

꾸지뽕 열매의 급여가 산란계의 생산능력, 혈액 성분, 면역글로불린에 미치는 영향

임천익 · 최홍환 · 최승민 · 이동길 · 강민수 · 이봄미 · 김형주 · 신민경 · 이아라 · 류경선[†]

전북대학교 동물자원학과

Effects of *Cudrania tricuspidata* Fruit on the Performance, Blood Metabolites and IgG in Laying Hens

Chun Ik Lim, Hong Hwan Choi, Seung Min Choi, Dong Gil Lee, Min Su Kang, Bom Mi Lee, Hyeong Ju Kim, Min Kyeong Shin, A Ra Lee and Kyeong Seon Ryu[†]

Department of Animal Science, Chonbuk National University, Jeonju 54896, Korea

ABSTRACT This research was carried out to determine the effect of *Cudrania tricuspidata* fruit (CTF) on the performance of laying hens, egg quality, yolk fatty acid composition, Immunoglobulin G (IgG) and blood composition. A total 288 Brown Nick laying hens of 48 weeks old replaced into 4 groups with 4 replicates of 18 birds in each. Treatments were added with 0, 0.25, 0.5, 1.0% CTF containing dried seed and pulp. Metabolizable energy (ME) and crude protein (CP) were 2,800 kcal/kg and 16.0% in basal diets, respectively. Egg production and daily eggmass were significantly increased in 1.0% CTF addition treatment compared to those of other treatments ($P<0.05$). Egg weight and feed intake were not different among treatments. Feed conversion ratio showed the lower result in 1.0% CTF treatment than other treatments ($P<0.05$). Eggshell color was not influenced by the addition of CTF. Albumin height, Haugh unit and eggshell breaking strength was not statistically different, but seemed to be higher as dietary CTF addition increased. Yolk color was increased as dietary CTF increased and was the highest in 1.0% CTF group ($P<0.05$). Fatty acids were not shown the consistency in yolk. Blood cholesterol and triglyceride (TG) of birds fed CTF were significantly low compared to those of control. IgG was also statistically higher in CTF treatments than control ($P<0.05$). As the results of this experiment, the addition of 1% CTF would be the most effective on performance and egg quality, whereas the 0.25% CTF addition in basal diets seemed to be optimum to improve the blood cholesterol, TG, high density lipoprotein cholesterol (HDL-CHOL), IgG in laying hens.

(Key words : *Cudrania tricuspidata* fruit, egg quality, laying hens, performance, yolk fatty acid)

서 론

국내에서 꾸지뽕나무, 굽가시나무, 활뽕나무로 불려지는 뽕나무과에 속하는 낙엽교목으로 5~6월에 꽃이 피고, 열매 길이는 5 mm이다. 열매들이 모여 덩어리를 이뤄 2~3 cm의 둥근 모양을 이루고, 9월에 무르익어 10월에 수확을 한다. 꾸지뽕나무(*Cudrania tricuspidata*)는 단일종으로 주로 남부지방에 자생 분포하며, 한약재로서 가치에 대한 관심이 점차 증가하고 있다(Lee et al., 2000). 꾸지뽕은 동의보감에서 자양, 강장효능과 신체허약증, 불면증, 타박상, 간과 신장보호 뿐만 아니라, 항암효과와 장 대사활동에 우수하다고 기술되어 있으며, 또한 최근에 꾸지뽕 나무의 잎, 줄기, 뿌리 등은

항염증 작용 및 항균작용, 고지혈증 억제 작용(Chang et al., 1994)을 하고, 지질대사와 산화조절에 효과가 있다고 하였다(Ottersen et al., 1977; Kim et al., 1993). 또한 꾸지뽕나무 열매 내 당단백질은 쥐에서 간 독성과 염증반응을 억제한다고 하였으며, 면역능력을 개선(Joo and Lim, 2009)한다고 하였다. 이러한 기능들은 많은 연구자들의 이목을 끌었고, 점차 많은 연구에 이용이 되었다(Choi et al., 2013; Kim et al., 2013). 그러나 앞선 연구들은 꾸지뽕나무의 잎과 꾸지뽕 열매의 추출물을 이용하였고, *in vivo* 실험에서 주로 설치류를 대상으로 그 효과를 검증하였다. 그러므로 국외와 국내에서 가금류에게 꾸지뽕의 급여가 미치는 효과에 대한 연구는 거의 전무하다. 따라서 본 연구는 산란계에서 꾸지뽕 열매를

[†] To whom correspondence should be addressed : seon1288@gmail.com

건조하여 사료에 수준별 첨가 급여가 산란계의 생산능력, 계란 품질, 난황 지방산 조성 및 혈액성상, 면역성에 미치는 영향을 구명하고자 수행하였다.

재료 및 방법

1. 시험 동물 및 사양관리

48주령 Brown Nick 산란계 288수를 4개 처리구, 처리구 당 4반복, 반복 당 18수씩 개체별 케이지에 배치하여 8주간 사양시험을 실시하였다. 과육과 씨앗이 포함된 꾸지뽕 열매 (*Cudrania tricuspidata* Fruit; CTF)는 60°C 건조기(VS-1202-D4N, Vision, Korea)에서 48시간 건조 후 기초사료에 0, 0.25, 0.5, 1.0% 수준으로 첨가하였다.

기초 사료는 옥수수, 대두박 위주의 가루사료 형태로 NRC (1994) 요구량을 충족하도록 대사 에너지와 조단백질 수준은 2,800 kcal/kg, 16% 수준으로 하여 무제한으로 급여하였으며, 물은 자동 급수기에서 자유음수하도록 하였고, 점등은 16시간으로 고정하였다.

2. 조사항목

1) 생산성 및 계란품질

산란 수, 난중은 매일 16시에 팬 별로 측정하여 산란율을 계산하였으며, 사료요구율은 산란율과 사료섭취량을 이용하여 구하였다.

품질 검사는 처리구 당 30개의 계란을 임의로 선별하였고, Park et al.(2012)의 실험방법을 참고하여 난각강도는 난각강도계(QC-SPA, TSS, UK)를 이용하였고, 난각색도, 난백고, 호우유닛, 난황색도는 계란품질측정기(QCM+, TSS, UK)를 사용하여 측정하였다.

2) 난황 내 지방산

처리구별로 5개의 계란을 임의로 선별하여 Lepage and Roy(1986)의 방법에 준하여 난황시료를 test/screw-cap tube 에 0.5 g 채취 후 methanol : benzen(4:1) 용액을 첨가하여 vortex mixer에 5초 동안 혼합하였다. 그리고 acetyl chloride 200 μ L를 첨가 후 heating block에서 100°C로 1시간 반응시키고, 6% potassium carbonate과 hexane을 각각 2 mL를 첨가하였다. 원심분리(3,000 rpm, 4°C, 15분)를 하여 지방산을 함유한 hexane층을 gas chromatography(GC) 전용 vial 1 mL에 담아 -20°C에 보관하여 전처리를 하였다.

Hassan et al.(2012)의 방법을 참고하여 100 m \times 0.25 mm \times 0.2 μ m의 Column을 사용하였고 He을 시험기체로 하였으며, split ratio는 10:1로 하여 GC-MSD(6890N-5973, Agilent, US)를 이용하여 flame ionization detector(FID) 방법으로 분석하였다.

3) 혈액 분석

혈액은 사양 시험 종료 후 처리구 당 10수씩(총40수)을 선별하여 3 mL/cc의 일회용 주사기를 사용하여 익하 정맥에서 혈액을 채취하였고, 채혈 즉시 ethylenediaminetetraacetic-acid(EDTA)를 포함한 Vacutainer에 담아 혈액응고를 방지한 후 원심분리기(3000 rpm, 4°C, 10분)를 사용하여 혈청을 분리하였다.

총 콜레스테롤양은 혈청을 샘플컵(0.5 mL)에 담아 세그먼트에 배열 후 전자동 생화학 분석 장비(Automatic Biochemical Analyser, Thermo Scientific, Konelab 20, Finland)를 사용하여 확인하였다.

IgG는 혈청을 Mancini(1965)에 의해 개발된 single immunodiffusion test 법에 준하여 ELISA reader(Bio-Rad, #model-680, Hercules, California)에서 흡광도 450 nm로 측정하였다. Standard reference 값은 Chicken IgG(ELISA Chicken IgG Core Kit, Koma Biotech. Co., Ltd. Korea)를 1,000, 200, 100, 50, 25, 12.5, 6.25, 3.12 ng/mL로 희석하여 작성하였다.

3. 통계분석

수집된 모든 데이터들은 SAS (Statistical Analysis System, 9.2 Version, Cary, NC, 2002)의 General linear model을 이용하여 수행하였고, 처리구간 값을 Duncan(Duncan, 1955)의 다중 검정을 이용하여, 5% 수준의 유의성으로 통계적 차이를 구명하였다.

결과 및 고찰

1. 생산성 및 계란품질

이전의 연구에서 꾸지뽕 열매를 닭에 급여한 결과는 없지만, Cha et al.(2001), Kang et al.(2002)은 설치류에 수용성 꾸지뽕 추출물을 각각 2주, 4주간 급여한 결과, 체중에 영향을 미치지 않았다고 하였다. 즉, CTF는 가금류에서 육계보다는 산란계의 첨가제로 더 적합할 것으로 사료되는데, Table 1은 CTF의 수준별 급여에 따른 생산성 결과이다. 산란율은 사료 내 CTF 첨가수준 1.0%의 처리구에서 다른 처리구보다

Table 1. Effect of feeding *Cudrania tricuspidata* fruit (%) on performance of laying hens

Traits	0	0.25	0.50	1.0
Egg production (%)	90.730±0.87 ^b	91.250±0.58 ^b	91.720±0.53 ^b	93.790±0.50 ^a
Egg weight (g)	69.110±0.71	69.640±0.51	69.270±0.66	69.800±0.49
Daily egg mass	62.700±0.51 ^b	63.540±0.38 ^b	63.530±0.66 ^b	65.460±0.32 ^a
Feed intake (g)	134.930±1.55	134.490±1.30	133.320±2.10	133.540±1.82
Feed conversion	2.156±0.01 ^a	2.126±0.02 ^a	2.098±0.02 ^{ab}	2.040±0.02 ^b

^{a,b} Value with the same letters in the row are not significantly different at 5% level.

높았다($P<0.05$). Kim et al.(2006)의 약용 식물 가공 부산물을 산란계에 급여한 연구결과와 유사하게도, 난중은 사료 내 CTF 함량 차이에 따라서 처리구 간에 차이가 없었다. 사료 섭취량은 대조구와 처리구간 통계적인 차이가 없었으며, 사료요구율은 CTF 1.0% 처리구에서 가장 우수하였고, 대조구와 CTF 0.25% 처리구에 비하여 개선되었다($P<0.05$).

Table 2는 계란의 품질, 내외부 구성물질의 측정의 차이에 대해 나타내었다. 난각색은 꾸지뽕 급여수준에 따라서 처리구간 차이가 없었다. 뽕잎분말을 첨가 급여한 처리구에서 난백고, 호유닛, 난각강도는 사료내 CTF 급여수준이 높을수록 증가하는 경향을 나타내었지만, 변이로 인하여 처리구 간에 통계적인 차이가 없었는데, 이러한 결과는 Park and Kim (2012)의 보고, 유사하였다. 한편, 난황색도는 사료에서 CTF 수준이 증가함에 따라서 대조구보다 증가하였으며, 1.0% 처리구에서 제일 높게 나타났었다($P<0.05$). 이러한 원인은 열매에 함유된 색소 때문인 것으로 사료되고, 뽕나무과 수종이며 산딸기류(berry)에 속하는 mulberry를 급여시에 열매에 다량 함유된 색소에 기인하며, 난황색도는 첨가구에서 그 값이 높았다는 결과가 있다(Lokaewmanee et al., 2009). 난각강도는 CTF 함량이 높은 처리구에서 그 값이 높은 결과를 보였다.

산란율, 사료효율, 난백고 및 난각강도를 토대로 CTF의

사료 내 첨가는 산란계의 생산성과 계란품질을 개선시키는데 도움을 줄 수 있을 것으로 판단된다.

2. 난황 내 지방산 조성

사료에 CTF 함량에 따른 난황 내 지방산 조성은 Table 3에 나타내었다. 부분적으로 포화지방산은 CTF 수준이 증가함에 따라서 대조구보다 높게 나타났지만, 처리구 간에 통계적인 차이는 없었다. 본 시험의 결과는 국내에서 Lee et al. (2007)이 잣 부산물을 급여했을 때의 연구결과처럼 단가불포화지방산은 포화지방산과 동일한 경향을 보였지만, 이외의 불포화지방산은 포화지방산 함량과 반대의 경향을 보였으며, 불포화지방산/포화지방산 비율도 급여수준이 낮을수록 약간 감소하는 경향이 있었다. n3/n6는 CTF 첨가수준에 따라서 낮아졌지만, n6/n3는 반대의 경향을 보였다. 결과적으로 CTF 함량이 난황 내 지방산에 영향을 준 것으로 판단되지만, 그것의 통계적 차이가 부분적이기 때문에 더 많은 연구가 필요할 것으로 사료된다.

3. 혈액의 성상

Table 4는 산란계의 혈액 성상에 대해 분석한 결과이다. HDL 콜레스테롤은 동물의 강건성을 나타내는 지표로 일관

Table 2. Effect of feeding *Cudrania tricuspidata* fruit (%) on egg quality

Traits	0	0.25	0.50	1.0
Egg shell color	27.36±0.70	27.23±0.76	25.83±0.86	26.63±0.67
Albumin height (mm)	6.89±0.27	7.50±0.25	7.66±0.24	7.78±0.17
Haugh unit	80.67±2.46	83.41±2.53	84.01±1.44	85.15±1.22
Yolk color	6.50±0.11 ^d	7.53±0.11 ^c	8.20±0.13 ^b	9.40±0.16 ^a
Egg shell breaking strength (kg/cm)	4.55±0.16	4.57±0.19	4.64±0.24	4.71±0.17

^{a~d} Value with the same letters in the row are not significantly different at 5% level.

Table 3. Effect of feeding *Cudrania tricuspidata* fruit (%) on yolk fatty acid composition

Fatty acids (%)	0	0.25	0.50	1.0
C ₁₄ :0	0.36±0.01	0.33±0.01	0.35±0.02	0.35±0.01
C ₁₆ :0	23.79±0.05	23.85±0.45	24.33±0.30	24.32±0.19
C ₁₆ :1n7	3.86±0.07	3.71±0.15	4.05±0.19	3.82±0.13
C ₁₈ :0	8.15±0.32	8.39±0.25	7.91±0.24	8.44±0.24
C ₁₈ :1n9	45.86±0.12	46.58±0.57	46.72±0.45	47.02±0.61
C ₁₈ :2n6	14.47±0.41	13.69±0.84	13.43±0.39	13.01±0.56
C ₁₈ :3n3	0.43±0.02 ^a	0.34±0.01 ^b	0.41±0.0 ^a	0.34±0.02 ^b
C ₂₀ :1n9	0.25±0.25	0.28±0.01	0.23±0.01	0.29±0.03
C ₂₀ :4n6	2.22±0.08	2.20±0.08	2.12±0.08	2.05±0.04
C ₂₂ :6n3	0.56±0.04	0.57±0.09	0.40±0.04	0.40±0.05
SFA ¹⁾	32.32±0.33	32.59±0.54	32.60±0.27	33.10±0.19
UFA ²⁾	67.67±0.33	67.40±0.54	67.39±0.27	66.89±0.19
MUFA ³⁾	49.98±0.08	50.58±0.59	51.01±0.54	51.10±0.55
PUFA ⁴⁾	17.69±0.36	16.81±0.69	16.37±0.46	15.79±0.60
UFA/SFA	2.09±0.03	2.07±0.05	2.06±0.02	2.02±0.01
-n3	0.99±0.05	0.91±0.09	0.82±0.05	0.74±0.03
-n6	16.69±0.34	15.90±0.76	15.55±0.47	15.06±0.59
n3/n6	0.05±0.01	0.05±0.01	0.05±0.01	0.04±0.01
n6/n3	16.98±1.00	18.41±2.49	19.39±1.58	20.44±1.08

¹⁾ Saturated fatty acid.

²⁾ Unsaturated fatty acid.

³⁾ Monounsaturated fatty acid.

⁴⁾ Polyunsaturated fatty acid.

^{a,b} Value with a row with no common superscripts differ significantly at $P<0.05$.

Table 4. Effect of feeding *Cudrania tricuspidata* fruit (%) on blood composition in laying hens

Traits (mg/dL)	0	0.25	0.50	1.00
Total cholesterol	97.6±1.36 ^a	79.0±4.25 ^b	78.6±3.61 ^b	61.6±3.54 ^c
Triglycerides	99.9±2.20 ^a	67.0±4.27 ^b	67.2±5.46 ^b	64.1±3.75 ^b
HDL-cholesterol	26.2±0.58	31.6±3.50	27.2±3.48	23.6±1.21

^{a~c} Value with the same letters in the row are not significantly different at 5% level.

성은 없었지만, CTF 0.25% 급여구에서 높게 나타났으며, 0.5% 급여구 또한, 대조구보다 높게 나타났다. 위 결과에서 CTF가 n3와 n6에 영향을 주었고, n3와 n6의 상대적인 양이 HDL 콜레스테롤에 영향을 준다는 결과(Nam and Park, 1991)와 총 콜레스테롤과 HDL 콜레스테롤의 비율을 비교해 봤을

때, CTF는 HDL 콜레스테롤에 영향을 준다고 사료되고, 산란계를 강건하게 하는데 도움을 줄 것으로 판단된다. 이는 Park et al.(2010)이 육계를 대상으로 한 뽕잎 추출물을 사료에 첨가한 결과와 유사하게 나타났지만, 1% 급여구에서 이러한 선행 연구결과와 다르게 나타났으므로, 미래에 이에 대한

연구가 더욱 필요하다고 사료된다.

혈액에서 총 콜레스테롤 함량은 CTF 첨가 수준에 따라 대조구에 비하여 현저하게 낮았으며($P<0.05$), 중성지방 또한 CTF 처리구에서 대조구보다 낮게 나타났다($P<0.05$). Kim et al.(1998), Oh et al.(1999)는 꾸지뽕으로 인하여 혈중 지질농도가 감소되었다고 보고하였고, 이러한 결과로 꾸지뽕은 산란계의 혈중 중성지방, 총 콜레스테롤을 낮출 수 있는 것으로 판단된다.

IgG(immuno-globulin G)는 닭의 B-cell에서 생성되는 면역물질 중 농도가 가장 높고, 생체 내 면역 활동(Kim et al., 2009)에 중요한 역할을 한다. Fig. 1은 산란계 사료에 CTF의 첨가 급여가 혈중 IgG에 미치는 영향을 나타내었다. CTF 처리구에서 IgG는 대조구에 비하여 높게 나타났다($P<0.05$), 이러한 결과는 Kim et al.(2015)의 육계를 대상으로 뽕나무 추출물인 Resveratrol을 급여한 실험결과와 유사하게 나타났고, 각 처리구간 유의성을 고려하였을 때 CTF 0.25% 수준으로도 IgG는 충분할 것으로 사료된다.

요 약

이 연구는 꾸지뽕 열매(*Cudrania tricuspidata* fruit; CTF)의 산란계에 급여가 생산 능력, 계란의 품질, 지방산, 혈중 콜레스테롤, 면역글로불린에 미치는 영향을 구명하고자 시행하였다. 48주령 산란계 다크브라운 288수를 4개 처리구 4반복 반복 당 18수씩 개체별 케이지에 배치하였으며, 처리구는 건조된 꾸지뽕 열매를 0, 0.25, 0.50, 1.00% 첨가하여 급여하였다. 기초사료의 ME와 CP는 2,800 kcal/kg, 16.0% 수준으로 하였으며, 산란율, 1일 산란량은 CTF 1% 급여구에서 다른 처리구에 비하여 현저하게 증가하였으며($P<0.05$),

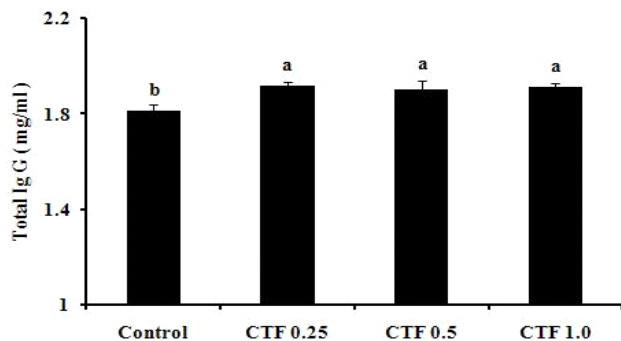


Fig. 1. Effect of feeding *Cudrania tricuspidata* fruit (%) on total IgG content in laying hens. ^{a,b} Value with the same letters in the row are not significantly different at 5% level.

사료섭취량은 처리구 간에 차이가 없었지만, 사료요구율은 CTF 1.0% 급여구에서 다른 처리구보다 현저하게 개선되어 통계적으로 차이를 보였다($P<0.05$). 알부민의 높이, 호유닛과 난각강도는 CTF 첨가로 인하여 개선되는 경향을 보였지만, 통계적인 차이는 없었다. 난황색도는 CTF 첨가 수준이 증가함에 따라 증가하였다($P<0.05$). 난황의 지방산은 일관성은 없었지만, n6/n3 비율이 CTF 처리구에서 대조구에 비하여 높게 나타났다. 혈중 콜레스테롤과 TG는 CTF 급여구에서 대조구보다 매우 낮았으며($P<0.05$), 면역글로불린은 CTF 처리구에서 대조구보다 높게 나타났다($P<0.05$). 이 실험 결과 산란계 사료에 CTF 1% 첨가는 생산능력과 계란 품질을 개선하였지만, 혈중 콜레스테롤, TG, IgG는 CTF 0.25% 수준으로 충분하였다.

(색인어 : 꾸지뽕, 생산능력, 계란품질, 난황지방산, 산란계)

REFERENCES

- Cha JY, Kim DJ, Cho YS 2001 Effect of stem bark extract from *Cudrania tricuspidata* on the concentrations of lipid and lipid peroxidation in rats fed a cholesterol diet. Korean Journal of Life Science 11(4):328-334.
- Chang CH, Lin CC, Hattori M, Namba T 1994 Effects of anti-lipid peroxidation of *Cudrania cochinchinensis* var. *gerontogea*. J Ethnopharmacol 44:179-185.
- Choi HJ, Kim CT, Do MY, Rang MJ 2013 Physiological activities of *Cudrania tricuspidata* extracts. Journal of the Korea Academia-Industrial cooperation Society 14(8):3907-3915.
- Duncan DB 1955 Multiple range and multiple F tests. Biometrics 11:1-42.
- Hassan MR, Sultana S, Choe HS, Ryu KS 2012 Effect of different housing system on the performance, bone mineral density and yolk fatty acid composition in laying hen. Korean J Poult Sci 39(4):261-267.
- Joo HY, Lim KT 2009 Protective effect of glycoprotein isolated from *Cudrania tricuspidata* on liver in CCl₄-treated A/J mice. Korea J Food Sci Technol 41(1):93-99.
- Kang DG, Hur TY, Lee GM, Oh HC, Kwon TO, Sohn EJ, Lee HS 2002 Effects of *Cudrania tricuspidata* water extract on blood pressure and renal functions in NO-dependent hypertension. Life Sci 70:2599-2609.
- Kim CH, Shin KS, Woo KC, Paik IK 2009 Effect of dietary

- oligosaccharides on the performance, intestinal microflora and serum immunoglobulin contents in laying hens. *Korean J Poult Sci* 36(2):125-131.
- Kim DW, Hong EC, Ji SY, Lee WS, Bang HT, Kang HK, Kim HS, Kim SH 2015 Effects of dietary resveratrol on growth performance, blood biochemical parameter, immunoglobulin, and blood antioxidant activity in broiler chicks. *Korean J Poult Sci* 42(2):147-156.
- Kim JH, Na JC, Kim SH, Jang BG, Kang HS, Lee DS, Lee SJ, Jwa SH 2006 Effect of dietary medicinal plant by-products on egg production and egg quality in laying hens. *Korean J Poult Sci* 33(2):121-126.
- Kim OK, Ho JN, Nam DE, Jun WJ, Lee JM 2013 Anti-wrinkle activity of a *Cudrania tricuspidata* extract on ultraviolet-induced photoaging. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 42(4):608-614.
- Kim SH, Kim NJ, Choi JS, Park JC 1993 Determination of flavonoid by HPLC and biological activities from the leaves of *Cudrania tricuspidata* Bureau. *J Korean Soc Food Nutr* 22(1):68-72.
- Kim SY, Lee WC, Kim HB, Kim AJ, Kim SK 1998 Anti-hyperlipidemic effects of methanol extracts from mulberry leaves in cholesterol induced hyperlipidemia in rats. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 27:1217-1222.
- Lee JH, Kim KS, Shin SO, Cho JH, Chen YJ, Kim IH 2007 Effects of dietary pine cone meal on egg production, egg quality, serum cholesterol and cholesterol content and fatty acid composition of egg yolk in laying hens. *Korea J Poult Sci* 34(3):223-229.
- Lee JM, Lee SH, Kim HM 2000 Use of oriental herbs as medicinal food. *Food Industry and Nutrition* 5(1):50-56.
- Lepage G, Roy CC 1986 Direct transesterification of all classes of lipids in a one-step reaction. *J Lipid Res* 27(1):114-120.
- Lokaewmanee K, Mompanuon S, Khumpeerawat P, Yamauchi KE 2009 Effect of dietary mulberry leaves(*Morus alba* L.) on egg yolk color. *Japan Poultry Science* 46:112-115.
- Mancini G, Carnonara AO, Heremans JF 1965 Immunochemical quantitation of antigens by single radial immunodiffusion. *Immunochemistry* 2:235-254.
- Nam JH, Park HS 1991 Plasma lipid-lowering effect of n6 and n3 polyunsaturated fatty acids in rats fed high carbohydrate diet. *Korean J Nutrition* 24(5):420-430.
- NRC 1994 Nutrient Requirement of Poultry. National Academy Press. Washington DC USA.
- Oh UJ, Kim GP, Cho YW, Chung SH, Gu SJ 1999 Effect of beverage containing extract from mulberry leaves on serum glucose and lipid levels in db/db mouse. Annual Meeting of Korean Soc Food Sci Technol, Seoul, Korea p 430.
- Otlersen T, Vance B, Doorenbos NJ, Chang BL, El-Feraly FS 1977 The crystal structure of cudranone, 2,6,3'-trihydroxy-4-methoxy-2'-(3-methoxy-2-butemyl)-I, a new antimicrobial agent from *Cudrania chochinensis*. *Acta Chem Scand B* 31:434-436.
- Park SB, Lee KJ, Lee WH, Ryu KS 2012 Effect of feeding *Thymus vulgaris* powder on the productivity, egg quality and egg yolk fatty acid composition in laying hens. *Korean J Poult Sci* 39(2):157-161.
- Park CI, Kim YJ 2012 Effects of dietary supplementation of powdered mulberry leaves on egg production, egg quality and blood characteristics in laying hens. *Korean J Poult Sci* 39(3):215-222.
- 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.
- SAS 2002 SAS/STAT Software for PC. SAS Institute, Cary, NC, USA.

Received Jan. 11, 2016, Revised Feb. 2, 2016, Accepted Feb. 20, 2016