

키토산 올리고당의 음수내 급여가 육계의 혈액성상, 면역력 및 항산화 효소계에 미치는 영향

박성복** · 김상우** · 김영신** · 나종삼*** · 심관섭*

Effect of Inclusion of Chitosan-Oligosaccharide in Drinking Water on the Blood Component Profile, Immunity and Antioxidative Enzyme in Broiler Chickens

Park, Seong-Bok · Kim, Sang-Woo · Kim, Young-Sin ·
Na, Chong-Sam · Shim, Kwan-Seob

The study was conducted to the effect of inclusion of chitosan-oligosaccharide in drinking water on the blood component profile, immunity and antioxidative enzyme of broiler chickens. A total of 28,000 broiler chickens (Arbor Acre) at 1 days of age were fed the commercial diet until 35 days of age, the treatment divided into two treatments, normal control group and chitosan-oligosaccharide in drinking water group. In concentration of glucose, treatment was significantly decreased than control ($P<0.05$), but not statistically different on the Triglyceride, Total cholesterol, HDL-cholesterol and LDL-cholesterol in the Blood component profile of broiler chicks. The concentration of glutamic oxalacetic transaminase (GOT) was statistically different but the concentration of glutamic pyruvate transaminase (GPT) was significantly decreased in treatment fed chitosan-oligosaccharide than control ($P<0.05$). Immunoglobullins in the blood, concentration of IgG was not significantly different among control and treatment but concentration of IgM was significantly increased in fed chitosan-oligosaccharide than control ($P<0.05$). Antioxidant and super oxide dismutase (SOD) was not different among control and treatment and concentration of catalase and glutathione peroxidase were significantly increased in fed chitosan-oligosaccharide than control ($P<0.05$).

Key words : *chitosan-oligosaccharide, blood component profile, immunity, antioxidative enzyme, broiler*

* Corresponding author, 전북대학교 농업생명과학대학 동물생명공학과 교수(ksshim@jbnu.ac.kr)

** 국립축산과학원 가축유전자원시험장

*** 전북대학교 농업생명과학대학 동물생명공학과

I. 서 론

최근 위생적이고 안전한 먹을거리 생산에 대한 소비자들의 관심이 높아지면서 여러 가지 생리활성 기능을 가지고 있는 기능성 식품들이 크게 주목을 받고 있다. 또한 육계와 산란계의 생산성에 막대한 영향을 미치던 항생제 사용이 2011년 7월 이후 전면 금지됨으로써 장내 미생물로 인해 발생 가능한 피해에 많은 양계 농가들의 관심이 증가되고 있다. 따라서, 항생제 대체물질 중 기능성이 있는 물질들이 많이 소개되고 있는데, 그 중 키토산올리고당(Chitosan-Oligosaccharide)도 기능성 물질로 관심을 받고 있는 대상 중 하나이다.

계, 새우 등의 갑각류의 외골격과 조류나 균류와 같은 식물세포벽에 함유되어 있는 천연 고분자 화합물인 키틴은 식물체의 셀룰로오스와 유사한 구조를 가지며 자연계에 풍부하게 존재하고 있는 물질이나 용해성이 좋지 않아 셀룰로오스만큼 이용되지는 못하였다. 하지만 키토산의 가수분해로 얻어지는 저분자 화합물로 물에 잘 용해되며 점도가 낮고 용액이 단맛을 낼 뿐 아니라 키토산과 다른 새로운 생리적 기능을 갖는 키노산 올리고당(chitosan-oligosaccharide)이 개발됨으로써 관심이 집중되기 시작하였다.

키토산올리고당은 현재 키토산과 더불어 식품의약품안전처에서 혈중 콜레스테롤 개선 효과(LeHoux and Grondin, 1993; Korea Food & Drug Administration, 2010)를 가진 건강기능성분으로 인정하고 있으며 콜레스테롤 개선 효과 이외에 항균활성(Tanaka et al., 1997), 항당뇨 효과(Liu et al., 2007), 비만억제(Guha et al., 2005; Sumiyoshi et al., 2006; Hossain et al., 2007), 면역능 활성(Yoon et al., 2007), 항산화능(Mendis et al., 2007), 암세포 성장 억제효과(Nam et al., 2007)등의 다양한 생리 활성이 보고된 바, 이에 대한 연구가 활발하게 진행되고 있다.

가축의 경우, 육계에 키토산을 급여하였을 때, 락토즈 소화율이 증진되는 효과가 관찰되었고(Austin et al., 1981), Nam et al.(2008)은 토종닭에게 키토산 급여 시 증체율이 향상되고 폐사율 감소로 인한 출하율이 높아진다고 하였으며, Jung et al.(2004)은 육계에 있어서 증체량은 차이가 없으나 혈중 총 콜레스테롤 함량을 낮추고 고밀도 콜레스테롤 함량은 증가시킨다고 보고하였다. 또한 가축의 면역력을 증가시키고 생리기능을 활성시켜 질 좋은 축산물 생산에 기여하고 있다고 하였다(Kim and Kim, 2009).

따라서, 본 연구는 일반 실험실 환경이 아닌 현장 실증시험을 통하여 키틴/키토산을 효소 처리한 키토산올리고당을 사료가 아닌 육계에 음수 급여함으로써 혈액의 성상 변화, 면역활성 및 항산화능을 분석하여 키토산 올리고당이 육계의 강건성에 미치는 영향을 알아보고자 수행하였다.

II. 재료 및 방법

1. 시험설계 및 사양관리

키토산올리고당의 투여가 육계의 혈액성상, 면역 및 항산화효소계에 미치는 영향을 알아보기 위해 (주)건지에서 운영하는 고상식 계사를 이용하여 대조구 1동과 실험구 1동에 각각 1일령 Arbor Acre종 약 2만 8천수를 공시하여 5주 동안 비교 실험하였다. 사료와 물은 자유채식 및 자유음수시켰으며, 사양실험 전 기간 동안 24시간 중일 점등을 실시하였다.

2. 키토산올리고당 준비

실험구에 사용된 키토산올리고당은 1차 살모넬라와 대장균에 대한 항균효과를 검증한 후(Fig. 1), 키토산올리고당을 1000:1로 희석하고 음수공급시스템을 이용하여 19일령부터 출하시까지 하루 6시간 동안 투여하였다.

3. 조사항목

1) 혈액성상

실험 종료시 각각의 처리구에서 10수씩, 익하정맥을 통해 혈액을 채취한 후, 분리된 혈청을 효소비색법을 이용한 분석 kit(AM 202-K, 아산제약)를 이용하여 Glucose, Trygliceride, Total cholesterol, High density lipoprotein cholesterol(HDL), Low density lipoprotein cholesterol (LDL), Glutamic oxaloacetic transaminase(GOT) 및 Glutamic pyruvic transaminase(GPT)를 분석하였다.

2) 혈액 Immunoglobulin M 및 Immunoglobulin G

혈청의 면역 글로블린(IgM 및 IgG) 분석은 Bethyl Laboratories, Inc kit를 이용하여 분석을 실시하였다. Coating buffer에 capture antibody를 100배 희석하여 96 well에 각 100 μ l씩 분주하여 4 $^{\circ}$ C에서 overnight한 뒤 wash solution으로 5번 세척하고, 1% BSA가 첨가된 blocking buffer 각 well 당 200 μ l씩 분주하여 30분간 상온에 반응시켰다. 이후 wash solution으로 5번 세척한 후, 표준곡선을 작성하고 그 안에 흡광도 값이 보여 질 수 있도록 샘플을 희석하여 각 well에 100 μ l씩 분주하여 상온에서 1시간 동안 반응시킨 후 다시 wash solution으로 5번 세척하였다. 적당히 희석된 Detection antibody를 각 well에 100 μ l씩 분주하여 상온에서 1시간 반응시키고 난 다음 5번 세척하였다. 그 후 enzyme substrate reaction을 각 well에 100 μ l씩 분주하여 상온에서 색이 변하는 정도를 관찰하여 2M H₂SO₄를 각 well에 100 μ l씩 분주하여

반응을 종료시킨 후, Micro Leader에서 450nm의 파장으로 흡광도를 측정하였다.

3) 혈청 내 항산화 효소 반응

혈청 내 antioxidant(ATO), superoxide dismutase(SOD), catalase(CAT) 및 glutathione peroxidase(GSH-Px)는 분석 kit(Cayman, USA)를 이용하여 매뉴얼에 따라 측정하였다.

4. 통계분석

실험에서 얻어진 모든 자료들의 통계분석은 Statistical Analysis System(SAS release ver. 9.1, 2000)를 이용하여 대조구와 시험구의 혈액성상, 면역 및 항산화 효소에 대한 t-test를 실시하였다.

Ⅲ. 결과 및 고찰

1. 혈액 성상

키토산올리고당의 음수 급여로 인한 육계의 혈액 성상의 결과는 Fig. 2와 3에 나타내었다. 키토산은 소화관내에서 주로 micelle로 콜레스테롤이 통합되는 것을 방해함으로써 체내 콜레스테롤을 저하시킨다(Razdan and Pettersson, 1994; Jean and Kim, 2001a). 또한 키토산과 아미노그룹 양성자 고분자 결합 등을 이용하여 겔을 형성해 점성이 높은 성질을 갖게 되며(Jean and Kim, 2001b), 장내 점성이 높을수록 식이섬유는 micelle에서 mucosa로의 콜레스테롤 확산을 늦추고, 담즙산 대사를 방해하며, micelle 형성을 늦추게 되어 gastric emptying을 지연시켜 장내에서 콜레스테롤의 흡수를 저하시킴으로써 혈청 중 콜레스테롤을 낮춘다고 보고된 바 있다. 그러나 본 시험 결과에서는 Glucose의 농도는 대조구보다 키토산올리고당 음수 급여구가 유의적으로 감소하였으나($P < 0.05$), Triglyceride, Total cholesterol, HDL-cholesterol 및 LDL-cholesterol 농도에는 대조구와 키토산 음수 급여구간에 차이를 보이지 않았다. 이는 Kim and Kim(2009)이 육계에 키토산 급여시 총 콜레스테롤과 LDL-cholesterol은 감소하고 HDL-cholesterol은 증가한다는 보고와 상반된 결과를 나타내었다. 또한 간 손상에 대한 인자인 GOT와 GPT 분석 결과, GOT농도는 시험구간에 차이가 없었지만 GPT 농도는 대조구보다 키토산올리고당을 음수 급여한 시험구가 유의적으로 감소하였다($P < 0.05$). 따라서 키토산올리고당은 육계의 당대사에 영향을 미치는 것으로 사료되며, 실험결과 독성부분에 영향을 미치지 않는 것으로 보였다.

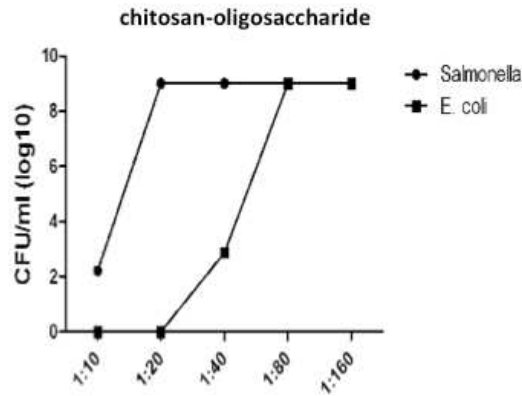


Figure 1. Effect of chitosan-oligosaccharide on *Salmonella* and *E. Coli*

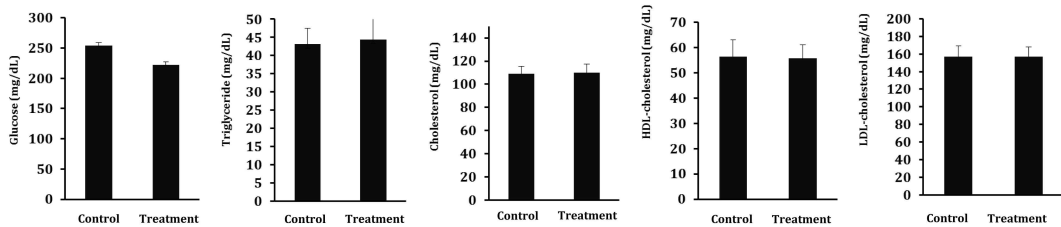


Fig. 2. Effect of inclusion of chitosan-oligosaccharide in drinking water on blood glucose and lipid concentration of broiler chickens ($p < 0.05$)

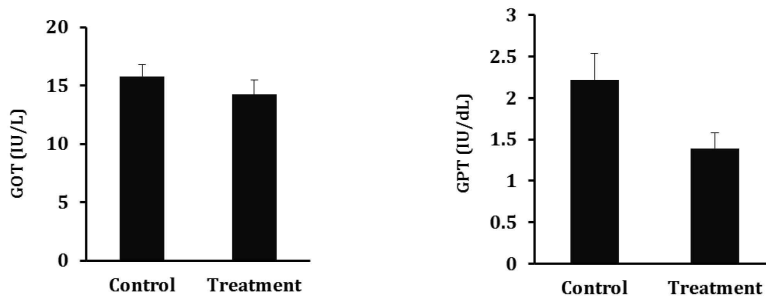


Fig. 3. Effect of inclusion of chitosan-oligosaccharide in drinking water on blood GOT and GPT concentrations of broiler chickens ($p < 0.05$)

2. 혈액 내 면역글로블린 농도

육계의 면역기능에 대한 키토산올리고당의 음수 급여 효과를 조사하기 위해 IgG와 IgM의 농도를 분석한 결과(Fig. 4), IgG 농도는 대조구와 키토산올리고당 음수 급여구간에 차이를 보이지 않았으나, IgM 농도는 대조구보다 키토산올리고당 음수 급여구가 유의적으로 증

가하였다($P<0.05$). 이는 키토산올리고당의 음수 급여가 육계의 면역기능 강화에 영향을 미칠 수 있음을 보여 주었다.

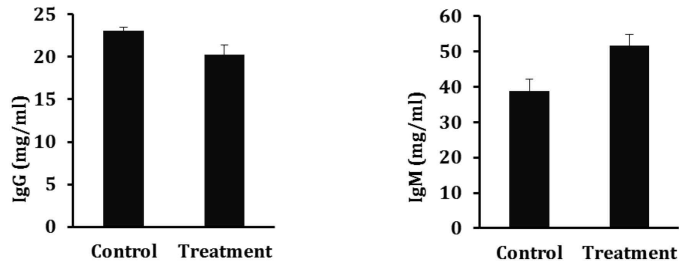


Fig. 4. Effect of inclusion of chitosan-oligosaccharide in drinking water on blood IgG and IgM concentrations of broiler chickens ($p<0.05$)

3. 혈청 내 항산화 효소 농도

항산화력과 SOD의 농도는 대조구와 키토산올리고당 음수 급여구간에 차이가 없었으나, Catalase와 Glutathione peroxidase의 농도는 대조구보다 키토산올리고당 음수 급여구가 유의적으로 증가하였다($P<0.05$)(Fig. 5). 따라서, 육계에 키토산올리고당의 음수 급여로 인해 1차 항산화 효소계의 활성을 증가시켜 육계의 강건성에 영향을 미칠 수 있음을 보였다.

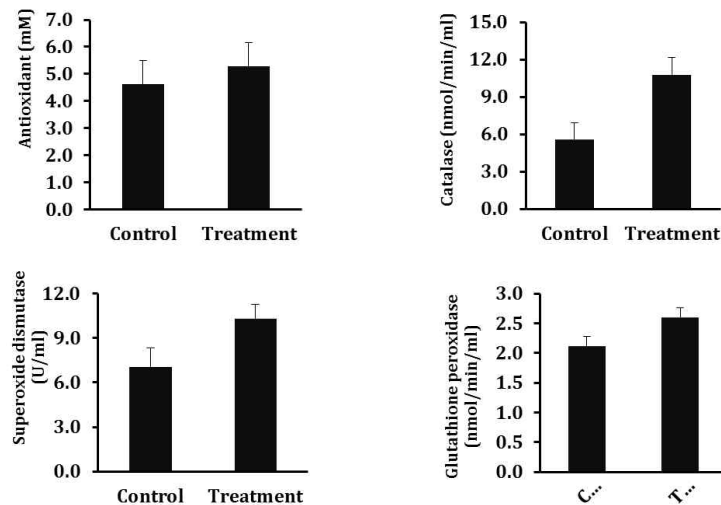


Fig. 5. Effect of inclusion of chitosan-oligosaccharide in drinking water on blood antioxidant enzyme of broiler chickens ($p<0.05$)

IV. 적 요

본 연구는 키토산올리고당의 음수 내 급여가 따른 육계의 혈액성상, 면역력 및 항산화효소계에 미치는 영향을 알아보기 위해 1일령 Arbor Acre종 약 2만 8천수를 대조구와 키토산 음수 급여구로 나누어 5주 동안 실시하였다.

육계의 혈액 성상에서 Glucose의 농도는 대조구보다 키토산올리고당 음수 급여구가 유의적으로 감소하였으나, Triglyceride, Total cholesterol, HDL-cholesterol 및 LDL-cholesterol 농도에는 대조구와 키토산올리고당 음수 급여구간에 차이를 보이지 않았고 간 손상에 대한 인자인 GOT농도는 시험구간에 차이가 없었지만 GPT농도는 대조구보다 키토산올리고당 음수 급여구가 유의적으로 감소하였다($P<0.05$). 혈액 내 면역글로블린 농도 중, IgG 농도는 대조구와 키토산올리고당 음수 급여구간에 차이가 없었으나, IgM 농도는 대조구보다 키토산올리고당 음수 급여구가 유의적으로 증가하였다($P<0.05$). 항산화력과 SOD의 농도는 시험구간에 차이가 없었으며, Catalase와 Glutathione peroxidase의 농도는 대조구보다 키토산올리고당 음수 급여구가 유의적으로 증가하였다($P<0.05$).

따라서, 키토산올리고당의 음수 급여로 인해 육계의 당대사, 면역기능 및 1차 항산화 효소계의 활성을 증가시켜 육계의 강건성에 영향을 미칠 수 있음을 보여주었다.

[논문접수일 : 2014. 7. 24. 논문수정일 : 2014. 8. 4. 최종논문접수일 : 2014. 8. 24.]

Reference

1. Austin, P. R., C. J. Brine, J. E. Castle, and J. P. Zikakis. 1981. Chitin: New facets of research. *Science*. 212-749.
2. Hossain, S., A. Rahman, Y. Kahir, A. A. Shams, F. Atros, and M. Iwashimoto. 2007. Effect of shrimp-derived chitosan on plasma lipid profile and liver lipid peroxide levels in hypercholesterolaemic rats. *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.* 34: 170-176.
3. Jean, Y. J., and S. K. Kim. 2001a. Effect of antimicrobial activity by chitosan oligosaccharides N-conjugated with asparagine. *J. Microbiol. Biotechnol.* 11: 281-286.
4. Jean, Y. J. and S. K. Kim. 2001b. Potential immune-stimulating effect of antitumoral fraction of chitosan-oligosaccharides. *J. Chitin Chitosan.* 6: 163-167.
5. Jung, B. Y., I. K. Paik, D. M. Lee, and S. B. Seo. 2004. The effects of a chitosan product supplementation on the performance of broiler breeders, broilers, pigs and dairy cattle. *J.*

- Chitin Chitosan. 9: 168-174.
6. Kim, Y. J. and B. K. Kim. 2009. Effect of dietary chitosan supplementation with feeding levels and feeding forms on growth performance and carcass characteristics of thigh muscular in broiler. *Korean J. Poult. Sci.* 36: 29-37.
 7. Korea Food & Drug Administration. 2010. Chitosan chitoooligosaccharide criterion and standard. Cheongwon, Korea.
 8. Guha, S., S. K. Pal, N. Chatterjee, G. Sarker, S. Pal, A. K. Basu, and R. Banerjee. 2005. Effect of chitosan on lipid levels when administered concurrently with atorvastatin-a placebo controlled study. *J. Indian. Med. Assoc.* 103: 418-421.
 9. LeHoux, J. G. and F. Grondin. 1993. Some effects of chitosan on liver function in the rat. *Endocrinology.* 132: 1078-1084.
 10. Liu, B., W. S. Liu, B. Q. Han, and Y. Y. Sun. 2007. Antidiabetic effects of chitoooligosaccharides on pancreatic islet cells in streptozotocin-induced diabetic rats. *World J. Gastroenterol.* 13: 725-731.
 11. Mendis, E., M. N. Kim, N. Rajapakse, and S. K. Kim. 2007. An in vitro cellular analysis of the radical scavenging efficacy of chitoooligosaccharides. *Life Sci.* 80: 2118-2127.
 12. Nam, K. D., H. G. Hahn, S. J. Cho, G. H. Park, and C. T. Kim. 2008. Effects of water-soluble chitosan-based feed additive on growth performance and quality in broiler chickens. *J. Chitin Chitosan.* 13: 14-22.
 13. Nam, K. S., M. S. So, and Y. H. Shon. 2007. Effect of chitosan oligosaccharide on carcinogenesis. *J. Chitin Chitosan.* 12: 95-98.
 14. Razdan, A., and D. Pettersson. 1994. Effect of chitosan on nutrient digestibility and plasma lipid concentration in broiler chicken. *Br. J. Nutr.* 72: 277-288.
 15. SAS Institute. 2000. SAS User's Guide: Statistics. Version 8 edition SAS Institute Inc., Cary, NC, USA.
 16. Sumiyoshi, M. and Y. Kimura. 2006. Low molecular weight chitosan inhibits obesity induced by feeding a high-fat diet long-term in mice. *J. Pharm. Pharmacol.* 58: 201-207.
 17. Tanaka, Y., S. I. Tanioka, M. Tanaka, T. Tanigawa, Y. Kitamura, S. Minami, Y. Okamoto, M. Miyashita, and M. Nanno. 1997. Effects of chitin and chitosan particles on BALB/c mice by oral and parenteral administration. *Biomaterials.* 18: 591-595.
 18. Yoon, H. J., M. E. Moon, H. S. Park, S. Y. Im, and Y. H. Kim. 2007. Chitosan oligosaccharide (COS) inhibits LPS-induced inflammatory effects in RAW 264.7 macrophage cells. *Bio. Chem. Biophys. Res. Commun.* 358: 954-959.