

<원 저>

인삼 지상부를 첨가한 사료 급여가 닭에서 나타내는 효과

박소연^{1,†} · 이광열^{1,†} · 조영재^{1,†} · 박보경¹ · 김기주¹ · 이나래² · 김동건² · 김영희² · 한태욱^{1,*}

¹강원대학교 수의과대학 및 동물의학종합연구소, ²제일바이오

(접수: 2014년 7월 29일, 수정: 2014년 11월 4일, 게재승인: 2014년 12월 12일)

Efficacy of orally administered ginseng stem and leaf in chickens

Soyeon Park^{1,†}, Kwang-yeal Lee^{1,†}, Youngjae Cho^{1,†}, Bokyoung Park¹, Kiju Kim¹, Na-rae Lee²,
Dong-gun Kim², Young-hee Kim², Tae-Wook Hahn^{1,*}

¹College of Veterinary Medicine and Institute of Veterinary Science, Kangwon National University, Chunchon 200-701, Korea
²Cheil Bio Co. Ltd., Ansan 425-852, Korea

(Received: July 29, 2014; Revised: November 4, 2014; Accepted: December 12, 2014)

Abstract : Ginseng has been widely used in Korea as a natural medicine due to its saponin contents. Although the total amount of ginseng stem and leaf saponins (GSLs) is 4-5 times higher than that of saponin in the root, the root is mainly used. This is due to two reasons: nervous system-stimulant activity of GSLs and pesticide residues in GSLs. In this study, residual agricultural pesticides were removed from GSLs using two types of bacterial treatments. Two GSLs treatment groups of chickens (GSLs-1 and GSLs-2) were established. The chickens were fed 0.4% GSLs-1 or GSLs-2 mixed with crop. We then evaluated the effects of GSLs on bodyweight and several immune parameters. At the end of the experiments, chickens fed GSLs-1 and red ginseng saponin had significantly higher growth rates (16.6% and 8.0%, respectively) compared to the vaccine control group treated with Noblis Salenvac-T. The group fed GSLs-1 also had the highest IgG titer that was significantly different at the end of experiments compared to the other groups. These findings imply that GSLs-1 is a good candidate feed additive for the chicken industry.

Keywords : leaf, ginseng, ginsenoside, saponin, stem

서 론

인삼(*Panax ginseng* C.A. Meyer)은 지상부인 꽃(열매), 줄기와 지하부인 뿌리(주근, 세근) 형태로 구성되어 있으며, 그중 인삼 지하부가 동양권에서 오랫동안 약용으로 사용되고 있다 [26]. 인삼 약용작용의 주요 구성 성분인 사포닌은 진세노사이드(ginsenoside)라 불리며, 인삼(ginseng)에서 분리된 배당체(glycoside)란 뜻을 지닌다. 인삼의 진세노사이드는 protopanaxatriol(PPT; Rg1, Re, Rf, Rh1, Rg2)계의 진세노사이드와 protopanaxadiol(PPD; Rb1, Rc, Rb2, Rb3, Rd, Rg3, Rh2, Compound-K)계의 진세노사이드로 구성되어 있다 [3, 5]. 현재까지 밝혀진 인삼 진세노사이드의 약리효과는 면역기능 조절작용 [36], 중추신경계 흥분 진정작용 [4, 29], 혈압조절 작용 [21], 항산화 작용 [16] 및 항균작용 [11]의

효과가 있는 것으로 알려졌다. 최근에는 진세노사이드를 이용한 항혈전 치료 및 항암효과 증진 등의 치료 목적으로도 연구가 진행되고 있다 [17, 20].

Choi 등 [5]에 따르면 인삼 지상부는 인삼에서 25~35% 정도의 비중을 차지하지만, 오히려 인삼 지하부보다 인삼 잎은 약 4~5배, 줄기는 약 9배 많은 진세노사이드를 함유한 것으로 밝혀졌다. 이처럼 인삼 지하부보다 높은 인삼 지상부의 진세노사이드 함량과 그에 따른 약리효과들이 밝혀짐에 따라 인삼 지상부의 재활용에 관한 연구가 재조명받고 있다 [7, 18, 19]. 그뿐만 아니라, 인삼 지하부가 세대기간(4~6년)이 길고 자체 단가가 매우 높다는 단점을 가진 반면, 인삼 지상부는 매년 수확이 가능하며, 현재까지 인삼 부산물로 취급되기 때문에 단가가 상당히 저렴하다는 장점을 지닌다 [22]. 하지만 인삼 지상부가 높은 사포닌 함유량을 지닌 좋

*Corresponding author

Tel: +82-33-250-8671, Fax: +82-33-256-5925

E-mail: twhahn@kangwon.ac.kr

[†]The first three authors contributed equally to this work.

은 재료임에도 불구하고 다음과 같은 이유로 활용되지 못하고 폐기 처분되고 있다; (1) 인삼 지상부는 인삼 지하부보다 중추신경계에 흥분작용을 유도하는 PPT계 진세노사이드가 상대적으로 높고, (2) 4~6년의 재배 기간 동안 농약에 직접 노출되기 때문에 잔류 농약의 검출률이 매우 높다. 하지만 최근에는 미생물 공법을 이용한 인삼 지상부의 잔류 농약을 줄이는 기술이 발달함 [1, 13, 15, 27]에 따라 약용효과를 지닌 인삼 지상부의 활용에 대한 연구가 활발히 진행되고 있다 [9, 23].

양계 전염성 질병을 유발하는 대표적인 병원체인 *Salmonella* 는 주로 오염된 물이나 사료를 통해 닭을 감염시키며, 닭에서 설사 및 패혈증 등의 질병을 일으킨다 [6]. 그중 *Salmonella* Typhimurium은 사람에게 가장 빈번히 감염을 일으키는 혈청형으로서 살모넬라에 오염된 닭고기를 통해 사람에게 위장관 계통의 질병을 일으킨다 [28]. 국내에서는 닭 살모넬라증을 예방하고자 백신이나 항생제를 사용하였는데, 2011년 하반기부터 항생제 내성관리를 위하여 사료 내 항생제 첨가가 전면 금지됨으로써 가금류의 질병 예방에 대한 해결책이 시급하다 [25]. 현재까지 진행된 연구에서는 진세노사이드의 약리작용을 이용한 닭의 면역력 향상 및 백신 효능 보조제에 대한 연구가 활발히 진행되고 있다 [14, 31, 35]. 이 경우, 대부분 음수 급여의 형태로 평가하였으나 이 방법은 인삼 지상부에서 한 번 더 사포닌의 형태로 추출해야 하는 단점을 가지고 있다.

따라서 본 연구에서는, 약리효과를 지닌 인삼 지상부를 양계 사료 첨가제로 재활용하여 면역 증강제로 사용 가능 여부를 평가하였으며, 인삼 지상부로부터 사포닌 추출과정을 없이 사료 첨가제 형태로 급여하여 비용을 절감하고자 하였다.

재료 및 방법

실험동물

실험동물은 2주령 특정 병원체 부재(specific pathogen free [SPF]) 산란계 40수(남덕 SPF, Korea)를 구매하여 실험을 수행하였다. 동물실험은 강원대학교 동물실험윤리위원회의 승인(승인번호: KW-130902-1) 후 실시하였으며, 강원대학교 동물실험윤리지침을 준수하였다.

인삼 지상부의 전처리

본 실험을 위해서 한국 금산 음지리 인삼농장에서 재배한 인삼을 사용하였다. 인삼 지상부를 실온에서 2~3일간 건조한 후 MI-30G 분쇄기(동양매직, 한국)를 이용하여 인삼 지상부의 입자 크기를 5 mm 이하로 파쇄하였다.

발효 균주 및 PPD계 진세노사이드 전환 균주 선정

발효 균주 선정

한국 금산 음지리 인삼농장에서 토양 시료를 채취한 후 주요 잔류 농약 성분인 pyraclostrobin, trifloxystrobin에 내성을 갖는 균주를 API kit(BioMerieux, France)를 사용하여,

Table 1. Decomposition of pesticide by *Brevibacillus laterosporus* WR

Residual pesticides	WR treatment (mg/kg)	
	Before	After
Boscalis	14.8	2.15
Cyazofamie	1.27	0
Pyraclostrobin	7.88	1.13
Trifloxystrobin	0.64	0

WR: *Brevibacillus laterosporus* WR.

Table 2. Transformation of ginsenoside by *Lactobacillus plantarum* WL

Type	Ginsenoside	WL treatment (mg/g)	
		Before	After
PPT	Rg1	11.4	10.1
	Re	20.6	15.0
	Rf	1.5	0.2
	Rh1	1.9	1.5
	Rg2	5.2	3.1
PPD	Rb1	5.0	3.0
	Rc	2.3	0.3
	Rb2	4.1	0.5
	Rb3	1.4	3.3
	Rd	2.3	7.8
	Rg3	2.3	1.2
	Rh2	0.9	3.7
	Compound-K	0.8	2.5
Total ginsenoside		59.8	52.1
PPT/PPD ratio		2.1	1.3

WL: *Lactobacillus plantarum* WL, PPT: protopanaxatriol, PPD: protopanaxadiol.

*Brevibacillus laterosporus*균으로 동정하였으며, 이를 WR 균주라 명명하였다. WR 균주의 인삼 지상부 잔류 농약 분해능을 확인하기 위하여, 농약이 남아 있는 인삼 지상부와 WR 균주를 함께 tryptic soy broth(TSB; BD Diagnostic Systems, USA) 배지에 접종하여 30°C에서 배양하였고, (주)한국 SGS에 의뢰하여 잔류 농약 함량을 측정하였다(Table 1).

PPD계 진세노사이드 전환 균주 선정

한국 금산 음지리 인삼농장에서 토양 시료를 얻어 토양 균주를 분리하였고, 인삼 지상부를 TSB배지와 함께 37°C에서 배양하였다. PPT계와 PPD계 진세노사이드의 분포를 비교하기 위하여 thin layer chromatography 기법을 수행하였으며, 토양 분리 균주 중에서 PPD계 밴드가 진해지는 균을 선정하였다. 선정한 균은 API kit을 사용하여 *Lactobacillus plantarum*균으로 동정하였고, WL 균주로 명명하였다(Table 2).

인삼 지상부의 제조

Ginseng leaf and stem saponin(GSLs)-1의 제조

WR 균주를 TSB배지에 접종한 후 30°C에서 24시간 동안 전 배양하였다. WR 배양액을 인삼 지상부 10%와 함께 TSB배지에 첨가하여 30°C에서 2일간 배양하였다. 그 다음 배양액을 100°C에서 30분 동안 열처리하여 WR 균주를 불활화시켰다. 상기 제조된 인삼 지상부(10%)와 사료 혼합제인 배아박(90%; 신동방, 한국)을 혼합한 배양액을 60°C에서 진공 건조 후 분쇄하여 GSLs-1 사료 첨가제로 사용하였다.

GSLs-2의 제조

GSLs-2의 발효과정은 GSLs-1의 진세노사이드 중 일부 PPT계 사포닌 성분을 PPD계로 변환하기 위하여 진행하였다 [13]. 먼저 WL 균주를 TSB배지에 접종한 후 37°C에서 24시간 동안 전 배양하였다. 그 뒤 WL 배양액을 GSLs-1와 함께 TSB배지에 첨가하여 37°C에서 2일간 배양하였고, WL 균을 불활화 시키기 위하여 100°C에서 30분 동안 열처리 하였다. 상기 제조된 인삼 지상부(10%)와 사료 혼합제인 배아박(90%)을 혼합한 배양액을 60°C에서 진공 건조 후 분쇄하여 GSLs-2 사료 첨가제로 사용하였다.

홍삼의 처리

인삼을 증숙하여 건조나 가공 처리한 것을 홍삼이라 하며, 본 실험을 위해서 시중에 판매되는 홍삼 분말(동진제약, 한국)을 인삼 지상부(GSLs-1, GSLs-2)의 사료 첨가제 대조군으로 사용하였다. Red ginseng saponin(RGS)은 홍삼 분말(10%)과 배아박(90%)을 혼합한 후, 60°C에서 진공 건조하여 사료 첨가제로 사용하였다.

실험군 및 실험방법 설계

실험군으로는 GSLs-1, GSLs-2, RGS 급여군과 일반사료를 급여한 백신대조(VC)군, 음성대조(NC)군을 두었다. 2주령 SPF 닭을 군별로 8수씩 분배하였으며, 실험군별로 일반사료에 GSLs-1, GSLs-2, RGS를 각각 0.4%의 함량으로 첨가한 사료를 급여하였고, VC군과 NC군은 사료 첨가제가 포함되지 않은 일반사료를 급여하였다(Table 3). 급여 기간 동안 주기적으로 군별 체중을 측정하여 체중 변화를 비교하였다.

백신 접종

각각의 실험군(GSLs-1, GSLs-2, RGS)과 VC군에 사용된 살모넬라 예방백신은 Nobilis Salenvac-T(MSD Animal Health, USA)이며, 군별로 3주령 SPF 닭에 0.5 mL/dose씩 근육으로 접종하였고, NC군은 phosphate buffered saline (PBS)만 근육 접종하였다.

채혈

3주령부터 5주령까지 매주 닭의 경정맥에서 채혈하였고

Table 3. A dietary treatment and vaccination scheme of GSLs-1, GSLs-2 and RGS groups

Group name	Number	Treatment in feed (0.4 %)	Vaccine* (IM)
GSLs-1	8	GSLs-1 (WR)	0.5 mL/dose
GSLs-2	8	GSLs-2 (WR+WL)	0.5 mL/dose
RGS	8	RGS	0.5 mL/dose
VC	8	-	0.5 mL/dose
NC	8	-	PBS

GSLs: ginseng leaf and stem saponin, RGS: red ginseng saponin, VC: vaccine control, NC: negative control. *Nobilis Salenvac-T (MSD Animal Health, USA).

[35], 혈액 샘플은 6,010 × g으로 4°C에서 10분 동안 원심분리한 후 혈청을 분리하여 20°C에 보관하였다.

Enzyme-linked immunosorbent assay(ELISA)를 이용한 닭 immunoglobulin G(IgG) 항체가 측정

IgG를 측정하기 위하여 indirect ELISA를 실시하였으며, 항원은 *Salmonella* Typhimurium 21(ST 21; IVKB21)에서 Barenkamp 등 [2]의 방법으로 outer membrane protein (OMP)을 추출, 정제한 단백질을 1 µg/well 농도로 0.05 M sodium bicarbonate buffer(pH 9.6)로 희석하여 사용하였다. MaxiSorp 96-well plate(Nunc, Denmark)에 OMP 항원을 100 µL/well씩 분주한 후 4°C에서 10~14시간 동안 항원 코팅하였다. 0.05% PBS-T(Tween20/PBS)로 plate를 3회 세척하여, 2% bovine serum albumin(BSA)/PBS-T로 2시간 동안 blocking하였다. Plate의 well을 0.05% PBS-T로 3회 세척 후 1% BSA/PBS-T로 100배 희석한 닭 혈청(1차 혈청)을 100 µL/well씩 첨가한 뒤 4,096배까지 2진 희석하였고, 37°C에서 1시간 반응시켰다. PBS-T로 3회 세척 후 1% BSA/PBS-T로 1:15,000배 희석한 2차 항체(goat anti-chicken; Bethyl Laboratories, USA)를 분주하여 37°C에서 1시간 동안 반응시켰다. PBS-T로 3회 세척 후 3,3',5,5'-Tetramethylbenzidine(TMB; SurModics, USA)를 100 µL씩 첨가 후 3분간 암반응하였다. 2N 황산(H₂SO₄)을 100 µL/well씩 첨가한 후 450 nm에서 ELISA microplate reader (Bio-Rad Laboratories, USA)로 흡광도를 측정하였고 [16], ELISA의 기준 값(cut-off)은 NC군 혈청의 평균 흡광도 값 + 3 × 표준편차를 기준으로 하였다 [30].

Interferon-γ(IFN-γ) 및 interleukin-2(IL-2)의 측정

각 군별 대표적인 세포 매개성 면역작용을 하는 혈청 내 IFN-γ, IL-2를 비교, 분석하기 위하여 Chicken IFN-γ ELISA kit와 Chicken IL-2 ELISA kit(CUSABIO, China)를 사용하였고, 회사에서 제공하는 실험방법대로 진행하였다.

IFN-γ 측정

Microplate에 닭 혈청을 분주한 후 HRP-conjugate를 10

$\mu\text{L/well}$ 씩 첨가한 뒤 37°C 에서 30분 동안 반응시켰다. Wash buffer로 5회 세척한 뒤, TMB $90 \mu\text{L/well}$ 씩 첨가 후 37°C 에서 20분 동안 암반응하였다. Stop solution을 분주한 후 450 nm 에서 ELISA microplate reader로 흡광도를 측정하였다.

IL-2 측정

Microplate에 닭 혈청을 분주한 후 37°C 에서 2시간 동안 반응시켰고, Biotin-antibody를 $100 \mu\text{L/well}$ 에 첨가하여, 37°C 에서 1시간 동안 반응시켰다. Wash buffer로 5회 세척한 뒤 TMB와 반응시키고, Stop solution을 첨가하여 450 nm 에서 흡광도를 측정하였다.

통계처리

모든 결과 값은 평균 \pm 표준편차로 나타내었고, 통계학적 유의성을 평가하기 위하여 GraphPad Prism(ver. 5.0; Graph Pad Software, USA)을 사용하였고, 체중 값의 경우 one-way analysis of variance의 Dunnett's multiple comparison test로 분석하였다. ELISA 결과 유의성 평가는 two-way ANOVA를 사용하였으며, 사후검정은 Bonferroni post-test를 실시하였고, p 값은 0.05 미만을 유의한 것으로 간주하였다.

결 과

GSLs-1, GSLs-2 및 RGS 사료 첨가제 급여 후 체중 변화

최종 함량이 0.4%가 되도록 GSLs-1, GSLs-2, RGS를 첨가한 사료 급여 후, 각 군의 평균체중을 일반사료만을 급여한 VC군과 비교하였다(Table 4). 입식 후, 각 군의 체중이 거의 동일하였으나 사료 첨가제 급여 2주 후(4주령)에 VC군과 비교 시 GSLs-1군과 RGS군의 체중이 각각 16.6%와 8.0%로 증가함을 확인하였고, 급여 4주 후엔 16.2%와 11.9%로 유의적인 체중 증가를 확인할 수 있었다(GSLs-1, $p < 0.001$; RGS, $p < 0.05$). GSLs-2의 경우는 VC군과 비교하였을 때, 6주령에서 7.8%로 유의적인 차이는 없으나 미비한 체중 증가 효과를 확인하였다. 특히 이러한 추이는 사육 초기에 더 두드러지게 나타났다. 따라서 실험군이 대조군보

다 체중 증가에 유의적인 효능이 있다고 본다.

GSLs-1, GSLs-2 및 RGS 사료 첨가제 급여 후 IgG 항체가, IFN- γ 및 IL-2 level 평가

각각의 사료 첨가제 급여 후 닭의 체액성 면역요도에 미치는 영향을 평가하기 위하여 indirect ELISA기법으로 IgG 항체를 측정하였다. 먼저, 백신 접종 전(3주령) 실험군별 닭에서 얻은 혈청에서 IgG 항체(Fig. 1A)를 비교하였을 때, GSLs-1 및 GSLs-2 사료 첨가제를 급여한 실험군의 IgG 항체(log₂)는 9.2 ± 0.9 와 9.2 ± 1.5 이며, 일반사료를 급여한 VC군(8.3 ± 1.2)보다 항체가 11% 증가하였고, RGS의 IgG 항체(9.0 ± 1.2)는 8% 증가하는 추이를 확인하였다. 즉, 백신 접종 전에 GSLs-1, GSLs-2 및 RGS 사료 첨가제 급여가 일반사료만 급여한 VC군보다 증가한 IgG 항체를 확인함으로써, 닭의 체액성 면역력 향상에 영향을 미치는 것을 확인할 수 있었다.

살모넬라 백신접종 2주(5주령) 후 GSLs-1, GSLs-2, RGS 및 VC군의 IgG 항체(log₂)는 12.6 ± 0.9 , 11.9 ± 1.1 , 11.9 ± 0.8 , 11.8 ± 0.9 로 NC군(7.6 ± 0.9)보다 각각 항체가 66%, 57%, 57%, 55% 증가함으로써 완벽하게 면역이 되었음을 확인하였다. 각각의 사료 첨가제를 급여한 실험군과 일반사료를 급여한 VC군의 항체를 비교하였을 때 GSLs-1군이 VC군보다 11% 높은 유의적 증가를 확인하였다($p < 0.001$). 또한, PPD계 진세노사이드로 전환된 GSLs-2군과 비교하였을 때는 오히려 PPT계 진세노사이드 함량이 높은 GSLs-1군이 항체가 9% 증가했음을 확인하였고($p < 0.05$), GSLs-1군과 GSLs-2의 대조군인 RGS군의 항체가보다 9%의 유의적 증가를 확인하였다($p < 0.05$).

각각의 사료 첨가제 급여 후 닭의 세포매개면역의 대표 사이토카인인 IFN- γ 와 IL-2를 평가하였다. IFN- γ 의 생성물은 군별 간의 유의적인 차이를 보이지 않았으며(Fig. 1B), IL-2의 생성물 또한 백신 기간별 및 군별로 비교 시 유의적인 차이나 추세를 볼 수 없었다(Fig. 1C). 즉, 사료 첨가제 중 GSLs-1군이 GSLs-2군, RGS군 및 VC군보다 유의적으로 체액성 면역이 증가하였다. 하지만 모든 실험군은 닭의 세포매개성 면역에는 큰 영향을 주지 않음을 확인하였다.

Table 4. Effect of oral administration of GSLs and RGS on the bodyweight mean \pm SD of chickens

Week of age	Group bodyweight \pm SD (%), Constant bodyweight percent when compared to the vaccine control)				
	GSLs-1	GSLs-2	RGS	VC	NC
2	120 \pm 8.1 (100.8)	120 \pm 14.6 (100.8)	120 \pm 11.8 (100.8)	119 \pm 6.7 (100)	119 \pm 4.1 (100)
3	253 \pm 22.5 (113.9)	224 \pm 26.3 (100.9)	234 \pm 29.6 (105.6)	222 \pm 33.1 (100)	222 \pm 37.7 (100.1)
4	355 \pm 30.8 ^{*§} (116.6)	306 \pm 43.7 (100.3)	329 \pm 42.5 (108.0)	305 \pm 42.5 (100)	307 \pm 41.5 (100.7)
5	404 \pm 30.7 (113.0)	371 \pm 52.3 (103.9)	383 \pm 48.4 (107.3)	357 \pm 49.7 (100)	370 \pm 40.6 (103.5)
6	577 \pm 34.1 [‡] (116.2)	535 \pm 67.5 (107.8)	556 \pm 52.4 [†] (111.9)	497 \pm 67.3 (100)	519 \pm 43.8 (104.5)

*[†] or [‡] is statistically different at $p < 0.05$, $p < 0.01$ or $p < 0.001$ when compared to VC. [§] is statistically different at $p < 0.05$. Data analysis was performed with Prism software (ver. 5.0; GraphPad Prism, USA).

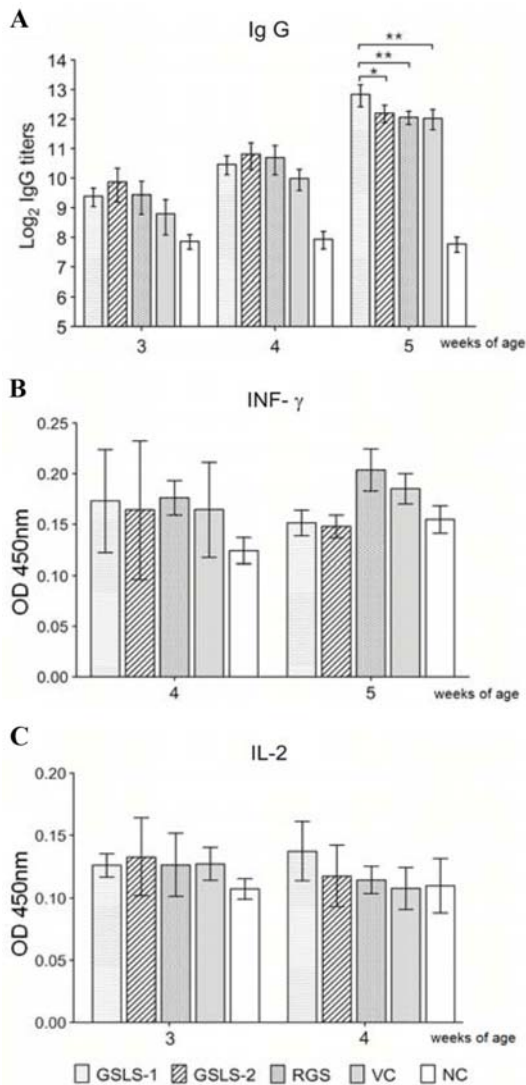


Fig 1. (A) IgG titers in Chickens. Figure with “***” is statistically different at $p < 0.01$ when compared to the VC and RGS. Figure with “*” is statistically different at $p < 0.05$. Data analysis was performed with GraphPad Prism 5. (B) ELISA analysis of IFN- γ in chickens. (C) ELISA analysis of IL-2 in chickens. OD: optical density, IFN- γ : interferon gamma, IL-2: interleukin-2.

고찰

인삼 약리 효능의 주요 성분인 진세노사이드를 활용한 면역유도 보조제에 대한 연구는 현재까지도 활발하게 진행되고 있다 [10, 12, 24, 34]. 본 연구에서는 많은 함량의 진세노사이드로 구성된 인삼 지상부를 양계 사료 첨가제로 활용함으로써 닭의 면역력 증강 효과 또는 양계 백신의 보조 면역유도제로 사용 여부를 평가하였다.

GSLS-1, GSLS-1 및 RGS를 각각 첨가한 사료를 닭에 급여한 후 일반사료만 급여한 대조군(VC, NC)과의 체중증가율을 비교하였을 때, 6주령 닭에서 GSLS-1과 RGS군이

VC군보다 16.2% 및 11.9%로 유의적인 체중 증가를 확인하였다(GSLS-1; $p < 0.001$, RGS; $p < 0.01$). 하지만 실험군(GSLS-1, GSLS-2 및 RGS) 간에는 유의적인 차이를 볼 수 없었다. Zhai 등 [35]에 따르면, 0주령 병아리에 비가공 추출 형태의 인삼 지상부 5 mg/kg(bodyweight)을 음수 급여하였을 때 2~5주령 실험군의 체중이 증가 추세를 보였다. 그뿐만 아니라 0~1주령 병아리 때부터 급여하였을 때 5~8주령 닭 체중이 유의적으로 증가함을 확인하였다 [14, 31]. 이외에도 다른 동물에서 같은 추이를 확인하였는데, 인삼 지상부 혼합 추출물을 급여한 랫드의 체중이 증가함을 확인함으로써 [8] 인삼 지상부 급여가 실험군 체중 증가와 관련이 있는 것으로 여겨진다.

각 첨가제를 넣은 사료 및 일반사료 급여 후 닭의 면역효능을 평가하였을 때 결과를 차례대로 고찰해보면, 먼저 체액성 면역의 대표 면역글로불린인 IgG 항체가 GSLS-1군이 VC군보다 유의적으로 증가함을 확인하였고, GSLS-2군, RGS군과도 유의적인 차이를 확인하였다(Fig. 1A). 반면, GSLS-2와 RGS군은 VC군과 IgG 항체량의 차이가 없었다. PPT계열에서 PPD계열 진세노사이드로 전환된 GSLS-2는 IgG 항체가 증가할 것으로 예상하였으나, 오히려 큰 차이를 보이지 않았다.

Sun 등 [33]에 따르면, BALB/c 마우스에서 진세노사이드를 성분별로 주사한 후 IgG isotype(IgG, IgG1 및 IgG2a) 별로 유도 항체량을 분석하였을 때 PPT계열은 Rg1 > Re > Rg2, PPD계열은 Rg3 > Rb1 > Rd > Rb2 > Rc 순으로 IgG isotype 증가를 확인할 수 있었다. 본 실험 결과와 비교하였을 때 PPT계열이 PPD계열로 전환하면서, 오히려 PPT계열에서 Rg1, Re 및 Rg2 비율과 PPD계열의 Rd를 제외한 Rg3, Rb1, Rb2 및 Rc의 비율이 WL 처리하지 않은 군보다 감소하였다. 즉, 면역형성에 주요 진세노사이드가 감소함으로써 GSLS-2의 면역유도 효능도 저하된 것으로 생각한다(Table 2).

각각의 GSLS-1, GSLS-2 및 RGS 사료 첨가 후 세포매개면역 증가를 보조 유도하는지를 조사하기 위해 대표적 사이토카인인 IFN- γ 와 IL-2의 생성 평가를 하였고, 각 군간 유의적인 차이가 나타나지 않음을 확인하였다(Fig. 1B and C). Son 등 [32], Zhang 등 [36]의 결과에서는 BALB/c mouse 비장에서 분리한 splenocyte로부터 Th1 및 Th2 cytokine 생성이 모두 증가함으로써 진세노사이드만으로도 면역효능이 입증되었으나, 본 실험과 비교하였을 때 혈청에서 얻은 사이토카인은 크게 유의적인 차이를 볼 수 없었다. 이는 Son 등 [32]과 Zhang 등 [36]의 연구와 다른 인삼 지상부 공정 과정(미생물 발효 공정)으로 인하여 진세노사이드가 세포 매개면역 관련 사이토카인 증가에 영향을 미치지 못했을 것이라 예상된다.

이외에도, 닭에서 추출형태의 인삼 지상부(Rg1)를 음수 급여한 군과 대조군을 비교하였을 때 바이러스에 대한 중화항체 증가 및 IgA+ 세포와 장 상피 내 림프구가 현저하게 증가한 보고도 있다 [35]. 그뿐만 아니라, Ross종 닭에서 세포

내 기생 세균에 대한 방어효능을 평가하기 위하여 사포닌으로 구성된 산삼 배양액을 농도별 음수 급여 후 *S. Gallinarum*을 공격 접종하였을 때 실험군 닭의 폐사율이 6.7% 감소함을 확인하였다 [31]. 즉, 인삼 구성성분인 사포닌이 닭, 랫드 그리고 마우스에도 전반적인 면역보조 효과가 있음을 확인할 수 있었다.

본 연구의 실험결과를 종합해 볼 때, 각각의 사료 첨가제 급여 후 닭의 체중 평가와 체액성 면역 평가 모두 GSLS-1 군이 다른 실험군 및 대조군과 비교 시 유의적으로 효과가 있었음을 확인하였다. 따라서 GSLS-1을 사료 첨가제로 닭에 급여하면 자체 면역능력 향상 및 양계 백신의 보조제 역할로서의 활용이 가능할 것으로 본다.

감사의 글

본 연구는 경기도 산업혁신클러스터 사업 과제의 연구비로 수행한 연구 결과의 일부로 연구비 지원에 감사 드립니다. 본 연구는 (주)제일바이오와 강원대학교 동물의학종합연구소의 기술지원에 의해 이루어졌습니다.

References

1. **Arya R, Sharma AK.** Screening, isolation and characterization of *Brevibacillus borstelensis* for the bioremediation of carbendazim. *J Environ Sci Sustainability* 2014, **2**, 12-14.
2. **Barenkamp SJ, Munson RS Jr, Granoff DM.** Subtyping isolates of *Haemophilus influenzae* type b by outer-membrane protein profiles. *J Infect Dis* 1981, **143**, 668-676.
3. **Brekhman II, Dardymov IV.** New substances of plant origin which increase nonspecific resistance. *Annu Rev Pharmacol* 1969, **9**, 419-430.
4. **Benishin CG.** Actions of ginsenoside Rb1 on choline uptake in central cholinergic nerve endings. *Neurochem Int* 1992, **21**, 1-5.
5. **Choi JE, Li X, Han YH, Lee KT.** Changes of saponin contents of leaves, stems and flower-buds of *Panax ginseng* C. A. Meyer by harvesting days. *Korean J Medicinal Crop Sci* 2009, **17**, 251-256.
6. **de Jong HK, Parry CM, van der Poll T, Wiersinga WJ.** Host-pathogen interaction in invasive Salmonellosis. *PLoS Pathog* 2012, **8**, e1002933.
7. **Han JH, Park SJ, Ahn CN, Wee JJ, Kim KY, Park SH.** Nutritional composition, ginsenoside content and fundamental safety evaluation with leaf and stem extract of *Panax ginseng*. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 2004, **33**, 778-784.
8. **Han JH, Sihm EH, Park SH.** A study on the growth rate, nutritional effects and serum lipid contents of rats by feeding with leaf and stem extract of the ginseng radix. *J East Asian Soc Diet Life* 2004, **14**, 407-417.
9. **Hong SH, Yoo NH, Yoo JH, Lee KH, Kim BR, Lee HJ, Kim JM, Seong NS, Pyo MK.** Inhibitory effect of elastase and tyrosinase of ginsenoside F₁ isolated from *Panax ginseng* leaves. *Korean J Pharmacogn*. 2013, **44**, 10-15.
10. **Joo I, Kim H, Kim J, Shehzad O, Kim YS, Han Y.** Effects of ginsenosides Rd and Rg1 on proliferation of B cells and antibody induction. *Yakhakhoe Chi* 2013, **57**, 1-7.
11. **Jun HK, Kim SH.** Studies of the physiological activity of Korean ginseng (part 3). The effects of ginseng saponin on the antimicrobial activity and drug-resistance of antibiotics in bacteria. *Korean J Microbiol Biotechnol* 1982, **10**, 171-175.
12. **Kang S, Min H.** Ginseng, the 'immunity boost': the effects of *Panax ginseng* on immune system. *J Ginseng Res* 2012, **36**, 354-368.
13. **Kim AR, Lee MS.** Screening of antimicrobial activity compounds from Korea ginseng fine root. *J Life Sci* 2011, **21**, 1244-1250.
14. **Kim BK, Hwang IE, Kang SS, Shin SH, Woo SC, Kim YJ, Hwang YH.** Effects of dietary *Panax ginseng*, *Dioscorea japonica* and oriental medicine refuse on productivity of the Korean native chicken. *J Anim Sci Technol* 2002, **44**, 297-304.
15. **Kim HG, Kim KY, Cha CJ.** Screening for ginseng-fermenting microorganisms capable of biotransforming ginsenosides. *Korean J Microbiol* 2007, **43**, 142-146.
16. **Kim JS, Moon GS, Kim HO, Lee YS.** Antioxidant properties of ginseng (*P. ginseng* C.A. Meyer) extracts by organic solvent fractionation. *J Food Sci Nutr* 2007, **12**, 267-272.
17. **Kim KH, Choi I, Lee YW, Cho CK, Yoo HS, Lee SB, Choi SH, Kwon KR, Jang JH.** Target genes involved in antiproliferative effect of modified ginseng extracts in lung cancer A549 cells. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai)* 2014, **46**, 441-449.
18. **Kim KH, Kim DM, Byun MW, Yun YS, Yook HS.** Antioxidant activity of *Panax ginseng* flower-buds fermented with various microorganisms. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 2013, **42**, 663-669.
19. **Kim SJ, Kim JD, KO SK.** The change of ginsenoside composition in ginseng leaf and stem extract by the microwave and vinegar process. *Korean J Pharmacogn* 2013, **44**, 149-153.
20. **Lee DH, Cho HJ, Kang HY, Rhee MH, Park HJ.** Total saponin from Korean red ginseng inhibits thromboxane A2 production associated microsomal enzyme activity in platelets. *J Ginseng Res* 2012, **36**, 40-46.
21. **Lee HM, Rhee MH.** Current review on the regulation of blood pressure. *Korean Ginseng Res Ind* 2007, **1**, 5-7.
22. **Lee HS, Lee HJ, Cho HJ, Park SS, Kim JM, Suh HJ.** Cosmetic potential of enzymatic treated ginseng leaf. *J Ginseng Res* 2010, **34**, 227-236.
23. **Lee KS, Seong BJ, Kim GH, Kim SI, Han SH, Kim HH, Baik ND.** Ginsenoside, phenolic acid composition and physiological significances of fermented ginseng leaf. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 2010, **39**, 1194-1200.
24. **Lee YT, Kim KH, Ko EJ, Lee YN, Kim MC, Kwon YM, Tang Y, Cho MK, Lee YJ, Kang SM.** New vaccines against influenza virus. *Clin Exp Vaccine Res* 2014, **3**, 12-28.
25. **Lim SK, Nam HM, Moon DC, Jang GC, Jung GC; Korean Veterinary Antimicrobial Resistance Monitoring group.** Antimicrobial resistance of *Escherichia coli* isolated from healthy animals during 2010-2012. *Korean J Vet Res* 2014, **54**, 131-137.
26. **Nam KY.** Clinical applications and efficacy of Korean ginseng (*Panax ginseng* C.A.Meyer). *J Ginseng Res* 2002, **26**, 111-131.

27. **Nawaz K, Hussain K, Choudary N, Majeed A, Ilyas U, Ghani A, Lin F, Ali K, Afghan S, Raza G, Lashari MI.** Eco-friendly role of biodegradation against agricultural pesticides hazards. *Afr J Microbiol Res* 2011, **5**, 177-183.
28. **Piao HH, Tam VTM, Na HS, Kim HJ, Ryu PY, Kim SY, Rhee JH, Choy HE, Kim SW, Hong Y.** Immunological responses induced by *asd* and *wzy/asd* mutant strains of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium in BALB/c mice. *J Microbiol* 2010, **48**, 486-495.
29. **Ryu JH.** Effects of ginseng and its constituents on the central nervous system. In: *Reviews in Ginseng Research*. pp. 91-103, The Korean Society of Ginseng, Seoul, 2007.
30. **Schneid ADS, Rodrigues KL, Chemello D, Tondo EC, Ayub MAZ, Aleixo JAG.** Evaluation of an indirect ELISA for the detection of *Salmonella* in chicken meat. *Braz J Microbiol* 2006, **37**, 350-355.
31. **Seol JW, Park JH, Chae JS, Kang HS, Ryu KS, Kang CS, Park SY.** Effect of tissue culture medium waste after harvest of Korean wild ginseng on growth performance and diseases resistance in broiler chickens. *Korean J Vet Res* 2010, **50**, 85-91.
32. **Song X, Bao S, Wu L, Hu S.** Ginseng stem-leaf saponins (GSLs) and mineral oil act synergistically to enhance the immune responses to vaccination against foot-and-mouth disease in mice. *Vaccine* 2009, **27**, 51-55.
33. **Sun J, Hu S, Song X.** Adjuvant effects of protopanaxadiol and protopanaxatriol saponins from ginseng roots on the immune responses to ovalbumin in mice. *Vaccine* 2007, **25**, 1114-1120.
34. **Yoo DG, Kim MC, Park MK, Song JM, Quan FS, Park KM, Cho YK, Kang SM.** Protective effect of Korean red ginseng extract on the infections by H1N1 and H3N2 influenza viruses in mice. *J Med Food* 2012, **15**, 855-862.
35. **Zhai L, Li Y, Wang W, Wang Y, Hu S.** Effect of oral administration of ginseng stem-and-leaf saponins (GSLs) on the immune responses to Newcastle disease vaccine in chickens. *Vaccine* 2011, **29**, 5007-5014.
36. **Zhang C, Wang Y, Wang M, Su X, Lu Y, Su F, Hu S.** Rapeseed oil and ginseng saponins work synergistically to enhance Th1 and Th2 immune responses induced by the foot-and-mouth disease vaccine. *Clin Vaccine Immunol* 2014, **21**, 1113-1119.