

산란기에 Illite 급여가 *Salmonella typhimurium* 편모항원에 대한 체액성 면역 반응에 미치는 영향

이상래^{1,2} · 이성¹ · 장규태² · 김정우^{1,†}

¹단국대학교 생명자원과학대학 동물자원학과, ²한국생명공학연구원 국가영장류센터

Effects of Dietary Supplementation of Illite on Humoral Immunity against *Salmonella typhimurium* Flagella Antigen in Laying Hens

S. R. Lee^{1,2}, S. Lee¹, K. T. Chang², J. W. Kim^{1,†}

¹Department of Animal Resources and Science, Dankook University

²The National Primate Research Center, Korea Research Institute of Bioscience and Biotechnology

ABSTRACT This study was carried out to investigate dietary effects of illite on humoral immune response against *Salmonella typhimurium* flagella in Hyline Brown laying hens. Total of twenty eight 36-week-old hens were divided into two groups; The first was fed commercial diet as control and the other was fed diet containing 2 % illite. Each group was divided into 2 sub-groups and then performed immunization of *Salmonella* flagella with different adjuvants which were Freund's adjuvant and croton oil. The rates of egg-production in all groups were normal range but no difference was found between illite-treated and untreated groups. The serum antibody titers of Freund's adjuvant-used subgroup in illite fed groups were significantly increased, especially from 6- to 9-week after 1st immunization compared to those of control groups ($p < 0.05$). And the antibody titers of croton oil-used subgroup in illite-fed groups were also significantly increased, especially at 4-, 6- and 7-week ($p < 0.05$). The results demonstrated that the feeding illite stimulated the immune response against *S. typhimurium* flagella antigen in laying hens and suggest that the supplementation of illite to the poultry diets may support protective effects against bacterial infections such as *Salmonellosis*.

(Key words : illite, immunostimulation, *S. typhimurium* flagella, laying hen)

서 론

사람의 건강에는 주요 3대 영양소뿐만 아니라 비타민이나 미네랄과 같은, 미량이지만 적지 않은 효과를 가져다 주는 물질도 필요하다. 이와 마찬가지로 동물 사료 역시 주요 영양분 외에 생체기능 활성을 증진시켜 줄 미량물질들이 요구 된다. 따라서 현재 민간요법으로 알려진 식물이나 생균제 등을 소재로 이들의 첨가에 따른 다양한 효과에 대한 연구가 진행 중이며, 그 중 친환경 소재로 대두되고 있는 황토, 활성탄, 생균제 등을 사료에 첨가하여 동물의 생산적인 면에서 큰 효과를 기대하고 있다. 특히 여러 가지 경제적 조건에 유리한 국내 부존 자원을 최대로 이용 및 개발에 관심이 집중되고 있는 가운데, 우리나라의 경우 광상확산 규산염계 토양으로 구성되어 이에 속하는 점토광물(clay mineral) 역시

다양한 종류가 존재하여 기대의 대상이 되고 있다(엄명호 등, 1993).

점토광물이란 토양의 생성 과정에서 재합성된 2차 광물을 지칭하며, 재합성될 때의 환경 조건에 따라 여러 종류가 형성되지만, 대표적으로 illite [운모 $KAl_4(AlSi_7O_{20})$] 가 있으며, 이외에도 zeolite, kaolin, bentonite, 맥반석 등과 같은 국내에서 생산되는 광물이 있다. Illite는 캐나다 퀘벡주와 우리나라의 영동에서 주로 채취되며 접촉열수변성 점토질 광물로, 주성분이 SiO_2 , Al_2O_3 및 K_2O 인 황백색(백색, 적색)의 혼합 광물이다(Mumpton and Magica, 1999; 조현구 등, 2007). 구조적으로 Al_3^+ , Mg_2^+ , Li 등의 팔면체 양이온과 K, Na, Rb 등의 층간 양이온으로 구성되어 있으며 일반적으로 점토광물의 입도는 0.002 mm 이하로서 입자가 적고 활성 표면적이 매우 크기 때문에 다양한 특성을 지니며, 이로 인해 그 이용성이

† To whom correspondence should be addressed : kijuw@dankook.ac.kr

매우 크다고 알려져 있다(강수원 등, 2002).

Illite는 다른 점토광물에 비해 팔면체 자리에서 Al을 치환하는 Mg의 양이 적어, 이들을 충전하는 O₂를 기준으로 2(-)보다 작게 되고, 양이온 흡착 능력이 있어 부유 미립자와 전기적인 중화로 응집 침전을 유발, 탁도를 매우 향상시킨다. 또한 상온에서 5~25 마이크로미터의 원적외선을 89~92% 방사하여 온열 효과, 공명 흡수 효과, 심달 효과, 숙성 효과 등을 유발하고, 탈취 능력이 강하며, 수중에서 용존산소량을 증가시키고 음이온(141 ions/cc)을 발산한다. 따라서, 지금까지 이러한 규산염 광물질은 주로 탈취제, 이온 교환제 및 토성개량제 등으로 다양한 분야에 널리 이용되었다(대한광업진흥공사, 1988). 더불어 일련의 연구 결과들에 의하면 축산 분야에서도 그 응용성이 보고되었는데, 송아지 및 육성우의 사료에 소량 첨가할 경우 증체율 및 사료 이용률 등에 개선 효과가 있고, 배설물의 냄새를 줄이며 설사를 방지하는 등의 효과가 있음이 입증되어 사료 첨가제로서 가치가 있는 것으로 보고되었다(Jacques et al., 1986; Abdullah et al., 1995; 송동영 등, 1999). 이외에도 규산염계(silicate)에 속하는 점토광물들은 일반적으로 이온 교환 용량(ion exchange capacity)이 높고 동물이 섭취하였을 때 미량 무기물을 비롯한 영양소 이용성을 개선하여 장내 유해가스의 흡착 및 연변 방지 등의 효과가 있다고 알려져 있고(한인규, 1994), 거세한우에서 비육 전기부터 출하시까지 농 후사료의 2%를 급여 시 육량과 육질 등 생산성과 관련된 요인들의 개선으로 소득 증대 효과가 있었다고 보고되었으며(강수원 등, 2002), 육성-비육돈에 1.5% 급여시 증체량과 사료 요구율 향상, 육량과 육질 등급의 개선, 분변내 유해가스 감소 및 경제적인 면에서 효과적이라 하였다(김천제 등, 2000; 하홍민 등, 2001). 또한 육성-비육돈에 급여할 경우 증체, 사료 효율 개선, 연변 감소, 육질개선, 질병 발생률과 폐사율이 현저하게 감소시키는 효과가 있다고 보고되었다(Kondo and Wagai, 1968; 하홍민 등, 2001). 그리고, 조류의 사료에 첨가할 경우 장내 과잉 수분을 흡수하여 연변을 방지하고 사료의 장내 통과시간을 지연시켜 소화율을 향상시키며(Harms and Darmron, 1973), 최근에는 육계 및 육용 오리에서 illite를 급여 시 증체량 증가 및 성장 개선 효과가 있다고 보고되어 있다(국길 등, 2005; 김영직 2007).

이러한 선행된 연구 결과들을 통하여 illite를 포함한 점토광물의 축산업적 활용 가능성이 충분히 있는 것으로 사료되지만, 현재 국내에서 생산되는 illite 등의 점토광물의 이용에 관한 구체적인 연구보고는 미흡한 실정이며, 최근까지 보고된 점토광물에 대한 연구 결과는 대부분이 소화기능의 개선이나 독소, 유해가스 등의 흡착 성질에 관한 것이며, illite 급

여가 질병 발생률과 폐사율을 감소시켰다는 보고가 있기는 하나 직접적인 면역기능 향상에 대한 연구는 전무한 실정이다(Kondo and Wagai, 1968; 하홍민 등, 2001). 따라서, 본 연구는 illite의 급여가 산란계의 면역 반응에 영향을 미치는지를 알아보기 위하여, *Salmonella typhimurium*으로 추출한 편모단백질(flagella protein)을 면역원으로 접종하여 혈청 중 항체 수준을 측정하였다.

재료 및 방법

1. 공시 동물, 실험 사료 및 사양 관리

본 연구를 수행하기 위하여 36 주령 Hyline Brown 품종의 산란계를 공시하였다. 외관상 건강하고 정상적으로 산란을 하는 개체만을 1차 선별하였고 2차적으로 *S. typhimurium* 편모항원에 대한 혈청 항체가를 측정하여 항체 형성이 되지 않은 28수를 시험동물로 공시하였다. 시험구의 배치는 완전 임의로 illite 투여구 14수 및 대조구 14수로 설정하였으며, 다시 투여구 및 대조구는 각각 7수씩 2개 군으로 나누어 면역 증강제(adjuvant)를 달리하여 면역을 실시하였다.

본 시험에 이용한 시험 사료는 국내 D 사료 회사의 상용 산란계 사료를 대조군 사료로 이용하였다. 첨가군 사료는 동일회사에 의뢰하여 대조군 사료에 illite(축산용, (주)향기산업, 대한민국)를 2%(w/w) 첨가 제조한 시험 사료를 공급받아 사용하였다.

시험 동물은 개별 케이지에 한 수씩 사육하였으며, 시험 기간 동안 일일 16시간 점등하였고, 온도는 22±2 °C로 유지하였다. 사료와 물은 자유섭식하였으며, 채란은 매일 오후 5~6시에 실시하였고 매일 산란계의 건강 상태를 조사하였다.

2. 산란율 조사 및 혈청 분리

산란율은 8주 동안 매일 오후 5~6시 사이에 계란을 채집하여 처리구별로 총 산란수를 사육두수로 나누어 백분율(%)로 표시하였다.

혈청 항체가 측정을 위하여, 산란계의 날개정맥으로부터 혈액 2 mL를 채취하여 30분간 정치하여 응고시킨 다음, 3,000 rpm으로 원심분리하고 상청의 혈청을 분리하였다. 분리된 혈청은 -70°C에 보관하였다가 항체가 측정을 위한 실험에 사용하였다.

3. *S. typhimurium* 편모항원 단백질 분리

본 시험에서 면역원으로 사용한 *S. typhimurium* 편모항원

단백질의 분리 및 정제는 Ibrahim et al.(1985)의 방법에 따라 실시하였다. 요약하면, *S. typhimurium*을 Trypticase soy broth (Difco, USA)에 접종한 후 37°C, 12시간 동안 진탕 배양하였다. 이를 4°C, 13,000 rpm에서 30분간 원심 분리하여 균체를 회수하였다. 편모항원 단백질 분리 및 정제를 위하여, 회수된 균체를 0.15 M PBS(pH 7.2)로 재부유 한 후 0.5 M HCl을 사용하여 pH 2.0으로 적정해 30분간 25°C에서 교반시켰다. 이 때 얻은 상등액에 1 M NaOH를 첨가하여 pH 7.4로 적정하고 ammonium sulfate(Sigma, USA)를 가하여 염석(최종농도를 2.67 M)시킨 후 0.15 M PBS로 투석하여 단백질을 얻었다. 분리된 편모항원 단백질은 microwave BCA 방법으로 BCA Protein assay kit(Pierce, USA)를 사용하여 정량하였다(Robert and Rocky, 1995). 이것을 다시 SDS-PAGE를 실시하여 단백질을 재확인한 다음, 면역원 제조에 이용하였다.

4. 면역원 제조 및 면역

Illite를 첨가 급여하는 동안, 면역 증강제에 따라 면역 반응의 차이가 있는지를 확인하기 위하여 일반적으로 면역원 제조에 사용되는 Freund's adjuvant(김정우 등, 2000)와 강한 면역자극 활성을 가진 croton oil(Bohlin and Bruhn, 1999)을 사용하여 면역원을 제조하였다. 그 방법을 요약하면, 분리 정제된 *S. typhimurium* 편모항원 단백질 0.5 mL(300 µg/mL)을 adjuvant인 Freund's adjuvant 또는 croton oil 0.5 mL과 혼합하여 충분히 교반한 다음 면역원으로 사용하였으며, 이를 산란계의 흉근 4군데에 각각 0.25 mL씩 근육 주사를 실시하였다. 이러한 면역을 2주 간격으로 3회 수행하였다.

5. 혈청 항체가 측정

S. typhimurium 편모항원에 대한 혈청 항체가 측정은 enzyme-linked immunosorbent assay(ELISA)법으로 실시하였다(김정우 등, 2000). Carbonate-bicarbonate buffer(pH 9.6)에 편모항원 단백질을 5 µg/mL 농도로 희석한 후 MicrotestIII flexible Assay plate(Falcon, USA)에 100 µL씩 분주하여 4°C에서 하룻밤 동안 정치하였다. 편모항원 단백질이 피복된 plate를 PBS-T (0.02 M NaH₂PO₄, 0.13 M NaCl, 0.05 % Tween 20, pH 7.2)로 3회 세척하였으며, blocking buffer(5 % skim milk, pH 7.3, Difco)를 175 µL씩 분주하여 2시간 동안 25°C에서 정치시켰다. Blocking buffer와 PBS-T를 동량으로 섞은 희석 용액을 이용하여 측정에 이용될 산란계의 혈청을 각각 3배수씩 단계 희석하였으며 이를 각 well에 100 µL씩 분주한 후 37°C에서 1시간 30분간 반응시켰다. 2차 항체로는 alkaline phosphatase가 conjugation 되어있는 AffiniPure rabbit IgG anti-

chicken IgY(Jackson, USA)를 5,000배로 희석하여 사용하였으며, 이를 각 well에 100 µL씩 분주 후 37°C에서 1시간 30분 동안 반응시켰다. 이후 phosphate substrate tablets(*p*-nitrophenyl phosphate)(Sigma, USA)를 0.5 mM MgCl₂가 함유된 10 % diethanolamine(pH 9.8) 용액에 용해시킨 기질을 plate에 가하여 37°C에서 20분간 발색반응을 시켰다. 5 M NaOH를 첨가하여 반응을 정지시킨 후, Microplate reader(Molecular Devices; E Max)를 사용하여 405 nm에서 흡광도(optical density)를 측정하였다. 이 결과를 이용하여 항체가를 산출하였으며 모든 실험은 3반복 실시하였다.

6. 통계 분석

실험을 통하여 얻어진 모든 결과에 대한 통계 분석은 SAS program(1999)을 이용하여 one-way ANOVA로 분산분석을 실시하였다. 그리고, 분석상 통계적인 유의차가 있는 경우 Student's *t*-test를 실시하여 유의성 검정을 하였고, *p*값이 0.05 미만인 경우 유의차가 있는 것으로 판단하였다.

결 과

1. *S. typhimurium* 편모항원 단백질의 분리정제

Illite 급여에 따른 면역 기능 변화를 조사하기 위하여 *S. typhimurium*으로부터 얻어진 편모항원 단백질을 면역원으로 이용하였다. 분리 정제한 *S. typhimurium* 편모항원 단백질을 SDS-PAGE로 확인해본 결과, 그 분자량은 약 51 kDa로 확인되었다(Fig. 1).

2. Illite 첨가 급여가 *S. typhimurium* 편모항원에 대한 혈중 항체가에 미치는 영향

산란계에 illite를 급여하는 동안 앞서 분리정제한 편모항원을 2주 간격으로 3회 면역을 하고, 주별로 편모항원에 대한 혈중 항체가의 변화를 조사하였다. 그리고, 면역 증강제에 따라 면역 반응의 차이가 있는지를 확인하기 위하여 면역 증강제를 달리 하여 면역원을 제조하여 면역을 하였다. 그 결과, Freund's adjuvant 및 Croton oil을 면역 증강제로 이용한 모든 투여구에서 대조구에 비해 혈중 항체가가 높은 경향을 알 수 있었다(Fig. 2A & B). Freund's adjuvant를 이용한 시험구에서는 illite 투여구의 항체가가 시험 6주부터 9주까지 대조구에 비하여 현저히 높은 것으로 조사되었다(*p* < 0.05)(Fig. 2A). 또한, croton oil을 이용한 시험구에서도 illite 투여구의 혈중 항체가가 시험 4, 6, 7주에 대조구에 비해 현

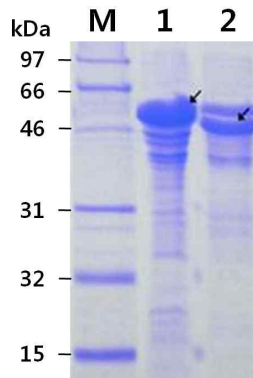


Fig. 1. SDS-PAGE of the flagella proteins isolated from *Salmonella typhimurium* on 12% acrylamide gel.

Lane 1 is the isolated flagella proteins from *S. dublin* and lane 2 is from *S. typhimurium*. The arrows indicate about 54 and 51 kDa of flagella proteins, respectively. Lane M was loaded with a molecular weight standard (Invitrogen, USA).

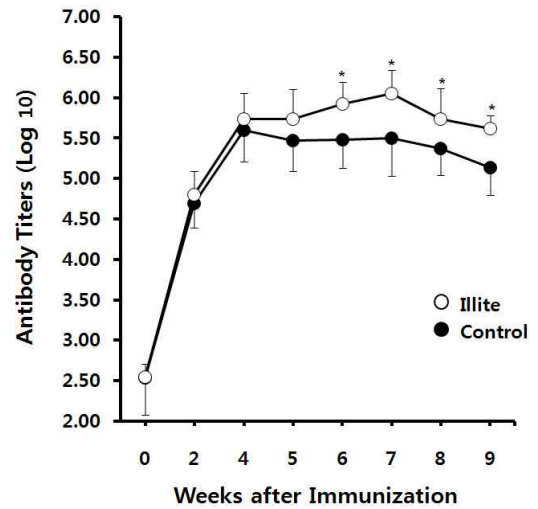
저히 높은 것으로 조사되었다($p < 0.05$) (Figure 2B). 이러한 조사 결과는 면역 증강제의 종류와는 관계없이, 산란계에 illite 첨가 급여로 *S. typhimurium* 편모항원에 대한 면역 반응이 증가한 것으로 판단되었다.

고 찰

산란계에 *S. enteritidis* 사독백신을 면역을 하게 되면 면역 스트레스로 인하여 산란율이 15% 정도 저하되는 것으로 알려져 있다(Nakamura et al., 2004). 그러나, 본 실험에서는 모든 시험구에서 산란율이 정상 수준이었으며, 이는 *S. typhimurium* 편모항원 면역에 따른 스트레스가 거의 없었던 것으로 판단되었다.

살모넬라 감염증을 유발하는 원인균 중 *S. typhimurium*은 축종에 관계없이 살모넬라증을 유발하는 것으로 알려져 있다(신순오 등, 2003). 이러한 살모넬라균은 균 표면에 편모(flagella)를 가지고 있으며, 이는 균의 운동성(mobility)에 관여하는 기관으로 장관 상피세포에 침투를 가능케 하여 살모넬라의 병원성과 밀접한 관련이 있다(Lockman and Curtiss III, 1990). 이러한 편모단백질을 산란계에 면역함으로써 생성되는 난황항체를 이용하면 살모넬라균을 효과적으로 방어할 수 있는 것으로 알려져 있다(신순오 등, 2003). 따라서, 본 연구에서는 illite 첨가 급여에 의한 면역 반응 변화 여부를 조사하기 위하여 이미 검증된 *S. typhimurium* 편모항원을 면역 원으로 사용하고자 하였고 분리 정제한 *S. typhimurium* 편모

A) Freund's adjuvant



B) Croton oil

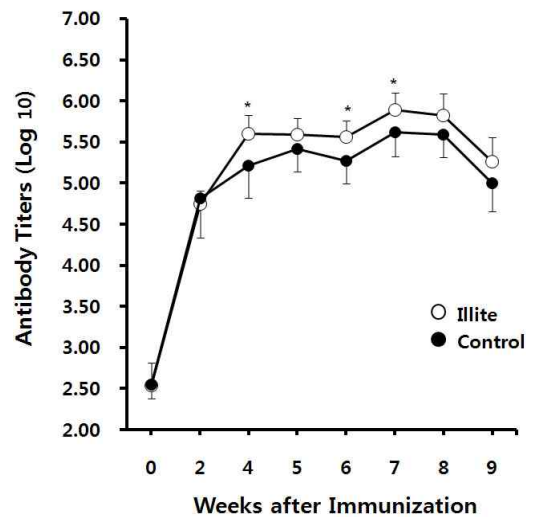


Fig. 2. Effects of illite as dietary supplements on antibody production against *S. typhimurium* flagella in laying hens.

A) The immunized group with Freund's adjuvant; B) The immunized group with croton oil as adjuvant. Illite; treated groups with supplemental illite, Control; non-treated. Values with star marker (*) are significantly different compared with control ($p < 0.05$).

항원 단백질을 SDS-PAGE로 확인해본 결과, 그 분자량은 약 51 kDa로 신순오 등(2003)이 보고한 결과와 동일하며 54 kDa의 *S. dublin*의 편모항원과는 확연히 구분되었다(Fig. 1). 면역 실험 결과에서도 혈청 항체가 높은 것으로 보아 *S. typhimurium* 편모항원에 의하여 면역 반응이 잘 유도된 것으로 사료된다(Fig. 2).

또한 육성-비육돈에 급여할 경우 질병 발생률과 폐사율이 현저하게 감소시키는 효과가 있다고 보고되었는데(Kondo and Wagai, 1968; 하홍민 등, 2001), 이와 마찬가지로 본 실험에서도 산란계에서 illite 첨가 급여한 투여구에서 *S. typhimurium* 편모항원에 대한 혈청 항체가가 대조구에 비하여 유의적으로 증가하였다(Fig. 2). 따라서 이러한 결과를 바탕으로 유추하면, 산란계에서 illite를 첨가 급여함으로써 면역 반응을 증가시켜 *Salmonellosis*와 같은 세균 감염에 대한 방어력이 증대될 수 있을 것이라 사료된다.

더불어, 본 실험에서는 면역 증강제에 따라 면역 반응의 차이가 있는지를 확인하기 위하여 Freund's adjuvant와 croton oil을 이용하여 면역원을 제조한 다음, 산란계에 면역을 하였다. 실험 결과, 면역 증강제에 따른 illite의 면역 반응 유도 효과의 차이는 없는 것으로 사료된다. 상기의 결과는 현재까지 세계적으로 상용화되어 있는 고가의 Freund's adjuvant의 면역 증강 대체제로 croton oil의 활용 가능성을 시사하는 것으로 추후 더욱 구체적인 비교연구가 수행되어야 할 것이다.

적 요

본 연구는 Hyline Brown 산란계에 illite 첨가 급여가 *Salmonella typhimurium* 편모항원에 대한 면역 반응에 미치는 영향을 조사하였다. 외관상 건강하고 정상적으로 산란을 하는 개체만을 1차 선별하였고 2차적으로 *S. typhimurium* 편모항원에 대한 혈청 항체가를 측정하여 항체 형성이 되지 않은 28수를 시험 동물로 공시하였다. 시험구의 배치는 완전 임의로 illite 투여구 14수 및 대조구 14수로 설정하였으며, 다시 투여구 및 대조구는 각각 7수씩 2개 군을 나누어 면역 증강제를 달리하여 *Salmonella* 편모항원을 면역 실시하였다. 실험 시작후 8주동안의 산란율을 조사한 결과, illite를 첨가 급여한 투여구와 대조구 사이에 통계학적으로 유의적인 차이는 없었다. *Salmonella* 편모항원에 대한 혈청 항체가를 측정 한 결과, Freund's adjuvant 및 croton oil을 면역 증강제로 이용한 모든 투여구에서 illite를 급여하지 않은 대조구에 비해 항체가가 높은 경향을 알 수 있었다. Freund's adjuvant를 이용한 시험구에서는, illite 투여구의 항체가가 시험 6주부터 9주까지 대조구에 비하여 현저히 높은 것으로 조사되었으며 ($p<0.05$), croton oil을 이용한 시험구에서도 illite 투여구의 혈중 항체가가 시험 4, 6, 7주에 대조구에 비해 현저히 높은 것으로 조사되었다($p<0.05$). 이러한 조사 결과는 산란계에서 illite 첨가 급여함으로써 체액성 면역 반응을 증가시켜 *Salmo-*

*nellosis*와 같은 세균 감염에 대한 방어력이 증대에 도움이 될 수 있을 것이라 사료된다.

(색인어 : 일라이트, 체액성 면역 반응, *S. typhimurium* 편모항원, 산란계)

사 사

본 연구는 2007년 단국대학교 교비연구비 지원을 받아 수행되었습니다.

인용문헌

- Abdullah N, Hanita H, Ho YW, Kudo H, Jalaludin S, Ivan M 1995 The effects of bentonite on rumen protozoal population and rumen fluid characteristics of sheep fed palm kernel cake. *AJAS* 8(3):249-254.
- Bohlin L, Bruhn JG 1999 *Bioassay Methods in Natural Product Research and Drug Development*. Springer (ISBN 079235480X, 9780792354802) Pages 116.
- Harms RH, Darmron RH 1973 The influence of various dietary fillers on the utilization of energy by poultry. *Poultry Sci* 52: 2034(Abstr.).
- Ibrahim GF, Fleet GH, Lyons MJ, Walker RA 1985 Methods for the isolation of high purified *Salmonella* flagellins. *J Clin Microbiol* 22:1040-1044.
- Jacques KA, Axe DE, Haris TR, Harmon DL, Bolsen KK, Johnson DE 1986 Effect of sodium bicarbonate and sodium bentonite on digestion solid and liquid flow and ruminal fermentation characteristics of forage sorghum silage-based diets fed to steers. *J Anim Sci* 63:923-932.
- Kondo N, Wagai B 1968 Experimental use of clinoptilolite-tuff as dietary supplements for pigs. *Yonokai Pages* 1-4.
- Lockman HA, Curtiss III R 1990 *Salmonella typhimurium* mutants flagella or motility remain virulent in BALB/c mice. *Infect Immun* 58:137-143.
- Mumpton FA, La Roca Magica 1999 Uses of natural zeolites in agriculture and industry. *Proc Natl Acad Sci USA* 96: 3463-3470.
- Nakamura M, Nagata T, Okamura S, Takehara K, Holt PS 2004 The effect of killed *Salmonella enteritidis* vaccine prior to

- induced molting on the shedding of *S. enteritidis* in laying hens. *Avian Diseases* 48(1):183-188.
- Robert EA, Rocky ST 1995 Ultrafast protein determinations using microwave enhancement. *Molecular Biotechnology Humana Press Inc. USA* Pages 17-24.
- SAS 1999 SAS User's Guide, Version 6.12. Statistical analysis system. Cary, NC. SAS Institute, Inc.
- 강수원 조창연 김준식 안병석 정하연 서국현 2002 한우 수송아지에 황토, 일라이트, 올리고당, 활성탄 및 크롬 급여가 성장발육 및 면역기능에 미치는 영향. *한국동물자원과학회지* 44(5):531-540.
- 국길 김정은 정진형 김재필 선상수 김광현 정완태 정광화 안중남 이병석 정일병 양철주 양재은 2005 알칼리장식-일라이트가 육용오리의 생산성 및 육질에 미치는 영향. *한국가금학회지* 32(4):245-254.
- 김영직 2007 사료내 생균제, 일라이트, 활성탄 및 목초액의 첨가가 육계의 성장 능력 및 도체 특성에 미치는 영향. *한국가금학회지* 34(3):165-172.
- 김정우 김도균 김철 2000 장관독성 대장균 K99(F5)의 섬모항원에 대한 특이 난황항체의 생산. *한국동물자원과학회지* 42:371-378.
- 김천제 이의수 송민석 조진국 2000 황토성분(Illite) 첨가 급여가 비육돈의 육질에 미치는 영향. *한국축산식품학회지* 20(2):152-158.
- 대한광업진흥공사. 1988. 한국의 광상. 제 11호. 비금속편.
- 송동영 한구석 이남배 김동중 주재섭 1999 한우 거세우 황토급여가 발육 및 육질에 미치는 영향. *대산농촌*. p 15.
- 신순오 김도균 양시용 안태영 김정우 2003 살모넬라 편모항원에 대한 난황항체(IgY)의 생산 및 특성. *한국가금학회지* 30:191-196.
- 엄명호 정필균 엄기태 임형식 1993 회색정암에서 유래된 토양점토 광물의 특성. *한국토양비료학회지* 26:1-9.
- 조현구 박옥희 문동혁 도진영 김순오 2007 영동 일라이트의 인산염 흡착 특성. *한국광물학회지* 20(4):327-337.
- 하홍민 김재황 김삼철 김영민 고영두 2001 육성-비육돈에 대한 Illite의 첨가급여 효과. *한국동물자원과학회지* 43(5): 663-670.
- 한인규 1994 사료자원핸드북. *한국영양사료학회*. p 420.
- (접수: 2009. 7. 17, 수정: 2009. 9. 26, 채택: 2009. 9. 26)