한국가금학회지 제 42권 제 2호, 147~156 (2015)
Korean J. Poult. Sci. Vol.42, No.2, 147~156 (2015)
http://dx.doi.org/10.5536/KJPS.2015.42.2.147

Resveratrol의 첨가가 육계의 생산성, 혈액 생화학 특성, 혈액 내 면역글로불린과 혈액 내 항산화 인자에 미치는 영향

김동욱[1a], 홍의철[1a], 지상윤[1], 이왕식[2], 방한태[1], 강환구[1], 김현수[3], 김상호[1†]
[1]농촌진흥청 국립축산과학원, [2]제주대학교 생명자원과학대학, [3](주)시내바이오

Effects of Dietary Resveratrol on Growth Performance, Blood Biochemical Parameter, Immunoglobulin, and Blood Antioxidant Activity in Broiler Chicks

Dong-Wook Kim[1a], Eui-Chul Hong[1a], Sang-Yoon Ji[1], Wang-Shik Lee[2], Han-Tae Bang[1], Hwan-Ku Kang[1], Hyun-Soo Kim[3] and Sang-Ho Kim[1†]
[1]*National Institute of Animal Science, RDA, Seonghwan 330-801, Korea*
[2]*College of Applied Life Science, Jeju National University, Jeju 690-756, Korea*
[3]*SINE-Bio, Co., Ltd., Seongnam 462-721, Korea*

ABSTRACT This study was conducted to investigate the effects of dietary resveratrol on growth performance, blood biochemical parameters, immunoglobulin, and blood antioxidant activity in broiler chicks. Three hundred twenty one-day old broiler chicks were divided 8 treatments (C(−), basal diet; C(+), basal diet with antibiotics; DL-α-tocopherol 20 IU; DL-α-tocopherol 200 IU; resveratrol 20 ppm; resveratrol 200 ppm; methylated resveratrol 20 ppm; methylated resveratrol 200 ppm) with 4 replicates and 10 birds per replicate. Birds were reared for 35 days, and, at the age of 35 days, eight birds of average weight from each replicate were selected for blood samples collection. There were no significant differences on feed intake and feed conversion ratio. But final body weight and weight gain in antibiotics, resveratrol and methylated resveratrol treatments were significantly higher than no-antibiotics and α-tocopherol treatments ($P<0.05$). There were no significant differences on carcass rate and relative organ weights among treatments, however, weights of liver and bursa of februcius in antibiotics, resveratrol and methylated resveratrol treatment were lower than other treatments. Weight of pancreas was high in resveratrol and methylated treatment. On the cecal microflora (total microbes, Coliform bacteria, *Salmonella* spp., and lactic acid bacteria), these in resveratrol and methylated resveratrol treatments didn't show the differences compared with those in no-antibiotics, antibiotics, and α-tocopherol treatments. In the serum, there were no significant differences on creatinine, blood urea nitrogen (BUN), total protein, albumin, globulin, alanine aminotransferase (ALT) and aspartate aminotransferase (AST) among treatments, though globulin contents of reseveratrol 200 ppm and methylated resveratrol 20 ppm treatments decreased compared to those of other treatments. Immunoglobulin (IgA, IgG and IgM) were significantly decreased in antibiotics and resveratrol treatments compared to that of no-antibiotics and α-tocopherol treatments ($P<0.05$). Superoxide dismutase (SOD) like activity tended to increase in resveratrol groups ($P<0.05$), however, there was no significant difference on malondiakdehyde (MDA) content among treatments. In conclusion, these results showed that resveratrol derived from mulberry can be used as alternative of antibiotics through improvement of broiler's performance and maintain of health.

(Key words: resveratrol, broiler, blood biochemical parameter, immunoglobulin, blood antioxidant activity)

서 론

가축 사료 내에 성장촉진용 항생제의 사용은 가축의 생산성 극대화, 고밀도 사육 및 열악한 사육 환경으로 인한 질병 발생 예방을 목적으로 하고 있다. 그러나 최근까지 밝혀진 연구에 의하면 축산물 내 항생제 잔류 및 내성균 출연 등의

[a] First two authors equally contributed to this work.
[†] To whom correspondence should be addressed : kims2051@korea.kr

문제가 대두되고 있어 항생제의 사용이 제한되고 있다(Lee et al., 2001). 특히 덴마크나 스웨덴과 같은 유럽 국가들은 지난 몇 년 동안 성장제로서의 항생제 사용을 금지 또는 극도로 제한하여 왔으나, 무항생제 사육 시 가축 생산성 저하 및 질병 발생 증가의 문제를 안고 있어, 이에 대한 대응책이 시급한 실정이다.

잠사업에서 누에의 먹이로 이용되는 뽕나무에는 다양한 종류의 생리활성물질이 함유되어 있으나, 먹이로 이용되고 남은 뽕잎 및 뽕나무 가지는 제대로 활용되지 못한 채 폐기되고 있다. 잠사업 부산물인 뽕잎 및 뽕나무 가지에는 1-deoxynojirimycin(Yoshikummi, 1994), γ-aminobutyric acid(Kim et al., 2001), rutin(Shin et al., 1995; Kim et al., 1995) 등 다양한 유용물질이 존재하여 그 활용 가치가 풍부하나, 대부분 폐기되고 있는 실정이다. 특히 뽕나무에 풍부한 resveratrol은 항산화, 항암, 항염, 항바이러스, 신경 안정, 노화 방지 등의 효능을 발휘하는 생리활성물질로서 가축이 이를 섭취함으로써 신진대사 촉진, 면역력 강화 등으로 건강을 증진시킬 수 있으며, 식욕 증진, 소화율 개선 등을 통해 생산성을 향상시킬 수 있다(Kim et al., 2005).

Resveratrol(*trans*-3,5,4'-trihydroxystilbene, $C_{14}H_{12}O_3$)은 polyphenoic 화합물 중 stilbene 계열로 4-coumaroyl-CoA와 malonyl-CoA로부터 stilbene synthase라는 효소에 의해 합성된다(Dang et al., 2003). Resveratrol은 식물체가 UV 조사, 금속이온 혹은 *Botrytis cinerea*나 *Plasmopara viticoid*에 의한 감염 등 생물 등 생물학적, 비생물학적 스트레스에 대해 자신을 방어하기 위하여 만드는 항독성 물질(stilbene phytoalexin)로서(Dixon, 2001), 포도(Jeandel et al., 1991), 땅콩(Sanders et al., 2000), 소나무 등에 함유되어 있으며, 곶감이나 포도의 표면에 흰색 분말 형태로서 존재한다.

따라서 본 연구는 육계사료 내 항생제 및 resveratrol과 methylated resveratrol(각각 20과 200 ppm), DL-α-tocopherol을 각각 20과 200 IU 급여한 육계의 생산성, 도체율 및 조직중량, 맹장 미생물 균총, 혈액 생화학적 성상, 면역, SOD 유사활성 및 혈액 항산화 활성을 조사하기 위하여 수행하였다.

재료 및 방법

1. Resveratrol과 Methylated Resveratrol 추출

본 연구에서 공시재료로 이용된 resveratrol의 추출 방법은 다음과 같다. 건조한 뽕나무 1 kg을 3 mm 이하로 파쇄하여 에탄올 1,000 mL를 첨가한 다음, 72시간 동안 빛을 차단하고 침지시킨 후 실온에서 추출하고, 상기 추출물을 감압여과하고 잔류물은 동일한 방법으로 2회 더 반복하여 추출하였다. 얻어진 여과액은 모두 합쳐 40℃에서 감압 농축한 후 −50℃에서 동결 건조하여 에탄올 추출물(21.2 g)을 얻었다. 이후 헥산(n-hexane)과 증류수 혼합액(1:1, v/v)으로 3회 분배 추출한 후 헥산 층을 제거한 증류수 층은 다시 chloroform과 증류수 혼합액(1:1, v/v)으로 3회 분배 추출하였다. 또한, chloroform 층이 제거된 증류수층은 ethyl-acetate와 증류수 혼합액(1:1, v/v)으로 3회 분배 추출하였다.

Resveratrol의 trimethyl ether가 resveratrol보다 활성이 뛰어나므로(Pettit et al., 2002), 본 시험에서는 resveratrol을 메틸화(methylation)한 methylated resveratrol과 resveratrol을 첨가하여 비교하였다.

2. 공시동물 및 시험설계

본 시험에 이용된 공시계는 1일령 육계 수평아리(Ross × Ross 308) 384수를 선별하여 육계초기(0~3주령)과 육계후기(3~5주령)의 35일 동안 시험을 실시하였다. 시험설계는 8처리구를 처리구당 4반복, 반복당 12수씩으로 나누어 완전임의 배치하였다(Table 1). 기초사료는 NRC(1994)에 근거한 옥수수-대두박 위주의 육계사료를 초기(CP 22%, ME 3,100 kcal/kg)와 후기(CP 20%, ME 3,150 kcal/kg)로 나누어 급여하였다(Table 2).

3. 사양관리

사양관리는 0~2주령에 육추용 배터리 케이지(29×30×27.5 cm^3)에서 3수씩, 2~5주령에 4단 직립 철제 케이지(66×46×36 cm^3/칸)에서 칸당 3수씩 수용하여 5주간 사양하였다. 사료는 자유급이를 하였으며, 음수는 니플을 통하여 자유롭게 마실 수 있도록 하였다. 점등시간은 24시간 연속점등으로

Table 1. Experimental design of this work

Antibiotics	Treatments
×	Basal diet (antibiotics free)
○	Avilamycin 10 ppm + salinomycin 60 ppm
×	DL-α-tocopherol 20 IU
×	DL-α-tocopherol 200 IU
×	Resveratrol 20 ppm
×	Resveratrol 200 ppm
×	Methylated resveratrol 20 ppm
×	Methylated resveratrol 200 ppm

Table 2. Formula and chemical composition of the basal diet

Ingredients	Starter (0～3 wk)	Finisher (3～5 wk)
	----- % -----	
Corn	53.44	61.64
Soybean meal (CP 44%)	33.65	27.88
Corn gluten meal	4.16	4.00
Soybean oil	4.68	3.06
Limestone	1.02	1.23
Tricalcium phosphate	2.01	1.31
Salt	0.25	0.25
DL-Methionine (80%)	0.27	0.08
Lysin-HCl (50%)	0.02	0.05
Vitamin-mineral mixture[1]	0.50	0.50
Total	100.00	100.00
Chemical compositions[2]		
ME (kcal/kg)	3,100	3,150
Crude protein (%)	22.0	20.0
Lysine (%)	1.10	1.00
Methionine (%)	0.50	0.38
Methionine + cysteine (%)	0.87	0.70
Ca (%)	1.00	0.90
Available P (%)	0.50	0.35

[1] Vitamin-mineral mixture provided following nutrients per kg of diet: vitamin A, 15,000 IU; vitamin D_3, 1,500 IU; vitamin E, 20.0 mg; vitamin K_3, 0.70 mg; vitamin B_{12}, 0.02 mg; niacin, 22.5 mg; thiamin, 5.0 mg; folic acid, 0.70 mg; pyridoxine, 1.3 mg; riboflavin, 5 mg; pantothenic acid, 25 mg; choline chloride, 175 mg; Mn, 60 mg; Zn, 45 mg; I, 1.25 mg; Cu, 10.0 mg; Fe, 72 mg; Co, 2.5 mg.
[2] Calculated values.

하였으며, 시험기간 중 계사 내 평균온도는 입추 시에 34℃로 조절한 후, 온도를 점점 낮추어 5주령에는 24℃로 조절하였다. 계사 내 습도는 전기에 약 70%, 후기에는 약 60%를 유지하였다.

4. 시료채취

분석용 혈액을 채취하기 위하여 시험 종료 시 각 처리구당 반복별로 평균 체중에 가까운 12수씩을 선정하여 도살하였다. 도살 전에 체중을 측정한 후, 익하정맥에서 헤파린 튜브에 채혈을 하고, 3,000 rpm에서 15분간 원심 분리한 후 혈장을 획득하였다.

5. 조사항목

1) 육계 생산성

시험 종료 시 체중을 측정하여 개체별 증체량을 산출하였으며, 사료섭취량은 전기(0～3주), 후기(3～5주) 반복별로 사료잔량을 측정하여 섭취량을 구하였다. 조사된 사료섭취량과 증체량을 통해 사료요구율을 산출하였다.

2) 도체율 및 조직 중량

생체중의 평균 범위에 해당하는 개체를 처리구별로 12수씩을 희생시킨 후 도체율을 구하고, 간, 비장, 복강지방, 췌장 및 F낭을 채취하여 중량을 측정하였으며 채취한 조직들은 생체 중 100 g당 상대적 중량으로 환산 표기하였다.

3) 혈액 생화학적 성분 분석

혈액 생화학 조성은 자동 혈액 분석기(COBAS MIRA plus, ROCHE diagnostics)를 사용하여 혈청 내 creatinine, BUN, total protein, albumin, AST 및 ALT를 측정하였다. 혈구 조성은 자동 혈구분석기(HEMAVET® HV950FS, Drew Scientific, Inc.)를 이용하여 백혈구 구성 성분들의 수치들을 조사하였다.

4) 혈액 내 Immunoglobulin 함량

혈액 내 immunoglobulin 함량은 chicken IgA, IgG, IgM kit(Bethyl Laboratories, Inc. USA)를 사용하여 측정하였다. Goat anti-chicken IgA, IgG, IgM을 coating buffer(0.05 M carbonate-bicarbonate)에 1:100 비율로 희석한 후, 96 well microplate에 100 μL씩 넣고 37℃에서 60분간 반응시켰다. 반응 후, 96 well microplate 각 well의 coating buffer를 제거하고, washing solution(50 mM tris, 0.14 M NaCl, 0.05% tween 20)으로 3회 세척하였다. 이어서 blocking solution(50 mM tris, 0.14 M NaCl, 1% BSA)를 넣고, 37℃에서 30분간 반응시킨 후 washing solution으로 3회 세척하였다. Sample diluents(50 mM tris, 0.14 M NaCl, 1% BSA, 0.05% tween 20)으로 희석된 혈청을 각 well에 100 μL씩 넣고 60분간 37℃에서 반응시킨 다음 5회 세척하고, HRP conjugate 100 μL를 넣고 반응(37℃, 60분)시켰다. 이를 다시 5회 세척한 후, enzyme substrate(TMB peroxidase substrate, peroxidase solution B)를

100 μL씩 넣고 반응시켰다. 5 μL 30분간 반응에 따른 색 변화를 관찰하여 색이 고정되면 2 M H_2SO_4를 넣고 반응을 정지시킨 후, microplate reader(Benchmark plus, Bio-Rad Laboratories, USA)로 450 nm에서 흡광도를 측정하고, 작성된 표준곡선을 이용하여 IgA, IgG, IgM의 함량을 산출하였다.

5) SOD 유사 활성 측정

혈액 내 항산화도는 Stefan and Gundrun(1974)의 방법을 응용하여 SOD 유사 활성을 구하였다. 먼저 유리 시험관에 pH 8.5의 Tris-HCl buffer 1.5 mL와 준비된 혈장을 0.1 mL 첨가하고, 5 mM의 pyrogallol을 0.1 mL를 첨가한 후, 25℃에서 30분간 배양하였다. 1 N의 HCl 0.1 mL로 반응을 정지시킨 후, 비색계를 이용하여 420 nm의 흡광도를 측정하였고(At), 동일한 살험방법으로 Tris-HCl buffer와 pyrogallol만 첨가한 후 측정된 흡광도(Ac)와 Tris-HCl buffer와 혈장만 첨가한 후 측정된 흡광도(Ao)를 이용하여 구하였다.

$$\text{SOD 유사 활성 (\%)} = [1 - \{(At - Ao) / Ac\}] \times 100$$

6) 혈액 지질 과산화물 측정

혈액 내 지질과산화물인 MDA 함량은 Buege and Aust (1978)의 방법을 수정하여 측정하였다. 혈액 500 μL에 10% butylated hydroxyanisol(BHA) 50 μL 및 thiobarbituric acid (TBA)/trichloroacetic acid(TCA) 혼합 용액 4 mL를 넣어 혼합하고, 이를 90℃ 항온수조에 넣어 15분 동안 반응시켜 냉각한 후, 원심분리(3,000 rpm × 10분)하여 상등액을 회수하고, 532 nm에서 흡광도로 측정하였다. 1,1,3,3-tetra-ethoxy-prophane로 제조한 MDA 표준용액을 이용하여 작성한 표준곡선으로 혈액 내 MDA 함량을 결정하였다.

7) 맹장 내 미생물 균총

맹장 내 미생물 균총의 변화를 조사하기 위해서 시험 종료 시 처리구별로 5%에 해당하는 6수씩 희생시켜 맹장 내용물을 채취한 후 맹장 내 미생물 분포를 조사하였다. 양쪽 맹장의 내용물을 혼합하여 사용하였으며, 채취된 맹장 내용물은 생리 식염수로 10^{-9}까지 계단희석하여 Rogosa SL agar (유산균, Difco201101), anaerobic agar(혐기성균, Difco128300), McConkey plate(*E. coli*, Difco1262002), SS agar(Salmonella, Difco1354006)에 접종하여 장내 미생물을 조사하였다. Rogosa SL agar와 anaerobic agar plate에 대한 배양 조건으로는 CO_2 incubator(Forma 311, USA)에서 37℃로 48시간 배양하였으며, McConkey와 SS agar의 배양조건은 37℃에서 24시간 호기조건으로 배양 후 colony를 계수하였다.

6. 통계분석

처리 간 생산 능력, 혈액 생화학 지표, 면역글로불린 및 혈액 지질 과산화물의 함량에 대한 모든 자료의 통계 분석은 SAS 프로그램(SAS, 2002)의 GLM 분산분석을 이용하여 5% 수준에서 유의성을 검정하였으며, 처리평균간 비교는 Duncan의 다중검정방법(Duncan, 1955)을 이용하였다.

결 과

1. 육계 생산성

본 시험에 이용된 육계의 생산성은 Table 3에 나타내었다. 육계의 초기 체중은 평균 48.3 g으로 처리구 간 유의적인 차이가 없었고, 35일령 체중과 증체량은 resveratrol과 methylated resveratrol 처리구에서 무항생제 처리구에 비해 높게 나타났으나(P<0.05), 항생제 처리구와 유의적인 차이는 없었다.

Table 3. Effects of dietary resveratrol on growth performance in broiler chicks

Items	C(−)	C(+)	α-Tocopherol (IU)		Resveratrol (ppm)		M-resveratrol (ppm)		SEM[1]
			20	200	20	200	20	200	
Initial BW (g)	48.3	48.3	48.5	48.4	48.3	48.2	48.1	48.2	0.92
Final BW (g)	1,812[c]	1,890[a]	1,847[bc]	1,858[b]	1,865[ab]	1,905[a]	1,874[ab]	1,873[ab]	36.7
BW gain (g)	1,764[c]	1,841[a]	1,799[bc]	1,810[b]	1,817[ab]	1,857[a]	1,826[ab]	1,825[ab]	36.6
Feed intake (g)	2,844	2,937	2,877	2,858	2,898	2,898	2,929	2,924	89.9
FCR	1.61	1.60	1.60	1.60	1.60	1.56	1.61	1.60	0.01

M-resveratrol: Methylated resveratrol, C(−): no antibiotics, C(+): antibiotics.
[1] Standard error of mean.
[a,b] Mean within the same row with no common superscripts differ significantly (P<0.05).

또한 resveratrol과 methylated resveratrol 처리구의 35일령 체중과 증체량은 α-tocopherol 처리구와 유의차를 보이지 않았으나, resveratrol 200 ppm 처리구에서 α-tocopherol 처리구에 비해 높게 나타났다($P<0.05$). 사료섭취량은 항생제 처리구와 methylated resveratrol 처리구에서 무항생제 처리구와 resveratrol 처리구에 비해 증가하였으나 유의차는 없었으며, resveratrol 처리구와 α-tocopherol 처리구 사이에서도 유의적인 차이는 없었다. Resveratrol 처리구의 사료요구율은 무항생제 처리구와 항생제 처리구, α-tocopherol 처리구와 비교하여 차이를 보이지 않았으나, resveratrol 200 ppm 처리구의 사료요구율은 1.56으로 다른 처리구에 비해 낮은 수치를 보였다.

2. 도체율 및 조직 중량

본 시험에 이용된 육계의 도체율 및 조직 중량은 Table 4에 나타내었다. Resveratrol과 methyalted resveratrol 처리구의 도체율은 무항생제 처리구나 항생제 처리구, α-tocopherol 처리구와 비교하여 유의차는 없었다. 간의 중량은 항생제 처리구와 resveratrol 200 ppm 처리구에서 다른 처리구에 비해 낮게 나타났으며, α-tocopherol 200 IU 처리구와 methylated resveratrol 200 ppm 처리구에 가장 높은 수치를 보였다. 그러나 처리구간 비교에서 유의적인 차이는 보이지 않았다. 비장의 무게는 resveratrol 처리구가 무항생제나 항생제 처리구, α-tocopherol 처리구와 비교하여 유사하였으며, 췌장의 무게는 methylated resveratrol 200 ppm에서 항생제나 무항생제 처리구에 비해 높았으나, 비장과 췌장의 무게에 대하여 처리구간 유의차는 없었다. F낭의 중량은 항생제와 resveratrol 20 ppm 처리구 및 methylated resveratrol 200 ppm에서 낮게 나타났으나, 처리구간 유의적인 차이를 보이지 않았다.

3. 맹장 내 미생물 균총의 변화

본 시험에 이용된 육계의 맹장 내 미생물 함량은 Table 5에 나타내었다. Resveratrol과 methylated resveratrol 처리구의 총 미생물수, coliform bacteria 및 lactic acid bacteria 균총은 항생제나 무항생제 처리구 및 α-tocopherol 처리구와 비교하여 유의적인 차이를 보이지 않았다. Salmonella 균총은 항생제 처리구에서 낮게 나타났으며, α-tocopherol 200 IU와 resveratrol 20 ppm 처리구에서 항생제와 유사하게 나타났다. 그러나 Salmonella 균총 수도 처리구간 유의적인 차이가 없었다.

4. 면역 글로불린 함량

본 시험에 이용된 육계 혈액 내 면역글로불린의 함량은 Table 6에 나타내었다. IgA 함량은 무항생체 처리구에 비해 항생제와 α-tocopherol 처리구, resveratrol 및 methylated resveratrol 처리구에서 유의적으로 감소하였으며, 항생제와 resveratrol 200 ppm 처리구에서 가장 낮게 나타났으며($P<0.05$), 다음으로는 α-tocopherol 20 IU와 200 IU 처리구, resveratrol 20 ppm 처리구, methylated resveratrol 20 ppm과 200 ppm 처리구의 5처리구가 무항생제 처리구보다 낮게 나타났다($P<0.05$). IgG 함량은 IgA 함량과 마찬가지로 항생제와 α-tocopherol 처리구, resveratrol 및 methylated resveratrol 처리구에서 유의적으로 감소하였으며, IgG는 항생제와 α-tocopherol 처리구 20 IU 및 methylated resveratrol 처리구에서 가장 낮았다($P<0.05$). IgM 함량은 항생제와 resveratrol 200 ppm 및 methylated resveratrol 처리구에서 유의적으로 낮게 나타났다($P<0.05$).

5. 혈액 생화학 지표

본 시험에 이용된 육계의 혈액 생화학 지표는 Table 7에 나타내었다. 육계 혈액 내 creatinine 함량은 항생제 처리구에 비해 α-tocopherol 처리구, resveratrol 처리구, methylated re-

Table 4. Effect of dietary resveratrol on carcass rate and relative organ weights in broiler chickens

Items	C(−)	C(+)	α-Tocopherol (IU)		Resveratrol (ppm)		M-resveratrol (ppm)		SEM[1]
			20	200	20	200	20	200	
Carcass rate (%)	68.3	71.1	68.9	69.9	70.9	71.1	71.6	69.2	4.25
Liver (g/100 g BW)	2.52	2.07	2.30	2.78	2.33	2.14	2.51	2.97	0.17
Spleen (g/100 g BW)	0.10	0.09	0.08	0.10	0.10	0.10	0.08	0.11	0.05
Pancreas (g/100 g BW)	0.20	0.20	0.22	0.23	0.25	0.24	0.24	0.27	0.07
Bursa of fabrucius (g/100 g BW)	0.25	0.20	0.24	0.24	0.19	0.26	0.23	0.19	0.01

M-resveratrol: Methylated resveratrol, C(−): no antibiotics, C(+): antibiotics.
[1] Standard error of mean.

Table 5. Effects of dietary resveratrol on the cecal microflora in broiler chickens

Items	C(−)	C(+)	α-Tocopherol (IU)		Resveratrol (ppm)		M-resveratrol (ppm)		SEM[1]
			20	200	20	200	20	200	
				------- log10 cfu/g contents -------					
Total microbes	9.11	9.08	9.43	9.16	9.00	8.88	8.80	9.10	0.02
Coliform bacteria	6.71	6.30	6.65	6.55	6.18	6.75	5.92	6.34	0.02
Salmonella spp.	3.06	2.51	2.89	2.25	2.43	3.20	3.04	2.95	0.05
Lactic acid bacteria	8.78	8.59	9.14	8.25	8.11	8.43	7.79	8.13	0.07

M-resveratrol: Methylated resveratrol, C(−): no antibiotics, C(+): antibiotics.
[1] Standard error of mean.

Table 6. Effects of dietary resveratrol on immunoglobulin contents in broiler chickens

Items	C(−)	C(+)	α-Tocopherol (IU)		Resveratrol (ppm)		M-resveratrol (ppm)		SEM[1]
			20	200	20	200	20	200	
				------- μg/dL -------					
IgA	3.05^{a}	1.45^{c}	2.45^{b}	2.49^{b}	2.25^{b}	1.69^{c}	2.33^{b}	2.18^{b}	0.49
IgG	49.1^{a}	30.8^{c}	35.5^{c}	47.5^{ab}	37.8^{bc}	39.2^{abc}	28.6^{c}	31.7^{c}	10.7
IgM	0.82^{a}	0.66^{b}	0.76^{a}	0.82^{a}	0.79^{a}	0.59^{b}	0.63^{b}	0.65^{b}	0.11

M-resveratrol: Methylated resveratrol, C(−): no antibiotics, C(+): antibiotics.
[1] Standard error of mean.
[a~c] Mean within the same row with no common superscripts differ significantly ($P<0.05$).

Table 7. Effects of dietary resveratrol on blood biochemical parameters on broiler chicks

Items	C(−)	C(+)	α-Tocopherol (IU)		Resveratrol (ppm)		M-resveratrol (ppm)		SEM[1]
			20	200	20	200	20	200	
Creatinine (mg/dL)	0.26	0.21	0.23	0.16	0.19	0.18	0.24	0.22	0.03
BUN (mg/dL)	2.00	2.20	2.20	2.80	2.60	2.40	2.20	2.00	0.15
TP (g/dL)	3.24	3.22	3.36	3.28	2.98	2.92	2.86	3.04	0.27
Albumin (g/dL)	1.50	1.72	1.76	1.70	1.54	1.70	1.68	1.74	0.13
Globulin (g/dL)	1.74	1.50	1.60	1.58	1.44	1.22	1.18	1.30	0.18
Albumin/globulin	0.89	1.15	1.10	1.08	1.08	1.44	1.45	1.37	0.02
AST (U/dL)	176.8	165.6	180.2	170.8	168.0	160.0	148.2	147.2	5.87
ALT (U/dL)	6.40	6.20	6.40	6.20	6.20	6.60	5.20	6.40	0.78

M-resveratrol: Methylated resveratrol, C(−): no antibiotics, C(+): antibiotics.
[1] Standard error of mean.

sveratrol 처리구에서 감소하였다. 특히 α-tocopherol 200 IU 처리구에서 0.16으로 가장 낮게 나타났고, resveratrol 처리구나 methylated resveratrol 처리구의 creatinine 함량은 항생제 처리구와 유사하였으며, methylated resveratrol 처리구에 비해 resveratrol 처리구에서 낮은 함량을 나타내었다. 그러나 creatinine의 함량은 처리구간 유의적인 차이를 보이지 않았

다. BUN은 α-tocopherol 200 IU 처리구에서 가장 높게 나타났으나, resveratrol과 methylated resveratrol 처리구는 항생제와 무항생제 처리구, α-tocopherol 처리구 사이에서 유의적 차이를 보이지 않았으며, total protein 함량도 resveratrol와 methylated resveratrol 처리구의 항생제와 무항생제 처리구, α-tocopherol 처리구 사이에서 유의차가 없었다. Albumin 함량은 무항생제 처리구와 resveratrol 20 ppm에서 다른 처리구에 비해 낮게 나타났으며, 처리구 사이에서 차이를 보이지 않았다. Resveratrol 200 ppm과 methylated resveratrol 처리구의 globulin 함량과 albumin/globulin 비율은 항생제와 무항생제 처리구, α-tocopherol 처리구와의 비교에서 차이가 있었으나 유의적인 수치는 아니었다. AST는 methylated resveratrol 처리구에서, ALT는 methylated resveratrol 20 ppm 처리구에서 함량이 적었으나, 항생제나 무항생제 처리구, α-tocopherol 처리구와 비교하여 유의적인 차이를 보이지 않았다.

6. 혈액 항산화 활성

본 시험에 이용된 혈액 내 항산화 활성은 Table 8에 나타내었다. SOD 유사 활성은 resveratrol 200 ppm 처리구에서 가장 높았으며(P<0.05), α-tocopherol 200 IU와 methylated resveratrol 처리구의 SOD 유사 활성은 항생제와 무항생제 처리구에 비해 높게 나타났으나(P<0.05), α-tocopherol 20 IU와 resveratrol 20 ppm 처리구의 SOD 유사 활성은 항생제와 무항생제 처리구와 유의적인 차이가 없었다. Resveratrol이나 methylated resveratrol 처리구는 항생제, 무항생제 및 α-tocopherol 처리구와 비교하여 유의적인 차이가 없었다.

고 찰

Resveratrol은 식물체에서 자외선 차단, 병원체 방어 등 다양한 생물학적 활성을 보여주는 flavonoid 물질의 일종으로 (Middleton et al., 1984), 식물이 미생물과 접촉하였을 때, 식물에 의해서 합성 또는 축적되는 저분자의 항균성 물질인 phytoalexin으로 알려져 있다(Soleas et al., 1997). 몇몇 연구들에서는 flavonoid 물질(Park et al., 2011)이나 α-tocopherol (Kim, 2011)을 첨가한 시험구에서 체중 차이가 없다고 보고되었다. 본 시험에서도 α-tocopherol 처리구는 무항생제 처리구에 비해 생산성의 효과를 보이지 않았다. 그러나 resveratrol 처리구에서는 항생제와 유사한 증체효과를 명확히 나타내었다. 이런 결과는 resvreatrol이 다른 flavonoid와는 다르게 성장 촉진의 효능을 가지고 있음을 보여주는 것이라 사료된다. 한편, 도체율과 조직 중량은 체중이나 증체량과는 다르게 처리구 사이에서 유의적 차이를 보이지 않았다. 이런 결과는 이전의 연구들에서 flavonoid 물질이 도체율(Kim, 2005)과 간(Kyselova et al., 2003; Jeng et al., 2010), 비장(Kyse- lova et al., 2003) 및 체장(Jaworek et al., 2001)의 무게에 대하여 처리구 간에 유의적인 차이가 없다고 보고된 것과 유사하다. 그러나 이전 연구들에서는 연구 대상이 rat나 한우였기 때문에 닭과 같은 가금류와는 차이가 있을 것이라 생각되며, 이에 대한 추가적인 연구가 필요하다고 사료된다.

F낭은 조류에서 B 림프구의 정상적인 발달에 중요한 역할을 한다. 즉, B 림프구에 대한 성숙, 변형, 그리고 면역성을 제공한다(Ratcliffe, 2006). F낭의 무게는 사료나 열 스트레스와 같은 외부적 요인에 의해 영향을 받으며, F낭의 무게가 높다는 것은 외부로부터 항원이 들어와 조류의 면역성이 활성화되었다는 것이다(Quinteiro-Filho et al., 2010). 따라서 항생제나 resveratrol 20 ppm 처리구, 그리고 methylated resveratrol 200 ppm 처리구에서 무게가 낮기 때문에 면역에 대한 resveratrol나 methylated resveratrol의 효과가 없는 것으로 볼 수도 있지만, 다른 측면에서 병아리 때 급여한 항생제나 resvertrol 및 methylated resveratrol은 외부적 요인에 영향을 받지 않도록 유지시켜 주는 역할을 하는 것으로 볼 수 있다. 이런 결과는 immunoglobulin에서도 유사하게 나타나,

Table 8. Effects of dietary resveratrol on antioxidant activity of serum in broiler chickens

Items	C(−)	C(+)	α-Tocopherol (IU)		Resveratrol (ppm)		M-resveratrol (ppm)		SEM[1]
			20	200	20	200	20	200	
SOD like activity (%)	21.6[c]	21.4[c]	23.0[bc]	23.6[b]	23.1[bc]	26.0[a]	23.7[b]	23.7[b]	1.18
Malondialdehyde (μg/mL)	0.21	0.21	0.19	0.19	0.20	0.19	0.20	0.19	0.06

M-resveratrol: Methylated resveratrol, C(−): no antibiotics, C(+): antibiotics.
[1] Standard error of mean.
[a~c] Mean within the same row with no common superscripts differ significantly (P<0.05).

항생제와 resveratrol 처리구에서 IgA, IgG 및 IgM의 함량이 낮게 나타났다. IgA는 몸 전체 분비물 내 작용하는 항체이고(Perez-Carbajal et al., 2010), IgG는 IgM이 생산된 후에 두 번째 항체 반응으로 발생하는 immunoglobulin으로 감염 시에 작용하는 주요 조류 전신성 항체이다(Davison et al., 2008; Perez-Carbajal et al., 2010). IgM은 B-cell 항원 수용체이고, 배아의 발달 중에 나타나는 첫 번째 항체로서 새로운 항원에 초기 노출된 후 생산된 것이다(Davison et al., 2008; Perez-Carbajal et al., 2010). 이런 면역 반응은 미생물 균총(특히 Salmonella)의 변화에 영향을 줄 것으로 예상되었으나, 결과를 보면 항생제 첨가 유무나 α-tocopherol과 resveratrol의 첨가 수준에 따른 유의적인 차이를 보이지 않았다.

혈중 creatinine과 BUN은 신장 기능을 조사하는 지표로 알려져 있으며(Jung et al., 2012; Sheo, 1999), 혈액 중 total protein, albumin, globulin 및 ALT와 AST의 농도는 간의 건강 상태를 간접적으로 나타낸다(Kim et al., 2003; Hwang, 2009; Son et al., 2014).

Flavonoid 물질과 tocopherol이 조류의 혈액 성상에 영향을 미친다는 연구는 거의 없으며, 그 연구 대상은 주로 rat나 돼지에서 이루어졌다. Son et al.(2014)은 돼지 사료에 flavonoid 물질을 첨가하였을 때, 처리구 간 유의차를 보이지는 않았으나, ALT와 AST가 감소되었다고 하였다. 본 시험의 결과에서도 AST는 methylated resveratrol 처리구에서 유의적으로 감소하였으며, ALT도 methylated resveratrol 20 ppm 처리구에서 대조구나 α-tocopherol 처리구에 비해 감소하여 유의적인 결과를 보여주었다. 이는 resveratrol이 간 기능 치유에 효과가 있음을 보여주는 것이라 사료된다.

과산화 음이온을 제거하는 역할을 하는 SOD는 많은 flavonoid 물질이 항산화 효과를 가지고 있는 것이 보고되고 있다(Halliwell and Gutteridge, 1989). 본 시험에서도 resveratrol과 methylated resveratrol 처리구에서 대조구에 비해 SOD 유사 활성이 높게 나타나, 항산화 효과에 효과가 있음을 나타내었다. 그러나 세포막의 손상을 초래하는 MDA 함량은 항생제와 무항생제 처리구, α-tocopherol 처리구, resveratrol과 methylated resveratrol 처리구 사이에서 차이가 없기 때문에 이에 대한 추가적인 연구가 필요하다고 사료된다.

적 요

본 연구는 육계사료 내 resveratrol의 첨가가 육계의 생산성, 도체율 및 조직 중량, 혈액 생화학적 성상, 면역 및 혈액 항산화 활성에 미치는 영향을 조사하기 위하여 수행하였다. 공시계는 1일령 육계 수평아리 (Ross × Ross 308) 320수를 선별하여 육계초기(0~3주령)와 육계후기(3~5주령)의 35일 동안 시험을 실시하였다. 시험설계는 8처리구(C(−), 대조군; C(+), 항생제 처리군; α-tocopherol 20 IU 처리군; α-tocopherol 200 IU 처리군; resveratrol 20 ppm 처리군; resveratrol 200 ppm 처리군; methylated resveratrol 20 ppm 처리군; methylated resveratrol 200 ppm 처리군)를 처리구당 4반복, 반복당 10수씩으로 나누어 완전임의 배치하였다. 육계의 사료섭취량과 사료요구율은 처리구 사이에서 유의차가 없었으나, 종료체중과 증체량은 항생제와 resveratrol 및 methylated reveratrol 처리구에서 무항생제와 α-tocopherol 처리구에 비해 유의적으로 높았다($P<0.05$). 도체율과 조직 중량은 처리구간 유의적인 차이가 없었으나, 간과 F낭 무게는 항생제와 resveratrol 20 ppm 및 methylated resveratrol 처리구에서 낮게 나타났으며, 췌장의 무게는 resvertrol과 methylated resveratrol 처리구에서 높게 나타났다. 맹장 미생물 균총(total microbes, Coliform bacteria, Salmonella, lactic acid bacteria)은 resveratrol과 methylated resveratrol 처리구가 무항생제와 항생제 처리구 및 α-tocopherol 처리구와 비교하여 차이를 보이지 않았다. 육계 혈액 내 creatinine, BUN, total protein, albumin, AST 그리고 ALT는 처리구 사이에서 유의적인 차이를 보이지 않았으며, globulin 함량은 resveratrol 200 ppm과 methylated resveratrol 20 ppm 처리구에서 무항생제 처리구에 비해 낮은 수치를 보였으나, 처리구 사이에 유의차는 없었다($P<0.05$). IgA, IgG와 IgM는 항생제 처리구와 reveratrol 처리구에서 무항생제와 α-tocopherol 처리구에 비해 유의적으로 감소하였다($P<0.05$). SOD 유사 활성은 resveratrol 처리구에서 다른 처리구들에 비해 높게 나타났으며($P<0.05$), MDA 함량은 유의적인 차이가 없었다. 따라서 뽕나무 유래 resveratrol은 육계 생산성 개선 및 건강성 유지를 통해 천연 항생제 대체 물질로 이용 가능성이 시사된다.

(색인어: resveratrol, 육계, 혈액 생화학적 성상, 면역글로불린, 혈액 항산화 활성)

사 사

본 논문은 농촌진흥청 공동연구사업(과제번호: PJ00685301)의 지원에 의해 이루어진 것으로 이에 감사드립니다.

REFERENCES

Beuge JA, Aust SD 1978 Microsomal lipid per oxidation.

Methods Enzymol 52:302-310.

Dang W, Wei Y, Cao W 2003 Advance in the research of resveratrol synthase. Chinese Bulletin of Botany 20:152-159.

Davison F, Magor KE, Kaspers B 2008 Structure and evolution of avian immunoglobulins. Pages 107-127 in Avian Immunology. B. K. F. Davison and K. A. Scahat, ed. Academic Press, London, UK.

Dixon RA 2001 Natural products and plant disease resistance. Nature 411:843-847.

Duncan DB 1955 Multiple range and multiple F tests. Biometrics 11:1-42.

Halliwell B, Gutteridge JMC 1989 Free Radicals in Biology and Medicine. 2nded, Oxford Clarendon Press.

Hwang EK 2009 Effect of quercetin supplement on major biochemical parameters in sera of rats fed high fat and high cholesterol diet. J Vet Clin 26:413-418.

Jaworek J, Bonior J, Tomaszewska R, Jachimczak B, Kot M, Bielaski W, Pawklik WW, Sendur R, Stachura J, Konturek PC, Kontrek SJ 2001 Involvement of cyclooxygenase-derived prostaglandin E2 and nitric oxide in the protection of rat pancreas afforded by low dose of lipopolysaccharide. J Physiol Pharmac 52:107-126.

Jeandel P, Bessis R, Gautheron B 1991 The production of resveratrol (3,5,4'-thrhydroxystillbene) by grape berries in different developmental stages. Am J Enol Vitic 41:41-46.

Jeng YJ, Kochukov M, Nauduri D, Kaphalia B, Watson C 2010 Subchronic exposure to phytoestrogens alone and in combination with diethylstilbestrol - pituitary tumor induction in fischer 344 rats. Nutr & Meta 7:40-42.

Jung KS, Kim NS, Lee BK 2012 Urinary creatinine concentration in the Korean population in KNHANES IV, 2009. J Environ Health Sci 38(1):31-41.

Kim JS, Kang SS, Lee MW, Kim OK 1995 Isolation of flavonoids from the levels of *Aralia continentalis*. Kor J Pharmacogn 26:239-243.

Kim HJ, Jun BS, Cha JY, Kim HK, Cho YS 2001 Analysis of ɣ-aminobutyric acid concentrations in Korean plants and mushrooms. Kor J Life Sci 11:537-542.

Kim JS, Jo HS, Kang HO, Han GY, Jung MH, Choi J 2003 Protective mechanism of flavonoids isolated from *Rhus verniciflua* on the paraquat toxicity producing agent and its inhibition mechanism. Kor J Life Sci 13:775-781.

Kim HB, Kim JB, Kim SL 2005 Varietal analysis and quantofocation of resveratrol in mulberry fruits. Kor J Seric Sci 47:51-55.

Kim YM 2005 The study of feed development with *Eucommia ulmoiaes* Oliver of ruminants. Ph. D. Dissertation, Gyeongsang, Jinju, Korea. Pages 1-101 in Univ.

Kim YJ 2011 Effects of dietary supplementation of α-tocopherol and selenium on performance and physic-chemical properties of chicken thigh meat. Kor J Poult Sci 38:129-136.

Kyselova V, Peknicova J, Bukiova D, Boubelik M 2003 Effects of p-nonylphenol on body and organ weight and *in vivo* fertility of outbred CD-1 mice. Repro Bio & Endo 1:30-39.

Lee YH, Park NY, Lee SH 2001 Studies on antibiotic resistance and growth characteristics of *Shigella sonnei* isolated from patients of shigellosis. J Fd Hyg Safety 16:27-32.

Middleton E Jr, Drzewiecki G 1984 Flavonoid inhibition of human basophil histamine release stimulated by various agents. Biochem Pharmacol 33:3333-3338.

NRC 1994 Nutrient Requirements of Poultry. National Academy Press. Washington DC, USA, p 114.

Park CH, Jung HK, Jeong YS, Hong JH, Lee GD, Park CD 2011 Effects of citrus peel ethanol extract on the serum lipid and body fat of high-fat-diet-fed rats. Kor J Food Preserv 18:567-574.

Perez-Carbajal C, Caldwell D, Farnell M, Stringfellow K, Pohl S, Casco G, Pro-Martinez A, Ruiz-Feria CA 2010 Immune response of broiler chickens fed different levels of arginine and vitamin E to a coccidiosis vaccine and *Eimeria* challenge. Poult Sci 89:1870-1877.

Pettit GR, Grealish MP, Jung MK, Hamel E, Pettit RK, Chapuis JC, Schmidt JM 2002 Antineoplastic agents. 465. Structural modification of resveratrol: Sodium resverastain phosphate 1. J Med Chem 45:2534-2542.

Quinteiro-Filho WM, Ribeiro A, Ferraz-de-Paula V, Pinheiro ML, Sakai M, Sa LRM, Ferreia AJP, Palermo-Neto J 2010 Heat stress impairs performance parameters, induces intestinal injury, and decreases macrophage activity in broiler chickens. Poult Sci 89:1905-1914.

Ratcliffe MJH 2006 Antibiotics, immunoglobulin genes and

the bursa of fabricius in chicken B cell development. Develop Compara Immuno 30:101-118.

Sanders TH, McMichael RW, Hendrix KW 2000 Occurrence of resveratrol in edible peanuts. J Agric Food Chem 48: 1243-1246.

SAS 2002 SAS/STAT Software for PC. SAS Institute, Cary, NC, USA.

Sheo HJ 1999 Effects of garlic on the blood lipids and other serum components in rats. J Kor Soc Food Sci Nutr 28: 1339-1348.

Shin KH, Young HS, Lee TW, Choi JS 1995 Studies on the chemical component and antioxidative effects on solanum lyratum. Kor J Pharmacogn 26:130-138.

Soleas GJ, Diamandis EP, Goldberg DM 1997 Resveratro: A molecule whose time has come? And gone? Clinical Biochem 30:91-113.

Son HK, Kang ST, Lee JJ 2014 Effects of *Peucedanum japonicum* Thunb. On lipid metabolism and antioxidative activities in rats fed a high-fat/high-cholesterol diet. J Kor Sco Food Sci Nutr 43:641-649.

Stefan M, Gundrun M 1974 Involvement of the superoxide anion radical in autoxidation of pyrogallol and convenient assay for superoxide dismutase. Eur J Biochem 47:469-474.

Yoshikummi Y 1994 Inhibition of intestinal α-glycosidase activity and postprandial hyperglycemia by moranoline and its N-alkyl derivatives. Agric Biol Chem 52:121-126.

Received Apr. 17, 2015, Revised May. 6, 2015, Accepted May. 25, 2015