

## 홍삼 부산물이 스트레스에 대한 산란계 생체반응에 미치는 영향

홍준기<sup>1,†</sup> · 봉미희<sup>1</sup> · 박준철<sup>1</sup> · 문홍길<sup>1</sup> · 이상철<sup>1</sup> · 이준현<sup>2</sup> · 황성구<sup>3</sup>

<sup>1</sup>농촌진흥청 국립축산과학원, <sup>2</sup>충남대학교 농업생명과학대학 동물자원생명과학과, <sup>3</sup>한경대학교 동물생명환경과학부

### Effect of Feeding Red Ginseng Marc on Vital Reaction in Laying Hens under Stress Task

Joon Ki Hong<sup>1,†</sup>, Mi Hee Bong<sup>1</sup>, Jun Cheol Park<sup>1</sup>, Hong Kil Moon<sup>1</sup>, Sang Cheul Lee<sup>1</sup>,  
Jun Heon Lee<sup>2</sup> and Seong Gu Hwang<sup>3</sup>

<sup>1</sup>National Institute of Animal Science, RDA, Cheonan 331-801, Korea

<sup>2</sup>Department of Animal Science and Biotechnology, College of Agriculture and Life Sciences, Chungnam National University, Daejeon 305-764, Korea

<sup>3</sup>Division of Animal Life and Environmental Science, Hankyong National University, Anseong 456-749, Korea

**ABSTRACT** This study was conducted to determine the possible use of Red Ginseng marc as stress inhibitor in thermal stress (temperature humidity index 86) and lipopolysaccharide (LPS) - exposed laying hens by investigating their effects on laying performance, blood biochemical parameters, immunoglobulin concentration and serum superoxide dismutase (SOD) like ability. A total of forty-five 52-wk-old laying hens (ISA Brown) were divided into 3 treatment groups with 5 replicates of 3 birds in each group. NC (negative control, no immune substances), PC (positive control,  $\beta$ -glucan 25 ppm) and RGM (Red Ginseng Marc 3%) were added in feed with respective substance. Egg production in RGM was significantly increased in comparison with NC groups for 8 weeks ( $P<0.05$ ). On blood biochemical parameters, effects of ambient temperature is definite by showing significant difference in aspartate aminotransferase and others ( $P<0.05$ ), but RGM both before and after thermal stimulation have no significant difference in comparison with other groups. And for 3 weeks after thermal stimulation, laying performance was also not significantly different among treatments. Immunoglobulin M content and SOD like activities after challenge with LPS were higher in the RGM and PC than NC ( $P<0.05$ ). In conclusion, although ineffective as inhibitor in thermal stress, dietary supplementation of Red Ginseng marc improved SOD like activity and immune system by regulating immunoglobulin content in laying hens. These findings have laid the foundation for future studies of immunomodulation in laying hens fed Red Ginseng Marc and of evaluation of heat stress inhibitor.

(Key words : laying hen, heat stress, immune, red ginseng marc)

## 서 론

인간의 평균 수명이 상승하고 질병 예방에 대한 관심이 고조되면서 기능성 식품의 수요가 증가하고 있다. 기능성 식품 생산액 집계 결과, 2004년제도 도입 이후 처음으로 1조원 시장을 진입하였으며, 특히 2010년 홍삼 제품 생산액은 전년 대비 11% 상승하면서 전체의 55%를 차지해 꾸준히 강세를 보이고 있다(식약청, 2010). 현재 축산업에서는 가축 면역력 향상, 항생제 대체 물질 개발 등을 위해 약용식물에 대한 연구가 활발히 진행되고 있으며(Chen et al., 2003; Hernandez et al., 2004), 홍삼의 유용물질 역시 중요한 사료

자원으로 활용될 수 있다. 홍삼의 약리 성분은 사포닌계인 ginsenoside와 비사포닌계인 panaxytriol, panasdiol 및 산성 다당체 등이 있다(Kwak et al., 2003). 이러한 성분들은 중추 신경 조절, 기억력 개선, 면역 기능 조절 작용, 간기능 항진, 해독 작용 및 동맥경화 예방 등 다양한 작용을 한다고 보고되어 있으며, 최근에는 AIDS 바이러스의 증식 억제, 항다이옥신 및 성기능 개선 효과가 보고되었다(Kwak et al., 2003; Bhattachary and Mirata, 1991). 홍삼 진액을 추출한 후에는 부산물이 발생하는 데 홍삼 부산물(홍삼박)의 경우, 사포닌과 함께 상당한 양의 다당체가 용출되지 않고 함유되어 있다(Chang et al., 2007). 이러한 홍삼박의 산성 다당체 역시 항암 및 면

<sup>†</sup> To whom correspondence should be addressed : john8604@korea.kr

역 활성이 높은 것으로 보고된 바 있다(Chang et al., 2007). 앞으로 홍삼 산업이 성장함에 따라 부산물의 양도 계속적으로 증가할 것으로 예상되며, 이러한 홍삼박을 다양하게 가축 사료로 활용한다면 자원 순환과 가축 건강 개선 측면에서 중대한 성과를 가져올 것으로 사료된다.

여름철 고온 환경은 양계 농장의 경제적 손실을 유발하는 중요한 요인으로 작용하고 있으며, 특히 산란계에서 산란율(Muiruri and Harrison, 1991; Whitehead et al., 1998), 난중(Balnave and Muheereza, 1997) 등의 생산성을 저하시킨다. 또한 고온 스트레스는 산란계 생산성뿐만 아니라 면역 기능도 약화시킨다는 보고가 있다(Mashaly et al., 2004). 최근 고온 스트레스 저감을 위해 홍삼박을 활용한 실험이 추진되고 있으며, 홍삼박은 산란계에서 고온 스트레스 자극 시 혈액 내 Ca/Mg 비율을 적절하게 유지하고, 외부 항원 자극 시 염증 관련 cytokine 발현을 억제한다는 보고가 있다(Bong et al., 2011).

한편, 주로 효모 세포벽에서 유래되는  $\beta$ -glucan은 면역 증강 효과(Mantovani et al., 2008; Suzuki et al., 1994)와 혈중 콜레스테롤 저하 효과(Queenan et al., 2007)가 있으며, 특히 감염과 종양 생성 및 방사선 조사 이후의 조직 손상에 대한 예방적 효과가 높아 천연 항산화제로서 가치가 매우 높다(Gu et al., 2005; Lipsett, 2006). 따라서 신규 물질의 면역, 항산화 기능 평가 시 기존 문헌에 근거한 첨가 수준을 설정하여 양성 대조군으로서 활용 가능성을 검토해 볼 필요가 있다.

따라서 본 연구는 홍삼박을 산란계 사료에 첨가하여 고온 환경에서의 적응과 면역 개선 효과를 조사하는 것이 목적이며, 이를 위해 면역 증강 효과를 가진  $\beta$ -glucan(Mantovani et al., 2008; Suzuki et al., 1994) 첨가 사료를 양성 대조군으로 설정하여 고온 스트레스 후의 생산성 변화, 항산화 활성, 혈액 생화학 조성 및 LPS에 대한 면역 반응을 조사하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 실험 설계

#### 1) 공시축 및 사양 관리

52주령 ISA Brown 갈색계를 무첨가구(Negative Control; NC), 시판 면역제제 첨가구(Positive Control; PC,  $\beta$ -glucan 25 ppm), 홍삼 부산물 3% 첨가구(RGM; Red Gingeng Marc)로 구분한 후, 처리당 15수(3수×5반복)로 배치하여 총 11주간 사양 실험을 하였다. 실험 사료는 한국사양표준(가금, 2007)에서 제시한 옥수수-대두박 위주의 기초 사료로 나누어 동

일한 수준으로 급여하였으며(Table 1), 물을 니플 급수에 의해 자유로이 음수할 수 있도록 하였다.

#### 2) 고온 스트레스 자극

8주차에 불쾌지수(THI; temperature humidity index)를 76(27℃, 60%)에서 86(34℃, 60%)으로 상승시키고, 24시간 동안 유지한 후 3주간 회복시간을 가졌다.

**Table 1.** Formula and chemical compositions of experimental diets

|                           | NC*   | PC    | RGM        |
|---------------------------|-------|-------|------------|
| Ingredients (%)           |       |       | (RGM 3.00) |
| Corn                      | 55.25 | 55.25 | 54.00      |
| Soybean meal              | 14.00 | 14.00 | 13.55      |
| Corn gluten meal          | 4.65  | 4.64  | 4.50       |
| Wheat bran                | 11.75 | 11.75 | 12.60      |
| Soybean oil               | 1.00  | 1.00  | 1.00       |
| Limestone                 | 9.40  | 9.40  | 9.40       |
| Tricalcium phosphate      | 1.00  | 1.00  | 1.00       |
| Salt                      | 0.30  | 0.30  | 0.30       |
| DL-Methionine             | 0.05  | 0.05  | 0.05       |
| Lysin-HCl                 | 0.10  | 0.10  | 0.10       |
| Vitamin-mineral mixture** | 0.50  | 0.50  | 0.50       |
| Beet pulp                 | 2.00  | 2.00  | -          |
| Calculated value          |       |       |            |
| ME (kcal/kg)              | 2,649 | 2,648 | 2,649      |
| Crude protein (%)         | 15.1  | 15.1  | 15.0       |
| Methionine (%)            | 0.30  | 0.30  | 0.30       |
| Lysine (%)                | 0.75  | 0.75  | 0.74       |
| Ca (%)                    | 3.79  | 3.79  | 3.82       |
| Available P (%)           | 0.58  | 0.58  | 0.59       |

\*NC, Negative control; PC, Positive control; RGM, Red ginseng Marc.

\*\*Vitamin-mineral mixture provided following nutrients per kg of diet: vitamin A, 15,000 IU; vitamin D<sub>3</sub>, 1,500 IU; vitamin E, 20.0 mg; vitamin K<sub>3</sub>, 0.70 mg; vitamin B<sub>12</sub>, 0.02 mg; niacin, 22.5 mg; thiamin, 5.0 mg; folic acid, 0.70 mg; pyridoxin, 1.3 mg; riboflavin, 5 mg; pantothenic acid, 25 mg; choline chloride, 175 mg; Mn, 60 mg; Zn, 45 mg; I, 1.25 mg; Cu, 10.0 mg; Fe, 72 mg; Co, 2.5 mg.

3) Lipopolysaccharide (LPS) 주입 및 시료 채취  
11주간의 사양 기간이 종료된 후 염증 반응을 유도하기 위해 LPS(*Escherichia coli*, SIGMA)를 주입하였다. 주입은 처리당 5수를 선발하여 개체당 1 mg/mL의 수준으로 각 처리군 모두 동일하게 복강 주사하였다. 혈액은 LPS 주입 전과 후 2회(0, 2 h)에 걸쳐 익하정맥에서 채취하고, 원심분리(2,000 rpm×10 mins)를 통해 혈청을 분리하여 분석에 이용하였다.

## 2. 조사 항목

### 1) 생산성

계란은 매일 15:00시에 채란하여 난중 및 산란수를 조사하였고, 산란수를 사육수수로 나누어 산란율을 구하였다. 사료 섭취량은 1주 간격으로 반복별로 사료 잔량을 측정하여 구하였다. 조사된 사료 섭취량과 일산란량을 통하여 사료 요구율을 산출하였다.

### 2) 계란 품질

시험 개시 후 4주 간격(총 2회)으로 처리당 15개씩 계란을 수집하여 난질 및 난각질을 조사하였다. 계란 품질 자동 분석기(QCM+, Technical services & supplies Ltd., England)를 이용하여 난황색, Haugh unit 및 난각색을 측정하였으며, 난각 강도계(Fujihara industry Co., Ltd., Japan)와 난각 두께 측정기(Fujihara industry Co., Ltd., Japan)를 이용하여 난각 강도 및 난각 두께를 측정하였다.

### 3) 고온 스트레스 자극에 따른 혈액 생화학 조성 변화

고온 스트레스 자극 전과 후 각각 처리당 5수씩을 선발하여 익하정맥에서 혈액을 채취하고 원심분리(3,000 rpm×15 mins)를 통해 혈청을 분리하여 분석에 이용하였다. 혈액 생화학 조성은 자동 혈액 분석기(COBAS MIRA plus, ROCHE diagnostics)를 이용하여 혈청 내 cholesterol, triglyceride, blood urea nitrogen(BUN), total protein, aspartate aminotransferase (AST) 및 alanine aminotransferase(ALT)를 측정하였다.

### 4) LPS 자극에 따른 혈액 Immunoglobulin 함량 변화

혈액 내 immunoglobulin 함량은 chicken IgA, IgG, IgM kit(BETHYL Laboratories, Inc. USA)를 사용하여 측정하였다. Goat anti-chicken IgA IgG, IgM를 coating buffer(0.05 M carbonate-bicarbonate)에 1:100 비율로 희석한 후, 96 well microplate에 100  $\mu$ L씩 넣고 37°C에서 60분간 반응시켰다. 반응 후, 96 well microplate 각 well의 coating buffer를 제거하고 washing solution(50 mM tris, 0.14 M NaCl, 0.05% Tween

20)으로 3회 세척하였다. 이어서 blocking solution(50 mM tris, 0.14 M NaCl, 1% BSA)을 넣고 37°C에서 30분간 반응시키고 washing solution으로 3회 세척하였다. Sample diluent solution(50 mM tris, 0.14 M NaCl, 1% BSA, 0.05% Tween 20)으로 희석된 혈청을 각 well에 100  $\mu$ L씩 넣고 60분간 37°C에서 반응시킨 다음 5회 세척하고, HRP conjugate 100  $\mu$ L를 넣고 반응(37°C, 60분)시켰다. 이를 다시 5회 세척한 후, enzyme substrate(TMB peroxidase substrate, peroxidase solution B)를 100  $\mu$ L씩 넣고 반응시켰다. 5~30분간 반응에 따른 색 변화를 관찰하여 색이 고정되면 2 M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>를 넣고 반응을 정지시킨 후, microplate reader(Benchmark plus, Bio-Rad Laboratories, USA)로 450 nm에서 흡광도를 측정하고, 작성된 표준곡선을 이용하여 IgA, IgG, IgM의 함량을 산출하였다.

### 5) LPS 자극 후 혈액 내 항산화 활성

혈액 내 항산화도는 Stefan과 Gudrun(1974)의 방법을 이용하여 superoxide dismutase(SOD) like activity를 구하였다. 먼저 유리 시험관에 pH 8.5의 Tris-HCl buffer 1.5 mL과 준비된 혈장을 0.1 mL첨가하고, 5 mM의 pyrogallol을 0.1 mL를 첨가한 후, 25°C에서 30분간 배양하였다. 1N의 HCl 0.1 mL로 반응을 정지시킨 후, 비색계를 이용하여 420 nm의 흡광도를 측정하였고(At), 동일한 실험 방법으로 Tris-HCl buffer와 pyrogallol만 첨가한 후 측정된 흡광도(Ac)와 Tris-HCl buffer와 혈장만 첨가한 후 측정된 흡광도(Ao)를 이용하여 SOD-like activity를 구하였다.

## 3. 통계처리

실험에서 얻어진 모든 자료들의 통계분석은 Statistical Analysis System(SAS Institute, 2008)의 General Linear Model (GLM) procedure를 이용하여 분산분석을 실시하였고, 처리구 간에 유의성은 Duncan's multiple range-test(Duncan, 1955)를 이용하여 5% 수준에서 검정하였다.

## 결과 및 고찰

### 1. 일반환경에서의 생산성 및 계란품질

8주간의 생산성 변화는 Table 2에 나타내었다. 산란율에서 홍삼박 첨가구가 가장 높은 수치를 나타냈으며, 그 다음으로 면역제제 첨가구, 무첨가구 순이었다. 대조구와 비교해 볼 때 면역제제 첨가구는 통계적인 유의성을 나타내지 않았지만, 홍삼박 첨가구는 유의적인 차이를 나타내며, 산란율이

**Table 2.** Effects of dietary supplementation of mixed red ginseng marc on the laying performance in laying hens (1~8 weeks)

|                       | NC*                | PC                  | RGM                | SEM  |
|-----------------------|--------------------|---------------------|--------------------|------|
| Egg production (%)    | 88.80 <sup>b</sup> | 93.50 <sup>ab</sup> | 95.20 <sup>a</sup> | 1.25 |
| Egg weight (g)        | 61.60              | 61.00               | 61.40              | 0.45 |
| Egg mass (g/d)        | 54.59              | 56.84               | 58.08              | 0.87 |
| Feed intake (g)       | 116.24             | 116.30              | 117.40             | 1.17 |
| Feed conversion ratio | 2.14               | 2.05                | 2.02               | 0.02 |

\*NC, Negative control; PC, Positive control; RGM, Red ginseng Marc.

<sup>a,b</sup>Mean within the same row with no common superscripts differ significantly ( $P<0.05$ ).

개선되는 효과를 보였다( $P<0.05$ ). 이는 산란계에 발효 인삼을 급여했을 시 산란율이 개선된다는 보고와 유사하였으나 (Jang et al., 2007), 발효 홍삼 추출물은 산란계 생산성에 영향을 주지 않는다는 보고와는 상반된 결과를 나타내었다 (Ao and Zhou, 2011). Alfalfa의 saponin의 경우 육계에 일정 수준 이상 급여할 시 증체량 등의 생산성을 저해한다는 보고가 있다(Anderson, 1957). 그러므로 홍삼 급여에 대한 상반된 결과는 건조 분말, 발효 추출 등의 제조 형태와 첨가량의 차이로 체내 saponin의 흡수 정도와 밀접한 관계가 있다고 추측할 수 있다. 홍삼의 saponin은 면역 조절 기능이 매우 뛰어나기 때문에(ilsley et al., 2005), 산란계에 적절히 활용한다면 면역 기능을 강화하면서 생산성도 증진할 수 있다고 사료된다. 따라서 홍삼박 급여로 산란율 개선의 가능성을 보여준 본 실험의 결과는 첨가 수준을 결정하는 앞으로의 연구에 유용하게 활용될 것으로 사료된다.

홍삼박 급여 시 계란 품질에 미치는 효과는 Table 3에 나타내었다. 4주차의 결과에서 홍삼박 첨가구의 난각 두께가 유의적으로 얇았으며( $P<0.05$ ), 유의성은 나타나지 않았지만 난각 강도가 떨어지는 경향으로 나타났다. 하지만 8주차 결과를 보면, 모든 지표에서 유의적인 차이를 나타내지 않았다. Uganbayar et al.(2005)과 Kojima and Yoshida(2008)는 tannin 등의 항영양인과 특유의 떫은 맛은 사료 섭취량을 감소시켜 난각의 질은 저하시킨다고 보고한 바 있다. 4주차의 결과에서 난각 품질이 일부 떨어지는 경향은 항영양인자 및 사료 섭취량 감소와 무관한 것으로 사료되며(Table 3), 8주차에서 이러한 경향이 사라지는 것으로 나타나 계란 품질에 대한 홍삼박의 부정적인 효과는 없는 것으로 사료된다.

**Table 3.** Effects of dietary supplementation of mixed Red ginseng marc on the characteristics egg

|      | Item               | NC*               | PC                | RGM               | SEM  |
|------|--------------------|-------------------|-------------------|-------------------|------|
| 4 wk | Haugh unit         | 90.41             | 93.88             | 91.06             | 1.13 |
|      | Egg yellow         | 8.1               | 7.97              | 7.73              | 0.09 |
|      | Eggshell color     | 26.43             | 28.1              | 29.3              | 0.83 |
|      | Eggshell strength  | 2.05              | 2.1               | 1.87              | 0.07 |
|      | Eggshell thickness | 0.36 <sup>a</sup> | 0.33 <sup>b</sup> | 0.32 <sup>b</sup> | 0.01 |
| 8 wk | Haugh unit         | 92.54             | 92.93             | 93.77             | 1.29 |
|      | Egg yellow         | 7.57              | 7.6               | 7.33              | 0.1  |
|      | Eggshell color     | 28.97             | 31                | 32.47             | 0.72 |
|      | Eggshell strength  | 1.91              | 1.95              | 1.71              | 0.09 |
|      | Eggshell thickness | 0.34              | 0.33              | 0.33              | 0.01 |

\*NC, Negative control; PC, Positive control; RGM, Red ginseng Marc.

<sup>a,b</sup>Mean within the same column with no common superscripts differ significantly ( $P<0.05$ ).

## 2. 고온 환경에 따른 생산성 및 혈액생화학 조성 변화

Table 4는 고온 스트레스 자극 후 3주간 처리구별 생산성 변화를 나타낸 것이다. 시간이 경과함에 따라 전체적으로 생산성이 회복되는 경향을 나타냈지만, 처리구별 어떠한 유의성도 나타나지 않았다. Table 5은 고온 환경으로 혈액에서 변화하는 주요 지표를 확인하기 위해 공시축 전체의 혈액생화학 조성 변화를 나타낸 것이다. 고온 환경 후 BUN(blood urea nitrogen)과 AST(aspartate aminotransferase)의 농도가 증가하였으며, triglyceride와 ALT(alanine aminotransferase) 농도는 감소하였다( $P<0.05$ ). Cholesterol과 triglyceride의 변화는 담도 폐쇄, 간조직 손상과 밀접한 연관을 가지며, BUN(blood urea nitrogen)과 creatinine 증가는 급성 부신부전, 요로폐쇄 등의 원인으로 발생할 수 있다(Edrington and Kamps-Holtzapple, 1995). 고온 스트레스 자극은 산란계 면역 체계를 약화시켜(Mashaly et al., 2004), 면역 기능과 밀접한 관련이 있는 간 및 신장의 손상을 가져온 것으로 사료된다. Table 6은 일반 환경과 고온 환경에서 처리구별 차이를 나타낸 것이다. 일반 환경의 경우 모든 지표에서 처리구별 차이를 발견할 수 없었으며, 고온 환경에서도 BUN 농도를 제외하고 유의적 차이가 없었다. BUN 농도에서 홍삼박 첨가구는 다른 첨가구보다 높게 관찰되었는데( $P<0.05$ ), 닭에서 BUN의 정상 농도 범위는 명확하지 않으며, BUN의 지표만으로 홍삼박 첨가의 효과를 단정하기는 어렵다고 사료된다. 본 실험의 고

**Table 4.** Effects of dietary supplementation of mixed red ginseng marc on the laying performance after thermal stress in laying hens (9~11 week)

|                       | Week  | NC*    | PC     | RGM    | SEM  |
|-----------------------|-------|--------|--------|--------|------|
| Egg production (%)    | 9     | 69.05  | 79.52  | 82.38  | 4.46 |
|                       | 10    | 79.05  | 86.19  | 80.47  | 3.01 |
|                       | 11    | 91.43  | 88.10  | 86.19  | 2.30 |
|                       | Total | 79.84  | 84.60  | 83.02  | 2.83 |
| Egg weight (g)        | 9     | 59.07  | 60.02  | 59.63  | 0.57 |
|                       | 10    | 60.32  | 59.32  | 59.44  | 0.74 |
|                       | 11    | 58.59  | 60.51  | 60.03  | 0.76 |
|                       | Total | 59.33  | 59.95  | 59.70  | 0.63 |
| Egg mass (g/d)        | 9     | 41.03  | 47.7   | 49.28  | 2.81 |
|                       | 10    | 47.69  | 51.18  | 48.02  | 2.00 |
|                       | 11    | 53.56  | 53.36  | 51.79  | 1.59 |
|                       | Total | 47.43  | 50.73  | 49.69  | 1.89 |
| Feed intake (g)       | 9     | 69.32  | 76.3   | 74.96  | 5.97 |
|                       | 10    | 117.68 | 110.34 | 113.14 | 3.05 |
|                       | 11    | 80.96  | 74.7   | 80.5   | 3.29 |
|                       | Total | 89.34  | 87.14  | 89.56  | 3.46 |
| Feed conversion ratio | 9     | 1.61   | 1.6    | 1.58   | 0.10 |
|                       | 10    | 2.51   | 2.16   | 2.44   | 0.10 |
|                       | 11    | 1.51   | 1.39   | 1.56   | 0.04 |
|                       | Total | 1.89   | 1.71   | 1.83   | 0.05 |

\*NC, Negative control; PC, Positive control; RGM, Red ginseng Marc.

**Table 5.** Effects of ambient temperature on blood biochemical parameters<sup>1)</sup> in laying hens

| Item                 | Normal temperature    | High temperature    | SEM   |
|----------------------|-----------------------|---------------------|-------|
| Cholesterol (mg/dL)  | 114.27                | 96.33               | 6.03  |
| Triglyceride (mg/dL) | 1,215.40 <sup>a</sup> | 941.40 <sup>b</sup> | 69.18 |
| CRE                  | 0.30                  | 0.32                | 0.01  |
| BUN* (mg/dL)         | 3.20 <sup>b</sup>     | 4.20 <sup>a</sup>   | 0.15  |
| AST (U/L)            | 188.07 <sup>b</sup>   | 227.87 <sup>a</sup> | 6.00  |
| ALT (U/L)            | 8.13 <sup>a</sup>     | 4.67 <sup>b</sup>   | 0.66  |

\*BUN, blood urea nitrogen; AST, aspartate aminotransferase; ALT, alanine aminotransferase.

<sup>a,b</sup>Means with the different superscripts differ significantly ( $P<0.05$ ).

**Table 6.** Effects of dietary red ginseng marc on blood biochemical parameters in laying hens

| Temperature | Item                 | NC*              | PC               | RGM              | SEM   |
|-------------|----------------------|------------------|------------------|------------------|-------|
| Normal      | Cholesterol (mg/dL)  | 124              | 97               | 122              | 8.38  |
|             | Triglyceride (mg/dL) | 1,279            | 1,065            | 1,302            | 87.67 |
|             | CRE                  | 0.3              | 0.3              | 0.3              | 0.01  |
|             | BUN** (mg/dL)        | 3.4              | 3.0              | 3.2              | 2.66  |
|             | AST (U/L)            | 178              | 196              | 190              | 6.08  |
|             | ALT (U/L)            | 8.4              | 8.4              | 7.6              | 0.87  |
|             | Total protein (g/dL) | 5.6              | 5.1              | 5.5              | 0.13  |
|             | Cholesterol (mg/dL)  | 100              | 91               | 98               | 8.32  |
|             | Triglyceride (mg/dL) | 925              | 865              | 1,034            | 97.26 |
|             | CRE                  | 0.3              | 0.3              | 0.3              | 0.02  |
| High        | BUN (mg/dL)          | 4.0 <sup>b</sup> | 3.8 <sup>b</sup> | 4.8 <sup>a</sup> | 0.17  |
|             | AST (U/L)            | 236              | 228              | 220              | 7.46  |
|             | ALT (U/L)            | 5.0              | 5.8              | 3.2              | 0.78  |
|             | Total protein (g/dL) | 4.9              | 5.1              | 4.8              | 0.13  |

\*NC, Negative control; PC, Positive control; RGM, Red ginseng Marc.

\*\*BUN, blood urea nitrogen; AST, aspartate aminotransferase; ALT, alanine aminotransferase.

<sup>a,b</sup>Means with the different superscripts differ significantly ( $P<0.05$ ).

온 환경 조성은(Mashaly et al., 2004)의 방법을 일부 변형하여 불쾌지수 86(34℃, 60%)로 설정하였는데, 이는 국내 최근 10년 중 가장 높은 불쾌지수인 81.6(기상청, 2011)보다 높은 수치였다. 즉, 강력한 고온 스트레스 자극으로 처리구의 효과가 가려진 것으로 사료된다. 따라서 고온 환경은 정상 환경과의 차이를 두되, 국내 환경에 맞도록 불쾌지수를 설정하고 자극 시간도 조절할 필요가 있다고 판단된다. 본 실험에서, 고온 스트레스 시 생산성 및 혈액 생화학 조성에 대한 홍삼박의 효과는 확인하지 못하였다. 하지만 고온 환경 시 불쾌지수와 노출 시간 설정에 유용하게 활용될 수 있어 고온 스트레스 저감용 사료 첨가제 평가에 도움을 줄 수 있을 것으로 사료된다.

### 3. LPS 감염에 대한 변화

#### 1) 혈중 Immunoglobulin 농도

11주의 사양시험 종료 후 LPS 접종에 대한 공시축의 immu-

noglobulin 변화를 Table 7에 나타내었다. LPS 접종 전과 후를 비교해 보면, 접종 후 전체 집단 IgM의 농도가 유의적으로 감소하였으며( $P < 0.05$ ), IgA와 IgG의 농도는 감소하는 경향을 보였지만 유의적인 차이는 없었다. IgM은 외부로부터 침입된 모든 항원에 대한 일차적 면역 반응 성분이며(Szenberg et al., 1965), 특히 virus, bacteria와 erythrocytes와 같은 미립자 항원들에 대하여 면역 반응을 일으킨다(Szenberg et al., 1965). 또한 다른 immunoglobulin보다 특화된 급성 반응을 나타낸다(Koenen et al., 2002). Table 7에서 LPS에 대해 일차적 면역 반응 성분인 IgM 농도가 오히려 감소하였는데, 이는 고온 스트레스로 손상된 면역 체계가 완전하게 회복되지 않은 것이 원인이라 사료된다. Table 8은 LPS 접종 전과 후의 처리구별 차이를 나타낸 것이다. IgA는 LPS 접종 전과 후 모두 처리구별 차이가 없었으며, IgG의 경우 LPS 접종 전에는 홍삼박 첨가구가 무첨가구보다 낮았으나( $P < 0.05$ ) 접종 후에는 차이가 없는 것으로 관찰되었다. IgM 농도에서 홍삼박 첨가구와 면역제제 첨가구는 무첨가구에 비해 LPS 접종 전과 후 모두 유의적으로 높은 수준을 나타내었다( $P < 0.05$ ). 홍삼의 saponin은 면역 조절 기능이 있으며, 특정 면역자극 시 항체와 림프구 증가를 유발한다(illsley et al., 2005; Zhang et al., 2009). Table 7과 Table 8을 정리해 보면, LPS 주입 후 전체적으로 IgM 농도가 감소되며, 홍삼박 첨가구의 경우 면역제제 첨가구와 동일하게 LPS 주입 후 감소되는 IgM 농도를 높게 유지하는 것으로 관찰되었다. 따라서 홍삼박은 LPS에 대해 IgM 농도를 높게 유지하여 적절한 면역 반응을 가지는 것으로 사료된다.

## 2) 혈중 항산화 활성

항산화 효소 중의 하나인 superoxide dismutase(SOD)는 세포에 유해한 환원 산소종을 과산화수소로 전환시키는 반응( $2O_2^- + 2H^+ \rightarrow H_2O_2 + O_2$ )을 촉매하는 효소이며, SOD에 의해 생성된  $H_2O_2$ 는 peroxidase나 catalase에 의하여 무해한 물

**Table 7.** Serum immunoglobulin level of laying hens during 2 h after challenge with LPS

| Item        | Pre (0 h)         | Post (2 h)        | SEM  |
|-------------|-------------------|-------------------|------|
| IgA (mg/mL) | 0.59              | 0.47              | 0.03 |
| IgG (mg/mL) | 1.81              | 1.76              | 0.11 |
| IgM (mg/mL) | 0.42 <sup>a</sup> | 0.33 <sup>b</sup> | 0.02 |

<sup>a,b</sup>Means with the different superscripts differ significantly ( $P < 0.05$ ).

**Table 8.** Effects of dietary red ginseng marc on immunoglobulin level of serum in laying hens before and after challenge with LPS

|             |      | NC*               | PC                 | RGM               | SEM  |
|-------------|------|-------------------|--------------------|-------------------|------|
| IgA (mg/ml) | Pre  | 0.55              | 0.64               | 0.58              | 0.05 |
|             | post | 0.46              | 0.51               | 0.47              | 0.04 |
| IgG (mg/ml) | Pre  | 2.04 <sup>a</sup> | 1.92 <sup>ab</sup> | 1.39 <sup>b</sup> | 0.13 |
|             | Post | 2.03              | 1.73               | 1.48              | 0.18 |
| IgM (mg/ml) | Pre  | 0.36 <sup>b</sup> | 0.46 <sup>a</sup>  | 0.46 <sup>a</sup> | 0.02 |
|             | Post | 0.28 <sup>b</sup> | 0.35 <sup>a</sup>  | 0.38 <sup>a</sup> | 0.02 |

\*NC, Negative control; PC, Positive control; RGM, Red ginseng Marc.

<sup>a,b</sup>Means with the different superscripts differ significantly ( $P < 0.05$ ).

**Table 9.** Effects of dietary red ginseng marc on antioxidation of serum in broiler laying hens

|                     | NC*                | PC                 | RGM                | SEM  |
|---------------------|--------------------|--------------------|--------------------|------|
| SOD like activity % | 22.90 <sup>b</sup> | 30.28 <sup>a</sup> | 32.96 <sup>a</sup> | 1.76 |

\*NC, Negative control; PC, Positive control; RGM, Red ginseng Marc.

분자와 산소분자로 분해됨으로써, 결론적으로 SOD는 산소상태로부터 생체를 보호하는 기능을 하는 것으로 알려져 있다(Pryor, 1986). Phytochemicals에 속하며, superoxide의 반응성을 억제하는 SOD 유사활성 물질은 효소는 아니지만, SOD와 유사한 역할을 한다. 홍삼박이 혈중 항산화 활성에 미치는 영향은 Table 9에 나타내었다. 혈액 내 SOD 유사 활성을 분석한 결과, 홍삼박 첨가구와 면역제제 첨가구 모두 무첨가구보다 높은 항산화 활성을 가지는 것으로 나타났으며( $P < 0.05$ ), 홍삼박과 면역제제 첨가구 간의 항산화 활성은 유의적인 차이가 없었다. 홍삼의 몇몇 성분들은 free radical 소거능 증진, 지질과산화 억제 등 매우 강력한 항산화력을 가지고 있다(Choi et al., 1983; Gillis, 1997; Keum et al., 2000). 따라서 홍삼박 역시 saponin 등의 유용성분의 작용으로 항산화 활성을 높일 수 있는 것으로 사료된다.

## 적 요

본 연구는 홍삼박을 산란계 사료에 첨가하여 고온 환경에서의 적응과 면역 개선 효과를 조사하는 것이 목적이며, 이

를 위해 면역 증강 효과를 가진  $\beta$ -glucan 첨가 사료를 양성 대조군으로 설정하여 고온 스트레스 후의 생산성 변화, 혈액생화학 조성, LPS에 대한 면역 반응 및 혈액 항산화 활성을 조사하였다. 52주령 ISA Brown 갈색계를 무첨가구(Negative Control; NC), 시판 면역제제 첨가구(Positive Control; PC,  $\beta$ -glucan 25 ppm), 홍삼 부산물 3% 첨가구(RGM; Red Ginseng Marc)로 구분한 후, 처리당 15수(3수 $\times$ 5반복)로 배치하여 총 11주간 사양 실험을 2하였다. 8주차에 불쾌지수(THI; temperature humidity index)를 76(27 $^{\circ}$ C, 60%)에서 86(34 $^{\circ}$ C, 60%)으로 상승시키고, 24시간 동안 유지한 후 3주간 회복 시간을 가졌으며, 사양 기간이 종료된 후 LPS(*Escherichia coli*; SIGMA) 접종을 하였다. 8주간의 일반 사양 실험에서 홍삼박은 산란율을 증대시켰으나( $P<0.05$ ), 고온 스트레스 자극 후 혈액 생화학 및 생산성 변화에서 홍삼박의 첨가에 의한 효과는 나타나지 않았다. LPS 접종 시 전체적으로 IgM 농도가 감소되지만 홍삼박 첨가구의 경우 면역제제 첨가구와 동일하게 LPS 주입 후 IgM 농도를 대조구보다 높게 유지하는 것으로 관찰되었다( $P<0.05$ ). 또한 혈액 내 SOD 유사 활성을 분석한 결과, 홍삼박 첨가구와 면역제제 첨가구 모두 무첨가구보다 높은 항산화 활성을 유지하는 것으로 관찰되었다( $P<0.05$ ). 종합해 보면, 홍삼박은 산란계에서 강한 고온 스트레스 자극에 대한 효과는 관찰되지 않았지만 일반환경에서 산란율을 증대시켜 생산성을 개선하는 효과가 있었다. 또한  $\beta$ -glucan을 함유한 면역제제와 유사 패턴으로 LPS 접종에 대해 IgM 농도를 높게 유지하고, 혈액 내 항산화 활성을 높이는 효과를 나타내었다. 따라서 홍삼박은 산란계 체내 면역 조절 및 항산화 효과를 가져 산란계 건강과 생산성 증진에 긍정적으로 작용할 것으로 사료된다. 또한 고온 스트레스 자극 실험 결과는 앞으로 고온 스트레스 관련 연구에서 고온 환경 설정(불쾌지수, 자극시간)에 유용한 자료로 활용될 수 있다고 사료된다.

(색인어: 산란계, 고온 스트레스, 면역, 홍삼박)

## 인용문헌

- Anderson J 1957 Effect of alfalfa saponin on the performance of chicks and laying hens. Poultry Sci 36:873.
- Ao X, Zhou T 2011 Influence of fermented red ginseng extract on broilers and laying hens. Asian-Aust J Anim Sci 24:993-1000.
- Balnave D, Muheereza SK 1997 Improving eggshell quality at high temperatures with dietary sodium bicarbonate. Poultry Sci 76:558-593.
- Bhattachary SK, Mirata SK 1991 Anxiolytic activity of *Panax ginseng* roots: Man experimental study. J Ethnopharmacology 34:87-92.
- Bong MH, Ji SY, Park JC, Moon HG, Lee SC, Lee JH, Hong JK, Hwang SG 2011 Effect of feeding plum and red ginseng marc on vital reaction in broiler stress. Korean J Poult Sci 38:213-223.
- Chang EJ, Park TK, Han YN, Hwang KH 2007 Conditioning of the extraction of acidic polysaccharide from red ginseng marc. Korean J Pharmacogn. 38:56-61.
- Chen HL, Li DF, Chang BY, Gong LM, Dai JG, Yi GF 2003 Effect of Chinese herbal polysaccharides on the immunity and growth performance of young broilers. Poultry Sci 82:364-370.
- Choi KJ, Kim MW, Hong SK 1983 Effect of solvents on the yield, brown color intensity, UV absorbance, reducing, and antioxidant activities of extracts from white and red ginseng. J Korean Agric Chem Soc 26:8-18.
- Duncan DB 1955 Multiple range and multiple F test. Biometrics 11:1-42.
- Edrington T, Kamps-Holtzaple C 1995 Acute hepatic and renal toxicity in lambs dosed with fumonisin-containing culture material. J Anim Sci 73:508-515.
- Gillis CN 1997 *Panax ginseng* pharmacology: A nitric oxide link? Biochem Pharmacol 54:1-8.
- Gu YH, Takage Y, Nakamura T, Hasegawa T, Suzuki I, Oshima M, Tawaraya H, Niwano Y 2005 Enhancement of radioprotection and anti-tumor immunity by yeast-derived  $\beta$ -glucan in mice. J Med Food 8:154-158.
- Hernandez F, Madrid J, Garcia V, Orengo J, Megias MD 2004 Influence of two plant extracts on broilers performance, digestibility, and organ size. Poultry Sci 83:169-174.
- Ilsley SE, Miller HM, Kamel C 2005 Effects of dietary quillaja saponin and curcumin on the performance and immune status of weaned piglets. J Anim Sci 83:82-88.
- Jang HD, Kim HJ, Cho JH, Chen YJ, Yoo JS, Min BJ, Park JC, Kim IH 2007 Effects of dietary supplementation of fermented wild-ginseng culture by-products on egg productivity, egg quality, blood characteristics and ginsenoside concentration of yolk in laying hens. Korean J Poult Sci 34:271-278.

- Keum YS, Park KK, Lee JM, Chun KS, Park JH, Lee SK, Kwon H, Surh YJ 2000 Antioxidant and anti-tumor promoting activities of the methanol extract of heat-processed ginseng. *Cancer Lett* 150:41-48.
- Koenen ME, Boonstra-Blom AG, Jeurissen SHM 2002 Immunological differences between layer- and broiler-type chickens. *Vet Immunol Immunopathol* 89:47-56.
- Kojima S, Yoshida Y 2008 Effects of green tea powder feed supplement on performance of hens in the late stage of laying. *Int J Poultry Sci* 7:491-496.
- Kwak YS, Park JD, Yang JW 2003 Present and its prospect of red ginseng efficacy research. *Food Industry & Nutr* 8:30-37.
- Lipsett PA 2006 Surgical critical care: Fungal infections in surgical patients. *Crit Care Med* 34:S215-224.
- Mantovani MS, Bellini MF, Angeli JP, Oliverira RJ, Silva AF, Ribeiro LR 2008  $\beta$ -Glucan in promoting health: Prevention against mutation and cancer. *Mutat Res* 658:154-161.
- Mashaly M, Hendricks G 3rd, Kalama MA, Gehad AE, Abbas AO, Patterson PH 2004 Effect of heat stress on production parameters and immune responses of commercial laying hens. *Poultry Sci* 83:889-894.
- Muiruri HK, Harrison PC 1991 Effect of roost temperature on performance of chickens in hot ambient environments. *Poultry Sci* 70:2253-2258.
- Pryor WA 1986 Oxy-radicals and related species: Their formation, lifetimes, and reactions. *Annu Rev Physiol* 48:67-657.
- Queenan KM, Stewart ML, Smith KN, Thomas W, Fulcher RG, Slavin JL 2007 Concentrated oat  $\beta$ -glucan, a fermentable fiber, lowers serum cholesterol in hypercholesterolemic adults in a randomized controlled trial. *Nutr J* 6:1-8.
- SAS, 2008 SAS User's Guide, Statistical. Analysis System Inst. Inc. Cary. NC.
- Stefan M, Gudrun M 1974 Involvement of the superoxide anion radical in autoxidation of pyrogallol and convenient assay for superoxide dismutase. *Eur J Biochem* 47:469-474.
- Suzuki M, Takatsuki F, Maeda Y, Hamuro J, Chihara G 1994 Antitumor and immunological activity of lentinan in comparison with LPS. *Int J Immunopharmacol* 16:463-468.
- Szenberg A, Lind P, Clarke K 1965 IgG and IgM antibodies in fowl serum. *Aust Exp Biol Med Sck* 43:451-454.
- Uuganbayar D, Bae IH, Choi KS, Shin IS, Firman JD, Yang CJ 2005 Effects of green tea powder on laying performance and egg quality in laying hens. *Asian-Aust J Anim Sci* 18:1769-1774.
- Whitehead CC, Bollengier-Lee S, Mitchell MA, Williams PEV 1998 Alleviation of depression in egg production in heat stressed laying hens by vitamin E. pp 576-578 in *Proceedings of 10th European Poultry Conference, Jerusalem, Israel.*
- Zhang X, Yu L, Bi HT, Li XH, Ni WH, Han H, Li N, Wang BQ, Zhou YF, Tai GH 2009 Total fractionation and characterization of the water-soluble polysaccharides isolated from *Panax ginseng* C. A. Meyer. *Carbohydr Polym* 77: 544-552.
- 기상청. 2011 최근 10년간 불쾌지수 특성 분석 결과.
- 식약청. 2010 생산액 집계결과.
- 한국사양표준 가금 2007 농촌진흥청 축산과학원.
- (접수: 2012. 1. 20, 수정: 2012. 3. 9, 채택: 2012. 3. 12)