

한방생약부산물 급여가 육계의 생산성, 장관 미생물 군총, 혈액 생화학적 성상 및 면역학적 지표에 미치는 영향

장 인 석

경남과학기술대학교 동물생명과학과, 동물생명산업센터

Effects of By-Products of Herbal Medicine on Performance, Intestinal Microbial Population, Blood Biochemical Profiles and Immunological Parameters in Broiler Chicks

In-Surk Jang

Dept. of Animal Science and Biotechnology, and the Regional Animal Research Center (RAIC),
Gyeongnam National University of Science and Technology, Jinju 52725, Korea,

ABSTRACT The study was carried out to investigate the effects of by-products of herbal medicines on performance, enteric microflora and blood biochemical profiles and immunological parameters in broiler chicks. A total of ninety-six, 3-d-old birds were assigned to a basal diet (CON) or a basal diet supplemented with 0.15 % (HM1), 0.3% (HM2) or 0.5% (HM3) by-products of herbal medicines. There was a significantly ($p<0.05$) improved feed conversion ratio (FCR) in birds fed diet supplemented with 0.15% by-products of herbal medicines (HM1) compared with the control birds during starter period (3~21 days). However, no difference in body weight, feed intake, total gain and FCR among treatment groups was observed during the entire feeding period (3~35 days). The colony forming units (CFU) of *E. coli* and *Lactobacilli* in the digesta of ileo-cecum was not also affected by dietary treatment. Serum AST (aspartate aminotransferase) and glucose decreased ($p<0.05$) in birds fed diets supplemented with herbal medicines compared with those fed the basal diet. In particular, the birds fed diets supplemented with herbal medicines showed a significant ($p<0.05$) increase in blood mean corpuscular volume (MCV) level compared with the control birds. However, the most of blood biochemical and hematological parameters and immunoglobulins (IgG and IgA) were not affected by the dietary treatment. In conclusion, the low level of dietary herbal medicines showed beneficial effects on FCR during starter period and liver functions, suggesting that by-products of herbal medicines may be applicable as functional feed additives in birds.

(Key words: herbal medicines, blood biochemical profiles, hematological parameters, immunoglobulins)

서 론

가축 생산성 증대와 같은 긍정적인 효과에도 불구하고, 사료첨가용 향생제는 축산물에 잔류될 수 있고, 섭취된 향생물질이 인체 내성을 증가시킨다는 부정적인 효과가 밝혀지면서(Lee et al., 2001), 국내에서 2012년부터 사료첨가용 향생제 사용이 전면 금지되었다. 사료첨가용 향생제 사용금지에 따라 닭에서 유해세균이 증식하여 피사성 장염과 같은 위장관 건강에 부정적인 영향을 미쳐 생산성 저하를 초래한다고 보고되고 있다(Timbermont et al., 2009). 따라서 가축사료의 위생 및 안전성이 중요한 시대적 흐름에 따라 향생제를 대

체할 수 있는 성장촉진 및 면역증강제에 대한 연구가 활발히 진행되고 있다.

사료첨가용 향생제 대체제로 개발되고 있는 제품으로 생균제, 유기산제, 생리활성오일(essential oils) 등이 산업화되었고, 면역작용증강제로서 β -glucan, 버섯균체, 효모추출물, 식물추출물, 다당체(Prebiotics) 등이 다양하게 연구되고 있다(Huyghebaert et al., 2011; Jang et al., 2007; Lee et al., 2011; Wenk, 2000). 또한 최근 향생제 대체제 개발에서 소비자들에게 친환경적 소재로서 인식이 좋고 비교적 손쉽게 사용이 가능한 한방 약용식물에 대한 관심이 점증하고 있다. 천연추출물질로서 강황, 유카, 매실, 가시오갈피 등도 면역반응

† To whom correspondence should be addressed : isjang@gntech.ac.kr

을 증강시키는 물질로서 성장촉진기능은 명확히 알려져 있지 않으나, 면역증강을 통한 체 조직 내 면역관련 세포의 증식 등에 따라 생체에 유익한 영향을 미치는 것으로 보고되고 있다(Gallois et al., 2009; Ilesley et al., 2005; Jang et al., 2013; Kang et al. 2010; Olas et al., 2003). 최근 면역증강제로서 가장 주목을 받고 있는 것은 β -glucan으로 대식세포를 활성화시키는 작용과 면역세포의 수용체가 β -glucan을 인식하여 대식세포의 면역작용을 증가시킨다(Cox et al. 2010).

한방생약물질로서 감초, 구기자 등은 면역증강, 해독작용, 간 기능증진, 콜레스테롤 저하, 항산화 작용 등과 같은 다양한 약리작용이 보고되었다(Kim et al., 2015; Lee and Ha, 1994; Vaya et al., 1997). Kim et al.(2007)은 한방발효물을 육계에게 급여한 결과, 무항생제균에 비해 생산성에는 차이가 없었지만 백혈구 조성에서 림프구: 호중구 비율이 감소되어 스트레스 지표가 감소되는 것으로 보고하였다. 일부 연구에서는 한방약제 부산물을 혼합한 사료가 닭의 생산성을 증가시킨다는 결과도 보고되고 있다(Kim et al., 2015; Kim and Paik, 2008). 이와 같은 연구들로 보아 한방생약제를 사료첨가제로서 닭에게 급여하였을 때 그 효능 및 반응은 약용식물의 종류, 배합비율, 투여방법, 투여량 및 시기, 가축사양 조건 및 스트레스 등에 따라 매우 다양한 영향을 받는 것으로 생각된다.

본 시험은 한방약제부산물을 사료첨가제로 이용할 경우, 면역작용 등에 미치는 생리활성 효과를 연구하기 위해 육계의 생산성, 장관 미생물 균총, 혈액 생화학 성분 및 면역학적 지표에 미치는 영향을 조사하였다.

재료 및 방법

1. 시험설계 및 사양관리

육계 수컷 Ross(308)종을 구입 후 2일간 적응기간을 거쳐 3일령부터 각 구당 24수씩(4수/cage, n=8) 모두 96수를 대조군(CON), 한방생약부산물 0.15%(HM1), 0.3%(HM2) 및 0.5%(HM3) 첨가군 등 4군에 배치하고, 35일령까지 케이지 사양시험을 실시하였다. 시험에 사용한 기초사료는 무항생제 육계사료를 사용하였으며, 한방생약제부산물을 시험설계에 따라 일정 비율(w/w)을 첨가하여 시험사료를 제조하였다. 한방생약부산물은 감초, 당귀, 어성초, 천궁 등의 약용식물 혼합제로서 생약(액상)을 추출하고 남은 부산물을 건조·분말화하여 기초사료에 배합하였다.

시험사료는 옥수수, 대두박 위주로 배합하고, 화학적 조성으로 육계 전기사료는 조단백질 21.1%, lysine 1.38%, 대사

에너지 3.10 Mcal/kg, 조지방 4.65%, 조섬유 4.1%, 조회분 4.95로 구성되었으며, 후기사료는 조단백질 19.3%, lysine 1.10%, 대사에너지 3.20 Mcal/kg, 조지방 5.1%, 조섬유 3.8%, 조회분 4.85%가 함유되도록 배합하였다. 시험 사료는 매일 일정량 닭이 충분히 먹을 수 있도록 자유급이하고, 음수는 자동 니플기로 급여하였다. 사양관리에서 점등은 전 사양기간 24시간 중일 점등을 실시하고, 계사온도는 일령별로 32℃에서 22℃까지 동물사육장 온도관리 프로그램에 따라 조절하였다. 체중은 시험개시, 21일령 및 35일령에 각각 측정하였고, 21일령 및 35일령에 사료섭취량을 측정하여 사료요구율을 계산하였다.

2. 시험분석 방법

(1) 시험샘플 채취

사양시험 종료 후 각 처리구 당 평균체중에 가까운 6수 모두 24수에서 선별하여 경정맥을 절개하여 sodium heparin이 함유된 진공 시험관에 전혈을 채혈하여 혈구조성 및 백혈구 감별계수를 조사하였다. 혈액 생화학 성분 및 면역글로블린(IgG, IgA) 분석을 위한 혈장은 전혈을 3,000 rpm에서 20분간 원심 분리하여 획득한 후 -70℃에 냉동 보관한 후 분석에 이용하였다. 장기조직의 무게를 조사하기 위해 복강을 절개하고, 간, 비장 및 F-낭을 채취하여 무게를 측정하였다. 소화물내 대장균 및 유산균 총세균수(CFU, colony forming unit)을 조사하기 위하여 회장과 맹장이 만나는 부위를 절개하여 소화물을 채취하고 -70℃에 분석 시까지 냉동 보관하여 분석에 사용하였다.

(2) 미생물 총균수(CFU) 조사

장관 미생물 균총을 조사하기 위해 맹장의 소화물을 H₂O로서 10배씩 연속적으로 희석(ten-fold serial dilution method)하여 소화물 1 g에 함유된 대장균과 유산균 균총(CFU)을 조사하였다. 선택한 배지 및 배양조건으로서 *Escherichia coli*는 MacConkey agar(DIFCO, KS, USA)를 사용하여 호기성 incubator에서 37℃에서 24시간 배양한 후 형성되는 균집수를 계산하였다. *Lactobacilli*는 MRS agar(DIFCO, KS, USA)를 이용하여 역시 같은 저장조건하에서 48시간 배양한 후 CFU를 계산하여 log₁₀으로 전환하였다.

(3) 혈액 생화학적 성분, 적혈구 지수, 백혈구 수 및 감별계수 분석

혈중 glucose, triglyceride, cholesterol, AST(aspartate ami-

notransferase), total protein, albumin은 자동혈액분석기(Hitachi 747, Hitachi, Ltd., Tokyo, Japan)로서 분석하였다. 혈구백혈구 감별계수(differential count, %)는 자동 혈구분석기(Hemavet 500, Dasct. Drew Scientific Inc. FL USA)를 이용하여 실시하였다. 분석내용은 적혈구수(RBC), 적혈구용적(HCT), 혈색소(Hb), 평균 적혈구용적(MCH), 평균 적혈구색소농도(MCHC), 백혈구 수(WBC) 및 호중구(Neutrophil), 림프구(Lymphocyte), 단핵구(Monocyte), 호염기구(Eosinophil), 호산성구(Basophil) 등의 감별계수를 측정하였다.

(4) 혈액 면역글로블린 분석

혈중 면역글로블린(IgG) 분석은 Chicken IgG plate kit(ECOS Institute, Miyagi, Japan)를 이용하여 면역확산 분석법(immuno-diffusion assay)으로 실시하였다. 분석방법을 간단히 기술하면, 면역 plate에 표준용액 및 희석된 샘플을 각각의 well에 주입하여 37°C incubator에서 48시간 배양하였다. 배양 후 조명판에서 표준용액과 샘플에서 원형 외부 반경을 측정하여 semi-logarithmic paper의 Y축에 표준용액, 샘플 직경(mm)을 plot하여 농도를 계산하였다. 혈장 IgA는 면역항체분석 kits (Bethyl Laboratories, Montgomery, TX, USA)를 이용하여 분석하였다. 간단히 기술하면 96 well plate에 혈장을 넣고 1시간 저장 후 세척을 하고 IgA 검출 항체를 반응시켰다. 이어

서 세척 후 horseradish peroxidase 용액을 넣고 다시 세척 후 TMB 용액을 넣어 저장하였다. 그 후 stop 용액을 넣고 ELISA reader(V_{max} , Molecular Device, CA, USA)을 이용하여 450 nm에서 흡광도를 측정하였다.

3. 통계처리

한방생약제제 첨가급여에 따른 육계 생산성, 미생물 CFU, 혈액 생화학적 조성, 면역글로블린 및 백혈구 감별계수는 SAS program(SAS, 1996)을 이용하여 Tukey 방법에 의한 다중검정을 실시하였다.

결과 및 고찰

1. 사양 성적 및 장기무게

대조군(CON), 한방생약부산물 0.15%(HM1), 0.3%(HM2) 및 0.5%(HM3) 첨가군 등 모두 4개군에 배치하여 35일령까지 사양한 육계시험 결과는 Table 1과 같다. 대조군과 한방생약부산물 첨가군 간의 비교 시 먼저 육계 사육전기(3~21일령)에서는 체중, 증체 및 사료섭취량에서 차이가 없었으나, 한방생약부산물 0.15% 첨가군(HM1)이 대조군(CON)과 0.3% 첨가군(HM3)에 비해 사료요구율이 현저히($p<0.05$) 개선되었다. 사육후기(22~35일령) 및 전 기간(3~35일령)의 사

Table 1. Effects of by-products of herbal medicines on performance in broiler chicks

Item	Treatment*				
	CON	HM1	HM2	HM3	
Initial BW (g)	61.16±0.19	61.17±0.19	61.22±0.28	61.23±0.27	
3~21 days	BW (g)	705.47±9.76	722.81±8.84	712.50±7.70	719.53±4.48
	Gain (g)	644.31±9.79	661.65±8.78	651.28±7.48	658.30±4.54
	FI (g)	969.84±16.32	969.47±10.20	967.14±8.72	996.25±8.94
	FCR	1.51±0.01 ^a	1.47±0.01 ^b	1.48±0.01 ^{ab}	1.51±0.01 ^a
22~35 days	BW (g)	1,541.19±8.20	1,550.94±14.62	1,562.86±7.88	1,547.50±6.44
	Gain (g)	836.72±12.57	828.13±16.12	850.36±10.11	827.97±8.85
	FI (g)	1,465.42±27.15	1,459.67±26.05	1,489.37±4.82	1,492.82±1.00
	FCR	1.76±0.05	1.77±0.05	1.75±0.03	1.80±0.02
3~35 days	Total gain (g)	1,481.03±8.07	1,489.78±14.57	1,501.64±7.99	1,486.27±6.42
	Total FI (g)	2,435.27±42.33	2,429.14±31.43	2,456.51±10.84	2,489.07±9.56
	Total FCR	1.65±0.03	1.63±0.02	1.64±0.01	1.68±0.01

* Con (control, basal diet), HM1 (Herbal medicines 0.15%), HM2 (Herbal medicines 0.3%), and HM3 (Herbal medicines 0.5%).

^{a,b} Values (Mean±SE, n=8) with different superscripts differ significantly ($p<0.05$) among treatments.

양성적인 처리에 따른 차이가 없었다. 이러한 결과로 보면 사육초기에서 0.15~0.3% 수준의 한방생약부산물 급여는 무항생제 또는 고수준첨가(0.5%)에 비해 사료요구율이 개선되는 것으로 생각된다.

면역 장기인 간, 비장 및 F-낭의 무게를 조사한 결과(Table 2), 모든 처리군에서 비슷한 결과를 보여 한방생약부산물 처리가 면역장기의 무게에는 영향을 미치지 않았다.

최근 천연식물성 소재 및 부존자원을 이용한 항생제대체 사료첨가제 개발이 주목을 받고 있는바, 본 연구는 국내 한방생약부산물을 이용하여 육계의 생산성에 미치는 효과를 조사하여 사료첨가제로서 이용가능성에 대한 연구를 실시하였다. 본 시험에서 한방생약부산물 급여는 생산성에 미치는 영향은 미미한 것으로 보이나, 저수준의 한방생약부산물(0.15%) 첨가 시 사육전기에 사료요구율이 개선되는 것으로 나타나, 성장초기의 육계에서 사료이용성 개선 효과가 있었다. 선행연구 결과를 살펴보면 한방약재 추출물을 포함한 천연식물성 사료첨가제가 생산성에 미치는 효과는 다양하게 보고되고 있는바, 시험에 사용한 식물의 종류, 첨가 수준 및 사양 환경 등에 따라서 결과가 달라지는 것으로 보인다. Kim et al.(2007)은 한방발효물을 육계에게 0.15%를 급여한 결과, 대조군과 비교 시 체중에는 차이가 없었지만, 사료요구율이 개선되었다고 보고하였다. 산란계에게 생약제제를 0.5, 1.0 및 1.5% 급여시험에서도 생산성에는 차이가 없었지만, 저 수준의 생약제(0.5%) 급여군에서 사료요구율이 개선되는 것으로 보고하였다(Kim et al., 2015). Hong et al.(2001)은 한방 육계 사료에 생약제 급여 시 생산성에 차이가 없었다고 보고하였으나, Cho et al.(2009)은 감초와 용구가 혼합된 한방약제를 육계사료에 첨가하여 급여 시 증체량이 증가하였다고 보고하였다. 천연물질인 매실추출물 또는 생리활성오일(essential oils)을 육계에게 급여한 시험에서도 생산성, 사료이용성 및

Table 2. Effects of by-products of herbal medicines on immune-related organ weights in broiler chicks

Item	Treatment			
	CON	HM1	HM2	HM3
	g/100 g BW			
Liver (g)	2.06±0.06	2.04±0.11	2.06±0.11	1.98±0.12
Spleen (g)	0.14±0.01	0.15±0.01	0.15±0.01	0.15±0.01
Bursa of fabricius (g)	0.24±0.02	0.27±0.03	0.23±0.02	0.27±0.03

^{a,b} Values are represented Mean±SE (n=6).

간장 또는 비장과 F-낭 등의 장기 무게에도 영향을 미치지 않는 것으로 보고되었다(Jang et al., 2007, 2013).

2. 분변의 미생물 균총

한방생약부산물 급여에 따른 육계의 장관 내 대장균과 유산균총을 조사한 결과(Table 3), 모든 처리군에서 비슷한 대장균 및 유산균 총수를 나타내고 있어, 한방생약부산물이 장관 내 미생물의 균총에는 영향을 미치지 않았다.

이러한 결과는 9종의 생약혼합제제(Miracle20[®])를 육계에게 급여하였을 때 무항생제군과 비교 시 소장에서 유산균 및 대장균의 균총에는 유의적인 변화가 없었다고 보고하여 본 시험 결과와 유사하였다(Hong et al. 2001). 또한 Kim et al.(2007)도 한방발효물을 육계에게 0.15% 첨가사료를 급여한 결과, 맹장에 존재하는 대장균 등의 미생물 균총에는 변화도 없음을 보고하였다. 천연 식물로서 구연산이 다량 함유된 매실추출을 육계에게 급여 시에도 맹장 소화물에서 대장균 및 유산균 균총에는 차이가 없는 것으로 관찰되었다(Jang et al., 2013). 많은 *in vitro* 실험에서는 한방약제를 포함한 식물추출물의 항균작용이 검증되었지만(Ko et al., 2007; Shin et al., 2013; Hammer et al., 1999), 실제 *in vivo*에서는 사료첨가제에 함유된 소량의 활성물질이 다량의 소화액과 다른 사료성분과 혼합되어 희석되므로 항균효과가 미미한 것으로 판단된다.

3. 혈액 생화학 성분, 면역글로블린, 적혈구 지수 및 백혈구 감별계수

한방생약부산물 첨가사료 급여에 따른 육계의 혈액 생화학 성분을 조사한 결과(Table 4), AST와 glucose 수준은 대조군에 비해 HM1, HM2 및 HM3군에서 현저히($p<0.05$) 감소되었다. 혈중 콜레스테롤 및 중성지방 수준은 통계적 차이는 없었으나, 한방생약부산물 첨가군에서 이들의 지표가 개선되는 경향을 보였다. 따라서 본 한방생약 부산물 급여

Table 3. Effects of by-products of herbal medicines on microbial counts in the digesta of ileo-cecum of broiler chicks

Item	Treatment			
	CON	HM1	HM2	HM3
	CFU, log/g*			
<i>E. coli</i>	5.47±0.22	5.31±0.19	5.61±0.33	5.84±0.29
<i>Lactobacilli</i>	5.19±0.13	5.10±0.13	5.17±0.29	5.61±0.20

* CFU: Colony forming units (Mean±SE, n=6).

Table 4. Effects of by-products of herbal medicines on blood biochemical parameters in broiler chicks

Item	Treatment			
	Con	HM1	HM2	HM3
AST* (U/L)	263.67±18.30 ^a	230.67±5.62 ^b	210.42±6.07 ^b	217.17±6.20 ^b
Total protein (g/dL)	3.12±0.18	3.03±0.16	2.92±0.20	2.70±0.15
Albumin (g/dL)	1.12±0.04	1.02±0.02	1.02±0.03	1.00±0.05
Glucose (mg/dL)	242.50±11.38 ^a	227.50±9.38 ^{ab}	209.60±3.94 ^b	210.83±9.94 ^b
Cholesterol (mg/dL)	159.67±13.12	135.83±5.64	150.80±4.31	138.83±8.29
Triglyceride (mg/dL)	19.67±2.68	15.67±0.76	18.60±1.57	15.67±1.74

*AST: Aspartate aminotransferase.

^{a,b} Values(Mean±SE, n=6) with different superscripts differ significantly ($p<0.05$) among treatments.

시 혈중 AST 수준이 저하되는 것으로 보아 간 보호 기능이 기대된다. 또한 혈중 glucose 수준을 저하시켜 체내 포도당 대사과정에 긍정적인 효과가 나타났다. 그러나 후천성 면역 작용에 의해 생성되는 혈중 IgG 수준은 한방생약부산물 급여에 따른 영향이 없었고, IgA 농도 역시 차이가 없는 것으로 관찰되었다(Table 5).

육계 혈액의 적혈구 조성(Table 6) 및 백혈구 감별계수(상대적 %, differential counts)를 조사한 결과(Table 7)를 살펴 보면, 모든 처리군에서 이들 지표들은 정상 범위에 속하는 것으로 나타났다. 먼저 적혈구 지수에서 처리간 대부분의 적혈구 구성 성분은 차이가 없었지만, 평균적혈구용적(MCV)은 대조군에 비해 한방생약부산물 첨가군(HM1, HM2 및 HM3)이 유의적으로($p<0.05$) 증가되었다. 총 백혈구 수(WBC)는 대조군, HM1 및 HM2에서 모두 비슷한 수준을 보였으나, 고수준의 한방생약부산물 첨가군(HM3)에서 유의적($p<0.05$)으로

Table 5. Effects of by-products of herbal medicines on blood immunoglobulins in broiler chicks

Item	Treatment			
	CON	HM1	HM2	HM3
IgG (mg/mL)	6.78±0.84	7.81±1.24	8.43±0.69	6.65±0.10
IgA (µg/mL)	50.93±1.46	51.41±2.11	53.22±2.21	51.94±1.84

Values represent mean±SE (n=6).

낮았다. 스트레스 지표인 H: L 비율을 포함한 대부분의 백혈구 감별계수는 한방생약제 첨가에 따른 영향이 없는 것으로 나타났다(Table 7).

간 조직 손상 지표로 이용되는 혈액 AST 및 ALT 등과 같은 효소는 간 및 근육 조직에서 아미노산과 탄수화물의 대사 작용에 관여하는 것으로 특히 간 조직이 파괴되면 이들

Table 6. Effects of by-products of herbal medicines on red blood indices in broiler chicks

Item	Treatment			
	CON	HM1	HM2	HM3
RBC (M/µL)	3.26±0.29	3.55±0.30	3.77±0.28	3.22±0.11
Hb (g/dL)	11.62±1.19	12.87±1.07	13.62±0.96	11.30±0.39
HCT (%)	32.84±2.97	37.85±3.32	39.73±2.66	33.26±1.13
MCV (fL)	100.66±1.37 ^b	106.37±1.36 ^a	105.92±1.67 ^a	103.36±0.43 ^a
MCH (pg)	35.50±0.87	36.30±1.01	36.22±0.44	35.12±0.59
MCHC (g/dL)	35.30±0.89	34.13±0.78	34.25±0.50	34.00±0.49

Abbreviations: RBC (red blood cells), Hb (hemoglobin), HCT (hematocrit), MCV (mean corpuscular volume), MCH (mean corpuscular hemoglobin), and MCHC (mean corpuscular hemoglobin concentration).

^{a,b} Values (Mean±SE, n=6) with different superscripts differ significantly ($p<0.05$) among treatments.

Table 7. Effects of by-products of herbal medicines on the number and differential counts (%) of white blood cell in broiler chicks

Item	Treatment			
	CON	HM1	HM2	HM3
WBC (K/ μ L)	26.48 \pm 2.73 ^{ab}	28.73 \pm 1.52 ^a	25.35 \pm 1.03 ^{ab}	22.14 \pm 0.45 ^b
Heterophils (%)	34.79 \pm 0.71	34.90 \pm 0.49	35.42 \pm 0.22	35.04 \pm 0.40
Lymphocytes (%)	46.54 \pm 1.49	45.75 \pm 0.78	44.74 \pm 0.53	43.99 \pm 0.55
Monocytes (%)	9.54 \pm 0.41	10.00 \pm 0.31	9.42 \pm 0.25	9.08 \pm 0.36
Eosinophils (%)	6.25 \pm 0.68	6.46 \pm 0.41	7.04 \pm 0.15	7.37 \pm 0.20
Basophils (%)	2.80 \pm 0.45	2.89 \pm 0.33	3.38 \pm 0.13	3.58 \pm 0.18
H: L ratio*	0.76 \pm 0.03	0.76 \pm 0.02	0.79 \pm 0.02	0.80 \pm 0.02

^{ab} Values (Mean \pm SE, n=6) with different superscripts differ significantly ($p<0.05$) among treatments.

* H: L indicates the ratio of heterophils to lymphocytes.

효소가 혈액으로 유실되어 농도가 현저히 증가되므로 간 독성을 판단하는 지표가 된다(Giannini et al., 1999). 비타민 E와 같은 항산화제가 부족한 사료를 급여할 때, 간 조직의 지질과산화 작용에 따라 AST 활성도가 증가된다고 보고되고 있다(Reddy et al., 1987). 한약제로서 감초에서 추출한 성분(Di-ammonium glycyrrhizinate)을 마우스에게 급여하였을 때 혈액 ALT가 감소되어 간 기능개선 효과가 증명되었다(Feng et al. 2007). 한방약재료로 사용되는 황련, 정향, 황백, 계피, 어성초 등은 고수준의 폴리페놀과 플라보노이드가 함유되어 있어 항산화 능력이 높아(Shin et al., 2013) 사료첨가제로서 적정 수준으로 사용하면 간 기능을 개선시킬 수 있을 것으로 생각된다. 본 시험에서 나타난 결과 또한 한방생약부산물 급여는 간 손상지표인 AST 활성도를 감소시켜 간 기능을 증진시키고, 혈중 glucose 성분을 감소시켜 체내 대사작용을 촉진하는 것으로 사료된다.

가축사료첨가제 평가에서 면역증진 작용은 매우 중요한 지표이다. 면역 방어작용에 관여하는 면역계는 백혈구와 림프기관에서 비특이적 및 특이적 면역반응에 따라 병원균이나 스트레스 환경에 대응한다(Paul, 1998). 선천성 면역작용은 염증반응을 유발하는 호중구(neutrophil)와 단핵구(monocyte)에 의한 식작용에 의해 발생된다. 후천성 면역은 면역세포의 특이적 반응으로 B-세포에 의한 IgG 생성과 T-세포에 의해 생성되는 사이토카인(cytokine)으로 적응성 반응을 유발한다(Sharma, 1997). 가축에서 면역증강 사료첨가제는 직접 IgG를 증가시키는 경우와 대식세포, 사이토카인과 같은 항원 비특이적 세포매개성 면역반응을 유도하는 물질 등 다양하게 작용하는 것으로 보고되고 있다(Gallois et al., 2009).

즉, 면역증강제는 가축에서 식균작용, 라이소자임 활성화, 활성산소 증대, 사이토카인 분비 활성화 등과 같은 다양한 작용으로 면역반응을 활성화한다(Gallois et al., 2009). 이러한 사료첨가제로서는 β -glucan, 효모 추출물, 다당체, 생균제, 약용식물추출물 등이 알려져 있다(Huyghebaert et al., 2011). 본 시험 결과, 한방부산물 급여는 평균적혈구 용적(MCV)을 개선하는 것 이외 선천적 면역작용에 관여하는 백혈구(호중구, 단핵구) 및 후천성 면역작용에 의해 생성되는 immunoglobulin 수준에 영향을 미치지 않았다. 본 연구와 유사하게 Kim et al.(2015)도 한방생약제제를 육계에게 급여하였을 때 호중구, 단핵구, IgG 수준에는 영향을 미치지 않는 것으로 보고하였다. 또한 지황 등 9종의 생약혼합제제(Miracle20[®])를 육계에게 급여하였을 때 혈액 IgG 수준에는 차이가 없는 것으로 보고하였다(Hong et al., 2001). 그러나 가축에서 다양한 식물추출물과 천연식물성 사료첨가제에서 체액성 및 세포성 면역작용 등의 면역조절 효과가 보고되고 있다(Gallois et al., 2009; Jang et al., 2013; Lee et al., 2013). Rezaei et al.(2015)은 팜박추출 올리고다당체를 육계에게 급여한 결과 혈중 IgM에는 차이가 없었으나, IgA 수준은 현저히 증가되었다고 보고하였다. Feng et al.(2009) 연구에 의하면 감초의 생리활성물질을 마우스에 투여하였을 때 IL-6 및 IL-10과 같은 사이토카인 생성이 촉진되어 세포성 면역증강 작용이 발생된다고 보고하였다. 이러한 연구들로서 판단해 보면 한약재를 포함한 천연식물성 사료첨가제가 면역작용에 미치는 효과는 시험에 사용된 식물의 종류, 첨가 수준, 특정 면역활성물질 농도 등에 따라 많은 차이를 보이는 것으로 사료된다.

결론적으로 육계에서 0.15~0.3% 수준의 한방생약부산물

급여는 육계전기에 사료효율을 개선하고, 간 조직 보호작용이 있는 것으로 나타났다. 또한 혈액 내 평균적 혈구용적(MCV) 및 총백혈구 수에서도 저 수준의 한방생약부산물 급여 시 긍정적 효과를 보여 농가의 사육환경 조건에서 육계 사료에 첨가할 경우, 생산성 향상으로 이어질 수 있다. 식물성 약용소재가 가축의 생산성 및 면역에 미치는 작용은 식물의 종류, 생리활성물질의 수준, 투여량 및 시기, 스트레스 정도, 사육환경 등에 따라 반응이 다양하므로, 효과적인 생리활성 물질의 개발을 위해서는 지속적인 연구가 요구된다.

적 요

본 연구는 한방생약부산물을 이용한 육계의 사료첨가제를 개발하기 위해 대조군(CON), HM1(한방생약부산물 0.15%), HM2(한방생약부산물 0.3%) 및 HM3(한방생약부산물 0.5%) 등 4개군에 육계 96수를 완전임의 배치하여 생산성, 장내 미생물 균총, 혈액 생화학적 지표, 면역글로블린 및 백혈구 성상의 변화에 대하여 조사하였다. 한방생약부산물 0.15% 첨가군(HM1)에서 대조군에 비해 육계전기(3~21일령) 사료요구율이 유의적($p<0.05$)으로 개선되었으나, 전 기간에서는 차이가 없었다. 장내 소화물의 *E. coli* 및 *Lactobacili* 총균수에서도 한방생약부산물 급여는 영향을 미치지 않았다. 혈액 생화학적 지표에서는 한방생약부산물 급여 시 AST 및 glucose 수준을 유의하게($p<0.05$) 감소시켰다. 면역글로블린(IgG 및 IgA)과 백혈구 감별계수에서는 처리에 따른 차이는 없었다. 결론적으로 육계에서 0.15~0.3% 수준의 한방생약부산물 첨가는 육계전기에 사료이용성 및 간 조직의 기능을 개선하는 효과가 있는 것으로 사료된다.

ACKNOWLEDGEMENTS

This work was supported by Gyeongnam National University of Science and Technology Grant 2015. The author also thanks to the technical support of the Regional Animal Research Center (RAIC) at GNTECH and Dr Y.H. Ko.

REFERENCES

Cho SK, Kim HI, Lee MK, Lee JJ, Kwak YC, Lee SC, Lee Y 2009 Effect of dietary supplementation of *Glycyrrhizauralensis* Fisch and *Solanum nigrum* L. mixture for alternate the antibiotics on productivity and blood composition in

broiler chickens. Kor J Poult Sci 36:215-222.

Cox CM, Summers LH, Kim S, McElroy AP, Bedford MR, Dalloul RA 2010 Immune responses to dietary β -glucan in broiler chicks during an *Eimeria challenge*. Poult Sci 89: 2597-2607.

Feng C, Wang H, Yao C, Zhang A, Tian Z 2007 Diammonium glycyrrhizinate, a component of traditional Chinese medicine Gan-Cao, prevents murine T-cell-mediated fulminant hepatitis in IL10 and IL6 dependent manners. Int Immunopharmacol 7:1292 - 1298.

Gallois M, Rothkötter HJ, Bailey M, Stokes CR, Oswald IP 2009 Natural alternatives to in-feed antibiotics in pig production: Can immunomodulators play a role? Animal 3:1644-1661.

Giannini E, Botta F, Fasoli A, Ceppa P, Risso D, Lantieri PB, Celle G, Testa R 1999 Progressive liver functional impairment is associated with an increase in AST/ALT ratio. Dig Dis Sci 44:1249-1253.

Hammer KA, Carson CF, Riley TV 1999 Antimicrobial activity of essential oils and other plant extracts. J Appl Microbiol 86:985-990.

Hong SJ, Namkung H, Paik IK 2001 Effects of herbal products on the performance, nutrient digestibility, small intestinal microflora and immune response in broiler chickens. J Anim Sci and Tech 43:671-680.

Huyghebaert G, Ducatelle R, Van Immerseel F 2011 An update on alternatives to antimicrobial growth promoters for broilers. Vet J 187:182-188.

Ilsley SE, Millers HM, Kamel C 2005 Effects of dietary quillaja saponin and curcumin on the performance and immune status of weaned piglets. J Anim Sci 83:82-88.

Jang IS, Kang SY, Ko YH 2013 Influence of plum(*Prunus mume* Siebold and Zucc.) products on growth performance, intestinal function and immunity in broiler chicks. J Poult Sci 50:28-36.

Jang IS, Ko YH, Kang SY, Lee CY 2007 Effect of a commercial essential oil on growth performance, digestive enzyme activity and intestinal microflora population in broiler chickens. Anim Feed Sci and Tech 134:304-315.

Kang P, Xiao HL, Hou YQ, Ding BY, Liu YL, Zhu HL, Hu QZ, Hu Y, Yin YL 2010 Effects of *Astragalus* Polysaccharides, *Achyranthes bidentata* polysaccharides and *Acanthbe-*

- panax senticosus* saponin on the performance and immunity in weaned pigs. Asian-Aust J Anim Sci 23:750-756.
- Kim CH, Kang HK, Hwangbo J, Kim JH 2015 Dietary effects of herbal mixture on the laying performance, blood parameters and immune response in laying hens. Kor J Poult Sci 42:61-67.
- Kim CH, Paik IK 2008 Effect of supplementary herbs and plant extracts on the performance of laying hens. Kor J Poult Sci 35:71-78.
- Kim DW, Kim SH, Yu DJ, Kim JH, Kang GH, Jang BG, Na JC, Suh OS, Jang IS, Lee KH 2007 Effects of single or mixed supplements of plants extract, fermented medicinal plants and *Lactobacillus* on growth performance in broilers. Kor J Poult Sci 34:187-196.
- Ko YH, Yang HY, Kang SY, Kim ES, Jang IS 2007 Effects of a blend of *Prunus mume* extract as an alternative to antibiotics on growth performance, activity of digestive enzymes and microflora population in broiler chickens. J Anim Sci & Tech 49:611-620.
- Lee CY, Lim J, Ko Y, Kang S, Park M, Ko T, Lee J, Hyun Y, Jeong K, Jang IS 2011 Intestinal growth and development of weanling pigs in response to dietary supplementation of antibiotics, phytogetic products and brewer's yeast plus *Bacillus* spores. J Anim Sci and Tech 53:227-235.
- Lee IS, Ha YD 1994 Effect of edible and medicinal plants on the activation of immune cells. J Kor Soc Food Nutr 23:150-155.
- Lee MH, Lee HJ, Ryu PD 2001 Public health risks: Chemical and antibiotic residues: Review. Asian-Aust J Anim Sci 14:402-413.
- Lee SH, Lillehoj HS, Jang SI, Lillehoj EP, Min W, Bravo DM 2013 Dietary supplementation of young broiler chickens with *Capsicum* and turmeric oleoresins increases resistance to necrotic enteritis. Br J Nutr 110:840-847.
- Olas B, Wachowicz B, Stochmal A, Oleszek W 2003 Inhibition of oxidative stress in blood platelets by different phenolics from *Yucca schidigera* Roezl. Bark Nutr 19: 633-640.
- Paul WE(ed). 1998. Fundamental Immunology, 4th. New York, Raven Press.
- Reddy PG, Morill JL, Minocha HC, Stevenson JS 1987 Vitamin E requirements of dairy calves. J Dairy Sci 70:993-999.
- Rezaei S, Faseleh Jahromi M, Liang JB, Zulkifli I, Farjam AS, Laudadio V, Tufarelli V 2015 Effect of oligosaccharides extract from palm kernel expeller on growth performance, gut microbiota and immune response in broiler chickens. Poult Sci 94:2414-2020.
- SAS 1996 User's Guide: Statistics Version 6.12 Edition. SAS inst, Inc., Cary., NC.
- Sharma JM 1997 The structure and function of the avian immune system. Review. Acta Vet Hung 45:229-238.
- Shin D, Kim KW, Jin MJ, Ryu KS 2013 Assessment of antimicrobial and antioxidant effects of ripened medicinal herb extracts to select an optimal dietary natural antibiotics for chickens. Kor J Poult Sci 40:25-29.
- Timbermont L, Lanckriet A, Gholamiandehkordi AR, Pasmans F, Martel A, Haesebrouck F, Ducatelle R, Van Immerseel F 2009 Origin of *Clostridium perfringens* isolates determines the ability to induce necrotic enteritis in broilers. Comp Immunol Microbiol Infect Dis 32:503-512.
- Vaya J, Belinky PA, Aviram M 1997 Antioxidant constituents from licorice roots: Isolation, structure elucidation and antioxidative capacity toward LDL oxidation. Free Rad Biol Med 23:302-313.
- Wenk C 2000 Recent advances in animal feed additives such as metabolic modifiers, antimicrobial agents, probiotics, enzymes and highly available minerals. Review. Asian-Aust J Anim Sci 13:86-95.

Received Nov. 10, 2015, Revised Nov. 23, 2015, Accepted Dec. 2, 2015