

사료 내 향산화원으로서는 커피박 첨가가 닭의 사양성적, 혈액생화학성상 및 향산화 작용에 미치는 영향

고영현 · 강선영 · 장인석[†]
경남과학기술대학교 동물생명과학과

Effects of Dietary Supplementation of Coffee Meal on Growth Performance, Blood Biochemical Profiles and Antioxidant Defense System in Broiler Chickens

Young-Hyun Ko, Sun-Young Kang and In-Surk Jang[†]

Department of Animal Science & Biotechnology, Gyeongsang National University of Science and Technology, Jinju 660-758, Republic of Korea

ABSTRACT The effects of dietary supplementation of dried coffee meal (CM) on growth performance, blood biochemical profiles, the weights of immune-related organs, and the antioxidant defense system in broiler chicks were examined. A total of 162, 3-day-old male broiler chickens were assigned to three dietary groups: control group (CON), control diet added with 0.5% CM (CM0.5), and control diet added with 1.0% CM (CM1.0). *In vitro* antioxidant activity test, coffee extracts showed concentration-dependent increase in radical scavenging activity. Dietary addition of 0.5 and 1.0% of CM did not have negative effects on growth performance and feed conversion during the experimental periods, whereas dietary CM significantly ($P<0.05$) increased the relative weight of thymus without changes in the other organ weights. In addition, birds fed the diet supplemented with CM (0.5 and 1.0%) significantly increased blood albumin without affecting other components including glucose, triglyceride and cholesterol compared with those fed control diet. In antioxidant defense system, the specific activities of superoxide dismutase, glutathione peroxidase and glutathione S-transferase and the level of glutathione in the small intestine and liver were not affected by dietary supplementation of CM. However, hepatic lipid peroxidation in birds fed the diet supplemented with 0.5% CM was significantly ($P<0.05$) decreased compared with that in control birds. In conclusion, dietary supplementation of CM(0.5~1.0%) has potential for use as a natural antioxidant source without negative effect on growth performance in broiler chickens.

(Key words : coffee meal, broiler, performance, blood profiles, antioxidant system)

서 론

최근 국내·외 소비자들의 친환경 축산물에 대한 관심이 높아지면서 안전한 동물성 식품을 생산하기 위해 기능성 사료 첨가제에 대한 연구가 널리 이루어지고 있다. 특히 가금 산업에서는 생산성 향상을 위해 사료 내 고에너지 원으로 사용되는 불포화지방산과 같은 일부 성분은 공기와 접촉하면서 쉽게 산화되어 사료의 품질을 저하시키는 원인이 된다. 따라서 사료 첨가제로서 향산화제는 지방산의 산패로부터 사료의 품질을 보호하는 기능뿐만 아니라, 체 조직의 향산화, 면역 증진, 번식 능력 등과 같은 생리적 작용에 중요한 역할을 수행함으로써 많은 주목을 받고 있다(Lauridsen et al.,

1999). 현재 사료내 지방성분의 산화를 방지하고 영양소 파괴를 최소화하기 위해 사용되는 천연 향산화제로서 비타민 E, 합성 향산화제로서 BHT(butylated hydroxytoluene), BHA(butylated hydroxyanisole), exthoxyquin 및 santoquin 등이 다량 사용되고 있다(Vossen et al., 2011). 이들 향산화제 중에서 비타민 E는 동물의 면역 증진 작용(Pekmezci, 2011) 및 체내에서 산화 방지 등과 관련된 다양한 생리적 기능(Packer, 1991) 등이 이미 널리 보고되었으나, 현실적으로 경제성 문제 때문에 그 사용이 제한적이다. 합성 폐놀계 향산화제 또한 사료 첨가제로서 널리 사용되고 있으며, 체내에서 지질과산화 억제 작용 등과 같은 향산화 방지 효과가 우수하고, 화합 물질의 해독 작용 등 긍정적 효과가 있다(Powell

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

and Connolly, 1991). 그러나 합성 항산화제는 장기적으로 다량 섭취할 경우, 체내에서 세포를 손상시켜 발암을 유발하는 독성 작용이 있는 것으로 보고되어(IARC, 1986), 안전성에 의문이 제기되면서 BHT와 BHA와 같은 항산화 사료 첨가제는 사료 kg당 0.02% 정도 허용되고 있다(NRC, 1995). 따라서 식물에 존재하는 각종 항산화 성분은 가장 안전하고 효과 또한 우수한 것으로 많은 연구 결과가 보고되어, 소비자 및 생산자 모두를 위한 기능성 항산화 사료 첨가제로서 개발 가능성이 매우 높다(Formanek et al., 2001).

항산화 성분이 다량 함유된 커피원두는 국내에서는 2010년 한 해 동안 약 11.7만 톤이 수입되어 그 소비량이 기하급수적으로 증가되고 있다. 커피박은 커피 제조 시 커피 액을 추출하고 남은 부산물로서, 단백질 10%, 조섬유 23%, 조지방 6% 정도의 영양 성분을 가지고 있다. 또한 커피원두에는 항산화 물질로서 방향족 화합물인 polyphenol이 약 8% 정도 함유되어 있지만(Borrelli et al., 2002), 쓴맛을 보이는 tannin 등의 성분이 많이 함유되어 기호성과 소화 작용이 감소되어 사료원으로 다량 사용할 수는 없다고 보고되었다(Wiseman, 1984). 특히 닭 사료에 커피박을 첨가하여 급여 시 2.5% 수준에서 증체율이 감소되고, 10% 내외에서는 중독 현상이 있다고 알려져 있다(한인규 등, 2011). 그러나 최근 기능성 항산화제 사료 첨가제의 중요성이 부각되면서 국내에서 생산되는 부산물의 양이 많고, 그 첨가량을 적절히 사용할 경우 커피박은 생체 기능, 면역 증강 및 식품 보존 등에 관여하는 항산화 성분이 다량 함유된 기능성 사료 자원으로서 충분한 가치를 가진다. 특히 국제 곡물 가격의 급등 및 사료 자원을 대부분 수입에 의존하는 우리 현실에서 부산물을 이용하면서 기능성을 가진 사료 첨가제로 개발하는 것은 국내 축산업의 경쟁력 강화에 매우 중요하다. 그러나 각종 항산화 생리활성을 다량 함유한 커피박과 같은 천연 식물성 소재를 이용하여 생산성 이외에 기능성 사료 첨가제로서 연구 결과는 지금까지 거의 없는 실정이다.

따라서 본 연구는 저 수준 (0.5% 및 1.0%)의 커피박을 육계의 사료에 첨가 급여하여 생산성에 미치는 영향과 더불어 간, 소장 등과 같은 조직에서 항산화 작용에 대하여 조사하여 가축의 기능성 사료 자원으로서 커피박의 가치를 평가하고자 하였다.

재료 및 방법

1. 시험 설계

공시동물은 육계 수컷 1일령 Ross종 162수를 올품(주)에서

구입하여 2일간의 적응 기간을 거쳐 3일령(개시 체중, 44.17±0.15 g)에 본 시험에 공시하였다. 시험군은 모두 3 처리군으로서 각 처리군당 6 반복(n=6), 반복당 9수(각 처리군당 54수)를 완전임의 배치하였다. 처리군은 대조군(Control, CON), 커피박 0.5(CM0.5) 및 1.0% 첨가군(CM1.0)으로 설정하였으며, 사육기간은 육계 전기(3~21일령) 및 후기(22~35일령)로 구분하고, 커피박 첨가 사료는 후기에만 급여하였다.

2. 시험 사료 및 사양 관리

본 시험에 사용한 커피박은 경남 진주시 소재 커피 전문점에서 아라비카종 원두 분말을 커피메이커에서 한번 내린 커피 추출 잔유물을 수거하여 제조하였다. 수거된 커피 잔유물을 60℃ 건조기에서 건조하여 분쇄기(Perten 3600, Sweden; 20 mesh)로 분쇄한 분말로서 각각 0.5 및 1.0% 수준으로 육계 후기 사료에 첨가하여 후기 동안에 급여하였다. 커피박 첨가 수준은 선행 문헌(Donkoh et al., 1988)에서 제시된 2.5% 이하로서 *in vitro* 항산화력 조사(DPPH법) 결과와 기호성을 고려하여 적정 유효 수준(0.5~1.0%)을 결정하였다.

본 연구에 사용한 기초 사료는 옥수수, 대두박 등의 상업용 배합 사료로서 대사에너지, 조단백질 등의 영양소 수준은 NRC 사양표준에 근거하여 제조한 육계 전기(3~21일령) 및 후기(22~35일령) 사료를 사용하였다. 시험 사료 급여는 동물이 1일 먹을 수 있는 양을 매일 자유 급여하고, 물은 자동 급수기로서 급여하였다. 시험 사료의 조성 및 화학적 성분은 Table 1과 Table 2에서 제시한 바와 같다. 일반 사양 관리는 경남과학기술대학교 부속 동물사육장의 방법에 따라 35일령까지 케이지 사육을 실시하였다. 전 사양 기간 동안 24시간 중일 전등을 실시하였고, 계사 온도는 일령별로 32℃에서 22℃까지 사육실 온도 관리 프로그램에 따라 인위적으로 조절하였다. 체중은 시험 개시(3일령), 21일령 및 35일령에 측정하여 증체량과 사료 섭취량은 21일령 및 35일령에 측정하여 사료 요구율을 조사하였다.

3. 분석 시료 채취

시험 분석용 시료는 35일령 동안의 사양 시험이 종료된 후, 각 처리군에서 반복별로 평균 체중에 가까운 6수씩 선발하여 경정맥에서 혈액을 채취하고 혈장을 분리하였다. 이어서 복강을 절개하고 간, 소장, 흉선, 비장 및 F-낭 등의 전 부위를 채취하여 장기 무게를 조사하였다. 특히 간 및 소장 점막에서 항산화 작용을 조사하기 위하여 조직을 다음과 같이 처리하였다. 간 조직은 생리식염수로서 세척한 후 모든 동물에서 같은 부위를 일정한 크기로 채취하여 액체질소로

Table 1. Formular of basal diets fed to broiler chickens

| Composition | Starter ³ | Grower ⁴ |
|-----------------------------|----------------------|---------------------|
| Corn | 32.42 | 27.72 |
| Wheat | 32 | 35 |
| Wheat meal | - | 3 |
| Animal fats | 2.1 | 3 |
| Corn gluten | 2 | - |
| Soybean meal | 8.25 | 11.875 |
| Dehulled soybean | 8 | - |
| Rapeseed meal | 2 | 4 |
| DDGS | 6 | 8 |
| Animal fats | 3 | 3.5 |
| Salts | 0.15 | 0.125 |
| Limestone | 1.35 | 1.4 |
| Mono-dicalcium phosphate | 0.775 | 0.45 |
| Lysine-50% | 0.65 | 0.65 |
| Methionine-100% | 0.2 | 0.225 |
| Thereonine-100% | 0.075 | 0.125 |
| HCl-choline-50% | 0.08 | 0.08 |
| Vitamin premix ¹ | 0.15 | 0.15 |
| Mineral premix ² | 0.15 | 0.15 |
| Enzymes | 0.05 | 0.05 |
| Functional feed additives | 0.45 | 0.4 |
| Probiotics | 0.1 | - |
| Salinomycin | 0.05 | 0.1 |

¹Contained per kg of diet: vit A, 100,000 IU; vit D₃, 2,000 IU; vit E, 421 IU; vit K, 5 mg; riboflavin, 2,400 mg; vit B₂, 9.6 mg; vit B₆, 2.45 mg; vit B₁₂, 40 ug; niacin, 49 mg; pantothenic acid, 27 mg; biotin, 0.05 mg.

²Contained the mg per kg of diet: Cu, 140 mg; Fe, 145 mg; Zn, 179 mg; Mn, 12.5 mg; I, 0.5 mg; Co, 0.25 mg; Se, 0.4 mg.

³Formula of starter diet (3~21 d of age).

⁴Formula of grower diet (22~35 d of age).

냉동하여 -80℃에서 보관하였다. 소장은 전체 부위를 채취하였으며, 소장 전반부 55%는 공장 나머지 45%는 회장으로 구분하였다. 본 시험에 사용할 공장의 점막세포를 채취하기 위하여 소장은 장간막의 길이 방향으로 절개하고 생리식염수로서 3회 연속하여 세척하여 소화물을 제거하였다. 소장 점막세포는 glass slide을 이용하여 완전히 분리한 후, 소화

Table 2. Chemical composition of experimental diets fed to broiler chickens (% , as fed basis)

| Items | Treatment | | | Dried coffee meal |
|---------------|-----------|-------|-------|-------------------|
| | CON | CM0.5 | CM1.0 | |
| Crude protein | 17.89 | 17.18 | 17.15 | 10.80 |
| Crude fat | 5.98 | 5.96 | 5.89 | 9.41 |
| Crude fiber | 2.84 | 3.17 | 3.51 | 20.92 |
| Crude ash | 5.22 | 5.27 | 5.19 | 2.19 |
| Ca | 0.92 | 0.92 | 0.93 | 0.30 |
| P | 0.63 | 0.65 | 0.63 | 0.11 |

CON (Control), CM0.5 (coffee meal, 0.5%), and CM1.0 (coffee meal, 1.0%).

물과 지방을 제거한 다음 액체질소에 냉동 후, 분석 시까지 -80℃에서 보관하였다.

4. 분석 방법

1) 체중, 사료 섭취량, 사료 요구율 및 면역 장기 무게
체중은 시험 개시(3일령)와 21일령, 35일령에 측정하고, 사료 요구율은 사육 기간 별 평균 섭취량을 조사하여 평균 체중 증가량으로 나누어 계산하였다. 간, 비장, 흉선 및 F-낭 등과 같은 면역 장기의 무게는 체중 100 g당 상대적 무게로 나타내었다.

2) 혈액 생화학적 성상 조사

혈중 생화학성분 중 glucose, total protein, albumin, triglyceride, cholesterol 및 uric acid 등은 자동 혈액분석기(HI System, Technicon, USA)를 사용하여 분석하였다.

3) 항산화 작용 분석

(1) 커피분말추출물의 *In Vitro* DPPH Radical 소거능 조사

커피박 건조 분말(10 g)을 ethanol에 1:1 비율로 48시간 동안 침지 후 추출된 액체는 여과지에 부유물을 여과하고, 60℃ rotary vacuum evaporator를 이용하여 추출액을 3배(3.3 mL)로 농축하였다. 커피 추출물에서 항산화력 측정은 Blois(1958)의 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl(DPPH) 방법을 약간 변형하여 사용하였다. 커피박 추출물의 최종 농도 0, 0.5, 1.0, 1.5 및 3.0% 수준으로 메탄올에 희석하여 각각의 희석액을 0.1

mM의 DPPH 용액과 완전히 혼합하였다. 다시 30분 동안 실온에서 반응시킨 후 spectrophotometer를 이용하여 517 nm에서 흡광도를 조사하였다. 항산화력은 표준 용액으로 BHT(butylated hydroxytoluene) 0~100 ug 수준에서 조사하여 비교하였다. Radical scavenging activity(RSA, %) 다음과 같은 공식으로 계산하였다.

$$\text{Radical scavenging activity(\%)} = \frac{[\text{Abs(standard)} - \text{Abs(sample)} / \text{Abs(standard)}] \times 100}{}$$

(2) 체 조직에서 항산화 지표 분석

소장 점막 및 간 조직에서 cytosol을 획득하기 위하여 조직 1 g당 6 mL의 0.25 M sucrose 용액(0.25 M, sucrose; Tris-base 0.05 M, pH 7.4)을 첨가하여 균질화 시킨 다음, 10,000×g에서 원심분리(10분)하고 상층액을 취한 후, 다시 100,000×g에서 초고속원심분리기(60분)를 이용하여 상층액(cytosol)과 펠렛(microsome)을 분획하였다.

소장점막 및 간 조직의 superoxide dismutase(SOD) 활성도 측정은 먼저 반응 용액에 xanthine oxidase를 혼합하여 0.02 abs/mL이 되도록 기준선을 설정한 다음, 위의 혼합액에 시료를 가하여 반응을 시작함과 동시에 cytochrome C의 분자 흡광 계수로부터 SOD의 활성도를 측정하였다. 1 unit는 이 반응 조건에서 cytochrome C의 환원이 50% 억제되는 비율로 정의하였다(Fridovich, 1974). Glutathione peroxidase(GPX) 활성도는 반응용액(0.1 mM NADPH, glutathione reductase 1 unit/mL, reduced glutathione, 0.25 mM; pH 7.4)에 희석된 시료를 가한 후 5분간 37°C incubator에서 배양시킨 다음 H₂O₂를 가하여 340 nm에서 흡광도의 감소 속도를 관찰하였다. GPX 활성도의 unit는 mg protein당 1분 동안 산화되는 NADPH nmol 수로 정의하였다(Tappel et al., 1978). Glutathione S-transferase(GST) 측정은 1 mM reduced glutathione을 chlorodinitrobenzene(CDNB) 혼합물에 희석한 시료를 가한 후 340 nm에서 흡광도가 변화되는 비율을 측정하였으며, 1 unit는 mg protein당 1분간 반응하는 CDNB의 μmol 수로 표시하였다(Habig et al., 1974). 조직 내 환원형 glutathione(GSH) 함량은 5% sulfosalicylic acid로 추출한 상층액을 0.3 M Na₂HPO₄와 혼합하고, 0.04% 5',5'-dithiobis-(2-nitrobenzoic acid)를 가하였다. 이어서 실온에서 10분 동안 배양한 후 405 nm ELISA로 측정하였다(Baker et al., 1990). Microsome의 지질과산화물 함량은 thiobarbituric acid(TBA) 방법에 의해 생성된 malondialdehyde(MDA) 수준을 532 nm에서 분광 광도계로서 흡광도를 측정하여 MDA 생산량을 조사하였다(Bidlack and

Tappel, 1973).

효소의 특이적 활성도(specific activity)는 전체 활성도에서 단백질 mg당 농도로 나누어 표시하였다. 단백질은 Bicinchoninic Acid(BCA) kit(Pierce, IL, USA)을 이용하여 560 nm에서 ELISA로 측정하였으며, 표준곡선은 bovine serum albumin을 사용하였다.

5. 통계처리

통계처리는 각 처리군의 결과를 평균±표준오차로 나타내었으며, GLM procedure(SAS, 1996)에 의한 분산분석을 실시하고, Tukey 방법에 따라 95% 수준에서 각 군의 유의성을 검정하였다.

결 과

1. 사양 성적 및 면역 장기 무게

육계 전기(3~21일령) 사육 기간 동안 커피박을 첨가하지 않고 동일한 사료를 급여한 결과, 모든 처리군에서 비슷한 성적을 보였다. 사양 후기(22~35일령) 동안에는 육계 사료에 커피박 분말을 각각 0.5 및 1.0% 수준으로 첨가하여 22~35일령까지 사양 후 나타난 성적은 보면(Table 3), 커피박 0.5(CM0.5) 및 1.0%(CM1.0) 첨가군에서 체중, 일당 증체량과 사료 요구율은 대조군과 비교 시 유의적인 차이 없이 모두 비슷한 결과를 보였다. 또한 35일령까지의 전체 사양기간 동안에도 CM1.0군에서 가장 높은 체중과 사료 요구율을 보였지만, 통계적 차이 없이 모든 처리군에서 비슷한 성적을 보였다. 커피박 0.5 및 1.0% 첨가 급여 후, 도체에서 획득한 간, 비장 및 F-낭 등의 상대적 장기 무게 역시 처리군과 상관없이 모두 비슷한 것으로 관찰되었으나, 흉선의 무게는 커피박 첨가군에서 유의적($P<0.05$)으로 증가되는 것으로 관찰되었다(Table 4). 이와 같은 결과로 보아 커피박 0.5~1.0% 첨가 수준은 육계의 성장 및 사료 이용성에는 부정적인 영향을 미치지 않았으며, 오히려 면역 장기인 흉선의 발달을 촉진하는 것으로 나타났다.

2. 혈액 내 생화학 성분 조사

커피박을 첨가 급여 후 채취한 혈액의 생화학 성분은 Table 5에서 나타낸 바와 같다. 혈중 albumin 농도는 커피박 첨가군(0.5 및 1.0%)에서 대조군에 비해 현저히($P<0.05$) 증가되는 것으로 나타났다. Glucose, total protein, triglyceride, uric acid 및 cholesterol 등의 수준은 모든 처리군에서 비슷한 것으로 관찰되었다. 이상과 같은 결과로 보아 육계 사료에 커피박

Table 3. Effects of dietary supplementation of coffee meal on growth performance, feed intake and feed conversion in broiler chickens

| Items | Treatment | | |
|-------------------|------------------|------------------|------------------|
| | CON | CM0.5 | CM1.0 |
| Initial BW (g) | 44.36 ± 0.17 | 44.17 ± 0.12 | 43.98 ± 0.17 |
| 3~21 days | | | |
| BW (g) | 840.74 ± 11.71 | 824.08 ± 12.96 | 809.26 ± 9.69 |
| Gain (g) | 796.85 ± 11.71 | 779.91 ± 12.99 | 765.29 ± 9.71 |
| Feed intake | 1,087.11 ± 8.05 | 1,091.30 ± 11.62 | 1,070.26 ± 11.38 |
| FCR | 1.37 ± 0.02 | 1.40 ± 0.02 | 1.40 ± 0.01 |
| 22~35 days | | | |
| BW (g) | 1,690.55 ± 36.38 | 1,640.93 ± 78.65 | 1,707.59 ± 56.95 |
| Gain (g) | 849.81 ± 28.01 | 816.85 ± 78.74 | 898.33 ± 53.95 |
| Feed intake | 1,444.52 ± 52.58 | 1,446.63 ± 65.78 | 1,435.72 ± 58.92 |
| FCR | 1.70 ± 0.10 | 1.84 ± 0.16 | 1.63 ± 0.13 |
| 3~35 days | | | |
| Total gain (g) | 1,646.67 ± 36.38 | 1,596.76 ± 78.65 | 1,663.61 ± 56.95 |
| Total feed intake | 2,531.63 ± 56.06 | 2,537.93 ± 65.78 | 2,505.98 ± 58.92 |
| Total FCR | 1.54 ± 0.02 | 1.54 ± 0.02 | 1.52 ± 0.06 |

Con (Control), CM0.5 (coffee meal, 0.5%), and CM1.0 (coffee meal, 1.0%).

BW (body weight), FCR (feed conversion ratio).

Table 4. Effects of dietary supplementation of coffee meal on the weights of immune-related organs

| Items | Treatment | | |
|------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
| | CON | CM0.5 | CM1.0 |
| Liver (g/100 g BW) | 2.40 ± 0.13 | 2.24 ± 0.11 | 2.26 ± 0.23 |
| Spleen (g/100 g BW) | 0.12 ± 0.02 | 0.12 ± 0.02 | 0.11 ± 0.02 |
| Thymus (g/100 g BW) | 0.13 ± 0.01 ^b | 0.30 ± 0.06 ^a | 0.26 ± 0.05 ^a |
| Fabricius (g/100 g BW) | 0.08 ± 0.01 | 0.10 ± 0.01 | 0.13 ± 0.03 |

CON (Control), CM0.5 (coffee meal, 0.5%), and CM1.0 (coffee meal, 1.0%).

^{a,b}Values (mean±SE, n=6) with different superscripts differ significantly ($p<0.05$) among treatments.

을 1% 정도까지 급여는 혈액 생화학적 성분 지표에는 특이적 영향을 미치지 않는 것으로 나타났으며, 오히려 혈중 albumin을 개선하는 것으로 나타났다.

3. 항산화 방어 시스템 지표 분석

커피박 추출물을 다양한 수준(0, 0.5, 1.0, 1.5 및 3.0%)으로 혼합하여 *in vitro*에서 DPPH 방법으로 측정된 radical 소

거능(RSA, %)을 조사한 결과를 보면(Fig. 1), 커피박 추출물의 첨가 수준이 증가할수록 radical 소거능이 증가되는 것으로 나타났으며, 특히 1.0% 수준에서 약 58% 소거능을 보였다. 이러한 항산화력은 합성 항산화제인 BHT 20 ug/mL 수준의 효과와 유사한 것으로 항산화 성분이 다량 함유된 커피박 추출물은 매우 우수한 항산화 소재로 사용될 수 있을 것으로 생각된다.

Table 5. Effect of coffee meal on blood biochemical profiles in broiler chickens

| Items | Treatment | | |
|-----------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
| | CON | CM0.5 | CM1.0 |
| Glucose (mg/dL) | 275.67 ± 34.16 | 289.83 ± 5.72 | 297.50 ± 26.70 |
| Total protein (mg/dL) | 3.27 ± 0.26 | 3.28 ± 0.18 | 3.60 ± 0.25 |
| Albumin (mg/dL) | 0.90 ± 0.02 ^b | 1.12 ± 0.06 ^a | 1.17 ± 0.04 ^a |
| Triglyceride (g/dL) | 48.00 ± 5.43 | 53.33 ± 5.78 | 45.17 ± 3.16 |
| Uric acid (mg/dL) | 5.52 ± 0.55 | 6.27 ± 0.55 | 5.57 ± 0.66 |
| Cholesterol (mg/dL) | 121.83 ± 4.74 | 135.33 ± 9.12 | 135.67 ± 4.19 |

CON (Control), CM0.5 (coffee meal, 0.5%), and CM1.0 (coffee meal, 1.0%).

^{a,b}Values (mean±SE, n=6) with different superscripts differ significantly ($p<0.05$) among treatments.

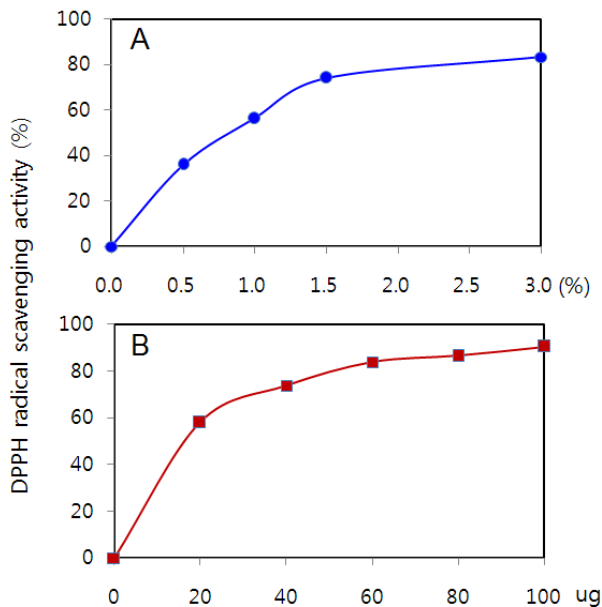


Fig 1. Effect of coffee meal extracts (A) and BHT (B) on DPPH radical scavenging activity (RSA, %). The data are expressed as % scavenging of DPPH radicals. The levels of coffee meal extracts were 0, 0.5, 1.0, 1.5, and 3.0%. The concentrations of BHT were 0, 20, 40, 60, 80 and 100 ug/mL.

커피박을 0.5 및 1.0% 수준으로 각각 기초 사료에 혼합하여 급여한 후 35일령 육계에서 획득한 소장 점막 및 간 조직에서 조사한 항산화 방어 지표에 대한 결과는 Table 6 및 Table 7에 나타낸 바와 같다. 먼저 소장 점막 조직에서 조사한 결과(Table 6), 0.5 및 1.0% 수준의 커피박 첨가는 항산화 효소(SOD, GPX 및 GST)의 특이적 활성도에 영향을 미치지 않는 것으로 나타났다. 또한 GSH 함량과 지질과산화도 함

량 역시 커피박 첨가에 따른 유의적인 영향을 받지 않았다.

간 조직에서 이들 항산화 효소의 활성도는 영향을 받지 않았으나, 지질과산화 지표인 malondialdehyde 함량은 커피박 첨가에 따라 감소되는 바(Table 7), 특히 커피박 0.5% 첨가 군인 CM0.5군에서 대조군에 비해 지질과산화도가 약 49% 정도 감소되었다($P<0.05$).

고 찰

최근 식물성 소재를 이용한 기능성 사료 첨가제의 개발은 매우 중요한 연구 분야로서, 국내 부존 자원이 부족한 현실에서 커피 제조가공 시 원두에서 커피엑스를 추출하고 남은 커피박(coffee meal)을 이용하여 항산화 사료 첨가제로서의 이용 가능성에 대하여 본 실험을 실시하였다. 실험 결과, 0.5 및 1.0% 수준의 커피박 급여는 육계의 생산성에는 부정적 영향을 미치지 않았다. 간, 비장, F-낭의 무게에는 영향이 없었지만 흉선은 커피박 첨가군에서 오히려 증가되는 것으로 나타났다(Table 4). 또한 혈중 생화학 성분에서도 커피박 첨가에 따라 albumin 함량이 증가되어 이러한 결과로 보아 식물성 항산화 물질의 급여는 면역 작용에 긍정적인 효과(Cui et al., 2012)가 나타나는 것으로 사료된다. 이러한 연구 결과는 육계 사료에 항산화원으로 포도씨앗, 가시오갈피, 두충 등을 첨가하여 급여한 결과, 이들 식물성 물질이 성장에 부정적 영향이 없었다는 결과와 유사하다(Jang et al., 2007; Sohn et al., 2008). 또한 사료 내 생약제를 급여하여 육계의 생산성을 조사한 연구(Hong et al., 2001)에서도 1% 수준 이하에서는 천연 식물 성분이 육계의 생산성에 영향을 미치지 않았다고 보고하였다. 현재 닭에서 커피박을 이용한 사료 자원 평가

Table 6. Effects of dietary supplementation of dried coffee meal on the specific activities of superoxide dismutase, glutathione S-transferase and glutathione peroxidase and the level of reduced glutathione and malondialdehyde in the small intestine of broiler chickens

| Items | Superoxide dismutase (U/mg protein) | Glutathione S-transferase (mU/mg protein) | Glutathione peroxidase (U/mg protein) | Reduced glutathione (mM/mg tissue) | Malondialdehyde (nM/mg protein) |
|-------|-------------------------------------|---|---------------------------------------|------------------------------------|---------------------------------|
| CON | 2.42 ± 0.27 | 20.00 ± 3.63 | 0.42 ± 0.03 | 0.05 ± 0.01 | 2.44 ± 0.20 |
| CM0.5 | 2.37 ± 0.31 | 23.33 ± 2.04 | 0.43 ± 0.06 | 0.04 ± 0.01 | 2.70 ± 0.46 |
| CM1.0 | 2.45 ± 0.26 | 20.00 ± 2.57 | 0.53 ± 0.03 | 0.04 ± 0.01 | 3.20 ± 0.42 |

CON (Control), CM0.5 (coffee meal, 0.5%), and CM1.0 (coffee meal, 1.0%).

Table 7. Effects of dietary supplementation of coffee meal on the specific activities of superoxide dismutase, glutathione S-transferase and glutathione peroxidase and the level of reduced glutathione and malondialdehyde in the liver of broiler chickens

| Items | Superoxide dismutase (U/mg protein) | Glutathione S-transferase (mU/mg protein) | Glutathione peroxidase (U/mg protein) | Reduced glutathione (mM/mg tissue) | Malondialdehyde (nM/mg protein) |
|-------|-------------------------------------|---|---------------------------------------|------------------------------------|---------------------------------|
| CON | 0.19 ± 0.02 | 30.00 ± 2.57 | 0.80 ± 0.04 | 0.40 ± 0.03 | 0.84 ± 0.12 ^a |
| CM0.5 | 0.24 ± 0.03 | 36.67 ± 4.94 | 0.67 ± 0.05 | 0.44 ± 0.02 | 0.41 ± 0.08 ^b |
| CM1.0 | 0.23 ± 0.04 | 31.67 ± 4.01 | 0.74 ± 0.07 | 0.41 ± 0.02 | 0.54 ± 0.06 ^{ab} |

CON (Control), CM0.5 (coffee meal, 0.5%), and CM1.0 (coffee meal, 1.0%).

^{a,b}Values (mean±SE, n=6) with different superscripts differ significantly ($p < 0.05$) among treatments.

에 대한 논문은 많지 않은 실정으로 닭에서 일반적으로 커피박(dried coffee pulp) 수준을 10% 내외로 첨가 시에 증체량이 감소되고 심한 중독 증상이 나타나므로(한인규 등, 2011) 커피박을 최대 2.5% 이하로 첨가가 가능하다고 보고되었다(Donkoh et al., 1988).

커피에 존재하는 생리활성 물질은 다양하고 여러 화학물질이 공존함으로써 그 작용 기전을 명확하게 조사하기는 어렵지만, 가장 잘 알려진 물질이 polyphenol계의 chlorogenic acid와 caffeic acid, non-polyphenol계의 caffeine, trigonelline, nicotinic acid, 5-hydroxymethyl furfuraldehyde 등이 다량 함유되어 있어 항산화 기능이 매우 우수하다(Borrelli et al., 2002). 따라서 커피 부산물인 커피박에서도 다량의 이들 항산화물질이 존재하는 것으로 조사되었다(Yen et al., 2005). 식물성 항산화 물질은 사료의 산화 억제와 동시에 체 조직에서 항산화 방어 작용 및 면역 작용에 긍정적인 영향을 미쳐 동물의 항상성 유지에 매우 중요한 역할을 한다고 널리 보고되고 있다(Seifried et al., 2007).

본 실험에서는 커피박의 *in vitro* 항산화력 조사 및 닭에게 0.5 및 1.0% 첨가하여 급여하였을 때 소장 점막 및 간 조직에서 커피박이 체 조직 내 항산화 방어 작용에 미치는 영향에 대하여 조사하였다. 실험 결과, 항산화력 정도를 나타

내는 지표인 DPPH의 항산화 소거능(RSA)은 커피박 추출물의 첨가 수준에 비례하여 증가하였고, 특히 1.0% 수준에서 약 58% 소거능을 보여 합성 항산화제인 BHT 20 ug/mL 수준의 효과와 유사한 것으로 나타났다. 육계 사료에 커피박 급여 시에 소장 및 간 조직에서는 항산화 방어 작용에 관여하는 superoxide dismutase(SOD), glutathione peroxidase(GPX) 및 glutathione S-transferase(GST) 활성도는 차이가 없었지만 간 조직에서 지질과산화도를 나타내는 지표인 MDA 수준은 커피박 급여군에서 현저히 감소되었다. 이러한 결과로 보아 육계에서 0.5~1.0% 수준의 커피박 첨가는 항산화 효소 활성도에는 영향을 미치지 않았지만, 커피에 다량 존재하는 chlorogenic acid, caffeic acid, caffeine 등의 항산화 물질이 체 조직에서 항산화력을 증강시켜(Borrelli et al., 2002) 간 조직의 지질과산화를 방지하는 것으로 사료된다.

체 조직에서 중요한 항산화 효소로서 SOD는 자유기(free radical)인 superoxide 이온(O⁻)을 제거하기 위해 세포에서 2O⁻와 2H⁺의 존재 하에서 O₂와 H₂O₂를 생성한다(Fridovich, 1974). GPX는 셀레늄 함유 항산화 효소로서 환원형 glutathione을 산화형 glutathione으로 산화시켜, hydroperoxide(ROOH)를 알코올(ROH)로 또한 H₂O₂를 H₂O로 환원시키는 작용을 한다(Tappel et al., 1978). 또한 GST는 hydroperoxide에 작용

하여 수용성 물질로 전환하여 쉽게 배설하도록 도와주는 효소 (Workoff et al., 1978)로서 세포조직 내 *microsome*의 지질과 산화를 방지하여 생체막을 보호하는 역할을 한다(Burk et al., 1980). 식물성 항산화제를 닭에게 급여 시 *in vitro* 또는 *in vivo*에서 항산화 효소를 변화시키거나, 체 조직의 항산화력을 증가시켜 지질과산화도를 현저히 감소시킨다는 결과가 많이 보고되고 있다(Czinner et al., 2001; Sahin et al., 2008). 천연 식물 소재 항산화 물질이 체 조직에 미치는 작용은 두 가지 측면에서 연구되고 있는 바, 첫 번째로 항산화 *phytochemical* 등이 직접적으로 체 조직의 항산화 효소의 활성도에 변화를 유발하여 체 조직의 항산화 방어 작용에 관여한다고 알려져 있다. Vicente et al.(2011)이 랫드에서 커피를 급여 시 간 조직의 SOD, GPX 및 *catalase* 등과 같은 항산화 효소의 활성도가 증가하여 지질과산화도가 감소된다고 보고하였다. 또한 음수로 3% 및 6%의 커피를 급여하였을 때 뇌 조직에서도 *glutathione reductase*와 SOD 효소의 활성도가 증가되어 지질과산화도가 현저히 감소된다고 보고되었다(Abreu et al., 2011). 이러한 결과처럼 항산화 성분을 다량 함유한 식물성 물질에서 *in vitro* 항산화력을 조사한 연구에서도 본 연구와 유사하게 높은 항산화력이 나타났으며(Liu et al., 2009), 육계를 이용한 *in vivo* 연구에서도 식물성 항산화제 첨가가 근육, 간 및 심장에서 항산화 효소를 증가시켜 지질과산화 정도를 억제한다고 보고되고 있다(Mirshekar et al., 2009; Tang et al., 2000; Ko et al., 2010). 한편, Vossen et al.(2011)은 육계에 자연산 비타민 E, 토마토 추출물을 급여 시 혈액 GPX의 활성도를 현저히 증가시키지만, 항산화력은 변화가 없었음을 보고하여 식물성 항산화제의 첨가 수준에 따라 항산화력에 미치는 영향은 많은 차이가 있는 것으로 보인다. 두 번째로는 식물성 항산화 물질 자체가 직접적으로 항산화 작용에 관여하여 체 조직의 항산화성을 유지한다고 알려져 있다. Wen et al.(2004)은 커피에 존재하는 *chlorogenic acid*, *caffeic acid*, 환원당 및 단백질 등이 체 조직의 항산화력을 증가시킨다고 보고하였다. 또한 Lee(2000)도 커피에 존재하는 *polyphenol* 성분은 항산화력이 매우 높아 인체에서 지질과산화를 억제하는 주요 작용을 한다고 보고하였다. Svilaas et al.(2004) 등도 사람에서 여러 종류의 항산화제 중에서 커피를 섭취할 경우 혈중에서 가장 높은 항산화력을 나타내는 것을 관찰하여 커피에는 다른 종류의 식물보다 현저히 높은 항산화 물질이 존재하는 것으로 보고하였다. 따라서 본 연구의 결과와 유사하게 커피에 함유된 다량의 항산화 성분은 간 조직의 *microsome*에서도 지질과산화도를 현저히 감소시키는 것으로 나타났다(Daglia et al., 2000), Jang et al.(2007)은 육계에

식물항산화제 원으로 포도 씨앗 분말을 1.0% 수준으로 급여 시 GPX와 SOD 활성도에는 차이가 없었으나, 혈액에서 전체 항산화력(*total antioxidant capacity*)이 증가하였다고 보고하였다. Yousef et al.(2009)의 연구에 의하면 랫드에게 포도씨추출물(200 mg/kg BW)을 급여 시 간 조직에서 지질과산화도가 약 10% 정도 감소되었다고 보고하여 식물성 항산화 성분은 체 조직에서 지질과산화를 방지하는 작용이 있는 것으로 나타났다.

결론적으로 본 연구에서 0.5~1.0% 커피박을 급여한 경우, 육계의 체 조직에서 항산화 효소의 활성도는 유의적인 변화가 없었지만, *in vitro radical* 소거능(RSA) 실험에서 나타난 결과와 유사하게 커피박에 함유된 항산화 물질이 직접적으로 항산화력 방어력을 증가시켜 간 조직의 지질과산화 수준을 현저히 감소시킨 것으로 생각된다. 그러나 본 연구에서는 상업용 사료를 기초 사료로 사용하였기 때문에, 이미 적정량의 비타민 E 성분이 함유되어 있어 커피박 첨가가 육계의 체 조직에서 항산화 방어 시스템을 명확하게 조사하는데 한계점을 지니고 있다. 따라서 0.5~1.0% 수준의 커피박 첨가는 대조군과 유사한 항산화 효소 활성도를 나타내었지만, 보다 체계적으로 면밀하게 체 조직에 발생하는 항산화 방어 작용에 대한 심도 깊은 연구가 필요하다. 또한 커피박은 매우 높은 항산화 물질을 함유하고 있으나, 그 성분에는 쓴맛이 매우 강하고 향 영향인자가 많이 함유되어 사료 내 첨가 수준을 1.0% 이상 증가시킬 경우, 사료 섭취량 및 생산성에 영향을 줄 수 있을 것으로 보인다. 향후 커피박을 이용하여 천연 항산화 소재로서 개발하기 위해서는 유효 성분을 추출하여 기능성 사료 첨가제로 개발하는 연구가 지속적으로 요구된다.

적 요

본 연구는 커피박 첨가 사료가 육계의 사양 성적, 면역 장기 무게, 혈액성상 및 항산화 방어 작용에 미치는 영향에 대하여 조사하기 위하여 실시되었다. 실험 설계로서 3일령 육계 162수를 각 처리구당 54수씩(n=6, 케이지당 9수) 대조군(CON), 커피박 0.5%(CM0.5) 및 1.0%(CM.0) 3 처리군에 완전임의 배치하여 35일령까지 사양 시험을 실시하였다. 커피박 분말은 육계 후기 사양 기간(2~35일령) 동안에 첨가하여 급여하였다. *In vitro radical* 소거능 분석(DPPH 방법) 결과, 커피박 추출물은 매우 높은 radical 소거능(RSA)을 보였다. 사양 시험 결과, 커피박 0.5 및 1.0% 첨가 급여는 체중, 증체량, 사료 섭취량 및 사료 요구율에 따른 부정적 영향이 없는

것으로 나타났다. 또한 간, 비장 및 F-낭 등 면역 관련 장기 무게 역시 커피박 첨가에 따른 영향을 받지 않았으나, 흉선의 무게는 커피박 첨가군에서 유의적으로($P<0.05$) 증가되었다. 혈액 생화학 성장상에서도 glucose, total protein, triglyceride, cholesterol 등은 차이가 없었으나, albumin은 커피박 첨가군에서 유의하게($P<0.05$) 증가하였다. 소장점막세포 및 간 조직에서 SOD, GPX 및 GST와 같은 항산화 효소의 활성도 및 GSH 함량은 커피박 첨가에 따른 영향을 받지 않는 것으로 나타났다. 그러나 간세포의 microsome 조직에서 지질과산화도(MDA)는 커피박 첨가에 따라 감소되었으며, CM0.5 군에서 대조군에 비해 현저히($P<0.05$) 감소되었다. 결론적으로 0.5~1.0% 수준의 커피박 첨가 급여는 육계의 사양 성적에 부정적인 영향을 미치지 않았으며, 오히려 간 조직의 지질과산화물을 억제하여 체 조직에서 항산화력을 증가시키므로 육계 사료 내 천연 항산화 소재로서 이용이 가능할 것으로 사료된다.

(색인어 : 커피박, 육계, 성장, 항산화 효소, 지질과산화)

사 사

본 연구는 농진청 어젠다 연구사업(신기능 농식품 및 부가가치 향상기술개발) 및 경남과학기술대학교 기성회 연구비 지원으로 실시되었으며, 이에 감사드립니다.

인용문헌

- Abreu RV, Silva-Oliveira EM, Moraes MF, Pereira GS, Moraes-Santos T 2011 Chronic coffee and caffeine ingestion effects on the cognitive function and antioxidant system of rat brains. *Pharmacol Biochem Behav* 99(4):659-664.
- Baker MA, Cerniglia GJ, Zaman A 1990 Microtiter plate assay for the measurement of glutathione and glutathione disulfide in large numbers of biological samples. *Anal Biochem* 190:360-365.
- Bidlack WR, Tappel AL 1973 Damage to microsomal membrane by lipid peroxidation. *Lipid* 8:177-182.
- Blois MS 1958 Antioxidant determination by the use of a stable free radical. *Nature* 26:1199-1200.
- Borrelli RC, Visconti A, Mennella C, Anese M, Fogliano V 2002 Chemical characterization and antioxidant properties of coffee melanoidins. *J Agric Food Chem* 50(22):6527-6533.
- 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.
- Cui BK, Liu S, Li SH, Wang J, Wang QB, Li SP, Lin XJ 2012 Effect of tea polyphenol on oxidative injury in s180 cells induced hepatocarcinoma mice. *Int J Mol Sci* 13(5):5571-5583.
- Czinner E, Hagymási K, Blázovics A, Kéry A, Szoke E, Lemberkovic E 2001 The *in vitro* effect of *Helichrysi flos* on microsomal lipid peroxidation. *J Ethnopharmacol* 77(1):31-35.
- Daglia M, Papetti A, Gregotti C, Bertè F, Gazzani G 2000 *In vitro* antioxidant and *ex vivo* protective activities of green and roasted coffee. *J Agric Food Chem* 48(5):1449-1554.
- Donkoh A, Atuahene CC, Kese AG, Mensah-Asante B 1988 The nutritional value of dried coffee pulp (DCP) in broiler chickens' diets. *Anim Feed Sci Technol* 22:130-146.
- Formanek Z, Kerry JP, Higgins FM, Buckley DJ, Morrissey PA, Farkas J 2001 Addition of synthetic and natural antioxidants to α -tocopheryl acetate supplemented beef patties: effects of antioxidants and packaging on lipid oxidation. *Meat Sci* 58(4):337-341.
- Fridovich I 1974 Superoxide dismutase. *Enzymol* 41:36-40.
- Habig WH, Phobst MJ, Jakoby WB 1974 Glutathione S transferase: The first enzymatic steps in mercapturic acid formation. *J Biol Chem* 249:7130-7139.
- Hong SJ, Namkung H, Paik IK 2001 Effects of herbal products (Miracle20[®]) on the performance, nutrient digestibility, small intestinal microflora and immune response in broiler chickens. *J Anim Sci Technol* 43(5):671-680.
- IARC 1986 IARC Monographs on the evaluation of the carcinogenic risk of chemicals to humans. Vol. 40, Some naturally occurring and synthetic food components, furocoumarins and ultraviolet radiation. Butylated hydroxytoluene (BHT). International Agency for Research on Cancer, Lyon pp. 161-206.
- Jang IS, Ko YH, Kang SY, Moon YS, Sohn SH 2007 Effect of dietary supplementation of grape seed meal on growth performance and antioxidant defense status in the intestine and liver from broiler chickens. *Korean J Poult Sci* 34(1):1-8.

- Ko YH, Lee SS, Jang IS 2010 Effects of dietary supplementation of ginkgo leaf and pumpkin on the growth performance, intestinal microflora, blood biochemical profile and antioxidant status in broiler chickens. *Korean J Poult Sci* 37(1):23-33.
- Lauridsen C, Nielsen JH, Henckel P, Sørensen MT 1999 Antioxidative and oxidative status in muscles of pigs fed rapeseed oil, vitamin E, and copper. *J Anim Sci* 77(1):105-115.
- Lee C 2000 Antioxidant ability of caffeine and its metabolites based upon the study of oxygen radical absorbing capacity and inhibition of LDL peroxidation. *Clin Chim Acta* 295:141-154.
- Liu C, Zhang S, Wu H 2009 Non-thermal extraction of effective ingredients from *Schisandra chinensis* Baill and the antioxidant activity of its extract. *Nat Prod Res* 23(15):1390-1401.
- Mirshekar R, Dastar B, Shabanpour B 2009 Effect of rosemary, echinacea, green tea extracts and ascorbic acid on broiler meat quality. *Pak J Biol Sci* 12(15):1069-1074.
- NRC 1995 Nutrient Requirements of Laboratory Animals (4th revised ed). National Academy Press, Washington, D.C.
- Packer L 1991 Protective role of vitamin E in biological systems. *Am J Clin Nutr* 53:1050S-1055S.
- Pekmezci D 2011 Vitamin E and immunity. *Vitamine Horm* 86:179-215.
- 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.
- Sahin N, Orhan C, Tuzcu M, Sahin K, Kucuk O 2008 The effects of tomato powder supplementation on performance and lipid peroxidation in quail. *Poultry Sci* 87(2):276-283.
- SAS 1996 User's Guide: Statistics Version 6.12 Ed. SAS Inst., Inc., Cary, NC.
- Seifried HE, Anderson DE, Fisher EI, Milner JA 2007 A review of the interaction among dietary antioxidants and reactive oxygen species. Review. *J Nutr Biochem* 18(9):567-579.
- Sohn SH, Jang IS, Moon YS, Kim YJ, Lee SH, Ko YH, Kang HK 2008 Effect of dietary siberian ginseng and eucommia on broiler performance, serum biochemical profiles and telomere length. *Korean J Poult Sci* 35(3):283-290.
- Svilaas A, Sakhi AK, Andersen LF, Svilaas T, Ström EC, Jacobs DR Jr, Ose L, Blomhoff R 2004 Intakes of antioxidants in coffee, wine, and vegetables are correlated with plasma carotenoids in humans. *J Nutr* 134(3):562-567.
- Tang SZ, Kerry JP, Sheehan D, Buckley DJ, Morrissey PA 2000 Dietary tea catechins and iron-induced lipid oxidation in chicken meat, liver and heart. *Meat Sci* 56(3):285-290.
- Tappel AL, Fleischer S, Packer L 1978 Glutathionine peroxidase and hydroperoxidies. In: *Methods in Enzymology*(Ed. S. Fleischer and L. Packer). Academic Press 52:506-513.
- Vicente SJ, Ishimoto EY, Cruz RJ, Pereira CD, Torres EA 2011 Increase of the activity of phase II antioxidant enzymes in rats after a single dose of coffee. *J Agric Food Chem* 59(20):10887-10892.
- Vossen E, Ntawubizi M, Raes K, Smet K, Huyghebaert G, Arnouts S, De Smet S 2011 Effect of dietary antioxidant supplementation on the oxidative status of plasma in broilers. *J Anim Physiol Anim Nutr(Berl)* 95(2):198-205.
- Wen X, Takenaka M, Murata M, Homma S 2004 Antioxidative activity of a zinc-chelating substance in coffee. *Biosci Biotechnol Biochem* 68(11):2313-2318.
- Wiseman, J 1984 A note on the nutritive value of dried instant coffee residue for broiler chickens and turkey poults. *Anim Feed Sci Technol* 10:285-289.
- Workoff AV, Ketley JN, Waggoner JG 1978 Hepatic accumulation and intracellular binding of conjugated bilirubin. *J Clin Invest* 61:142-149.
- Yen WJ, Wang BS, Chang LW, Duh PD 2005 Antioxidant properties of roasted coffee residues. *J Agric Food Chem* 53(7):2658-2663.
- Yousef MI, Saad AA, El-Shennawy LK 2009 Protective effect of grape seed proanthocyanidin extract against oxidative stress induced by cisplatin in rats. *Food Chem Toxicol* 47(6):1176-1183.
- 한인규 백인기 최윤재 김법균 서성원 2011 사료자원헨드북 (제 4판). 목운문화재단, 한국동물자원과학회, 영양사료 연구회. pp. 198-199.
- (접수: 2012. 7. 30, 수정: 2012. 9. 7, 채택: 2012. 9. 17)