

뽕나무 (*Morus alba*) 사일리지의 기능성 성분 및 항산화 활성 분석에 관한 연구

전병태 · 김영규* · 이상무** · 박재현 · 성시흥 · 박표잠 · 김성진 · 문상호

A Study on the Analysis of Functional Components and Antioxidative Activity in Mulberry (*Morus alba*) Silage

Byong Tae Jeon, Yeong Kyu Kim*, Sang Moo Lee**, Jae Hyun Park, Si Heung Sung,
Pyo Jam Park, Sung Jin Kim and Sang Ho Moon

ABSTRACT

This study was conducted to determine application possibility of mulberry (*Morus alba*) silage as a functional feed in feeding management of Korean native cattle for high quality beef production by analysing active components and antioxidative activity. The chemical analysis of mulberry silage indicates that the content of dry matter, crude protein, ether extract, crude fiber and crude ash was $28.41 \pm 3.12\%$, $12.43 \pm 0.28\%$, $2.47 \pm 0.18\%$, $20.29 \pm 0.75\%$ and $6.98 \pm 0.12\%$, respectively. The content of 1-deoxynojirimycin (1-DNJ), which is representative active ingredient of mulberry and blood sugar descending component, was 0.568 mg/g and the content of γ -Aminobutyric acid (GABA), which is blood pressure descending component, was 5,936.22 pmol. Mulberry silage used in this study did not contain flavonoids but did contain total phenols for 21.69 μ g/mg. 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging activity was increased with increasing the concentration of mulberry silage extracts and there was above 50% of scavenging activity at the concentration of 0.25 mg/ml. Hydroxyl radical scavenging activity was also increased with increasing the concentration of silage extracts. Alkyl radical scavenging activity was high at the low concentration of silage extracts, which was above 50% of scavenging activity at the concentration of 0.125 mg/ml. The result of this study indicated that there was high possibility of mulberry silage as a functional feed for beef cattle.

(Key words : Active component, Antioxidative activity, Functional feed, Mulberry silage)

I. 서 론

세계적으로 그 국가의 경제수준의 향상은 필연적으로 축산물의 소비를 증가시켰고 이러한 축산물 소비 증가는 곧 삶의 질 향상과 직결되

는 지표로서 인식되기 시작했다(Taylor and Field, 2001). 우리나라에서도 경제수준의 향상과 더불어 육류와 같은 축산물 중심의 음식섭취가 확대되어 이제는 오히려 각종 성인병 및 비만 등과 같은 건강에 대한 인식이 갈수록 깊

건국대학교 녹용연구센터 (Korea Nokyoung Research Center, Konkuk University, 322 Danwol, Chungju, 380-701, Korea)

* (주) 하나사료 (Hana Feed, Ltd., Moseo 890, Kyongju, Kyongpook, 742-711, Korea)

** 경북대학교 (Kyongpook National University, Sangju, 742-711, Korea)

Corresponding author : Sang Ho Moon, Department of Animal Science, College of Natural Sciences, Konkuk University, Chungju, 380-701, Korea, Tel: +82-43-840-3527, Fax: +82-43-851-8216, E-mail: moon0204@kku.ac.kr

어져 음식에 대한 개념도 양적 소비 보다는 품질 (quality)과 안전성 (safety), 다양성 (variety) 및 기능성 (functionality)이 더 강조되는 소비문화로 바뀌어 가고 있다(한, 1999).

최근 들어 초지분야에서도 기능성 목초류 및 사료작물을 이용한 안전한 축산물 및 기능성 축산물 생산을 위한 움직임이 일부이긴 하지만 활발히 진행되고 있다(田村, 2001). 특히 그 사용에 대한 규제가 더욱 강화되어 가는 항생제 및 성장촉진제 등을 대체하기 위한 수단으로 천연물 유래 기능성 사료자원을 활용한 가축사양에 대한 관심이 높아지고 있어 허브(herb)를 비롯한 천연소재가 주목받고 있다.

뽕나무(*Morus alba*)는 과거 우리나라의 양잠업이 활성화 되었던 시기에 전국적으로 91,000 ha에서 재배되던 것이 양잠업 쇠퇴와 더불어 2006년 현재는 749 ha로 재배면적이 크게 저하되었다(농림통계연보, 2007). 최근에는 양잠용이 아닌 오디 수확을 위한 뽕나무 재배가 다시 늘어나고 있는 추세이나 과거 양잠용으로 재배되던 뽕나무는 현재 그 활용성이 크게 떨어져 활용방안을 높일 수 있는 대안의 제시가 필요한 상황이다. 뽕나무에는 단백질이 풍부하고 비타민, 미네랄은 물론이고(Katai, 1942) 혈당강화성분인 1-deoxynojirimycin (DNJ)(김 등, 1999), 혈압강화성분 γ -aminobutyric acid (GABA)(방 등, 1998) 그리고 항산화성분인 flavonoid 화합물(Kim 등, 1999) 등의 생리활성 성분이 함유되어 있는 것으로 알려져 기능성 식품으로 이용되고 있는 예도 적지 않았다.

高田과 藤倉(2001)는 천연소재인 허브를 이용한 기능성 축산물 생산에 관한 연구를 통해 사료로 채식된 일부 허브류에 함유된 활성성분이 우유 및 고기로 이행되고 있음을 확인한 바 이들 천연물 유래 사료자원의 활용에 의한 기능성 축산물 생산 가능성을 시사하고 있었다. 뽕나무의 유효성분 및 그 기능성을 살려 기능성 축산물을 생산하기 위한 시도는 현재까지 전혀 이루어지지 않고 있기 때문에 본 연구에

서는 뽕나무 사일리지의 기능성 성분분석 및 항산화 기능을 분석하여 뽕나무의 기능성 사료화 가능성을 제시하고자 한다.

II. 재료 및 방법

본 실험에 이용된 뽕나무는 경주 인근지역에서 양잠용으로 재배되던 것을 2008년 6월말에 수확하여 사일리지 제조에 활용하였다. 예취된 뽕나무는 파쇄기로 엽경을 함께 파쇄하여 드럼통에 비닐을 넣고 진압 및 밀봉하여 저장하여 사일리지를 제조하였으며 저장 후 약 40일 경과된 시점에서 개봉하여 일부의 시료를 채취, 65°C의 dry oven에서 48시간 건조 후 건조물함량을 측정하고 이를 분쇄하여 사료가치 및 활성 성분 그리고 뽕나무 사일리지의 항산화 활성을 측정하기 위한 시료로 하였다.

뽕나무 사일리지의 일반성분은 AOAC법(1990)에 기초하여 분석하였다. 유효성분에 대한 분석은 각각 다음과 같은 방법으로 분석을 실시했다. 1-deoxynojirimycin (1-DNJ)는 Steady와 Richards(1996)의 방법을 기본으로 하여 분석하였는데 먼저 1-DNJ 표준품을 용매에 녹여 표준원액으로 하였으며 뽕나무 사일리지 시료를 역시 용매로 추출하여 시험원액으로 하였다. 표준원액 및 시험원액 각각을 정밀하게 취하여 9-fluorenylmethylchloroformate 시약을 가해 유도체화 시키고 여과한 액을 표준용액 및 시험용액으로 하여 형광검출기를 갖춘 고속액체크로마토그래프를 이용, 각각의 피크면적을 구해 1-DNJ의 함량(%)을 구하였다. γ -aminobutyric acid (GABA)의 분석은 기초과학지원연구원에 의뢰하여 실시하였으며 그 방법은 다음과 같다. 뽕나무 사일리지 시료 중 일부를 취하여 PICO-tag 방법을 이용, 가수분해 및 phenylisothiocyanate (PITC) 라벨링을 하였으며 이 중 일부를 취해 HPLC에 loading 하여 나타난 크로마토그램 상의 면적을 구하여 정량하였다.

뽕나무 사일리지 추출물의 페놀성 물질 함량

은 Amerine과 Ough의 방법(1980)에 의해 비색 정량하였다. 즉, 추출물 1 ml, EtOH 1 ml, 3차 증류수 5 ml의 혼합용액에 Folin-ciocalteu 시약 5 μ l을 가하여 혼합하고 5분 후 5% Na₂CO₃ 1 ml를 넣어 1시간 암실에서 방치한 후 725 nm에서 흡광도를 측정하여 페놀함량을 계산하였다.

뽕나무 사일리지에 대한 기능성 평가를 위한 항산화 활성은 전자스핀공명(ESR) 분광기를 이용한 라디칼 소거능(消去能) 측정 실험을 통해 실시하였으며 각각의 활성 산소 소거능 측정 방법은 다음과 같다.

1. 하이드록실 라디칼(Hydroxyl radical) 소거능 측정

농도별 시료 0.2 ml에 0.3 M의 DMPO (5,5-dimethyl-1-pyrroline n-oxide) 0.2 ml, 10 mM의 FeSO₄ 0.2 ml 및 10 mM의 H₂O₂ 0.2 ml를 차례로 첨가한 후, 10초간 강하게 교반한 다음, 반응 혼합물을 캐피러리 튜브로 옮겨 ESR 분광기에서 하이드록실 라디칼 발생량을 측정하였다.

[ESR 측정 조건 - central field: 3475G, modulation frequency: 100 kHz, modulation amplitude: 2G, microwave power: 1 mW, gain : 6.3×10⁵, temperature: 298K]

2. 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) 라디칼 소거능 측정

메탄올에 용해시킨 60 μ M DPPH 60 μ l 와 농도별로 준비한 시료 60 μ l 를 섞은 후 10초간 강하게 교반한 후 2분간 실온에 방치한 후 캐피러리 튜브에 옮겨 ESR 분광기에서 측정하였다.

[ESR 측정 조건 - central field: 3475 G, modulation frequency: 100 kHz, modulation amplitude: 2 G, microwave power: 5 mW, gain:

6.3×10⁵, temperature: 298 K]

3. 알킬 라디칼(Alkyl radical) 소거능 측정

10 μ l 의 phosphate buffered saline, 10 μ l 의 농도별 시료, 10 μ l 의 40 mM 2,2'-azobis (2-amidinopropane) dehydrochloride, 10 μ l 의 40 mM α -(4-pyridyl-1-oxide)-N-tert-butylnitron을 차례로 더한 후, 10초간 강하게 교반 하였다. 이 혼합물을 37℃ 워터베스에서 30분간 반응시킨 후, 캐피러리 튜브로 옮겨 ESR 분광기로 알킬 라디칼 발생량을 측정하였다.

[ESR 측정 조건 - central field: 3475 G, modulation frequency: 100 kHz, modulation amplitude: 2 G, microwave power: 10 mW, gain: 6.3×10⁵, temperature: 298 K]

III. 결과 및 고찰

Table 1은 뽕나무 사일리지의 사료가치를 알아보기 위해 실시한 일반성분 분석결과이다. 사일리지 제조 후 40일후에 개봉하여 시료를 채취 분석한 결과, 건물함량은 28.41 ± 3.12%였으며 조단백질 함량 12.43 ± 0.28%, 조지방 함량 2.47 ± 0.18%, 조섬유 함량 20.29 ± 0.75% 및 조회분 함량 6.98 ± 0.12%였다. 국내에서 사료가치와 수량 그리고 기호성이 높아 가장 널리 재배되고 있는 옥수수의 국산 및 외국 도입 품종으로 제조된 사일리지에 비해(이 등, 2004)

Table 1. Chemical composition of mulberry silage

| Items | Mulberry silage* % in DM |
|---------------|---|
| Dry matter | 28.41 ± 3.12 |
| Crude protein | 12.43 ± 0.28 |
| Ether extract | 2.47 ± 0.18 |
| Crude fiber | 20.29 ± 0.75 |
| Crude ash | 6.98 ± 0.12 |

* Mean ± SE (n=3).

뽕나무 사일리지는 건물함량이 다소 낮았으나 조단백질 함량은 매우 높아 일반 클로버류에 버금가는(김 등, 2007) 함량을 나타냈다. 최근 양잠업 쇠퇴로 인해 활용도가 떨어지거나 방치되고 있는 뽕나무의 기능성 식품화가 시도되고 있는데 가축사료화로서의 시도도 그 부가가치를 높일 수 있는 대안이 될 수 있을 것으로 여겨지며 이와 같이 높은 사료가치를 갖고 있기 때문에 현실적으로 충분한 가치가 인정된다 할 수 있을 것이다.

Table 2는 뽕나무 사일리지에 함유된 활성성분의 분석 결과이다. 뽕잎에 함유된 대표적 활성성분으로 혈당강화성분인 1-deoxynojirimycin (1-DNJ)의 함량을 Stead와 Richards(1996)의 방법을 참고하여 뽕나무 사일리지에 대해서 분석한 결과 0.568 mg/g의 함량이 검량되었다. 이는 채 등(2003)에서 뽕나무 종류별 뽕잎의 1-DNJ 분석 결과에 비해 다소 낮은 수치인데 채 등(2003)의 실험에서는 뽕잎에 대해서만 분석을 실시한 경우이고 본 연구에서는 뽕잎뿐만 아니라 줄기까지를 포함한 뽕나무 지상부 전체를 사일리지로 만들어 분석을 한 결과이기 때문에 차이가 발생한 것으로 판단된다. 1-DNJ는 뽕잎뿐만 아니라 뽕나무 뿌리(Asano 등, 2000) 및 줄기(Asano 등, 1994) 등에서도 검출되고 있기 때문에 뽕나무 지상부 전체를 사료화 하여 활용하는데 있어도 본 실험의 결과와 같이 어느 정도의 1-DNJ 성분의 검출을 기대할 수 있을 것으로 여겨진다.

Table 2. Active ingredient of the mulberry silage

| ingredient | Content* | Unit |
|---------------------|----------------|-------|
| 1-DNJ ¹⁾ | 0.568±0.02 | mg/g |
| GABA ²⁾ | 5,936.22±12.32 | pmol |
| Total phenol | 21.695±0.78 | µg/mg |

¹⁾ 1-deoxynojirimycine.

²⁾ γ-aminobutyric acid.

* Mean ± SE (n=3).

또한 γ-Aminobutyric acid (GABA)의 함량은 5,936.22 pmol의 농도가 검출되었는데 이 역시 채 등(2003)의 연구결과에 비해 낮은 수치였다. GABA의 경우도 뽕나무 지상부 전체를 대상으로 사일리지 제조한 것이기 때문에 뽕잎만을 대상으로 하여 분석한 채 등(2003)의 결과와 차이가 있었던 것으로 판단된다.

Flavonoid는 본 연구에서 검출이 되지 않았으며 총 phenol이 21.69 µg/mg 정도 함유된 것으로 분석되었다. 뽕나무 잎에는 품종에 따라 약간씩 차이는 있으나 flavonoid와 phenol 성분이 함유되어 있는 것으로 보고(채 등, 2003)되고 있는데 본 연구에서는 phenol 성분은 검출되었으나 flavonoid 성분은 분석되지 않았다. Flavonoid는 poly-phenol 화합물의 일종이기 때문에 phenol 성분에 일정량 함유(채 등, 2003)되어 있을 것으로 추정되고 있으며 본 연구의 경우 뽕나무 지상부 전체를 대상으로 한 분석이었기 때문에 매우 소량이 함유된 경우 일부 성분이 불검출되는 경우가 있었을 것으로 판단된다.

그러나 본 연구에서 사용된 뽕나무 사일리지에서도 뽕잎에 함유된 각종 유효성분들이 함유되어 있는 것으로 분석되어 기능성 사료로서 충분한 가능성이 있는 것으로 평가된다.

Fig. 1, Fig. 2 및 Fig. 3은 본 실험에 사용한 뽕나무 사일리지의 항산화 기능을 평가하기 위해 각기 DPPH 라디칼, Hydroxyl 라디칼 및 Alkyl 라디칼 소거활성 기능을 평가한 것이다. DPPH 라디칼 소거활성은 뽕나무 사일리지 추출물의 농도가 높아질수록 비례해서 활성효과가 크게 나타나고 있었으며 0.25 mg/ml의 농도에서 50% 이상의 활성효과가 인정되었고, Hydroxyl 라디칼 소거 활성 역시 0.5-2.0 mg/ml로 농도가 높아질수록 활성 효과가 커지는 것을 알 수 있었으며 2.0 mg/ml의 농도에서는 50% 이상의 활성효과를 나타냈다. Alkyl 라디칼 소거 활성은 보다 낮은 농도에서 높은 활성효과를 나타내었는데 0.125 mg/ml의 농도에서

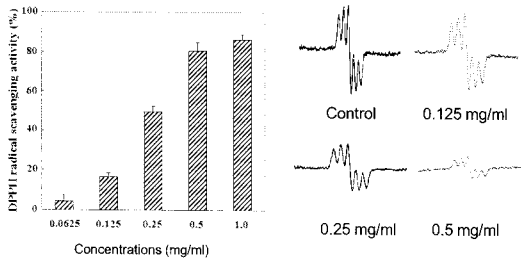


Fig. 1. 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging activity of mulberry silage.

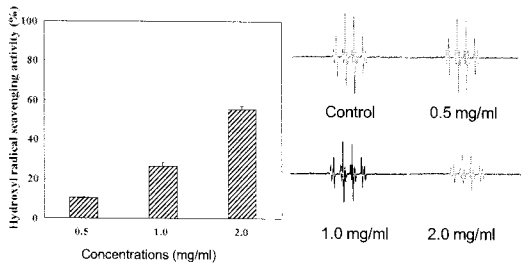


Fig. 2. Hydroxyl radical scavenging activity of mulberry silage.

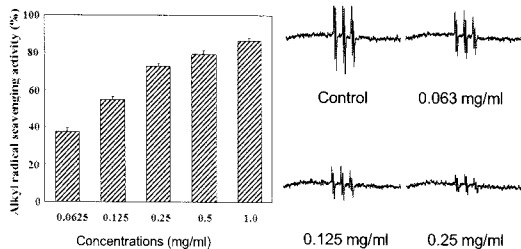


Fig. 3. Alkyl radical scavenging activity of mulberry silage.

50% 이상의 활성효과를 나타내고 있어 이 역시 높은 항산화 효과가 있음을 알 수 있었다.

일반적으로, 활성산소는 세포구성 성분들인 지질, 단백질, 당 및 핵산 등을 비 선택적으로 파괴함으로써 노화, 암, 뇌졸중, 동맥경화 및 자기면역질환 등의 다양한 질병을 야기 시키는 것으로 알려져 있는 반면, 생체 내에는 활성산소에 대한 방어기구로서 superoxide dismutate (SOD), catalase 및 peroxidase 등의 항산화효소와 함께 비타민 C, 비타민 E 및 glutathione 등과 같은 항산화물질이 존재하여 생체 내의 산

화를 스스로 보호하지만, 각종 물리적, 화학적 요인과 생체 장어 기구의 이상이 초래될 때 활성산소의 생성이 생체방어계의 용량을 초과하게 될 경우 산화적 스트레스가 야기되는 것으로 알려져 있다(Park 등, 2003). 따라서, 유리기 (free radical) 및 반응산소종을 소거할 수 있는 화합물은 세포내에서 지질과산화물의 생성을 억제하여 노화 및 다양한 질병의 억제와 치료에 효과적인 것으로 알려져 있다. 본 연구에서도 이들의 radical 소거(消去) 활성효과를 통해 뽕나무 사일리지의 항산화(抗酸化) 기능성을 일부 입증할 수 있었으며 이를 토대로 뽕나무 사일리지의 기능성 가축사료화의 의미를 가질 수 있을 것으로 평가된다.

IV. 요약

한우 고급육 생산을 위한 사양관리에 있어 기능성 사료의 활용 가능성을 규명하기 위해 뽕나무 사일리지의 기능성 성분 및 항산화 활성효과를 분석하였다. 뽕나무 사일리지의 일반성분을 분석한 결과, 건물함량 28.41 ± 3.12%, 조단백질 함량 12.43 ± 0.28%, 조지방 함량 2.47 ± 0.18%, 조섬유 함량 20.29 ± 0.75% 및 조회분 함량 6.98 ± 0.12%였다. 뽕나무 사일리지에 함유된 활성성분의 분석 결과, 대표적 활성성분으로 혈당강하성분인 1-deoxynojirimycin (1-DNJ)의 함량이 0.568 mg/g으로 검량되었으며 혈압강하성분인 GABA (γ-Aminobutyric acid)의 함량은 5,936.22 pmol의 농도가 검출되었다. Flavonoid는 본 연구에서 검출이 되지 않았으며 총 phenol이 21.69 μg/mg 정도 함유된 것으로 분석되었다. 뽕나무 사일리지의 DPPH radical 소거 활성은 뽕나무 사일리지 추출물의 농도가 높아질수록 비례해서 활성효과가 크게 나타나고 있었으며 0.25 mg/ml의 농도에서 50% 이상의 활성효과가 인정되었고, Hydroxyl radical 소거 활성 역시 0.5-2.0 mg/ml로 농도가 높아질수록 활성 효과가 커지는 것을 알 수 있었으며 2.0

mg/ml의 농도에서는 50% 이상의 활성효과를 나타냈다. Alkyl radical 소거 활성은 보다 낮은 농도에서 높은 활성효과를 나타내었는데 0.125 mg/ml의 농도에서 50% 이상의 활성효과를 나타내고 있어 이 역시 높은 항산화 효과가 있음을 알 수 있었다. 이상의 결과를 통해 뽕나무 사일리지의 기능성 가축사료화의 의미를 충분히 가질 수 있을 것으로 평가된다.

V. 사 사

이 논문은 2009년도 건국대학교 학술진흥연구비 지원에 의한 논문임.

VI. 인 용 문 헌

1. 김선여, 류강선, 이완주, 구현옥, 이희선, 이강노. 1999. 혐기처리한 뽕잎의 혈당강하 효과. 생약학회지. 30(2):123-129.
 2. 김원호, 서 성, 임영철, 최기준, 김기용, 이종경, 윤봉기. 2007. 논에서 적응 우수 crimson clover 품종 선발. 한초지. 27(3):151-154.
 3. 방혜선, 이완주, 손해룡, 최영철, 김현복. 1998. 상백피 품종에 따른 γ -Aminobutyric acid의 함량 비교. 한잠학회지. 40(1):13-16.
 4. 이종경, 윤상희, 서정문, 양승규, 민황기, 유시환, 박종열, 김순권. 2004. 국내 육성 및 수입 옥수수 품종의 사일리지 생산성. 한초지. 24(4):323-334.
 5. 채주영, 이준영, 황인승, 황보득, 최필환, 이완주, 김진원, 김선여, 최상원, 이순재. 2003. 뽕잎 품종별 기능성 성분 분석. 한국식품영양학회지. 32(1):15-21.
 6. 한성일. 1999. 기능성 축산물 생산현황과 소비전망. 환경친화적 축산업의 전개. 65-85.
 7. Amerine, M.A. and C.S. Ough. 1980. Methods for analysis of musts and wine. Wiley & Sons, New York. p. 176-180.
 8. AOAC. 1990. Official methods of analysis(15th ed.). Association & Official Analytical Chemists, Washington DC.
 9. Asano, N., K. Oseki, E. Tomioko, H. Kizu and K. Matsui. 1994. N-containing sugars from *Morus alba* and their glycosidase inhibitory activities. Carbohydrate Research. 259:243-255.
 10. Asano, N., R.J. Nash, R.J., R.J. Molyneux and G.W.J. Fleet. 2000. Sugar-mimic glycosidase inhibitors: natural occurrence, biological activity and prospects for therapeutic application. Tetrahedron: Asymmetry. 11:1645-1680.
 11. Katai, K. 1942. Trace components in mulberry leaves. Nippon Sanshigaku Zassi. 26:349-352.
 12. Kim, S.Y., J.J. Gao, W.C. Lee, K.S. Ryu, K.R. Lee and Y.C. Kim. 1999. Antioxidative flavonoids from the leaves of *Morus alba*. Arch. Pharm. Res. 22:81-85.
 13. Park, P.J., J.Y. Je and S.K. Kim. 2003. Free radical scavenging activity of chitoooligosaccharides by electron spin resonance spectrometry. Journal of Agric. and Food Chem. 51:4624-4627.
 14. Stead, D.A. and R.M. Richards. 1996. Sensitive fluorimetric determination of gentamicin sulfate in biological matrices using solid-phase extraction, pre-column derivatization with 9-fluorenylmethyl chloroformate and reversed-phase high performance liquid chromatography. J. Chromatogr. B Biomed. Appl. 675:295-302.
 15. Taylor, R.E. and T.G. Field. 2001. Scientific farm animal production. Prentice-Hall, Inc., Upper Saddle River, New Jersey 07458.
 16. 高田 修, 藤倉和己. 2001. ハーブ給与による高付加価値牛乳の生産. 畜産の研究. 55(11):1188-1190.
 17. 田村良文. 2001. 安全な畜産物の生産のために(1)-機能性牧草類の利用-. 畜産の研究. 55(11):1151-1154.
- (접수일: 2009년 8월 20일, 수정일 1차: 2009년 8월 31일, 수정일 2차: 2009년 9월 4일, 게재확정일: 2009년 9월 21일)