

유기사료원료로서 소나무껍질 추출물 피타민의 브로일러에 대한 항생제 대체효과*

김 병 완** · 오 진 식*** · 한 완 택***** · 박 상 오*** · 박 병 성*****

Effect of Pitamin as an Antibiotics Replacement for Organic Livestock Feed Additives in Broiler Chickens

Kim, Byong-Wan · Oh, Jin-Seok · Han, Ohan-Taek ·
Park, Sang-Oh · Park, Byung-Sung

Pitamin is a component of pine bark extract that exhibits antimicrobial activity and a variety of physiological effects. This study was carried out to investigate the effects of dietary pitamin as an organic livestock feed additive in broiler chickens. A 35 day trial was conducted to determine the influence of dietary premix containing 5% pitamin; investigated parameters included blood lipids, growth performance, quality characteristics of carcasses, and changes of caecal microbials in broiler chickens. Chickens were randomly divided into groups that were untreated (control), treated conventionally with antibiotics in the absence of premix, received 0.1% or 0.2% premix containing 5% pitamin. Plasma lipids were lower in groups fed diets with pitamin premix ($p < 0.05$). The body weight gain from broiler chickens fed with the diet containing 0.1% pitamin premix and antibiotics was similar, and was significantly higher than that of the other groups ($p < 0.05$). The weight of breast muscle and thigh meat of carcasses was similar, and was higher than that of the control group ($p < 0.05$). Abdominal fat and thymus index from chickens receiving either pitamin-supplemented premix was significantly lower and increased, respectively, that of the antibiotic and control groups (both $p < 0.05$). The chickens on the pitamin premix-supplemented diets evidenced significantly higher caecal levels of *Bifidobacterium* species as compared with the chickens on the

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

** 대표저자, 강원대학교 동물생명과학대학

*** 강원대학교 동물생명과학대학

**** 교신저자, 강원대학교 동물생명과학대학 교수(bspark@kangwon.ac.kr)

***** 뉴트라팜(주)

control diet ($p < 0.05$). These results suggest that feeding a diet supplemented with a 0.1% premix containing 5.0% pitamin for 35 days maintains the production of broiler chickens at a level comparable to that obtained from the use of antibiotics.

Key words : *pine bark extract, pitamin, broiler chickens, performance, caecum microbials*

I. 서 론

경제성장과 먹거리의 다양화로 인한 소비자들의 음식문화에 대한 의식구조가 양적 충족에서 질적 충족으로 변화되었고, 현대 축산업은 공장집약화 및 대규모화되면서 생산성 향상위주의 단순경영 체계에서 인체에 대한 건강기능성 및 유해물로부터의 안전성까지 복합적인 기능을 요구하는 시대로 변모하고 있다. 인간의 생명과 장수에 직결된 건강과 질병에 대한 관심도가 증가함에 따라 친환경 및 유기축산물에 대한 소비의 증가로 이어지고 있는 추세이며, 유기농산물 생산과 표시에 관한 규정을 제시한 EU는 2005년부터 유기축산물 생산에 이용되는 사료는 100% 유기사료를 사용하여야 하며 항생제는 더 이상 허용되지 않을 것을 규정하였고(Codex, 2002), 국내에서도 친환경 및 유기축산을 위해 항생제의 사용을 점차 규제하고 있으며(신과 황, 2007), 따라서 항생제를 대체할 수 있는 유기축산 사료원료의 개발이 시급한 현안이다(Hong et al., 2008; Commission Regulation EC 2277, 2003).

한편, 식품안전성 측면에서 항생물질 잔류문제가 없는 안전 유기축산물에 대한 선호도가 증가함에 따라 동물산업부문에서는 사료 내에 항생제를 첨가하지 않은 무항생제 안전축산물을 생산하려는 많은 노력을 기울이고 있으나 질병 발생과 생산성 감소 등의 다양한 어려움에 직면하고 있는 실정이다. 따라서 항생제 대체물질의 탐색 또는 개발이 매우 시급한 것으로 본다(Dibner and Richards, 2005).

소나무 껍질 추출물에 대한 관심은 사람의 건강에 이익이 될 수 있는 잠재성 때문에 크게 높아졌다. 소나무 껍질에는 50년 이상 축적된 물질로서 polymer 형태의 polyphenol 성분이 주로 함유되어 있고 강력한 항산화활성(Grimm et al., 2005)과 항균활성(Torras et al., 2005), 면역력 증진 및 항염증 활성을 포함한 다양한 인체생리활성 효능을 지닌 것으로 보고되었다(Rohdewald, 2002). 소나무 껍질 추출물은 polyphenolic monomers, procyanidins, phenolic 또는 cinnamic acid 그리고 glycoside로 구성되어있다. 소나무 껍질 추출물에 함유된 정유(essential oil) 성분인 polyphenol계 항산화물질은 taxifolin, catechin 등의 monomers를 비롯한 catechin과 epicatechin 등이 dimer, oligomer, 또는 polymer 형태로 결합된 물질로 알려져 있다(Hasegawa, 1999; Torras et al., 2005). 소나무 껍질 추출물의 65~70%가 다양한 사슬 길이의 catechin과 epicatechins subunit를 함유하는 procyanadins이다. polyphenol의 수산기로부터 초래되는 항산화작용에 덧붙여서 procyanadins 역시 생물학적 활성을 갖는 것으로 알려져

있다(Rohdewald, 2002).

피타민(pitamin)은 뉴트라팜(주)에서 생산하는 우리나라 적송 소나무 껍질로부터 표준화된 추출물이며, 프랑스 해송 껍질 추출물(pycnogenol), 포도씨 추출물, 녹차 추출물, 은행잎 추출물에 공통적으로 함유된 천연의 polyphenol계 항산화물질 bioflavonoids가 들어있다(Rohdewald, 2002). Hong 등(2008)은 피타민 0.1% 첨가급여로 인하여 산란계의 혈중 콜레스테롤과 계란 난황 내 콜레스테롤의 감소를 보고하였으며, Kim 과 Park(2008)은 브로일러 사료 내 피타민 5.0%를 함유하는 피타민 프리믹스 0.1% 혼합수준이 브로일러의 혈중지질 및 닭고기의 콜레스테롤을 낮출 수 있었다. 그러나 소나무 껍질 추출물이 지닌 여러 가지 인체 생리활성 및 동물생체활성 효과들이 점차로 알려지고 있으나, 항생제 대체물질로서 브로일러의 생산성에 관한 연구는 아직 검토되고 있지 않다.

따라서 본 연구는 유기축산 사료첨가제로서 활용을 위한 피타민의 브로일러 사료용 항생제 대체효과를 구명하는 데 주목적이 있으며, 이를 위하여 피타민 프리믹스를 이용해서 부화 후 35일 동안의 브로일러의 생산성 시험을 수행하였다.

II. 재료 및 방법

1. 공시동물 및 시험설계

로스(Ross×Ross)계통의 성감별을 실시한 부화 1일령 수컷 브로일러 240수를 공시하여 35일 동안 4처리구×3반복(반복 당 20수)으로 완전임의 배치하여 물과 사료에 자유롭게 접근할 수 있는 표준상태(밀도 10수/m²) 하에서 사육하였다. 시험 처리구는 대조구, 항생제(Chlorotetra cycline, CTC) 0.1%, P 0.1%(Pitamin 5.0%를 함유하는 Pitamin premix), P 0.2%(Pitamin 5.0%를 함유하는 Pitamin premix)로 구분하였다. 여기서 피타민 프리믹스의 첨가수준은 선행된 예비 시험결과 및 실제 배합사료 내 항생제와 같은 일반적인 프리믹스의 첨가수준 범위에 기초하여 조절하였다.

2. 시험사료 및 사양관리

시험사료는 미국의 NRC 사양표준(1994)에서 제시한 브로일러의 영양소 요구량을 참고로 해서 배합하였으며, 시험사료의 조단백질과 대사에너지 함량을 동일한 수준으로 조절해 주었다(Table 1, Table 2). 시험용 배합사료에 첨가된 Pitamin premix는 뉴트라팜(주)으로부터 제공받은 국내산 소나무 껍질 적송수피로부터 추출, 정제한 피타민 5%와 글루코스 95%를 혼합하여 총량 1kg으로 제조하였다. 배합된 시험사료는 서늘한 장소에 보관하면서 물과 함

개 무제한 급여하였으며 24시간 연속조명을 실시하였다. 기타 일반 사양관리는 본 대학 관행기준법에 의해서 실시하였다.

3. 혈액 채취 및 지질분석

혈액은 시험 종료일에 각 처리구 당 24수씩(반복펜 당 8수씩)을 임의로 선정하여 헤파린 처리된 주사기를 이용해서 날개정맥(Wing vein)으로부터 각각 1ml를 채혈하였다. 혈액은 각 처리구 당 3회 반복군으로 구분해서 채혈하였으며, 반복군은 동일한 반복펜에서 채혈한 8수의 혈액을 한 군데 모아서 수집하였다. 수집한 혈액은 3,000rpm에서 15분간 원심분리에 의해서 혈장을 분리하였고, 분리된 혈장은 액체질소가스에 급속동결한 다음에 생화학적 분석 시까지 -20℃에서 냉동 보관하였다. 중성지방, 총콜레스테롤 그리고 고밀도지질단백 콜레스테롤(HDL-C) 함량은 상업용 효소킷(Bioclinal system auto kits, BCS, Korea)을 이용하여 분석하였으며, 저밀도지질단백 콜레스테롤(LDL-C) 함량은 Friedwald 공식(1972) “총콜레스테롤-(중성지방/5+HDL-C)”에 의해서 계산하였다.

Table 1. Formula and chemical composition of the experimental diets for broiler chickens (0~3 weeks)

Item	Treatments			
	Control	Antibiotics	P 0.1%	P 0.2%
Yellow corn ground	51.98	51.88	51.88	51.78
Soybean meal	34.00	34.00	34.00	34.00
Corn gluten meal	4.70	4.70	4.70	4.70
Pitamin premix ¹⁾	-	-	0.10	0.20
Chlorotetracycline	-	0.10	-	-
Soybean oil	5.00	5.00	5.00	5.00
Limestone	1.25	1.25	1.25	1.25
Dicalcium phosphate	1.70	1.70	1.70	1.70
Sodium chloride	0.25	0.25	0.25	0.25
DL-Methionine(40%)	0.30	0.30	0.30	0.30
L-lysine HCl	0.30	0.30	0.30	0.30
Mineral premix ²⁾	0.34	0.34	0.34	0.34

(% as-fed)

Item	Treatments			
	Control	Antibiotics	P 0.1%	P 0.2%
Vitamin premix ³⁾	0.16	0.16	0.16	0.16
α -Tocopheryl acetate	0.02	0.02	0.02	0.02
Total	100	100	100	100
Calculated values ⁴⁾				
Crude protein(%)	22.00	22.00	22.00	22.00
ME(kcal/kg) ⁵⁾	3,100	3,100	3,100	3,100

- 1) Pitamin premix: contained 5% pitamin.
- 2) Supplied per kilogram of diet: Fe, 80mg; Zn, 80mg; Mn, 70mg; Cu, 7mg; I, 1.20mg; Se, 0.30mg; Co, 0.70mg.
- 3) Supplied per kilogram of diet: vitamin A(retinyl acetate), 10,500 IU; vitamin D₃, 4,100 IU; vitamin E (DL- α -tocopheryl acetate), 45mg; vitamin K₃, 3.0mg; thiamin, 2.5mg; riboflavin, 5mg; vitamin B₆, 5mg; vitamin B₁₂, 0.02mg; biotin, 0.18mg; niacin, 44mg; pantothenicacid, 17mg; folic acid, 1.5mg.
- 4) Calculated as-fed values from NRC(1994).
- 5) Metabolizable energy.

Table 2. Formula and chemical composition of the experimental diets for broiler chickens (3~5 weeks)

(% as-fed)

Item	Treatments			
	Control	Antibiotics	P 0.1%	P 0.2%
Yellow corn ground	49.98	49.88	49.88	49.78
Soybean meal	25.00	25.00	25.00	25.00
Corn gluten meal	5.70	5.70	5.70	5.70
Wheat bran	10.00	10.00	10.00	10.00
Pitamin premix ¹⁾	-	-	0.10	0.20
Chlorotetracycline	-	0.10	-	-
Soybean oil	5.00	5.00	5.00	5.00
Limestone	1.25	1.25	1.25	1.25
Dicalcium phosphate	1.70	1.70	1.70	1.70
Sodium chloride	0.25	0.25	0.25	0.25

Item	Treatments			
	Control	Antibiotics	P 0.1%	P 0.2%
DL-Methionine(40%)	0.30	0.30	0.30	0.30
L-lysine HCl	0.30	0.30	0.30	0.30
Mineral premix ²⁾	0.34	0.34	0.34	0.34
Vitamin premix ³⁾	0.16	0.16	0.16	0.16
α -Tocopheryl acetate	0.02	0.02	0.02	0.02
Total	100	100	100	100
Calculated values ⁴⁾				
Crude protein(%)	19.00	19.00	19.00	19.00
ME(kcal/kg) ⁵⁾	3,150	3,150	3,150	3,150

1) Pitamin premix: contained 5% pitamin.

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

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

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

5) Metabolizable energy.

4. 생산성 및 도체품질

브로일러의 성장에 따른 각 단계 별 생산성 즉, 사료섭취량, 증체량 및 사료효율은 3주령과 5주령에 각각 측정하였다. 사료효율은 일정한 기간 중의 증체량을 사료섭취량으로 나눈 값으로 나타냈다. 시험 종료와 동시에 각 처리구별로 24수씩(반복편 당 8수씩)을 평균체중에 가까운 시험계를 선별하여 실험동물 안락사 권장(Close et al., 1997)에 따라서 CO₂ 안락사에 의해서 스트레스를 주지 않고 안정적으로 희생하였다. 브로일러의 도체율은 생체중에 대한 도체중(깃털, 혈액, 머리, 다리 및 내장을 제외한 무게)의 비율로써 계산하였다. 머리는 첫 번째 목뼈에서 머리를 잘라냈으며, 다리는 무릎 정강이 부위를 잘라냈고, 내장은 불가식 부분을 모두 제외하였으며, 복강지방은 복강과 근위주변의 지방을 모두 취해서 측정하였다. 가슴살과 닭 껍질을 포함한 다리살의 무게비율은 각각 도체중에 대한 무게비율로서 계산하였고, 간, 근위, 복강지방, 면역기관(흉선, 비장, F낭)의 무게는 생체중에 대한 비율로서 나타냈다.

5. 맹장 내 미생물 변화

시험 종료일에 시험계로부터 처리구 당 24수(반복펜 당 8수)를 선정하여, 장내 미생물을 조사하기 위해서 안락사 이후 무균적인 방법으로 맹장을 CO₂ 하에서 유리용기 속으로 채취하여 밀봉하고, 실험실에 도착할 때까지 얼음위에서 유지하였다. 분석 시까지 AnaeroGen sachets가 부착된 anaerobic jar(Oxoid, Hampshire, UK)에서 혐기상태로 유지한 후, *Bifidobacteria*, *Lactobacillus*, *E.coli* 및 *Samonella* 균수를 조사하였다. 무균적으로 채취된 맹장 내용물을 균질화한 후 1.0g을 멸균된 혐기성 생리식염수(phosphorus buffered saline, PBS) 9mL에 용해, 혼합하여 10배 희석(wt/vol)하였다. 예비실험에서 이것을 다시 10⁻⁸까지 10배 계단희석을 한 후 적절한 희석배수를 선정하였다. 예비실험으로부터 희석액 중 적절한 희석배수로 선정된 10⁻⁷에서 각각 0.1mL 씩을 분주하여 멸균된 4개의 평판 선택배지(*Lactobacillus*, BL 배지; *Bifidobacteria*, BS 배지; *Salmonella*, SS 배지; *E. Coli*, MacConkey 배지) 속으로 접종하였다. 혐기성균에 대한 모든 처리 및 배양은 anaerobic chamber 및 Gas-Pak[®] system(BBL)으로 조절된 혐기적인 조건하에서 37°C의 CO₂ incubator를 이용해서 40시간 정치배양한 후, 각각의 평판배지에서 미생물카운터로써 colony의 수를 조사하였다. 측정된 결과는 맹장 내용물 g당 균수(CFU, colony forming unit/g wet cecal content)로서 상용로그를 취하여 제시하였다.

6. 통계처리

분석된 자료의 통계처리는 SAS(2000)의 GLM procedure를 이용하여 분산 분석하였고 Duncan's multiple range test에 의하여 95% 수준에서 처리 평균치 간의 통계적 유의성을 검정(p<0.05)하였다.

Ⅲ. 결과 및 고찰

1. 혈중지질

브로일러의 혈중지질 변화는 Table 3에서 보는 바와 같다. 중성지방과 총콜레스테롤 함량은 P 0.1%, P 0.2% 첨가구가 대조구와 항생제 첨가구에 비해서 유의적으로 낮게 나타났다(p<0.05). 고밀도지질단백질 콜레스테롤 함량은 P 0.2% 첨가구가 가장 높았으나(p<0.05), P 0.2% 첨가구와 P 0.1% 첨가구 사이, 그리고 P 0.1% 첨가구와 항생제 첨가구 및 대조구 사이의 통계적인 유의차는 나타나지 않았다. 저밀도지질단백질 콜레스테롤 함량은 항생제

첨가구 및 대조구와 비교할 때 P 0.1% 첨가구가 가장 낮았고 그 다음으로 P 0.2% 첨가구가 유의적으로 낮았으나($p < 0.05$), 항생제 첨가구 및 대조구 사이의 차이는 없었다($p > 0.05$). 본 연구에서 피타민 프리믹스 첨가구의 혈액 중성지방, 총콜레스테롤 및 저밀도지질단백질 콜레스테롤 함량이 항생제 첨가구 및 대조구에 비해서 유의적으로 낮았던 점은 피타민에 함유된 폴리페놀의 지질단백질 감소기능에 기인하였을 것으로 볼 수 있으며, 소나무껍질 추출물에 함유된 폴리페놀 성분은 지질합성 억제 및 지질분해 촉진효과가 큰 것으로 알려졌다(Devaraj et al., 2002; Hasegawa, 2000; Hasegawa, 1999). Hong 등(2008)은 산란계의 혈중 총콜레스테롤 및 저밀도지질단백질 콜레스테롤 함량은 피타민 첨가에 의해서 낮아졌다고 하였으며, 이는 본 연구결과를 뒷받침해주고 있다.

Table 3. Levels of TAG, TC, HDL-C, LDL-C in plasma from broilers fed the experimental diets for 35 days¹⁾

(Unit : mg/dl)

Item	Treatments				PSE ³⁾
	Control	Antibiotics	P 0.1%	P 0.2%	
TAG	132.16 ^a	130.79 ^a	111.94 ^b	107.36 ^b	15.2071
TC	120.77 ^a	120.41 ^a	115.25 ^b	117.18 ^b	4.1028
HDL-C	29.14 ^b	28.47 ^b	30.97 ^{ab}	32.17 ^a	2.1077
LDL-C ²⁾	65.20 ^a	65.79 ^a	61.90 ^c	63.54 ^b	1.0908

1) TAG: triacylglyceride, TC: total cholesterol, HDL-C: high density lipoprotein cholesterol, LDL-C: low density lipoprotein cholesterol.

2) LDL-C: $TC - (TAG/5) + HDL-C$.

3) PSE: pooled standard error of mean values.

^{a,b,c} Mean values with different superscripts are significantly different at $p < 0.05$.

2. 브로일러의 생산성

부화 후 35일 동안 조사한 브로일러의 생산성은 Table 4에서 보는 바와 같다. 브로일러의 체중은 P 0.1% 첨가구가 항생제 첨가구와 비슷하게 나타났으며 이 두 개의 처리구는 P 0.2% 첨가구와 대조구에 비해서 유의적으로 높았다($p < 0.05$). 한편, P 0.2% 첨가구는 대조구에 비해서 증체량이 유의적으로 높게 나타났다($p < 0.05$). 전체 기간 중 사료섭취량은 브로일러의 체중증가와 유사한 경향을 나타냈으며 사료효율은 통계적인 유의차가 나타나지 않았다. 피타민 프리믹스의 첨가수준에 따라서 증체량 차이가 서로 다른 점으로 볼 때, 브로일러의 생산성을 고려한 피타민 프리믹스의 혼합비율 및 적정 첨가수준이 중요한 것으로 생

각된다. 본 연구결과에서 발견한 새로운 사실은 배합사료 내 피타민 5.0%를 함유하는 피타민 프리믹스 0.1% 첨가급여로 인해서 브로일러의 성장율을 항생제 첨가구와 동일하게 유지하면서 생산성을 향상시킬 수 있다는 점이다. 피타민 0.1% 첨가구에서 증체량이 항생제 첨가구와 동일하게 나타난 점은 피타민에 함유된 항산화 활성, 면역증진 및 항균 활성물질의 작용에 의해서 동물의 건강이 증진되어 나타난 효과일 것으로 추정해 볼 수 있다(Torras et al., 2005; Cheshier et al., 1996). Torras 등(2005)은 프랑스 소나무껍질 해송추출물인 pycnogenol의 항산화 활성은 비타민 E, 비타민 C 및 포도씨 추출물에 비해서 월등히 높았으며, 또한, pycnogenol은 유해세균의 성장을 강하게 억제하며 유익한 미생물의 성장을 촉진하는 효과가 높은 것으로 보고하였다. 한편, Table 5에 제시된 피타민 프리믹스 첨가구의 면역기관인 흉선과 F낭 무게의 차이가 항생제 첨가구와 동일하게 나타났고, P 0.1%의 F낭이 대조구와 차이가 없었던 점을 제외하면 두 기관의 무게 차이가 대조구에 비해서 높았던 점 역시 브로일러의 성장을 부분적으로 자극한 요인이 되었을 것으로 생각한다. 한편, P

Table 4. Body weight gain, feed intake and feed efficiency of broilers fed the experimental diets for 35 days

Weeks	Treatments				PSE ¹⁾
	Control	Antibiotics	P 0.1%	P 0.2%	
	----- Body weight gain (g)-----				
0-3	726 ^b	773 ^a	774 ^a	735 ^b	3.9053
3-5	994 ^b	1,054 ^a	1,058 ^a	1,050 ^a	7.8809
0-5	1,720 ^c	1,827 ^a	1,832 ^a	1,785 ^b	8.1842
	----- Feed intake (g) -----				
0-3	908 ^b	966 ^a	967 ^a	919 ^b	9.4556
3-5	1,828 ^b	1,959 ^a	1,976 ^a	1,932 ^a	10.0115
0-5	2,736 ^c	2,925 ^a	2,943 ^a	2,851 ^b	10.3372
	----- Feed efficiency ²⁾ -----				
0-3	0.80	0.80	0.80	0.80	0.0061
3-5	0.54	0.53	0.53	0.54	0.0049
0-5	0.63	0.62	0.62	0.63	0.0058

1) PSE: Pooled standard error of mean values.

2) Body weight gain/Feed intake.

^{a,b,c} Mean values with different superscripts are significantly different at $p < 0.05$.

0.2% 첨가구가 P 0.1% 첨가구에 비해서 증체량이 낮았던 이유는 피타민 프리믹스의 첨가 수준 증가에 따른 불용성 탄닌 함량의 증가에 기인한 것으로 볼 수 있다. 탄닌은 영양소와 결합하여 불용성 복합물질을 형성하기 때문에 사료섭취량을 떨어뜨릴 뿐 아니라 성장에 필요한 단백질과 대사에너지를 이용률을 저해할 수 있으며(Larbier and Leclercq, 1992) 그에 따라 생산성이 낮아진 것으로 추정할 수 있다. 따라서 산업적 응용측면에서 피타민의 추출, 정제과정에 대한 새로운 기술개발이 필요한 부분이다.

3. 도체특성

브로일러의 도체특성은 Table 5에서 보는바와 같다. 도체중과 도체율은 P 0.1% 첨가구와 P 0.2% 첨가구 및 항생제 첨가구가 서로 비슷하였으나, 이들 세 처리구는 대조구에 비해서 유의적으로 높게 나타났($p < 0.05$). 도체중에 대한 가슴살의 무게비율은 모든 처리구 가운데서 P 0.1% 첨가구가 유의적으로 가장 높았으나($p < 0.05$), P 0.1% 첨가구는 항생제 첨가구와 유의적인 차이가 없었고, 항생제 첨가구는 P 0.2% 첨가구와 유의차가 나타나지 않았다. 그러나 대조구는 모든 처리구 가운데서 가장 낮게 나타났으며 통계적 유의성이 인정되었다($p < 0.05$). 다리살의 무게비율은 P 0.2% 첨가구와 P 0.1% 첨가구 및 항생제 첨가구가 서로 비슷하였으나, P 0.2% 첨가구와 대조구 사이의 통계적인 유의차는 나타나지 않았다. 복강 지방 무게비율은 P 0.1%, P 0.2% 첨가구가 대조구 및 항생제 첨가구에 비해서 유의적으로 낮게 나타났($p < 0.05$). F낭 무게비율은 P 0.2% 첨가구가 대조구와 비교할 때 통계적 유의차가 나타났고 가장 높은 경향을 보였으나($p < 0.05$), P 0.2%, P 0.1% 첨가구 및 항생제 첨가구 사이의 통계적 유의차는 없었고, P 0.1% 첨가구, 항생제 첨가구 및 대조구 사이의 유의차 역시 나타나지 않았다. 흉선 무게비율은 모든 처리구 가운데서 대조구가 가장 낮았고 통계적인 유의차가 인정되었으나($p < 0.05$), 대조구를 제외한 세 처리구 사이에는 유의차가 나타나지 않았다. 피타민 프리믹스 첨가구에서 복강지방이 낮았던 점은 피타민 프리믹스를 섭취한 브로일러의 혈액 중성지방, 총콜레스테롤 및 저밀도지질단백질 콜레스테롤 함량이 항생제 첨가구 및 대조구에 비해서 낮았던 점을 반영한 것으로 생각되며(Table 3), 피타민에 함유된 폴리페놀의 지질합성 억제 및 분해촉진 효과에 기인하였을 것으로 볼 수 있다(Hasegawa, 2000; Hasegawa, 1999). 흉선은 항체생산을 위한 중요한 기관이며, Zhang 등(2002)은 이소말토올리고당 0.3% 수준을 섭취한 브로일러에서 흉선지수가 유의적으로 증가하였다고 했으며, 이는 본 연구결과와 비슷하였다. 흉선지수(thymus index)에 관한 자료는 피타민이 브로일러에서 흉선세포의 증식능력을 증가시켰음을 시사해준다. 닭의 면역체계는 환경, 생쥐와 같은 포유동물과 약간 차이가 있다. F낭은 가금에서 일정한 편이며 B-림프구(B-lymphocyte)의 발달 및 기능적인 성숙연구에 사용되었다. 닭이 성숙하면 흉선과 F낭이 발달하고, 이후 닭의 면역반응은 비장과 림프절에 의존하게 된다. 닭의 면역상태의 조절은

유의한 효과를 나타낼 수 있으며, 생산성을 증가시키는 효과를 기대할 수 있다(Wang et al., 2000).

Table 5. Characteristics of carcass of broilers fed the experimental diets for 35 days

Item	Treatments				PSE ²⁾
	Control	Antibiotics	P 0.1%	P 0.2%	
Carcass weight(g)	1,247 ^b	1,344 ^a	1,343 ^a	1,300 ^{ab}	10.4425
Carcass percentage ¹⁾	72.50 ^b	73.57 ^a	73.35 ^a	72.85 ^{ab}	0.3693
Proportion(%) of tissue weight ²⁾					
Breast muscle	22.75 ^c	23.87 ^{ab}	24.42 ^a	23.64 ^b	0.2028
Thigh muscle	19.24 ^b	20.19 ^a	20.08 ^a	19.86 ^{ab}	0.2117
Liver	3.17	3.24	3.09	2.98	0.1087
Abdominal fat	2.79 ^a	2.80 ^a	2.10 ^b	1.99 ^b	0.0730
Bursa(F-sac)	0.18 ^b	0.21 ^{ab}	0.24 ^{ab}	0.28 ^a	0.0612
Spleen	0.10	0.11	0.15	0.13	0.0317
Thymus	0.05 ^b	0.13 ^a	0.15 ^a	0.10 ^a	0.0491

1) Carcass percentage : carcass weight/live weight.

2) % of breast and thigh muscle against carcass weight., % of liver, abdominal fat, bursa, spleen and thymus against live weight.

3) PSE: pooled standard error of mean values.

^{a,b,c} Mean values with different superscripts are significantly different at $p < 0.05$.

4. 맹장 내 미생물 변화

피타민 프리믹스 첨가사료를 섭취한 닭의 맹장 내용물에서 조사한 미생물의 변화는 Table 6에서 보는바와 같다. 장 내 유익한 미생물로 알려진 *Bifidobacteria*는 모든 처리구 가운데서 P 0.1% 첨가구와 항생제 첨가구가 대조구 및 P 0.2% 첨가구에 비해서 유의적으로 높았으나($p < 0.05$), P 0.1% 첨가구와 항생제 첨가구간 통계적으로 유의한 차이는 인정되지 않았다. 한편, P 0.2% 첨가구는 대조구에 비해서 유의적으로 높게 나타났다($p < 0.05$). 유익한 미생물인 *Lactobacillus*는 P 0.1% 첨가구, 항생제 첨가구, P 0.2% 첨가구 순서로 높았고 대조구가 가장 낮았으며, 각 처리구간 통계적인 유의차가 인정되었다($p < 0.05$). 유해한 미생물인 *E. coli*, *Salmonella*는 모든 처리구 가운데서 대조구가 가장 높았고 통계적 유의성이 인정되었다($p < 0.05$). 한편, 피타민 프리믹스 첨가구와 항생제 첨가구 사이는 서로 비슷한 경향을

보여주었다. 소화관에서 미생물의 중요성은 장 상피세포에 필요한 에너지를 공급해주는 발효산물의 합성에 있어서 장 미생물의 역할, 소화관 면역체계의 자극, 비타민 K의 합성 그리고 외인성 병원세균의 균락화에 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 균총은 영양소와 장 부착부위에 대하여 잠재적인 병원체와 경쟁하고 있기 때문에 장 내 병원균 집단을 낮추며, 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 균락화를 억압할 수 있다(Zhang et al., 2002; Rolfe, 2002; Gibson and Wang., 1994). 피타민 프리믹스 첨가구에서 나타난 맹장 *E. coli*, *Salmonella* 균수의 유의적인 감소는 바로 이러한 기전의 일부라고 생각할 수 있다. 닭에서 *Salmonella* 균락화의 주요 장소는 맹장이며, *Salmonella*는 병아리에서 설사 및 심각한 체중손실과 같은 살모넬라 감염증을 일으킨다는 점은 널리 알려져 있는 사실이다(Cox et al., 2000). 피타민 프리믹스를 섭취한 브로일러에서 *E. coli*와 *Salmonella*가 낮은 점은 맹장 내 존재하는 *Bifidobacteria*, *Lactobacillus*의 유의적인 증가와 관련이 있다. 본 연구결과 피타민 프리믹스를 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, 대조구와 비교해 볼 때, 피타민 프리믹스 처리구의 맹장에서 건강에 유익한 *Lactobacillus*와 *Bifidobacteria*의 성장이 촉진되었고, 면역기관의 무게가 증가된 점(Table 5)으로 보아서, 피타민 프리믹스를 브로일러 사료에 항생제 대체재로써 이용할 경우, 병아리의 설사를 예방

Table 6. Viable cell counts of microflora in cecal digesta of broilers fed the experimental diets for 35 days (log 10 cfu/g content)

Item	Treatments				PSE ¹⁾
	Control	Antibiotics	P 0.1%	P 0.2%	
<i>Bifidobacteria</i>	7.64 ^c	8.44 ^a	8.55 ^a	8.21 ^b	0.1074
<i>Lactobacillus</i>	7.93 ^d	8.35 ^b	8.20 ^c	8.51 ^a	0.1270
<i>E. coli</i>	8.08 ^a	7.28 ^{bc}	7.35 ^b	7.13 ^c	0.1055
<i>Salmonella</i>	7.81 ^a	6.88 ^b	6.79 ^b	7.01 ^b	0.1052

1) PSE : pooled standard error of mean values.

^{a,b,c,d} Mean values with different superscripts are significantly different at $p < 0.05$.

하고 성장을 촉진할 수 있는 항균성장촉진제로서 비피도스균의 활성효과(bifidogenic effect)를 가질 것으로 사료된다(Modler et al., 1990).

결론적으로, 부화 후 35일 동안 브로일러 사료 내 P 0.1% 첨가급여로 인해서 항생제 첨가구와 동일한 수준으로 맹장 미생물의 유익균 *Bifidobacteria*, *Lactobacillus*의 집단을 선택적으로 증가시켰고, 유해균 *E. coli*, *Salmonella*의 균수를 감소하였다. 또한, 주요 면역기관인 흉선세포의 증식능력을 항생제 첨가구와 동일한 수준으로 유지할 수 있었다. 따라서 소나무 껍질 추출물 피타민이 세균에 대한 항생제 저항성의 위험을 낮추고 안전한 닭고기를 생산하는 데 있어서 유기축산을 위한 천연 항균성장촉진제로서 활용될 수 있을 것으로 나타났다.

IV. 요약

소나무껍질 추출물, 피타민은 인간의 생체 내 여러 가지 생리활성을 높여주는 항산화성 및 항균성 소재로서 널리 알려져 있다. 본 연구는 브로일러에 대한 유기사료 첨가제로서 소나무 껍질 추출물, 피타민의 첨가효과를 조사하기 위하여 피타민 프리믹스가 첨가된 사료를 부화 후 35일 동안 섭취한 브로일러의 혈중지질, 생산성, 도체특성 및 맹장미생물 변화를 연구하였다. 병아리는 대조구, 항생제 첨가구, 피타민 프리믹스 0.1%, 피타민 프리믹스 0.2% 첨가구로 구분하였다. 브로일러 혈중지질은 피타민 프리믹스 첨가구가 대조구 및 항생제 첨가구에 비해서 유의적으로 낮게 나타났다($p < 0.05$). 브로일러의 체중은 P 0.1% 첨가구와 항생제 첨가구가 서로 비슷하였으며 P 0.2% 첨가구와 대조구에 비해서 유의적으로 높게 나타났다($p < 0.05$). 도체중, 도체율, 도체중에 대한 가슴살과 다리살 무게비율은 P 0.1% 첨가구와 항생제 첨가구가 서로 비슷하였으며 대조구에 비해서 유의적으로 높게 나타났다($p < 0.05$). 복강지방 무게비율은 P 0.1%, P 0.2% 첨가구가 항생제 첨가구 및 대조구에 비해서 유의적으로 낮게 나타났다($p < 0.05$). 흉선 무게지수는 P 0.1%, P 0.2% 첨가구와 항생제 첨가구가 서로 비슷하였으며 대조구에 비해서 유의적으로 높았다($p < 0.05$). 장 내 *Bifidobacteria*는 P 0.1% 첨가구와 항생제 첨가구가 대조구 및 P 0.2% 첨가구에 비해서 유의적으로 높았다($p < 0.05$). 본 시험에서 나타난 중요한 점은 피타민 5.0%를 함유하는 프리믹스 0.1%를 브로일러 사료에 부화 후 35일 동안 첨가급여해 줌으로서 항생제 첨가와 동일한 브로일러의 생산성을 유지할 수 있다는 사실이었다.

참 고 문 헌

1. Cheshier, J. E., S. Ardestani-Kaboudanian., B. Liang., M. Araghiniknam., S. Chung., L. Lane., A. Castro and R. R. Watson. 1996. Immunomodulation by pycnogenol in retrovirus-infected or ethanol fed mice. *Life Sci.* 58: 87-96.
2. 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.
3. Codex, 2002. Guidelines for the production, processing, labelling and marketing of organically produced foods. *FAO/WHO*: 1-29.
4. Commission Regulation 2277. 2003. Amending annexes I and II to Council Regulation (EEC) 2092/91 on organic production of agricultural products and indications referring there to agricultural products and foodstuffs. *Off. J. Eur. Union. L336.* 46: 68-74.
5. Cox, N. A., M. E. Berrang and J. A. Cason. 2000. Salmonella Penetration of Egg Shells and Proliferation in Broiler Hatching Eggs- A Review. *Poult. Sci.* 79: 1571-1574.
6. 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.
7. Dibner, J. J. and J. D. Richards. 2005. Antibiotic growth promoters in agriculture: History and mode of action. *Poult. Sci.* 84: 634-643.
8. Friedwald, W., R. Levy and D. Fredrickson. 1972. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, with use of the preparative ultracentrifuge. *Clin. Chem.* 18: 499-502.
9. Gibson, G. R. and X. Wang. 1994. Bifidogenic properties of different types of fructooligosaccharides. *Food Microbiol.* 11: 491-498.
10. Grimm, T., A. Schafer and P. Hogger. 2005. Antioxidant activity and inhibition of matrix metalloproteinases by metabolites of maritime pine bark extract(pycnogenol). *Free Radic. Biol. Med.* 36: 811-822.
11. Hasegawa, N. 1999. Stimulation of lipolysis by pycnogenol. *Phytother Res.* 13: 619-620.
12. Hasegawa, N. 2000. Inhibition of lipogenesis by pycnogenol. *Phytother Res.* 14: 472-473.
13. 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.
14. Larbier, M. and B. Leclercq. 1997. Nutrition and feeding of poultry. *Nottingham Univ.*

- Press. UK. pp 257.
15. Kim, B. W. and B. S. Park. 2008. Effects of pitamin as a antibiotics replacement on the content of cholesterol of chicken meat, plasma lipids and performance in the broiler chickens. *Kor, J, Oil, Chem.* 10: 43-48.
 16. Modler, H. W., R. C. Mckellar and M. Yaguchi. 1990. Bifidobacteria and bifidogenic factors. *Can. Inst. Food. Sci. Technol. J.* 23: 29-41.
 17. National Research Council. 1994. Nutrients requirements of poultry. 9th rev. National Academy Press, Washington DC.
 18. Rohdewald, P. 2002. A review of the French maritime pine bark extract (pycnogenol), a herbal medication with a diverse clinical pharmacology. *Int. J. Clin. Pharmacol. Ther.* 40: 158-168.
 19. Rolfe, R. D. 2002. The role of probiotic cultures in the control of gastrointestinal health. *J. Nutr.* 130(2S Suppl.): 396S-402S.
 20. SAS. 2000. SAS/STAT User's Guide: Statistics. Version 8th Ed. SAS Institute Inc., Cary, North Carolina.
 21. 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.
 22. Torras, M. A., C. A. Faura., F. Schonlau and P. Rohdewald. 2005. Antimicrobial activity of pycnogenol. *Phytother Res.* 19: 647-648.
 23. 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.
 24. Zhang, W. F., D. F. Li., W. Q. Lu and G. F. Yi. 2002. Effects of isomalto-oligosaccharides on broiler performance and intestinal microflora. *Poult. Sci.* 82: 657-663.
 25. 신용광·황윤재. 2007. 친환경농산물 인증제도 개선방안. 한국농촌경제연구원. 연구보고서, R559.