한국가금학회지 제 46권 제 2호, 117~125 (2019)
Korean J. Poult. Sci. Vol.46, No.2, 117~125 (2019)
https://doi.org/10.5536/KJPS.2019.46.2.117

아연 보충급여에 따른 한국재래계의 성장, 사료이용성, 장기무게, 혈액생화학적 성상, 장기무게 및 소화효소 활성도에 미치는 영향

전동경[1] · 김민정[1] · 윤일규[1] · 안호성[1] · 문은서[1] · 손시환[2] · 임 용[3] · 장인석[2†]

[1]경남과학기술대학교 동물생명과학과 학생, [2]경남과학기술대학교 동물생명과학과 교수,
[3]동의대학교 임상병리학과 교수

Effects of Dietary Zinc Supplements on Growth, Feed Efficiency, Organ Weight, Blood Biochemical Profiles, and Activity of Digestive Enzymes in Growing Korean Native Chicks

Dong-Gyung Jeon[1], Min-Jeong Kim[1], Il-Gyu Yoon[1], Ho-Sung Ahn[1], Eun-Seo Moon[1], Sea-Hwan Sohn[2], Yong Lim[3] and In-Surk Jang[2]

[1]Student, Department of Animal science & Biotechnology, Gyeongnam National University of Science and Technology, Jinju 52725, Republic of Korea

[2]Professor, Department of Animal science & Biotechnology, Gyeongnam National University of Science and Technology, Jinju 52725, Republic of Korea

[3]Professor, Department of Clinical Laboratory Science, Dong-Eui Univerisity, Busan 47340, Republic of Korea

ABSTRACT The aim of the study was to investigate the effects of dietary supplementation of zinc (Zn) sources (zinc oxide and Zn-methionine) on performance, organ weights, blood biochemical profiles, and digestive enzymes of the pancreas and small intestine in Korean native chicks (KNC). A total of 144 KNC (n=6) were fed a basal diet (CON, 100 ppm of Zn), a basal diet supplemented with 50 ppm of Zn with ZnO (ZNO), or a basal diet supplemented with 50 ppm of Zn with Zn-methionine (ZMT) for 28 days. There was no significant difference in body weight, gain, feed intake, and feed conversion ratio among the three groups. The relative weights of the liver, spleen, and intestinal mucosa were unaffected by the dietary source of Zn, whereas pancreas weight in the ZNO group decreased (P<0.05) compared with that in the CON and ZMT groups. Blood biochemical components including aspartate aminotransferase, and alanine aminotransferase were unaffected by dietary Zn supplementation. Pancreatic trypsin activity in the ZNO and ZMT groups was significantly (P<0.05) enhanced compared with that in the CON group. However, the activities of α-amylase and carboxypeptidase A were not altered by dietary Zn supplementation. The activities of maltase and sucrase were unchanged, whereas the activity of leucine amino-peptidase tended (P=0.08) to be increased by dietary Zn supplementation. In conclusion, the supplementation with 50 ppm of ZnO or Zn-methionine resulted in an activation of protein digestive enzymes in the pancreas and small intestine without affecting animal performance in KNC.

(Key words: Korean native chicks, zinc oxide, Zn-methionine, digestive enzymes, pancreas and intestine)

서 론

아연(Zn)은 동물체에서 요구되는 필수 미량원소로서 수많은 생물학적 기능이 있다고 알려지고 있다. 체 조직에서 특히 아연은 300 여종이 넘는 다양한 효소의 합성 및 활성도에 직간접적으로 관여하는 광물질로서 단백질 합성 등 대사기능 조절작용에 중요한 영향을 미치는 것으로 보고되었다(Prasad and Kucuk, 2002). 따라서 닭에서 아연이 결핍되면 성장, 사료이용성, 번식 및 질병 발생과 등과 같은 다양한 문제가 유발된다(Stahl et al., 1986; Sahin et al., 2009; Bun et al., 2011). 최근에는 아연이 면역작용, 항산화 작용 및 열스트레스 저감 등과 같은 중요한 역할이 보고되면서 다양한

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

아연 제제의 개발, 이용 및 허용 수준 등에 대한 많은 연구가 이루어지고 있다(Sahin et al., 2009; Liu et al., 2015; Kim et al., 2018).

지금까지 연구결과에 따르면 아연을 섭취할 경우, 소장, 간 등 다양한 장기에 존재하는 아연 운반체가 아연의 흡수, 대사 및 분비에 중요한 생리적 역할을 한다(Hara et al., 2017). 아연은 소장점막 상피세포에서 흡수되어 소장의 metallothionein 단백질과 함께 결합되어 축적되거나 또는 혈장에서 알부민과 결합되어 간으로 이동되며(Prasad, 1995), 이들 metallothionein 계열의 단백질은 소장, 췌장, 간, 신장 등 다양한 장기에 존재한다고 밝혀졌다(Kimura and Kambe, 2016).

닭의 영양대사에 중요한 기능을 담당하는 아연의 영양소 요구량은 40 ppm(NRC, 1994)에서 50 ppm(Korea Feeding Standard for Poultry, 2007) 수준이다. 그러나 현재 다양한 실증연구를 근거로 상업용 배합사료에 혼합하는 아연 수준은 요구량보다 훨씬 높은 60~100 ppm 정도이다. 아연이 결핍되면 식욕감퇴, 성장 및 사료효율 감소, 뼈 약화 등 닭의 생산성에 직접적인 영향을 미쳐 경제적 손실을 초래한다고 알려져 있다(Underwood and Suttle, 1990; Sahin et al., 2009). 이와 더불어 다양한 동물에서 아연의 결핍은 점막세포 형태와 소화효소 활성도 변화를 유발하고, 소화기능 감소로 궁극적으로 동물의 생산성 저하를 초래한다는 연구결과들이 보고되었다(Park et al., 1985; Ying et al., 2011; Martin et al., 2013). 또한, 닭에서 아연의 급여량을 증가시킬 경우 소장흡수세포의 구조와 소화효소의 활성도를 변화시켜 성장률을 증가시킬 수 있고(Hu et al., 2013; Tang et al., 2014), 아연이 결핍될 경우 탄수화물과 단백질의 대사기능에 직접적인 영향을 초래한다(Liu et al., 2015).

Huang et al.(2007)의 연구에 따르면 아연 운반단백질 및 아연 metalloenzyme 효소 발현 등을 근거로 21일령 육계에서 84 ppm 수준의 아연급여($ZnSO_4 \cdot 7H_2O$)가 최적의 수준이라고 발표하였다. 그러나 살모넬라 감염 닭에서 120 ppm 수준의 아연을 급여 시 소장의 점막세포 손상을 억제하고(Zhang et al., 2012), 육계에서 150 ppm의 Zn-methionine을 급여했을 경우, 발바닥 피부병 발생을 감소시킨다(Abd El-Wahab et al., 2013). 이와 같이 아연의 급여수준과 더불어 유기태 킬레이트 화합물의 개발 등으로 아연의 화학적 형태가 닭에서 아연의 생체 이용률에 직접적으로 영향을 미친다. 단백질 결합된 아연과 나노입자 아연제제가 무기태 아연보다 체내 이용률을 증가시켜 아연이 가진 생리적 기능을 활성화 시키는 것으로 보고되고 있다(Yu et al., 2017; Abedini et al., 2018).

따라서 본 연구의 목적은 적정수준으로 알려진 아연 함량에 무기태 및 유기태 아연을 50 ppm 보충급여하여 급여수준과 급여 형태가 닭의 생산성 및 소화 작용에 미치는 영향을 조사하는 것이다. 본 시험에서는 한국 재래계를 이용하여 기초사료에 50 ppm의 산화아연(ZnO)과 Zn-methionine을 각각 첨가하여 생산성 및 사료이용성, 장기무게, 혈액생화학적 성상 및 소화효소 활성도에 미치는 영향을 조사하였다.

재료 및 방법

1. 시험동물 및 시험설계

시험동물은 3주령 수컷 한국 재래계 144수를 사용하였으며, 시험설계는 완전 임의배치방법에 따라 대조군(CON), 무기태 아연(산화아연, ZnO) 급여군(50 ppm) 및 유기태 아연 급여군(Zn-methionine, 50 ppm) 등 3군(n=6, 8수/케이지)으로 설정하고, 1주간 적응기간을 거쳐 본 시험기간(4주)동안 시험사료를 급여하였다. 아연제제로서 무기태아연은 산화아연(ZnO)를 유기태아연은 Zn-methionine(®Zn-120, Avalia, Zinpro Corp, USA)을 각각 사용하여 50 ppm씩 보충 배합하였다.

2. 시험사료 및 사양관리

기초사료는 상업용 산란계 어린 병아리 사료로서 옥수수, 대두박 위주로 배합한 것으로 원료 및 영양소 함량은 Table 1에 제시하였다. 시험사료의 아연 함량 분석결과는 91 ppm 수준으로 나타났다. 시험 사료는 닭이 충분히 먹을 수 있는 양을 자유 급여하고, 음수는 자동 급수기로 공급하였다. 점등 관리는 부화 후 종야점등을 실시하고, 시험개시 후 4주령 동안 자연일조에 따라 실시되었다. 각 케이지에는 8수를 수용하여 농림축산식품부의 지침을 준수하였다. 계사의 환경온도는 23~25℃에서 정도를 유지하였고, 기타 사양관리는 경남과학기술대학교 종합농장 동물사육장의 사육관리방법에 준하여 실시하였다. 동물실험은 본 대학의 동물실험윤리위원회(IACUC)의 허가를 받아 실시하였다.

3. 조사항목 및 분석방법

1) 사양성적 및 장기무게

사양시험기간 동안 체중 및 사료섭취량은 시험개시(4주령) 및 시험 종료(8주령)에 측정하고, 증체량과 사료요구율

Table 1. Ingredients and composition of experimental diet

Ingredients	Composition
Corn	58.74
Rice bran	2.00
Soybean meal	25.86
Rape seed meal	4.00
Wheat barn	4.00
Corn distillers grain	1.38
Animal fat	0.5
NaCl	0.2
Limestone	1.54
Tricalcium phosphate	1.00
Methionine(liquid)	0.15
L-Lysine	0.25
Choline chloride	0.03
Vitamin mix[1]	0.1
Mineral mix[2]	0.1
Phytase	0.05
Probiotics	0.1
Chemical composition[3]	
ME (Mcal/kg)	2,890
Lys (%)	1.06
Crude protein (%)	19.14
Crude fat (%)	3.70
Crude fiber (%)	3.08
Zn (ppm)	91.5

[1] Contained per kg of diet: vit A, 10,0000 IU; vit D_3, 2,000 IU; vit E, 421 IU; vit K, 5 mg; riboflavin, 2,400 mg; vit B_2, 9.6 mg; vit B_6, 2.45 mg; vit B_{12}, 40 μg; niacin, 49 mg; pantothenic acid, 27 mg, biotin, 0.05 mg.
[2] Contained the mg per kg of diet: Mn 86.4 mg, Fe 74.6 mg, Cu 6 mg, Zn 100 mg, I 1.5 mg, Co 0.29 mg, Se 0.22 mg.
[3] Analyzed values.

을 계산하였다. 사양시험 종료 후 즉시 각 처리군 당 평균체중에 가까운 8수(n=8)를 선발하여 체중을 측정하고, 경정맥을 절개하여 sodium heparin이 함유된 진공 시험관에 채혈을 하였다. 혈액 생화학적 성분 분석을 위해 3,000 rpm에서 20분간 원심 분리한 혈장을 −70℃에 냉동 보관하였다.

2) 혈액생화학적 성상조사

혈중 생화학성분 중 glucose, total protein, triglyceride, total cholesterol, aspartate aminotransferase(AST), alanine aminotransferase(ALT) 등을 자동혈액생화학분석기(Mindray, BS-120, Mindry Bio Medical Electronics co., Shnzhen, China)를 이용하여 분석하였다.

3) 췌장 및 소장 점막세포 획득

복강을 절개하여 간, 소장, 비장 및 췌장을 채취하고 이들 장기무게는 체중 100 g 당으로 환산하여 표시하였다. 소화효소분석에 사용할 췌장은 생리식염수로 세척하여 액체질소로 동결하였다. 소장은 위 유문부 아래부터 결장 앞부분까지의 소장 전체 부위를 채취하였다. 전체 소장에서 십이지장 및 공장에 해당되는 맹낭 부위까지 약 60%를 전반부(proximal), 나머지 45%를 후반부(distal)로 구분하였다. 소장 전반부에 해당하는 부위의 장간막 지방을 제거하고, 생리식염수로 3회 연속으로 세척한 후 내용물을 제거하였다. 십이지장 및 공장부위에 해당하는 전반부를 절개한 후 grass slide을 이용하여 점막세포를 분리하고, 화학저울을 이용하여 점막무게를 측정하였다. 일정량의 생리식염수를 혼합하여 5,000 rpm에서 원심분리(Vision, VS-15,000 CF) 후 점막세포를 세척하고 효소활성도 분석에 사용하고자 분석 시까지 −70℃에 냉동 보관하였다.

4) 췌장 및 소장점막의 효소 활성도 분석

췌장의 효소 활성도 측정하기 위해 전체 췌장을 Tris buffer 용액(pH; 7.4)에서 tissue grinder로서 균질화한 후 5,000 rpm에서 10분간 분리하여 상등액을 취하였다. 췌장 α-amylase는 1% 전분기질을 분해할 수 있는 효소량을 dinitrosalicyclic 용액으로 발색시켜 분광광도계(540 nm)로 측정하였다. 표준용액으로는 maltose를 이용하여 표준곡선을 조사하였다(Bernfeld, 1955). 췌장 trypsin은 균질액에 0.1 U enterokinase를 넣어 trypsinogen을 활성화시켜 benzoyl-L-arginine ethyl ester를 기질로 사용하여 분광광도계로서(253 nm) 5분 동안 매 1분 간격으로 kinetics 조사하여 활성도를 측정하였다(Geiger and Fritz, 1986). Carboxy peptidase A 활성도는 췌장 균질액이 hippuryl-L-phenylalanine를 분해하는 속도를 분광광도계(254 nm)를 사용하여 4분 동안 변화되는 값으로 측정하였다(Folk and Schirmer, 1963).

소장 점막세포는 균질기로서 mannitol buffer(150 mM mannitol, 10 mM tris base, 30 mM succinate, 5 mM K_2HPO_4; pH 7.4)를 적정비율로 혼합하여 균질화하였다. 소장점막세

포에서 효소를 분리하기 위해 2% triton X-100을 혼합한 샘플을 실온에서 30분 정도 방치하였다. 이어서 4℃, 5,000 rpm에서 원심분리하여 얻은 상청액으로 아래의 효소활성도를 측정하였다. 이당류분해 효소인 maltase와 sucrase는 Dahlgvist(1968)의 방법을 ELISA reader에 적합하게 변형한 방법으로 분석하고, 최종 분해산물인 glucose는 Sigma glucose assay kit로서 450 nm에서 측정하였다. Leucine aminopeptidase(LAP) 활성도는 Gal-Garber and Uni(2000)의 방법을 변형한 것으로 leucine p-nitroaniline를 기질로 사용하여 ELISA reader를 사용하여 405 nm에서 측정하였다. 각 조직의 단백질 분석은 BCA 방법(Pierce BCA protein, Assay Kit 23225)으로 570 nm에서 ELISA reader로서 측정하였다. 효소의 특이적 활성도(specific activity)는 전체 활성도에서 단백질 mg당 농도로 나누어 표시하였다.

4. 통계처리

아연급여원에 따른 닭의 생산성, 장기무게, 혈액생화학 성분 및 소화효소 활성도에 미치는 영향은 SAS package program(SAS, 1996)을 이용하여 General Linear Model(GLM) 절차에 따라 유의성을 검정하였다. 유의차가 인정될 때 Tukey 방법에 의한 처리 간 유의성 검정(95%)을 실시하였다.

결과 및 고찰

1. 아연급여에 따른 사양성적 및 장기무게

한국 재래계에서 산화아연(ZNO군) 또는 유기태(Zn-methionine, ZMT군) 아연을 4주 동안 급여 후 체중, 증체량, 사료섭취량 및 사료요구율에 미치는 결과는 Table 2에 나타낸 바와 같다. 닭의 사양성적 결과를 살펴보면 체중은 ZNO 및 ZMT군에서 대조군(CON)과 비교 시 각각 1.2% 및 2.4% 증가하는 경향을 보였지만 유의적 차이는 없었다. 사료섭취량 역시 아연첨가군들이 대조군에 비해 증가되었으나 통계적 차이는 없었고, 사료요구율 또한 처리군간 차이를 발견할 수 없었다. 이러한 결과로 보아 기초사료에 무기태 또는 유기태 형태로 50 ppm을 추가로 아연을 급여할 경우 한국 재래계의 생산성에는 영향을 미치지 않았다.

아연 급여 후 채취한 장기의 상대적 무게(g/100 g 체중)를 조사한 결과는 Table 3에 제시한 바와 같다. 간, 비장 및 소장점막 무게는 아연의 급여 및 아연의 화학적 형태에 따른 차이를 보이지 않았다. 그러나 췌장의 상대적 무게는 산화아연 급여군(ZNO)에서 대조군 및 유기태 아연급여군(ZMT)에 비해 유의하게 감소되었다($P<0.05$).

Table 2. Effects of dietary Zn supplements on growth performance and feed conversion ratio in Korean native chicks

Item	Treatment*		
	CON	ZNO	ZMT
Initial BW (g)	251.25±8.05	252.25±2.98	252.00±2.44
Final BW (g)	782.25±12.61	791.50±27.72	801.00±33.02
Gain (g)	531.00±15.04	539.25±26.77	549.00±33.54
Feed intake (g)	1,693.75±72.87	1,739.25±71.90	1,715.00±64.84
FCR	3.19±0.14	3.23±0.22	3.13±0.10

* Con (Control), ZNO (Zinc oxide, 50 ppm), and ZMT (Zn-methionine, 50 ppm).
Mean±SD (n=6).

Table 3. Effects of dietary Zn supplements on the relative organ weights in Korean native chicks

Item	Treatment*		
	CON	ZNO	ZMT
	g/100 g body weight		
Liver	2.00±0.15	2.04±0.11	2.08±0.20
Spleen	0.19±0.04	0.14±0.03	0.18±0.08
Mucosal weight[1]	1.11±0.26	1.20±0.21	1.23±0.30
Pancreas	0.45±0.04[a]	0.38±0.04[b]	0.44±0.04[a]

* Con (Control), ZNO (Zinc oxide, 50 ppm), and ZMT (Zn-methionine, 50 ppm).
[1] Mucosal weight includes the mucosal weights of the duodunum and jejenum.
[a,b] Values with different superscripts differ significantly ($P<0.05$) among treatments.
Mean±SD (n=8).

본 시험에서 나타난 결과를 고찰하면 기초사료(100 ppm)에 무기태 또는 유기태 아연을 각각 50 ppm 추가로 급여한 경우 체중과 사료이용성은 차이는 없었다. 이러한 결과는 Liu et al.(2015)의 연구에서 $ZnSO_4$와 Zn-amino acid 킬레이트를 급여하였을 때 체중, 증체, 사료섭취량 및 사료요구율에서 처리 간 차이가 없었다고 한 보고와 일치한다. Huang et al.(2007)의 아연급여량과 육계 생산성에 관한 연구결과, 기초사료(28.4 ppm)에 아연을 농도별(0 ppm, 20 ppm, 40 ppm, 60 ppm, 80 ppm, 100 ppm, 120 ppm 및 140 ppm)로 보충 급여한 결과, 20~140 ppm의 아연처리군에서 체중, 사료섭취량 및 사료요구율 등은 차이가 없었다고 보고하였다.

그러나 장기의 아연의 축적률을 조사한 결과 췌장과 뼈에서 아연 급여수준에 비례적으로 증가한다는 사실을 보고하였다(Huang et al., 2007). Bun et al.(2011)도 육계의 기초사료(29.6 ppm)에 유기태 Zn을 농도별(0 ppm, 20 ppm, 40 ppm 및 60 ppm)로 보충 급여한 결과, 체중 등과 같은 생산성 지표에는 영향을 미치지 않았다고 하였다. 그러나 산란계에서 산화아연(50 ppm 및 100 ppm) 또는 Zn-methionine(50 ppm 및 100 ppm)을 보충 급여한 결과, Zn-methionine 100 ppm 급여군에서 사료섭취량이 증가(Abd El-Hack et al., 2018)하고 생산성이 증가된다는 연구결과도 보고되고 있다(Hu et al., 2013; Wen et al., 2018).

지금까지 연구결과를 종합하면, 닭의 사료내 급여하는 총 아연의 수준은 NRC 사양표준의 최소 요구량인 40 ppm을 만족할 경우 생산성 및 사료이용성에 미치는 영향은 크지 않으며, 최대 168.4 ppm을 급여하여도 생산성에는 영향을 없는 것으로 보인다. 본 시험에서도 성장 중인 한국 재래계에게 아연을 150 ppm 수준으로 급여 시에도 생산성 및 사료이용성에는 영향을 미치지 않는 것으로 생각된다.

2. 아연급여에 따른 혈액 생화학성분 및 소화효소 활성도 조사

한국 재래계에서 산화아연 또는 Zn-methionine을 급여에 따른 혈액생화학적 성상에 대한 결과는 Table 4에 나타낸 바와 같다. 혈액생화학 성분 중 glucose, total protein, triglyceride, total cholesterol 함량은 처리군 간 차이가 없었다. 또한, 간 손상지표로 알려진 AST 및 ALT 역시 4주 동안 아연 급여 후 조사한 결과에서 모든 처리군에서 비슷한 정상적인 수준을 보였다.

Table 4. Effect of dietary Zn supplements on blood biochemical profiles of Korean native chicks

Item	Treatment*		
	CON	ZNO	ZMT
Glucose (mg/dL)	272.38±19.26	272.13±17.22	258.88±25.42
Total Protein (mg/dL)	3.64±0.27	3.28±0.30	3.60±0.25
Triglyceride (mg/dL)	23.50±4.24	20.50±2.33	20.50±2.93
Total cholesterol (mg/dL)	129.50±13.42	134.50±11.81	135.50±6.35
AST (U/L)	239.63±17.32	230.63±18.41	221.00±18.32
ALT (U/L)	14.63±4.07	16.25±2.60	16.29±3.30

* Con (Control), ZNO (Zinc oxide, 50 ppm), and ZMT (Zn-methionine, 50 ppm).
Mean±SD (n=8).

혈액의 생화학적 성상에서 본 연구결과를 유사하게 Salim et al.(2012)은 육계의 기초사료에 유기태 아연을 29 ppm 첨가급여 시 혈중 glucose, cholesterol 등과 같은 성분은 차이가 없었음을 보고하였다. 또한, Kaya et al.(2001)도 산란계에게 아연을 수준별(0 ppm, 25 ppm, 50 ppm, 100 ppm 및 200 ppm) 급여 시 혈액의 glucose, total cholesterol 및 HDL-cholesterol 등에 아무런 영향을 미치지 않았다고 보고했다. 그러나 Abedini et al.(2018)은 산란계에서 산화아연(50 ppm 및 100 ppm) 또는 Zn-methionine (50 ppm 및 100 ppm)을 보충 급여한 결과, Zn의 급여는 triglyceride, total cholesterol 수준의 현저히 변화를 유발하는 것으로 보고하였다. 또한 Abedini et al.(2018)은 산란계에서 80 ppm의 산화아연 기초사료에 첨가한 결과 혈액의 total protein, albumin, glucose의 수준을 증가시킨다고 보고하였다. 혈액중 간 조직 손상 지표인 AST와 ALT 등은 간 또는 근육 조직에서 아미노산과 탄수화물의 대사 작용에 관여하는 효소로서 이들 조직의 손상이 발생되면 혈액으로 유입되어 급격하게 증가되므로 간 독성을 판단하는 지표이다(Giannini et al., 1999). 본 시험에서 산화아연 또는 Zn-methionine을 급여한 결과, AST 및 ALT 농도는 모든 처리군에서 차이 없이 정상수준을 보여 간 독성을 초래하지 않는 것으로 판단된다. 따라서 혈액 생화학적 성분을 조사한 결과를 종합하면 100~150 ppm 수준의 아연의 급여는 재래계에서 간 손상을 초래하지 않고 영양소 대사작용에 유의한 영향을 미치지 않는 것으로 생각된다.

한국 재래계에서 산화아연 또는 Zn-methionine을 급여 후 췌장 및 소장점막 효소의 활성도를 조사한 결과는 Fig. 1 및 2에 각각 나타내었다. 전분 분해효소인 α-amylase와 단백질 분해 효소인 carboxypeptidase A 활성도는 아연의 보충급여 및 급여원에 따른 차이는 없었다. 췌장의 주요한 단백질 분해효소인 trypsin은 ZnO 또는 Zn-methionine 50 ppm 보충급여에 따라 활성도가 유의하게 증가되었다(Fig. 1B). 그러나 산화아연 급여군에서 췌장의 무게가 대조군(CON) 및 ZMT 군에 비해 현저하게 감소되므로 췌장 조직 전체 trypsin으로 보면 ZMT군에서 trypsin 활성도가 가장 높을 것으로 생각된다. 한편, 소장의 흡수상피세포에 존재하는 이당류 분해효소(maltase 및 sucrase)를 분석한 결과, 모두 Zn 급여원에 따라 차이를 보이지 않았다(Fig. 2). 펩타이드 분해효소인 leucine aminopeptidase의 활성도는 ZnO 급여 또는 Zn-methionine 급여에 따라 증가하는 경향(P=0.08)을 보였으나 유의적 차

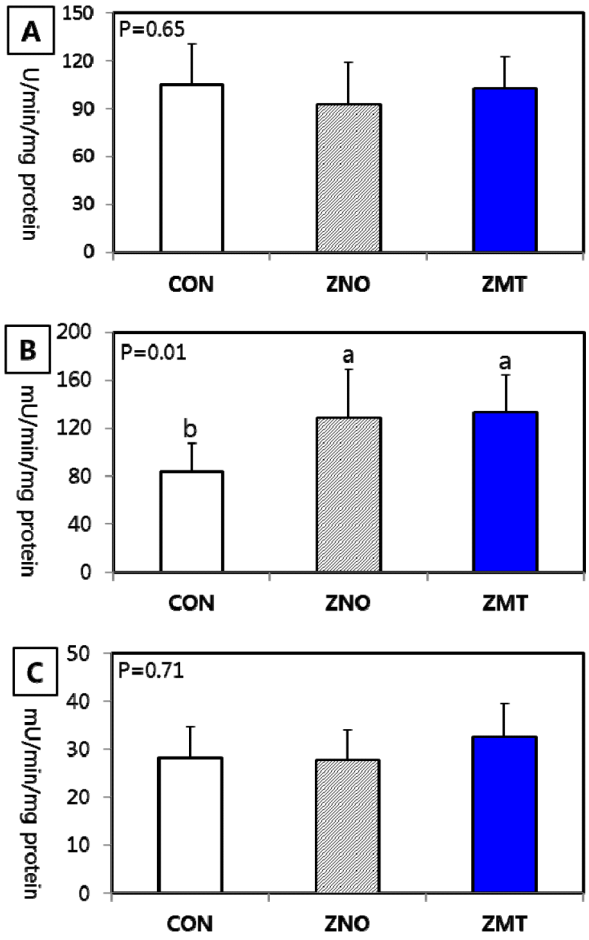

Fig. 1. Specific activity of digestive enzymes (A: α-amylase, B: trypsin, and C: carboxypeptidase A) in the pancreas of Korean native chicks fed the basal diet supplemented with 50 ppm of Zn with ZnO (ZNO) or 50 ppm of Zn with Zn-methionine (ZMT). [a,b] Values with different superscripts differ significantly (P<0.05) among treatments (Mean±SD, n=8). P-values are presented in the figure.

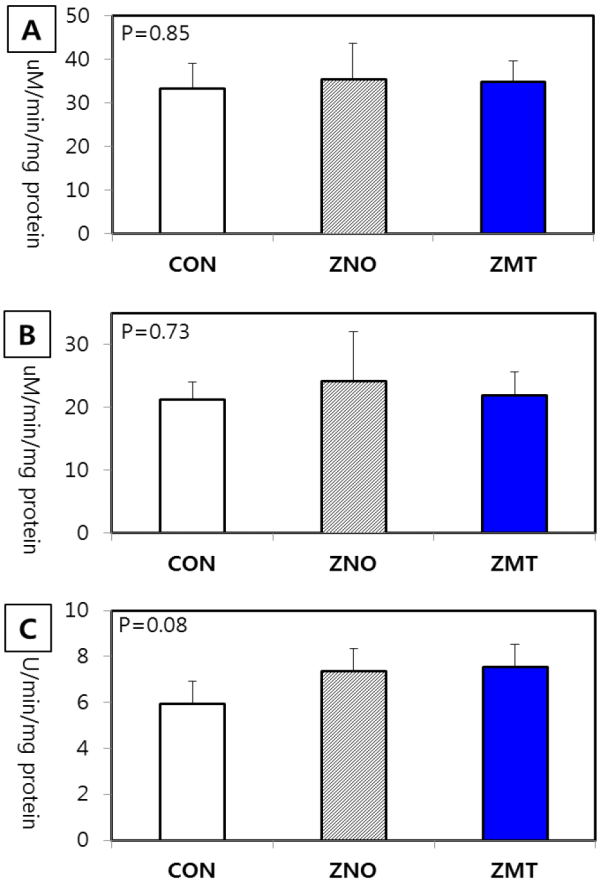

Fig. 2. Specific activity of digestive enzymes (A: maltase, B: sucrase, and C: leucine aminopeptidase) in the small intestine of Korean native chicks fed the basal diet supplemented with 50 ppm of Zn with ZnO (ZNO) or 50 ppm of Zn with Zn-methionine (ZMT). P-values are presented in the figure (Mean±SD, n=8).

이는 인정되지 않았다(Fig. 2C).

지금까지 Zn 급여가 췌장 및 소장의 소화 효소발현에 영향을 미칠 수 있다는 여러 연구들이 발표되었다. 먼저 닭에서 100 ppm의 산화아연을 급여한 결과 췌장에서 Zn 농도가 현저히 증가되었다(Lu et al., 1988). 또한 Huang et al.(2007)이 기초사료(28.37 ppm)에 아연을 농도별(0 ppm, 20 ppm, 40 ppm, 60 ppm, 80 ppm, 100 ppm, 120 ppm 및 140 ppm)로 보충 급여하여 장기에서 아연의 축적률을 조사한 결과, 특히 췌장에서 아연 급여수준에 비례하여 증가되었음을 보고했다. 따라서 아연급여에 따라 췌장이 가장 민감하게 영향을 받는 장기 중의 하나로 생각되며, 췌장에 존재하는 효소의 분비 또는 활성도에 영향을 미칠 수 있다. Hu et al.(2013)이 60 ppm의 $ZnSO_4$와 Zn-montmrillonite 급여 시 췌장과 소장의 소화액에서 trypsin 활성도가 현저히 증가되었다고 보고하여 본 연구에서 얻은 결과와 유사하였다. 돼지에서도 고수준의 아연을 급여 시 췌장에서 분비되는 trypsin과 amylase 등과 같은 췌장효소의 활성도가 증가하였다고 보고된바 있다 (Hedemann et al., 2006).

또한, 랫드에서도 Zn 결핍 사료를 급여한 결과 소장점막의 DNA, sucrase, maltase, lactase 및 leucine aminopeptidase 등의 효소가 현저히 감소되는 사실을 보고하여, Zn이 소장 흡수상피세포의 기능에 영향을 미친다는 사실을 증명한바 있다 (Park et al., 1985; Ying et al., 2011). 최근 오리를 이용한 연구에서 13 ppm, 30 ppm, 60 ppm, 120 ppm, 240 ppm 및 100 ppm 수준의 $ZnSO_4$를 급여한 결과, 아연수준이 증가될수록 소장의 형태학적 변화 및 소장의 구조를 긍정적으로

변화시키는 것으로 나타났다(Wen et al., 2018). 닭에서도 기초사료(80 ppm)에 각각 50 ppm 또는 100 ppm의 산화아연을 급여한 결과, 100 ppm 급여군에서 소장의 leucine aminopeptidase의 활성도가 현저히 증가되었다(Ghiasi ghalehkandi et al., 2011). 또, 랫드에서도 Zn 결핍(3 ppm), 적정 수준(46 ppm) 및 고수준(234 ppm)으로 아연을 급여한 결과, 소장 maltase 활성도는 Zn 결핍군에서 감소되고 고수준의 급여군에서 현저히 증가되었다(Jiang et al., 2009).

이와 같이 Zn 급여가 췌장 및 소장의 소화효소의 활성도를 증가시킨다고 보고한 연구 결과를 살펴보면, 특히 Zn 결핍은 췌장에서 trypsin과 amylase 등과 같은 효소의 활성도를 감소시키고, 결과적으로 영양소의 소화율을 저하시킨다(Brugger and Windisch, 2016). 췌장 효소의 활성도 및 분비량의 감소는 소장에 존재하는 이당류 및 펩타이드 분해 효소의 활성도를 연쇄적으로 저하시킬 수 있다. 또한 고수준의 Zn은 장관에 감염된 병원성 미생물에 대한 항균효과로 소장의 융모세포의 면역성을 높여 점막구조의 손상을 방지하고, 미세 융모막에 존재하는 가수분해효소의 활성도를 유지할 수 있다(Hu et al., 2013; Tang et al., 2014; Troche et al., 2015; He et al., 2019). 따라서 본 연구에서 나타난 바와 같이 한국재래계에서 아연의 보충급여는 췌장 및 소장에 존재하는 단백질 소화효소의 활성도를 증가시키며, 나아가 단백질의 생체 이용성에 긍정적인 효과를 미칠 수 있을 것으로 판단된다.

적 요

본 연구는 Zn 보충급여가 한국재래계의 생산성 및 소화기능에 미치는 영향을 조사하기 위하여 기초사료(100 ppm)에 ZnO 또는 Zn-methionine 형태로 각각 50 ppm을 첨가하여 체중, 사료이용성, 장기무게, 혈액생화학적 성상 및 소화효소 활성도를 조사하였다. 사양성적을 보면 대조군(CON)에 비해 산화아연(ZNO) 및 유기태(ZMT)군에서 체중은 각각 1.2% 및 2.4% 증가되는 경향을 보였지만 유의적 차이는 없었다. 사료섭취량과 사료요구율 역시 모든 처리군에서 차이가 없는 것으로 나타났다. 간, 비장 및 소장점막 무게는 아연의 급여 및 화학적 형태에 따른 차이가 없었으나, 췌장 무게는 ZNO군에서 대조군과 ZMT군에 비해 유의하게 감소되었다(P<0.05). 혈액 생화학 성분인 glucose, total protein, triglyceride, total cholesterol, aspartate aminotransferase(AST)와 alanine aminotransferase(ALT) 등은 ZnO 또는 Zn-methionine 급여에 따른 차이가 없었다. 췌장 효소활성도를 조사한 결과 α-amylase와 carboxypeptidase A 활성도는 아연의 급여에 따른 차이가 없었으나, trypsin은 ZnO와 Zn-methionine 급여에 따라 활성도가 현저히 증가되었다(P<0.05). 소장의 흡수상피세포에 존재하는 이당류분해효소(maltase 및 sucrase)는 Zn 급여원에 따라 차이를 보이지 않았다. 펩타이드 분해효소인 leucine aminopeptidase의 활성도는 ZnO 급여 또는 Zn-methionine 급여에 따라 증가하는 경향을 보였다(P=0.08). 이상의 결과로 보아 기초사료에 Zn의 보충급여(50 ppm)는 닭에서 단백질 소화작용에 관여하는 효소의 활성도 증진효과를 보이며, 단백질의 생체 이용성 향상에 긍정적인 영향을 미칠 수 있는 것으로 생각된다.

사 사

본 연구는 경남과학기술대학교 대학회계 연구비 지원(2018-2019년)에 의해 연구가 수행되었습니다. 또한 본 연구 수행에서 과정에서 본 대학 동물생명산업센터(RAIC) 분석기기 사용에 감사드립니다.

ORCID

Dong-Gyung Jeon https://orcid.org/0000-0002-4296-1454
Min-Jeong Kim https://orcid.org/0000-0002-7147-5391
Il-Gyu Yoon https://orcid.org/0000-0001-5734-3942
Ho-Sung Ahn https://orcid.org/0000-0001-8706-7133
Eun-Seo Moon https://orcid.org/0000-0003-4961-7418
Sea-Hwan Sohn https://orcid.org/0000-0001-6735-9761
Yong Lim https://orcid.org/0000-0001-9913-0048
In-Surk Jang https://orcid.org/0000-0001-9021-8852

REFERENCES

Abd El-Wahab A, Radko D, Kamphues J 2013 High dietary levels of biotin and zinc to improve health of foot pads in broilers exposed experimentally to litter with critical moisture content. Poult Sci 92(7):1774-1782.

Abedini M, Shariatmadari F, Karimi Torshizi MA, Ahmadi H 2018 Effects of zinc oxide nanoparticles on the egg quality, immune response, zinc retention, and blood parameters of laying hens in the late phase of production. J Anim Physiol Anim Nutr (Berl) 102(1):736-745.

Bernfield P 1955 Amylases alpha and beta. Vol 1. pages

149-151. In: Methods in Enzymology. Colowick SP, Kaplan NO. Academic Press, New York.

Brugger D, Windisch WM 2016 Subclinical zinc deficiency impairs pancreatic digestive enzyme activity and digestive capacity of weaned piglets. Br J Nutr 116(3):425-433.

Bun SD, Guo YM, Guo FC, Ji FJ, Cao H 2011 Influence of organic zinc supplementation on the antioxidant status and immune responses of broilers challenged with *Eimeria tenella.* Poult Sci 90(6):1220-1226.

Dahlgvist A 1968 Assay of the intestinal disaccharidase. Anal Biochem 22(1):99-107.

Folk JE, Schirmer EW 1963 The porcine pancreatic carboxypeptidase A system I. Three forms of the active enzymes. J Biol Chem 238:3884-3894.

Gal-Garber O, Uni Z 2000 Chicken intestinal aminopeptidase: partial sequence of the gene, expression and activity. Poult Sci 79(1):41-45.

Geiger R, Fritz H 1986 Trypsin. Vo l5. Pages 119-128 In: Methods of Enzymatic Analysis. Bergmeyer H. Academic Press. New York.

Ghiasi Ghalehkandi J, Karamouz H, Zadeh Adam Nazhad H, Maheri Sis N, Beheshti R 2011 Effect of different levels of zinc cxide supplement on leucine aminopeptidase enzyme activity in small intestine of male broiler chicks 2011. Int J Anim Vet Advances 3(5):313-315.

Giannini E, Botta F, Fasoli A, Ceppa P, Risso D, Lantieri PB, Celle G, Testa R 1999 Progressive liver functional impairment is associated with an increase in AST/ALT ratio. Dig Dis Sci 44(6):1249-1253.

Hara T, Takeda TA, Takagishi T, Fukue K, Kambe T, Fukada T 2017 Physiological roles of zinc transporters: molecular and genetic importance in zinc homeostasis. J Physiol Sci 67(2):283-301.

He B, Bortoluzzi C, King WD, Graugnard D, Dawson KA, Applegate TJ 2019 Zinc source influences the gene expression of zinc transporters in jejunum and cecal tonsils during broiler challenge with *Eimeria maxima* and *Clostridium perfringens.* Poult Sci 98(3):1146-1152.

Hedemann MS, Jensen BB, Poulsen HD 2006 Influence of dietary zinc and copper on digestive enzyme activity and intestinal morphology in weaned pigs. J Anim Sci 84(12):3310-3320.

Hu CH, Qian ZC, Song J, Luan ZS, Zuo AY 2013 Effects of zinc oxide-montmorillonite hybrid on growth performance, intestinal structure, and function of broiler chicken. Poult Sci 92(1):143-150.

Huang YL, Lu L, Luo XG, Liu B 2007 An optimal dietary zinc level of broiler chicks fed a corn-soybean meal diet. Poult Sci 86(12):2582-2589.

Jing MY, Sun JY, Weng XY, Wang JF 2009 Effects of zinc levels on activities of gastrointestinal enzymes in growing rats. J Anim Physiol Anim Nutr (Berl) 93(5):606-612.

Kaya S, Kececi T, Haliloglu S 2001 Effects of zinc and vitamin A supplements on plasma levels of thyroid hormones, cholesterol, glucose and egg yolk cholesterol of laying hens. Res Vet Sci 71(2):135-139.

Kim HN, Jeon DG, Lee CY, Jang IS 2018 Effects of dietary lipid-coated zinc on the antioxidant defense system in the small intestine and liver of piglets. Lab Anim Res 34(2):65-74.

Kimura T, Kambe T 2016 The functions of metallothionein and ZIP and ZnT transporters: An overview and perspective. Int J Mol Sci 17(3):336.

Korea Feeding Standard for Poultry 2007 National Institute of Animal Science, Rural Development Administration.

Liu ZH, Lu L, Wang RL, Lei HL, Li SF, Zhang LY, Luo XG 2015 Effects of supplemental zinc source and level on antioxidant ability and fat metabolism-related enzymes of broilers. Poult Sci 94(11):2686-2694.

Lu J, Combs GF Jr 1988 Effect of excess dietary zinc on pancreatic exocrine function in the chick. J Nutr 118(6):681-689.

Martin L, Pieper R, Schunter N, Vahjen W, Zentek J 2013 Performance, organ zinc concentration, jejunal brush border membrane enzyme activities and mRNA expression in piglets fed with different levels of dietary zinc. Arch Anim Nutr 67(3):248-261.

National Research Council 1994 Nutrient Requirement of Poultry. 9th rev ed. National Academic Press. Washington, DC, USA.

Park JH, Grandjean CJ, Antonson DL, Vanderhoof JA 1985 Effects of short-term isolated zinc deficiency on intestinal growth and activities of several brush border enzymes in weaning rats. Pediatr Res 19(12):1333-1336.

Prasad AS 1995 Zinc: an overview. Nutrition. 11(1 Suppl): 93-99.

Prasad AS, Kucuk O 2002 Zinc in cancer prevention. Cancer Metastasis Rev 21(3-4):291-295.

Sahin K, Sahin N, Kucuk O, Hayirli A, Prasad AS 2009 Role of dietary zinc in heat-stressed poultry: a review. Poult Sci 88(10):2176-2183.

Salim HM, Lee HR, Jo C, Lee SK, Lee BD 2012 Effect of sex and dietary organic zinc on growth performance, carcass traits, tissue mineral content, and blood parameters of broiler chickens. Biol Trace Elem Res 147(1-3):120-129.

SAS 1996 User's Guide: Statistics Version 6.12 Ed. SAS Inst., Inc., Cary, NC.

Stahl JL, Cook ME, Sunde ML 1986 Zinc supplementation: Its effect on egg production, feed conversion, fertility, and hatchability. Poult Sci 65(11):2104-2109.

Tang Z, Wen C, Li P, Wang T, Zhou Y 2014 Effect of zinc-bearing zeolite clinoptilolite on growth performance, nutrient retention, digestive enzyme activities, and intestinal function of broiler chickens. Biol Trace Elem Res 158(1):51-57.

Troche C, Eicher SD, Applegate TJ 2015 The influence of dietary zinc source and coccidial vaccine exposure on intracellular zinc homeostasis and immune status in broiler chickens. Br J Nutr 114(2):202-212.

Underwood E, Suttle NF 1990 The Mineral Nutrition of Livestock. CABI Publishing, New York.

Wen M, Zhao H, Liu G, Chen X, Wu B, Tian G, Cai J, Jia G 2018 Effect of zinc supplementation on growth performance, intestinal development, and intestinal barrier-related gene expression in pekin ducks. Biol Trace Elem Res 183(2):351-360.

Ying AJ, Shu XL, Gu WZ, Huang XM, Shuai XH, Yang LR, Jiang MZ 2011 Effect of zinc deficiency on intestinal mucosal morphology and digestive enzyme activity in growing rat. Zhonghua Er Ke Za Zhi 49(4):249-254.

Yu Y, Lu L, Li SF, Zhang LY, Luo XG 2017 Organic zinc absorption by the intestine of broilers *in vivo*. Br J Nutr 117(8):1086-1094.

Zhang B, Shao Y, Liu D, Yin P, Guo Y, Yuan J 2012 Zinc prevents *Salmonella enterica* serovar Typhimurium induced loss of intestinal mucosal barrier function in broiler chickens. Avian Pathol 41(4):361-367.

Received Apr. 23, 2019, Revised May 29, 2019, Accepted Jun. 4, 2019