으로 이동되어서 장 내 미생물 특히 *bifidobacteria*의 성장, 미생물의 활력 또는 미생물의 제한된 균수를 선택적으로 자극하여서 숙주 동물에게 유익한 영향을 주는 비소화성 식이성분을 말한다. 프리바이오틱스는 비피도스균의 활성화효과(bifidogenic effect)를 갖기 때문에 어린 동물의 설사를 방지하고 질병예방 효과를 나타내는 항균성장촉진제임과 동시에 면역조절제로 알려져 있다(Gibson and Rastall 2006; Patterson and Burkholder. 2003).

이눌린은 과당(fructose)이 $\beta(2\rightarrow1)$ glycosidic bond로 연결된 선형 과당중합체로써 동물의 위액과 소화효소에 의하여 분해되지 않고 80% 이상이 대장에 도달하여 장내 미생물 발효기질로서 이용되어 장내 유해균주의 성장을 억제하고 유익한 균주인 비피도박테리아의 성장을 선택적으로 자극하는 비피도스균의 활성화효과를 갖는 프리바이오틱스로서 알려져 있다(Rehman et al., 2008; Dorotea and Maris, 2005; Rada et al., 2001). FOS(fructooligosaccharide; Xu et al., 2002), IMO(isomalto-oligosaccharides; Zhang et al., 2003), 식물 추출물(허브 오일, Essential oil; Hernandez et al., 2004) 등이 프리바이오틱스로서 양계사료 첨가용 항균성장촉진제로의 활용가능성이 보고되었다.

본 연구자는 이전의 연구에서 국산 돼지감자로부터 추출한 이눌린의 항균활성(*in vitro*)을 조사한 결과, 이눌린 첨가구에서 유익균인 *Bifidobacterium longum*, *Bifidobacterium bifidum*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei* 균주의 성장률은 높았으나, *Streptococcus aureus*, *Clostridium perfringens* 유해균주의 증식은 억제되었으며, 이눌린으로부터 제조한 이눌로프

리바이오틱스를 0.5~1.0% 수준으로 섭취한 브로일러의 맹장에서 비피도박테리아의 선택적인 증식과 동시에 흉선지수 및 IgG의 증가를 보고하였다(Park, 2008). 그러나 사료용 항항생제 대체물질로써 이눌로프리바이오틱스의 브로일러의 성장능력에 대한 연구는 진행된 것이 거의 없다.

본 연구의 목표는 선행연구에서 확립된 국산 돼지감자로부터 추출, 제조한 이눌로프리바이오틱스를 브로일러 사료 내 혼합, 급여하였을 때 브로일러의 성장능력에 미치는 영향을 항생제 처리구와 비교, 조사하여 천연 항균성장촉진제의 개발 및 적용 가능성을 검토하는 것이었다.

II. 재료 및 방법

1. 이눌로프리바이오틱스의 조제

국산 돼지감자로부터 French(1989)에 의해서 제시된 열수, 냉각추출방법으로 평균 중합도(DP: degree of polymerisation) 26의 이눌린을 추출, 건조하였다. 항산화제로써 비타민 E(α -tocopheryl acetate, 0.8~1.5ppm)와 이눌린을 70°C의 따뜻한 물과 9:1(w/w)의 비율로 혼합하여 고압균질기(T25 Basic, IKA, German)에 의해서 고압균질물을 얻었다. 고압균질물과 강산성으로 위와 소장에서 안정하며 대장에서 용해되는 특성을 가진 장용피복재인 슈레테릭(Sureteric, Colorcon, UK)을 9:1(고압균질물 : 슈레테릭, w/w)로 혼합, 피복하여 브로일러 사료첨가용 이눌로프리바이오틱스를 제조하였다(Park, 2008). 생산된 제품은 평균 입자도 150 μ m, 비타민 E 1.2ppm 및 이눌린 96.5%를 함유하였다.

2. 실험동물 및 실험설계

동물을 포함한 모든 실험절차는 유럽실험동물취급면허 교재에서 제시된 과학적이고 윤리적인 규정을 따랐으며(Scot. manual, 1994) 실험수행을 위한 승인은 강원대학교 동물실험윤리위원회로부터 얻었다. 로스계통(Ross 308)의 성감별을 실시한 부화 1일령 수컷 브로일러 240수를 4처리구×3반복(반복 당 20수)으로 완전임의 배치하였다. 실험처리구는 T1(대조구), T2(Chlorotetra cycline, CTC 0.10%), T3(이눌로프리바이오틱스 300 ppm), T4(이눌로프리바이오틱스 450ppm)로 구분하였다. 이눌로프리바이오틱스의 첨가수준은 선행연구(Park, 2008)에서 얻어진 자료를 기초로 하여 선정하였다.

3. 실험사료 및 사양관리

실험사료는 미국의 NRC 사양표준(1994)에서 제시한 브로일러의 영양소 요구량을 충족 또는 초과할 수 있도록 옥수수, 대두박 위주로 배합하였으며 항생제 0.10%와 이눌로프리바이오틱스의 첨가수준은 옥수수의 량을 줄여서 조절하였다. 즉, 프리믹스 kg당 이눌로프리바이오틱스를 각각 30g, 45g 함유하게 조절한 후 실험사료 내 0.10%를 첨가하여 이눌로프리믹스의 수준을 300ppm과 450ppm으로 조절하였다. 조단백질과 대사에너지 함량을 동일한 수준으로 조절해 주었다(Table 1). 배합된 실험사료는 서늘한 장소에 보관하면서 물과 함께 무제한 급여하였다. 부화 후 35일 동안 표준상태(밀도 10마리/m²) 하에서 사육하였으며 각 펜은 깔짚으로써 왕겨를 바닥 10cm 높이로 깔아주었다. 브로일러는 전기(0~21일)와 후기(22~35일)로 구분하여 사육하였으며 사육실의 온도는 입추당일에서 3일까지 33°C로 유지하였고, 그 다음부터 주당 2~3°C씩 낮췄으며 22일부터 25°C로 유지하였다. 상대습도는 70%로 유지하였고 24시간 연속조명을 실시하였으며 자동환기시스템을 이용하여 일일 3~5회 환기를 해주었다.

Table 1. Composition of experimental basal diets for broiler chickens (% as-fed)

Ingredient	Experimental diets	
	Starter (0~21 days)	Grower (22~35 days)
Yellow corn ground	52.00	50.00
Soybean meal, 44% CP	34.00	25.00
Corn gluten meal	4.70	5.70
Wheat meal	-	10.00
Soybean oil	5.00	5.00
Limestone	1.25	1.25
Dicalcium phosphate	1.70	1.70
Sodium chloride	0.25	0.25
DL-Met, 50%	0.30	0.30
L-Lys HCl, 78%	0.30	0.30
Trace mineral premix ¹⁾	0.34	0.34
Vitamin premix ²⁾	0.16	0.16
Total	100	100

Ingredient	Experimental diets	
	Starter (0~21 days)	Grower (22~35 days)
Calculated values ³⁾		
ME, kcal/kg	3,100	3,150
CP, %	22.00	20.00
Lys, %	1.32	1.15
Met, %	0.52	0.50
Met+Cys, %	0.78	0.73
Ca, %	1.00	0.90
Available P, %	0.45	0.40

¹⁾ Supplied per kilogram of diet: Fe, 80 mg; Zn, 80 mg; Mn, 70 mg; Cu, 7 mg; I, 1.20 mg; Se, 0.30 mg; Co, 0.70 mg.

²⁾ Supplied per kilogram of diet: vitamin A (retinyl acetate), 10,500 IU; vitamin D₃, 4,100 IU; vitamin E (DL- α -tocopheryl acetate), 45 mg; vitamin K₃, 3.0 mg; thiamin, 2.5 mg; riboflavin, 5 mg; vitamin B₆, 5 mg; vitamin B₁₂, 0.02 mg; biotin, 0.18 mg; niacin, 44 mg; pantothenic acid, 17 mg; folic acid, 1.5 mg.

³⁾ Calculated as-fed values from NRC (1994).

4. 사양성적 및 도체특성

브로일러의 성장에 따른 각 단계 별 성장능력 즉, 사료섭취량, 증체량 및 사료요구율은 3주령과 5주령에 각각 측정하였다. 사료요구율은 일정한 기간 중의 사료섭취량을 증체량으로 나눈 값으로 나타났다. 실험동물의 사육이 종료되면 각 처리구별로 평균체중에 가까운 닭으로써 12수씩(반복펜 당 4수씩)을 선별하여 실험동물 안락사 권장(Close et al., 1997)에 따라서 경추탈골(Cervical dislocation)에 의해서 스트레스를 주지 않고 안정적으로 희생하였다. 도체율(Dressing percent)은 생체중에 대한 도체중(깃털, 혈액, 머리, 다리 및 내장을 제외한 무게)의 비율로써 계산하였다. 머리는 첫 번째 목뼈에서 잘라냈으며 다리는 무릎 정강이 부위를 잘라냈다. 가슴살과 닭 껍질을 포함한 다리살의 무게비율은 각각 도체중에 대한 무게비율로서 계산하였고, 간, 근위, 복강지방, 면역기관(흉선, 비장, F낭)의 무게는 생체중에 대한 비율로서 나타났다.

복강지방은 복강과 근위주변의 지방을 모두 취해서 측정하였다.

5. 혈청 면역물질

실험 종료 시에 각 처리구 당 9수씩(반복편 당 3수씩)을 임의로 선정하여 날개정맥으로부터 plain tube(Greine Co Ltd, Australia)를 이용해서 1mL 혈액을 채취하였다. 혈청(serum)은 4°C로 유지된 원심분리기(RC-3, SORVALL Co., USA)를 이용하여 15분간 3,000rpm으로 혈액을 원심분리에 의해서 얻었다. 분리된 혈청은 액체질소가스를 이용하여 급속 동결한 다음에 분석 시까지 -20°C 냉동 보관하였다. 혈액 면역물질은 Mockett과 Rose(2007)에 의해서 제시된 ELISA(enzyme-linked immunosorbent assay, Bethyl laboratories., Inc., USA)에 의해서 측정하였다. IgG(chicken IgG ELISA quantitation set, E30-104), IgA(chicken IgA ELISA quantitation set, E30-103) 및 IgM(chicken IgM ELISA quantitation set, E30-102)을 이용하여 반응시킨 다음 microplate reader(Molecular Devices, Inc., New York, USA)에 의해서 450nm에서 흡광도를 측정하여 항체의 양을 계산하였다.

6. 맹장 미생물

희생한 닭으로부터 처리구 당 12수씩(반복편 당 4수씩)을 선정하였다. 장내 미생물을 조사하기 위해서 안락사 이후 무균적인 방법으로 맹장을 채취하여 얼음 위에서 유지하였다. 미생물 배양 시까지 AnaeroGen sachets(Oxoid, Hampshire, UK)가 갖춰진 Sealed anaerobic jars(Oxoid, Basingstoke, UK)에서 혐기상태로 유지하였다. 맹장 내용물을 균질화한 후 1.0g을 멸균된 인산완충식염수(Phosphorus buffered saline; PBS 0.1 M, pH 7.0) 9mL에 혼합하여 10배 희석(1:9, wt/vol)하였다. 계수를 위하여 멸균된 혐기성 생리식염수를 이용하여 일련의 희석을 계속하였다. 모든 절차는 Anaerobic chamber(5% hydrogen, 5% CO₂, balanced nitrogen)에서 혐기상태로 이루어졌다. 미생물배양은 10²~10⁷ 농도로 희석된 시료를 멸균된 평판배지에 각각 100μL씩 분주하였다. 해당 미생물에 대한 배지로는 *Lactobacillus* SPP.(MRS agar, Oxoid, Basingstoke, UK); *Bifidobacterium* SPP.(bifidobacterium selective agar, BIM-25 medium., Munoa and Pares, 1988); *Salmonella*(SS agar Difco, CM0099); *Escherichia coli*(McConkey Purple agar)이었다. *Salmonella*와 *Escherichia coli*는 37°C에서 24시간 호기배양하였고, *Lactobacillus* SPP.와 *Bifidobacterium* SPP.는 AnaeroGen sachets가 갖춰진 Sealed anaerobic jars를 이용한 혐기상태 하에서 37°C로 각각 48, 72시간 정치배양한 후 미생물카운터로써 colony의 수를 조사하여, 맹장내용물 g당 균수(CFU, colony-forming unit/g of fresh cecal content)로써 상용로그를 취하여 제시하였다.

7. 통계분석

자료는 SAS software의 GLM procedure를 사용하여 분산분석(ANOVA)에 의해서 분석하였고 Duncan's multiple range test에 의해서 모든 자료에 대한 통계적인 유의차는 $P < 0.05$ 에서 검정하였다(SAS, 2004).

Ⅲ. 결과 및 고찰

1. 브로일러의 성장능력

부화 후 35일 동안 이눌로프리바이오틱스를 섭취한 브로일러의 사양성적은 Table 2에 나타내었다. 전기(0~21일), 후기(22~35일) 및 전체 실험기간(0~35일) 중 브로일러의 체중은 이눌로프리바이오틱스를 섭취한 T3(이눌로프리바이오틱스 300ppm)와 T4(이눌로프리바이오틱스 450ppm)가 T1(대조구), T2(Chlorotetra cycline, CTC 0.1%)와 비교할 때 유의하게($P < 0.05$) 높았다. T3와 T4 사이의 체중변화는 서로 비슷하였으나 T2는 T1에 비해서 유의하게($P < 0.05$) 높게 나타났다. 사료섭취량은 이눌로프리바이오틱스를 섭취한 T3, T4가 T1, T2에 비해서 유의하게($P < 0.05$) 높았으나 T3, T4 사이의 유의차는 없었고 T2는 T1에 비교할 때 유의하게($P < 0.05$) 더 많은 양의 사료를 섭취한 것으로 나타났다. 사료요구율은 전기 동안 각 처리구 간 차이가 없었으나 후기 및 전체 실험기간 동안 T1, T2가 T4에 비해서 유의하게($P < 0.05$) 높았으며 T3와 T4, T3와 T1, T2 사이의 통계적인 차이는 나타나지 않았다. 본 결과는 브로일러에서 프리바이오틱스로써 FOS(Xu et al., 2003), IMO(Zhang et al., 2003), 식물 추출물(Hernandez et al., 2004)을 급여하였을 때 체중이 증가되었다는 보고와 경향을 같이 한다. 여기서 발견한 새로운 사실은 브로일러의 사료 내 이눌로프리바이오틱스 300ppm 이상의 수준을 첨가급여로 인해서 브로일러의 성장율을 항생제 첨가구 및 대조구에 비해서 크게 향상시킬 수 있다는 점이었다. 이눌로프리바이오틱스의 처리구에서 브로일러의 증체량이 높았던 점은 이눌로프리바이오틱스 처리구의 맹장에서 건강에 유익한 *Lactobacillus*와 *bifidobacteria*의 성장이 촉진되었고(Table 5), 면역기관인 흉선, 비장 및 F낭 무게의 증가로 혈액 면역물질이 높아졌기(Table 4) 때문으로 볼 수 있다. Gibson 등(2006)과 Cetein 등(2005)은 프리바이오틱스의 면역능력 및 항균활성물질의 증진작용에 의해서 동물의 건강이 향상되어 증체율이 높아지는 것으로 보고하였고, Rehman 등(2008)은 이눌린의 $\beta(2 \rightarrow 1)$ glycosidic bond는 브로일러의 소화효소에 저항성이 있으며 동물의 장내 건강에 유익한 미생물의 성장을 촉진하고 유해한 미생물의 성장을 억제하는 것으로 보고하여 본 결과를 뒷받침 해준다.

Table 2. Growth performance of broilers fed the experimental diets for 35 days

Days	Treatments ¹⁾				PSE ²⁾
	T1	T2	T3	T4	
	----- Body weight gain, g -----				
0~21	795 ^c	837 ^b	855 ^a	864 ^a	6.04
22~35	1,008 ^c	1,068 ^b	1,122 ^a	1,150 ^a	9.51
0~35	1,813 ^c	1,905 ^b	1,977 ^a	2,014 ^a	20.03
	----- Feed intake, g -----				
0~21	1,302 ^c	1,347 ^b	1,378 ^a	1,380 ^a	16.38
22~35	1,637 ^c	1,716 ^b	1,775 ^a	1,760 ^a	18.21
0~35	2,939 ^c	3,063 ^b	3,153 ^a	3,140 ^a	18.82
	----- Feed conversion ratio ³⁾ -----				
0~21	1.63	1.60	1.61	1.59	0.02
22~35	1.62 ^a	1.60 ^a	1.58 ^{ab}	1.53 ^b	0.01
0~35	1.62 ^a	1.60 ^a	1.59 ^{ab}	1.55 ^b	0.01

¹⁾ T1: control, T2: antibiotics with 0.10% of CTC, T3: inuloprebiotics 300 ppm, T4: inuloprebiotics 450 ppm.

²⁾ Pooled standard error of the mean values.

³⁾ Feed conversion ratio is feed intake/body weight gain.

^{a,b,c} Mean values with different superscripts differ significantly ($p < 0.05$).

3. 도체특성

이눌로프리바이오틱스를 섭취한 브로일러에서 조사한 도체특성은 Table 3에 나타내었다. 도체중과 도체율은 이눌로프리바이오틱스를 섭취한 T3(이눌로프리바이오틱스 300ppm)와 T4(이눌로프리바이오틱스 450ppm)가 T1(대조구), T2(Chlorotetra cycline, CTC 0.1%)에 비해서 유의하게($P < 0.05$) 높았다. T3와 T4 사이의 유의차는 없었으나 T2는 T1에 비해서 유의하게($P < 0.05$) 높았다. 도체중에 대한 비율(%)으로써 나타낸 가슴살, 다리살의 무게는 T3, T4가 T1, T2에 비해서 높았고 T3와 T4 사이의 차이는 없었으나 T2는 T1과 비교할 때 높은 경향을 보였고, 각 처리구 사이에 통계적으로 유의차($P < 0.05$)가 인정되었다. 도체중에 대한 비율(%)으로써 나타낸 근위와 간 무게는 처리구 간 차이가 없었고, 복강지방은 T3, T4가 T1, T2와 비교할 때 유의하게($P < 0.05$) 낮아졌으나 T3와 T4, T1과 T2 사이의 차이는 나타나지

않았다. 지질대사에서 혈액지질은 생체조직으로 이동되어 에너지를 발생하는 데 사용되고 여분의 지질은 복강조직에 축적된다는 점은 널리 알려진 이론이다. 따라서 이눌린의 혈액 지질 감소작용에 의해 복강조직으로 이동한 지질수준이 낮아져서 복강지방이 감소하였을 것으로 추정할 수 있다. 사람과 대부분의 동물실험에서 이눌린은 혈액지질을 낮추는 것으로 알려졌으며 이눌로프리바이오틱스 처리구에서 복강지방이 낮았던 점은 이눌린의 생체 지질감소 기작에 기인한 효과로 볼 수 있다(Fiordaliso et al., 1995; Tokunaga et al., 1986). Kok 등(1996)은 쥐에게 10% oligofructose를 급여했을 때 혈액 중성지방-VLDL의 유의적인 감소를 보고하였으며, Davidson 등(1998)은 고콜레스테롤 혈증 사람에게 치커리 이눌린을 급여하였을 때 총콜레스테롤과 LDL-C 함량이 유의적으로 낮아졌다고 하여 본 결과를 지지해준다.

Table 3. Characteristics of carcass of broilers fed the experimental diets for 35 days

Item	Treatments ¹⁾				PSE ⁴⁾
	T1	T2	T3	T4	
Carcass weight, g	1,295 ^c	1,383 ^b	1,446 ^a	1,467 ^a	8.09
Dressing percentage ²⁾	71.45 ^c	72.62 ^b	73.17 ^a	73.01 ^a	0.17
Breast muscle, %	18.59 ^c	19.01 ^b	19.82 ^a	19.85 ^a	0.08
Thigh muscle, %	16.55 ^c	17.23 ^b	18.07 ^a	18.18 ^a	0.15
Gizzard, %	1.80	1.74	1.77	1.82	0.05
Liver, %	2.51	2.98	2.85	2.91	0.02
Abdominal fat, %	1.73 ^b	1.76 ^b	1.40 ^a	1.35 ^a	0.03

¹⁾ T1: control, T2: antibiotics with 0.10% of CTC, T3: inuloprebiotics 300 ppm, T4: inuloprebiotics 450 ppm.

²⁾ Carcass weight relative to live body weight.

³⁾ Breast and thigh muscle weight relative to carcass weight.

Gizzard, liver and abdominal fat weight relative to live body weight.

⁴⁾ Pooled standard error of the mean values.

^{a,b,c} Mean values with different superscripts differ significantly ($p < 0.05$).

4. 혈청 면역물질 및 면역기관 무게

이눌로프리바이오틱스를 섭취한 브로일러의 혈청 면역물질 및 면역기관 무게변화는 Table 4에 나타내었다. 혈청 IgG 함량은 T1, T2, T3, T4 순으로 유의하게($P < 0.05$) 증가하였

다. 한편, T4는 T3에 비해서 높았고 T2는 T1에 비해서 높았으며 이들 처리구 간 유의차 ($P < 0.05$)가 나타났다. 혈청 IgG 함량은 이눌로프리바이오틱스의 처리구가 항생제 첨가구 및 대조구에 비해서 각각 35.51%, 68.54% 증가한 것으로 조사되었다. 혈청 IgM, IgA 함량은 이눌로프리바이오틱스를 섭취한 T3, T4와 항생제 첨가구인 T2가 서로 비슷하였으며 이러한 세 개의 처리구는 T1과 비교할 때 유의하게 ($P < 0.05$) 높은 경향을 보였다. 칠면조에게 이눌로프리바이오틱스로써 MOS를 급여하였을 때 혈청 IgG가 증가하였다는 여러 연구자 (Cetein et al., 2005; Savage et al., 1996)의 보고는 본 결과와 경향을 같이한다. 이눌로프리바이오틱스를 섭취한 브로일러에서 혈청 IgG가 높았던 점은 체액성면역 능력을 향상시키는 데 있어서 이눌로프리바이오틱스의 효율성이 높았음을 의미한다(Park, 2008). 면역단백질은 골수의 B-cell에서 만들어지며 가금에서 IgG, IgA, IgM은 포유동물의 면역단백질과 생물학적 특성이 비슷하다. 혈액 IgG의 농도는 가장 높고 생체면역력을 담당하므로 혈액 IgG의 역할은 체액성면역의 지표가 된다(Higgins, 1975).

Table 4. Indices of main immune organs and immunoglobulin of 35 days old broilers fed inuloprebiotics-supplemented diets

Parameter ¹⁾	Treatment ²⁾				PSE ³⁾
	T1	T2	T3	T4	
IgG, $\mu\text{g/mL}$	55.61 ^d	69.17 ^c	86.54 ^b	93.73 ^a	0.10
IgM, $\mu\text{g/mL}$	30.71 ^b	51.27 ^a	51.56 ^a	52.38 ^a	0.37
IgA, $\mu\text{g/mL}$	28.21 ^b	33.38 ^a	35.37 ^a	34.41 ^a	0.25
Thymus	0.09 ^c	0.14 ^b	0.19 ^a	0.20 ^a	0.01
Spleen	1.07 ^b	1.47 ^a	1.55 ^a	1.57 ^a	0.06
Bursa of Fabricius	1.91 ^c	2.43 ^b	2.77 ^a	2.85 ^a	0.05

¹⁾ Organ weight: g/kg live body weight.

²⁾ T1: control, T2: antibiotics with 0.10% of CTC, T3: inuloprebiotics 300 ppm, T4: inuloprebiotics 450 ppm.

³⁾ Pooled standard error of the mean values.

^{a,b,c,d} Mean values with different superscripts differ significantly ($p < 0.05$).

생체중에 대한 비율로서 나타낸 브로일러의 흉선과 F낭은 T3, T4가 T1, T2에 비해서 높았고 T4와 T3 사이의 차이는 없었으나 T2는 T1에 비해서 높았으며 각 처리구 간 유의차 ($P < 0.05$)가 나타났다. 비장은 T3, T4, T2가 서로 비슷하였으며 이러한 세 개의 처리구는 T1과 비교할 유의하게 ($P < 0.05$) 증가를 나타냈다. Zhang 등(2003)은 이눌로프리바이오틱스로서 이

소말토올리고당을 0.3% 섭취한 브로일러에서 흉선지수가 유의적으로 증가하였다고 했으며 이는 본 연구결과와 맥락을 같이한다. 흉선은 항체생산을 위한 중요한 기관으로써 여기에 제시한 흉선지수에 관한 자료는 이눌로프리바이오틱스가 브로일러에서 흉선세포의 증식능력을 증가시켰음을 시사해준다. 닭의 면역체계는 흰쥐, 생쥐와 같은 포유동물과 약간 차이가 있다. F낭은 가슴에서 일정한 편이며 B-림프구(B-lymphocyte)의 발달 및 기능적인 성숙 연구에 사용되었다. 닭이 성숙하면서 흉선과 F낭이 발달하고 이와 함께 닭의 면역반응은 비장과 림프절에 의존하게 된다. 닭의 면역상태의 조절은 동물의 건강에 유익한 효과를 나타낼 수 있으며 생산성을 증가시키는 효과를 기대할 수 있다(Tizard, 2002; Wang et al., 2000). 닭에서 면역단백질은 IgM을 IgG로 전환하는 기작 또는 IgA를 성공적으로 작용시키는데 필수적인 F낭, 기타 연관된 림프기관 및 흉선에 의존하고 있다(Bienstock et al., 1973). 따라서 면역단백질을 함유하는 세포생산의 증가 및 높아진 혈액 면역단백질의 농도는 이눌로프리바이오틱스를 섭취한 닭에서 발견된 림프기관의 회귀결과일 것으로 볼 수 있다.

5. 맹장 미생물 변화

이눌로프리바이오틱스를 섭취한 브로일러의 맹장 내용물에서 조사한 미생물의 변화는 Table 5에 나타내었다. 장 내 유익한 미생물로 알려진 *bifidobacteria*와 *Lactobacillus*는 이눌로프리바이오틱스를 섭취한 T3(이눌로프리바이오틱스 300 ppm)와 T4(이눌로프리바이오틱스 450ppm)가 T1(대조구), T2(Chlorotetra cycline, CTC 0.1%)에 비해서 유의하게($P<0.05$) 높았다. *Bifidobacteria*는 T4, T3, T2, T1 순서로 높게 나타났으며 각 처리구 간 통계적인 유의차($P<0.05$)가 있었다. *Lactobacillus*는 T4, T3, T2, T1 순서로 높았으며 T3와 T4 사이의 차이는 없었으나 T2는 T1에 비해서 높았고 처리구 간 유의차($P<0.05$)가 인정되었다. 유해한 미생물로 알려진 *E. coli*와 *Salmonella*는 T1, T2, T3, T4 순으로 유의하게($P<0.05$) 감소하였다. 한편, *bifidobacteria*의 증가율은 T1, T2와 비교할 때 T3, T4에서 *bifidobacteria*의 증가율은 각각 31.59%, 22.72%로 나타났으며 *Lactobacillus*의 증가율은 각각 26.49%, 11.63%로 나타났다. *E. coli*와 *Salmonella*의 감소율은 T1, T2와 비교할 때 T3, T4에서 각각 22.95%, 12.31% 및 33.92%, 14.10%로 나타났다. 이눌로프리바이오틱스를 섭취한 T3, T4에서 맹장 내 *Lactic acid bacteria*와 *bifidobacteria* 균수가 높았던 점은 미세캡슐화에 의해 제조된 이눌로프리바이오틱스가 브로일러의 위와 소장을 우회함으로써 이눌린의 분해율과 흡수율이 낮아짐과 동시에 대부분이 맹장으로 이동하게 되고 궁극적으로 맹장에서 용해된 이눌린이 *Lactic acid bacteria*와 *Bifidobacteria*의 성장을 위한 기질로서 더욱더 활용되었을 것으로 생각할 수 있다(Gong et al., 2002). 프리바이오틱스로서 이눌린은 장 미생물 균형에 영향을 미치는 것으로 알려져 있다. 이눌린, 올리고당 및 올리고당과 관련한 탄수화물은 동물의 소장에서 분

해되지 않고 대장에 도달하여 유해한 미생물인 *Escherichia coli*, *Salmonella*와 *Campylobacter*의 군수를 낮추고 유익한 *Bifidobacterium*의 선택적인 증식을 높이는 비피더스균 활성효과를 갖는 것으로 알려져 있다(Gibson et al., 1995; Gibson and Wang, 1994). Rada 등(2001)은 1주령 산란계에게 이눌린 함유사료를 급여하였을 때 맹장의 *bifidobacteria*에 있어서 유의적인 증가를 보고하여 본 결과와 일치한다. 소화관에서 미생물의 중요성은 장 상피세포에 필요한 에너지를 공급해주는 발효산물의 합성에 있어서 장 미생물의 역할, 소화관 면역체계의 자극, 비타민 K의 합성 그리고 외인성 병원성 세균의 군락화에 대한 저항성을 나타내는 것이다(Tako et al., 2008). *Lactobacillus*와 *Bifidobacteria*는 동물의 건강에서 유익한 미생물로서 잘 알려져 있으며, *E. coli*, *Clostridium perfringens*와 같은 기타 미생물은 유해할 수 있다(Devaraj et al., 2002). *bifidobacteria*, *Lactobacillus*의 장 내 군총은 영양소와 장 부착부위에 대하여 잠재적인 병원체와 경쟁하고 있기 때문에 장 내 병원균 집단을 낮춘다. 또한, *bifidobacteria*, *Lactobacillus*는 *E. coli*에 대하여 활성적인 물질의 박테리옌(bacteriocin)을 분비하며 *bifidobacteria*는 유기산과 기타 미생물에 대한 기질을 생성한다. *Lactobacillus*의 발효로부터 생성된 대부분의 유기산은 젖산과 초산이다. 이러한 모든 기질은 병원균에 의한 장 군락화를 억압할 수 있다(Zhang et al., 2002; Rolfe, 2002; Gibson and Wang., 1994). 이눌로프리바이오틱스 처리구에서 나타난 맹장 *E. coli*, *Salmonella* 군수가 유의하게 낮아진 이유는 바로 이러한 기질의 일부라고 생각할 수 있다. Xu 등(2003)은 브로일러에게 이눌로프리바이오틱스로서 프럭토올리고당을 함유하는 사료를 급여했을 때, 프럭토올리고당 0.4% 첨가구의 맹장 내용물에서 총혐기성균과 *bifidobacteria*, *Lactobacillus* 군수는 유의하게 증가하였으나, *E. coli* 군수는 유의하게 감소를 나타냈다고 하였으며 본 결과는 이들의 보고와 맥락을 같이하고 있다. 닭에서 *Salmonella* 군락화의 주요 장소는 맹장이며 *Salmonella*는 병아리에서 설사 및 심각한 체중손실과 같은 살모넬라 감염증을 일으킨다는 점은 널리 알려져 있는 사실이다. 이눌로프리바이오틱스를 섭취한 브로일러에서 *E. coli*와 *Salmonella*가 낮아진 점은 맹장 내 존재하는 *bifidobacteria*, *Lactobacillus*가 유의하게 높아진 점과 관련이 있다. 본 연구결과 이눌로프리바이오틱스를 섭취한 브로일러의 맹장내용물에서 건강을 증진시키는 *bifidobacteria*, *Lactobacillus* 균의 성장을 선택적으로 자극하는 효과가 나타났으며 이익이 되지 않거나 또는 유해한 병원체 *E. coli*, *Salmonella*의 증식을 억제하는 것으로 나타났다. 또한, 항생제 첨가구 및 대조구와 비교해 볼 때, 이눌로프리바이오틱스 처리구의 맹장에서 건강에 유익한 *Lactobacillus*와 *bifidobacteria*의 성장이 촉진되었고, 면역기관의 무게가 증가된 점(Table 4)으로 보아서 이눌로프리바이오틱스를 브로일러 사료에 항생제 대체제로써 이용할 경우 병아리의 설사를 예방하고 성장을 촉진할 수 있는 항균성장촉진제로서 비피도스균의 활성효과를 갖을 것으로 사료된다(Modler et al., 1990).

결론적으로, 부화 후 35일 동안 브로일러 사료 내 이눌로프리바이오틱스를 300ppm 이상의 수준으로 첨가해 줌으로 인해서 항생제 첨가구 및 대조구에 비해서 맹장 미생물의 유익

균 *bifidobacteria*, *Lactobacillus*의 집단을 선택적으로 증가시켰고, 유해균 *E. coli*, *Salmonella*의 균수를 감소하였다. 또한, 주요 면역기관인 흉선, 비장 및 F낭세포의 증식능력을 자극할 수 있었고 혈액 면역단백질의 농도를 높여주어 동물의 건강을 향상시키고 성장능력을 자극할 수 있음을 확인하였다. 따라서 브로일러 사료 내 300ppm 수준의 이눌로프리바이오틱스를 첨가할 경우, 세균에 대한 항생제 저항성의 위험을 낮추고 안전한 닭고기를 생산하는데 있어서 도움이 될 수 있는 천연 항균성장촉진제로서 활용될 수 있을 것으로 나타났다.

Table 5. Viable cell counts of microflora in cecal digesta of broilers fed the experimental diets for 35 days (log 10 cfu/g content)

Item	Groups ¹⁾				PSE ²⁾
	T1	T2	T3	T4	
<i>Bifidobacteria</i>	7.47 ^d	8.01 ^c	8.73 ^b	9.83 ^a	0.01
<i>Lactobacillus</i>	7.21 ^c	8.17 ^b	8.85 ^a	9.12 ^a	0.04
<i>E. coli</i>	9.15 ^a	8.04 ^b	7.16 ^c	7.05 ^c	0.06
<i>Salmonella</i>	7.84 ^a	6.03 ^b	5.18 ^c	5.34 ^c	0.05

¹⁾ T1: control, T2: antibiotics with 0.10% of CTC, T3: inuloprebiotics 300 ppm, T4: inuloprebiotics 450 ppm.

²⁾ Pooled standard error of the mean values.

^{a,b,c,d} Mean values with different superscripts differ significantly (p < 0.05).

IV. 요약

본 연구는 브로일러 사료 내 항생물질을 대체하기 위한 천연항균성장촉진제로서 국산 돼지감자로부터 추출, 제조한 미세캡슐화, 이눌로프리바이오틱스의 첨가에 따른 성장능력, 혈액 면역물질 및 맹장 미생물 변화를 조사하였다. 로스계통(Ross 308)의 성감별을 실시한 수컷 브로일러 240수를 4처리구×3반복(반복 펜 당 20수)으로 완전임의 배치하였다. 브로일러는 기본사료(T1: 대조구), 항생제(T2: Chlorotetra cycline, CTC 0.1%), 이눌로프리바이오틱스 300ppm(T3), 이눌로프리바이오틱스 450ppm(T4) 함유사료를 각각 35일 동안 섭취하였다. 브로일러의 체중 및 도체율은 이눌로프리바이오틱스를 섭취한 처리구(T3, T4)가 대조구(T1) 및 항생제(T2) 함유사료를 섭취한 처리구에 비해서 높았으며 통계적인 유의차(P<0.05)가 인정되었다. 브로일러의 도체중에 대한 비율로서 나타낸 닭 가슴살 및 다리살의 무게 비율은 T3, T4가 T1, T2에 비해서 높았으며 통계적인 유의차(P<0.05)가 인정되었다. 복강지

방 무게는 T3, T4가 T2, T1에 비해서 유의하게($P<0.05$) 감소경향을 나타냈다. 혈액 면역물질 IgG는 T3, T4가 T1, T2와 비교할 때 유의하게($P<0.05$) 증가하였다. 생체중에 대한 비율로서 나타낸 면역기관 흉선, F낭의 무게 비율은 T3, T4가 T1, T2에 비해서 유의하게($P<0.05$) 높은 경향을 나타냈다. 장내 유익한 *bifidobacteria*와 *Lactobacillus*는 T3, T4가 T1, T2에 비해서 높았으나 유해한 *E. coli*와 *Salmonella*는 오히려 낮게 나타났으며 통계적인 유의차($P<0.05$)가 인정되었다. 본 연구에서 나타난 중요한 점은 유기축산 사료용 항생제 대체물질로써 이눌로프리바이오틱스 300ppm 수준을 브로일러 사료에 첨가·급여해 줌으로서 브로일러의 생산성을 크게 향상시킬 수 있다는 사실이었다.

[논문접수일 : 2009. 9. 29. 논문수정일 : 2009. 11. 20. 최종논문접수일 : 2009. 11. 24]

참 고 문 헌

1. Bienenstock, J., J. Gauldie and D. Y. E. Perey. 1973. Synthesis of IgG, IgA, IgM by chicken tissues: Immunofluorescent and ^{14}C amino acid incorporation studies. *The Journal of Immunology*. 111: 1112-1118.
2. Cetein, N., B. K. Guclu and E. Cetein. 2005. The effect of prebiotics and mannan-oligosaccharide on some hematological and immunological parameters in turkey. *J. Vet. Med. A*. 52: 263-267.
3. Close, B., K. Banister., V. Baumans., E. M. Bernoth., N. Bromage., J. Bunyan., W. Erhardt., P. Flecknell., N. Gregory., H. Hackbarth., D. Morton and C. Warwick. 1997. Recommendations for euthanasia of experimental animals, Part 2. *Laboratory animals* 31: 1-32.
4. Davidson, M. H., K. C. Maki., C. Specks., S. A. Too and K. B. Crennan. 1998. Effects of dietary inulin on serum lipids in men and women with hypercholesterolemia. *Nutr. Res*. 18: 503-17.
5. Devaraj, S., S. Vega-Lopez., N. Kaul., F. Schonlau., P. Rohdewald and I. Jialal. 2002. Supplementation with a pine bark extract rich in polyphenols increases plasma antioxidant capacity and alters the plasma lipoprotein profile. *Lipids*. 37: 931-934.
6. Dibner, J. J. and J. D. Richards. 2005. Antibiotic growth promoters in agriculture: History and mode of action. *Poultry Sci*. 84: 634-643.
7. Dorotea, L. M. and D. N. M. Maris. 2005. Molecular properties and prebiotic effect of inulinobtained from artichoke (*Cynara scolymus* L.). *Phytochemistry*. 66: 1476-1484.

8. European Union Commission. 2005. Ban on antibiotics as growth promoters in animal feed enters into effect. 1. Regulation 1831/2003/EC on additives for use in animal nutrition, replacing Directive 70/524/EEC on additives in feed-stuffs, Brussels, 22 December.
9. Fiordaliso, M. F., N. Kok., J. P. Desager., F. Goethals., D. Deboyser., M. Roberfroid and N. French, A. D. 1989. Chemical and physical properties of fructans. *Plant Physiol.* 134: 125-136.
10. Gibson, G. R and R. A. Rastall. 2006. *Prebiotics: Development and application.* John Wiley and Sons, Ltd., USA.
11. Gibson, G. R. and X. Wang. 1994. Bifidogenic properties of different types of fructooligosaccharides. *Food Microbiol.* 11: 491-498.
12. Gibson, G. R., E. R. Bead., X. Wang and J. H. Cummings. 1995. Selective stimulation of *bifidobacteria* in the human colon by oligofluctose and inulin. *Gastroenterology.* 108: 975-982.
13. 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.
14. Hernandez, F., J. Madrid., V. Garcia., J. Orengo and M. D. Megias. 2004. Influence of two plant extracts on broilers performance, digestibility, and digestive organ size. *Poult. Sci.* 83: 169-194.
15. Higgins, D. A. 1975. Physical and chemical properties of fowl immunoglobulins. *The Vet. Bull.* 45: 139-154.
16. Hong, B. J., J. S. Oh., B. W. Kim and B. S. Park. 2008. Effect of feeding dietary pitamin as a organic livestock feed additives in laying hens. *Korean Association of Organic Agriculture.* 16: 205-218.
17. Kok, N., M. Roberfroid., A. Robert and N. Delzenne. 1996. Involvement of lipogenesis in the lower VLDL secretion induced by oligofructose in rats. *Br. J. Nutr.* 76: 881-890.
18. Modler, H. W., R. C. Mckellar and M. Yaguchi. 1990. *bifidobacteria* and bifidogenic factors. *Can. Inst. Food. Sci. Technol. J.* 23: 29-41.
19. 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.
20. Munoa, F. J. and R. Pares. 1988. Selective medium for isolation and enumeration of *bifidobacterium* SPP., *Applied and Environmental Microbiology.* 54: 1715-1718.
21. National Research Council. 1994. *Nutrients requirements of poultry.* 9th rev. National

- Academy Press, Washington DC. USA.
22. Park, B. S. 2008. Bifidogenic effects of inuloprebiotics in broiler chickens. *J. Life. Sci.* 18: 1693-1699.
 23. Patterson, J. A. and K. M. Burkholder. 2003. Application of prebiotics in poultry production. *Poult. Sci.* 82: 627-631.
 24. 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.
 25. 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.
 26. Rolfe, R. D. 2002. The role of probiotic cultures in the control of gastrointestinal health. *J. Nutr.* 130(2S Suppl.): 396S-402S.
 27. SAS. 2004. SAS/STAT User's Guide: Statistics. Version 9.1. SAS Institute Inc., Cary, North Carolina. USA.
 28. Savage, T. F., P. F. Cotter and E. I. Zakrzewska. 1996. The effect of feeding of a mannan-oligosaccharide on immunoglobulin plasma IgG and bile IgA of Wrolstad MW male turkey. *Poult. Sci.* 75(Suppl): 143(Abstr).
 29. Scot PIL training manual. 1994. Glasgow Univ. UK.
 30. 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.
 31. Tizard, B. 2002. The avian antibody response. *Seminars in avian and exotic pet medicine.* 11: 2-14.
 32. Tokunaga, T., T. Oku., and N. Hosoya. 1986. Influence of chronic intake of new weetener fructooligosaccharide(Neosugar) on growth and gastrointestinal function of the rat *J. Nutr. Sci. Vitaminol.* 32: 111-121.
 33. 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.
 34. Xu, Z. R., C. H. Hu., M. S. Xia., X. A. Zhan and M. Q. 2003. Effects of dietary fructooligosaccharide on digestive enzyme activities, intestinal microflora and morphology of male broilers. *Poult. Sci.* 82: 1030-1036.
 35. 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.

36. Zhang, W. F., D. F. Li., W. Q. Lu and G. F. Yi. 2003. Effects of isomalto-oligosaccharides on broiler performance and intestinal microflora. Poult. Sci. 82: 657-663.