



## Streptococcus mutans 균의 면역과 사료첨가제가 충치 예방용 계란의 생산에 미치는 영향

노정해\* · 한찬규 · 김영봉 · 이남형<sup>1</sup>  
한국식품연구원 · <sup>1</sup>에그바이오텍

### Effect of Diet Supplements on the Production of Anti-Dental Caries Hen's Eggs by Immunization of *Streptococcus mutans*

Jeong-Hae Rho, Chan-Kyu Han, Young-Boong Kim, and Nam-Hyung Lee<sup>1</sup>

Korea Food Research Institute

<sup>1</sup>Egg Biotech Corporation

#### Abstract

To increase IgY in egg yolks, hens were fed a feed supplemented with kelp meal 4%, cinnamon 0.3%, and mint 2%, respectively, and immunized 5 times with *Streptococcus mutans*(*S. mutans*) at 2 week intervals. Groups fed experimental feeds without immunization showed higher laying rate than the control group, without supplementary feed and immunization. After the immunization, the laying rates had been decreasing due to the stress of immunization. The laying rate was recovered after the termination of immunization. Egg weight was not affected by the immunization but diets. Feed intake was dependent on the laying rate. Total IgY concentration in eggs laid from hens fed feeds containing supplementary feeds was higher than that of control. Especially, total IgY was increased up to 7.9% in eggs laid from hens fed feeds supplemented with 4% of kelp meal. Anti-*S. mutans* IgY was detected at 4 weeks after first immunization. Activity of anti-*S. mutans* IgY was sustained at 5 weeks after the final immunization. As the average concentration of specific IgY during the experimental period showed that eggs from hens fed the feed containing 4% of kelp meal increased the specific IgY by 8.5%, kelp meal supplement improved specific IgY production by immunization.

Key words : IgY, eggs, feeds, *Streptococcus mutans*

#### 서 론

계란은 영양분이 골고루 든 완전 식품임에도 불구하고 성인병과 관련된 소비자의 인식으로 소비 확대가 미미한 실정이다. 그러므로, 우리나라의 양계산업의 발전을 위해서는 양계산업에서 나오는 생산품의 부존가치를 높이는 일이 중요하다. 또한 소비자들의 구매가 고급화, 다양화되고 외식산업의 번창에 따라 기존 제품의 구매력은 그 증대가 한정될 수

밖에 없다. 그리하여 요즘은 계란 소비 저하의 타계책의 한 방법으로 계란을 다양화하여 고급 계란, 영양 계란, 위생 계란 등의 생산으로 그 해결책을 모색하고 있다. 이 연구에서는 계란의 부존가치를 높이는 방향의 일환으로 계란의 난황으로부터 부가가치가 매우 높은 기능성 식품 소재를 개발하여 계란의 이용을 높이고 수익성을 증대시켜 추가적이고 안정적인 수요 기반의 확충을 도모하고자 한다.

수동 면역의 원리로 모체에서 만들어진 항체는 새끼로 전달되는데, 태반 이행을 통해서 전달되는 항체를 제외한 포유동물의 항체 전달은 초유를 통해서 이루어진다. 그러나 최근에는 산란계에게 항원을 면역하면 계란의 항체가 이행하여 병아리에게 수동 면역을 부여한다고 보고되고 있다. 계란의

\* Corresponding author : J. H. Rho, Korea Food Research Institute, BaekHyun-Dong 46-1, Bundang-Gu, SungNam, Korea. Tel: +82-31-780-9060, Fax: +82-31-709-9876, E-mail: drno@kfri.re.kr

주요 항체인 immunoglobulin G (IgG)는 난황에서 발견되며 난백에서는 아주 낮다. 난황 중의 IgG를 혈청이나 우유 유래의 IgG와 구분하기 위해서 yolk immunoglobulins (IgY)라고 부른다(Larsson *et al.*, 1988).

IgY의 항체는 산란계나 다른 포유류 동물의 혈액 중에 있는 양보다는 적지만 계란은 계속적으로 생산이 되기 때문에 항체 생산면에서 매우 경제적이다. 일반적으로 혈액에서 항체를 얻기 위해서는 동물을 면역시킨 후 혈액 중 특이 항체 농도가 최대에 이르렀을 때 동물을 희생시켜야 한다. 계란 한 개에는 100 mg 이상의 IgY가 함유되어 있다. 산란계 한 마리가 1주일에 생산하는 계란은 5~6개이고 난황 1개의 부피가 약 15 mL 정도가 되므로 산란계 1마리가 일주일 동안 생산은 IgY의 양은 산란계 혈청 90~100 mL 혹은 전혈 180~200 mL에 해당한다. 토끼 한 마리는 매주 약 20 mL의 전혈만을 계속적으로 방혈할 수 있으므로 계란에서의 항체 생산량을 1주일간으로 비교할 때 토끼로부터는 매우 한정된 양만이 생산될 수 있음을 보여준다.

IgY의 산업적 이용에 대한 현재까지의 연구는 크게 3분야에서 행하여지고 있다. 사람과 가축에서 rotavirus에 의한 설사증의 예방(Hatta *et al.*, 1993; Polson, 1980), 충치의 예방(Hamada *et al.*, 1991), 가축에서 대장균성 설사증(Jeong, 1993)에 의한 예방 등이다.

돼지의 세균성 설사(Otani *et al.*, 1991)나 어린 쥐의 rotavirus 감염(Bartz *et al.*, 1980; Ebina *et al.*, 1985)을 특이 항체를 함유하는 계란으로 예방할 수 있다고 보고하였다. Yolken 등(1988)은 murine rotavirus의 serotype 1과 serotype 3을 산란계에 면역하여 생산한 계란에서 항 murine rotavirus 항체를 추출하였다. 이 계란에서 나온 난황은 *in vitro* 실험을 통해 murine rotavirus 활성을 억제하며 정제된 IgY를 murine rotavirus에 감염된 실험동물에 투여하여 rotavirus에 의한 장 질환을 예방할 수 있었다. *E. coli*를 면역한 산란계에서 생산된 IgY는 비교적 열처리와 산에 안정하며 trypsin, chymotrypsin에 의해 쉽게 분해되지 않기 때문에 IgY를 유아식에 첨가함으로써 *E. coli*에 의한 설사 방지제로 이용될 수 있는 가능성을 보여주었다(Shimidzu *et al.*, 1988).

대한치과의사협회 조사(1992)에 따르면 우리나라 아동의 90% 이상이 치아 우식증을 경험했으며 성인들의 80% 이상이 잇몸병을 갖고 있다고 보고했다. 지금까지 *S. mutans*가 대부분의 실험동물과 사람에게 충치를 일으키는 요인으로 알려져 왔다. *S. mutans*나 다른 mutans streptococci의 능력은 설탕(sucrose) 성분의 존재 하에서 이 균이 치아 표면에 단단히 달라붙어 식사로부터 제공되는 각종 당류를 발효하여 산(acid)을 발생시키는 데서 기인한다(Sato *et al.*, 1984). 면역학적 방법으로써 *S. mutans*에 대응하는 효과적인 방법 중의 하나

는 *S. mutans*의 antibody를 능동 면역하거나 수동 면역하는 방법이다(Lehner *et al.*, 1975; Michalek *et al.*, 1987). 이 중에서도 수동 면역이 관심의 대상이 되고 있고 특히 경구 수동 면역이 간편하고 효과적이므로(Ma *et al.*, 1990) 이것에 초점이 모이고 있다. 면역된 젖소가 생산한 우유로부터 추출한 다클론성 항체를 이용하여 경구 수동 면역 방법으로 *S. mutans*에 감염된 쥐와 원숭이를 실험한 결과, 충치 발생과 *S. mutans*의 colonization이 감소됨을 보였다(Filler *et al.*, 1991).

닭의 항체가 혈청으로부터 난황으로 많은 양이 이행된다는 점과 IgY를 실험적으로 수동 면역에 이용하였을 때 동물에서의 특정한 감염(rotavirus infection 등)을 감소시켰다는 많은 연구 결과들은 닭에게 *S. mutans* 항원을 면역하여 얻어진 계란의 IgY를 이용하여 *S. mutans*에 의한 충치 발생을 수동 면역으로써 예방할 수 있음을 시사한다. 산란계를 bio-reactor로 사용해서 충치를 예방할 수 있는 항체를 생산하고 분리된 항충치 IgY를 우유, 유제품, 빙과류, 제과류에 첨가한 식품을 개발함으로써 양계 산업이 단순히 일차적인 식품인 우리가 먹는 계란을 생산하는 산업에서 더 나아가서 고차원적인 항체 생산 산업으로 전환된다면 UR 대체 작목으로도 크게 각광 받을 수 있는 기술이라 평가된다.

IgY의 생산에 관한 기존의 연구를 통하여 *S. mutans*의 면역을 이용한 항충치 항체의 생산 가능성을 확인하였고 사료 첨가제에 의한 IgY 증진 가능성도 타진되었다. 따라서 본 연구는 산란계에 특수 사료를 급여하여 난황 면역 항체 생산량을 증가시킨 후, 충치균을 면역하여 특수 사료와 면역을 복합적인 효과를 시험하고자 하였다. 그리하여 산란계에서 생산되는 특이 IgY(specific IgY)를 다량 함유한 계란의 난황을 생산하여 충치 예방 기능성 식품 소재로의 이용 기술을 개발하고자 실시하였다.

## 재료 및 방법

### 사양시험

난황 황체 강화를 위한 여러 가지 사료 첨가제를 급여한 예비 실험 결과, 계피, 박하, 켈프밀 급여군에서 IgY 함량이 높게 나타났으므로(Lee *et al.*, 1999) 본 실험에서는 보다 더 많은 IgY 함량을 갖게 하기 위하여 특수 사료 및 면역 처리를 복합적으로 하여 농장 시험을 실시하였다. 사양 시험은 경기도 용인군 원삼면 덕이농장에서 수행하였으며 산란계는 40주령의 Hi-Line® Brown 계통으로 Table 1과 같이 8 처리구로 수행하였다. 대조구의 사료는 시판 사료인 (주)서부배합 사료 산란계 100s를 사용하였으며 여기에 계피 0.3%, 박하 2%, 켈프밀 4%를 첨가하였다.

Table 1. Experimental groups with four different diets and immunization

Feed	Treatments
A+	Control + immunization
A-	Control - immunization
B+	Kelp meal 4% + immunization
B-	Kelp meal 4% - immunization
C+	Cinnamon 0.3% + immunization
C-	Cinnamon 0.3% - immunization
D+	Mint 2% + immunization
D-	Mint 2% - immunization

### 충치 유발균의 항원화 시험

문헌조사에 의해 충치 유발균으로 규명된 *S. mutans*의 구입은 유전공학연구소내 유전자 은행에서 동결 건조된 *Streptococcus mutans clarke*(KCTC No. 3300)를 구입하여 보관하며 사용하였다. 배양은 Otake 등(1991)방법으로 *S. mutans* KCTC 3300 (serotype c) 균주를 Brain-Heart Infusion(BHI) broth에서 sucrose 5%를 첨가하여 37°C에서 24시간 혐기 배양하여 증균시켰다. 충치 유발균의 항원화 방법은 증균된 균주를 10,000×g에서 15분간 원심분리한 후 균질화하여 예비 산란계 면역 처리시험을 행하였다. 면역처리는 Adjuvant와 균주를 1:1(v/v)로 emulsion을 제조하였고 면역한 균체는 마리당 10<sup>8</sup> cfu를 주사량은 1 mL를 사용하였다. 이 후 같은 방법으로 2주 간격으로 4차례의 추가 면역을 하였다(Hatta et al., 1990).

### 조사 항목

조사 항목으로는 사료 섭취량, 산란율, 난중 변화, 체중 변화 및 총 IgY 역가, *S. mutans* 특이 IgY 역가를 측정하였다. 이때 사료 섭취량은 1주일 간격으로 사료 총 공급량과 사료 잔량을 측정하여 계산하였으며, 산란율 및 난중의 측정은 매일 산란된 계란을 수거하여 측정 후 1주일 간격으로 그 평균을 구하였다. 체중 변화는 면역한 전 후로 측정하였다.

IgY 함량 측정은 Hatta et al.(1990)의 방법에 따라 분리와 정량을 실시하여 non-competitive sandwich ELISA 방법으로 측정 계산하였다. 즉, 난황 10 g을 멤브레인 없이 채취한 후 동량의 물(w/v)을 붓고 섞는다. 30분간 방치한 후 0.1% λ-카라기난 용액을 난황 무게의 4배 가량(w/v) 넣고 인지질을 침전시킨 후 10,000×g에서 15분간 원심분리를 통하여 제거하였다. Whatman #2 여과지로 여과하여 수용성 단백질 분획(water soluble protein fraction; WSPF)을 얻었다. 수용성 단백질 분획을 여러 단계로 희석하여(1/10,000배) IgY 함량을 측정하는 데 사용하였다.

전체 IgY 함량 측정을 위하여 우선 microplate에 rabbit anti-chick IgG Antibody의 단백질 농도가 2 μg/well이 되도록 조정하여 coating하고 wash 한다. 희석된 난황의 WSPF을 넣고 반응시킨 후 wash하여 적당히 희석된 rabbit anti-chick IgG Ab-HRP를 넣는다. 여기에 HRP의 기질로는 ABTS를 사용하였고 반응정지액으로 NaN<sub>3</sub> 0.1%를 이용하여 405 nm에서 흡광도를 측정하였다(Thermomax Microplate Reader, Molecular Device).

*S. mutans*-특이 IgY의 함량도 ELISA 방법에 의해 수행하였다. 원심분리된 *S. mutans* 균체를 적당히 희석하여 O.D 값이 660 nm에서 0.05가 되도록 완충액으로 희석하였다. 희석된 *S. mutans* 균체를 microplate에 coating하고 wash한다. 희석된 난황의 WSPF을 넣고 반응시킨 후 wash하여 적당히 희석된 rabbit anti-chick IgG Ab-HRP를 첨가하였다. 여기에 HRP의 기질로는 TMB를 사용하였고 반응 정지액으로 2 N 황산을 이용하여 450 nm에서 흡광도를 측정하였다(Thermomax Microplate Reader, Molecular Device).

## 결과 및 고찰

### 산란율

일찍이 본 실험실에서는 총 IgY의 함량이 높은 계란을 생산하기 위하여 사료첨가제 8가지(마늘, 켈프밀 2%와 4%, 다시마, Vit E. + Se, 생강, 계피, 박하)를 이용하여 산란계 사료를 제조하여 비교실험을 행하였다(Lee et al., 1999). 그 중에서 켈프밀 4% 처리구와 계피 0.3%와 박하 2%를 급여하여 실험한 결과 IgY 함량이 우수하게 나타났으므로 본 실험에서는 보다 더 많은 IgY 함량을 갖게 하기 위하여 특수 사료 및 면역 처리를 복합적으로 하여 농장 시험을 하였다. 산란율의 변화는 Table 2에 나타내었다. 산란율이 가장 우수한 처리구는 박하를 급여한 처리구(D-)로 시험기간 동안 90% 이상이 산란되었다. 켈프밀 특수 사료(B-)는 대조구보다 더 나은 산란율을 보였다. 또한 계피(C-)와 박하 처리구(D-)는 대조구(A-)에 비해 월등히 산란율이 높은 것으로 보여졌다. 특히 박하(D-)의 경우 산란율의 증가가 통계적으로도 유의(p<0.05)한 것으로 나타났다.

그러나 사료 종류와 면역 처리에 의한 산란율의 영향을 검토한 결과 시험기간 동안 계속적인 감소 경향을 보이고 있다. 대조구(A+)의 경우 면역하기 전과 면역한 후에 산란율에 별다른 영향을 미치지 않았으나 나머지 처리구는 면역 후에 산란율이 크게 줄어드는 것을 볼 수 있었다. 특히 켈프밀 처리구(B+)의 경우 산란율이 약 36% 가량 줄었으며 계피 처리구(C+)의 경우 9%, 박하 처리구(D+)의 경우 26%가 각각 감소되었다. 이는 면역처리에 의한 산란계의 스트레스를 받아 감소하는 것이라고 사료되며 면역처리가 끝난 10주 후에서부

Table 2. Changes of laying rates

(unit : %)

Treatment	A-	B-	C-	D-	A+	B+	C+	D+
Immunization	None				<i>Streptococcus mutans</i>			
Diet	Control	Kelp meal	Cinnamon	Mint	Control	Kelp meal	Cinnamon	Mint
1	76.2± 9.3	85.7± 5.0	95.2± 8.1	90.5±11.0	96.8± 5.0	84.1 ±13.1	92.1± 7.8	82.5± 8.1
2	76.2±12.5	77.8±10.3	88.9± 8.4	92.1± 7.8	90.5±11.0	87.3 ± 9.3	92.1± 5.0	73.0±14.4
3	71.4± 8.1	79.4±11.0	92.1± 7.8	95.2± 5.5	79.4±16.2	55.6 ±19.7	79.4±13.8	63.5±19.4
4	68.3±11.0	79.4±11.0	84.1± 8.1	92.1± 7.8	57.1±15.1	34.9 ±11.0	69.8±11.5	46.0±15.1
5	74.6±14.2	69.8±24.3	84.1±11.7	93.7± 8.1	39.7± 8.1	36.5 ±20.3	65.1±19.2	61.9± 8.1
6	69.8± 7.8	77.8±13.3	85.7±11.5	93.7± 5.5	57.1±11.0	31.8 ±17.2	69.8±11.5	66.7±17.8
7	73.0±10.0	79.4± 7.1	87.3±11.0	95.2±10.0	71.4± 5.5	30.2 ± 7.8	68.3± 7.1	58.7±14.2
8	66.7± 5.9	79.4± 7.1	87.3±11.0	88.9±10.3	84.1± 5.5	33.3 ±11.9	66.7±11.9	68.3±13.8
9	74.6±14.2	81.0± 7.8	73.0±11.7	65.1±11.0	74.6±11.5	33.9 ±12.9	73.0±11.7	65.1±11.0
10	81.0± 5.0	76.2± 7.1	81.0± 7.8	88.9±10.3	79.4± 9.3	38.8 ±12.6	68.3± 7.1	76.2± 7.1
11	73.0±15.6	76.2±11.0	84.1±16.7	93.7± 8.1	81.0±11.5	54.8 ±11.7	74.6±11.5	69.8±11.5
12	74.6±14.2	73.0± 5.5	81.0± 7.8	92.1± 9.8	92.1± 7.8	54.8 ±14.7	80.0± 7.4	69.8±11.5
13	81.0±11.5	74.6±15.4	71.4±15.6	92.1± 9.8	88.9±10.3	71.43±11.66	94.6± 6.2	65.1± 7.1

\* Immunization : 5 times (2 week intervals).  
 \* A; control, B; kelp meal, C; cinnamon, D; mint.  
 \* +/- represents immunization (refer to Table 1).

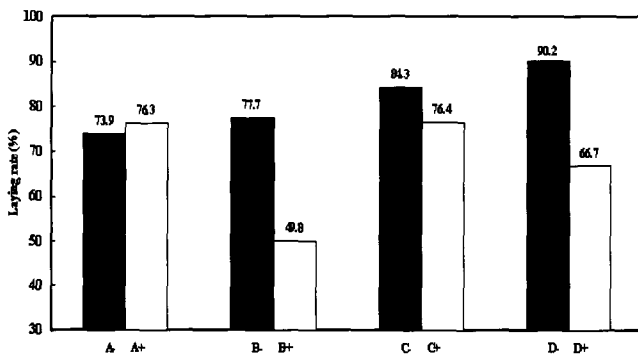


Fig. 1. Average laying rate.  
 \* A; control, B; kelp meal, C; cinnamon, D; mint.  
 \* +/- represents immunization (refer to Table 1).

터는 산란율이 점차로 회복되는 것을 볼 수 있으며 면역처리가 끝난 후 지속적인 검토가 있어야 할 것으로 사료된다.

산란율의 평균을 보면(Fig. 5) 면역처리를 하지 않은 처리구(A-, B-, C-, D-)에서는 대조군(A-)에 비해 특수사료 첨가제(B-, C-, D-) 모두가 산란율 증가에 효과적이었으며 특히 박하(D-) 처리구의 산란율이 높았다. 면역처리한 처리구(A+, B+, C+, D+)에서는 대조군(A+)와 계피 첨가군(C+)의 산란율이 높게 나타났다.

난중

난중의 변화(Table 3)는 시험기간 동안 60~70g이었다. 산란계 사료의 종류에 따라 계란의 무게는 유의적인 차이를

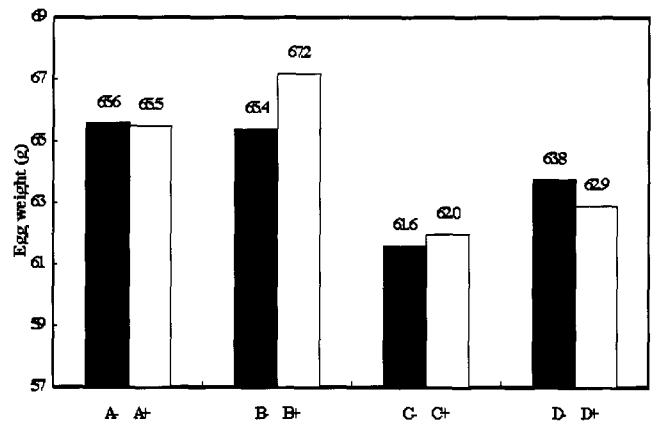


Fig. 2. Average egg weight.  
 \* A; control, B; kelp meal, C; cinnamon, D; mint.  
 \* +/- represents immunization (refer to Table 1).

보였다. 켈프밀 4% 첨가군(B+, B-)의 경우 대조군과 차이가 없었다. 그러나 계피(C+, C-) 첨가군의 경우 계란의 평균 무게가 각각 61.6과 62.0 g으로 대조군에 비해 가벼웠다. 또한 박하 첨가군(D+, D-)도 대조군에 비해 계란의 무게가 가벼웠다. 계란 무게의 경우, 면역처리에 따른 효과는 거의 나타나지 않았다. 일반적으로 계란의 무게는 산란율과 반비례한다고 여겨지지만 이번 시험의 경우 산란율과 계란 무게는 상관성이 없는 듯 보여졌다.

사료섭취량

**Table 3. Changes of egg weights**

(unit : g)

Weeks	A-	B-	C-	D-	A+	B+	C+	D+
Immunization	None				<i>Streptococcus mutans</i>			
Diet	Control	Kelp meal	Cinnamon	Mint	Control	Kelp meal	Cinnamon	Mint
1	63.5±6.6	65.1±3.7	60.9±3.5	63.6±4.1	64.3±6.6	60.2±2.7	60.0±4.9	60.2±5.6
2	64.4±7.4	64.9±3.1	61.6±5.4	62.2±3.2	61.9±5.8	64.3±3.8	60.7±4.7	62.3±4.2
3	61.7±5.3	64.8±3.6	60.7±3.2	62.8±3.4	64.4±5.1	62.1±3.4	61.3±8.9	61.9±4.5
4	64.9±6.1	65.4±6.0	61.1±2.9	60.1±4.4	64.9±5.7	68.0±3.6	61.4±5.5	63.8±1.4
5	62.7±5.7	65.4±4.7	60.9±4.6	62.5±3.3	61.2±4.9	64.5±3.0	69.0±2.3	62.6±3.4
6	65.8±7.8	66.9±5.9	61.5±3.8	63.1±3.3	65.2±6.4	68.4±3.5	62.5±6.1	63.0±3.2
7	68.0±6.2	64.6±5.4	62.6±5.4	63.8±2.9	66.2±6.4	67.5±0.7	63.5±6.1	61.6±5.7
8	66.7±7.7	63.8±4.1	60.4±3.1	64.5±3.1	64.6±4.0	74.3±0.5	61.6±3.9	61.8±3.3
9	63.5±7.0	63.9±2.3	61.6±4.4	65.4±3.8	67.5±7.0	67.3±2.4	61.8±5.0	64.9±3.2
10	67.6±4.0	65.6±3.8	60.8±3.8	66.4±2.5	67.2±6.8	67.9±4.8	60.2±3.6	64.8±4.5
11	68.3±4.2	64.9±4.5	61.9±4.0	66.0±3.0	68.0±6.1	69.0±3.6	59.9±5.3	65.1±5.7
12	66.6±4.1	68.8±5.0	62.9±4.7	64.0±3.1	65.8±5.7	67.4±1.3	60.2±3.6	61.7±2.4
13	67.0±5.1	64.3±4.7	62.0±6.8	64.0±4.0	67.4±4.8	70.5±4.7	61.9±4.9	63.7±5.0
14	68.0±4.7	67.4±6.7	63.5±5.8	65.3±4.3	67.8±7.0	69.4±0.0	64.2±6.6	63.5±4.1

\* immunization : 5 times (2 weeks intervals).

\* A; control, B; kelp meal, C; cinnamon, D; mint.

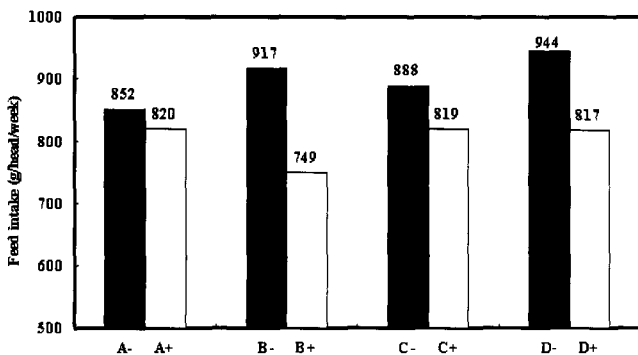
\* +/- represents immunization (refer to Table 1).

면역처리를 하지 않은 산란계에서의 사료 섭취량(Fig. 7)은 대조구(A-)가 가장 낮았고 박하 처리구(D-)가 가장 높은 경향이었다. 즉, 특수 사료 의한 산란계의 산란율 결과에서도 이 경향을 볼 수 있었는데 이로서, 면역처리를 하지 않은 산란계에서 사료 섭취량과 산란율은 서로 상호관련이 있는 것처럼 보여졌다. 면역한 후에 모든 사료 처리구(A+, B+, C+, D+)에서 사료 섭취율이 4~18% 가량 감소하였다. 특히 켈프밀 처리구(B+)의 경우 사료 섭취량 감소가 현격하였으며 대조구(A+)의 섭취량 감소율이 가장 낮았다. 이러한 면역처리에 따른 사료 섭취율 감소는 산란율의 감소와 직접적으로 연관이 있는 것으로 보여졌다.

**총 IgY**

총 IgY의 함량을 분석한 결과는 다음과 같다. Fig. 8에서는 전체 실험기간 동안의 평균치를 나타내었다. 면역처리를 하지 않은 처리구 켈프밀, 계피, 박하처리군(B-, C-, D-)에서 모두가 총 IgY양이 대조구(A-)보다 높게 나왔다. 특히 켈프밀 처리군(B-)의 경우 대조구에 비해 5.4% 가량 상승하였으며, 계피(C-)와 박하 처리구(D-)도 대조구에 비해 약 3% 정도 증가된 결과였다.

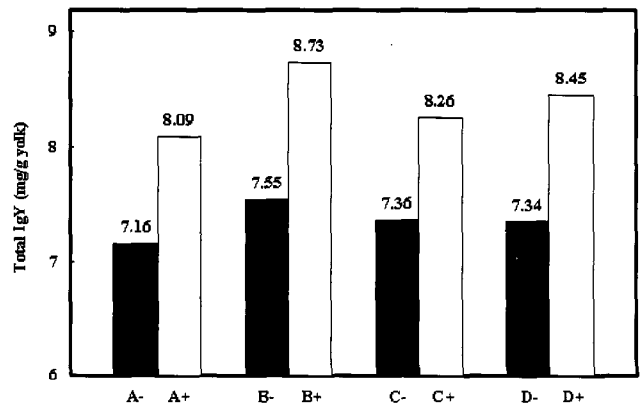
면역한 후에는 모두 처리구에서 면역처리를 하기 전보다 총 IgY의 함량의 양이 증가하였다. 면역 한 처리구에서



**Fig. 3. Average feed intake.**

\* A; control, B; kelp meal, C; cinnamon, D; mint.

\* +/- represents immunization (refer to Table 1).



**Fig. 4. Total IgY content.**

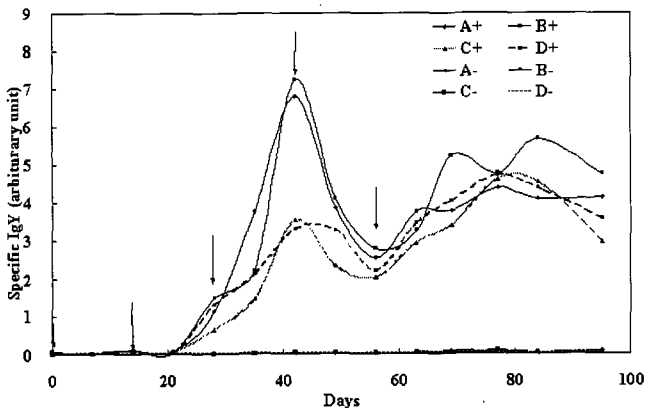
\* A; control, B; kelp meal, C; cinnamon, D; mint.

\* +/- represents immunization (refer to Table 1).

각각 비교하여 보면 대조구인 A+에 비해서 다른 처리구에서 모두 총 IgY 함량이 높았으며, 특히 켈프밀 처리구(B+)에서 월등히 높은 것을 볼 수 있었다. 켈프밀 처리구(B+)의 경우 대조구(A+)에 비해 7.9 % 정도의 상승이 있었다. 기간별 동향을 보면 면역처리를 하지 않은 경우에는 기간에 따른 차이가 크지 않았으나, 면역처리를 한 경우에는 70일 마지막 면역한 후 3주 근방에서 총 IgY 함량이 최고치를 나타내었는데 이는 면역 schedule과도 많은 관련이 있는 듯 보여졌다.

**Anti-*Streptococcus mutans* specific IgY**

Anti-*S. mutans*로 면역 처리된 닭으로부터 얻은 계란에서의 총치균에 대한 특이(specific) IgY 함량을 분석한 결과는 다음과 같다(Fig. 9). 항총치균 IgY는 1차 면역(0일자)을 하고 4주 정도 후에야 나타나기 시작하였다. 30 주령에서의 산란계 면역 처리 효과 실험 때의 결과에서는 이보다 빠른 2 ~ 3주 후부터 항 총치 반응이 나타났는데(Rho et al., 1999)

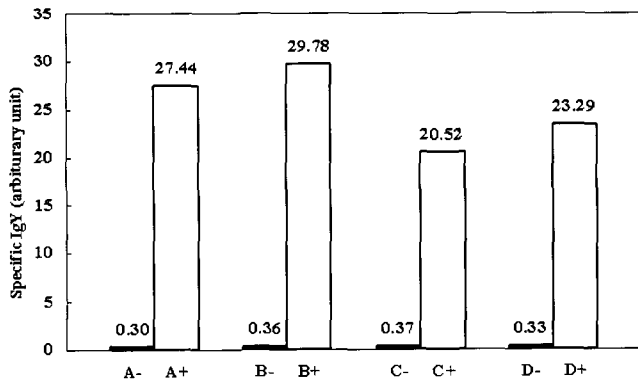


**Fig. 5. The changes of anti-*S. mutans* IgY content during the immunization.**

(Arrows designate immunization)

\* A; control, B; kelp meal, C; cinnamon, D; mint.

\* +/- represents immunization (refer to Table 1).



**Fig. 6. The average content of anti-*S. mutans* IgY.**

\* A; control, B; kelp meal, C; cinnamon, D; mint.

\* +/- represents immunization (refer to Table 1).

이는 아마도 산란계의 연령과 관계가 있지 않을까 사료된다. 면역처리를 하지 않은 A-, B-, C-, D-의 경우 specific IgY의 양은 전 기간에 걸쳐 예상대로 거의 검출되지 않았다.

마지막 면역한(56 일자) 이후 5주 이상 경과하더라도 specific IgY의 양이 상당히 높은 수준을 유지하는 것을 볼 수 있었다. 총 실험기간 동안의 specific IgY 함량의 평균은 Fig. 10과 같다. 여기에서 켈프밀 처리구(B+)는 다른 식이에서 보다 IgY값을 보여주었고 대조구에 비해 특이 항체가 약 8.5% 가량 증가된 결과를 보여 주었다. 즉, 켈프밀, 계피, 박하 첨가사료 모두 총 IgY 함량을 높이는 데 기여하고, 더욱이 켈프밀 첨가 사료(B+)의 경우 *S. mutans*를 면역 처리하였을 때 항총치균 특이 항체량을 높이는 데에 많은 효과(8.5%)를 줄 수 있다고 결론지어졌다.

**요 약**

난황 항체 강화를 위하여 켈프밀 4% 처리구와 계피 0.3%와 박하 2%가 첨가된 특수사료를 급여하고 *Streptococcus mutans*를 2주 간격의 5회 면역처리를 복합적으로 실시하면서 40주령 산란계를 사양하였다. 면역처리를 하지 않은 처리군에서는 박하 첨가군의 산란율이 높았다. 면역한 후에 발생하는 산란을 저하는 대조구와 계피 첨가군에서 적게 나타났다. 계란의 무게는 면역처리에 따른 효과가 나타나지 않았으나 사료에 따라 차이가 나타났다. 면역처리를 하지 않은 처리구에서 계피, 박하, 켈프밀 모두 총 IgY 함량이 대조구보다 높게 나왔으며, 특히 켈프밀의 경우 대조구에 비해 5.4% 가량 상승하였다. 면역 한 처리구끼리 각각 비교하여 보면 대조구에 비해서 다른 처리구에서 모두 높았으며, 특히 켈프밀 처리구가 월등히 높아 대조구에 비해 7.9% 정도의 상승이 있었다. *S. mutans*로 면역처리된 닭으로부터 얻은 계란에서의 총치균에 대한 특이(specific) 총 IgY 함량을 분석한 결과, 항총치균 IgY는 1차 면역하고 4주정도 후에 나타나기 시작하였다. 마지막 immunization 후 5주 이상 경과하더라도 specific IgY의 양이 상당히 높은 수준을 유지하는 것을 볼 수 있었다. 총 실험기간 동안의 specific IgY 함량의 평균을 보면 켈프밀 처리구는 다른 식이에서 보다 훨씬 높은 specific IgY 역가 보여주었고 대조구에 비해 특이 항체가 약 8.5% 가량 증가되어 켈프밀의 첨가는 면역처리를 통한 특수 IgY 생산에 효과적임을 나타내었다.

**참고문헌**

1. Bartz, C. R., Conklin, R. H., Tunstall, C. B., and Steele, J. H. (1980) Prevention of murine rotavirus infection with chicken egg yolk immunoglobulins. *J. Infect. Dis.* **142**,

- 439-441.
2. Ebina, T., Sato, A., Umeju, K., Ishida, N., Ohyama, S., Oizumi, A., Aikawa, K., Katagiri, S., Katsushima, N., Imai, A., Kitaoka, S., Suzuki, H., and Konno, T. (1985) Prevention of rotavirus infection by oral administration of cow colostrum containing anti-human rotavirus antibody. *Med. Microbiol. Immunol.* **174**, 177-185.
  3. Filler, S. J., Gregory, R. L., Michalek, S. M., Katz, J., and McGhee, J. R. (1991) Effect of immune bovine milk on *Streptococcus mutans* in human dental plaque. *Arch. Oral Bio.* **36**, 41-47.
  4. Hamada, S., Horikoshi, T., Minami, T., Kawabata, S., Hiraoka, J., Fujiwara, T., and Ooshima, T. (1991) Oral passive immunization against dental caries in rats by use of hen egg yolk antibodies specific for cell-associated glucosyltransferase of *Streptococcus mutans*. *Infect. Immun.* **59**, 4161-4167.
  5. Hatta, H., Tsuda, K., Akachi, S., Kim, M., and Yamamoto, T. (1993) Productivity and some properties of egg yolk antibody (IgY) against human rotavirus compared with rabbit IgG. *Biosci. Biotech. Biochem.* **57**, 1077-1081.
  6. Hatta, H., Kim, M., and Yamamoto, T. (1990) A novel isolation method for hen egg yolk antibody, "IgY". *Agric. Biol. Chem.* **54**, 2531-2535.
  7. Larsson, A., Balow, R.-M., Linda, T. L., and Forsberg, P.-O. (1998) Chicken antibodies: Taking advantage of evolution - A Review. *Poultry Sci.* **72**, 1807-1812.
  8. Lehner, T., Challacombe, S. J., and Caldwell, J. (1975) Immunological and bacteriological basis for vaccination against dental caries in rhesus monkeys. *Nature (London)*. **254**, 517-520.
  9. Ma, J. K.-C., Hunjan, M., Smith, R., Kelly, C., and Lehner, T. (1990) An investigation into the mechanism of protection by local passive immunization with monoclonal antibodies against *Streptococcus mutans*. *Infect. Immun.* **58**, 3407.
  10. Michalek, M. S., Gregory, R. L., Harmon, C. C., Katz, J., Richardson, G. J., Hilton T., Filler, S. J., and McGhee, J. R. (1987) Protection of gnotobiotic rats against dental caries by passive immunization with bovine milk antibodies to *Streptococcus mutans*. *Infection and Immunity*. **55**, 2341-2347.
  11. Otani, H., Matsumoto, K., Saeki, A., and Hosono, A. (1991) Comparative studies on properties of hen egg yolk IgY and rabbit serum IgG antibodies. *Lebensm.-Wiss. u.-Technol.* **24**, 152-158.
  12. Otake, S., Nishihara, Y., Makimura, M., Hatta, H., Kim, M., Yamamoto, T., and Hirasawa, M. (1991) Protection of rats against dental caries by passive immunization with hen-egg-yolk antibody (IgY). *J. Dent. Res.* **70**, 162-166.3.
  13. Polson, A. and von Wechmar, M. B. (1980) Isolation of viral IgY antibodies from yolks of immunized hens. *Immunol. Commun.* **9**, 475.
  14. Sato, S., Koga, T., and Inoue, M. (1984) Isolation and some properties of extracellular D-glucosyltransferases and D-fructosyltransferases from *Streptococcus mutans* serotypes c, e, and f. *Carbohydrate Res.* **134**, 293-304.
  15. Shimizu, M., Fitzsimmons, R. C., and Nakai, S. (1988) Anti-*E. coli* immunoglobulin Y isolated from egg yolk immunized chickens as a potential food ingredient. *J. Food Sci.* **53**, 1360-1366.
  16. Yolken, R. H., Leister, F., Wee, S.-B., Miskuff, B., and Vonderfecht, S. (1988) Antibodies to rotavirus in chickens' eggs : A potential source of antiviral immunoglobulins suitable for human. *Consumption.* **9**, 1079-1091.
  17. 노정해, 김영봉, 한찬규, 이남형, 성기승, 손동화 (1999) 산란계의 연령과 면역주기에 따른 난황중의 *Streptococcus mutans* 특이항체 함량. *한국축산학회지* **41(5)**, 563-574.
  18. 손동화, 노정해, 김영봉, 한찬규, 성기승, 이남형 (1996) 난황으로 부터 항충치 항체의 분리 및 특성. *한국식품과학회지* **30**, 1029-1034.
  19. 이남형, 노정해, 한찬규, 성기승 (1999) 여러 가지 산란계 사료 첨가제가 계란의 IgY 수준과 산란율에 미치는 영향. *한국축산학회지* **41(2)**, 155-156.
  20. 정운익 (1993) 훌륭한 면역항체 공급원 계란 난황속의 항체. *양계연구* **3**, 40-42.