

연구: Xin-Yan Han, Qi-Chun Huang, Wei-Fen Li, Jun-Fang Jiang, Zi-Rong Xu

Zhejiang 대학 사료 과학 연구소

번역: 편집부



아플라톡신 B₁ 레벨이 오리의 생산성, 소화효소 활성 및 영양소 소화율에 미치는 영향

◎적요

이번 연구는 아플라톡신 B₁(AFB₁)의 독성이 오리의 생산성, 체내 기관, 간 효소 활성도, 외관상 소화율, 영양소 소화율에 미치는 영향을 알아보기 위한 것이다.

1일령의 육용오리 90마리를 3개의 처리군으로 나눠 10마리씩 펜에서 사육하였다.

그룹1은 일반 사료를 급여하였고, 그룹 2와 3은 각각 아플라톡신 20 μ g/kg, 40 μ g/kg^o 포함된 오염된 쌀을 섞어 6주 동안 급여하였다.

그 결과 아플라톡신에 오염된 사료를 섭취한 그룹의 증체량과 사료 섭취량이 감소하였고, 사료요구율(feed to gain ratio), 간, 신장, 쇠장의 무게가 높은 것으로 나타났다. 알라닌 아미노전이효소(ALT, serum alanine aminotransferase)와 혈중 아스파라진산 아미노전이효소(AST, aspartate aminotransferase)의 활성도도 아플라톡신 오염 그룹에서 유의성을 보이며 높았다.

아플라톡신 오염 그룹의 오리들의 십이지장에서 채취한 단백질 분해효소, 키모트립신, 트립신(이자액에서 분비되는 단백질 분해효소), 전분 가수 분해효소 등 소화효소의 활성도가 증가한 반면, 조단백질의 외관상 소화율은 유의성 있게 낮은 것으로 나타났다. 이는 아플라톡신에 오염된 사료가 오리의 생산성과 영양소의 외관상 소화율을 감소시키고, 십이지장 내용물의 소화 효소 활성을 변화시킨다고 볼 수 있다.

◎서론

아플라톡신은 오염된 곡물에서 주로 *Aspergillus flavus*와 *Aspergillus parasiticus* 곰팡이에서 의해 생성되는 강한 독성물질이다. 아플라톡신 중에서 아플라톡신 B₁(AFB₁)은 발암성, 돌연변이 유발력, 기형 유발력을 가졌다고 알려져 있다(Ismail and Rustom, 1997; Smela et al., 2001; Mishra and Das, 2003). 아플라톡신에 다량 노출된 가축에서는 다양한 건강상 문제가 발생할 수 있다. 사료에서 아플라톡신 발생은 몇몇 나라에서 꽤 빈번하게 발생하고 있으며, 성장 및 고기 생산율 저하와 간과 난(egg) 등에서 아플라톡신 잔여에 따른 경제적 손실도 야기하고 있다(Charmley et al., 1995; Bintvihok et al., 2002).

동물마다 아플라톡신 중독 증상이 다양한데, 가금에서 아플라톡신증 증상은 나약함, 식욕 부진에 따른 성장 저하, 증체량 및 난 생산량 감소, 출혈 빈도 증가, 스트레스 민감도 증가, 폐사율 증가 등을 보이는 것으로 나타났다(Kryukov et al., 2002; Mendoza et al., 2006). 새끼오리가 타 가금에 비해 아플라톡신에 저항성이 약하다는 의견이 있다. 간은 아플라톡신의 타겟 기관이고 간담도 손상도 간 기능 효소제의 변질과 관계가 있다고 보고되고 있다. 아플라톡신증은 생물의 생리, 혈액, 병리적으로 변화시키고 면역계에도 영향을 미친다는 결과도 있다(Sur and Celik, 2005).

AFB₁은 사람에게 간암 유발인자라고 알려져 왔으며,

[Table 1. 사료 구성성분 및 영양가]

내용	0~3주	4~6주
성분(%)		
옥수수	19.20	26.20
쌀 ^a	38.00	38.00
대두박	28.00	19.00
19밀미들링	4.00	8.00
어분	5.00	2.00
식물성 유지	2.00	3.00
CaHPO ₄	1.70	2.10
석분	0.70	0.35
메티오닌	0.15	0.06
라이신	0.08	0.06
염	0.20	0.30
프리미스 ^b	1.00	1.00
구성c		
대사에너지, MJ/kg ^d	12.52	13.10
건물, %	93.23/94.15/95.20 ^e	93.66/94.20/95.23 ^e
조단백질, %	18.82/19.46/20.25 ^e	15.12/15.65/16.43 ^e
조지방, %	3.62/3.81/4.14 ^e	5.05/5.17/5.38 ^e
조회분, %	7.23/7.11/6.85 ^e	5.76/5.72/5.66 ^e
Ca, %	1.46/1.38/1.20 ^e	1.07/1.02/0.94 ^e
P, %	0.73/0.74/0.76 ^e	0.55/0.59/0.66 ^e
AFB1(ug/kg)	0/21.21/41.69 ^f	0/20.48/40.71 ^f

^a 아플라톡신 무함유 쌀은 각각 처리군에 맞게 아플라톡신에 오염된 것으로 교체하였음.

^b 0~3주: vitamin A, 3000 IU; vitamin D3, 600 IU; vitamin K, 2mg; vitamin B1, 3mg; riboflavin, 5mg; D-pantothenic acid, 11mg; nicotinic acid, 60mg; vitamin B6, 3mg; biotin 0.1mg; choline, 1650mg; folic acid, 1mg; vitamin B12, 0.02mg; Fe, 96mg; Mn, 30mg; Zn, 60mg; Cu, 8mg; Se, 0.15 mg; I, 0.45mg.

4~6주: vitamin A, 2500 IU; vitamin D3, 500 IU; vitamin E, 8 IU; vitamin K, 2mg; vitamin B1, 3mg; riboflavin, 5mg; D-pantothenic acid, 11 mg; nicotinic acid, 55mg; vitamin B6, 3mg; biotin 0.1mg; choline, 1400mg; folic acid, 1mg; vitamin B12, 0.02mg; Fe, 96mg; Mn, 80mg; Zn, 60mg; Cu, 8mg; Se, 0.15mg; I, 0.45mg.

^c 측정값

^d 계산값

^e 그룹 1, 그룹 2, 그룹 3 각각의 값

발암의심물질 등급 I로 분류되고 있다(Robens and Richard, 1992; IARC, 1993; Fink-Gremmels, 1999). 아플라톡신에 만성적인 노출은 가축의 생산성 및 축산 동향에 중대한 영향을 미치고, 소비자에게도 큰 위험을 줄 수 있다(Robens and Richard, 1992). 소화 효소 활성도와 영양소 소화율의 변화는 가축의 성장 및 증체율과 깊은 관계를 가지고 있다. 이번 연구는 아플라톡신 B₁에 노출된 오리들의 생산성과 소화 효소 활성 및 영양소 소화율에 미치는 영향을 알아보기 위한 것이다.

◎재료 및 방법

- 아플라톡신 준비 및 분석

중국 배양센터에서 구입한 *Aspergillus flavus*

(CIICC2219)를 PDA(potato dextrose agar)에서 5~6 일 배양하였다. 2AFB₁를 생산하기 위해 20% 수분을 함유하고 있는 쌀과 섞은 혼합물을 증류수에서 1주일 간 부유배양하였다. AFB₁는 ELISA 테스트 키트로 측정하였고, 건조시킨 AFB₁에 오염된 쌀은 기본 사료에 섞어 20μg AFB₁/kg, 40μg AFB₁/kg의 수치에 맞출 수 있도록 하였다.

- 동물과 처리

1일령의 육용오리 90마리를 임의적으로 3개의 처리군으로 나눠 10마리씩 펜에서 사육하였다. 그룹1은 일반 사료를 급여하였고, 그룹 2와 3은 각각 아플라톡신 20μg/kg, 40μg/kg이 포함된 오염된 쌀을 섞어 급여하였다. 오리들에게 물과 사료를 자유급이하면서 일반적인 관리 하에 6주동안 사육하였다.

사료는 National Research Council(1994)에서 권장하는 영양소 함유량에 포함토록 하였으며, Table 1에 성분을 표시하였다. 체중과 사료소비량은 매주 측정하였다.

- 소화율 실험

영양소 소화율을 측정하기 위하여 분을 수집하였다. 36마리의 오리를 개별 케이지에서 사육하면서 각 12 마리씩 처리군에 맞는 사료를 공급하였다. 사료와 물은 자유급이 토록 하였다. 분변 수집은 1주간 적응시간을 가진 후 3일 연속 행해졌다. 사료 소비량과 분변량은 매일 기록하였다. 분변은 수집 기간 동안 4°C의 온도에서 플라스틱 용기에 밀폐 보관하였다. 이 후 수집한 분변을 완전히 혼합하여 500g 샘플을 균질화한 분변에서 채취하여 70°C에서 건조시켜 Wiley Mill을 이용하여 1mm의 스크린으로 분쇄하였다.

- 샘플 수집

사료 급이 실험 끝날 때 각 처리군에서 18마리씩의 오리를 임의 선별하고 샘플링 하루 전날부터 절식을 시켰다. 오리들은 경정맥을 절단하여 안락사 하였다. 혈액 샘플은 10분간 2,200g으로 원심분리하여 혈청을 분리하여 에펜돌프 튜브에 담았다. 간, 신장, 췌장, 심장을 제거하여 세척 후 각각 무게를 달았다. 십이지장 내용물 샘플은 수집 후 액체질소에서 동결시켰다. 혈청 및 장기 내용물 샘플은 분석 전까지 -70°C에서 보관하였다.

- 화학적 분석

분변 분석은 AOAC(1990) 방법에 따라 행해졌다. 칼슘은 EDTA 적정법으로 적정하였으며, 총 인은 색책계로 분석 평가하였다. 알라닌아미노전이효소(ALT, serum alanine aminotransferase)와 혈중 아스파라진산 아미노전이효소(AST, aspartate aminotransferase)의 활성도는 Reitman-Frankel 법으로 평가하였다. 십이지장 내용물 샘플은 ice-cold saline과 함께 균질화하여 24시간 4°C에 저장 후 15분간 6,000g으로 원심분리하

였다. 상청액은 효소 활성도 분석을 위하여 -70°C에 저장하였다. 단백질 분해효소, 키모트립신, 트립신(이자액에서 분비되는 단백질 분해효소), 전분 가수 분해효소는 Lhoste et al.(1993)법으로 측정하였다.

- 데이터 분석

모든 데이터는 SAS(ver. 6.12)을 이용하여 최소유의 차검정법으로 평균을 비교하여 분석하였다. 데이터 값은 평균±표준오차 값으로 표시하였다. 유의 수준은 0.05이다.

◎ 결과 및 토론

- 오리의 생산성과 관련 장기기관의 무게

AFB₁은 오리의 건강과 생산물에 중대한 영향을 미칠 수 있다. AFB₁ 오염된 사료가 오리의 체중(BW)과 사료요구율(FCR)에 미치는 영향은 Table 2에 정리하였다. AFB₁ 그룹은 대조구와 비교하였을 때 체중이 유의성 있게 적은 것으로 나타났는데, 그 폭은 그룹 2와 3에서 각각 12.7%와 24.2%였다. 사료요구율은 AFB₁ 그룹에서 높았으며, 그 차이는 12.2%와 18.0%인 것으로 나타났다.

Table 3에는 AFB₁이 함유된 사료가 장기기관의 무게에 미치는 영향을 정리하였다. AFB₁ 사료를 급여한 그룹에서 간, 신장, 췌장의 무게가 유의성을 보이며 높았으나 심장의 무게에는 영향을 주지 않는 것으로 나타났다.

현재 연구에서 아플라톡신의 독성은 증체량 감소, 사료요구율 증가, 관련 장기 무게 증가 등으로 표현되어지고 있다. 아플라톡신에 의한 독성 영향은 이전에 닭과 오리를 이용한 실험과 크게 다르지 않았다(Huff et al., 1992; Scheideler, 1993; Abo-Norag et al., 1995; Goswami et al., 1998; Aravind et al., 2003). Dersjan-Li et al. (2003)은 사료 속 아플라톡신이 돼지와 닭의 성장 효율에 미치는 영향을 연구하는 실험에서 아플라톡신이 성장률과 관계가 있다

[Table 2. 아플라톡신B1이 6주간 사료 급여 후 생산성에 미치는 영향]

내용	그룹 1(대조구)	그룹 2	그룹 3
초기 체중(g)	56.0±0.9	56.0±0.8	55.5±0.8
후기 체중(g)	2087±39	1821±58*	1582±73*
평균 일일 증체량(g)	48.21±2.5	42.52±2.5*	37.44±2.7*
평균 일일 사료 섭취량(g)	142.20±4.6	140.73±3.7	130.28±3.5*
사료요구율	2.95±0.02	3.31±0.04*	3.48±0.04*

데이터는 각 처리구간 30마리의 오리의 평균±표준오차 값임.

*처리구와 비교시 유의성을 보임($P<0.05$).

그룹 1(대조구)은 일반 사료를 급여하였고, 그룹 2와 3은 각각 아플라톡신20 μ g/kg, 40 μ g/kg이 포함된 오염된 쌀을 섞어 6주 동안 급여하였음.

[Table 3. 아플라톡신B1이 관련 장기기관의 무게에 미치는 영향]

내용	그룹 1(대조구)	그룹 2	그룹 3
간(%)	2.44±0.05	2.95±0.06*	3.10±0.07*
심장(%)	0.71±0.03	0.83±0.04*	0.90±0.04*
심장(%)	0.61±0.01	0.64±0.02	0.66±0.02
췌장(%)	0.36±0.03	0.49±0.03*	0.57±0.04*

데이터는 각 처리구간 18마리의 오리의 평균±표준오차 값임.

*처리구와 비교시 유의성을 보임($P<0.05$).

그룹 1(대조구)은 일반 사료를 급여하였고, 그룹 2와 3은 각각 아플라톡신20 μ g/kg, 40 μ g/kg이 포함된 오염된 쌀을 섞어 6주 동안 급여하였음.

[Table 4. 아플라톡신B1이 알라닌 아미노전이효소(ALT, serum alanine aminotransferase)와 혈중 아스파라진산 아미노전이효소(AST, aspartate aminotransferase)의 활성도 미치는 영향]

내용	그룹 1(대조구)	그룹 2	그룹 3
ASL(U/L)	44.12±1.13	48.35±1.20*	50.23±1.40*
ALT(U/L)	16.25±0.66	21.46±0.67*	23.37±0.75*

데이터는 각 처리구간 18마리의 오리의 평균±표준오차 값임.

*처리구와 비교시 유의성을 보임($P<0.05$).

그룹 1(대조구)은 일반 사료를 급여하였고, 그룹 2와 3은 각각 아플라톡신20 μ g/kg, 40 μ g/kg이 포함된 오염된 쌀을 섞어 6주 동안 급여하였음.

고 발표한 바 있다.

- 혈청 ALT와 AST 활성도

혈청 효소는 간 손상 정도를 알아보기 위한 생화학적 지표로 이용되었는데, AFB₁ 처리군에서 유의성 있게 효소 활성도가 증가한 것을 확인할 수 있었다. 이 수치는 〈Table 4〉에 정리하였다. 혈청 내 ALT 및 AST 수치 변화는 간 특유의 것으로 세포의 생존력과 세포막 삼투성 변화를 연구하기 위한 도구로 활용되어왔다 (Novelli et al., 1995). 임상적으로 혈청 ALT와 AST 활성도는 간 기능의 생리학적 지표로 이용되는데, 간 세포의 미토콘드리아에 존재하며 단백질 대사에 중대한 역할을 한다. 이번 연구에서 혈청 ALT 및 AST 활

성도가 유의성 있게 증가한 것은 AFB₁ 처리로 인해 손상된 간에서 이러한 효소들이 분비되었다는 것을 뜻한다. 이러한 결과는 이전에 닭을 연구한 연구 결과도 동일하다(Kececi et al., 1998; Raju and Devegowada, 2000; Arvind et al., 2003).

- 영양소의 외관상 소화율

영양소 소화율은 〈Table 5〉에 값을 표시하였다. 조단 백질(CP)의 외관상 소화율은 아플라톡신처리군(그룹 2, 그룹 3)은 대조구와 비교하였을 때 각각 8.5%, 12.8% 감소한 것으로 나타났다. 특히 AFB₁ 사료를 급여한 결과 질소 이용률이 감소하였다는 결과를 얻을 수 있었다. 그러나 AFB₁ 급여가 에테르추출물(EE),

【Table 5. 아플라톡신B₁이 조단백질(CP), 에테르추출물(EE), 화분, 칼슘(Ca), 총 인(TP)에 미치는 영향】

내용	그룹 1(대조구)	그룹 2	그룹 3
CP(%)	63.75±1.46	58.31±1.35*	55.62±1.28*
EE(%)	85.12±1.78	82.75±1.75	80.84±1.85
화분(%)	44.72±1.10	42.74±0.98	39.85±0.93
Ca(%)	46.54±1.13	46.74±1.01	45.75±1.10
TP(%)	70.38±1.83	69.96±1.79	67.46±1.73

데이터는 각 처리구간 12마리의 오리의 평균±표준오차 값임.

*처리구와 비교시 유의성을 보임(P<0.05).

그룹 1(대조구)은 일반 사료를 급여하였고, 그룹 2와 3은 각각 아플라톡신20μg/kg, 40μg/kg이 포함된 오염된 쌀을 섞어 6주 동안 급여하였음.

【Table 6. 아플라톡신B₁이 십이지장의 소화 효소 활성도에 미치는 영향】

내용	그룹 1(대조구)	그룹 2	그룹 3
단백질 분해효소(U/g)	6.74±0.13	8.06±0.19*	8.27±0.17*
키모트립신(U/g)	5.35±0.14	6.22±0.15*	6.63±0.15*
트립신(U/g)	4.22±0.18	5.29±0.16*	5.84±0.17*
전분 가수 분해효소(U/g)	496.1±14.8	521.9±15.7	544.5±15.3*

데이터는 각 처리구간 18마리의 오리의 평균±표준오차 값임.

*처리구와 비교시 유의성을 보임(P<0.05).

그룹 1(대조구)은 일반 사료를 급여하였고, 그룹 2와 3은 각각 아플라톡신20μg/kg, 40μg/kg이 포함된 오염된 쌀을 섞어 6주 동안 급여하였음.

회분, 칼슘(Ca), 총 인(TP)에는 영향을 미치지 않았다. 아플라톡신이 위장관의 앞 부분을 바로 자극하여 병리학적 변화를 야기한다는 연구 결과가 있었다(Huff et al., 1986). 이는 영양소 흡수에 영향을 미쳐 외관상 소화율을 감소시킬 수 있다. 이번 연구에서는 조단백질의 소화율을 감소시킨다는 결과를 얻을 수 있었으며, 닭에서도 이러한 연구 결과가 나왔다고 보고된 바 있다(Li, 1998). 이러한 결과를 통해 AFB₁ 처리군에서 조단백질의 외관상 소화율 감소로 인해 오리의 성장률이 감소하였다고 생각해 볼 수 있겠다.

- 십이지장 내용물의 소화 효소 활성도

〈Table 6〉에 나타낸 것처럼 AFB₁은 십이지장 내용물의 소화 효소 활성도에 영향을 미친다. 단백질 분해효소, 키모트립신, 트립신(이자액에서 분비되는 단백질 분해효소), 전분 가수 분해효소 등은 AFB₁ 처리군에서 현저하게 증가하였다.

AFB₁가 소화 효소 활성도에 미치는 영향에 대한 연구 논문이 거의 없기 때문에 이번 연구 결과는 아플라톡

신에 오염된 사료를 섭취한 오리들의 십이지장에서의 특정 소화 효소 활성도가 상승하는 경향을 입증하고자 하였다. 이는 AFB₁에 의해 손상된 췌장에서 풋효소(proenzyme)방출이 증가하였기 때문인 것으로 사료된다.

그러나 이렇게 배출이 증가된 소화 효소제는 비정상적인 것이고, 장 내 영양소 소화율도 개선되지 않았다. 급성 및 만성 췌장염이 발생하였을 때, 체장 세포에서 방출되는 풋효소는 크게 늘어날 것이고, 이는 장 내 소화 효소의 활성도 증가를 야기할 것이다(Largmani, 1990).

무엇보다도 이번 연구에서 아플라톡신에 오염된 사료로는 오리의 성장 능력을 저하시고, 영양소 외관상 소화율을 감소시키며, 몇몇 기관의 병리학적 변화를 야기하면서, 십이지장의 소화 효소 활성도에 영양을 미치는 것으로 나타났다. 소화 효소 활성도가 비정상적으로 높아진 가운데, 영양소가 소화력 저하로 증체율이 감소한 것이라 볼 수 있겠다.