



유기황의 수준별 급여가 산란계의 생산성, 계란품질 및 세포성 면역능에 미치는 영향

임천익¹ · 최호성² · 강창원³ · 이병건⁴ · 류경선^{1†}

¹전북대학교 동물자원과학과, ²전북대학교 동물생명공학과,
³전북대학교 수의과대학, ⁴내추럴 이엔지

Effects of Dietary Organic Sulfur on Performance, Egg Quality and Cell-mediated Immune Response of Laying Hens

Chun Ik Lim¹, Ho Seong Choe², Changwon Kang³, Byoung Keon Lee⁴ and Kyeong Seon Ryu^{1†}

¹Department of Animal Science, Chonbuk National University, Jeonju 54896, Republic of Korea

²Department of Animal Biotechnology, Chonbuk National University, Jeonju 54896, Republic of Korea

³College of Veterinary Medicine, Chonbuk National University, Iksan 14058, Republic of Korea

⁴Natural Eng Inc., Anyang 14058, Republic of Korea

ABSTRACT This study aimed to evaluate the dietary effect of organic sulfur (OS) supplementation on performance, egg quality and serum constituents in laying hens. A total of 360 Lohmann brown laying hens at the age of 31 weeks were distributed into four treatments having five replicates of 18 hens each until 54 weeks. The hens were fed four levels (0.0, 0.1, 0.2 and 0.4%) of OS with basal diet. The number of eggs was investigated daily, and egg quality was confirmed every 8 weeks. Sulfur content in eggs, interleukin 2 (IL-2), T help cells (CD4+) and cytotoxicity cells (CD8+) were measured at the termination of the experiment. The result of the study showed that egg production tended to increase with 0.4% OS in diet after 39 weeks of age and, there was a significant effect ($P<0.05$) from 47 to 54 weeks of age. Egg quality traits of albumen height and haugh unit increased significantly ($P<0.05$) owing to the addition of OS to the diet. The polyunsaturated fatty acids in yolk were gradually increased while saturated fatty acids were decreased with increasing levels in OS ($P<0.05$). Total sulfur concentration in the eggs increased significantly ($P<0.05$) in treatments fed OS. Moreover, albumin, AST and HDL cholesterol levels in serum improved significantly ($P<0.05$) owing to the addition of OS. The IL-2 concentration and the ratio of CD4+ and CD8+ in blood were generally higher ($P<0.05$) at 0.4% OS. Therefore, it can be recommended that supplementary OS diet affected the performance, egg quality and stimulated immune response in laying hens.

(Key words: egg quality, immune response, laying hens, organic sulfur, performance)

서 론

식이유황 혹은 methyl sulfonyl methane(MSM)이라 불리는 유기황은 동식물의 대사작용을 통하여 자연적으로 생성되는 유기화합물로서 무색, 무취 및 무독성이며, 주로 신선한 과일이나 야채 및 우유 등에 존재한다. 유기황은 체내에서 관절염, 알레르기 및 염증 억제에 효과적으로 작용하며(Karabay et al., 2014), 피부 해독, 당뇨병 예방 및 근육과 연골강화에 중요한 역할을 하였다(Van der Merwe and Bloo-

mer, 2016). 가축 사료에서 유기황은 다당류, 콜라겐 및 당단백을 구성하는 물질로 축산물에서 조직력을 향상시켜 지방산패를 예방하며(Lee et al., 2009; Karen, 2017), 사료에 함유되어 있는 질소와 건물 소화율을 개선함으로써 가축의 성장을 촉진한다고 알려져 있다(Cho et al., 2005). 또한 유기황은 간에서 글루타치온을 증가시켜 건강에 유익하게 작용하며(Karabay et al., 2014), 세포 내 독성물질과 염증을 억제한다고 하였다(Notarnicola et al., 2016). 유기황을 구성하는 주요 성분은 황(S)으로 가금류에서 주로 깃털, 연골조직, 근

[†] To whom correspondence should be addressed : seon@jbnu.ac.kr

위 및 근육의 합성에 이용된다(Matin et al., 2013). 그러므로 육계에 0.2%의 식이유황을 급여하면 성장이 높아지며, 폐사율이 감소되었다고 하였으며(Shin et al., 2013), 오리에서는 유기황 0.03%의 급여로 고기에서 보수력과 불포화지방산 함량이 증대되었다고 하였다(Hwang et al., 2017). 또한 산란계 사료에 식이유황 0.1% 수준으로 급여시 계란의 점도, 난백높이 및 저장기간이 향상되었으며, 난각강도와 두께를 개선하였다(Park et al., 2010). 그러므로 산란계 사료에 유기황을 첨가 급여한다면 계란의 생산과 품질 및 면역능력이 개선될 것으로 사료되지만, 이를 수준별로 첨가 급여하여 산란계에 대한 최적 수준의 구명과 이에 따른 세포성 면역에 대한 연구는 미비하다. 또한 산란계에서 주령이 증가함에 따라 체내에 축적되는 유기황의 농도는 감소되므로(Jacob, 1983), 산란계의 산란 단계별로 유기황을 급여하는 연구가 필요하다.

그러므로 본 연구에서는 분말형태의 유기황을 31~54주령의 산란계에 수준별로 급여하여 생산성, 계란품질 및 세포성 면역능에 미치는 영향을 확인하고, 이를 극대화를 위한 유기황의 최적수준을 구명하고자 사양실험을 실시하였다.

재료 및 방법

1. 시험동물 및 설계

31주령 갈색 산란계 로만브라운 기초사료에 분말 형태의 유기황을 0%, 0.1%, 0.2% 및 0.4% 수준으로 첨가하였으며, 4개 처리구 5반복으로 반복당 18수씩(2수 수용 케이지 9개) 전체 360수를 수용하여 24주간 사양실험을 실시하였다. 기초사료는 옥수수과 대두박 위주의 가루형태로서 31~40주령에는 대사에너지 2,800 kcal/kg, 조단백질 17% 수준, 41~54주령에는 대사에너지 2,750 kcal/kg, 조단백질 16% 수준으로 급여하였다(Table 1). 산란계는 니플이 설치된 3단 케이지(가로 × 세로 × 높이 /수: 70 cm × 40 cm × 50 cm /6수)에서 사육하였고, 사료와 물은 자유 섭취하도록 하였으며, 계사 내부 온도는 18~26℃를 유지한 상태에서 점등은 16시간으로 고정하였다.

2. 조사항목 및 방법

1) 산란율, 사료섭취량, 난중, 1일 산란량 및 사료요구율

산란수와 난중은 매일 조사하였고, 사료섭취량은 8주 간격으로 총 급여량에서 잔량을 공제하여 측정하였다. 산란율

Table 1. Basal diet composition

Ingredients (%)	31~40 weeks	41~54 weeks
Corn	65.14	66.08
Soybean meal	17.93	21.13
Corn gluten meal	5.78	1.74
Limestone	9.42	9.44
Calcium phosphate	0.92	0.87
Salt	0.38	0.37
L-lysine	0.07	-
DL-methionine	0.03	0.04
Vitamin premix ¹	0.18	0.18
Mineral premix ²	0.15	0.15
Total	100	
Chemical composition		
ME (kcal/kg)	2,800	2,750
CP (%)	17	16
Lysine (%)	0.78	0.74
Methionine (%)	0.34	0.32
Calcium (%)	3.80	3.80
Avail. phosphorus (%)	0.32	0.32

¹ Contains per kg: vit. A, 5,500 IU; vit D₃ 1, 100 ICU; vit E, 11 mg; vit B₁₂, 0.0066 mg; vit K₃, 1.1 mg; riboflavin, 4.4 mg; pantothenic acid, 11 mg (calcium pantothenate: 1.96 mg); choline, 190.96 mg; folic acid, 0.55 mg; pyridoxine, 2.2 mg; biotin, 0.11 mg; thiamine, 2.2 mg; ethoxyquin, 125 mg.

² Contains per kg: Cu, 10 mg; Fe, 60 mg; I, 0.46 mg; Mn, 120 mg; Zn, 100 mg.

은 산란수를 사육수수로 나누었고, 사료요구율은 평균 사료 섭취량을 1일 산란량으로 나누어 계산하였다.

2) 난백높이, 호우유닛, 난각강도 및 두께

난백높이, 호우유닛 난각강도 및 두께는 처리구당 30개의 계란을 수집하여 8주 간격으로 조사하였다. 난백높이와 호우유닛은 계란품질측정기(QCM+; TSS, UK)를 이용하였고, 난각강도는 난각강도계(QC-SPA; TSS, UK), 난각두께는 난각막을 제거한 후 난각두께측정기(FHK, Japan)로 측정하였다.

3) 난황지방산 조성

난황지방산 조성은 산란계 42와 54주령에 처리구당 10개

의 계란을 조사하였다. 난황 0.5 g에 methanol과 benzen의 4:1 용액 및 acetyl chloride를 200 μ L씩 첨가하여 100 $^{\circ}$ C로 1 시간 동안 반응시켰다. 추가적으로 6% potassium carbonate 과 hexane을 2 mL씩 첨가하였고, 원심분리(3,000 rpm, 4 $^{\circ}$ C, 15분)하여 지방산을 함유한 hexane층을 채취하였다. 헬륨을 실험기체로 하였으며, split ratio는 30:1로 하여 GC-MSD (6890N-5973, Agilent, USA)를 이용하여 분석하였다.

4) 계란 내 황 함량

계란 내 황 함량은 사양실험 종료 후 처리구 당 4개의 계란을 임의로 채집하여 난황과 난백을 혼합하였다. 660 $^{\circ}$ C에서 2시간 동안 회화하였고, 묽은염산(HCl:H₂O = 1:1) 용액에 12시간 동안 용해하였다. 그 후 여과를 하였고, ICP 질량 분석기(Perkin-Elmer ICP-OES 2000DV, USA)를 이용하여 황함량을 분석하였다.

5) 혈청 생화학 분석

혈청성상은 42와 54주령의 산란계 10수에서 혈액을 채혈한 뒤 원심분리기(3,000 rpm, 4 $^{\circ}$ C, 15분)를 사용하여 혈청을 분리하고, 전자동 생화학 분석장비(Automatic Biochemical Analyser, Thermo Scientific, Konelab 20, Finland)를 이용하여 혈청 알부민, AST, 글루코오스, 단백질, 중성지방, 콜레스테롤 및 HDL 콜레스테롤을 분석하였다.

6) 비장 IL-2 mRNA, 혈액 내 IL-2 단백질 및 세포성 면역능 분석

비장 IL-2 mRNA는 사양실험 종료 후 처리구당 5수의 산란계에서 비장을 채취하여 실험 각각의 샘플에 Table 2와 같이 IL-2 primer를 제작하여 RT-PCR로 분석하였다. 비장에 Ribo-Ex(USA)를 첨가하여 mRNA를 분리한 후 qPCR RT kit(ReverTra Ace, Japan)를 이용하여 cDNA를 합성하였다. 각각 조직의 cDNA에 primer를 반응시켜 Real time PCR(AB applied bio system, CA, USA)를 이용하여 chicken GAPDH와 IL-2를 측정하고, 이를 계산하여 Relative Quantification (RQ)값을 계산하였다. 혈중 IL-2 단백질은 사양실험 종료 후 5수의 산란계에서 혈액을 채취하여 혈청을 분리한 후 IL-2 ELISA키트(My Bio Source, MBS2508525, USA)의 해당 프로토콜에 따라 분석하였다. 혈액 내 세포성 면역분석을 위해 처리구당 9수의 혈액에서 Ficoll 법을 이용하여 PBMC(peripheral blood mononuclear cell)를 분리하였고(Brunetti et al., 1995), 세포성 면역세포인 CD3+, CD4+ 및 CD8+를 분석하였다. CD4+는 FITC-conjugated mouse anti-

Table 2. Primer used for the quantitative real-time PCR

Cytokines		Primer sequence
IL-2	Forward	5'-GCTAATGACTACAGCTTAT GGAGCA-3'
	Reverse	5'-TGGGTCTCAGTTGGTGTGTAGAG-3'

chicken CD4+(abcom, Massachusetts, USA), CD3+는 phycoerythrin-conjugated mouse anti-chicken CD3+(abcom, Massachusetts, USA) 및 CD8+는 Cy5-conjugated mouse anti-chicken CD8+(abcom, Massachusetts, USA)를 이용하였고, 분리된 PBMC를 현탁한 후 1×10^6 cell/tube에 담아 4 $^{\circ}$ C에서 30분간 반응시켰다. 이후 분석은 유세포분석(BD Accuri C6, MI, USA)을 사용하고, 각각의 결과는 FSC/SSC에서 %로 표현하였다.

3. 통계처리

데이터는 SAS(Statistical Analysis System, 9.2 Version, Cary, NC, 2002)의 GLM(general linear model) procedure를 이용하였고, 처리구간 값을 Duncan(1955)의 다중검정방법을 통하여 0.05 수준으로 통계적 차이를 구명하였다.

결과 및 고찰

1. 산란율, 사료섭취량, 난중, 1일 산란량 및 사료요구율
유기황의 급여가 산란계의 산란율, 사료섭취량, 난중, 1일 산란량 및 사료요구율에 미치는 영향은 Table 3에 나타내었다. 산란율은 31~38주령에 유기황의 수준별 급여에 따른 차이가 없었지만, 39주령 이후 유기황의 첨가수준에 따라 증가하는 경향을 보였으며, 47~54주령의 0.4% 급여구에서 산란율은 88.85%로서 대조구의 85.72%에 비해 현저하게 높게 나타났다($P < 0.05$). 사료섭취량과 난중은 사양실험 전 기간 동안 처리구 간 통계적 차이가 없었으며, 1일 산란량과 사료요구율도 유의성은 없었다. 육계에서 유기황 0.2% 급여시 증체량과 도체율이 증가되었다고 하였지만(Shin et al., 2013; Jiao et al., 2017), 35~40주령의 산란계에 유기황을 0.1% 급여시 산란율, 난중 및 사료요구율에 미치는 영향은 없었다(Park et al., 2010). 또한 29~40주령에도 유기황 0.15% 급여로 산란율이 개선하는 경향을 보였지만 처리구 간에 유의성은 없다고 하였다(Kim et al., 2013). 이러한 보고는 본 연구의 31~38주령 산란계에서 확인된 결과와 일치하였지만, 산란율이 점차적으로 감소되는 시기에 속하는 39~54주령에서

Table 3. Effect of dietary organic sulfur on performance in laying hens

Organic sulfur (%)	Egg production (%)	Feed intake (g)	Egg weight (g)	Daily egg mass (g)	Feed conversion
31 to 38 weeks					
0	94.13	112.58	62.28	58.61	1.922
0.1	93.95	112.80	62.13	58.38	1.935
0.2	94.31	112.30	62.19	58.64	1.916
0.4	95.67	111.52	61.39	58.72	1.900
SEM	0.50	0.30	0.15	0.29	0.012
<i>P</i> -value	0.63	0.48	0.13	0.98	0.790
39 to 46 weeks					
0	90.61	112.92	63.07	57.16	1.976
0.1	90.83	114.13	63.05	57.28	1.996
0.2	91.67	112.65	63.00	57.76	1.951
0.4	93.52	113.00	62.48	58.43	1.934
SEM	0.45	0.43	0.18	0.28	0.012
<i>P</i> -value	0.08	0.67	0.66	0.38	0.300
47 to 54 weeks					
0	85.72 ^b	102.64	60.69	52.03	1.974
0.1	86.55 ^b	104.74	61.26	53.03	1.976
0.2	87.57 ^{ab}	102.90	60.98	53.42	1.928
0.4	88.85 ^a	102.28	60.63	53.88	1.900
SEM	0.41	0.51	0.21	0.33	0.012
<i>P</i> -value	0.02	0.34	0.73	0.23	0.060

^{a,b} Value with the different letters in the row are significantly different at 5% level.

는 다르게 유기황의 급여수준에 따라 비례적으로 산란율이 향상되었다. 이러한 원인은 동물의 나이가 증가함에 따라 유기황의 생산과 대사작용이 저하하므로 체내 유기황을 유지하는 것이 중요하다는 보고(Jacob, 1983)에서, 산란계의 주령이 높아짐에 따라 유기황을 급여한 처리구에서 산란율이 개선한 것으로 사료된다. 본 연구결과, 산란계에 유기황의 첨가 급여는 산란피크인 38주령까지 생산성에 미치는 영향은 없었고, 39주령부터 54주령까지 유기황의 급여수준에 따라 선형적으로 생산성이 증가하였으므로, 산란계에 유기황의 급여는 39주령 이후 0.4% 가 적정수준으로 구명되었지만 추후 이보다 높은 수준의 유기황을 급여하는 연구가 필요하다.

2. 난백높이, 호우유닛, 난각강도 및 두께

산란계 사료에 유기황의 수준별 급여가 계란의 난백높이, 호우유닛, 난각강도 및 두께에 미치는 영향은 Table 4에 나타내었다. 전체 사양실험 기간에 난백높이는 유기황 급여구에서 유의하게 증가하였으며($P<0.05$), 이에 따라 계란 신선도의 지표인 호우유닛도 유기황 급여구에서 96.93~97.23로 대조구에 비해 약 3.49 개선되었다($P<0.05$). 38주령에 난각강도는 유기황 급여구에서 4.37~4.81 kg/cm²로서 대조구의 4.12 kg/cm²에 비하여 개선되는 경향을 보였지만 일관성은 없었고, 46과 54주령에서도 처리구 간에 통계적 차이는 없었다. 또한 난각두께도 유기황 첨가 수준에 따른 차이는 확인되지 않았다. Park et al.(2010)은 산란계 사료 내 식이유황의 0.1% 급여가 난황과 난백의 점성을 향상시키므로 계란의 신선도와 저장기간을 개선한다고 하였고, Ryu(2006)도 산란

Table 4. Effect of dietary organic sulfur on egg quality in laying hens

Organic sulfur (%)	Albumen height (mm)	Haugh unit	Shell strength (kg/cm ²)	Shell thickness (mm)
38 weeks				
0	9.36 ^b	95.66 ^b	4.12	0.378
0.1	9.96 ^a	97.83 ^{ab}	4.81	0.374
0.2	10.02 ^a	98.44 ^a	4.37	0.375
0.4	10.08 ^a	98.76 ^a	4.57	0.376
SEM	0.09	0.42	0.10	0.003
<i>P</i> -value	0.02	0.03	0.08	0.960
46 weeks				
0	8.80 ^b	92.58 ^b	4.19	0.352
0.1	9.30 ^a	95.07 ^a	4.16	0.352
0.2	9.31 ^a	95.21 ^a	3.90	0.345
0.4	9.41 ^a	95.84 ^a	4.01	0.362
SEM	0.08	0.41	0.07	0.003
<i>P</i> -value	0.04	0.03	0.45	0.130
54 weeks				
0	8.76 ^b	91.55 ^b	4.02	0.336
0.1	10.09 ^a	98.79 ^a	4.34	0.351
0.2	9.79 ^a	97.14 ^a	4.31	0.353
0.4	9.73 ^a	96.74 ^a	4.22	0.343
SEM	0.12	0.61	0.10	0.003
<i>P</i> -value	<0.01	<0.01	0.64	0.170

^{a,b} Value with the different letters in the row are significantly different at 5% level.

계에 유기황 급여시 호우유닛과 난황막강도의 증가를 확인하여 본 연구결과와 일치하였다. 유황은 체내 콜라겐이나 당단백과 같은 점성다당류의 주요 구성성분으로, 난황과 난백 내 유연한 연결과 탄성을 유지시킨다고 보고되었고(Karen, 2017), 산란계에 유기황의 급여는 계란 내 점성다당류의 증가를 통한 조직력 향상에 영향을 미친 것으로 보인다. 또한 유기황 급여를 통한 조직력 향상은 지방산패를 억제하며 계란 내 미생물 침입을 낮추는 상관관계를 보였으므로(Lee et al., 2009), 산란계에 유기황의 첨가급여는 계란의 신선도와 내부품질에 긍정적 영향을 미친 것으로 사료되었다.

3. 난황지방산 조성

유기황의 급여가 계란의 난황지방산 조성에 미치는 영향

은 Table 5에 나타내었다. 계란의 난황지방산은 oleic acid (C18:1 n-9), palmitic acid(C16:0), linoleic acid(C18:2 n-6) 및 stearic acid(C18:0) 순으로 함량이 감소하는 경향이였다. 42주령 산란계의 계란에서 linoleic acid(C18:2 n-6)는 0.4% 급여구(15.04%)에서 대조구(10.92%)와 비교하여 현저하게 증가하였고($P<0.05$), 이에 따라 다중불포화지방산(PUFA) 함량도 0.4% 급여구에서 17.84%로 대조구인 13.91%보다 유의적으로 증대되었다($P<0.05$). 54주령 산란계 계란에서 대조구에 비하여 palmitic acid는 유기황 0.4% 급여구에서 유의하게 감소한 반면, linoleic acid는 유기황 0.2 이상 급여구에서 유의하게 증가하였다($P<0.05$). 단일불포화지방산(MUFA)은 45.16~46.18%로 처리구 간 차이는 없었지만, 다중불포화지방산(PUFA)은 0.4% 급여구(17.67%)에서 대조구(14.95%)에

Table 5. Effect of dietary organic sulfur on yolk fatty acids (%) of laying hens

Organic sulfur (%)	C14:0	C16:0	C16:1 (n-7)	C18:0	C18:1 (n-9)	C18:2 (n-6)	C18:3 (n-3)	C20:1 (n-9)	C20:4 (n-6)	C22:6 (n-3)	MUFA ¹	PUFA ²	UFA ³	SFA ⁴
42 weeks														
0	0.43	26.47	3.42	9.63	45.83	10.92 ^b	0.12	0.32	2.66	0.21	49.57	13.91 ^b	63.47	36.53
0.1	0.46	27.06	3.95	8.76	45.11	11.48 ^b	0.12	0.35	2.51	0.21	49.42	14.31 ^b	63.73	36.27
0.2	0.41	26.23	3.69	9.35	43.53	13.35 ^{ab}	0.12	0.35	2.78	0.22	47.55	16.47 ^{ab}	64.02	35.98
0.4	0.42	25.89	3.56	8.63	43.29	15.04 ^a	0.12	0.37	2.46	0.23	47.22	17.84 ^a	65.06	34.94
SEM	0.01	0.26	0.18	0.20	0.41	0.56	0.01	0.01	0.12	0.01	0.46	0.57	0.31	0.31
P-value	0.63	0.49	0.78	0.26	0.08	0.02	0.99	0.34	0.82	0.94	0.14	0.03	0.30	0.30
54 weeks														
0	0.47	27.84 ^a	4.30	10.58	41.50	11.42 ^c	0.13	0.36	3.16	0.24	46.15	14.95 ^b	61.11 ^b	38.89 ^a
0.1	0.47	27.47 ^{ab}	4.17	10.06	41.59	11.94 ^{bc}	0.18	0.20	3.42	0.28	46.18	15.82 ^b	62.00 ^{ab}	38.00 ^{ab}
0.2	0.50	26.98 ^{ab}	3.67	10.17	41.84	12.99 ^b	0.14	0.35	3.10	0.25	45.87	16.48 ^{ab}	62.35 ^a	37.65 ^b
0.4	0.47	26.49 ^b	3.60	10.21	41.23	14.23 ^a	0.11	0.33	3.08	0.27	45.16	17.67 ^a	62.83 ^a	37.17 ^b
SEM	0.01	0.18	0.15	0.10	0.18	0.30	0.01	0.02	0.11	0.02	0.23	0.32	0.19	0.19
P-value	0.73	0.04	0.26	0.32	0.71	<0.01	0.32	0.35	0.69	0.88	0.36	0.01	0.01	0.01

^{a-c} Value with the different letters in the row are significantly different at 5% level.

¹ Monounsaturated fatty acid: C16:1+C18:1+C20:1, ² Polyunsaturated fatty acid: C18:2+C18:3+C20:4+C22:6, ³ Unsaturated fatty acid: MUFA+PUFA, ⁴ Saturated fatty acid: C14:0+C16:0+C18:0.

비하여 현저하게 증대되었다($P<0.05$). 이에 따라 불포화지방산(UFA)은 유기황의 급여수준에 비례하여 증가하였고($P<0.05$), 포화지방산(SFA)은 감소되었다($P<0.05$). 불포화지방산은 심혈관 질환을 예방하며, 뇌와 신경 세포 생존에 중요한 지방산으로(Li et al., 2015), Hwang et al.(2017)은 유기황의 급여가 오리 가슴육의 단일과 다중 불포화지방산을 현저히 증가시켜 육질의 기능성을 개선하였다고 하였고, Shin et al.(2013)의 연구에서도 육계에 독성을 완화한 식이유황의 0.2% 급여시 계육 내 포화지방산이 약 0.6% 감소한다고 보고하였다. 본 연구에서도 유기황 급여에 따라 난황 내 불포화지방산의 증가와 포화지방산의 감소가 확인되어 이러한 선행연구 결과와 일치하였으므로, 산란계에서 유기황의 급여는 계란 내 불포화지방산 함량을 증대할 것으로 사료된다.

4. 계란 내 황 함량

유기황의 급여가 계란 내 황 함량에 미치는 영향은 Fig. 1에 나타내었다. 본 연구 결과, 계란의 황 함량은 유기황 급여구에서 대조구에 비하여 현저하게 증가하였고($P<0.05$),

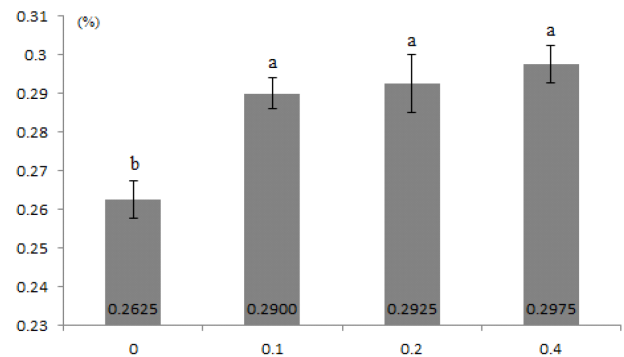


Fig. 1. Effect of dietary organic sulfur on sulfur concentration in egg. ^{a,b} Value with the different letters in the row are significantly different at 5% level. X-axis: organic sulfur addition level in basal diet (0, 0.1, 0.2 and 0.4%); Y-axis: sulfur concentration (%) in egg.

0.4% 급여구에서 0.2975%로 제일 높게 나타났다. 이전 연구에서 화산이나 석유 포함되어 있는 무기황의 급여는 독성이 있고 흡수율이 낮으므로 섭취시 대부분이 배설된다고 하였지만(Hwang et al., 2010), 육용 오리에서 유기황의 급여시

가슴육에서 황 함량이 증가되었다(Hwang et al., 2017). 또한 Utterback et al.(2005)은 산란기에 광물질의 급여는 계란으로 이행이 용이하며, 이는 계란의 품질과 부가가치를 높인다고 보고하였다. 이와 유사하게 산란기에 유기황의 첨가급여도 계란 내 이행을 통해 황 성분이 대조구보다 높게 나타났으므로, 황이 강화된 기능성 계란생산이 가능할 것으로 보인다.

5. 혈청 생화학 분석

유기황의 급여가 산란계 혈청 알부민, AST, 글루코오스, 단백질, 중성지방, 콜레스테롤 및 HDL콜레스테롤에 미치는 영향은 Table 6에 나타내었다. 42주령 산란계의 알부민은 유기황 급여구에서 1.84~1.93 g/dL로 대조구인 1.64 g/dL와 비교하여 유의적으로 증가하였고($P<0.05$), 54주령에서도 유기황 급여구에서 증가하는 경향이 확인되었다. AST는 유기황 급여구에서 매우 감소하였으며 특히, 0.2% 이상 급여구에서 대조구에 비하여 유의하게 감소하였다($P<0.05$). 글루코오스는 유기황의 첨가수준에 따른 통계적 차이는 없었지만 42주령에 측정된 단백질은 유기황 급여구에서 5.53~

5.64 g/dL로 대조구의 4.71 g/dL에 비하여 통계적으로 차이를 보였으며($P<0.05$), 54주령에 조사한 결과에서는 처리구 간 차이는 없었다. 중성지방과 콜레스테롤은 처리구 간 차이가 없었지만, HDL콜레스테롤은 0.4% 급여구에서 대조구에 비하여 4.7 mg/dL 높게 나타났으며, 처리구 간에 통계적 차이를 보였다($P<0.05$). AST는 간의 손상을 반영하는 지표로서, 산란계의 움직임을 제한하는 케이지 사육은 지방간 유발과 비정상적인 AST 상승을 초래할 수 있다(So et al., 2009). 본 연구결과, 혈청 AST수치는 155.44~182.15 IU/L로서 정상범위에 속하지만 유기황의 첨가수준에 따라 현저하게 감소되었다($P<0.05$). 이러한 결과는 육계에 유기황 0.2% 급여시 혈청 AST를 개선하였다는 보고(Jiao et al., 2017)와 유사한 경향으로, 유기황의 첨가급여는 케이지에서 사육하는 산란계의 간 대사작용에 유익한 영향을 미칠 것으로 사료되었다. HDL 콜레스테롤은 가축의 강건성 증진시키는 콜레스테롤로서, 육계에서 유황의 급여로 전체 콜레스테롤은 차이가 없었지만, HDL 콜레스테롤은 31.28% 증가하였다는 보고(Shin et al., 2013)는 본 연구결과와 일치하므로, 유기황의 급여는 산란계의 간 손상의 위험을 줄이고, 혈관 건강에

Table 6. Effect of dietary organic sulfur on blood composition in laying hens

Organic sulfur (%)	ALB ¹ (g/dL)	AST ² (IU/L)	Glucose (mg/dL)	Protein (g/dL)	TG ³ (mg/dL)	CHOL ⁴ (mg/dL)	HDL ⁵ (mg/dL)
42 weeks							
0	1.64 ^b	182.15 ^a	239.91	4.71 ^b	1,367.33	124.12	4.08 ^b
0.1	1.93 ^a	172.24 ^{ab}	244.99	5.64 ^a	1,554.78	127.42	6.45 ^a
0.2	1.84 ^a	162.77 ^b	241.44	5.53 ^a	1,444.43	126.83	7.55 ^a
0.4	1.90 ^a	167.10 ^b	254.39	5.54 ^a	1,488.85	131.01	7.64 ^a
SEM	0.04	2.69	3.23	0.13	66.45	4.80	0.48
<i>P</i> -value	0.01	0.04	0.42	0.01	0.82	0.97	0.01
54 weeks							
0	1.92	173.89 ^a	271.69	5.92	1,824.67	158.07	6.49 ^b
0.1	2.07	164.91 ^{ab}	270.72	6.27	2,189.10	157.96	9.27 ^{ab}
0.2	2.14	164.96 ^{ab}	275.07	6.28	2,074.62	152.13	10.00 ^a
0.4	2.12	155.44 ^b	269.40	6.50	2,144.91	161.17	12.33 ^a
SEM	0.03	2.20	2.45	0.12	119.45	5.26	0.67
<i>P</i> -value	0.08	0.02	0.89	0.31	0.74	0.95	0.01

^{a,b} Value with the different letters in the row are significantly different at 5% level.

¹ Albumin, ² Aspartate amino transferase, ³ Triglycerides, ⁴ Cholesterol, ⁵ High density lipoprotein cholesterol.

다소의 도움이 될 것으로 판단된다.

6. 세포성 면역능 분석

산란계에 유기황 급여에 따른 비장 IL-2 mRNA와 혈액 내 IL-2 단백질을 분석한 결과는 각각 Fig. 2와 Fig. 3에 나타내었다. 비장 내 IL-2 mRNA와 혈액 IL-2 단백질 수준은 유기황 0.4% 급여구에서 대조구에 비해 각 2.5와 1.5배의 유의적 상승이 확인되었다($P<0.05$). 또한 Table 7과 Fig. 4에서 혈액 내 CD3+CD4+는 유기황 0.4% 급여구에서 64.34%로 대조구에 비해 약 17% 상승하였고($P<0.05$), CD3+CD8+은 처리구 간 차이가 없었으므로 CD4+/CD8+ 비율은 유기황 첨

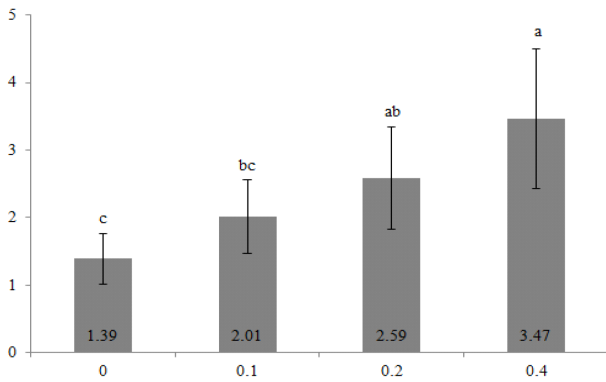


Fig. 2. Effect of dietary organic sulfur on IL-2 mRNA in spleen of laying hens. ^{a-c} Value with the different letters in the row are significantly different at 5% level. X-axis: organic sulfur addition level in basal diet (0, 0.1, 0.2 and 0.4%); Y-axis: IL-2 mRNA level in spleen.

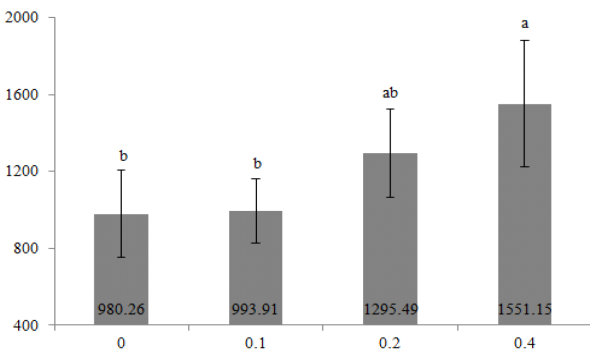


Fig. 3. Effect of dietary organic sulfur on IL-2 in blood of laying hens. ^{a,b} Value with the different letters in the row are significantly different at 5% level. X-axis: organic sulfur addition level in basal diet (0, 0.1, 0.2 and 0.4%); Y-axis: IL-2 level in blood.

Table 7. Effect of dietary organic sulfur on CD4+ and CD8+ in blood of laying hens

Organic sulfur (%)	CD4+ and CD8+ defined subset (%) of CD3+ PBMC			
	CD3+ (%)	CD4+ (%)	CD8+ (%)	CD4+/CD8+
0	16.93	43.03 ^c	27.74	1.58 ^c
0.1	16.69	47.04 ^c	26.43	1.95 ^{bc}
0.2	14.92	54.13 ^b	24.54	2.23 ^b
0.4	17.24	60.34 ^a	22.60	2.70 ^a
SEM	0.97	1.31	0.93	0.09
P-value	0.85	<0.01	0.23	<0.01

^{a-c} Value with the different letters in the row are significantly different at 5% level. PBMC: Peripheral blood mononuclear cell, CD3+: T cell, CD4+: T help cell, CD8+: Cytotoxicity cell.

가수준에 따라 1.58~2.70의 유의적 증가를 확인하였다 ($P<0.05$). 가금의 세포성 면역에 관여하는 T-lymphocyte 중 CD4+은 항염증성 인자의 활성화에 증가되고, CD8+은 염증 유발 인자의 활성화로 증가되므로, CD4+/CD8+ 비율은 세포성 면역능의 지표로 활용되고 있고(Shedlock and Shen, 2003), 이와 관련하여 IL-2는 CD4+의 증식과 생산에 관여하는 면역 사이토카인으로 보고되었다(Janeway et al., 1999). 이에 따라 유기황의 급여는 산란계에서 세포독성 세포보다는 T-help 세포와 이것의 활성을 돕는 IL-2의 증가에 효과가 있음을 확인하였다. 유기황의 급여가 산란계의 세포성 면역에 미치는 영향에 관한 연구는 미비하여 직접적인 비교분석은 어려우나, 혈액 내 알부민과 단백질 증가는 세포성 면역에 관여하는 CD4+/CD8+ 비율증가와 면역작용을 개선한다고 하였고(Nishimura et al., 2014), 본 연구에서도 유기황의 급여시 혈액 내 알부민과 단백질 수치가 증가되어 세포성 면역과 관련된 IL-2, CD4+ 및 CD4+/CD8+ 비율이 향상된 것으로 사료되었다. 또한 육계에 유기황의 급여로 백혈구와 림프구 수치가 증가한다고 하였고(Jiao et al., 2017), 쥐에게 5주간 유기황 100 mL를 공급한 결과, 글루타치온 수치가 약 78% 증가되며(DiSilvestro et al., 2008), 이러한 글루타치온의 증가는 림프 세포와의 균형과 관련되어 세포성 면역을 증가시킨다고 하였다(Droge and Breitkreutz, 2000). 이러한 선행 연구와 유사하게, 본 연구에서도 산란계에 유기황의 급여는 0.4% 첨가수준에서 IL-2 분비와 CD4+와 CD4+/CD8+ 비율이 증가되어 산란계의 세포성 면역능 개선에 효과가 있음이 확인되었다.

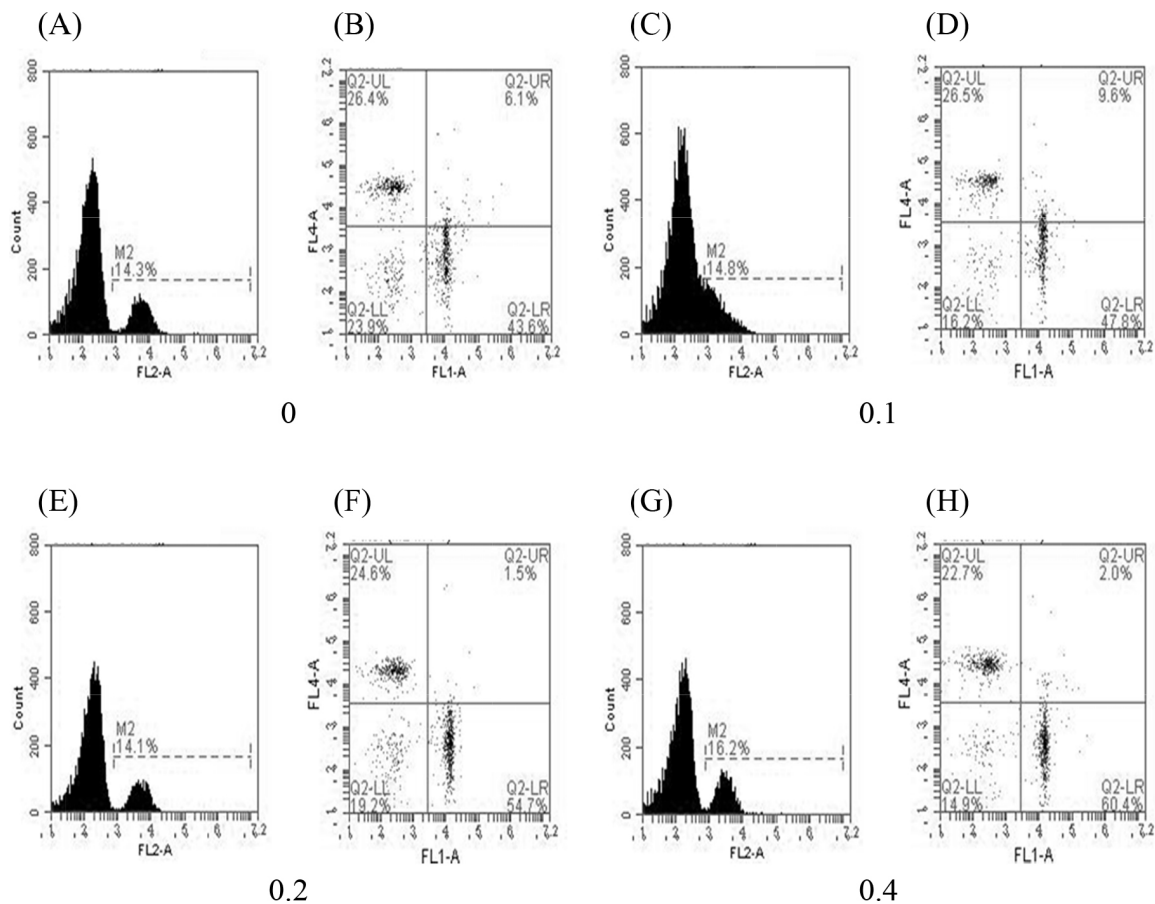


Fig. 4. Representative photograph of dietary organic sulfur (0, 0.1, 0.2 and 0.4%) effects on percentage of T-lymphocyte CD3+, CD4+ and CD8+ using Flow cytometry. Distribution of CD3+ in the blood (CD3+: M2 level of A, C, E, G). Distribution to percentage of CD4+ and CD8+ of CD3+ in the control group (CD4+: Q2-LR level of B, D, F, H; CD8+: Q2-UL level of B, D, F, H). CD4+ fluorescently stained the FITC. CD8+ and CD3+ stained in the Cy5 and PE respectively. FITC: fluorescein isothiocyanate, PE: phycoerythrin, Cy5: cyanine5.

적 요

본 연구는 산란계 사료에 유기황의 수준별 첨가급여가 산란계의 생산성, 계란품질 및 세포성 면역능에 미치는 영향을 구명하고자 실시하였다. 31주령 로만브라운종에 분말 형태의 유기황을 기초사료에 0%, 0.1%, 0.2%, 0.4% 수준으로 첨가 급여하였으며, 처리구당 5반복 반복당 18수씩 전체 360수를 수용하여 24주간 사양실험을 실시하였다. 산란 수와 난중은 매일 조사하였고, 계란품질은 8주 간격으로 측정하였다. 난황지방산과 혈액은 산란계 42와 54주령에 분석하였으며, 계란의 황 함량, IL-2 및 CD4+와 CD8+은 사양실험 종료 후 분석하였다. 본 연구결과, 31~38주령에 산란율은 처리구 간에 차이가 없었지만, 39주령 이후 유기황의 급여 수준에 따라 대조구와 차이를 보였으며, 47~54주령의 산란

율은 0.4% 급여구에서 대조구에 비해 현저하게 증가하였다 ($P<0.05$). 계란의 난백높이와 호우유닛은 유기황 급여구에서 대조구에 비하여 유의적으로 개선되었다($P<0.05$). 계란의 난황 내 다중불포화지방산은 첨가수준에 따라 현저하게 증가하였다($P<0.05$). 유기황 수준이 증대됨에 따라서 불포화 지방산은 증가하였고, 포화지방산은 감소되었으며, 이러한 현상은 54주령에서 더욱 현저하게 나타났다($P<0.05$). 계란에서 황 함량은 유기황 첨가 수준에 증대함에 따라서 증가되었다($P<0.05$). 또한 혈청 알부민은 42주령에서 유기황 급여구에서 유의적으로 증가하였고($P<0.05$), AST는 감소하였다($P<0.05$). 단백질은 42주령의 산란계에서 유기황 급여에 따라 현저히 증대되었고($P<0.05$), HDL 콜레스테롤은 유기황 첨가수준이 높아짐에 따라 유의적으로 상승하였다 ($P<0.05$). 비장과 혈중 IL-2 및 CD4+/CD8+도 유기황의 첨

가수준에 따라 현저하게 증가하였다($P<0.05$). 그러므로 산란계에 0.4% 유기황의 첨가급여로 생산성, 계란품질 및 세포성 면역능력은 개선되었다.

(색인어 : 유기황, 산란계, 생산성, 계란품질, 면역반응)

REFERENCES

- Brunetti M, Martelli N, Colasante A, Piantelli M, Musiani P, Aiello FB 1995 Spontaneous and glucocorticoid-induced apoptosis in human mature T lymphocytes. *Blood* 86: 4199-4205.
- Cho JH, Min BJ, Kwon OS, Shon KS, Jin YG, Kim HJ, Kim IH 2005 Effects of MSM (Methyl Sulfonyl Methane) supplementation on growth performance and digestibility of CA and N in pigs. *J Korean Soc of Food Sci and Nutr* 34:361-365.
- DiSilvestro RA, DiSilvestro DJ, DiSilvestro DJ 2008 Methylsulfonylmethane (MSM) intake in mice produces elevated liver glutathione and partially protects against carbon tetrachloride-induced liver injury. *The FASEB J* 22:445-448.
- Droge W, Breitkreutz R 2000 Glutathione and immune function. *Proc Nutr Soc* 59:595-600.
- Duncan DB 1955 Multiple range and multiple F tests. *Biometrics* 11:1-42.
- Hwang JW, Cheong SH, Kim YS, Lee JW, You BI, Moon SH, Jeon BT, Park PJ 2017 Effects of dietary supplementation of oriental herbal medicine residue and methyl sulfonyl methane on the growth performance and meat quality of ducks. *Anim Production Sci* 57:948-957.
- Hwang YH, Jung HJ, Lee Y, Hwang BS 2010 Effect of MSM supplementation on growth performance in duck. Pages 183-185 In: *Proceeding of Korean Society of Poultry Science Conference*.
- Jacob SW 1983 The current status of MSM in medicine. *Am Acad Med Prev*.
- Janeway CA, Traver P, Walport M, Shlomchik MJ 1999 Immunobiology: The Immune System in Health and Disease. Pages 363-415 In: *Fourth Education Elsevier/Garland, London*.
- Jiao Y, Park JH, Kim YM, Kim IH 2017 Effects of dietary methyl sulfonyl methane (MSM) supplementation on growth performance, nutrient digestibility, meat quality, excreta microbiota, excreta gas emission, and blood profiles in broilers. *Poult Sci* 96:2168-2175.
- Karabay AZ, Aktan F, Sunguroglu A, Buyukbingol Z 2014 Methylsulfonylmethane modulates apoptosis of LPS/IFN- γ -activated RAW 264.7 macrophage-like cells by targeting p53, Bax, Bcl-2, cytochrome c and PARP proteins. *Immunopharmacol and Immunotoxicol* 36:379-389.
- Karen C 2017 List of foods high in sulfur. *Livestrong.com*, <http://www.livestrong.com/article/289250-list-of-foods-high-in-sulfur/>.
- Kim KW, Yoon BS, No H, Ryu KS 2013 Effects of dietary Lactobacillus, blood meal, sulfur and total mixture supplementation on performance of broiler and laying hens. Pages 152-154 In: *Proceeding of Korean Society of Poultry Science Conference*.
- Lee JI, Min HK, Lee JW, Jeong JD, Ha YJ, Kwack SC, Park JS 2009 Changes in the quality of loin from pigs supplemented with dietary methyl sulfonyl methane during cold storage. *Korean J Food Sci Anim Res* 29:229-237.
- Li Y, Hruby A, Bernstein AM, Ley SH, Wang DD, Chiuev SE, Hu FB 2015 Saturated fats compared with unsaturated fats and sources of carbohydrates in relation to risk of coronary heart disease: A prospective cohort study. *J American College of Cardiol* 66:1538-1548.
- Matin HRH, Dashtbin F, Salari J 2013 Absorption and macromineral interactions in broiler production. *Global Vet* 11:49-54.
- Nishimura R, Sato K, Miura Y, Jimbo T, Fukushima D, Yamaya H, Ohuchi N 2014 Serum albumin and neutrophils in patients with end-stage liver disease: Relationships with ATP levels in CD4-positive T cells. Page 714 In: *Proceeding of the World Transplant Congress, The Transplantation Society and the American Society of Transplantation, America*.
- Notarnicola A, Maccagnano G, Moretti L, Pesce V, Tafuri S, Fiore A, Moretti B 2016 Methylsulfonylmethane and boswellic acids versus glucosamine sulfate in the treatment of knee arthritis: Randomized trial. *Inter J Immunopathol and Pharmacol* 29:140-146.
- Park SM, Ahn IS, Hong SM, Kim DS, Kwon DY, Yang HJ 2010 The effects of the supplementation of opuntia

- humifusa water extracts and methyl sulfonyl methane on the laying productivity, egg quality and sensory characteristics. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 39:294-300.
- Ryu MH 2006 Effects of dietary methylsulfonylmethane (MSM) on performance and egg quality in laying hens. MS. Dissertation. Pages 19-20 in Konkuk Univ.
- SAS 2002 SAS/STAT Software for PC. SAS Institute Cary NC USA.
- Shedlock DJ, Shen H 2003 Requirement for CD4 T cell help in generating functional CD8 T cell memory. *Sci* 300:337-339.
- Shin JS, Kim MA, Lee SH 2013 Comparison of physiological changes in broiler chicken fed with dietary processed sulfur. *Korean J Food Preserv* 20:278-283.
- So HH, Jeon EO, Byun SH, Mo IP 2009 Early diagnosis of fatty liver-hemorrhagic syndrome using blood biochemistry in commercial layers. *Korean J Poult Sci* 36:165-175.
- Utterback PL, Parsons CM, Yoon I, Butler J 2005 Effect of supplementing selenium yeast in diets of laying hens on egg selenium content. *Poult Sci* 84:1900-1901.
- Van der Merwe M., Bloomer RJ 2016 The influence of methylsulfonylmethane on inflammation-associated cytokine release before and following strenuous exercise. *J Sports Med* 2016:1-9.

Received May 15, 2018, Revised Jun. 25, 2018, Accepted Jun. 26, 2018