

복령(*Poria cocos*) 균사체 배양쌀의 식이가 산란율과 계란내 비타민에 미치는 영향

권오준 · 최웅규¹ · 김대곤² · 손동화^{*3}

구미1대학 호텔조리영양전공, ¹아시아대학교 한방식품영양학과,

²대구산업정보대학 식품영양과, ^{*3}대구산업정보대학 조리계열

서 론

복령은 소나무 뿌리에서 기생하는 갈색부후균으로서 분류학상 담자균아문(擔子菌亞門) 균심균강 민주름버섯목 구멍장이버섯과 복령속에 속하는 버섯류의 일종으로 이뇨작용, 진정작용, 심신수축 강화작용 등 각종 효능이 잘 알려져 있다⁽¹⁾. 복령에 관한 연구로는 Chihara 등⁽²⁾이 복령균사체에서 항암 효과가 있는 pachymaran과 carboxymethyl pachymaran 등을 분리하였으며, Takao 등⁽³⁾은 항암물질인 U-pachymaran을 검출하였다. Kanayama 등⁽⁴⁾는 mouse 종양 sarcoma 180에 대하여 강한 항종양 활성을 나타내는 물질 (1,3)-(1,6)- β -D-glucan에 대해 보고하였고, Nukaya 등⁽⁵⁾은 복령 중의 triterpene 성분이 항구토, 항염증, 항피부암 등의 효과를 가진 것으로 보고한 바 있다. 미생물 균체는 산란계의 기호성을 자극하고⁽⁶⁾, 장내 미생물 균형을 개선시키고⁽⁷⁾ 또한, 비타민을 합성하고⁽⁸⁾ 면역 체계를 자극하여⁽⁹⁾ 산란계의 생산성을 극대화 시키는 역할을 한다. 미생물 균체는 다량의 단백질로 구성되어 있어 미생물 균체 자체도 단세포단백질(single cell protein)의 사료가 될 수 있으며 아울러 영양물질이 될 수도 있을 것으로 추측된다⁽¹⁰⁾. 본 연구자는 복령으로부터 미생물 균체를 분리 배양하여 기능성 식품첨가물로써 이용하기 위한 기초자료를 얻고자 복령 균사를 배양한 쌀을 산란계 사료에 첨가하여 산란율과 계란내 비타민에 미치는 영향에 대해 알아보았다.

재료 및 방법

실험 동물 및 사양 관리

60주령의 Hy-Line 계통의 Brown 산란계 200수를 2단 철제 cage에 cage당 2수씩 배치하여 물과 사료는 자유 채식시켰으며, 사육관리는 온도 $22\pm2^{\circ}\text{C}$, 상대 습도 $65\pm5\%$, 환기 횟수 15회/hr, 조도 15~22 Lux이었으며 점등은 18시간으로 고정시켜 실시하였다.

실험 사료

- ① 일반사료(90%)+일반쌀(10%): 일반사료를 파쇄한 다음 파쇄한 일반쌀을 10% 섞은 다음 일반사료의 수분함량과 동일하게 되도록 조제시켰다.

② 일반사료(90%)+균사체 쌀(10%): 일반사료를 파쇄한 다음 파쇄한 복령(*Poria cocos*) 균사체 쌀을 10% 섞은 다음 일반사료의 수분함량과 동일하게 되도록 건조시켰다. 복령(*Poria cocos*) 균사체 쌀의 제조는 Kim 등⁽¹¹⁾의 방법을 참고하여 쌀에 1.3배의 증류수를 가해 20분간 수침한 후 121°C에서 20분간 멸균하고 상온으로 식힌 후 한국종균협회에서 분양 받은 *Poria cocos* KCTC 6294을 전배양하여 0.1%(v/w) 접종하여 25°C에서 7일간 배양시켜 만들었다.

체중측정

시험에 사용된 모든 동물에 대하여 급여 개시 전과 급여 후 매일 체중을 측정하였다.

생산성 조사

산란율은 산란수와 사육수를 나눈 값(Hen day egg production)으로 표시하였고, 평균 난중은 기형란을 제외하고 계산하였다.

비타민 A, D 및 E 함량 분석

계란의 비타민 A, D 및 E 함량 분석은 다음과 같은 방법으로 실시하였다. 먼저 난중액을 균질화(5,000 rpm, 1 min)시킨 다음 정확히 10 g을 250 mL 환류용 플라스크에 취해 40 mL의 ethanol과 50% potassium hydroxide 용액 10 mL, 항산화제인 hydroquinone 100 mg, 그리고 2 mL의 sodium sulphide 용액(sodium sulphide 12 g을 증류수에 녹여 100 mL로 만든 것)을 함께 넣고 환류장에서 90°C 조건하에 25분간 견화시켰다. 견화가 끝난 후 약 40°C로 냉각시킨 후 500 mL 분액 여두(separation funnel)로 옮겼다. 이때 약 50 mL의 증류수로 환류용 플라스크에 남아있는 견화 용액을 씻어내고 견화된 용액이 들어 있는 500 mL 분액 여두에 120 mL의 diethyl ether를 넣고 수평교반기(Horizontal Shaker)에서 180 rpm으로 20분간 추출하였다. 1차 추출이 끝난 후 두 번째 분액 여두로 견화 용액을 옮겨 2차 추출을 실시한 다음 추출이 끝난 후 1차와 2차 추출된 ether를 합쳐서 <50 mL 10% NaCl 용액 → 50 mL 증류수 → 50 mL 10% ethanol 용액 → 50 mL 증류수>로서 순차적으로 ether 용액을 세척하였다. 그 다음 ether총을 250 mL 정량 플라스크에 옮기고 산화방지제 BHT 100 mg을 넣은 다음 다시 ether로 표시선 까지 정확히 맞추어 250 mL ether 용액 중 50 mL을 정확히 취하여 질소가스하에서 진공 증발시킨 다음 5 mL의 methanol에 녹여 필터(Acrodise LC13 PVDF, Gelman Sci. USA)를 이용하여 여과한 후 HPLC에 주입하였다. Peak의 확인 및 HPLC 분석 작업은 T_R (머무름 시간, retention time)의 비교 및 chromatography, 특정 용매에서의 spectrum 관찰 등의 방법으로 peak를 확인하였으며, HPLC의 표준화 작업으로 반복측정 정확도 시험⁽¹²⁾, 회수율 시험⁽¹³⁾을 실시하였다. Chromatographic 이동상은 acetonitrile(AcCN), dichloromethane(DCM), methanol(MeOH)을 70 : 20 : 10의 비율로 혼합하여 사용⁽¹⁴⁾하였으며, 모든 시약 및 시료는 0.45 μm membrane filter를 통과시킨 후 column에 주입하여 측정하였다⁽¹⁵⁾.

결과 및 고찰

체중변화

사료의 차이에 따른 산란계의 몸무게는 다소 일반쌀이 첨가된 사료를 급여 받은 산란계에 비해 복령(*Poria cocos*) 균사체 쌀을 급여 받은 산란계가 다소 증가율이 있으나 시험 전기간동안 큰 차이를 보이지 않은 것으로 확인되었다.

산란율

일반사료를 급여 받은 산란계의 산란율은 사육 0일차에서 72.9%(0%)이었으며 사육 10일차, 사육 15일차 및 사육 20일차에서는 각각 73.8%(1.2%), 74.1%(1.6%) 및 74.1%(1.6%)로 나타나 사육기간이 지남으로써 다소 증가하였다. 복령(*Poria cocos*) 균사체 쌀을 첨가된 사료를 급여 받은 산란계의 산란율은 사육 0일차에서는 72.6%(0%)이었으나 이후 사육기간이 지남으로써 급격한 증가를 나타내어 사육 10일차와 사육 15일차에서 83.3%(14.7%)로, 사육 20일차에서는 80.0%(10.2%)로 나타내었다.

비타민 A 함량 변화

일반 사료를 급여 받은 산란계의 경우, 사육 0일차에서는 778.89 μg 이 검출되었고 사육 10일차, 사육 15일차 및 사육 20일차에서는 각각 802.17 μg , 811.24 μg 및 822.97 μg 으로 다소 증가하는 경황을 보였다. 복령(*Poria cocos*) 균사체 쌀이 첨가된 사료를 급여 받은 산란계의 경우, 사육 0일차에서는 776.97 μg 이 검출되었으나 사육 10일차에서는 323.92 μg 으로 급격한 감소가 나타났다. 이후 사육기간이 경과함에 따라 급격히 증가하여 사육 15일차에서 2045.89 μg 으로, 사육 20일차에서는 2045.89 μg 이 검출되었다. 복령(*Poria cocos*) 균사체 쌀이 첨가된 사료를 급여 받은 산란계에서 초기 비타민 A의 함량이 급격히 줄어드는 현상은 사료의 변화에서 오는 스트레스로 인해 나타나는 현상이라 사료되며 이후 급격한 증가를 나타내었다.

비타민 D 함량 변화

일반사료를 급여 받은 산란계의 경우, 사육 0일차에서는 77.51 μg 이 검출되었고 사육 10일차, 사육 15일차 및 사육 20일차에서는 각각 77.52 μg , 77.52 μg 및 77.60 μg 으로 유의적인 차이가 나타나지 않았다. 복령(*Poria cocos*) 균사체 쌀이 첨가된 사료를 급여 받은 산란계의 경우, 사육 0일차에서 77.50 μg 이 검출되었고 사육 10일차에서는 77.50 μg 이 검출되었다. 이후 사육기간이 경과함에 따라 증가하여 사육 15일차에서 96.37 μg 이, 사육 20일차에서는 93.17 μg 으로 검출되었다. 최근에 사육형태가 야외에서 거의 실내로 바꾸고 있어 계란내 비타민 D가 더욱 중요시되고 있다.

비타민 E 함량 변화

산란계 사육 기간에 따른 난중의 비타민 E 함량 변화를 분석한 결과는 Table 5와 같다. 일반사료를 급여 받은 산란계의 경우, 사육 0일차에서는 3.49 mg이 검출되었고 사육 10일차, 사육 15일차 및 사육

20일차에서는 각각 3.51 mg, 3.50 mg 및 3.51 mg으로 별다른 유의적인 차이가 나타나지 않았다. 복령(*Poria cocos*) 균사체 쌀이 첨가된 사료를 급여 받은 산란계의 경우, 사육 0일차에서 3.50 mg이 검출되었고 사육 10일차에서는 다소 감소하여 2.59 mg이 검출되었다. 이후 사육기간이 경과함에 따라 급격히 증가하여 사육 15일차에서 4.58 mg이, 사육 20일차에서는 5.26 mg으로 검출되었다. 복령(*Poria cocos*) 균사체 쌀이 첨가된 사료를 급여 받은 산란계에서 초기 비타민 E의 함량이 다소 줄어드는 현상은 사료의 변화에서 오는 스트레스로 인해 나타나는 현상이라 사료되며 이후 급격한 증가를 나타내었다.

요 약

기능성 식품으로서 활용 가치가 높은 복령의 균사체를 이용하여 산란계에 미치는 영향에 대해 알아보았다. 사육기간 중 대조구에 비하여 복령 균사체를 혼합한 사료의 섭취가 산란계의 체중을 다소 증가시켰으나 큰 차이는 없었으나 산란율에 있어서는 14%의 월등한 증가율을 보였다. 난중의 비타민 A, D와 E의 함량 분석 결과, 사육 기간 10일차까지는 비타민 A와 E의 함량은 대조구에 비해 감소하였으나 이후 120% 정도의 큰 증가율을 보였다. 비타민 D는 대조구에 비해 20%정도 더 많이 검출되었다.

참고문헌

1. Kwon M. S. et al. (1998) *Korean J. Food Sci.*, **27**, 1034-1040.
2. Chihara G. et al. (1971) *Nature*, **233**, 486-490.
3. Takao N. et al. (1980) *Carbohydrate Research*, **87**, 161-164.
4. Kanayama H. et al. (1983) *Chem., Pharm., Bull.*, **31**, 115-1119.
5. Nukaya H. et al. (1996) *Chem., Pharm., Bull.*, **44**, 847-850.
6. Nahashon, S. N. et al. (1993) *Poult. Sci.*, pp. 72-87.
7. Filmer, D. G. (1974) *Animal Nutrition Event.*, pp. 31-49.
8. Coates, M. E., and Fuller, R. (1977) Academic Press. London. pp. 311-346.
9. Conway, P. L., and Kjelleberg, S. (1989) *J. Gen. Microbiol.*, **135**, 1175-1185.
10. Caswell, L. E. (1990) *Feed Management*, April. **41**, 9-13.
11. Kim D. G. et al. (2002) *Korean J. Food Sci.*, **31**, 1097-1101.
12. Bieri, J. G. et al. (1979) *Am. J. Clin. Nutr.*, **32**, 2143-2149.
13. Deruyter, M. M. et al. (1976) *Clin. Chem.*, **22**, 1593-1595.
14. Nelis, H. J. et al. (1983) *Anal. Chem.*, **55**, 270-275.
15. Kim, Y. et al. (1976) *AOAC*, pp. 145-151.