

## Effect of Dietary Antibiotic Replacement with Korean Red Pine Bark Extracts in Broiler Diets

Byung-Sung Park\*

Department of Animal Biotechnology, Kangwon National University, Chuncheon 200-701, Korea

Received March 26, 2010 / Accepted April 29, 2010

This study was conducted to evaluate the effects of dietary Korean red pine bark extract as an antibiotic replacement on cecum microflora, immune functions, blood lipids, carcass characteristics, and growth performance in broiler chickens. There were four treatment groups: a control group, an antibiotic group, and two treatment groups receiving 65 and 80 ppm Korean red pine bark extract. Growth performance, carcass weight, dressing percentage, and breast and thigh muscle weight of the broiler chickens fed 80 ppm of red pine bark extract was higher than the broilers of the control group and the antibiotic group. Abdominal fat was lower in both groups of broiler chickens fed red pine bark extract, but the growth of immune organs such as the thymus, spleen, and bursa of Fabricius was significantly higher in the group that received a diet supplemented with 80 ppm red pine bark extract than in the control group and antibiotic group. Concentrations of triacylglyceride and total cholesterol were significantly lower in both groups that received red pine bark extract when compared to the control group and the antibiotic group. The concentration of serum IgG was significantly higher in the 80 ppm red pine bark extract group than in the control group and the antibiotic group. The numbers of *Bifidobacterium* and *Lactobacillus* in the cecum digesta were significantly increased, while the numbers of *Escherichia coli* and *Salmonella* were significantly reduced in the group that received 80 ppm red pine bark extract when compared to the control group and the antibiotic group. These results suggest that a diet with 80 ppm Korean red pine bark extract as a replacement for antibiotics improve the cecum microflora, immune functions, blood lipids, carcass characteristics and growth performance of broiler chickens.

**Key words** : Korean red pine bark extracts, broiler performance, carcass characteristics, immunoglobulin, microflora

### 서 론

소나무껍질추출물은 건강에 도움을 주는 프로안토시아닌, 폴리페놀 성분인 바이오플라보노이드, 유기산 등의 생리 활성물질이 함유되어 있으며 프로안토시아닌의 대부분은 카테킨과 에피카테킨 단위로서[21], 비타민 C, E와 비교할 때 자유라디칼, 활성산소분자의 차단에 관한 강력한 항산화작용을 갖는다[24]. 소나무껍질 추출물은 항암 및 심장혈관계질환 예방[20], 염증억제와 면역력증진효과[10]를 갖는 것으로 알려졌다. 소나무껍질추출물은 병원미생물에 대하여 항균활성을 지니며[25], 소나무껍질 추출물에 함유된 항산화물질은 조리한 쇠고기의 저장기간 동안 *Escherichia coli* O157:H7 및 *Salmonella Typhimurium* 균수를 낮추는 것으로 보고되었다[1].

최근 항생제내성균의 출현이 심각한 사회적 문제가 되고 있다. 가축에서 항균성장촉진제의 활용 및 현안에 관해서는 이전에 잘 검토되었으며[7], 이의 대체물질로써 식물추출물

부터 항균성 피토케미칼이 분류되었다[5]. 국산 적송껍질로부터 표준화된 추출물은 뉴트라팜(주)에서 생산되며 프랑스 해송껍질추출물, 포도씨추출물, 녹차추출물, 은행잎추출물에 공통적으로 함유된 천연의 폴리페놀계 항산화물질 바이오플라보노이드가 들어있다[16]. 선행연구에서 Choi 등[3]은 국산 적송수피추출물에 함유되어있는 카테킨의 흡수율을 기준으로 주름개선제로서의 활용가능성을 제시하였다. 산란계 사료 내 적송수피추출물 0.1%의 첨가로 계란생산성과 품질향상을 기대할 수 있으며[13], 브로일러 사료 내 적송수피추출물 50 ppm 첨가 시 항생제 첨가구와 동일한 성장능력을 나타냈으나 100 ppm 첨가구는 오히려 성장능력이 떨어지는 것으로 보고되었다[15]. 따라서 브로일러의 성장능력을 항생제 첨가구에 비해서 유의하게 향상시키기 위한 적송수피추출물의 적정 첨가수준은 50 ppm 이상에서 결정될 수 있을 것으로 보이며, 이를 위하여 추가적인 연구가 필요하다고 생각한다.

본 연구의 목적은 브로일러의 성장능력, 도체특성, 혈액지질, 면역능력 및 맹장미생물 변화에 관한 국산 적송수피추출물의 확실한 항생제 대체효과를 조사하는 것이었다.

### \*Corresponding author

Tel : +82-33-250-8615, Fax : +82-33-251-7719

E-mail : bspark@kangwon.ac.kr

재료 및 방법

실험설계 및 사양관리

동물에 포함된 모든 실험절차는 유럽 실험동물취급 면허고재에서 제시된 과학적이고 윤리적인 규정을 준수하였으며 [23], 실험수행을 위한 승인은 강원대학교 동물실험윤리위원회(IACUC Kangwon National University)로부터 얻었다. 로스계통의 1일령 브로일러 수컷 240(Ross 308, 미국) 마리를 상업용 부화장(한양부화장 경기도 이천시)으로부터 구입하였다. 병아리 체중(평균 45±2.07 g)을 측정하여 4처리구, 각 처리구 펜당 20마리씩 3반복으로 완전임의 배치한 후 35일 동안 실험사료를 급여하였다. 실험처리구는 대조구, 항생제(avylamycin 8 ppm), 적송수피추출물(red pine bark extracts, RE) 2개의 첨가구(RE 65 ppm, 80 ppm)로 구분하였다. 적송수피추출물은 뉴트라팜 주식회사(경기도 남양주시)으로부터 제 공받았으며 그 제조방법(대한민국 등록특허 10-09162285)을 간략히 기술하면 다음과 같다. 적송수피를 분쇄하여 주정용액과 혼합하고 70°C, 2시간 동안 반응시킨 후 여과해서 농축여액과 건조추출박을 각각 얻은 다음에 농축여액과 건조추출박을 혼합하여 적송수피추출물을 얻는다. 서로 다른 적송수피추출물의 첨가수준은 Kim 등[15]의 보고에 기초하였으며 그들이 보고한 항생제 첨가구와 유사한 성장능력을 나타냈던 50 ppm 보다 15 ppm씩 높은 수준으로 조절하였다. 항생제와 적송수피추출물은 옥수수의 양을 줄여서 첨가하였으며 조단백질과 대사에너지 함량을 비롯한 모든 영양소 수준은 동일하게 배합하였다(Table 1). 실험사료는 미국의 NRC [18]에서 제시한 동물사양표준 가운데서 브로일러의 영양소요구량을 충족 또는 초과할 수 있도록 하였다. 병아리는 물과 사료에 자유롭게 접근할 수 있는 표준상태(밀도 10마리/m<sup>2</sup>) 하에서 유지하였다. 각 펜은 왕겨를 바닥 10 cm 높이로 깔아주었다. 사육실의 온도는 입추당일에서 3일까지는 33°C로 유지하였고, 그 다음부터 주당 2~3°C씩 낮췄으며 22일부터는 25°C로 유지하였다. 상대 습도는 70%로 유지하였고 24시간 연속조명을 사용하였다.

희생과정 및 도체특성

브로일러의 성장에 따른 각 단계 별 사료섭취량, 증체량 및 사료요구율은 3주령과 5주령에 각각 측정하였다. 사료요구율은 일정한 기간 중의 사료섭취량을 증체량으로 나눈 값으로 나타냈다. 희생 12시간 전에 사료와 물을 철회하였고 실험종료 시에 각 처리구에서 평균체중에 가까운 닭 15마리(각 펜당 5마리)를 선별하여 실험동물 안락사 권장내용[4]에 따라서 경추탈골에 의해서 스트레스를 주지 않고 안정적으로 희생하였다. 닭의 스트레스를 최소화하기 위해 희생 2시간 전에 희생할 닭을 선정하여 나머지 닭의 시야에서 보이지 않는 분리된 희생장으로 이동하였다. 경추탈골 후 즉시 경동맥을 절단하여 90초 동안 방혈하였고 뜨거운 물(58-60°C)에 4분 정도 담근

Table 1. Composition and nutrient levels of experimental basal diets (% as-fed)

| Ingredient                         | Experimental diets        |                             |
|------------------------------------|---------------------------|-----------------------------|
|                                    | Starter<br>(1 to 21 days) | Finisher<br>(22 to 35 days) |
| Yellow corn ground                 | 52.00                     | 50.00                       |
| Soybean meal, 46% CP               | 34.00                     | 25.00                       |
| Corn gluten meal                   | 4.70                      | 5.70                        |
| Wheat meal                         | -                         | 10.00                       |
| Soybean oil                        | 5.00                      | 5.00                        |
| Limestone                          | 1.25                      | 1.25                        |
| Dicalcium phosphate                | 1.70                      | 1.70                        |
| Salt                               | 0.25                      | 0.25                        |
| DL-Met, 50%                        | 0.30                      | 0.30                        |
| L-Lys HCl, 78%                     | 0.30                      | 0.30                        |
| Trace mineral premix <sup>1)</sup> | 0.34                      | 0.34                        |
| Vitamin premix <sup>2)</sup>       | 0.16                      | 0.16                        |
| Total                              | 100                       | 100                         |
| Calculated values <sup>3)</sup>    |                           |                             |
| ME, kcal/kg                        | 3,100                     | 3,150                       |
| CP, %                              | 22.00                     | 20.00                       |
| Lys, %                             | 1.32                      | 1.15                        |
| Met, %                             | 0.52                      | 0.50                        |
| Met+Cys, %                         | 0.78                      | 0.73                        |
| Ca, %                              | 1.00                      | 0.90                        |
| Available P, %                     | 0.45                      | 0.40                        |

<sup>1)</sup>Supplied per kilogram of diet: Fe, 80 mg; Zn, 80 mg; Mn, 70 mg; Cu, 7 mg; I, 1.20 mg; Se, 0.30 mg; Co, 0.07 mg.

<sup>2)</sup>Supplied per kilogram of diet: vitamin A (retinyl acetate), 10,500 IU; cholecalciferol, 4,100 IU; DL- $\alpha$ -tocopheryl acetate), 45 mg; menadione, 3.0 mg; thiamin, 2.5 mg; riboflavin, 5 mg; pyridoxine, 5 mg; cyanocobalamin, 0.02 mg; niacin, 44 mg; pantothenic acid, 17 mg; folic acid, 1.5 mg; biotin, 0.18 mg.

<sup>3)</sup>Calculated as-fed values from NRC (1994).

후 탈모기를 2분 동안 통과시켜 탈모하였다. 혈액, 깃털, 머리(첫 번째 목뼈에서 절단), 정강이, 내장적출을 한 다음에 도체중을 측정하였고 도체율은 생체중에 대한 도체중의 비율로써 계산하였다. 가슴살, 다리살의 무게는 도체중 비율로써 계산하였다. 복강지방, 간, 비장, F낭(bursa of Fabricius), 흉선의 상대적인 무게는 생체중 비율로써 계산하였다. 복강지방은 좌골(ischium) 내에 확장되거나 총배설강 주위 및 복강근육에 인접한 지방을 모두 취해서 측정하였다.

혈액지질과 면역물질

실험 종료 시에 희생할 닭의 날개정맥으로부터 주사기(Hamilton 22-gauge needle, 0.70 mm in diameter)를 이용해서 1 ml 혈액을 채취하여 실온에서 30분간 방치하였다. 혈청은 4°C 15분간 2,200×g에서 혈액을 원심분리에 의해서 분리하였다. 분리된 혈청은 액체질소가스를 이용하여 급속동결한 다음에 생화학적 분석 시까지 -80°C 냉동보관하였다. 중성지방, 총 콜레스테롤, 고밀도지단백콜레스테롤 그리고 저밀도지단백

콜레스테롤은 자동혈액분석기 (Autoanalyzer 7150, Hitachi, Tokyo, Japan)를 이용하여 상업용 효소킷(Sigma Co. Ltd., USA)에 의해서 분석하였다. 면역단백질은 상업용 키트(Bethyl Laboratories, Inc., Montgomery, TX, USA)를 사용하여 double-antibody sandwich ELISA에 의해서 측정하였다. IgG (chicken IgG ELISA quantitation set, E30-104), IgA (chicken IgA ELISA quantitation set, E30-103) 및 IgM (chicken IgM ELISA quantitation set, E30-102)를 이용하여 반응시킨 다음 precision microplate reader (Molecular Devices, Inc., New York, USA)에 의해서 450 nm에서 흡광도를 측정하여 항체의 양을 계산하였다.

### 맹장 미생물

희생 후 곧 바로 장내 미생물을 조사하기 위해서 혐기적인 방법으로 맹장을 채취한 후 얼음 위에서 유지하였다. 맹장은 분석 시까지 AnaeroGen sachets (Oxoid, Hampshire, UK)가 갖춰진 sealed anaerobic jars (Oxoid, Basingstoke, UK)에서 혐기상태로 유지하였다. 즉시, 맹장 내용물을 멸균된 혐기성 생리식염수(phosphorus buffered saline; PBS 0.1 M, pH 7.0)로 혼합하여 10배 희석(1:9, wt/vol)하였다. 계수를 위하여 동일한 식염수에서 일련의 희석을 계속하였다. 모든 질차는 anaerobic chamber (5% hydrogen, 5% CO<sub>2</sub>, balanced nitrogen)에서 혐기상태로 이루어졌다. 배양은 희석된 10<sup>-2</sup>~10<sup>-7</sup>에서 각각 0.1 ml 씩을 분주하여 멸균된 평판 선택배지 즉 *Lactobacillus* SPP. (MRS agar, Oxoid, Basingstoke, UK); *Bifidobacterium* SPP. (bifidobacterium selective agar, BIM-25 medium); *Salmonella* (SS agar Difco, CM0099); *Escherichia coli* (McConkey Purple agar)에서 실행하였다. *Salmonella*와 *Escherichia coli*는 37°C에서 24시간 호기배양하였고, *Lactobacillus* SPP.와 *Bifidobacterium* SPP.는 AnaeroGen sachets가 갖춰진 sealed anaerobic jars를 이용한 혐기상태 하에

서 37°C, 48시간 정치배양한 후, 각각의 평판배지에서 미생물 카운터로써 총균수를 조사하였다. 모든 미생물 균락의 수는 맹장내용물 g당 균수(CFU, colony-forming unit/g 맹장내용물)로써 상용로그를 취하여 제시하였다.

### 통계처리

자료는 SAS software의 GLM procedure를 사용하여 분산 분석(ANOVA)에 의해서 분석하였고 Duncan's multiple range test에 의해서 모든 자료에 대한 통계적인 유의차는 p<0.05에서 검정하였다[22].

## 결과 및 고찰

적송수피추출물 첨가사료를 섭취한 닭에서 증체량, 사료섭취량 및 사료요구율은 Table 2에서 보는 바와 같다. 전체 성장기간 동안, 적송수피추출물 80 ppm 첨가구에서 브로일러의 증체량, 사료섭취량은 항생제 첨가구, 적송수피추출물 65 ppm 첨가구 및 대조구에 비해서 높았으며 사료요구율은 유의하게 낮았다. 전체 성장기간 동안 적송수피추출물 65 ppm 첨가구에서 브로일러의 증체량, 사료섭취량 및 사료요구율은 항생제 첨가구와 유의차가 없었으며 이 두 처리구는 대조구와 비교할 때 유의하게 높았다. 본 연구결과는 이전의 연구결과 [15]와 비교할 때 브로일러의 성장능력에 있어서 브로일러 사료 내 80 ppm의 적송수피추출물 첨가구가 항생제 첨가구 및 대조구에 비해서 유의하게 향상될 수 있음을 나타내고 있다. 이전의 연구[15]에서 브로일러 사료 내 50 ppm의 적송수피추출물을 첨가한 브로일러 성장능력은 항생제 첨가구와 유사한 것으로 나타났으나, 적송수피추출물 100 ppm 첨가 시 오히려 증체효과가 떨어진 것으로 보고하였다. 본 연구를 통하여 나타난 새로운 사실은 브로일러의 성장능력 향상을 위한 사료용 항생제 대체제로써 80 ppm의 적송수피추출물을 첨가, 급여

Table 2. Effect of dietary red pine bark extracts on growth performance of broiler chickens

| Item                  | Groups <sup>1</sup> |                    |                    |                    | SEM     |
|-----------------------|---------------------|--------------------|--------------------|--------------------|---------|
|                       | Control             | Antibiotics        | RE 65 ppm          | RE 80 ppm          |         |
| Body weight, g        |                     |                    |                    |                    |         |
| d 1 to 21             | 721 <sup>c</sup>    | 748 <sup>b</sup>   | 751 <sup>b</sup>   | 780 <sup>a</sup>   | 6.8009  |
| d 22 to 35            | 1,049 <sup>c</sup>  | 1,065 <sup>b</sup> | 1,065 <sup>b</sup> | 1,088 <sup>a</sup> | 6.0173  |
| d 1 to 35             | 1,770 <sup>c</sup>  | 1,813 <sup>b</sup> | 1,816 <sup>b</sup> | 1,868 <sup>a</sup> | 11.9807 |
| Feed intake, g        |                     |                    |                    |                    |         |
| d 1 to 21             | 938 <sup>b</sup>    | 952 <sup>b</sup>   | 955 <sup>b</sup>   | 981 <sup>a</sup>   | 5.7703  |
| d 22 to 35            | 1,999 <sup>c</sup>  | 1,989 <sup>b</sup> | 1,984 <sup>b</sup> | 2,015 <sup>a</sup> | 4.8707  |
| d 1 to 35             | 2,937 <sup>b</sup>  | 2,941 <sup>b</sup> | 2,939 <sup>b</sup> | 2,996 <sup>a</sup> | 3.9802  |
| Feed conversion ratio |                     |                    |                    |                    |         |
| d 1 to 21             | 1.30 <sup>a</sup>   | 1.27 <sup>b</sup>  | 1.27 <sup>b</sup>  | 1.26 <sup>b</sup>  | 0.0051  |
| d 22 to 35            | 1.91 <sup>a</sup>   | 1.87 <sup>b</sup>  | 1.86 <sup>bc</sup> | 1.85 <sup>c</sup>  | 0.0040  |
| d 1 to 35             | 1.66 <sup>a</sup>   | 1.62 <sup>b</sup>  | 1.62 <sup>b</sup>  | 1.60 <sup>c</sup>  | 0.0020  |

<sup>1</sup>RE: Red pine bark extracts. <sup>a,b</sup>Means within a row without a common superscripts are significantly different ( $\mu$ <0.05).

해주는 것이 바람직한 것으로 나타났다. 적송수피추출물 첨가구에서 성장능력이 높게 나타난 점은 소나무 껍질에 함유된 항산화활성, 면역증진 및 항균활성물질의 작용에 기인하여 동물의 건강이 증진됨으로써 나타난 효과로 추정해 볼 수 있다 [2,25]. Torras 등[25]은 프랑스 해송추출물인 피크노제놀의 항산화활성은 비타민 E, 비타민 C 및 포도씨추출물에 비해서 월등히 높았으며, 피크노제놀은 유해세균의 성장을 강하게 억제하며 유익한 미생물의 성장을 촉진하는 효과가 높은 것으로 보고하였다. Dickens 등[8]은 식물에서 추출한 허브를 동물사료에 첨가하면 그 속에 포함되어 있는 여러 가지 화학물질이 동물의 건강에 도움을 줄 수 있고, 동물이 이러한 추출물을 섭취하였을 때 화학물질 또는 피토키미칼추출물은 곤충, 곰팡이, 박테리아 및 바이러스에 대한 스스로를 보호할 수 있는 능력을 발전시키는 것으로 보고하였다. 이와 같은 사례로 볼 때 적송수피추출물 80 ppm 첨가사료를 섭취한 브로일러에서 항생제 첨가구 및 대조구에 비하여 맹장 내 유익한 미생물이 증가하였고 유해한 미생물이 낮아짐으로써(Table 5) 브로일러의 성장능력이 증진되었을 것으로 생각할 수 있다. 또한, 2개의 서로 다른 수준의 적송수피추출물 첨가사료를 섭취한 브로일러에서 면역기관의 지수가 증가되었고(Table 3) 혈액 면역물질의 함량이 높았던 점(Table 4) 역시 브로일러의 면역능력을 향상시켜서 체중증가를 촉진하였을 것으로 볼 수 있다.

적송수피추출물 첨가사료를 섭취한 닭에서 도체특성은 면역기관 무게 및 Table 3에서 보는 바와 같다. 적송수피추출물을 80 ppm 첨가구의 브로일러에서 도체중, 도체율, 가슴살 및 다리살 무게는 항생제 첨가구 및 대조구에 비해서 통계적으로 유의하게 높았다. 적송수피추출물 65 ppm 첨가구의 브로일러에서 도체중, 도체율, 가슴살 및 다리살 무게는 항생제 첨가구와 유사하게 나타났으며 이 두 처리구는 대조구와 비교할 때 유의하게 높았다. 브로일러의 복강지방은 서로 다른 2개 수준의 적송수피추출물 첨가구가 항생제 첨가구 및 대조구에 비해서 유의하게 낮았다. 적송수피추출물 65 ppm 및 80 ppm 첨가구의 복강지방은 대조구와 비교할 때 각각 25.15%, 30.54% 감소하였고 항생제 첨가구와 비교할 때 각각 21.87%, 27.50% 감소한 것으로 나타났으나, 항생제 첨가구와 대조구 간 복강지방 감소율은 차이가 없었다. 브로일러의 면역기관 무게는 적송수피추출물 80 ppm 첨가구가 항생제 첨가구 및 대조구에 비해서 흉선, F낭, 비장은 통계적으로 유의하게 높았고, 적송수피추출물 65 ppm 첨가구와 항생제 첨가구는 서로 비슷하였으며 이 두 처리구는 대조구에 비해서 유의하게 높았다. 브로일러 사료 내 적송수피추출물의 첨가, 급여로 복강지방이 낮아졌음은 혈액 지질수준이 감소(Table 4)한 점과 관련이 있을 것으로 사료된다. 이는 소나무 껍질에 함유된 폴리페놀계 성분 기인하였을 것으로 볼 수 있으며 소나무껍질추출물의

Table 3. Effects of dietary red pine bark extracts on weight of immune organs and carcass characteristics of broiler chickens

| Item <sup>2</sup>       | Groups <sup>1</sup> |                    |                    |                    | SEM    |
|-------------------------|---------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------|
|                         | Control             | Antibiotics        | RE 65 ppm          | RE 80 ppm          |        |
| Carcass weight, g       | 1,287 <sup>c</sup>  | 1,328 <sup>b</sup> | 1,330 <sup>b</sup> | 1,377 <sup>a</sup> | 7.8271 |
| Dressing percentage, %  | 72.71 <sup>c</sup>  | 73.29 <sup>b</sup> | 73.26 <sup>b</sup> | 73.76 <sup>a</sup> | 0.1067 |
| Breast muscle weight, % | 22.71 <sup>c</sup>  | 23.15 <sup>b</sup> | 23.27 <sup>b</sup> | 23.70 <sup>a</sup> | 0.1089 |
| Thigh muscle weight, %  | 18.20 <sup>c</sup>  | 18.51 <sup>b</sup> | 18.53 <sup>b</sup> | 19.08 <sup>a</sup> | 0.0892 |
| Abdominal fat weight, % | 1.67 <sup>a</sup>   | 1.60 <sup>a</sup>  | 1.25 <sup>b</sup>  | 1.16 <sup>b</sup>  | 0.0225 |
| Bursa weight, %         | 0.12 <sup>c</sup>   | 0.16 <sup>b</sup>  | 0.17 <sup>b</sup>  | 0.20 <sup>a</sup>  | 0.0118 |
| Spleen weight, %        | 0.04 <sup>c</sup>   | 0.09 <sup>b</sup>  | 0.09 <sup>b</sup>  | 0.18 <sup>a</sup>  | 0.0198 |
| Thymus weight, %        | 0.12 <sup>c</sup>   | 0.16 <sup>b</sup>  | 0.17 <sup>b</sup>  | 0.20 <sup>a</sup>  | 0.0207 |

<sup>1</sup>RE: Red pine bark extracts. <sup>2</sup>% of breast and thigh muscle weight to carcass weight, % of abdominal fat, bursa, spleen and thymus weights to live weight.

<sup>a,b</sup>Means within a row without a common superscripts are significantly different ( $p < 0.05$ ).

Table 4. Effects of dietary red pine bark extracts on immunoglobulins and blood lipids of broiler chickens

| Item                     | Groups <sup>1</sup> |                    |                    |                    | SEM    |
|--------------------------|---------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------|
|                          | Control             | Antibiotics        | RE 65 ppm          | RE 80 ppm          |        |
| Triacylglyceride, mg/dl  | 136.3 <sup>a</sup>  | 133.9 <sup>a</sup> | 100.5 <sup>b</sup> | 98.55 <sup>b</sup> | 5.9871 |
| Total cholesterol, mg/dl | 88.76 <sup>a</sup>  | 87.95 <sup>a</sup> | 58.32 <sup>b</sup> | 57.52 <sup>b</sup> | 0.5602 |
| LDL cholesterol, mg/dl   | 32.66 <sup>a</sup>  | 32.91 <sup>a</sup> | 23.78 <sup>b</sup> | 23.64 <sup>b</sup> | 0.5786 |
| HDL cholesterol, mg/dl   | 19.55 <sup>b</sup>  | 19.71 <sup>b</sup> | 25.63 <sup>a</sup> | 26.10 <sup>a</sup> | 0.3097 |
| IgG, µg/ml               | 45.76 <sup>c</sup>  | 79.42 <sup>b</sup> | 80.17 <sup>b</sup> | 118.6 <sup>a</sup> | 8.7015 |
| IgM, µg/ml               | 38.97 <sup>c</sup>  | 44.21 <sup>b</sup> | 45.05 <sup>b</sup> | 66.05 <sup>a</sup> | 4.0087 |
| IgA, µg/ml               | 30.50 <sup>c</sup>  | 33.31 <sup>b</sup> | 32.83 <sup>b</sup> | 50.83 <sup>a</sup> | 3.0197 |

<sup>1</sup>RE: Red pine bark extracts.

<sup>a,b</sup>Means within a row without a common superscripts are significantly different ( $p < 0.05$ ).

폴리페놀계 성분은 지질합성 억제 및 지질분해 촉진 효과가 큰 것으로 보고되었다[14]. 소나무껍질추출물은 지방조직에서 지방구의 축적을 억제하며[11], 베타-수용체 중재활성의 자극을 경유하여 강력한 지질에 대한 분해효과를 갖는 것으로 보고되었다[12-17]. 본 연구결과 나타난 새로운 발견은 닭 사료 내 적송수피추출물의 첨가, 급여로 면역기관인 흉선, 비장, F낭의 성장이 유의하게 자극받아서 이들의 무게가 증가하였음을 관찰하였다는 점이다. 이러한 면역기관의 무게증가는 혈청 면역단백질(Table 4)을 증가시키는 것으로 나타났다. 조류에서 흉선, 비장, F낭은 항체생산을 위한 중요한 면역기관이다. 흉선의 무게 증가에 관한 자료는 적송수피추출물이 브로일러에서 흉선세포의 증식능력을 증가시켰을 것으로 추정되며 혈청 면역단백질 IgG의 생산에 있어서 일정한 증가를 유지할 수 있음을 나타내고 있다. 면역기관의 발육은 면역체계에서 면역능력을 발휘하는 기초가 된다. 가금의 면역기관은 쥐 및 생쥐와 약간 다르다. 브로일러에서 F낭은 B-림프구의 발달 및 기능적인 성숙연구에 사용된다. 흉선과 F낭은 닭이 완전히 성숙하면 줄어들고, 이후에 닭의 면역반응은 비장과 상피조직의 림프절에 의존한다[26]. Grimm 등[10]은 소나무껍질 추출물이 면역체계 반응에 의해서 야기된 유해한 염증을 방지할 수 있다고 했으며, 본 연구에서 나타난 면역기관 무게의 증가로 인하여 브로일러의 염증억제에 기인한 성장능력이 증진되었을 것으로 생각해 볼 수 있다.

적송수피추출물 첨가사료를 섭취한 브로일러의 혈액 TAG, TC 및 LDL-C 함량은 Table 4에서 보는 바와 같다. 브로일러의 혈액 TAG, TC 및 LDL-C 함량은 2개의 서로 다른 수준의 적송수피추출물 첨가구가 대조구, 항생제 첨가구에 비해서 낮았으며 처리구간 통계적인 유의차가 있었다. HDL-C 함량은 2개의 서로 다른 수준의 적송수피추출물 첨가구가 대조구, 항생제 첨가구에 비해서 높았으며 통계적인 유의차가 있었다. TAG 감소율은 2개의 서로 다른 수준의 적송수피추출물 첨가구가 대조구, 항생제 첨가구와 비교할 때 각각 27.55%, 26.40%까지 감소하였고 TC는 35.20%, 34.60%, LDL-C는 27.62%, 28.17%까지 각각 감소하는 경향을 나타냈다. 본 연구에서 조사하지는 않았지만 적송수피추출물 첨가사료를 섭취한 닭고기의 콜레스테롤 역시 낮았을 것으로 추정할 수 있다. 동물에서 혈액 콜레스테롤 수준은 근육조직 및 계란으로 곧 바로 이행된 후 생체 내 축적된다는 점은 널리 알려진 사실이다. Hong 등[13]

은 산란계 사료 내 서로 다른 수준의 적송수피추출물을 첨가하였을 때 혈액 총콜레스테롤과 LDL-C 함량을 유의하게 낮출 수 있음을 보고하였으며 본 결과와 맥락을 같이한다. 그들은 낮아진 혈액 콜레스테롤은 궁극적으로 계란의 콜레스테롤을 낮추는 데 기여한 것으로 보고하였으며, 측정된 계란 콜레스테롤 값을 대란(60 g) 기준으로 환산하였을 때 적송수피추출물 0.2% 첨가구가 낮았다고 하였다. 적송수피추출물의 급여에 의해서 혈액지질이 낮아진 이유는 소나무껍질에 함유된 폴리페놀이 기인한 것으로 볼 수 있으며 본 연구결과는 연구자들의 보고와 비슷하였다[6,14]. Ikeguchi 등[14]은 고콜레스테롤과 함께 소나무껍질 추출물의 혼합사료를 급여한 쥐에서 분으로 배설되는 콜레스테롤과 담즙산을 증가시켰으므로 혈액과 간 TC 수준은 감소하였고 HDL-C 수준은 증가하였다고 보고했다. Devaraj 등[6]은 사람에서 프랑소 해송껍질 추출물 피크노제놀을 섭취한 이후 혈액 LDL C의 감소와 동시에 HDL C의 유의적인 증가를 보고하였다. 그들은 피크노제놀을 섭취 후 LDL 산화 및 혈액 지질과산화물에서 유의차가 없었다고 하였으며, 피크노제놀이 혈액의 항산화능력을 유의하게 높이며 지질대사를 개선하는 효과를 갖는 것으로 보고하였다.

적송수피추출물 첨가사료를 섭취한 브로일러의 혈액 면역물질은 Table 4에서 보는 바와 같다. IgG는 2개의 서로 다른 수준의 적송수피추출물 첨가구가 항생제 및 대조구와 비교할 때 높았으며 통계적인 유의차가 있었다. IgG는 2개의 서로 다른 수준의 적송수피추출물 첨가구가 대조구, 항생제구에 비해서 각각 159.18%, 49.33%까지 증가하였으며 항생제 첨가구는 대조구에 비해서 유의하게 높았다. IgA, IgM은 대조구와 비교할 때 2개의 서로 다른 수준의 적송수피추출물 첨가구와 항생제 첨가구가 높았으나 적송수피추출물 첨가구와 항생제 첨가구 사이의 차이는 없었다. 적송수피추출물 첨가구에서 혈액 면역물질이 증가한 점은 면역기관 세포증식(Table 3)에 기인한 것으로 볼 수 있다.

적송수피추출물 첨가구의 브로일러 맹장내용물에서 조사한 미생물변화는 Table 5에서 보는 바와 같다. Bifidobacteria, Lactobacilli는 2개의 서로 다른 수준의 적송수피추출물 첨가구가 항생제 첨가구 및 대조구에 비해서 높았으며 통계적인 유의차가 있었다. Escherichia coli, Salmonella는 2개의 서로 다른 수준의 적송수피추출물 첨가구가 대조구 및 항생제 첨가구에 비해서 낮았고 항생제 첨가구는 대조구와 비교할 때 낮았

Table 5. Effects of dietary red pine bark extracts on cecal bacterial populations in broiler chickens (log<sub>10</sub> cfu/g)

| Item                  | Groups <sup>1</sup> |                   |                   |                    | SEM    |
|-----------------------|---------------------|-------------------|-------------------|--------------------|--------|
|                       | Control             | Antibiotics       | RE 65 ppm         | RE 80 ppm          |        |
| <i>Bifidobacteria</i> | 7.04 <sup>c</sup>   | 8.13 <sup>b</sup> | 8.17 <sup>b</sup> | 10.97 <sup>a</sup> | 0.4036 |
| <i>Lactobacillus</i>  | 7.12 <sup>c</sup>   | 8.07 <sup>b</sup> | 8.10 <sup>b</sup> | 9.83 <sup>a</sup>  | 0.3190 |
| <i>E. coli</i>        | 9.47 <sup>a</sup>   | 6.74 <sup>b</sup> | 6.52 <sup>b</sup> | 4.67 <sup>c</sup>  | 0.5643 |
| <i>Salmonella</i>     | 8.85 <sup>a</sup>   | 7.04 <sup>b</sup> | 6.51 <sup>c</sup> | 4.23 <sup>d</sup>  | 0.5572 |

<sup>1</sup>RE: Red pine bark extracts.

<sup>a,b,c,d</sup>Means within a row without a common superscripts are significantly different ( $p < 0.05$ ).

으며 각 처리구 간 유의차가 있었다. 적송수피추출물 첨가구의 브로일러에서 항생제 첨가구 및 대조구와 비교할 때 맹장 내 유익한 미생물로 알려진 *Bifidobacteria*, *Lactobacilli* 의 수준이 높았고 유해한 미생물인 *Escherichia coli*, *Salmonella*는 낮았던 점은 소나무껍질 추출물에 함유된 강력한 항균물질인 폴리페놀에 기인한 것으로 볼 수 있다[1]. *Bifidobacteria*와 *Lactobacilli*는 인간과 동물의 장에서 외부로부터 들어온 병원성 미생물에 대한 저항성을 높여줌과 동시에 장 내 균총의 균형을 적절하게 유지해주고 젖산의 생성과 함께 면역력을 증가시켜줌으로써 숙주의 건강증진에 기여하는 유익한 미생물이며, *Escherichia coli*와 *Salmonella*는 대표적인 식중독균임과 동시에 잠재적인 병원성미생물로서 장에서 이들의 군수가 증가할 경우 설사유발 및 면역력감소를 통하여 숙주의 성장에 해로운 미생물로 잘 검토되었다[9,19]. Torras 등[25]은 프랑스 소나무껍질 해송추출물인 피크노제놀은 유해세균의 성장을 강하게 억제하며 유익한 미생물의 성장을 촉진하는 효과가 높은 것으로 보고하였다. 적송수피추출물 첨가사료를 섭취한 브로일러에서 *Escherichia coli*, *Salmonella* 군수의 감소는 맹장에서 *Bifidobacteria*, *Lactobacilli* 수준이 높았던 점과 관련이 있다. *Bifidobacterium*과 *Lactobacillus species*의 장 내 균총은 영양소와 장 부착부위에 대하여 잠재적인 병원체와 경쟁하고 있기 때문에 장 내 병원균 집단을 낮추며, 또한, *Bifidobacterium* 및 *Lactobacillus species*는 *Escherichia coli*에 대하여 활성적인 물질의 박테리오파지를 분비하며, *Bifidobacterium species*는 유기산과 기타 미생물에 대한 기질을 생성한다. *Lactobacillus species*의 발효로부터 생성된 대부분의 유기산은 젖산과 초산으로서 이러한 모든 기질은 병원균에 의한 장 균락화를 억압할 수 있다 [9]. 적송수피추출물 첨가구에서 나타난 맹장 *Escherichia coli*, *Salmonella* 군수의 유의적인 감소는 바로 이러한 기전의 일부라고 생각할 수 있다. 본 연구결과는 적송수피추출물을 섭취한 브로일러의 맹장에서 건강을 증진시키는 *Bifidobacterium*과 *Lactobacillus species*의 성장을 선택적으로 자극하는 효과가 나타났으며, 이익이 되지 않거나 또는 유해한 병원체 *Escherichia coli*, *Salmonella*의 증식을 억제하는 새로운 사실을 발견하였다. 결론적으로, 브로일러 사료 내 적송수피추출물의 첨가는 맹장 미생물에 있어서 *Bifidobacterium*과 *Lactobacillus species*의 집단을 증가시켰고, *Escherichia coli*, *Salmonella*의 군수를 감소하였으며, 주요 면역기관인 비장, 흉선, F낭세포의 증식능력을 개선할 수 있었으며 혈청 면역단백질 IgG 함량을 높일 수 있었다. 따라서 적송수피추출물이 세균에 대한 항생제 저항성의 위험을 낮추고 안전한 가공생산물 생산하는 데 있어서 유기축산을 위한 천연 항균성장촉진제로서 활용될 수 있을 것으로 생각된다.

### 감사의 글

본 연구수행을 위해 시료를 제공해주신 뉴트라팜(주), 연구에

도움을 준 김경현, 조미영, 박상오 학생 그리고 강원대학교 동물생명과학대학 동물자원공동연구소의 일부 지원에 감사드립니다.

### References

- Ahn, J., I. U. Grun, and A. Mustapha. 2007. Effects of plant extracts on microbial growth, color change, and lipid oxidation in cooked beef. *Food Microbiol.* **24**, 7-14.
- 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.
- Choi, J. H., M. K. Choi, O. T. Han., S. J. Han, S. J. Chung, C. K. Shim, and D. D. Kim. 2007. Evaluation of skin absorption of catechin from topical formulations containing Korean pine bark extract (pinexol®). *J. Kor. Pharm. Sci.* **37**, 359-364.
- 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.
- Cowan, M. M. 1999. Plant products as antimicrobial agents. *Clin. Microbiol. Rev.* **12**, 564-582.
- Devaraj, S., S. Vega-López, N. Kaul, F. Schönlaue, 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.
- Dibner, J. J. and J. D. Richards. 2005. Antibiotic growth promoters in agriculture: History and mode of action. *Poult. Sci.* **84**, 634-643.
- Dickens, J. A., M. E. Berrang, and N. A. Cox. 2000. Efficacy of an herbal extract on the microbiological quality of broiler carcass during a simulated chill. *Poult. Sci.* **79**, 1200-1203.
- Gibson, G. R. and X. Wang. 1994. Bifidogenic properties of different types of fructooligosaccharides. *Food Microbiol.* **11**, 491-498.
- Grimm, T., Z. Chovanová, J. Muchová, K. Sumegová, A. Liptáková, Z. Ďuračková, and P. Högger. 2006. Inhibition of NF-κB activation and MMP-9 secretion by plasma of human volunteers after ingestion of maritime pine bark extract (Pycnogenol). *J. Inflammation* **3**, 1-8.
- Hasegawa, N. 2000. Inhibition of lipogenesis by pycnogenol. *Phytotherapy Res.* **14**, 472-473.
- Hasegawa, N. 1999. Stimulation of lipolysis by pycnogenol. *Phytotherapy Res.* **13**, 19-620.
- 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. *Kor. J. Organic Agric.* **16**, 205-218.
- Ikeguchi, M., T. Masahito, T. Atsushi, and T. Kinya. 2006. Effects of pine bark extract on lipid metabolism in rats. *J. Japan Soc. Nutr. Food Sci.* **59**, 89-95.
- Kim, B. W., J. S. Oh, O. T. Han, S. O. Park, and B. S. Park. 2009. Effect of pitamin as an antibiotics replacement for or-

- ganic livestock feed additives in broiler chickens. *Kor. J. Organic Agric.* **17**, 111-125.
16. Lee, O. H., K. Y. Kim, M. K. Jang, K. H. Yu, S. G. Kim, M. H. Kim, and S. H. Lee. 2008. Evaluation of proanthocyanidin contents in total polyphenolic compounds of pine (*pinus densiflora*) needle extracts and their antioxidative activities. *J. Life Sci.* **18**, 213-219.
  17. Mochizuki, M. and N. Hasegawa. 2004. Pycnogenol stimulates lipolysis in 3T3-L1 cells via stimulation of  $\beta$ -receptor mediated activity. *Phytotherapy Res.* **18**, 1029-1030.
  18. National Research Council. 1994. Nutrient Requirements of Poultry. 9th rev. eds., National Academy Press, Washington, DC.
  19. Orrhage, K. and C. E. Nord. 2000. Bifidobacteria and lactobacilli in human health. *Drugs Exp. Clin. Res.* **26**, 95-111.
  20. Ozlem, Y. C., M. Ganzera, I. Akgun, C. Sevimli, K. Korkmaz, and E. Bedir. 2009. Determination of polyphenolic constituents and biological activities of bark extracts from different *Pinus* species. *J. Sci. Food Agric.* **89**, 1339-1345.
  21. Rohdewald, P. A. 2002. A review of the French maritime pine bark extract (pycnogenol), an herbal medication with a diverse clinical pharmacology. *Int. J. Clin. Pharmacol. Ther.* **40**, 158-168.
  22. SAS. 2004. SAS/STAT User's Guide: Statistics. SAS Inst. Inc., Cary, NC.
  23. Scot PIL training manual. 1994. Glasgow Univ. UK.
  24. Silliman, K., J. Parry., L. L. Kirk, and R. L. Prior. 2003. Pycnogenol does not impact the antioxidant or vitamin C status of healthy young adults. *J. Am. Diet Assoc.* **103**, 67-72.
  25. Torras, M. A., C. A. Faura, F. Schonlau, and P. Rohdewald. 2005. Antimicrobial activity of pycnogenol. *Phytotherapy Res.* **19**, 647-648.
  26. 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**, 1741-1748.

#### 초록 : 국산 적송수피 추출물의 브로일러에 대한 항생제 대체효과

박 병 성\*

(강원대학교 동물생명공학과)

본 연구는 브로일러의 성장능력, 도체특성, 혈액지질, 면역능력 및 맹장미생물 변화에 관한 국산 적송수피추출물의 항생제 대체효과를 조사하기 위하여 수행하였다. 실험처리구는 대조구, 항생제 첨가구, 적송수피추출물 65 ppm 및 80 ppm 첨가구 등 4개로 구분하여 완전임의배치였다. 브로일러의 성장능력, 도체특성, 도체중, 도체율, 가슴살과 다리살 무게는 적송수피추출물 80 ppm의 첨가구가 대조구, 항생제 첨가구와 비교할 때 유의하게 높았다. 복강지방은 브로일러 사료 내 2개의 서로 다른 수준의 적송수피추출물 첨가구가 대조구 및 항생제 첨가구에 비해서 유의하게 감소하였으나, 흉선, 비장 및 F낭 등 면역기관 무게는 적송수피추출물 80 ppm 첨가구에서 유의하게 증가하였다. 브로일러의 혈액 중성지방과 총콜레스테롤은 브로일러 사료 내 2개의 서로 다른 수준의 적송수피추출물 첨가구가 대조구 및 항생제 첨가구와 비교할 때 유의하게 낮았다. 혈액 IgG는 브로일러 사료 내 적송수피추출물 80 ppm 첨가구가 대조구 및 항생제 첨가구에 비해서 유의하게 증가하였다. 브로일러 맹장 내 *Bifidobacterium*, *Lactobacillus* 군수는 적송수피추출물 80 ppm 첨가구가 대조구 및 항생제 첨가구에 비해서 높았으나 *Escherichia coli*, *Salmonella* 군수는 감소하였으며 처리구 간 통계적인 유의차가 인정되었다. 본 연구결과는 브로일러 사료 내 항생제 대체제로서 국산 적송수피추출물 80 ppm을 첨가, 급여해주면 브로일러의 성장능력, 도체특성, 면역능력 향상 및 유익한 맹장미생물의 활성을 높여줄 수 있음을 시사해준다.