

천연 항산화제로서 포도씨 분말 첨가가 육용계의 성장 및 항산화 작용에 미치는 영향

장인석[†] · 고영현 · 강선영 · 문양수 · 손시환

진주산업대학교 동물생명과학과 · 동물생명산업지역협력연구센터

Effect of Dietary Supplementation of Ground Grape Seed on Growth Performance and Antioxidant Status in the Intestine and Liver in Broiler Chickens

I. S. Jang[†], Y. H. Ko, S. Y. Kang, Y. S. Moon and S. H. Sohn

Department of Animal Science & Biotechnology, RAIC, Jinju National University

ABSTRACT

A total of twenty, 2-wk-old male broiler chickens were allotted into control diet(CON) or a diet supplemented with 1% ground grape seed(GGS). They had free access to feed and water for 3 wk. Growth performance and antioxidant markers in plasma, intestine and liver were determined. Dietary addition of 1% GGS did not affect weight gain, feed intake, feed conversion and organ weight in 35 day-old broiler chickens significantly. There was no difference in plasma levels of glucose, triglyceride, cholesterol, AST, ALT and LDH activity. However, total antioxidant status(TAS) in blood increased($P<0.05$) in chickens fed the diet supplemented with 1% GGS compared to those fed the control diet. In addition, the specific activity of intestinal superoxide dismutase(SOD) increased($P<0.05$) in birds fed the diet supplemented with GGS. However, the activities of intestinal glutathione peroxidase(GSHPx) and glutathione -S- transferase(GST) and hepatic SOD, GSHPx and GST were not affected by the dietary GGS. The levels of reduced glutathione and lipid peroxidation in the small intestine and liver were not different between the two groups. In conclusion, dietary supplementation of 1% GGS did not result in a negative effect on growth performance. In addition, some antioxidant indicators including blood TAS and intestinal SOD were markedly elevated in response to dietary GGS. Therefore, dietary addition of 1% GGS may be beneficial to improve antioxidant capacity in broiler chicken.

(Key words: broiler, growth, ground grape seed, antioxidant status)

서 론

국민 소득이 증가함에 따라 동물성 식품에 대한 선호도가 양보다는 질 위주로 급격하게 변화되고 있다. 최근에 축산물 생산에 사용되는 기능성 소재로서 다양한 천연물이 주목 받고 있는데, 그중 사료 첨가제로서 항산화제는 지방산의 산패에 의한 사료 품질을 보호하는 기능뿐만 아니라 가축이 섭취시 체조직의 항산화, 면역 증진, 번식 능력 등과 같은 생리적 작용에 중요한 영향을 미친다.

최근 육계의 개량에 따른 생산성 증가 및 기능성 동물성 식품을 생산하기 위하여 사료내 지방 첨가 등에 따른 고에너지 사료가 사용되고 있는 바, 특히 사료내 불포화 지방산은 보존시 공기에 노출되어 지방과 같은 성분이 쉽게 산화

되어 맛, 색깔, 냄새 등의 변화를 초래할 수 있다(Sevanian와 Hochstein, 1985). 따라서 사료 성분중 지방 산화를 방지하고 영양소 파괴를 최소화하기 위하여 천연 항산화제로서 비타민 E, 합성 항산화제로서 BHT(butylated hydroxytoluene), BHA(butylated hydroxyanisole), exthoxyquin 등이 널리 사용되고 있다. 이러한 항산화제 급여는 육계의 생산성에 중요한 영향을 미치는 복수증 예방, 고기의 안전성 및 보존성에 미치는 효과 등과 같은 결과들이 발표되면서(Bansal과 Kaur, 2002; May, 2002) 기능성뿐만 아니라 육제품의 품질에 영향을 미치는 것으로 알려져 중요성이 부각되고 있다. 항산화 물질중 비타민 E는 동물 생산성 증가, 체내 불포화 지방산의 산화 방지와 동맥경화 예방 등에 관련된 연구(Dove와 Ewan, 1991)와 더불어, 세포의 면역 증진 등 여러 방면에 걸쳐 작용

[†] To whom correspondence should be addressed : isjang@jinju.ac.kr

기전이 널리 연구되어 왔다(Han 등, 2004). Phenol계의 합성 항산화제인 BHT, exthoxyquin 등은 사료나 식품 등에 첨가제로서 널리 이용되고 있으며, 이 화합물 역시 생체에서 체내 지질과산화 억제 작용 등과 같은 항산화 방지 효과가 우수하다고 알려져 있다(Powell과 Connolly, 1991). 이와 같이 항산화제는 생체 조직에서 지질 과산화 작용으로 발생하는 유해 산소기의 생성을 억제 또는 제거하여 체내 항산화성을 증가시키는 작용을 한다(Kahl과 Kappus, 1993). 그러나 비타민 E는 항산화제로서 우수한 효과에도 불구하고 경제적 측면에서 사용이 제한적으로 이루어지고 있으며, 합성 항산화제 등이 널리 사용되고 있으나, 안전성의 문제가 제기되고 있는 실정이다. 가축 사료내에서 BHT와 BHA는 항산화 첨가제로서 0.02% 정도 허용되고 있으며, 비타민 E는 사료중에 20 mg/kg 정도가 최소 요구량으로 알려져 있다(NRC 1995).

천연 항산화 물질로서 알려진 포도씨는 포도 주스나 포도 주 제조 과정에서 생성되는 부산물로서 polyphenolic 계열의 성분 많아 체내 질병 및 노화 등의 항산화 방어 작용이 우수하다는 사실이 알려졌다(Bagchi 등, 2000). 포도씨에 함유된 proanthocyanidin은 polyphenol 계열의 항산화제로서 생체에서 우수한 항산화 기능을 나타내는데, 비타민 E 및 C에 비해 각각 20배 및 50배 이상의 항산화력을 나타낸다(Shi 등, 2003). 항산화력 이외에 포도씨에 함유된 polyphenol 성분은 체내 염증이나 allergy 반응에 관여하는 histamine 방출을 억제하는 것으로 알려져 있다(Amella, 1985). 또한 본 성분은 저밀도 지단백질(LDL)의 산화를 방지하여 인체에서 심장병을 예방하고(Shi 등, 2003), 난치성 질환의 예방 및 치료에도 포도씨에 함유된 polyphenol 계열의 성분이 우수한 효과를 나타내는 것으로 보고되었다(Jang 등, 1997).

따라서, 본 연구는 육계 사료에 포도씨 분말을 첨가하여 육계의 성장 및 사료 효율에 미치는 영향을 조사하고 이 물질이 혈액, 소장 및 간에서 항산화 대사 작용에 관련된 효소 등과 같은 생화학적 지표에 미치는 작용에 대하여 조사하여 천연 항산화 사료 첨가제로서의 가능성에 대하여 조사하였다.

재료 및 방법

1. 시험 설계 및 시험 사료

공시 동물은 육계 수컷 1일령 Ross종 50수로서, 구입 후 스트레스 해소와 균일한 체중의 시험 동물을 선발하기 위해 2일간 적응 기간을 거쳐 3일령부터 14일령까지 예비 사양 시험기간 후 평균 체중에 가까운 각 구당 10수씩을 두 개의

시험구에 배치하여 3주 동안 케이지에서 사양 시험을 실시하였다. 시험에 사용한 기초 사료는 상업용 육계 사료를 이용하였으며, 포도씨는 시중에 시판되고 있는 국내산(캠벨어리)으로부터 분리한 씨앗을 수거하여 50℃에서 건조시킨 후 분쇄기(Thomas Scientific)로서 20 mash 입자로 분쇄하여 사용하였다. 시험에 사용한 포도씨 분말(GGS)의 첨가 농도는 w/w 비율로서 1.0%를 첨가하였으며, 혼합한 후 밀봉하여 냉장(4℃) 보관하였다. 시험 사료와 물은 충분히 섭취할 수 있도록 자유급이하였다. 시험 사료의 일반 성분은 AOAC법(1990)에 의해 분석을 실시하였으며, 사료의 원료 구성과 화학적 성분 조성은 Table 1에서 나타내었다.

2. 시험 분석 방법

1) 시험 샘플 채취

사양 시험이 종료된 후 각 처리구 당 10수 모두 20수에서 경정맥을 절개하여 헤파린 튜브에 채혈을 실시하고 3,000 rpm에서 15분간 원심 분리한 혈장을 획득하였다. 각 장기를 획득하기 위하여 복강을 가위로 절개하고 위장의 유평부에서 맹장 앞부분까지 절단하여 소장을 획득하고 췌장 및 간 조직을 채취하여 무게를 측정하였다. 이어서 냉각된 생리식염수로서 소장 내부를 세척하고 소화물을 제거한 후 가위로 장간막 부위를 절개하여 생리식염수에 3차례 연속적으로 세척하였다. 여분의 수분을 제거하기 위하여 손으로 일정한 압력으로 압착한 후 소장 전체 무게를 측정하였다. 이어서 얼음으로 냉각된 알루미늄판위에서 절개된 소장을 펴서 glass slide를 이용하여 짐막층을 채취하여 무게를 측정하였다. 모든 조직은 액체질소에 냉동하여 -70℃에 보관하여 분석에 사용하였다.

2) 혈액중 생화학적 성분 분석

혈장내 total antioxidant status(TAS)는 Randox kit(NX 2332)를 이용하여 ELISA reader로서 측정하였다. 방법을 간단히 기술하면 혈청과 chromogen 용액을 1:50 비율로 혼합하여 ELISA를 이용하여 600 nm에서 최초 흡광도 측정하였다. 다음으로 일정량의 기질을 혼합하여 3분 동안 정확하게 배양한 후 다시 600 nm에서 흡광도를 측정하여 최초 흡광도와 배양후의 흡광도의 차이를 표준 용액과 비교하여 TAS 농도로 계산하였다. 혈액내 glucose, triglyceride, cholesterol, AST(aspartate aminotransferase), ALT(alanine aminotransferase) 및 LDH(lactate dehydrogenase) 분석은 자동 혈액 분석기(Hitachi 747, Japan)를 사용하여 실시되었다.

3) 조직 분리

세포내 cytosol 및 micosome의 분리는 Jang 등(2001)이 사용한 방법으로 간단히 기술하면 다음과 같다. 조직내 항산화 효소의 활성도를 측정 분석하기 위해 소장 점막 및 간 조직을 일정량 채취하여 가위로 세절한 후 sucrose 용액(0.25 M sucrose, 0.1 mM EDTA; pH: 7.4)을 1:6 용량으로 혼합하였다.

Table 1. Composition of experimental diets

Ingredients	Diets %	
	CON	GGs
Corn, wheat, wheat bran	67.22	66.53
Beef tallow	2.96	2.93
Corn gluten	3.94	3.90
Soybean meal (44% CP)	16.26	16.10
Rapeseed meal	1.97	1.95
Fish & meat meal	2.96	2.93
Plant oil	1.50	1.50
Grape seed meal	-	1.00
Salt	0.23	0.23
Ca & P supplement	1.78	1.77
Lysine (liquid)	0.65	0.63
DL-Methionine	0.12	0.12
Choline-HCl	0.01	0.01
Vitamin premix ¹	0.20	0.20
Mineral premix ²	0.20	0.20
Chemical composition		
Crude protein	18.67	19.08
Crude fat	4.39	4.57
Crude fiber	4.02	3.07
Crude ash	4.36	5.27

¹ Contained per kg : vit. A, 5,500,000 IU; vit D₃, 1,500,000 IU; vit E, 15,000 mg; vit K, 800 mg; thiamin, 1,000 mg; riboflavin, 4,000 mg; niacin, 25,000 mg; biotin, 30 mg; folic acid, 500 mg; pantothenic acid, 5,000 mg; pyridoxine, 1,500 mg; vitamin B₁₂, 15 mg.

² Contained per kg: Cu, 12,000 mg; Fe, 35,000 mg; Zn, 25,000 mg; Co, 150 mg; I, 500 mg; Co, 150 mg; Se, 120 mg; Mn, 38,000 mg.

혼합 후 유리균질기로서 12회 연속적으로 균질화한 후 4℃, 10,000 ×g에서 10분간 원심 분리하였으며, 다시 상층액을 초고속 원심 분리기(Beckman, J2-21-M/E)를 사용하여 4℃, 105,000 ×g에서 60 분간 초고속 원심 분리하였다. 이때 상층액은 cytosol로 분획하였고, pellet은 micosome 분획으로 150 mM KCl, 10 mM phosphate buffer(pH 7.4)로서 단백질 농도가 약 20 mg/mL가 되도록 부유시켜 일정량씩 분주하였다. 조직내 glutathione 분석을 위해서는 간, 소장점막 및 근육 조직 0.5 g를 채취하여 5% sulfosalicylic acid 5 mL를 가하여 균질기로서 균질화 하였다. 균질화된 액을 10,000 g에서 20 분 동안 원심 분리하여 상등액을 채취하였다.

4) 소장 점막 및 간조직에서 항산화 효소 및 지표 분석

세포 조직의 cytosol에 존재하는 superoxide dismutase(SOD) 활성도 측정은 xanthionine이 xanthine oxidase system에 의하여 superoxide anion이 환원형 cytochrome C로 전환되는 속도를 550 nm에서 전환되는 속도를 1분간 측정하였다(McCord와 Fidovich, 1969). Glutathione peroxidase(GSHPx) 활성도 측정은 cumen hydroxide 첨가에 의하여 환원형 glutathionine으로부터 산화형 glutathionine의 생성되는 속도를 측정하였으며, 과량의 glutathionine reductase와 일정량의 NADPH 존재 하에서 산화형 glutathionine이 다시 환원되는 속도를 조사하였다(Tappel, 1978). 세포 조직내 cytosolic glutathione-S-transferase(GST) 활성도 chloro-dinitrobenzene(CDNB)을 기질로 하여 340 nm에서 conjugated CDNB량을 측정하였으며, 단위는 mg 단백질당 1분간 생성된 conjugated CDNB의 μmol수로 표시하였다(Nijhoff와 Peters, 1992). 간의 micosome 내 지질 과산화물은 thio-barbituric acid(TBA) 방법에 의해 생성된 malondialdehyde(MDA)량을 측정하는 방법으로 과산화 지질물 형성을 측정하였다. 반응물은 532 nm에서 분광 광도계로서 흡광도를 측정하여 malondialdehyde(MDA) 생성량을 측정하였다(Bidlack과 Tappel, 1973). 조직내 glutathione 함량은 5% sulfosalicylic acid로 추출한 상등액을 0.3 M Na₂HPO₄와 혼합하고 0.04% 5',5'- dithiobis-(2-nitrobenzoic acid)를 가하였다. 이어서 실온에서 10 분 동안 배양 한 후 405 nm ELISA로서 측정하였다(Margaret, 1990). Extinction 상수는 19.8 mM로서 계산하였다. 효소의 특이적 활성도는 전체 활성도에서 단백질 mg당 농도로 나누어 표시 하였다. 단백질은 bicinchoninate(BCA) 방법으로(Pierce Assay) ELISA를 이용하여 570 nm에서 측정하였다.

3. 통계 처리

사료 두 처리에 따른 육용계의 사양 성적 및 소화 효소 특

이적 활성도에 대한 결과를 SAS package program(SAS, 1996)을 이용한 *t*-test 방법에 의해 비교 분석되었다.

결 과

1. 성장 및 사료 이용성

육계 사료에 1% 포도씨 분말을 첨가하여 사양 시험을 실시한 결과는 Table 2에서 나타낸 바와 같다. 본 시험의 결과로서 종료 체중, 전체 증체량 및 일당 증체량은 시험 사료 급여에 따른 통계적 유의적 차이가 관찰되지 않았다. 2주령부터 5주령까지 3주 동안 측정된 사료 섭취량 및 사료 요구율도 대조구 및 처리구 모두 비슷한 결과를 보여 처리구별 유의적 차이가 나타나지 않았다.

2. 장기 무게

포도씨 첨가 사료를 3주 동안 급여한 후 도살하여 얻은 간, 소장, 점막 상피 세포 및 췌장 등의 장기 무게를 측정된 결과는 Table 3에 나타낸 바와 같다. 본 시험 결과 대조구와 비교 시 1% 분말 포도씨를 섭취한 육계에서 간, 췌장 및 소장의 소화 기관 무게는 유의적인 영향을 받지 않았다. 특히 2주부터 5주령까지 체내 조직이 활발하게 성장하는 시기로서

Table 2. Effect of dietary supplementation of ground grape seed(GGS) on BW, feed intake and feed conversion in broiler chickens

Item	Treatment	
	CON	GGs
Initial BW (at 14 days) (g)	331.40± 4.46	338.80± 5.80
Final BW (at 35 days) (g)	1514.70±24.28	1552.30±21.42
Weight gains (14~35 days) (g)	1183.30±24.64	1213.50±18.40
Average daily gain (14~35 days) (g)	56.34± 1.17	57.79± 0.88
Average feed intake (14~35 days) (g)	95.26± 1.71	99.44± 1.67
Feed conversion (14~35 days)	1.69± 0.02	1.72± 0.02

Mean±SE(n=10).

1% 포도씨 분말 첨가는 체 조직의 발달에 특이적 영향을 미치지 않는 것으로 나타났다.

3. 혈중 생화학 성분 함량

육계의 혈장에서 측정된 생화학 성분을 조사한 결과는 Table 4에 나타내었다. 혈중 생화학 성분인 glucose, triglyceride 및 cholesterol 수준은 대조구와 처리구 간에 차이가 없었다. 또한 혈액내 AST, ALT 및 LDH 등의 효소 활성이 두 구에서 비슷한 경향을 보여 시험구 사료가 육계의 간 및 근육 등 체조직 등에 특이적 영향을 미치지 않았다. 한편 혈액내 전체 항산화력(TAS)을 조사한 결과 시험구에서 혈액내 전체 항산화력이 약 26% 정도 유의적으로($P<0.05$) 증가하여 포도씨 분말 첨가 사료가 육계의 혈액내 전체 항산화력 증진에 유의적인 효과가 있는 것으로 조사되었다.

4. 소장 점막 상피 세포와 간조직의 항산화 효소 및 항산화 관련 지표

천연 항산화제 첨가 사료 급여에 따른 소장 점막 세포 및 간 조직의 항산화 효소 및 관련 생화학 지표에 대한 결과는 Table 5 및 6에서 제시한 바와 같다. 포도씨 분말 첨가 사료 급여는 소장 흡수 세포에 존재하는 항산화 효소인 SOD 특이적 활성도를 유의적으로($P<0.05$) 증가시킨 것으로 나타났다(Table 5). 그러나 다른 종류의 항산화 효소인 GSHPx, GST 효소는 유의적인 변화가 없었으며 환원형 glutathione 역시 포도씨 분말 첨가에 따른 변화도 관찰할 수 없었다. 세포내 microsome의 지질 과산화 정도(MDA)를 조사한 결과에서도 대조구 및 처리구에서 비슷한 수준을 보였다.

간 조직내 항산화 효소 및 생화학 관련 지표를 살펴보면

Table 3. Effects of dietary supplementation of ground grape seed(GGS) on the weights of the liver, small intestine and pancreas in broiler chickens

Item	Treatment	
	CON	GGs
	<i>g/100g BW</i>	
Liver weight (g)	1.97±0.05	1.94±0.09
Intestinal weight (g)	1.48±0.05	1.46±0.05
Total mucosal weight (g)	1.06±0.03	1.05±0.03
Pancreas (g)	0.21±0.01	0.20±0.01

Mean±SE(n=10).

(Table 6), 항산화 효소인 SOD, GSHPx 및 GST 활성도는 대조구와 포도씨 급여구 비슷한 활성도를 나타내었다. 또한

Table 4. Effects of dietary supplementation of ground grape seed(GGS) on the levels of plasma biochemical components in broiler chickens

Item	Treatment			
	CON		GGS	
Glucose (mg/dL)	255.20±	6.88	243.50±	5.57
Triglyceride (mg/dL)	23.00±	0.82	25.11±	1.05
Cholesterol (mg/dL)	158.10±	4.73	156.30±	4.66
AST (IU/L)	303.50±	14.38	298.60±	14.73
ALT (IU/L)	2.10±	0.10	2.50±	0.22
LDH (IU/L)	2137.0±	148.13	2290.9 ±	176.65
Total antioxidant status (mM/L)	0.31±	0.01	0.39±	0.02*

AST (aspartate aminotransferase), ALT (alanine aminotransferase) and LDH (lactate dehydrogenase).

Mean±SE(n=10).

* Values with superscripts differ significantly($P<0.05$) between treatments.

Table 5. Effects of dietary supplementation of ground grape seed (GGS) on the specific activity of antioxidant enzymes, reduced glutathione(GSH) and lipid peroxidation (MDA) in the small intestinal mucosa from broiler chickens

Item	Treatment	
	CON	GGS
Superoxide dismutase (unit/min/mg protein)	0.44 ±0.05	0.56 ±0.09*
Glutathione peroxidase (unit/min/mg protein)	0.39 ±0.07	0.35 ±0.07
Glutathione -S- transferase (unit/min/mg protein)	0.046±0.003	0.041±0.003
Reduced glutathione (mM/mg protein)	4.65 ±0.35	5.09 ±0.20
Malondialdehyde(MDA) (nM/mg protein)	0.15 ±0.02	0.11 ±0.01

Mean±SE(n=10)

* Values with superscripts differ significantly($P<0.05$) between treatments.

환원형 glutathione 및 과산화지질물의 표시물인 MDA 함량 모두 처리간 비슷한 결과를 보여 1% 포도씨 분말 첨가는 간 세포의 항산화 작용에는 뚜렷한 영향을 미치지 않는 것으로 관찰되었다. 그러나 포도씨 분말 급여는 평균치를 비교할 때 환원형 glutathione이 증가되고 지질 과산화 지표가 수치상 다소 감소하는 것으로 나타났다.

고 찰

본 연구는 생체내 지질 과산화 작용으로 발생하는 유해 산소기의 생성을 억제 또는 제거하여 체내 항산화성을 증가시키는 작용을 한다고 보고되고 있는 항산화 물질인 포도씨 분말을 배합 사료에 첨가하여 육계의 생장성 및 체내 항산화 방어 기능에 대한 조사를 실시하였다. 본 시험 결과 포도씨 분말 1% 첨가는 체중, 증체량 및 일당 증체량에 특이적 영향을 미치지 않았다. 또한 장기 무게 및 혈액에 존재하는 혈액 생화학 성분 지표를 분석한 결과에서도 항산화제로서 포도씨 1% 첨가는 대조구와 유사한 수치를 나타내었다. 체내 간 조직의 독성 지표로 사용되는 혈중 AST, ALT 및 LDH 등과 같은 효소는 간 및 근육 조직에서 아미노산이나 탄수화물의 대사 작용에 관여한다. 특히 간, 근육 등의 조직이 파괴가 되면 이들 효소가 혈액으로 유출되어 그 농도가 증가된다(Mur-

Table 6. Effects of dietary supplementation of ground grape seed (GGS) on the specific activity of antioxidant enzymes, reduced glutathione(GSH) and lipid peroxidation(MDA) in the liver from broiler chickens

Item	Treatment	
	CON	GGS
Superoxide dismutase (unit/min/mg protein)	0.50 ±0.08	0.50 ±0.13
Glutathione peroxidase (unit/min/mg protein)	0.48 ±0.08	0.51 ±0.08
Glutathione -S- transferase (unit/min/mg protein)	0.031±0.002	0.031±0.003
Reduced glutathione (mM/mg protein)	5.64 ±0.44	6.38 ±0.47
Malondialdehyde(MDA) (nM/mg protein)	0.31 ±0.03	0.27 ±0.04

Mean±SE(n=10).

ray 등, 1990). 가끔 사료에 vitamin E와 같은 항산화제의 부족시, 지질 과산화 작용에 의해 혈청 LDH 활성도가 증가된다고 보고되었는데(Reddy 등, 1987) 본 시험 결과에서는 이들 간 손상 지표의 이상을 발견할 수 없었다.

항산화제로서 포도씨에 다량 함유된 polyphenolic 성분의 일종인 proanthocyanidine은 비타민 E 및 C에 비해 각각 20배 및 50배 이상의 항산화력을 가지고 있으며 OH기와 같은 유해 산소기를 제거하는 효과가 있음이 증명되었다(Shi 등, 2003). Vallet 등(1994)은 랫드를 이용한 시험에서 0.2~2.0% 수준의 포도씨를 급여시 체내 독성을 유발하지 않았으며, 토끼에서는 15% 수준까지 포도씨 분말 사료를 첨가 급여하여도 증체량 및 사료 섭취량에 긍정적인 효과를 미치며, 폐사율 및 장관 발효에 부정적인 영향이 없었다고 보고하였다(Garcia 등, 2002). 본 연구에서도 항산화제로서 포도씨 1% 분말 급여시에 혈장에서 total antioxidant status(TAS)가 대조구에 비해 유의적으로 증가(26%)하여 포도씨 급여가 혈액내 산화 스트레스를 억제제로 작용될 수 있음이 나타났다. Natella 등(2002)은 인체에서 포도씨 추출물을 급여시 혈액내 항산화력이 증가하여 LDL-cholesterol의 산화가 억제되어 세포를 산화 스트레스로부터 방어할 수 있다고 보고하였다. 또한 노화 랫드에서 포도씨 추출물을 급여할 경우 적혈구에 존재하는 SOD, GSHPx, catalase 및 GST 등과 같은 항산화 효소의 활성도를 증가시켜, 혈액에서 산화적 스트레스를 방지할 수 있음이 증명되었다(Sangeetha 등, 2005).

특히 포도씨에 함유된 항산화 성분은 환경적 스트레스에 의해 야기되는 소장 점막 세포에서 생성되는 활성 산소를 제거하여 위장관 점막 세포의 손상의 예방 및 치료 효과가 있다고 보고되었다(Bagchi 등, 1999). 이와 유사하게 Bagchi 등(2000)도 포도씨 급여는 위장 및 소장 점막 세포의 지질과산화작용에 의해 발생하는 장기적인 스트레스를 예방하므로써 이들 장기의 손상을 방지할 수 있음을 증명하였다. 가축에서 소장은 내·외부 환경이 만나는 첫 번째 장벽(barrier)으로서 소화기 질병은 일상적인 질환으로 가축의 생산성에 미치는 영향이 매우 심각하다. 또한 동물이 섭취하는 물질의 종류에 따라 체내 방어 작용에 있어서 간보다 소장에서 더욱 민감하게 외부 물질에 반응하는 것으로 보고되고 있다(Albrecht 등, 1992; Nijhoff와 Peters, 1992). 본 연구에서도 포도씨를 육계 사료에 급여할 경우, 소장 점막 세포내 세포 손상을 야기하는 O_2^- (superoxide) 기를 제거하는 SOD 효소의 활성도를 증가시키는 것으로 관찰되어 이러한 가능성을 뒷받침해 주는 결과를 얻었다. SOD는 superoxide 이온을 제거하는 효소로서(McCord와 Fridovich, 1969) 세포내 $2O^-$ 와 $2H^+$

의 존재 하에서 O_2 와 H_2O_2 를 생성한다. GSHPx는 환원형 glutathione을 산화형 glutathione으로 산화시키며, hydroperoxide(ROOH)를 hydrolipid(ROH)로 또한 H_2O_2 를 H_2O 로 환원시키는 작용을 한다고 알려져 있다(Tappel, 1978). 한편, GST는 GSHPx와는 달리 그 구조내 selenium을 함유하지 않으나 hydroperoxide에 작용하여 수용성 물질로 전환하여 쉽게 배설하도록 도와주는 효소(Workoff 등, 1978)로서 세포 조직내 microsome의 지질 과산화를 방지하여 생체막을 보호하는 역할도 가진 것으로 알려져 있다(Burk 등, 1980). 체 조직에 흡수된 영양소 및 이(異)물질대사 작용에 핵심적인 역할을 하는 간 조직에서 이들 항산화 효소 및 지표에서 변화를 관찰할 수 없어 사료로 첨가하는 포도씨의 첨가 수준 및 첨가 방법 등에 대한 구체적 연구가 요구된다.

지질 과산화 작용은 불포화 지방산이 풍부한 생체막의 인지질에서 유해 산소기 발생 반응으로 생성되며, 이 반응은 세포의 손상뿐만 아니라 암의 발생에도 중요한 단계로 알려져 있다(Conney, 1967). 특히 포도씨 등과 같은 천연 항산화제를 사료로 통해 급여할 경우, 생체 세포막 이중 지질막의 불포화 지방산 과산화 방지 기능과 항산화 효소를 증가시킴으로써 과산화 반응으로부터 세포막을 방어하는 역할을 동시에 수행하는 것으로 생각되고 있다(Packer, 1991). 최근에는 곰팡이 독소인 mycotoxin 감염된 곡류 사료를 섭취할 경우, 체내 유해 산소가 다량 발생되어 간 등과 같은 체내 장기의 손상을 유발하여 가금의 생산성에 심각한 부작용을 초래하는데, 항산화제를 급여할 경우 체내 독성을 시킬 수 있다는 연구 결과가 보고되고 있다(Mezes 등, 1999; Surai, 2002).

또한 가축에서 지속적인 산화적 스트레스는 특히 육계와 같은 가금에서 대사성 질환인 복수증(ascites, pulmonary hypertension)을 유발시키는 것으로 알려져 있는데(Currie, 1999; Iqbal 등, 2002) 미국의 통계 자료에 의하면, 육계 산업에서 매년 약 1억 달러의 경제적 손실을 초래한다고 보고되고 있다(Odum, 1993). 전 세계적으로는 약 5억 달러의 경제적 손실이 발생된다고 추정된다. 따라서 강력한 항산화제를 사료에 급여하면 활성산소에 야기되는 복수증과 같은 질병을 상당 부분 예방할 수 있다(Bottje 등, 1993). 또한 포도씨 추출물에는 GST 효소와 같은 독성 물질 해독 효소의 활성도를 증가시켜 독성 물질을 체외로 배설하거나 무독화시키는 것으로 보고되고 있다(Seo 등, 2001). 닭고기나 쇠고기에서 육제품의 질을 향상시키기 위해 천연 항산화제인 포도씨 추출물을 신선육에 첨가시에 병원균 감염, 지질 과산화물 생성 및 육색의 변색 방지 등에 효과가 있는 것으로 알려져 있다(Ahn 등, 2004; Lau와 King, 2003).

본 실험 결과 포도씨 분말을 육계에 급여할 경우, 혈액 내 전체 항산화력(TAS) 및 소장 점막에서 SOD 활성도를 유의적으로 증가시키는 항산화제로서 체내에서 활성 산소에 의한 세포 방어 체계의 균형 및 유지에 긍정적인 작용을 하므로서 체내 항상성을 증가시킬 수 있는 것으로 사료된다.

적 요

본 연구는 포도씨 분말 첨가 사료가 육계의 성장, 사료 이용성 및 체 조직내 항산화 효소 및 관련 생화학 지표 인자에 미치는 영향을 조사하기 위하여 수행되었다. 전체 50수 3일령 육계를 2주간 예비 실험 기간을 거친 다음 각 군당 10수씩 선발하여 대조구 및 포도씨 분말 1% 첨가구 등 2개 구를 설정하여 3주간 사양 시험을 실시하고 혈액 생화학 성분 및 체 조직의 항산화 지표를 분석하였다. 그 결과는 다음과 같다.

1. 육계 사료내 1% 수준의 포도씨 분말 첨가는 체중, 일당 증체량, 사료 섭취량, 사료 요구율 및 장기 무게 등에 유의적인 영향을 미치지 않았다.
2. 혈액내 total antioxidant status(TAS)는 포도씨 첨가구에서 유의적($P<0.05$)으로 증가하였으며, 혈중 생화학적 성분과 조직 손상을 나타내는 AST, ALT, LDH 등의 수준은 모든 구에서 비슷한 수준을 보였다.
3. 포도씨 분말 첨가는 소장 점막 세포내 SOD 활성도를 유의적으로($P<0.05$) 증가시켰다. 그러나 간 조직내 GSHPx, SOD, GST 등과 같은 항산화 효소, 환원형 glutathione 및 지질 과산화(MDA) 수준은 대조구 및 포도씨 분말 급여구간에 차이는 없었다.

이상의 결과를 종합해 볼 때 천연 항산화제로서 포도씨 분말 1% 첨가 사료는 성장 및 사료 이용성에 특이적 영향을 미치지 않았으나, 혈액내 TAS 및 소장내 SOD 활성도를 현저히 증가시키므로 육계에서 천연 항산화원으로서의 사용이 가능할 것으로 사료된다.

사 사

본 연구는 2006 농림특정과제(ARPC) 및 동물생명산업센터(RAIC)의 일부 지원으로 연구되었으며 이에 감사드립니다.

인용문헌

- Ahn J, Grun IU, Mustapha A 2004 Antimicrobial and antioxidant activities of natural extracts *in vitro* and in ground beef. *J Food Prot* 67:148-155.
- Albrecht R, Pelissier MA, Atteba S, Smaili M 1992 Dietary restriction decreases thibarbituric acid-reactive substances generation in the small intestine and in the liver of young rats. *Toxicol Lett* 63(1):91-96.
- Amella AL 1985 Inhibition of mast cell histamine release by flavonoids. *Planta Med* 51:16-21.
- AOAC 1990 Official Method of Analysis, Association of Official Analytical Chemists Washington. DC.
- Bagchi D, Bagchi M, Stohs SJ, Das DK, Ray SD, Kuszynski CA, Joshi SS, Pruess HG 2000 Free radicals and grape seed proanthocyanidin extract: importance in human health and disease prevention. *Toxicology* 148:187-197.
- Bagchi M, Milnes M, Williams C, Balmorri J, Ye X, Stochs SJ, Bagchi D 1999 Acute and chronic stress-induced gastrointestinal injury in rats, and protection by a novel IH636 grape seed proanthocyanidin extract. *Nutr Res* 19:1189-1199.
- Bansal MP, Kaur T 2002 Growth characteristics and selenium status changes of yeast cells with inorganic and organic selenium supplementation: selenium, a chemopreventive agent. *J Med Food* 5:85-90.
- Bidlack WR, Tappel AL 1973 Damage to microsomal membrane by lipid peroxidation. *Lipids* 8(4):177-182.
- Bottje WG, Graupner WG, Enkvetchakul B, Allen KG 1993 Prostacyclin elevation following glutathione depletion *in vivo*. Possible threshold dependency in liver and lung. *Biochem Pharmacol* 46:1019-1027.
- Burk RF, Trumble MJ, Lavrence RA 1980 Rat hepatic cytosolic glutathione dependent enzyme protection against lipid peroxidation in the NADPH-microsomal lipid peroxidation system. *Biochim Biophys Acta* 618:35-41.
- Conney AH 1967 Pharmacological implications of microsomal enzyme induction. *Pharmacol Rev* 19:317-366.
- Currie RJ 1999 Ascites in poultry: recent investigations. *Avian Pathol* 28(4):313-326.
- Dove CR, Ewan RC 1991 Effect of vitamin E and copper on the vitamin E status and performance of growing pigs. *J Anim Sci* 69:2516-2523.
- Garcia J, Nicodemus N, Carabano R, De Blass JC 2002 Effect of inclusion of defatted grape seed meal in the diet on dige-

- stion and performance of growing rabbits. *J Anim Sci* 80: 162-170.
- Han SN, Adolfsson O, Lee CK, Prolla TA, Ordovas J, Meydani SN 2004 Vitamin E and gene expression in immune cells. *Ann NY Acad Sci* 1031:96-101.
- Iqbal M, Cawthon D, Beers K, Wideman RF, Bottje WG 2002. Antioxidant enzyme activities and mitochondrial fatty acids in pulmonary hypertension syndrome(PHS) in broilers. *Poult Sci* 81:252-260.
- Jang I, Chae K, Cho J 2001 Effects of age and strain on small intestinal and hepatic antioxidant defense enzymes in Wistar and Fisher 344 rats. *Mech Ageing and Devel* 122:561-570.
- Jang M, Cai L, Udeani GO, Slowing KV, Thomas CF, Beecher CW, Fong H, Farnsworth NR, Hinghorn AD, Mehta RG, Moon RC, Pezzuto JM 1997 Cancer chemopreventive activity of resveratrol, a natural product derived from grapes. *Science* 275:218-220.
- Kahl R, Kappus H 1993 Toxicology of the synthetic antioxidants BHA and BHT in comparison with natural antioxidant vitamin E. *Z Lebensm Unters Forsch* 196:329-338.
- Lau DW, King AJ 2003 Pre- and post-mortem use of grape seed extract in dark poultry meat to inhibit development of thiobarbituric acid reactive substances. *J Agric Food Chem* 51:1602-1607.
- Margaret A 1990 Microtiter plate assay for the measurement of glutathione and glutathione disulfide in large numbers of biological samples. *Anal Biochem* 190:360-365.
- May SW 2002 Selenium-based pharmacological agents: an update. *Expert Opin Inves Drugs* 11:1261-1266.
- McCord JM, Fridovich K 1969 Superoxide dismutase: An enzymatic function for erythrocyte. *J Biol Chem* 244:6049-6055.
- Mezes M, Barta M, Nagy G. 1999 Comparative investigation on the effect of T-2 mycotoxin on lipid peroxidation and antioxidant status in different poultry species. *Res Vet Sci* 66 (1):19-23.
- Murray RK, Mayers PK, Granner DK, Rodwell VW 1990 Harper's Biochemistry(22nd). Chemical constituents of blood and body fluids. pp 679-693. Appleton & Lange, Connecticut.
- Natella F, Belevi F, Gentili V, Ursini F, Scaccini C 2002 Grape seed proanthocyanidins prevent plasma postprandial oxidative stress in humans. *J Agric Food Chem* 50:7720-7725.
- Nijhoff WA, Peters WHM 1992 Induction of rats hepatic and intestinal glutathione -S- transferases by dietary butyrate hydroxyanisole. *Biochemical Pharmacology* 44(3):596-600.
- NRC 1995 Nutrient requirements of laboratory animals(4th ed). National Academy Press, Washington DC.
- Odum T 1993 Ascites syndrome: Overview and update. *Poultry Digest* 14-22.
- Packer L 1991 Protective role of vitamin E in biological systems. *Am J Clin Nutr* 53:1050S-1055S.
- Powell CJ, Connolly AK 1991 The site specificity and sensitivity of the rats liver to butylated hydroxytoluene-induced damage. *Toxicol Appl Pharmacol* 108(1):67-77.
- Reddy PG, Morill JL, Minocha HC, Stevenson JS 1987 Vitamin E requirements of dairy calves. *J Dairy Sci* 70(5):993-999.
- Sangeetha P, Balu M, Haripriya D, Panneerselvam C 2005 Age associated changes in erythrocyte membrane surface charge: Modulatory role of grape seed. proanthocyanidins. *Exp Gerontol* 40(10):820-828.
- SAS 1996 User's Guide: Statistics Version 6.12 Edition. SAS inst Inc Cary NC.
- Seo K, Jung S, Park M, Song Y and Choung S 2001 Effects of Leucocyanidines on activities of metabolizing enzymes and antioxidant enzymes. *Biol Pharm Bull* 24:592-593.
- Sevanian A, Hochstein P 1985 Mechanisms and consequences of lipid peroxidation in biological systems. *Ann Rev Nutr* 5:365-390.
- Shi J, Yu J, Pohorly JE, Kakuda Y 2003 Polyphenolics in grape seed - biochemistry and functionality. *J Med Food* 6(4):291-299.
- Surai PF 2002 Natural Antioxidants in avian nutrition and reproduction. Nottingham University Press. Nottingham, UK.
- Tappel AL 1978 Glutathione peroxidase and hydroperoxides. In : *Methods in Enzymology*(Ed. S. Fleischer and L. Packer), Vol. 52, pp 506-513, Academic Press, NY.
- Vallet J, Rouanet JM, Besancon P 1994 Dietary grape seed tannins: effects of nutritional balance and on some enzymic activities along the crypt-villus axis of rat small intestine. *Ann Nutr Metab* 38:75-84.
- Workoff AV, Ketley JN, Waggoner JG. 1978. Hepatic accumulation and intracellular binding of conjugated bilirubin. *J Clin Invest* 61:142-149.