

ORIGINAL ARTICLE

환경호르몬 비스페놀 A가 유도한 위장관 세포독성 제어효과를 가진 마 당단백질이 마우스의 식이 효율 및 악취저감에 미치는 영향

김도완 · 박문기 · 김태훈¹⁾ · 이세중*

대구한의대학교 제약공학과, ¹⁾푸디웜

Dioscorea batatas Decne Glycoprotein Prevents Ecotoxicological Effects of Bisphenol A in Gastrointestinal Epithelial Cells and Improves Fecal Malodor and Feed Efficiency in Mice

Do-Wan Kim, Moon-Ki Park, Tae Hoon Kim¹⁾, Sei-Jung Lee*

Department of Pharmaceutical Engineering, Daegu Haany University, Gyeongsan 38610, Korea

¹⁾ FoodyWorm Inc., Choenju 28118, Korea

Abstract

As a herbal supplement, *Dioscorea batatas* Decne (DBD) presents potent antioxidant activity and diverse health benefits. In the present study, functions of a 30 kDa glycoprotein isolated from DBD (hereafter, DBD glycoprotein) in the regulation of feed efficiency and fecal malodor in mice were explored. DBD glycoprotein produced protective effect against cytotoxicity induced by the ecotoxicological endocrine-disrupting substance bisphenol A in gastrointestinal epithelial HT-29 cells. To investigate its potential roles in the regulation of feed efficiency and fecal malodor, mice were administered an oral injection of DBD glycoprotein for 2 weeks. Compared with the control values, the weight of internal organs (liver, heart, kidney, and spleen) and levels of glutamate pyruvate transaminase, glutamate oxaloacetate transaminase, and lactic dehydrogenase were not significantly changed during DBD glycoprotein administration for 2 weeks. Interestingly, DBD glycoprotein improved feed efficiency and reduced hydrogen sulfide concentration without altering the ammonia level in mouse feces. Collectively, these results indicate that DBD glycoprotein is a functional agent that exerts gastrointestinal protective effects against ecotoxicological substances, improves feed efficiency, and reduces fecal malodor.

Key words : *Dioscorea batatas* Decne, Ecotoxicological substance, Feed efficiency, Fecal malodor, Glycoprotein

1. 서론

현대사회의 산업이 급속하게 발달함에 따라 가축 사료 성분 포함된 다양한 농약 및 화학 비료 잔류 물질이 가

축들에게 지속적으로 축적되었으며, 특히 천연 호르몬을 모방하여 호르몬 수용체와 결합하는 환경호르몬 (environmental hormone)들 중 비스페놀 A(bisphenol A)의 경우, 사료 잔류 물질뿐만 아니라 수도관과 캔 내부

Received 1 September, 2021; Revised 10 November, 2021;

Accepted 7 December, 2021

*Corresponding author: Sei-Jung Lee, Biopharmaceutical Engineering Lab., Department of Pharmaceutical Engineering, Daegu Haany University, Gyeongsan 38610, Korea.
Phone: +82-53-819-1806
E-mail: sjlee@dhu.ac.kr

© The Korean Environmental Sciences Society. All rights reserved.

© This is an Open-Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

코팅제로 광범위하게 사용되고 있다. 특히 우리나라 및 중국 축산농가들에서 사용되는 가축 음용수 및 농용수에 다양한 플라스틱으로부터 유래된 다량의 비스페놀 A가 농축되어 있다고 보고되었다 (Cho et al., 2016; Xu et al., 2018).

한편 가축은 사료의 섭취를 통해 위장관에서 대사된 영양소를 성장과 발달에 사용하게 되는데, 이 중 분뇨를 통해서 가축의 체내에 축적되지 않고 배설된 물질은 사육장에 쌓이게 되고 저장되어 발효되면 휘발성 유기물로 만들어진다고 알려져 있으며 (Mackie et al., 1998; Cho, 2014), 동물의 성장, 건강 및 생산성에 영향을 미친다고 보고되었다 (Kim, 2003). 이러한 유해가스 및 악취의 종류로는 휘발성 저급 지방산, 암모니아(ammonia, NH₃) 및 황화합물 계열의 황화수소(hydrogen sulfide, H₂S) 등이 있으며 (Zahn et al., 2001; Otto et al., 2003), 휘발성 저급 지방산(volatile fatty acid)의 경우 대기오염 또는 주요 악취 유발 물질로 한 개의 카르복실 말단기와 2-7개의 탄소로 구성되는 지방산으로써 이러한 지방산들은 유기화합물이 생물학적으로 분해될 때 생성되며 활성 슬러지 및 쓰레기 매립장 침출수 등의 형태로 주로 발생한다 (Narkis and Henfeld-Furie, 1978). 또한 악취 물질 중 하나인 암모니아의 경우 가축들의 호흡기 질환 및 가축 코 점막 유해균을 증가시키는 것으로 보고되었으며 이러한 악취물질들은 가축의 생산효율을 저하시키는 요인이 될 뿐만 아니라 인근 주민들의 후각을 자극하여 정신적 및 심미적으로 심각한 악영향을 야기할 수 있다 (Wang et al., 2019). 특히 황화수소의 경우 계란 썩는 냄새가 나는 무색의 유독한 기체로서 동물의 위장이 나 폐에 재흡수되어 질식, 폐 질환, 신경중추마비 등을 발생시킨다고 알려져 있으며, (Park, 2001) 황화수소의 경우 공기보다 밀도가 크기 때문에 축사 또는 사육장의 바닥에 깔려 인간에게 어지러움증을 동반한 두통 및 메스꺼움 등의 증상을 유발한다고 보고되었다 (Ra, 2004). 따라서 동물의 생산성 저하를 방지하기 위해서 생체에 부작용이 없고, 사료 첨가제로서 증체효율이 높은 물질을 다양한 천연물에서 찾으려는 연구가 꾸준히 진행되고 있다 (Madane et al., 2019).

Dioscorea batatas Decne (DBD, 마)는 폐와 신장 등 다양한 질병을 치료하는데 사용되어 왔으며 항당뇨, 면역체계를 개선시키는 약재로 알려져 있다 (Choi et al.,

2004). 또한 최근 연구에서 마는 장 상피세포에 강력한 항염증 효과를 가지고 있는 것으로 보고되었다 (Byeon et al., 2018). 특히 마에는 tannin, saponin, polyphenol 등이 함유되어 있으며, 그 중 polyphenol은 강력한 항산화 효과를 바탕으로 가축분뇨 소취 효과가 있다고 알려져 있다 (Kwon, 2010). 이와 유사한 커피의 경우 polyphenol이 풍부하여 탁월한 소취 능력을 가지고 있다고 보고되었다 (Mirondo and Barringer, 2016). 따라서 항산화 능력을 가진 마는 환경유해물질로부터 장 세포를 보호하는데 사용될 수 있으며, 이것을 바탕으로 식이 효율 및 동물로부터 배설된 분변의 악취저감에 사용할 수 있음을 시사한다. 특히 마는 주로 점액성 당단백질 (DBD glycoprotein)로 구성되어 있고, 단백질 부분에 이러한 polyphenol이 포함되어 있어서 강력한 항산화 효과를 발휘하며, 당부분은 세포보호 및 면역기능 조절 능력을 바탕으로 마의 기능적 역할을 촉진하는 것으로 알려져 있다 (Lee and Lim, 2008a; Kim et al., 2020). 따라서, 본 연구에서는 마로부터 분리된 30 kDa 당단백질을 활용하여 장 상피세포 보호능력을 확인하고 이를 토대로 마우스의 악취 저감 및 식이 효율에 미치는 영향을 조사하였다.

2. 재료 및 방법

2.1. 시약

본 실험에 사용된 시약 중 Dulbecco's Modified Eagle's Medium (DMEM) 배지, 소 태아혈청(Fetal Bovine Serum, FBS), Phosphate Buffered Solution (PBS), penicillin 및 streptomycin는 GE Healthcare (Logan, UT, USA)로부터 구입하였으며, trypsin은 GIBCO-BRL (Grand Island, NY, USA)에서 구입하였고, 사용된 시약은 순도가 높은(순도 99% 이상) 등급을 미국 Sigma사로 부터 구입하여 사용하였다.

2.2. 마 당단백질 분리 및 정제

마는 전라남도 나주 재래시장에서 구입하여 작은 크기로 잘라 99% 에탄올에 5개월간 침지하여 회전 농축하였다. 농축이 끝난 액상 마 추출물을 동결 건조하여 수확물을 얻었다. 얻어진 수확물을 증류수로 다시 용해시켜 단백질질을 80% ammonium sulfate 시약으로 침전시킨 후, 침전물을 pore size가 MWCO 6,000-8,000인 투석

반투막(Spectra/por, CAL, USA)을 이용하여 4°C 의 20 mM Tris-HCl (pH 7.4) 용액에서 12시간 투석하였으며 동결건조기를 이용하여 건조시켜 crude extract를 얻어 -70°C에서 보관하였다. 동결 건조시킨 sample은 polyacrylamide gel (15% SDS)에서 전기영동을 하여 분리한 후, 마로부터 분리된 당단백질을 Schiff's reagent로 염색하여, 식물성 당단백질을 확인하고, 그 분 자량을 marker와 비교하여 확인하였다.

2.3. 세포배양

장 상피 세포(HT-29 cells)는 American Type Culture Collection (ATCC, Manassas, VA, USA)에서 구입하였으며, DMEM medium에 10% FBS와 100 U/ml penicillin 및 100 mg/ml streptomycin을 혼합한 후, 37°C의 5% CO₂ 배양기에서 배양하였다.

2.4. MTT 분석

장 상피 세포에서 마 당단백질의 환경 독성 물질 억제 효과는 장 상피 세포에 마 당단백질과 비스페놀 A를 처리한 후, 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5 diphenyl tetrazolium bromide (MTT)를 처리하고 CO₂세포배양 기에서 2시간 동안 배양하였다. 배양 후 형성된 자색의 formazan 결정을 관찰하고 세포를 PBS buffer를 이용하여 3번 세척하였다. 200 µl의 dimethyl sulfoxide (DMSO)를 처리하고 formazan을 완전히 용해시킨 후, 100 µl씩 96-well clear bottom plates에 이용해 570 nm파장에서 측정하였다.

2.5. 식이 효율 및 조직세포 독성 측정

실험동물은 생후 6주령의 ICR 수컷 마우스(n=7)를 사용하였으며 마 당단백질을 10 mg/kg의 농도로 경구 투여하였고, 대조군의 경우에는 PBS를 투여하였다. 2주간 격일에 한번씩 경구용 약물투여 니들(sonde needle)을 이용하여 경구 투여 하였으며, 마우스의 체중 증가율 및 식이섭취량은 식이개시일부터 14일간 측정하여 식이 효율 계산에 이용하였다. 동물 실험의 윤리적, 과학적 타당성 및 효율적 관리를 위한 방법 및 절차는 대구한의대 학교 동물실험 윤리 위원회(Institutional Animal Care and Use Committee, IACUC)의 승인 (DHU2019-125)을 얻어 시행하였다. 식이 효율 (%)는 [(증체량/사료섭취량) ×100]으로 계산하였다. 15일째에 마우스를

ether로 마취한 후 혈액을 안와정맥총 채혈법에 의해 채 취하고 4°C에서 5,000×g로 15분 동안 원심분리한 후 혈 청을 실험에 사용하였다. 마 당단백질의 마우스 내 조직 세포 독성효과를 알아보기 위해 개복하여 장기(간, 심장, 좌우 콩팥, 비장)를 적출하였다. 주요장기는 PBS를 이용하여 불순물을 제거한후 장기들의 무게를 측정하였다.

2.6. GPT, GOT 및 LDH 측정

마우스 혈액의 Glutamate Pyruvate Transaminase (GPT), Glutamate Oxaloacetate Transaminase (GOT) 는 Reitman Frankel 법 (Reitman and Frankel, 1957)에 의해 조제된 Asan Set GPT 및 GOT kit (Asanpharm, Dajeon, Korea)로 측정하였으며, lactate dehydrogenase (LDH)는 LDH kit (Thermo Scientific, Hudson, NH, USA)를 이용하여 측정하였다. GPT 및 GOT의 측정을 위해 각각 500 µl의 기질액을 취해 37°C에서 10분간 가 온한 후, 100 µl의 혈청을 첨가하여 더 반응시켰다. 여기 에 500 µl의 정색 시액을 첨가해 실온에 20분간 반응시 켰다. 5 ml의 sodium hydroxide solution을 첨가한 후, microplate reader (SPARK, Seestrasse, Männedorf, Switzerland)를 이용해 505 nm에서 그 흡광도를 측정하 였다.

2.7. 황화수소 및 암모니아 농도 측정

14일간 총 4번에 걸쳐 하루에 배설되는 1g의 분뇨를 수집하여 ammonia (NH₃)와 hydrogen sulfide (H₂S)의 농도를 측정하였다. NH₃ 농도의 경우, 측정농도의 범위 가 0.2 mg/L 이상 2 mg/L 미만인 Ammonia Test kit (Model NI-SA, HACH, USA)를 사용하였으며, 10 ml 의 3차 증류수에 용해시킨 시료에 reagent powder (ammonia salicylate)를 첨가하여 3분간 반응시켰다. 여 기에 ammonia cyanurate reagent powder를 첨가하여 10분간 더 반응시켰고, 시약이 녹색으로 변한 후 color comparator box에 넣어 결과값을 측정하였다. H₂S 농도 를 측정하기 위해 시료를 200 ml의 3차 증류수에 용해시 킨 후, Alka-Seltzer 시약내 Sodium bicarbonate 가 pH 를 조절하여, Ionic/Free S₂를 H₂S로 전환시켜 유리된 H₂S가 test kit에 포함된 황산구리 시약종이와 5분간 반 응시켰다. 측정농도의 범위가 0.1 mg/L 이상 5.0 mg/L 미만인 Hydrogen Sulfide Test kit (Model HS-C, HACH, USA)를 사용하여 측정하였다.

2.8. 통계처리

모든 실험은 최소 3회 이상 반복하였으며, 실험결과는 means \pm S.E.로 표현하였다. 유의적 차이는 SPSS 16 software (IBM Corp, Armonk, NY, USA)의 Student's test 및 one-way analysis of variance (ANOVA) 이용하여 P -values < 0.05 의 값들을 유의적인 결과로 고려하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 장 상피 세포에서 마 당단백질의 환경유해물질에 대한 세포보호효과

비스페놀 A가 유도한 장 상피 세포(HT-29 cells) 독성에 있어서 마 당단백질의 세포 보호효과를 알아보기 위해 tetrazolium salt와 mitochondrial succinate dehydrogenase의 반응으로 형성되는 세포 생존율의 지표인 formazan의 양을 측정하는 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5 diphenyltetrazolium bromide (MTT) 실험을 진행하였다. Fig. 1A에서 보는 바와 같이, 다양한 농도의 비스페놀 A를 24시간 동안 장 상피 세포에 처리하였을 때 100 및 200 μM 의 농도에서 세포 생존율이 각각 63 및 61.3%만큼 유의적으로 감소한 것을 확인할 수 있었다. 또한 시간에 따른 세포 생존율을 측정하기 위해 100 μM 의 비스페놀 A를 6, 12 및 24시간 동안 처리했을 때 24시간에서 세포 생존율이 유의적으로 감소되는 것을 확인할 수 있었다(Fig 1B). 비스페놀 A의 장상피세포 독성효과를 제어하는 사료 및 영양 물질을 조사하기 위해, 마로부터 30 kDa 마당단백질을 분리하였다. 이러한 마당단백질은 당과 단백질이 각각 61% 및 39% 함유된 당단백질로서 세포와 동물모델에서 다양한 생리활성 효과들을 보여주었다 (Lee and Lim, 2008a,b; Kim et al., 2020). 홍미롭게도 마 당단백질 100 $\mu\text{g/ml}$ 을 비스페놀 A와 24시간 동안 함께 처리하였을 때 대조군과 비슷한 수준으로 장상피 세포생존율을 90.1%로 유지시키는 효과를 보여주었다(Fig. 1C). 최근 보고에 따르면 비스페놀 A의 경우 활성산소종(ROS, Reactive Oxygen Species)을 생산하여 세포 사멸기전을 유도하는 것으로 알려져 있으며 (Bindhumol et al., 2003), 활성 산소에 기인하여 동물 대장 미생물 군집을 변화시키고 염증 및 암을 유발시키는 환경 독성물질로 보고되었다 (DeLuca

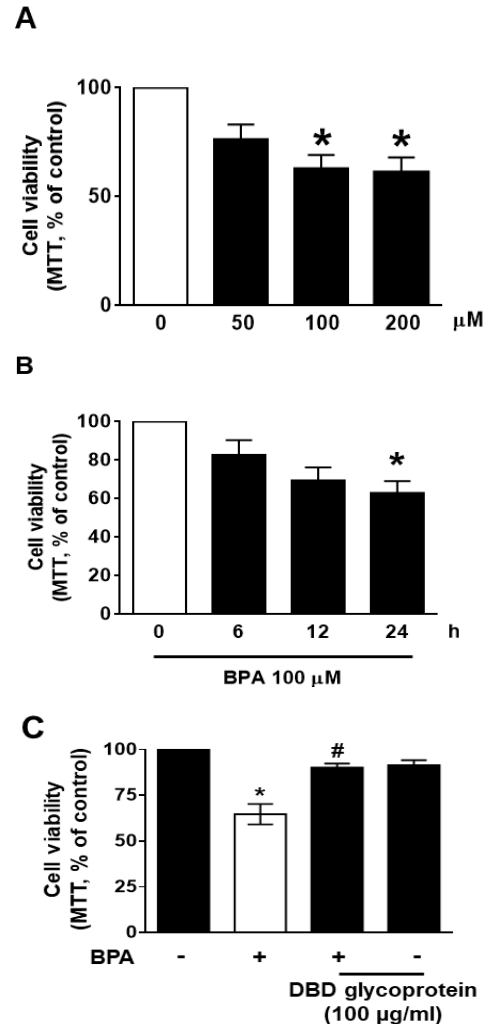


Fig. 1. Effect of DBD glycoprotein on the level of MTT activity induced by BPA in HT-29 cells (A) Dose responses of viability in HT-29 cells treated with BPA for 24 h are shown. Data represent means \pm S.E. $n = 3$. * $P < 0.05$ versus 0 μM . (B) Time responses of viability in HT-29 cells treated with BPA are shown. $n = 3$. * $P < 0.01$ versus 0 h. Data represent means \pm S.E. $n = 3$. * $P < 0.05$ versus 0 h. (C) Cells were co-treated with BPA and DBD glycoprotein for 24 h. Cell viability was determined by MTT assay. Data represent means \pm S.E. $n = 3$. * $P < 0.05$ versus control. # $P < 0.05$ versus BPA alone.

Table 1. Effect of DBD glycoprotein on internal organ weights in mice

Group / (g)	Liver	Heart	Kidney (Left)	Kidney (Right)	Spleen
Control	1.836 ± 0.009	0.171 ± 0.001	0.256 ± 0.004	0.253 ± 0.004	0.115 ± 0.001
DBD glycoprotein (10 mg/kg)	1.930 ± 0.004	0.169 ± 0.001	0.266 ± 0.002	0.261 ± 0.003	0.115 ± 0.001

Values are mean ± S.E. n = 7

Table 2. Effect of DBD glycoprotein on serum GPT, GOT and LDH in mice

Group	GPT (IU/L)	GOT (IU/L)	LDH (%)
Control	4.61 ± 0.15	14.83 ± 1.57	100.0 ± 0.32
DBD glycoprotein (10 mg/kg)	5.68 ± 1.24	15.65 ± 0.30	99.91 ± 0.29

Values are mean ± S.E. n = 7

et al., 2018). 또한 비스페놀 A와 유사한 환경유해물질인 프탈레이트(Bis(2-ethylhexyl) phthalate)도 활성산소 발생을 통해 경우 세포 자멸 기전을 유도하여 세포 생존 능력을 감소시킨다고 보고되었다 (Ma et al., 2018). 이와 같은 결과는 마 당단백질은 강력한 항산화 능력을 바탕으로 환경유해물질인 비스페놀 A가 생산하는 활성산소종을 억제하여 장 상피세포 보호능력이 있다는 것을 시사한다.

3.2. 마 당단백질의 마우스 장기 및 조직세포 독성에 미치는 영향

체내에 흡수된 마 당단백질의 독성유무를 알아보기 위해, 마우스 모델을 활용해 다양한 독성검증실험을 수행하였다. Table 1에서 보는 바와 같이, 10 mg/kg의 마 당단백질을 2주간 마우스에 경구 투여 하였을 때, 조직세포 독성으로 인한 무게의 변화가 고려되는 간, 심장, 좌우 콩팥, 비장의 무게는 PBS만을 처리한 대조군과 비교하여 유의적인 차이를 보이지 않았다. 특히 모든 마우스를 부검하여 주요 내부 장기의 육안적 이상소견 및 병변이 발견되지 않았다. 이러한 결과는 마 당단백질의 경구투여는 마우스에 어떠한 병적 이상이나 성장저해 현상을 나타내지 않음을 시사한다. 더불어 Table 2에서 보는 바와 같이, 체내에 흡수된 마 당단백질의 조직세포 독성유무를 평가하기 위해, 마우스 모델을 활용해 Glutamate Pyruvate Transaminase (GPT), Glutamate Oxaloacetate

Transaminase (GOT) 및 lactate dehydrogenase (LDH)의 수준을 추가적으로 측정하였다. 10 mg/kg의 마 당단백질을 2주간 마우스에 경구 투여하였을 때, 조직세포 독성으로 인한 GPT, GOT 및 LDH 수준은 각각, 5.68 ± 0.15 IU/L, 15.65 ± 0.30 IU/L, 및 99.91 ± 0.28%로 PBS만을 처리한 대조군과 비교하여 유의적인 차이를 보이지 않았다. GPT, GOT 및 LDH는 조직세포의 손상 후 혈중 농도가 증가한다는 점에서 장기 독성과 많은 관련이 있으며, 특히 GPT 및 GOT는 간 조직세포에 독성이 있을 경우, 혈중에서의 활성이 증가하는 것으로 보고되었다 (Ozaki et al., 1997). 따라서, 마 당단백질은 천연물 유래 물질로서 장 상피세포를 보호하고 동물의 장기 및 조직세포에 독성 효과를 가지지 않기 때문에 다양한 사료 첨가제로서 그 가능성을 제시한다.

3.3. 마 당단백질이 마우스 식이 효율 및 증체량에 미치는 영향

마 당단백질이 동물의 영양소 대사에 미치는 영향을 알아보기 위해, 실험 기간동안 체중의 증가량을 식이 섭취량으로 나누어 산출한 식이 효율에 대해 조사하였다. Table 3에서 보는 바와 같이 10 mg/kg의 마 당단백질을 2주간 마우스에 경구 투여 하였을 때 변화되는 일당 평균 증체량(Body weight gain)은 대조군과 비교했을 때 1.66 g/day만큼 증가하였고, 일당 평균 식이 섭취량(Food intake)은 4.3 g/day만큼 감소하여 식이 효율

Table 3. Effect of DBD glycoprotein on food efficiency in mice

	Body weight gain (g/day)	Food intake (g/day)	Feed efficiency ratio (%)
Control	9.00 ± 0.06	80.09 ± 0.11	11.43. ± 0.09
DBD glycoprotein (10 mg/kg)	10.66 ± 0.18	75.79 ± 0.14	14.06 ± 0.16*

Values are mean ± S.E. n = 7

* $P < 0.01$ versus control.

(Feed efficiency ratio)이 대조군에 비해 2.63%만큼 유의적 차이가 나는 것을 확인 할 수 있었다. 또한 최근 연구에서 가축 사료에 아미노산을 추가하였을 때 위장관 면역 체계를 개선 시키며, 장 상피 세포의 이주와 혈류 이동을 조절하여 위장관 환경을 개선시키고 성장을 촉진시키는 것으로 보고되었다 (Goodband et al., 2014). 따라서 이와 같은 결과는 61% 당과 39%의 단백질로 구성된 마 당단백질이 가축의 장내 환경을 변화시켜 섭취한 영양소 이용률 및 대사적 효율을 증대시키고, 소량의 사료 섭취량으로도 증체량을 개선할 수 있음을 시사한다.

3.4. 마 당단백질이 마우스 분뇨 악취저감에 미치는 효과

마 당단백질의 경구 투여가 마우스의 분뇨 악취물질 농도에 영향을 미치는지 알아보기 위해, 식이개시일부터 14일간 총 4번 배설되는 분뇨를 수집하여 황화수소 (hydrogen sulfide, H₂S) 및 암모니아(ammonia, NH₃)의 농도를 측정하였다. Fig. 2A에서 보는 바와 같이 10 mg/kg의 마 당단백질을 2주간 경구투여 하였을 때, 마우스 분뇨내 H₂S 농도 수준은 시간이 지남에 따라 점차 감소하여 실험종료 시에는 대조군에 비해 0.53 ± 0.04 ppm까지 유의적인 효과를 보였지만, NH₃의 농도에 있어서는 유의적인 변화가 관찰되지 않았다. 황화수소와 암모니아는 대표적인 악취물질로써 후각을 자극하여 호흡기 질병 및 면역체계를 손상 시켜 가축 생산성을 감소시킨다고 보고되었다 (Cheng et al., 2014). 황화수소의 농도를 측정법을 고려함에 있어서, 황화수소가 물에 대한 용해도가 낮기 때문에, 악취를 -180℃ 이하로 낮추어 측정하는 공정시험법을 준용하여 설계하여야 하지만 본 황화수소 test kit는 0.1 mg/L 이상 시료를 측정할 수 있는 test kit로서 최근에 보고에 따르면 황화수소의 경우, 20℃의 물에서 4.1 g/L까지 용해된다고 보고되었다 (Duan et al., 2007). 마 당단백질의 경우 polyphenol이

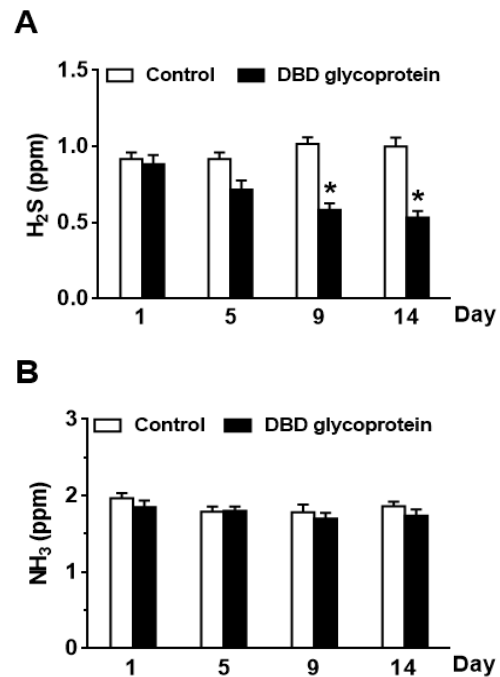


Fig. 2. DBD glycoprotein reduces the level of hydrogen sulfide (H₂S) and ammonia (NH₃) in mice. The concentration of H₂S (A) and NH₃ (B) in mouse treated with DBD glycoprotein for 14 days is shown. Data represent means ± S.E. n = 7. * $P < 0.05$ versus control.

함유되어 있으며 이것은 화학적으로 악취를 저감시키는 소취작용 능력이 있다고 알려져 있다. 그러나 마에는 tannin이 다량으로 존재하고 있으며, tannin은 강력한 항산화 효과를 바탕으로, 아미노산 대사 보다는 지방이나 포도당 대사에 기능적으로 활용된다고 보고되었다 (Liu et al., 2005; Fan et al., 2013). 따라서 이와 같은 결과는 마당단백질이 질소 배설량에 대한 제어 효과가 미미하여, 암모니아(NH₃)에 대한 소취 효과를 보이지 못한 것으로

사료된다 (McSweeney et al., 2001). 종합적으로, 마 당단백질의 경우 NH₃에 대하여 소취 효과를 보이지 못하지만, 식이 효율과 더불어 분내 악취물질인 황화수소의 농도를 감소시키는 선택적인 효과를 가지고 있음을 시사한다. 또한 마로부터 정제한 마 당단백질은 H₂S 악취발생에 대한 선택적인 가축분뇨 악취저감제로서의 그 가능성을 제시한다.

종합적으로, 위와 같은 결과는 마 당단백질은 환경유해물질의 세포사멸을 제어하고, 동물의 장기 및 세포 독성 효과를 가지지 않으면서 가축의 증체량 변화 및 악취저감에 효능이 있는 물질이라고 요약할 수 있다.

4. 결론

DBD는 마과에 속하는 덩굴성 여러해살이풀로 폐와 신장 등 다양한 질병을 치료하는데 사용되어 왔으며 당뇨 및 면역체계를 개선시키는 약제로 사용되어 왔다. 최근 연구 결과에서 천연유래 당단백질들은 항산화 능력이 뛰어나 장 세포 사멸을 제어하였으며, 본 연구에서는 마로부터 추출된 30 kDa의 식물성 당단백질(DBD glycoprotein)이 탁월한 항산화 효과를 바탕으로 환경유해물질로 알려진 비스페놀 A(Bisphenol A)가 유도한 세포 사멸을 제어하는 능력을 가지고 있다. 이러한 환경유해물질에 대한 제어효과를 가진 마 당단백질을 14일간 마우스에 경구 투여한 결과, 독성으로 인한 무게의 변화가 고려되는 주요 내부 장기의 무게 및 조직세포 독성유무 생체표지자인 Glutamate Pyruvate Transaminase (GPT), Glutamate Oxaloacetate Transaminase (GOT) 및 lactate dehydrogenase (LDH) 혈액내 방출 수준은 대조군과 비교하여 유의적인 차이를 보이지 않았다. 이러한 무독성의 마 당단백질이 동물의 영양소 이용효율에 미치는 효과를 조사한 결과, 동물식이 효율을 증가시켜서, 소량의 사료 섭취량으로도 유의적인 체중 증가량을 나타내었다. 게다가 마 당단백질은 분내 악취 주요 원인 물질로 알려진 hydrogen sulfide (H₂S)의 농도를 유의적으로 감소시켜 악취에 대한 소취능력을 가지고 있었다. 따라서 이러한 결과를 종합하면, 마 당단백질은 세포 내 환경유해물질의 작용을 억제하고, 동물의 장기 및 조직 세포에 독성 효과를 가지지 않으며, 동물의 식이 효율 및 H₂S에 대한 소취 효과를 촉진하여 동물의 성장을 촉진하

는 물질이라고 요약할 수 있다.

감사의 글

이 논문은 농림축산식품의 재원으로 농림식품기술기획평가원의 유용농생명자원산업화기술개발사업의 지원을 받아 수행된 연구임 (No. 321095021CG000).

REFERENCE

- Bindhumol, V., Chitra, K. C., Mathur, P. P., 2003, Bisphenol A induces reactive oxygen species generation in the liver of male rats, *Toxicology*, 188, 117-124.
- Byeon, S., Oh, J., Lim, J. S., Lee, J. S., Kim, J. S., 2018, Protective effects of *Dioscorea batatas* flesh and peel extracts against ethanol-induced gastric ulcer in mice, *Nutrients*, 10, 1680-1694.
- Cheng, Z., O'Connor, E. A., Jia, Q., Demmers, T. G., Wathes, C. M., Wathes, D. C., 2014, Chronic ammonia exposure does not influence hepatic gene expression in growing pigs, *Animal*, 8, 331-337.
- Cho, I. K., Nam, H. S., Jeon, Y., Na, T. W., Kim, B. J., Kan, E., 2016, Residue study for bisphenol A in agricultural reservoirs, *Korean J. Environ. Agric.*, 35, 270-277.
- Cho, S. B., Hwang, O. H., Yang, S. H., Kwag, J. H., Choi, D. Y., Yang, S. B., Kim, D. H., Park, S. K., 2014, Comparison of volatile organic compound and volatile fatty acid concentration in feces and urine of finishing pigs, *Journal of the Korean Society of Grassland and Forage Science*, 34, 120-124.
- Choi, E. M., Koo, S. J., Hwang, J. K., 2004, Immune cell stimulating activity of mucopolysaccharide isolated from yam (*Dioscorea batatas*), *J. Ethnopharmacol.*, 91, 1-6.
- Deluca, J. A. A., Kimberly, F. A., Menon, R., Riordan, R., Weeks, B. R., Jayaraman, A., Allred, C. D., 2018, Bisphenol-A alters microbiota metabolites derived from aromatic amino acids and worsens disease activity during colitis, *Exp. Biol. Med. (Maywood)*, 243, 864-875.
- Duan, Z., Sun, R., Liu, R., Zhu, C., 2007, Accurate thermodynamic model for the calculation of H₂S solubility in pure water and brines, *Energy & Fuels*, 21, 2056-2065.
- Fan, H., Wu, D., Tian, W., Ma, X., 2013, Inhibitory effects of

- tannic acid on fatty acid synthase and 3T3-L1 preadipocyte, *Biochim. Biophys. Acta.*, 1831, 1260-1266.
- Goodband, B., Tokach, M., Dritz, S., Derouchey, J., Woodworth, J., 2014, Practical starter pig amino acid requirements in relation to immunity, gut health and growth performance, *J. Anim. Sci. Biotechnol.*, 5, 12-23.
- Kim, J. Y., Lee, Y. M., Park, J. P., Lim, K. T., Lee, S. J., 2020, Phytoglycoprotein isolated from *Dioscorea batatas* Decne promotes intestinal epithelial wound healing, *Chin. J. Nat. Med.*, 18, 738-748.
- Kim, K. W., Woo, J. H., Lee, C. Y., Kim, D. H., 2003, Effects of ozonation of the swine nursery building on indoor air quality and growth performance of weanling piglets, *Journal of Animal Science and Technology*, 45, 1061-1066.
- Kwon, J. B., Kim, M. S., Sohn, H. Y., 2010, Evaluation of antimicrobial, antioxidant, and antithrombin activities of the rhizome of various dioscorea species. *Korean Journal of Food Preservation*, 17, 391-397.
- Lee, S. J., Lim, K. T., 2008, Inhibitory effect of 30-kDa phytoglycoprotein on expression of TNF-alpha and COX-2 via activation of PKCalpha and ERK 1/2 in LPS-stimulated RAW 264.7 cells, *Mol. Cell Biochem.*, 317, 151-159.
- Lee, S. J., Lim, K. T., 2008b, Phytoglycoprotein inhibits interleukin-1beta and interleukin-6 via p38 mitogen-activated protein kinase in lipopolysaccharide-stimulated RAW 264.7 cells, *Naunyn. Schmiedeberg's Arch Pharmacol*, 377, 45-54.
- Liu, X., Kim, J. K., Li, Y., Li, J., Liu, F., Chen, X., 2005, Tannic acid stimulates glucose transport and inhibits adipocyte differentiation in 3T3-L1 cells, *J. Nutr.*, 135, 165-171.
- Ma, Y., Guo, Y., Wu, S., Lv, Z., Zhang, Q., Xie, X., Ke, Y., 2018, Analysis of toxicity effects of Di-(2-ethylhexyl) phthalate exposure on human bronchial epithelial 16HBE cells, *Cytotechnology*, 70, 119-128.
- Mackie, R. I., Stroot, P. G., Varel, V. H., 1998, Biochemical identification and biological origin of key odor components in livestock waste, *J. Anim. Sci.*, 76, 1331-1342.
- Madane, P., Das, A. K., Pateiro, M., Nanda, P. K., Bandyopadhyay, S., Jagtap, P., Barba, F. J., Shewalkar, A., Maity, B., Lorenzo, J. M., 2019, Drumstick (*Moringa oleifera*) flower as an antioxidant dietary fibre in chicken meat nuggets, *Foods*, 8, 307-326.
- Mcsweeney, C. S., Palmer, B., Bunch, R., Krause, D. O., 2001, Effect of the tropical forage calliandra on microbial protein synthesis and ecology in the rumen, *J. Appl. Microbiol.*, 90, 78-88.
- Mirondo, R., Barringer, S., 2016, Deodorization of garlic breath by foods, and the role of polyphenol oxidase and phenolic compounds, *J. Food Sci.*, 81, C2425-C2430.
- Narkis, N., Henfeld-Furie, S., 1978, Direct analytical procedure for determination of volatile organic acids in raw municipal wastewater, *Water Res.*, 12, 437-446.
- Otto, E. R., Yokoyama, M., Hengemuehle, S., Von Bermuth, R. D., Van kempen, T., Trottier, N. L., 2003, Ammonia, volatile fatty acids, phenolics, and odor offensiveness in manure from growing pigs fed diets reduced in protein concentration, *J. Anim. Sci.*, 81, 1754-1763.
- Ozaki, M., Nakamura, M., Teraoka, S., Ota, K., 1997, Ebselen, a novel anti-oxidant compound, protects the rat liver from ischemia-reperfusion injury, *Transpl. Int.*, 10, 96-102.
- Park, B. B., Lee, S. K., Park, Y. S., 2001, Surface characteristics and adsorption capacity of H₂S on the activated carbon impregnated with NaOH, *Journal of the Korean Ceramic Society*, 38, 319-324.
- Ra, J. C., Han, H. J., Song, J. E., 2004, Effect of probiotics on production and improvement of environment in pigs and broilers, *Journal of Preventive Veterinary Medicine*, 28, 157-168.
- Reitman, S., Frankel, S., 1957, A Colorimetric method for the determination of serum glutamic oxalacetic and glutamic pyruvic transaminases, *Am. J. Clin. Pathol.*, 28, 56-63.
- Wang, T., He, Q., Yao, W., Shao, Y., Li, J., Huang, F., 2019, The variation of nasal microbiota caused by low levels of gaseous ammonia exposure in growing pigs, *Front. Microbiol.*, 10, 1083.
- Xu, P., Zhou, X., Xu, D., Xiang, Y., Ling, W., Chen, M., 2018, Contamination and risk assessment of estrogens in livestock manure: A case study in jiangsu province, China. *Int. J. Environ Res Public Health*, 15.
- Zahn, J. A., Dispirito, A. A., Do, Y. S., Brooks, B. E., Cooper, E. E., Hatfield, J. L., 2001, Correlation of human olfactory responses to airborne concentrations of malodorous volatile organic compounds emitted from swine effluent, *J. Environ. Qual.*, 30, 624-634.

-
- Researcher. Do-Wan Kim
Department of Pharmaceutical Engineering, Daegu Haany
University
dowoan2002@naver.com
 - Professor. Moon-Ki Park
Department of Pharmaceutical Engineering, Daegu Haany
University
moonki@dhu.ac.kr

-
- Company CEO. Tae-Hoon Kim
FoodyWorm Inc.,
ceo@foodyworm.com
 - Professor. Sei-Jung Lee
Department of Pharmaceutical Engineering, Daegu Haany
University
sjlee@dhu.ac.kr