

커피박 첨가가 육계의 소장 효소 활성도, 생화학 지표 및 장내 미생물 균총에 미치는 영향

고영현¹ · 윤서현¹ · 송민혜¹ · 김세윤¹ · 김종선¹ · 김현욱^{2,†} · 장인석¹

¹경남과학기술대학교, ²국립축산과학원

Effects of Dietary Supplementation of Coffee Meal on Intestinal Enzyme Activity, Biochemical Profiles and Microbial Population in Broiler Chicks

Young-Hyun Ko¹, Seo-Hyun Yun¹, Min-Hae Song¹, Se-Yun Kim¹, Jong-Sun Kim¹,
Hyoun-Wook Kim^{2,†} and In-Surk Jang¹

¹Department of Animal Science & Biotechnology, Gyeongsang National University of Science and Technology,
Jinju 660-758, Korea

²Animal Products Research and Developmental Division, National Institute of Animal Science, Suwon 441-706, Korea

ABSTRACT The current study was performed to investigate the effects of dietary supplementation of dried coffee meal (CM) on growth performance, intestinal and blood biochemical index, intestinal enzymes, and cecal microbial populations. A total of 162, 3-day-old male broiler chicks were randomly allocated into three dietary groups: control group (CON), basal diet added with 0.5% CM (CM I), and basal diet added with 1.0% CM (CM II). Dietary supplementation of CM did not change bird performance and the relative weight of intestinal mucosal tissues. The birds fed the diet supplemented with CM (0.5 and 1.0%) significantly decreased mucosal glucose concentration ($P<0.05$) without affecting blood glucose level compared with those fed control diet. The level of blood aspartate aminotransferase (AST) significantly increased in CM II group ($P<0.05$) without affecting γ -glutamyl transpeptidase (γ -GTP) compared with that in the CON group. The specific activity of intestinal maltase, leucine aminopeptidase (LAP) and alkaline phosphatase (ALP) were not affected by dietary supplementation of CM, whereas sucrase activity in birds fed the diet supplemented with CM was decreased ($P<0.05$) compared to that in the control birds. The colony forming units (CFU) of *E. coli* in the cecum of CM-fed birds was significantly decreased ($P<0.05$) compared with that of control birds without changing the CFU of *Lactobacillus*. In conclusion, dietary supplementation of lower level of CM (0.5%) can be used as a beneficial feed resource without liver toxicity in broiler chicks.

(Key words: coffee meal, broiler, biochemical profiles, intestinal enzymes, antimicrobial activity)

서론

가축 사료용 곡물의 90% 이상은 수입에 의존하고, 그 소요량도 매년 증가 추세에 있어, 세계 곡류시장의 불안은 곧 국내 축산업의 경쟁력에 직접적인 영향을 미친다. 이와 같은 축산업의 현실을 감안할 때 국내 부존 사료 자원의 개발은 시급한 실정으로서 사료 자원의 활용 가능한 모든 농산식품부산물의 사료 가치를 평가하여 자원화하는 연구는 중요하다. 일반적으로 농산식품부산물은 가축체에게 유익한 영양 및 기능성 성분을 함유하고 있어 적절한 수준으로 이용

할 경우, 부족한 사료 자원을 해결하고, 기능성 축산물을 생산할 수 있는 장점이 있다(한인규 등, 2011). 특히 소비자들은 친환경 축산물에 대한 관심 증가로 기능성 식품에 대한 선호도가 매우 높아 이러한 부산물을 이용한 기능성 사료 첨가제의 개발에 관한 연구가 널리 이루어지고 있다.

농산식품부산물 중에서 커피 원두는 국내에서 2012년 한 해 동안 약 11.5만 톤이 수입되어 소비량과 부산물의 생산량이 급격히 증대되었다. 커피액을 추출하고 남은 부산물인 커피박은 조단백질 10%, 조섬유 23%, 조지방 6% 정도로서, 커피 원두에는 항산화 물질인 polyphenol 화합물이 약 8% 정

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

도 함유되어 있다고 알려져 있다(Borrelli et al., 2002). 그러나 Wiseman(1984)의 연구에 따르면, 커피박에는 tannin과 같은 항영양 인자가 다량 함유되어 기호성과 소화 작용에 부정적인 영향을 미쳐 가축 사료원으로 많은 양을 사용할 수 없다. 한인규 등(2011)에 따르면 닭 사료에 커피박을 급여 시 2.5% 수준에서 증체율 저하가 발생되며, 10% 내외에서는 증독 현상이 나타날 수 있다고 보고하였다. 따라서 위의 연구자들이 제시한 수준보다 낮은 수준으로 사료에 첨가하여 급여할 경우, 커피 부산물에 함유된 다량의 polyphenol 화합물은 항산화제로서 사료의 품질 보호 및 체내 항산화 유지에 긍정적인 효과를 가질 수 있다. 현재 사료 첨가제로서, 널리 사용되고 있는 butylated hydroxyanisole(BHA), exthoxyquin 등과 같은 물질은 합성 페놀계 항산화제로서 과다 사용 시 독성 작용이 있는 것으로 알려져 있다(Ito et al., 1985). 따라서 caffeine, polyphenol 등과 같은 식물성 항산화 성분은 가장 안전한 기능성 사료 첨가제로서 개발 가능성이 높고(Daglia et al., 2000; Formanek et al., 2001), 또한 *in vitro* 시험 결과에 따르면, 이들 성분은 우수한 항균 효과가 있는 것으로 보고되었다(Daglia et al., 2007).

따라서 국내에서 다량 생산되는 커피박을 활용하여 기능성 사료 첨가제를 개발할 경우, 그 가치가 매우 높을 것으로 생각되지만, 커피박을 다량 첨가할 경우, 성장을 및 소화율 저하와 같은 부정적 효과가 있는 것으로 알려져 있다. 콩과 식물에 널리 존재하는 tannin 등과 같은 항영양인자는 닭 및 돼지에서 단백질과 아미노산의 소화율을 최대 23%까지 감소시키는 것으로 보고되었다(Gilani et al., 2005). 그러나 지금까지 낮은 수준에서 이들 성분이 소화기관에서 소화 작용에 미치는 효과에 대한 연구는 거의 없는 실정이다.

따라서 본 연구는 저 수준(0.5% 및 1.0%)의 커피박을 육계의 사료에 첨가 급여 시 소장점막세포의 효소 활성도, 생화학 지표 및 맹장 미생물 군총 등에 미치는 영향을 분석하여, 닭의 사료 자원으로서 커피박의 사용 가능성을 조사하고자 하였다.

재료 및 방법

1. 시험 동물 및 시험 설계

공시 동물로서 육계 수컷 1일령(Ross 308) 162수를 육계 계열화 회사에서 구입하여 적응 기간을 거친 3일령(44.2±0.15 g)을 시험에 사용하였다. 처리군은 각 군당 6 반복(n=6), 반복당 9수(각 처리군당 54 수)를 battery 케이지에 완전임의 배치하였다. 시험처리군은 대조군(CON), 커피박 0.5%(CM

I) 및 1.0% 첨가군(CM II) 등 3 처리군으로 전기(3~21일령) 동안 일반 사육을 실시한 후 후기(22~35일령) 14일간 시험 사료를 급여하였다.

2. 시험 사료 제조 및 사양 관리

시험에 사용된 커피박은 아라비카종 원두 분말을 커피 메이커에서 한번 추출 후 생산된 잔유물로서 제조되었다. 커피 잔유물을 건조기에서 60℃에 24시간으로 송풍 건조하여 분쇄한(Perten 3600, Sweden; 20 mesh) 분말로서, 커피박을 예비 시험의 기호성 조사를 근거로 육계 후기 사료에 각각 0.5 및 1.0% 수준으로 첨가하여 급여하였다. 본 시험에 사용한 기초 사료는 옥수수, 대두박 등을 위주로 배합한 상업용 사료로서, 대사 에너지, 조단백질 등의 영양소 수준은 NRC 사양 표준에 근거하여 제조하였다(Table 1). 시험 사료 급여는 닭이 1일 먹을 수 있는 양을 매일 자유 급여하고, 물은 니플 자동 급수기로 급여하였다. 일반 사양 관리는 경남과학기술대학교 부속 동물사육장의 방법에 따라 35일령까지 케이지 사육을 실시하였다. 전 사양 기간 동안 24시간 종일 전등을 실시하였고, 계사 온도는 일령별로 32℃에서 22℃까지 사육 온도 관리 프로그램에 따라 인위적으로 조절하였다. 체중은 3일령, 21일령 및 35일령에 측정하고, 증체량과 사료 섭취량은 21일령 및 35일령에 측정하여 사료 요구율을 조사하였다.

3. 분석 시료 채취

시험 분석용 시료는 사양 시험이 종료된 후, 각 처리군에서 반복별로 평균 체중에 가까운 6수씩 선발하여 경정맥에서 혈액을 채취하고 혈장을 분리하였다. 이어서 복강을 절개하고, 소장은 위 유문부 아래에서부터 결장 앞부분까지 채취하였다. 채취한 소장에서 장간막 부분의 지방을 제거하고, 생리 식염수로 3회 연속으로 세척한 후 내용물을 제거하였다. 전체 길이의 약 55%를 전반부(proximal), 나머지 45%를 후반부(distal)로 임의로 나누고, 소장 각 부위를 절개한 후 grass slide을 이용하여 점막 세포를 분리하였다. 다시 일정량의 생리 식염수를 혼합하여 5,000 rpm에서 원심 분리(Vision, VS-15,000 CF) 후 점막 세포를 세척하고, 무게를 측정하였다. 점막 세포는 균질기로서 mannitol buffer(150 mM mannitol, 10 mM tris base, 30 mM succinate, 5 mM K₂HPO₄; pH 7.4)로서 균질화하고, 2% triton X-100을 1:1의 비율로 혼합하여 -70℃ 냉동 보관 후 분석에 이용하였다. 이어서 맹장 부위를 절개하여 맹장 소화물을 채취하고, -70℃에 분석 시까지 냉동 보관하여 대장균과 유산균 분석에 사용하였다. 혈액은 경정맥 절개를 통해 EDTA 채혈관에 채취한 후, 3,000 rpm에서

Table 1. Formula and chemical composition of basal diet fed to broiler chickens

Composition	Basal diet ³
Corn	27.72
Wheat	35
Wheat meal	3
Animal fats	3
Soybean meal	11.875
Rapeseed meal	4
DDGS	8
Animal fats	3.5
Salts	0.125
Limestone	1.4
Mono-dicalcium phosphate	0.45
Lysine-50%	0.65
Methionine-100%	0.225
Thereonine-100%	0.125
HCl-choline-50%	0.08
Vitamin premix ¹	0.15
Mineral premix ²	0.15
Enzymes	0.05
Functional feed additives	0.4
Salinomycin	0.1
Chemical composition	100
Protein	18.22
Fat	5.51
Fiber	3.31
Ash	5.68
Ca	0.94
P	0.60

¹ Contained per kg of diet: vit A, 10,000 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.

² Contained 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.

³ Formula of basal diet (22~35 d of age).

20분간 원심 분리한 후 획득한 혈장을 분석에 사용하였다.

4. 분석 방법

1) 사양 성적 및 소장 점막 세포 무게

체중은 시험 개시(3일령)와 21일령, 35일령에 측정하고, 사료 요구율은 사육 기간 별 평균 섭취량을 조사하여 평균 체중 증가량으로 나누어 계산하였다. 소장 점막 세포 무게는 체중 100 g당 상대적 무게로 나타내었다.

2) 소장 점막 세포 및 혈액의 생화학적 성상 조사

소장 점막에 존재하는 glucose 농도는 소장 점막 세포를 약 3분간 90℃로 가열한 후 원심 분리(30,000 rpm, 20분)한 상층액에서 Sigma glucose assay kit를 이용하여 ELISA reader (450 nm)로서 정량하였다. 소장 점막 세포의 단백질 함량은 BCA 방법(Pierce BCA protein, Assay Kit 23225)으로 570 nm에서 ELISA reader로서 측정하였다. 혈중 생화학 성분 중 glucose, total protein, aspartate aminotransferase(AST)와 γ -glutamyl transpeptidase(γ -GTP) 등은 자동 혈액 분석기(HI System, Technicon, USA)를 사용하여 분석하였다.

3) 소장 효소 활성도 분석

소장 점막 세포에 존재하는 효소의 활성도를 측정하기 위하여 2% triton X-100를 혼합한 샘플을 4℃, 15,000 rpm에서 원심 분리한 상층액을 사용하였다. 이당류 분해 효소인 maltase와 sucrase는 Dahlgvist(1968)의 방법을 ELISA reader에 적합하게 변형한 방법으로 분석하고, 최종 분해산물인 glucose는 Sigma glucose assay kit로서 450 nm에서 측정하였다. Alkaline phosphatase(ALP)는 소장 미세융모(microvilli)에 존재하는 효소로서 Sigma Assay Kit를 이용하여 405 nm에서 ELISA로서 kinetic을 측정하여 활성도를 측정하였다. 특이적 활성도(specific activity)는 단백질 mg당 p-nitrophenyl phosphate가 p-naptyphenol로 전환되는 양을 1 unit로 표시하였다. Leucine aminopeptidase(LAP) 활성도는 Gal-Garber and Uni(2000)의 방법을 변형한 것으로 Leucine p-nitroaniline를 기질로 사용하여 ELISA reader(405 nm)로서 측정하였다. 단백질은 BCA 방법(Pierce BCA protein, Assay Kit 23225)으로 570 nm에서 ELISA reader로서 측정하였다.

4) 미생물 CFU 측정 분석

대장균(*E. coli*) 조사는 채취한 소화물 1 g을 계단식으로 연속 희석하여 37℃에서 MacConkey agar(Difco)에 48 시간

동안 호기성 배양을 실시하여 colony forming units(CFU)를 측정하였다. 유산균(*Lactobacillus*)은 위와 동일한 방법으로 MRS agar(Difco)을 이용하여 배양기에서 48시간 배양한 후 CFU를 조사하였다.

5) 통계 처리

통계 처리는 각 처리군의 결과를 평균±표준 편차로 나타내었으며, Proc GLM procedure(SAS, 1996)에 의한 분산 분석을 실시하고, Tukey 방법에 따라 95% 수준에서 각 군의 유의성을 검정하였다.

결 과

1. 사양 성적 및 소장 점막 무게

육계 사양 후기 사료(22~35일령)에 커피박 분말을 0.5 및 1.0% 수준으로 첨가하여 2 주 동안 급여 후 얻은 사양 성적을 살펴보면, 커피박 0.5(CM I) 및 1.0%(CM II) 첨가군은 체중, 사료 섭취량과 사료 요구율에서 대조군과 유의적인 차이가 없었다(Table 2). 커피박 0.5 및 1.0% 첨가 급여 후, 획득한 소장의 점막세포 무게 역시 처리군에 상관없이 모두 비슷한 것으로 관찰되었다(Fig. 1). 이와 같은 결과로 보아 육계 사료에 0.5~1.0% 수준의 커피박 첨가는 육계의 사양성적 및 소장 점막 세포 무게에는 특이적 영향을 미치지 않는 것으로 나타났다.

2. 소장 점막 및 혈액의 생화학 지표 분석

커피박 첨가 사료를 급여한 육계의 소장 점막 세포에 존재하는 glucose와 protein의 수준 및 혈액 생화학적 지표 (glucose, protein, AST, γ -GTP)은 Table 3에서 나타낸 바와 같다. 소장 점막 세포의 glucose 농도는 커피박 0.5% 및 1.0%

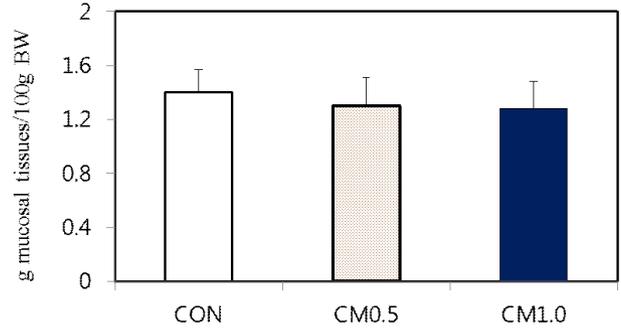


Fig. 1. Effects of dietary supplementation of coffee meal on the weights of the intestinal mucosal tissues in broiler chicks. The values with bar (mean±S.D) were expressed as the relative weight per 100 g body weight.

첨가군에서 대조군에 비해 유의하게 감소되었지만($P<0.05$), 혈액에서는 처리군 간에 차이가 없이 비슷한 수준을 보였다. 소장 점막 세포 및 혈액에 존재하는 total protein의 수준은 커피박 급여에 따른 영향이 없는 것으로 나타났다. 혈액에서 조사한 간 세포 독성 지표인 AST와 γ -GTP을 조사한 결과, 혈액 중 AST는 커피박 1.0% 군에서 대조군에 비해 유의적으로 증가되었으나($P<0.05$), γ -GTP는 처리군간 차이가 없었다. 이상과 같은 결과로 보아 육계사료에 커피박을 1% 수준으로 급여할 경우, 소장 점막 세포의 glucose 농도를 감소시키고, 특히 혈중 AST 농도를 증가시켜 부정적인 영향이 있는 것으로 나타났다.

3. 소장 점막 세포의 효소 활성도

커피박 0.5 및 1.0%를 첨가하여 급여한 후 육계의 소장 점막 세포에 존재하는 각종 효소 활성도에 대한 결과는 Fig. 2에 나타낸 바와 같다. 이당류 소화 작용에 관여하는 효소 중에서 maltase 활성도는 차이가 없었으나, sucrase 활성도는

Table 2. Effects of dietary supplementation of coffee meal on growth performance, feed intake and feed conversion in broiler chicks aged from 21-d to 35-d

Item	Treatment		
	CON	CM I	CM II
Initial BW(g)	840.74±11.71	824.08±12.96	809.26± 9.69
Final 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

* Con(Control), CM I(Coffee meal, 0.5%) and CM II(Coffee meal, 1.0%), Mean±S.D.

Table 3. Effects of dietary supplementation of coffee meal on biochemical index in broiler chicks aged 35-d

Item	Treatment		
	CON	CM I	CM II
Glucose(ug/g) (mucosal tissue)	275.59±99.62 ^a	121.40±67.42 ^a	109.81±73.37 ^b
Protein(mg/g) (mucosal tissue)	22.10± 1.83	23.22± 7.54	21.40± 3.04
Glucose(mg/dL) (blood)	275.67±90.37	289.83±15.14	297.50±70.65
Protein(mg/dL) (blood)	3.27± 0.68	3.29± 0.47	3.60± 0.67
AST(IU/L) (blood)	226.83±18.00 ^b	267.20±56.36 ^{ab}	286.33±45.23 ^a
γ -GTP(IU/L) (blood)	20.00± 3.74	22.17± 3.65	25.67± 7.11

* Con(Control), CM I(Coffee meal, 0.5%) and CM II(Coffee meal, 1.0%).

^{a,b} Values(mean±S.D) with different superscripts differ significantly($p<0.05$) among treatments.

커피박 첨가 수준에 비례하여 효소 활성도가 현저히 감소되는 것으로 나타났다($P<0.05$). 단백질 분해에 관련된 LAP 효소 역시 커피박 첨가에 따른 영향을 받지 않는 것으로 나타났다. 또한 인 및 지방 분해에 관련된 효소인 ALP는 커피박 첨가에 따른 영향 없이 모든 처리군에서 비슷한 활성도를 보였다. 따라서 커피박 0.5 및 1.0% 수준의 급여는 육계의 소장 점막 세포에서 sucrase를 제외하고, 다른 효소들은 변화가 없는 것으로 관찰되었다.

4. 맹장 소화물에서의 미생물 군락

커피박을 급여한 후 맹장 소화물에서 대장균(*E. coli*) 및 유산균(*Lactobacillus*)의 균총(CFU)에 미치는 영향은 Table 4에 나타난 바와 같다. 분석 결과, 커피박 첨가(0.5 및 1.0%)가 육계의 맹장에서 유산균의 균총에는 영향을 미치지 않았지만, 대장균의 균총을 유의적으로 감소시키는 것으로 나타났다($P<0.05$).

고 찰

본 시험은 항산화 성분이 다량 함유된 커피 부산물을 사료 자원으로서의 이용 가능성을 조사하기 위해 소장 점막 세

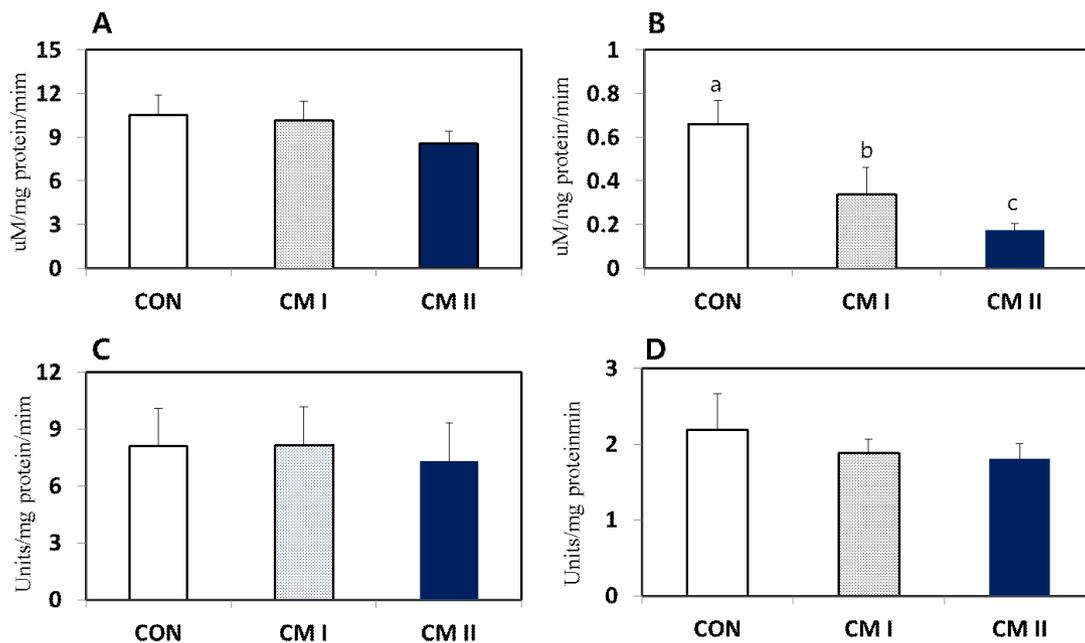


Fig. 2. Effects of dietary supplementation of coffee meal on the specific activity of intestinal hydrolase in broiler chicks aged 35-d (A: maltase, B: sucrase, C: LAP and D: ALP). ^{a,b} Values(mean±S.D) with different super scripts differ significantly($p<0.05$) among treatments.

Table 4. Effects of dietary supplementation of coffee meal on the CFU of *E. coli* and *Lactobacillus* in cecal digesta of broiler chicks aged 35-d

Item	Treatment		
	CON	CM I	CM II
<i>E. coli</i> (CFU/g digesta)	5.49±0.19 ^a	4.62±0.41 ^b	4.37±0.17 ^b
<i>Lactobacillus</i> (CFU/g digesta)	5.25±0.57	5.15±0.47	5.23±0.28

* Con(Control), CM I(Coffee meal, 0.5%), and CM II(Coffee meal, 1.0%).

^{a,b} Values(mean±S.D) with different superscripts differ significantly($p<0.05$) among treatments.

포의 효소 활성도, 생화학적 지표 및 장내 미생물 균총에 대한 분석을 실시하였다. 실험 결과, 0.5 및 1.0% 수준의 커피박 급여는 육계의 생산성 및 소장 점막 세포의 무게에는 영향을 미치지 않았다. 소장 점막 세포에 존재하는 이당류 분해 효소인 maltase를 비롯한 ALP, LAP 등의 활성도는 커피박 급여에 따른 변화가 없었으나, 소장 점막 세포의 glucose 농도와 sucrase의 활성도는 현저히 감소되었다. 혈액 생화학 성분으로 glucose, protein, γ -GTP 수준은 처리군간 차이가 없었으나, AST 수준은 1.0% 커피박 급여 시 현저히 증가되는 것으로 나타났다. 한편, 커피박의 급여는 맹장 내 존재하는 유산균 균총에는 영향을 미치지 않았지만, 대장균 균총의 숫자를 감소시켜 항생제 대체 사료 첨가제로의 가능성을 보였다.

본 연구는 tannin이 다량 함유된 1% 수준의 포도씨박을 육계에 급여 시 사양 성적에는 영향을 미치지 않았다는 결과(Jang et al., 2007)와 랫드에서 tannin이 함유된 포도씨박을 0.2~2.0% 수준으로 급여 시 체내 독성을 유발하지 않았다는 결과와 유사하다(Vallet et al., 1994). 또한 토끼에서는 15% 수준까지 포도씨박 첨가 사료를 급여 시 증체, 사료 섭취량 및 장내 발효에 부정적인 영향이 없었다고 보고되었다(Garcia et al., 2002). 혈액 AST와 ALT 등과 같은 효소는 간, 근육 등이 파괴되면 혈액으로 유입되어 증가되므로 체내 간 조직의 독성 지표로 사용된다(Murray et al., 1990). 따라서 본 연구에서 0.5% 수준의 커피박을 육계에 급여할 경우, 혈액 생화학 성분에서 나타난 지표로 보면 체내 독성을 유발하지 않는 것으로 생각된다. 그러나 닭에게 커피박(dried coffee pulp) 수준을 10% 내외로 첨가 시에 증체량이 감소된다는 보고(한인규 등, 2011)와 커피박을 최대 2.5% 이하로 첨가가 가능하다고 연구 결과(Donkoh et al., 1988)가 보고되었다. 따라서 고수준의 커피박 첨가는 항영양인자로서 tannin에 의한 단백질 소화 작용의 감소, 성장을 저하 등과 같은 부정적인 효과가 나타나는 것으로 알려져 있다(Eggum et al., 1983).

본 시험에서는 alkaloid 성분인 tannin과 항산화 성분인 caffeic acid가 다량 함유된 커피박을 육계에 0.5 및 1.0% 첨가하여 소장 흡수 세포에 존재하는 효소 활성도에 미치는 영향을 조사하였다. 소장 점막 상피 세포는 1~3일 주기로 분화 및 재생되는 흡수 세포로서, 가축이 섭취하는 사료의 종류 및 영양소 구성에 따라 재생 속도가 변화되어 영양소 소화 및 흡수력에 직접적인 영향을 미친다. 소장 점막 상피 세포의 구성 성분으로 존재하는 ALP, LAP, sucrase, maltase 등과 같은 효소들은 흡수 상피 세포의 분화 작용과 밀접한 관계가 있다(Moog, 1979). 일반적으로 소장 점막 상피 세포는 사료 영양소 종류 및 함량에 따라 상피 세포의 분화율에 직·간접적으로 영향을 미쳐 미세 용모의 이동, 수명 및 형태 등에 영향을 받는다(King et al., 1983). 또한 maltase와 sucrase 같은 이당류 분해 효소는 가축이 섭취하는 탄수화물의 소화 및 흡수 작용에 직접적으로 영향을 받는다(Argenzio, 1989). LAP는 소장 내 BBM을 구성하는 효소인 aminopeptidase로서, brush border membrane(BBM)에서 세포 내 단백질 합성 및 peptide 분해와 밀접한 관계가 있다고 알려져 있다(Fan et al., 2001). 소장 ALP는 phosphoprotein의 탈인산화 반응, 인산의 분해와 흡수(Sayeed and Blumenthal, 1968), 세포 단백질 합성, 세포 분화 및 상피 세포의 glycosylation 작용(Moog, 1979)과 밀접한 관계가 있다. 최근에는 소장의 ALP는 지방 흡수 및 중탄산염의 분비 등과 같은 작용에 중요한 역할을 하는 것으로 사료의 성분에 따라서도 활성도가 변화한다고 보고되고 있다(Lalles, 2010).

따라서 소장 흡수 세포의 소화 효소 발현 및 영양소 흡수는 사료에 함유된 성분에 따라 다양한 영향을 받으므로(Harada and Syuto, 1993) 항영양 성분 역시 소장 흡수 세포의 분화 및 소화 작용에 관여하는 효소의 활성도를 억제하여 가축의 생산성에 부정적인 영향을 초래할 수 있다. 본 시험의 결과와 비슷하게 사료에 함유된 tannin 성분은 랫드에게 급여할 경우, 소장 용모 조직에 존재하는 소화 효소인 hydrolase, 특히 sucrase의 활성도를 현저히 저하시킨다고 보

고되었다(Tebib et al., 1994). 또한 Torres et al.(2013)은 육계에 저 수준의 tannin이 함유된 수수를 옥수수 배합율의 50% 또는 100%를 대체하여 급여한 결과, 대조구에 비해 소장의 aminopeptidase 활성도는 감소하였으나, ALP 활성도는 차이가 없었다고 보고하였다. 한편, 방사성에 의해 손상을 입은 랫드의 소장에서 항산화제를 투여할 경우, 소장 용모 세포에 존재하는 sucrase와 ALP 같은 효소의 활성도를 증가시켜 소장의 회복을 도와준다는 연구 보고도 있다(Anwar et al., 2013). 본 연구에서 0.5~1.0% 수준의 커피박 첨가는 sucrose를 분해하는 sucrase 활성도를 저하시키지만, 사료의 주요 성분인 전분으로부터 유래되는 maltose을 분해하는 maltase에는 영향을 미치지 않았다. 따라서 저 수준의 커피박 급여는 육계의 사료 이용성에 매우 제한적인 영향을 미친다고 생각된다.

In vitro 연구에서는 커피가 *E. coli* 등과 같은 장내 미생물의 성장을 저해하는 항균 작용이 보고된 바 있지만(Daglia et al., 2007; Rufian-Henares and Cueva, 2009) 커피 추출물의 급여가 직접 동물에서 장내 미생물의 균총에 영향을 미치는 효과에 대한 연구는 거의 없는 실정이다. 최근 Nakamaya and Oishi(2013)는 마우스에게 커피를 급여한 결과, 장에 존재하는 유해균인 *E. coli*와 *Clostridium* spp. 균총을 현저히 감소시키는 것으로 나타났다. 또한 마우스에 커피 급여는 장내 유익균인 *Bifidobacterium* spp.와 *Lactobacillus* spp.를 현저하게 증가시키는 것으로 보고하였다. 이러한 결과로 보아 유산균과 같은 장내 유익균의 증가는 장내 pH를 산성화하여 대장균과 같은 유해균의 성장을 억제하는 것으로 생각된다. Jaquet et al.(2007)도 커피는 분변에서 다당체를 기질로 하는 유익균을 증가시키는 것으로 보고하여 이러한 가능성을 뒷받침한다. 이와 같이 본 연구와 최근 선행의 결과로 보아 커피 추출물의 급여는 위장관에서 특정 유해균의 성장을 억제하는 항생제 대체 효과가 있는 것으로 보인다.

결론적으로 본 연구에서 0.5% 커피박을 급여한 경우, 육계의 증체, 소장 흡수 상피 세포의 maltase, LAP와 ALP 등과 같은 효소 활성도 및 혈액학적 지표에 유의적인 변화를 초래하지 않았지만, 점막 세포에서 sucrase 및 glucose의 수준을 감소시키는 것으로 나타났다. 그러나 커피박 첨가는 맹장 소화물에서 대장균의 증식을 억제하여 항생제 대체효과가 관찰되어 0.5% 수준의 커피박 첨가는 체내 독성작용 없이 항산화 물질이 풍부한 식물성 사료첨가 소재로서 이용이 가능할 것으로 보인다.

적 요

본 시험은 커피박 첨가 사료가 육계의 사양 성적, 소장 점막 세포와 혈액의 생화학 성분, 소장 점막 세포의 효소 활성도 및 맹장 미생물의 균총에 미치는 영향에 대하여 조사하기 위하여 실시되었다. 실험 설계로서 3일령 육계 162수를 각 처리구당 54수씩(n=6, 9수/케이지), 대조군(CON), 커피박 0.5%(CM I) 및 1.0%(CM II) 등 3 처리군에 완전입의 배치하였으며, 커피박 분말은 육계 후기 사양 기간(22~35일령)에 2주 동안 급여하였다. 사양 시험 결과, 커피박 0.5 및 1.0% 첨가는 사양 성적에는 유의적 영향을 미치지 않았다. 소장 점막 세포의 glucose 농도는 커피박 0.5% 및 1.0% 첨가군에서 대조군에 비해 유의하게 감소되는 것으로 나타났으나($P < 0.05$), 혈액에서는 처리군 간에는 차이가 없었다. 혈액 중 aspartate aminotransferase(AST)는 커피박 1.0% 군에서 대조군에 비해 유의적으로 높았으나($P < 0.05$), γ -glutamyl trans-peptidase(γ -GTP)는 처리군간 차이가 없었다. 소장 점막 세포에 존재하는 maltase, leucine aminopeptidase(LAP) 및 alkaline phosphatase(ALP) 활성도는 차이가 없었으나, sucrase 활성도는 커피박 첨가 수준에 비례하여 활성도가 현저히 감소되었다($P < 0.05$). 맹장의 미생물 균총을 분석한 결과, 대조군에 비해 커피박 첨가군(0.5 및 1.0%)에서 유산균에는 차이가 없었지만, 대장균 균총은 현저히 감소되었다($P < 0.05$). 결론적으로 커피박 1.0% 첨가 사료는 소장 점막 세포의 glucose와 sucrase 활성도 감소와 혈액 AST의 농도를 증가시켜 부정적인 영향이 크므로 0.5% 커피박 첨가군이 생리적 지표에 미치는 영향이 적고, 맹장에서 대장균의 성장을 억제하는 항균 효과가 있으므로 육계 사료의 기능성 소재로서 바람직한 적정한 수준이 될 것으로 판단된다.

(색인 : 커피박, 육계, 소장 점막 세포 효소, 생화학 지표, 항균 활성도)

사 사

본 연구는 농진청 어젠다 연구사업(향상기술개발, PJ00-8460) 및 경남과학기술대학교 RAIC(동물생명산업센터)지원으로 실시되었으며, 이에 감사드립니다.

REFERENCES

- Anwar M, Nanda N, Bhatia A, Akhtar R, Mahmood S 2013 Effect of antioxidant supplementation on digestive enzymes in radiation induced intestinal damage in rats. Int J Radiat

- Biol 89(12):1061-1067.
- Argenzio RA 1989 Digestion, absorption, and metabolism. In: Duke's Physiology of Domestic Animal. Swenson MJ. Cornell University Press, Ithaca, New York. 262-432.
- 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.
- Daglia M, Papetti A, Gregotti C, Berte 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.
- Daglia M, Papetti A, Grisoli P, Aceti C, Spini V, Dacarro C, Gazzani G 2007 Isolation, identification, and quantification of roasted coffee antibacterial compounds. J Agri Food Chem 55:10208-10213.
- Dahlqvist A 1968 Assay of the intestinal disaccharidase. Anal Biochem 22:99-107.
- 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.
- Eggum BO, Pedersen B, Jacobsen I 1983 The influence of dietary tea, coffee and coca on protein and energy utilization of soya-bean and barley in rats. Br J Nutr 50:197-205.
- Fan MZ, Stoll B, Jiang R, Burrin DG 2001 Enterocyte digestive enzyme activity along the crypt-villus and longitudinal axes in the neonatal pig small intestine. J Anim Sci 79: 371-381.
- 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.
- Gal-Garber O, Uni Z 2000 Chicken intestinal aminopeptidase: partial sequence of the gene, expression and activity. Poult Sci 79(1):41-45.
- Garcia J, Nicodemus N, Carabano R, De Blass JC 2002 Effect of inclusion of defatted grape seed meal in the diet on digestion and performance of growing rabbits. J Anim Sci 80:162-170.
- Gilani GS, Cockell KA, Sephehr E 2005 Effects of antinutritional factors on protein digestibility and amino acid availability in foods. J AOAC Int 967-987.
- Harada E, Syuto B 1993 Secretin induces precocious cessation of intestinal macromolecular transmission and maltase development in the suckling rats. Biol Neonate 63:52-60.
- Ito N, Fukushima S, Tsuda H 1985 Carcinogenicity and modification of the carcinogenic response by BHA, BHT, and other antioxidants. Crit Rev Toxicol 15(2):109-50.
- 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. Kor J Poult Sci 34(1):1-8.
- Jaquet M, Rochat I, Moulin J, Cavin C, Bibiloni R 2009 Impact of coffee consumption on the gut microbiota: a human volunteer study. Int J Food Microbiol 130(2):117-121
- King IS, Paterson JYF, Peacock MA, Smith MW, Syme G 1983 Effect of diet upon enterocyte differentiation in rat jejunum. J Physiol(Lond) 344:465-481.
- Lalles JP 2010 Intestinal alkaline phosphatase: multiple biological roles in maintenance of intestinal homeostasis and modulation by diet. Nutritional Review 68(6):323-332.
- Moog F 1979 The differentiation and redifferentiation of the intestinal epithelium and its brush border membrane. In: Ciba Foundation Symposium. Development of Mammalian Absorptive Processes. Excerpta Medica. Amsterdam Oxford, New York. 31-51.
- Murray RK, Mayers PK, Granner DK, Rodwell VW 1990 Chemical constituents of blood and body fluids. In: Harper's Biochemistry. Appleton & Lange. Connecticut, USA. 679-693.
- Nakayama T, Oishi K 2013 Influence of coffee(*Coffea arabica*) and galacto-oligosaccharide consumption on intestinal microbiota and the host responses. FEMS Microbiol Lett 343 (2):161-168.
- Rufián-Henares JA, de la Cueva SP 2009. Antimicrobial activity of coffee melanoidins-a study of their metal-chelating properties. J Agric Food Chem 57(2):432-438
- SAS 1996 User's Guide: Statistics Version 6.12 Ed. SAS Inst., Inc., Cary, NC.
- Sayeed M, Blumenthal HT 1968. The small intestinal alkaline phosphatase activity in the old mouse. Proc Soc Exp Biol Med 129:1-10.
- Tebib K, Rouanet JM, Besancon P 1994 Effect of grape seed

- tannin on the activity of some rat intestinal enzyme activities. *Enzyme Protein* 48(1):51-60.
- Torres KA, Pizauro JM Jr, Soares CP, Silva TG, Nogueira WC, Campos DM, Furlan RL, Macari M 2013 Effects of corn replacement by sorghum in broiler diets on performance and intestinal mucosa integrity. *Poult Sci* 92(6): 1564-1571.
- 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.
- 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.
- 한인규 백인기 최윤재 김법균 서성원 2011 사료 자원핸드북 (제 4판). 목운문화재단, 한국동물자원과학회 영양사료연구회. 198-199.
- (접수: 2014. 5. 7, 수정: 2014. 6. 16, 채택: 2014. 6. 17)