

산란계 사료에 게르마늄의 첨가가 계란품질 및 면역반응에 미치는 영향

홍종욱 · 김인호¹ · 권오석 · 이상환 · 민병준 · 이원백
단국대학교 동물자원과학과

Influence of Dietary Supplemental Germanium Colloid on Egg Quality and Immune Response in Layers

J. W. Hong, I. H. Kim¹, O. S. Kwon, S. H. Lee, B. J. Min and W. B. Lee
Department of Animal Resource and Science, Dankook University

ABSTRACT This study was conducted to investigate the effects of feeding germanium colloid(GC) on the egg quality and immune response in laying hens. One hundred forty four layers, 32-wk-old ISA Brown, were used in a 40-d experimental assay with a 7-d adjustment period. Dietary treatments included 1) control (basal diet; CON), 2) 0.5ppm GC (basal diet + 0.5ppm germanium), 3) 1.0ppm GC (basal diet + 1.0 ppm germanium). For overall period, hen-day egg production tended to be increased as the concentration of GC in the diets was increased with significant difference (linear effect, $P<0.01$). Laying hens fed 0.5ppm GC diet were significantly ($P<0.01$) lower in egg shell breaking strength than laying hens fed CON or 1.0 ppm GC diets. Egg shell thickness and yolk color were not influenced by GC supplementation. Laying hens fed 1.0ppm GC diet were higher in egg yolk index than laying hens fed CON and 0.5ppm GC diets with significant difference (quadratic effect, $P<0.02$). As adding level of germanium colloid increased in the diets, the total serum cholesterol and triglyceride tended to be decreased. However, the effect of GC supplementation did not show significant in the levels of total serum cholesterol and triglyceride. Also, HDL- and LDL+VLDL-cholesterol in serum were not statistically different among the treatments. Red blood cell and white blood cell count in blood tended to be increased as the concentration of GC in the diets was increased with significant difference ($P<0.01$). Hematocrit concentration in blood was successfully increased by supplementation of GC ($P<0.01$). In conclusion, although egg quality was not influenced by GC supplementation, supplementing GC improved immune status in laying hens.

(Key words : laying hens, germanium, egg quality, immune response)

서 론

축산업이 집단사육 형태로 규모화 되어감에 따라 질병 원 인체에 노출될 가능성과 질병전파의 위험성이 더욱 높아지 게 되었으며, 이에 따라 질병을 예방치료하기 위한 약제의 집중적인 사용이 증가하고 있다(Anadon and Martinez-Larranaga, 1999). 이러한 질병감염의 위험성으로부터 가 축을 배제시키기 위하여 백신 접종 및 항생제의 사료내 첨가 등의 방법이 사용되어 왔으나, 육제품내의 항생제 잔류문제 와 함께 항생제 내성균에 대한 공중보건학적 관심이 고조되

면서(Kunin, 1993; Cassell, 1995), 가금산업에서 항생제 대체물질 개발에 대한 연구가 활발히 진행되고 있다(Van-belle, 1989). 또한, 특정 질병을 예방하기 위한 백신의 개발 및 실제적용이 이루어져 왔으나, 백신 접종에 따른 인력, 비용 그리고 가축이 받는 고통 등을 감안하여 최근에는 경구 백신에 대한 연구가 이루어지고 있으나, 가축에서 경구백신 급여효과에 대한 확실한 결론을 얻지 못하고 있다.

그러나 이러한 항생제와 백신은 특정질병의 예방 및 치료를 위하여 사용되어 왔을지라도 잔류, 항체역가와 생산성이 저하되는 등의 문제를 야기한다. 그러므로 최근에는 항생제

¹To whom correspondence should be addressed : inhokim@anseo.dankook.ac.kr

와 백신접종의 효과를 극대화하기 위하여 생체면역을 전체적으로 증가시켜 질병 원인에 대한 생체방어능 향진을 유도할 수 있는 비특이 면역증강제에 대한 개발이 최근 들어 이루어지고 있다(Yoo et al., 2001).

본 연구에서는 이전의 연구자들이 보고한 비특이 면역증가제와 성상이 다른 고농축 이산화게르마늄(germanium oxide) 용질액과 고농축 칼슘 용질액을 혼합한 제제를 사용하였다. 일반적으로 게르마늄은 인삼, 알로에, 마늘과 같은 약용식물에 고농도로 함유되어 있으며(Kidd, 1987), 가축에서 면역강화작용(Aso et al., 1985; Suzuki et al., 1986)을 한다. 이외에도 게르마늄은 산란계 사료에 무기태와 유기태로 첨가시 계란 및 체조직내에 축적된다고 보고되었다(김지혁 등, 1996).

그러므로 본 연구는 게르마늄이 함유된 용질액을 산란계에 급여하여 계란품질 및 면역반응에 미치는 영향을 구명하고자 실시하였다.

재료 및 방법

1. 시험동물 및 시험설계

32주령 ISA Brown 산란계 144수를 공시하였으며, 사양시험은 7일간의 적응기간 후, 40일간 실시하였다. 시험설계는 NRC(1994) 사양표준에 준하는 영양소가 함유된 옥수수-대두박 위주의 기초사료구(대조구: CON)와 게르마늄이 0.5ppm(GC0.5), 1.0ppm(GC1.0) 처리구로서 처리구당 8반복, 반복당 6수씩 완전임의 배치하였다.

2. 시험사료 및 사양관리

시험사료는 옥수수-대두박 위주의 사료로서 2,904kcal ME/kg, 15.45% CP, 0.70% lysine, 3.25% Ca, 0.61% P를 함유토록 하였다(Table 1). 시험사료는 가루 형태로 산란율과 체중을 고려하여 일정한 양을 급여하였으며, 물은 자동급수기를 이용하여 자유로이 먹을 수 있도록 하였다. 총점등시간은 일일 17시간이 되도록 조절하였다.

3. 게르마늄 용질액의 준비

본 연구에 사용한 GC는 게르마늄을 500ppm 함유한 게르마늄 용질액을 미강에 흡착시켜 열풍건조기(Model 11-90, 동양과학)를 이용하여 건조시킨 후, 이를 분쇄하여 사료 내에 첨가하였다.

Table 1. Basal diet composition(as-fed basis)

Ingredients	%
Corn	50.40
Wheat grain	10.00
Soybean meal(CP 46%)	18.70
Corn gluten meal	2.00
Wheat bran	5.00
Animal fat	4.40
Limestone	7.50
Tricalcium phosphate(P 18%)	1.40
Salt	0.30
DL-methionine(50%)	0.10
Vitamin premix ¹	0.10
Mineral premix ²	0.10
Chemical composition ³	
ME, kcal/kg	2,904
Crude protein, %	15.45
Crude fiber, %	1.80
Lysine, %	0.70
Methionine, %	0.32
Calcium, %	3.25
Phosphorus, %	0.61

¹ Provided per kg of premix: 12,500,000 IU vitamin A, 2,500,000 IU vitamin D₃, 10,000mg vitamin E, 2,000 mg vitamin K₃, 50 mg biotin, 500 mg folic acid, 35,000 mg niacin, 10,000 mg Ca-Pantothenate, 1,000 mg vitamin B₆, 5,000 mg vitamin B₂, 1,000 mg vitamin B₁ and 15 mg vitamin B₁₂.

² Provided per kg of premix: 25,000 mg Cu, 40,000mg Fe, 60,000 mg Zn, 80,000 mg Mn, 1,500 mg I, 300 mg Co and 150 mg Se.

³ Calculated values.

4. 조사항목

1) 산란율 및 난중

산란율은 사양시험 기간중 매일 채집하여 처리구별로 총 산란수를 사육두수로 나누어 백분율로 표시하였으며, 난중은 채집한 계란을 전자저울을 이용하여 측정하였다.

2) 난각강도 및 난각두께

난각강도는 난각강도계(1-63-11, Tokiwadai, Itabashi-ku, Tokyo 174-0071, Japan Ozaki MFG. Co., Ltd.)를 이용하였으며, 난각두께는 Dial pipe gauge (1-63-11, Tokiwadai, Itabashi-ku, Tokyo 174-0071,

Japan Ozaki MFG. Co., Ltd.)를 이용하여 난각의 둔단부, 예단부 그리고 중앙부를 측정하였다.

3) 난황색 및 난황계수

난황색은 Yolk colour fan(Roche, Switzerland)을 이용하여 난황의 색도를 측정하였으며, 난황계수는 Ozaki사의 켈리퍼스로 난황의 높이와 직경을 측정하여 Sauter et al.(1951)의 방법에 의하여 난황의 높이를 난황의 직경으로 나누어 계산하였다.

4) 혈청콜레스테롤

혈액채취는 처리당 10마리씩 시험종료시에 익정맥에서 혈액을 채취하여 4℃에서 2,000×g로 30분간 원심분리하여 혈청을 분석에 이용하였다.

분리된 혈청은 enzymatic colorimetric method(Allain et al., 1974)에 의하여 총 콜레스테롤의 농도는 콜레스테롤 검사시약(Boehringer Mannheim Co., Germany)에 HDL 콜레스테롤의 농도는 HDL-C 검사시약(Boehringer Mannheim Co., Germany)에, 또한 중성지질의 농도는 T.G. 검사시약(Boehringer Mannheim Co., Germany)에 반응시켜 자동 생화학 분석기(Hitachi 747, Hitachi, Japan)를 이용하여 측정하였다. LDL+VLDL 콜레스테롤 농도는 Naoyuki와 Yoshiharu(1995)의 방법에 따라 평가하였다.

동맥경화지수는(atherogenic index; AI)는 Haglund et al.(1991)의 방법에 따라 총 콜레스테롤 함량에서 HDL 콜레스테롤 함량을 뺀 다음, 이것을 HDL 콜레스테롤 함량으로 나눈 값으로 하였다.

5) 혈액학적 검사

시험종료시 처리당 10마리씩 익정맥에서 EDTA 처리된 주사기를 이용하여 시료 채취 후, 혈액학적 검사에 이용하였다. 혈액학적 검사는 자동혈액분석기(ADVID120, Bayer, USA)를 이용하여 적혈구, 백혈구, monocytes, eosinophil, lymphocyte, hematocrit, hemoglobin 그리고 platelet count를 측정하였다.

4. 통계처리

모든 자료는 SAS(1996)의 general linear model procedure를 이용하여(Peterson, 1985) GC의 첨가 수준에 대한 linear와 quadratic 효과를 결정하기 위하여 사용되었다.

결과 및 고찰

1. 난각강도 및 난각두께

산란계 사료내 GC의 첨가가 난각강도 및 난각두께에 미치는 영향은 Table 2에 나타내었다. 난각강도에 있어서는 GC0.5 처리구가 대조구 및 GC1.0 처리구에 비하여 현저하게 낮았다(quadratic effect, $P<0.01$).

난각의 두께는 둔단부, 예단부 그리고 중앙부에서 대조구와 처리구간에 통계적으로 유의적인 차이는 없었다.

2. 난황색 및 난황계수

산란계 사료내 GC의 첨가가 난황색 및 난황계수에 미치는 영향은 Table 2에 나타내었다. 난황색은 대조구와 처리구간에 유의적인 차이를 보이지 않았으며, 난황계수에 있어서는 GC1.0 처리구가 다른 처리구에 비하여 현저하게 높았다(quadratic effect, $P<0.02$). 난황계수는 난황의 높이를 난황의 직경으로 나누어 계산된 수치로서, GC를 산란계 사료내에 0.5ppm 이상 첨가하였을 경우, 첨가수준이 증가함에 따라 난황의 직경에 대비하여 난황의 높이는 증가하는 것으로 사료된다.

3. 혈청내 콜레스테롤 성상

Table 3은 시험사료를 급여한 산란계에 대한 혈청내 콜레스테롤 및 중성지질 함량과 동맥경화지수를 나타내었다. 혈청 내 총 콜레스테롤 함량에 있어서는 GC의 첨가수준이 증가함에 따라 감소하는 경향을 나타내었으나 유의적인 차이는 없었다. 또한, 중성지질 함량은 산란계사료 내 GC를 첨가함으로써 감소하는 경향을 보였으나 통계적인 차이는 없었다. 혈청내 HDL 및 LDL+VLDL 콜레스테롤 함량은 GC를 첨가함에 따라 감소하는 경향을 보였으나 통계적인 차이는 없었다. 동맥경화지수에 있어서는 0.5ppm GC 처리구가 가장 높게 평가되었으나 처리구간에 유의적인 차이는 보이지 않았다. LDL 콜레스테롤은 혈중 콜레스테롤의 주된 운반형으로 동맥혈관벽에 콜레스테롤을 축적시켜 동맥경화를 촉진시키는 작용을 한다(Gordon et al., 1981). 그러나, HDL 콜레스테롤은 입자의 안쪽에 있는 소수성 영역에 콜레스테롤을 함유하고 있으므로 동맥세포막에 콜레스테롤이 침착되는 것을 방지하게 된다. 그러므로 생체내에 HDL 콜레스테롤이 높을수록 동맥경화나 심장질환에 대한 위험이 낮게 된다(Gordon et al., 1981).

Table 2. Effects of dietary supplemental germanium colloid on the egg shell breaking strength and thickness in laying hens

Item	Con	GC0.5 ¹	GC1.0 ¹	SE ²	Contrast ³	
					1	2
Egg shell breaking strength, kg/cm ²	4.21	3.75	4.16	0.13	NS	0.01
egg shell thickness, mm						
Large band	0.41	0.40	0.43	0.01	NS	NS
Sharp end	0.41	0.42	0.43	0.01	NS	NS
Middle	0.41	0.42	0.43	0.01	NS	NS
Yolk color unit	7.3	7.3	7.2	0.10	NS	NS
Egg yolk index	0.33	0.30	0.53	0.11	NS	0.02

¹ Abbreviated GC0.5, added 0.5ppm of germanium colloid; GC1.0, added 1.0ppm of germanium colloid.

² Pooled standard error.

³ Contrasts were: 1) linear; 2) quadratic.

Table 3. Effects of dietary supplemental germanium colloid on serum cholesterol of laying hens¹

Item	Con	GC0.5 ²	GC1.0 ²	SE ³	Contrast ⁴	
					1	2
Plasma lipids(mg/ml)						
Total cholesterol	96	74	72	11	NS	NS
Triglyceride	960	663	751	106	NS	NS
HDL-cholesterol	10	7	8	1	NS	NS
LDL+VLDL-cholesterol	86	67	71	10	NS	NS
Atherogenic index ⁵	8.7	9.8	8.5	9.8	NS	NS

¹ Blood samples were taken from ten laying hens per treatment.

² Abbreviated GC0.5, added 0.5ppm of germanium colloid; GC1.0, added 1.0ppm of germanium colloid.

³ Pooled standard error.

⁴ Contrasts were: 1) linear; 2) quadratic.

⁵ (Total cholesterol-HDL cholesterol)/HDL cholesterol.

4. 혈액학적 변화

Table 4는 GC의 첨가로 인한 산란계의 혈액학적 변화를 나타내었다. 혈중내 적혈구 농도는 게르마늄 물질의 첨가수준이 증가함에 따라 늘어나는 경향을 나타내었다(linear effect, $P < 0.01$). 또한, 백혈구 농도에 있어서도 게르마늄 물질의 첨가수준이 증가함에 따라서 선형적으로 현저하게 증가되었다(linear effect, $P < 0.01$). 그러나 혈중내 monocyte, eosinophil 그리고 lymphocyte 함량은 처리구간

에 통계적인 차이는 없었다. 혈중내 hematocrit 함량은 대조구와 비교하여 GC를 첨가함에 따라 유의적으로 증가하는 경향을 보였다(linear effect, $P < 0.01$). 또한, 혈중내 hemoglobin과 platelet 함량은 GC의 첨가수준이 증가함에 따라 높아지는 것으로 조사되었으나, 처리구간에 통계적인 차이는 없었다. Chong(1987) 및 Czuprynski와 Brown(1987)은 면역증강제를 사용하여 생체내 방어기능을 담당하는 백혈구의 수와 기능을 증가시키는 것은 감염성 질병에

Table 4. Effects of dietary supplemental germanium colloid on the immune response of laying hens¹

Item	Con	GC0.5 ²	GC1.0 ²	SE ³	Contrast ⁴	
					1	2
RBC, ×10 ⁶ /mm ³	2.06	2.27	2.48	0.07	0.01	NS
WBC, ×10 ³ /mm ³	313.1	388.3	475.9	23.9	0.01	NS
Monocytes, %	5	3	5	2	NS	NS
Eosinophil, %	19	11	9	4	NS	NS
Lymphocyte, %	74	85	85	4	NS	NS
Hematocrit, %	21	24	27	0.9	0.01	NS
Hemoglobin, g/dl	8.3	10.3	11.1	1.2	NS	NS
Platelet, ×10 ³ /mm ³	2.3	3.1	5.2	1.0	0.05	NS

¹ Blood samples were taken from ten laying hens per treatment.

² Abbreviated GC1.6, added 1.6% of germanium colloid; GC3.2, added 3.2% of germanium colloid.

³ Pooled standard error.

⁴ Contrasts were: 1) linear; 2) quadratic.

대해 저항성을 증가시키는 것으로서 염증성 질병이나 면역 기능저하 동물에 있어서 합병증 유발을 예방하는 중요한 역할을 한다고 보고하였다.

산란계 사료내 비특이 면역증가제의 첨가가 혈액학적 변화에 미치는 결과를 기초로 하여 고찰하였을 때, 게르마늄 물질의 첨가가 산란계의 면역력을 증가시키는 것으로 판단되며, 따라서 본 사양시험에 이용한 게르마늄 물질의 첨가는 산란계의 면역활성화를 유도할 수 있을 것으로 사료된다.

적 요

본 연구의 목적은 게르마늄을 함유한 비특이 면역증가제를 산란계에 급여하였을 때 계란품질 및 면역반응에 미치는 영향을 조사하기 위하여 실시하였다. 사양시험은 32주령 ISA Brown 산란계 144수를 공시하였으며, 처리구로는 대조구(CON; 기초사료), 대조구 사료 내 게르마늄이 0.5 ppm (GC0.5), 1.0ppm(GC1.00) 처리구로 구성되었다. 총 40 일간의 사양시험 기간동안, 난각강도에 있어서는 GC0.5 처리구가 대조구 및 GC1.0 처리구보다 유의적으로 낮게 평가되었다(quadratic effect, P<0.01). 난각두께에 있어서는 대조구와 처리구간에 통계적으로 유의적인 차이는 보이지 않았다. 난황색은 대조구와 처리구간에 유의적인 차이를 보이지 않았으며, 난황계수에 있어서는 GC1.0 처리구가 다

른 처리구와 비교하여 높게 평가되었다(quadratic effect, P<0.02). 혈청내 총 콜레스테롤 및 중성지방 함량에 있어서는 GC의 첨가수준이 증가함에 따라 감소하는 경향을 나타내었으나 유의적인 차이는 보이지 않았다. 또한, 혈청 내 HDL 및 LDL+VLDL 콜레스테롤 함량에 있어서는 GC0.5 처리구가 다른 처리구와 비교하여 가장 낮게 평가되었으나 유의적인 차이는 보이지 않았다. 혈중 내 적혈구 및 백혈구 농도는 비특이 면역증가제의 첨가수준이 증가함에 따라 유의적으로 증가하는 경향을 나타내었다(linear effect, P<0.01). 혈중내 hematocrit 함량은 대조구와 비교하여 게르마늄 용질액을 첨가함에 따라 유의적으로 증가하는 경향을 보였다(linear effect, P<0.01). 결론적으로, 산란계 사료내 GC의 첨가는 난각특성에는 영향을 미치지 못하는 것으로 사료되나, 산란계의 면역활성화를 유도할 수 있을 것으로 사료된다.

(색인어 : 산란계, 게르마늄, 계란 품질, 면역반응)

인용문헌

Allain CC, Poon LS, Chan CSG, Richmond W, Fu PC 1974 Enzymatic determination of total serum cholesterol. Clin Chem 20:470-475.

- Anadon A, Martinez-Larranaga MR 1999 Residues of antimicrobial drugs and feed additives in animal products: regulatory aspects. *Livest Prod Sci* 59: 183-198.
- Aso H, Suzuki F, Yamaguchi T, Hayashi Y 1985 Induction of interferon and activation of NK cells and macrophages in mice by oral administration of Ge-132, and organic germanium compound. *Microbiol Immunol* 29:65-74.
- Cassell GH 1995 ASM Task force urges broad program on antimicrobial resistance. *ASM News* 61: 116-120.
- Chong KT 1987 prophylactic administration of interleukin-2 protects mice from lethal challenge with gramnegative bacteria. *Immun* 55:668-673.
- Czuprynski CJ, Brown JF 1987 Recombinant murine interleukin-1 α enhancement of nonspecific antibacterial resistance. *Infect Immun* 55:2031-2065.
- Gordon T, Kannel WB, Castelli WP, Dawber TR 1981 Lipoproteins cardiovascular disease and death the framingham study. *Arch Inter Med* 141:1128-1131.
- Haglund O, Luostarinen R, Wallin R, Wibell L, Saldeen T 1991 The effect of fish oil on triglyceride, cholesterol, fibrinogen and malonaldehyde in humans supplemented with vitamin E. *J Nutr* 121:165-169.
- Kidd PM 1987 Germanium 0132(GE-132): Homeostatic normalizer and immunostimulant. A review of its preventive and therapeutic efficacy. *Int Clin Nutr Rev* 7:11-20.
- Kunin CM 1993 Resistance to antimicrobial drugs: a worldwide calamity *Ann Intern Med* 118:557-561.
- Naoyuki N, Yoshiharu F 1995 The elevation of plasma concentration of high-density lipoprotein cholesterol in mice fed with protein from proso millet. *Biosci Biotech Biochem* 59:333-335.
- NRC 1994 Nutrient requirement of poultry. National Academy Press. Washington DC. USA.
- Peterson RG 1985 Design and analysis of experiments Marcel dekker, New York.
- SAS. SAS user guide. release 6.12 edition. SAS Institute Inc., Cary NC USA 1996.
- Sauter EA, Stadelman WJ, Harns V, McLaren BA 1951 Methods for measuring yolk index. *Poult Sci* 30:629-630.
- Suzuki F, Brutkiewicz RR, Pollard RB 1986 Cooperation of lymphokine(s) and macrophages in expression of antitumor activity of carboxyethylgermanium (Ge-132). *Antitumor Res* 62:177-182.
- Vanbelle M 1989 The European perspective on the use of animal feed additives : A world without antibiotics, anabolic agents or growth hormones ? Lyons TP(ed) *Biotechnology in the feed industry*. pp 191 *Proc of Alltech's 5th Annu Symp Alleth Tech*. Publ, Nicholasville, KY.
- Yoo BW, Choi SI, Kim SH, Yang SJ, Koo HC, Seo SH, Park BK, Yoo HS, Park YH 2001 Immunostimulatory effects of anionic alkali mineral complex solution Barodon in porcine lymphocytes. *J Vet Sci* 2:15-24.
- 김지혁, 김우균, 남기택, 이원창, 강창원 1996 산란계 사료 내 무기태 및 유기태 게르마늄(Ge)의 첨가수준별 계란 내 이행과 체조직 축적에 미치는 영향. *한국축산학회* 220(Abstr).