

## 난황 내 색소의 축적은 산란율과 무관함을 제시하는 증거: 균체가 생성하는 Canthaxanthin의 급여에 의해 강화된 난황의 착색

김지민<sup>1</sup> · 김종진<sup>4</sup> · 이시형<sup>4</sup> · 최양호<sup>1,2,3,\*</sup>

<sup>1</sup>경상대학교 대학원 응용생명과학부(BK21), <sup>2</sup>경상대학교 축산학과, <sup>3</sup>경상대학교 농업생명과학연구원, <sup>4</sup>아미코젠(주)

### Evidence Suggesting that the Deposition of Pigments into Yolks is Independent of Egg Production: Enhanced Pigmentation of Yolks by Feeding Hens with Canthaxanthin Biosynthesized by Microbials

Ji-Min Kim<sup>1</sup>, Jong-Jin Kim<sup>4</sup>, Shi-Hyoung Lee<sup>4</sup> and Yang-Ho Choi<sup>1,2,3,\*</sup>

<sup>1</sup>Division of Applied Life Science (BK21 Program), Gyeongsang National University, Jinju 660-701, Korea

<sup>2</sup>Department of Animal Science, Gyeongsang National University, Jinju 660-701, Korea

<sup>3</sup>Institute of Agriculture & Life Sciences, Gyeongsang National University, Jinju 660-701, Korea

<sup>4</sup>Amicogen, Inc., Jinju 660-852, Korea

**ABSTRACT** Pigments in the diet affect yolk colors. Due to variations in both the bioavailability of pigments in chickens and their amounts occurring in the feed ingredients, concern about egg quality arises in terms of yolk color. In this study, the effects of pigments, produced through cell culture in the laboratory, on yolk colors were determined for 4 weeks in laying hens receiving one of the 6 dietary treatments: control diets containing 1) no synthetic pigments (CON); 2) canthaxanthin (4 ppm) purchased from BASF (BASF); 3) cultured cells so that the diet had canthaxanthin at 4 ppm (CX); 4) cultured cells so that the diet had lycopene at 30 ppm (LP); 5) canthaxanthin (4 ppm) that was purified from cultured cells (SPCX); or 6) lycopene (30 ppm) that was purified from cultured cells. Relation between deposition of pigments into yolks and egg production was also tested. Yolk color of eggs from chickens fed dietary CX was significantly enhanced, which was slightly but significantly below that of BASF. Results from other treatments were lower than those of CX. Deposit rates of pigments into yolks were: BASF > CX > SPCX > LP > SPLP. The amounts of pigments, with the exception of SPLP, in feed were not changed during the storage for 4 weeks at 25°C. Egg production rates varied among treatments during the initial phase of the study but became relatively uniform at the later stage, except for CON and LP groups. The results of the present study indicate that the deposition of pigments into yolks is independent of egg production.

(Key words: egg yolk, carotenoids, pigment, canthaxanthin, lycopene, laying hens)

## 서 론

Carotenoids는 식물체의 엽록체에 많이 발견되는 색소로서,  $\beta$ -carotene 및 lycopene 등과 같이 분자 내에 산소를 함유하지 않는 carotene과 lutein, astaxanthin, capsanthin, canthaxanthin, zeaxanthin 등 분자 내에 산소를 함유하는 xanthophyll로 구별된다. 또한 carotenoids는 황색 계통(예,  $\beta$ -carotene, lutein, zeaxanthin)과 적색 계통(예, lycopene, canthaxanthin, astaxanthin)으로 구별된다(홍상필 등, 1999; Baiao et al., 1999;

Butt, 2005).

가금산업에서 carotenoids는 육계 피부나 난황의 착색제로서 오랫동안 주목 받아 왔다(Schwarz and Margalith, 1965; Watkins, 1995; Castaneda et al., 2005; Olson et al., 2008). 난황의 색은 사료에 포함된 carotenoids의 종류와 함량에 의해 영향을 받는다. 예를 들면, 옥수수를 주원료로 만들어진 사료에서는 색소가 결핍되거나 상대적으로 적게 포함된 쌀, 수수, 보리나 밀을 바탕으로 만들어진 사료에서 보다 난황의 황색도가 더 강하다(Ross et al., 1994; Rao et al., 2000; Ka-

\* To whom correspondence should be addressed: yhchoi@gnu.kr

radas et al., 2006). 또한 색소가 난황에 축적되는 정도는 사료에 함유된 색소의 양과 종류에 따라 다르다. 가령, 사료 중의  $\beta$ -carotene은 낮은 비율(1% 이하)로 난황에 축적되기 때문에 색소로서의 가치는 미미하지만, xanthophyll의 일종이며 옥수수에서 많이 발견되는 zeaxanthin은 상대적으로 높은 7% 정도의 난황 축적률을 보인다(National Research Council, 1994). 합성색소인  $\beta$ -apo-8'-carotenoic acid ethyl ester는 corn gluten meal이나 dehydrated alfalfa 유래 xanthophylls 보다 이용성이 높다(Middendorf et al., 1980; Baiao et al., 1999).

색은 소비자가 품질을 인지하는데 영향을 미치는 중요한 요소이며(Francis, 1995), 소비자는 연한 색의 제품보다 높은 가격임에도 불구하고 황색 및 주황색 계통에서 연한 색보다는 진한 색 제품을 더 선호한다(Francis, 1995; Watkins, 1995). 난황색 또한 소비자가 계란의 품질을 인지하는 중요한 요소에 속하며, 소비자의 선호도에도 영향을 미친다(Watkins, 1995). 우리나라에서는 대부분의 단미사료를 외국에서 수입하고 있으며, 국제 곡물 가격의 상승은 국내에서 판매되는 사료의 가격 상승에 결정적인 영향을 미친다. 따라서 안정적으로 단미사료를 확보하고 생산 원가를 줄이기 위하여 단미사료 수입선을 다양화하고 기존의 단미사료를 대체할 수 있는 재료를 발굴하고 이용하는 것이 바람직하다. 이 경우, 우려되는 것이 사료 품질의 변화이며, 이는 계란의 품질 변화로 귀결될 수 있다. 일정한 품질의 계란을 생산하는 것은 소비자의 신뢰를 얻는데 중요하며, 착색제의 사용으로 원료 사료의 변화에 따른 난황색의 변화를 줄일 수 있고, 계란에 대한 소비자의 선호도를 향상시키는데 기여할 것으로 사료된다.

그러나 착색제의 난황 축적률은 다양한 요소에 의해 영향 받을 수 있다. 착색제의 난황 축적률은 사료 중에 포함된 착색제의 양, 사료 중 안정성, 소화율 등에 의해 영향을 받는다(Nys, 2000). 더욱이 사료의 섭취량이 일정하다고 해도 산란율은 같지 않을 수 있으므로 착색제의 난황 축적률은 산란율에 의해 부분적으로 영향을 받을 수 있다. 본 연구에서는 난황색을 강화하기 위하여 오래 전부터 이용되어 왔고, 비교적 난황으로의 축적률이 높은 것으로 알려져 있는 canthaxanthin과 lycopene(Suarez, 1969; Couch and Farr, 1971; Pinchasov et al., 1992; Baiao et al., 1999; Kang et al., 2003; Olson et al., 2008)(Fig. 1 참조)을 착색제의 후보군으로 선정하여, 다양한 형태로 사료에 첨가된 이들의 난황 착색 능력을 조사하였고, 이를 통하여 산란율이 착색제의 난황 축적률에 미치는 영향을 연구하였다. 이러한 결과는 난황 내 색소의 축적률은 산란율과 무관함을 시사한다.

## 재료 및 방법

### 1. 실험 동물, 실험 설계 및 사양 관리

약 70주령 하이라인 브라운 레그혼 산란계 37수가 세 칸이 한 조인 케이지에 조당 3수씩 개별적으로 수용되었다. 사육실의 실내온도는 20°C 내외로 조절되었으며, 점등 시간은 15시간(아침 6시 점등)이었다. 실험 환경에 대한 일주간의 적응 기간 동안에 산란계는 합성 착색제가 포함되지 않은 사료를 공급받았으며, 그 후 실험 사료가 4주 동안 급여되었다. 실험 기간 내에 모든 사료와 물은 제한 없이 공급되었고, 매일 오전 10시에 관찰된 계란의 수를 바탕으로 그 날의 산란율을 계산하였다.

사양 실험에는 6종류의 사료가 사용되었다. 즉, 합성 착색제가 포함되지 않은 시판 사료가 대조구(CON)용 사료로 사용되었고, 이 시판 사료에 다음 중의 하나를 첨가하여 5종의 실험용 사료를 제조하였다. 1) BASF사의 canthaxanthin을 4 ppm 첨가(BASF); 2) 사료 중 canthaxanthin이 4 ppm 포함되도록 canthaxanthin을 함유하는 균체를 첨가(CX); 3) 사료 중 lycopene이 30 ppm 포함되도록 lycopene을 함유하는 균체를 첨가(LP); 4) canthaxanthin을 합성하는 균체로부터 정제한 canthaxanthin(4 ppm)을 첨가(SPCX); 그리고 5) lycopene을 합성하는 균체로부터 정제한 lycopene(30 ppm)을 첨가(SPLP)하였다. BASF사의 canthaxanthin은 positive control로서 이용되었다. 처리구는 처리당 2 반복으로 무작위로 배치되었다.

### 2. 색소의 준비

Canthaxanthin과 lycopene의 생산에 사용된 미생물 균주는 각각의 색소를 발현하는 외래 유전자를 가지고 있는 *E. coli* MC1655 재조합 균주로서, 과발현 시스템을 이용하여 각 건조 균체 1 g당 25 mg의 색소를 함유하고 있었다.

배양한 다음 원심분리로 회수된 균체는 95°C에서 30분간

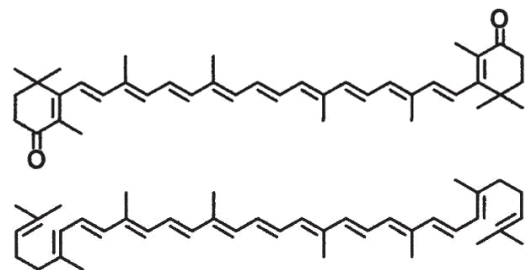


Fig. 1. Chemical structures of canthaxanthin (upper panel) and lycopene.

열처리 및 동결 건조 후 분말화되었다. 각각의 건조된 균체 100 g에 500 mL의 아세톤을 2회 처리하여 색소를 추출하였다. 추출된 액을 여과한 다음 40℃에서 감압농축하여 지용성 성분만을 따로 모은 후, 비누화 반응으로 중성지방 성분을 제거하여 95% 이상의 canthaxanthin과 lycopene을 각각 2.2 g과 2.1 g씩 얻었다.

### 3. 사료 내 색소의 유무 확인 및 안정성

사용된 시판 사료 중 착색제의 첨가 유무를 확인하기 위하여 사양 실험을 시작하기 전에 HPLC를 이용하여 사료를 분석하였고(아래 참조), canthaxanthin과 lycopene이 검출되지 않음을 확인하였다.

사료에 함유된 색소들의 안정성을 조사하기 위하여 갖 제조된 각각의 사료를 25℃에서 4주 동안 저장하였다. 이 기간 동안에 사료 중의 canthaxanthin(4 ppm 기준)와 lycopene(30 ppm 기준)의 함량 변화를 0주(사료 제조 직후), 1주, 2주, 3주 및 4주째에 HPLC를 사용하여 측정하였다. 분석 과정을 간단히 요약하면 다음과 같다. 각각의 사료 10 g을 넣은 tube에 25 mL의 아세톤을 첨가한 후 잘 교반하였다. 그 후 각각의 시료를 20분간 초음파처리하고 원심분리한 후 상등액을 회수하였다. 이들 상등액으로부터 C18 column(Waters, USA)을 장착한 HPLC로 색소들을 분석하였다. HPLC 분석을 위하여 methanol : acetonitrile(7 : 3)의 mobile phase, 1.5 mL/min의 유속, 그리고 470 nm의 파장에서 용리액(eluent)의 흡광도를 측정하여 색소의 양을 추정하였다. 이때 사용된 표준 물질은 Carotenature사(스위스)의 canthaxanthin(No. 0380; 98%)과 lycopene(No. 0031.1; 97%)이었다. 본 연구에서 사용된 사료의 색소 함량은 각 표준 물질의 HPLC 면적에 대한 시료의 상대적 면적으로 도출되었다.

### 4. 색소의 난황 축적률

난황의 착색도는 BASF사(Seoul, Korea)의 Color Fan을 이용하여 측정되었다. 색소의 난황 축적률을 추정하기 위하여 실험 시작 후 3주째에 생산된 계란의 난황에서 색소의 함량을 측정하였다. 간단히 요약하면, 각각의 처리구로부터 각각 난황 1 g, 3차 증류수 1 mL 및 30 mL의 추출 용액(hexane : ethanol : acetone : toluene = 10 : 6 : 7 : 7, v/v/v/v)을 tube에 넣은 후 교반하고 이어서 5분간 초음파처리로 하였다. 그 후 원심분리하여 상등액을 HPLC로 분석하였다. 이렇게 측정된 값과 Color Fan score를 비교하였다. 색소의 난황 축적률을 추정하기 위하여 다음과 같이 전제하였다. 실험에 사용된 산란계들의 체중, 난중(따라서 난황 무게), 색소의 소화율 및

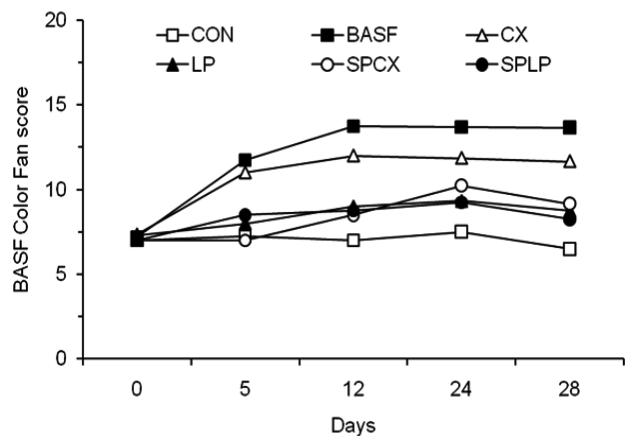
흡수율은 실험 기간 동안 처리구 사이에 동등하다고 가정하였다. 따라서 이러한 조건에서 색소의 난황 축적률은 계란 1개당 색소량( $\mu\text{g}$ ) / [사료 섭취량  $\times$  사료 중 색소 첨가량(4 ppm 혹은 30 ppm)]  $\times$  100으로 추정되었다.

### 5. 통계 분석

본 실험에 얻어진 자료는 SAS package program(v. 9.2)를 이용하여 One-way 또는 Two-way(색소  $\times$  급여 기간) 분산분석을 하여 유의성을 검정(난황색)하였고, 그 후 처리구간의 평균치 비교는 SIDAK으로 행했다.

## 결 과

실험 개시 직전에는 처리구간의 난황 색도의 차이는 없었다(Fig. 2). 또한 대조구에서는 실험 전 기간에 걸쳐서 난황 색도가 전혀 변하지 않았다. 반면에 착색제의 급여는 통계적으로 유의하게 난황색을 증가시켰다( $F(5, 233)=418.6, P<0.0001$ ). 착색제를 함유한 모든 처리구에서 실험 사료 급여 5일 이후부터 BASF Color Fan으로 측정된 난황 색도의 수치는 대조구의 수치보다 높았다( $F(17, 233)=31.6, P<0.00001$ ). 난황색



**Fig. 2.** Effects of feeding dietary synthetic pigments on egg yolk colors determined by BASF Color Fan score. Laying hens were given one of 6 dietary treatments for 28 days. CON: a layer diet containing no synthetic pigments serving as control diet; BASF: control diet containing canthaxanthin (4 ppm) purchased from BASF; CX: control diet containing cultured cells so that the diet had canthaxanthin (4 ppm); LP: control diet containing cultured cells so that the diet had lycopene (30 ppm); SPCX: control diet containing canthaxanthin (4 ppm) that was purified from cultured cells; SPLP: control diet containing lycopene (30 ppm) that was purified from cultured cells.

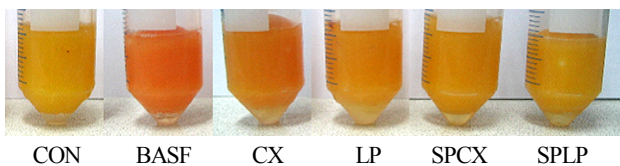
은 실험사료를 급여한 후 12일 또는 24일째에 최고치를 보였고, 그 후에는 변화가 거의 없었으며, 이러한 경향은 positive control인 BASF 처리구에서도 관찰되었다. CX 처리구의 색도는 BASF보다는 약간 적지만 유의하게 낮았고, 그 나머지 처리구에 비해 유의하게 높았다( $P < 0.0001$ )(CX:  $11.0 \pm 1.6$  vs. BASF:  $11.9 \pm 2.3$ ).

Fig. 3은 실험 사료 급여 개시 후 2주째에 채란된 계란의 난황을 촬영한 사진이다. 사진에서 난황의 색도는 BASF Color Fan으로 측정된 난황 색도의 수치와 유사하게 positive control인 BASF 처리구의 난황에서 가장 강한 주황색을 띠었고, 그 다음이 CX 처리구의 난황이었다. 그 다음은 LP, SPCX 및 SPLP 순서로 유사한 색도를 나타내었고, 대조구(CON)의 난황 색도가 가장 노란색에 가깝게 관찰되었다.

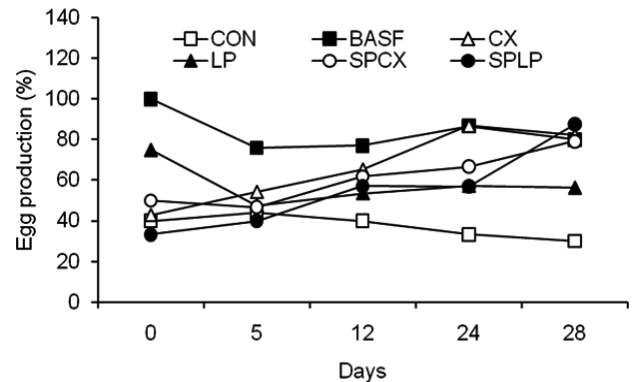
처리구별 산란율의 변화를 Fig. 4에서 나타내었다. 실험 초기에는 처리구간 산란율의 차이가 현저하였지만, 시간이 지날수록 산란율은 일정하게 되어 실험의 중반에는 대조구(33%) 및 LP 처리구(57%)를 제외하고 산란율이 80% 전후였다.

색소의 외관상 난황 축적률(apparent deposition rate)은 BASF (7.7%) > CX(4.3%) > SPCX > LP > SPLP(0.4%)의 순서였고, 산란율이 고려된 진정 난황 축적률(true deposition rate)은 외관상 난황 축적률보다 약간 낮았지만, 축적률의 순서에는 변화가 없었다(Table 1). 그러나 착색 효율(coloring efficiency of pigments) [BASF Color Fan score를 계란 1개에 포함된 색소의 양( $\mu\text{g}/\text{egg}$ )으로 나눈 값]은 SPCX(0.90) > SPLP(0.60) > CX(0.55) > BASF(0.34) > LP(0.31)의 순서였다.

사료 저장 중 색소의 함량 변화는 Fig. 5에 표시되었다.



**Fig. 3.** Representative colors of eggs yolks produced from laying hens consuming diets with or without synthetic pigments. Laying hens were given one of the 6 dietary treatments for 28 days. Yolk colors were determined by BASF Color Fan. CON: a layer diet containing no synthetic pigments serving as control diet; BASF: control diet containing canthaxanthin (4 ppm) purchased from BASF; CX: control diet containing cultured cells so that the diet had canthaxanthin (4 ppm); LP: control diet containing cultured cells so that the diet had lycopene (30 ppm); SPCX: control diet containing canthaxanthin (4 ppm) that was purified from cultured cells; SPLP: control diet containing lycopene (30 ppm) that was purified from cultured cells.



**Fig. 4.** Changes in egg production (%). Laying hens were given one of the 6 dietary treatments for 28 days. CON: a layer diet containing no synthetic pigments serving as control diet; BASF: control diet containing canthaxanthin (4 ppm) purchased from BASF; CX: control diet containing cultured cells so that the diet had canthaxanthin (4 ppm); LP: control diet containing cultured cells so that the diet had lycopene (30 ppm); SPCX: control diet containing canthaxanthin (4 ppm) that was purified from cultured cells; SPLP: control diet containing lycopene (30 ppm) that was purified from cultured cells.

SPLP와 LP를 제외하고 나머지는 25°C에서 4주 동안 안정된 상태를 보였다. SPLP는 4주 동안에 서서히 감소하여 처음에 비해 약 60%가 분해된 반면, LP의 함량은 약간의 상승하였다.

## 고찰

본 연구의 결과는 다음 두 가지 사실을 시사한다. 첫째, 착색제의 난황 축적률은 산란율에 독립적이다. 즉, Fig. 2 및 Fig. 4의 결과를 비교해 보면 난황의 착색은 산란율에 전혀 영향을 받지 않음을 나타낸다. 예를 들면, CX 처리구에서 5일째에 산란율이 54.3%일 때 난황 색도는 11.0이었지만, 24일째에 산란율이 86.9%일 때 오히려 난황 색도는 11.9로 약간 상승하였다. 이러한 경향은 다른 처리구에서도 일관되게 발견된다. SPCX 처리구의 경우에도 5일째의 산란율이 46.7%일 때 난황 색도는 7.0이었지만, 24일째에 산란율이 66.7%일 때 오히려 난황 색도는 10.3으로 약간 상승하였다. 더욱이 SPLP 처리구에서도 산란율의 상승에 따라 난황 색도가 24일째까지 증가되었다. 그러므로 CX와 BASF 사이에 난황색에 있어서 차이도 산란율의 차이 때문으로 설명될 수 없다. 따라서 이러한 결과는 같은 조건에서 산란율이 높다면 난황 효율이 떨어질 것이라는 시험전의 예상에 반하는 것이며, 난황의 착색도는 오히려 산란에 영향을 미치는 다른 어떤

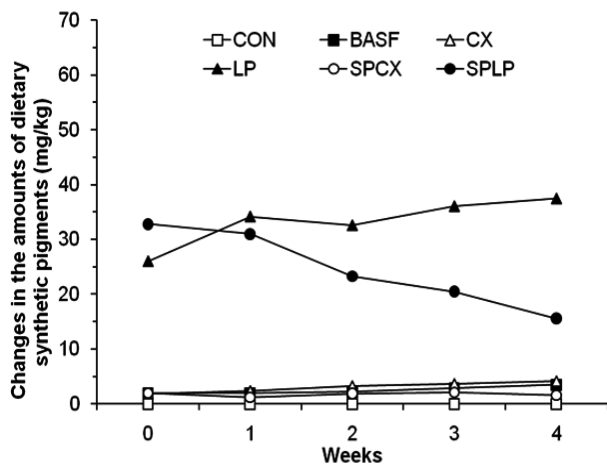
**Table 1.** Deposition rates of dietary synthetic pigments into egg yolks<sup>1</sup>

Dietary treatment	CON <sup>3</sup>	BASF	CX	LP	SPCX	SPLP
Daily pigment intake ( $\mu\text{g}/\text{bird}$ )	—	556	508	3,030	484	3,540
Pigments ( $\mu\text{g}/\text{egg}$ )	—	42.7	21.8	29.3	10.6	14.1
Egg production (%)	33.3	86.7	86.9	57.3	66.7	56.9
BASF Color Fan score	7	14.5	12	9	9.5	8.5
Apparent deposition rates (%) <sup>2</sup>	—	7.7	4.3	1.0	2.2	0.4
True deposition rates (%) <sup>2</sup>	—	6.7	3.7	0.6	1.5	0.2
Coloring efficiency of pigments <sup>2</sup>	—	0.34	0.55	0.31	0.90	0.60

<sup>1</sup>Laying hens were given one of the 6 dietary treatments for 28 days. The data, collected at 3 weeks after the initiation of the feeding trial, were used in the calculation. To simplify the estimation of deposition rate of pigments into yolks, it was assumed that body weight, and egg weight (thus yolk weight), and both digestibility and absorption rates of the pigments were identical among the treatment groups during the time period of the feeding study.

<sup>2</sup>Apparent deposition rate (%) was calculated by dividing the amounts of pigments found in the egg with daily pigment intake multiplied by 100. True deposition rate (%) was derived by considering egg production (%): that is, apparent deposition rate  $\times$  egg production divided by 100. Coloring efficiency of pigments was calculated by dividing BASF Color Fan score with the amounts of pigments found in the egg.

<sup>3</sup>CON: a layer diet containing no synthetic pigments serving as control diet; BASF: control diet containing canthaxanthin (4 ppm) purchased from BASF; CX: control diet containing cultured cells so that the diet had canthaxanthin (4 ppm); LP: control diet containing cultured cells so that the diet had lycopene (30 ppm); SPCX: control diet containing canthaxanthin (4 ppm) that was purified from cultured cells; SPLP: control diet containing lycopene (30 ppm) that was purified from cultured cells.



**Fig. 5.** Changes in the amounts of synthetic pigments in the diets during storage at 25°C for 4 weeks (mg/kg). CON: a layer diet containing no synthetic pigments serving as control diet; BASF: control diet containing canthaxanthin (4 ppm) purchased from BASF; CX: control diet containing cultured cells so that the diet had canthaxanthin (4 ppm); LP: control diet containing cultured cells so that the diet had lycopene (30 ppm); SPCX: control diet containing canthaxanthin (4 ppm) that was purified from cultured cells; SPLP: control diet containing lycopene (30 ppm) that was purified from cultured cells.

요인(이를 테면, 내분비)에 의해 영향을 받을 수 있을 것이라는 것을 시사한다. 둘째, 착색제의 난황 축적률은 착색 효율과 다르다. 착색제의 난황 축적률은 BASF 처리구에서 가장 높았지만, 착색 효율은 SPCX 처리구에서 가장 높았다. 따라서 착색 효율은 높았지만, BASF Color Fan score가 상대적으로 낮은 CX, SPCX 및 SPLP에서는 목표치의 착색도를 얻기 위해서 난황 축적률을 향상시킬 필요가 있다(Table 1). 그러므로 착색 효율과 난황 축적률은 반드시 같은 것은 아니기 때문에 착색제를 개발할 때 착색 효율뿐만 아니라 난황 축적률을 높일 수 있는 전략적인 접근이 필요하다.

본 연구에서 난황 축적률에 관한 결과는 2% 전후의 난황 축적률을 관찰한 다른 연구 결과에 비해서는 현저하게 높은 수치(0.4~7.7%)지만, 4~12 ppm의 lycopene을 사료에 첨가했을 때 BASF Color Fan score와는 비슷하다(Kang et al., 2003). 반면에 canthaxanthin의 경우, 사료에 4 ppm이 포함되었을 때 4.3%의 축적률이 관찰(Table 1)되었지만, Grashorn and Steinberg(2002)는 40.3%라는 높은 축적률을 관찰하였다. Canthaxanthin이 본 연구에서 첨가된 양의 무려 16배(0.5~64 ppm)까지 사료에 포함되었을 때도 높은 축적률(39~51%)이 관찰되었다. 그러나 그들의 연구에서 밝혀진 한가지는, CX의 축적률은 사료에 포함된 canthaxanthin의 양에 비례하지 않

는다는 것이다(Grashorn and Steinberg, 2002). 반면에 난황의 색도는 사료 중에 포함된 canthaxanthin의 양에 비례하여 강화되었다. 이들의 결과에서 Roche Yolk Colour Fan으로 측정된 난황의 색도는 4 ppm의 canthaxanthin에서 12.9였고 이는 현재의 연구 결과와 근사하다.

본 연구에서 착색제 효과는 급여 개시 5일째에 나타나기 시작하여 12일째 이후에 최고 높았고, 그 이후 28일까지 일정하게 유지되었다. Color Fan으로 측정된 난황색은 어느 한도까지 사료에 첨가된 색소의 종류와 양에 비례하고(Grashorn and Steinberg, 2002; Ponsano et al., 2004), 사료에 포함된 색소의 종류와 첨가된 양에 따라 다르지만, 급여 15~20일(Ponsano et al., 2004) 또는 6일 전후(Kang et al., 2003)에서 최고에 달한다. 이러한 차이는 전자에서는 색소를 합성하는 미생 물체가 사료에 포함된 반면(Ponsano et al., 2004) 후자에서는 색소(lycopene) 그 자체가 사료를 통해서 산란계에게 공급되었기(Kang et al., 2003) 때문으로 사료된다. Xanthophyll의 공급원으로서 광합성 세균 *Rhodocyclus gelatinosus*가 포함된 사료를 섭취한 산란계의 계란에서 난황색은 사료 급여 15일 정도에 최고에 달하여 이후 30일까지 일정하였다(Ponsano et al., 2004). 또한 착색제로 사용된 xanthophylls의 비누화 유무에 따라라도 착색 능력은 다르다. 실제로 xanthophylls의 비누화로 착색 효과가 향상된다는 것이 보고되었다(Galobart et al., 2004). 따라서 색소의 급여 개시 후 난황 색소의 변화를 나타내는 본 연구의 결과는 전체적으로는 이 두 연구의 결과와 일치한다.

착색제의 진정 축적률은 외관상 축적률보다 약간 낮다. 그것은 산란율이 고려되었기 때문이며, 이것은 산란계 체내에 축적된 착색제의 총량은 산란율에 영향을 받는다고 가정하였기 때문이다. 본 연구의 결과는 착색제의 종류나 가공 정도에 따라 난황 축적률이 낮음에도 착색 효율이 다르다는 것을 보이며, 이는 착색제의 소화 흡수 및 난황 내로의 축적 과정이 생각했던 것보다 단순하지 않다는 것을 시사한다.

착색제의 난황 축적률은 다양한 요소에 의해 영향을 받을 수 있으며, 또한 사료에 포함된 착색제가 사료의 저장기간 중 분해되지 않아야 한다(Nys, 2000). 따라서 SPLP의 경우, 난황 축적률뿐만 아니라 사료 내 착색제의 안정성까지도 향상시킬 필요가 있다.

## 적 요

산란율이 착색제의 난황 축적률에 미치는 영향을 조사하기 위하여 본 연구에서는 미생물 균주를 통해 합성된 몇 가

지 형태의 착색제를 산란계에게 급여한 후 그들의 난황 착색 능력을 비교하였다. 약 70주령의 하이라인 브라운 산란계 37 수를 6개의 처리구로 나누어 다음의 사료를 4주 동안 급여했다. 1) 착색제를 포함하지 않은 시판 사료(CON); 2) 시판 사료에 BASF 사가 제조한 canthaxanthin을 4 ppm 첨가(BASF); 3) 사료 중 canthaxanthin이 4 ppm 포함되도록 canthaxanthin 균체를 시판 사료에 첨가(CX); 4) 사료 중 lycopene이 30 ppm 포함되도록 lycopene 균체를 시판 사료에 첨가(LP); 5) canthaxanthin의 합성 균체로부터 정제된 canthaxanthin 이 시판 사료에 4 ppm 첨가(SPCX); 그리고 6) lycopene의 합성 균체로부터 정제된 lycopene이 시판 사료에 30 ppm 첨가(SPLP). BASF Color Fan으로 측정된 난황의 착색도는 BASF > CX > LP 급여구 순이었다. 실험 초기에 산란율은 처리구간 차이가 있었지만 실험의 중반에 80% 정도였고, 특히 BASF와 CX 처리구간에 차이는 없었다. 색소의 난황 축적률은 BASF > CX > SPCX > LP > SPLP 순이었고, 착색제의 착색 효율 ["BASF Color Fan score"를 "계란 1개에 포함된 색소의 양( $\mu\text{g}/\text{egg}$ )"으로 나눈 값]은 SPCX > SPLP > CX > BASF > LP 순이었다. SPLP를 제외하고 착색제들은 25°C에서 4주 동안 비교적 사료 주의 함량이 변하지 않았다. 따라서 본 연구의 결과는 착색제의 난황 축적률은 산란율에 독립적임을 시사한다.

(색인어: 난황, 카로티노이드, 색소, 캔타잔틴, 라이코펜, 산란계)

## 사 사

Ji-Min Kim was supported in part by scholarship from a BK21 Program, the Ministry of Education, Science and Technology, Korea. The study was supported in part by an NBG21 (PJ0080492011).

## 인용문헌

- Baiao NC, Mendez J, Mateos J, Garcia M, Mateos GG 1999 Pigmenting efficacy of several oxycarotenoids on egg yolk. J Appl Poult Res 8:472-479.
- Butt UJ 2005 Carotenoids in the eggs of American coots: Associations with size of eggs, local environment and diet, University of Saskatchewan, Saskatoon, Saskatchewan, Canada.
- Castaneda MP, Hirschler EM, Sams AR 2005 Skin pigmentation evaluation in broilers fed natural and synthetic pigments. Poultry Sci 84:143-147.

- Couch JR, Farr FM 1971 The effect of adding canthaxanthin and beta-apo-8'-carotenal to laying diets containing yellow corn and alfalfa on egg yolk pigmentation. *Br Poult Sci* 12:49-56.
- Francis FJ 1995 Quality as influenced by color. *Food Quality and Preference* 6:149-155.
- Galobart J, Sala R, Rincon-Carruyo X, Manzanilla EG, Vila B, Gasa J 2004 Egg yolk color as affected by saponification of different natural pigmenting sources. *J Appl Poult Res* 13:328-334.
- Grashorn MA, Steinberg W 2002 Deposition rates of canthaxanthin in egg yolks. *Archiv fur Geflugelkunde: Eur Poult Sci* 66:258-262.
- Kang DK, Kim SI, Cho CH, Yim YH, Kim HS 2003 Use of lycopene, an antioxidant carotenoid, in laying hens for egg yolk pigmentation. *Asian-Aust J Anim Sci* 16:1799-1803.
- Karadas F, Grammenidis E, Surai PF, Acamovic T, Sparks NH 2006 Effects of carotenoids from lucerne, marigold and tomato on egg yolk pigmentation and carotenoid composition. *Br Poult Sci* 47:561-566.
- Middendorf DF, Childs GR, Cravens WW 1980 Variation in the biological availability of xanthophyll within and among generic sources. *Poultry Sci* 59:1460-1470.
- National Research Council. 1994. *Nutrient Requirements of Poultry*. 9th ed. National Academy Press, Washington, DC.
- Nys Y 2000 Dietary carotenoids and egg yolk coloration - a review. *Archiv fur Geflugelkunde* 64:45-54.
- Olson JB, Ward NE, Koutsos EA 2008 Lycopene incorporation into egg yolk and effects on laying hen immune function. *Poultry Sci* 87:2573-2580.
- Pinchasov Y, David G, Zohari S 1992 Dietary supplementation with xanthophyll as an effective way of identifying low-producing broiler breeder hens. *Poultry Sci* 71:1436-1441.
- Ponsano EHG, Pinto MF, Neto MG, Lacava PM 2004 *Rhodocyclus gelatinosus* biomass for egg yolk pigmentation. *J Appl Poult Res* 13:421-425.
- Rao SV, Reddy MR, Prarharaj NK, Sunder GS 2000 Laying performance of broiler breeder chickens fed various millets or broken rice as a source of energy at a constant nutrient intake. *Trop Anim Health Prod* 32:329-338.
- Ross E, Puapong DP, Cepeda FP, Patterson PH 1994 Comparison of freeze-dried and extruded *Spirulina platensis* as yolk pigmenting agents. *Poultry Sci* 73:1282-1289.
- Schwarz Y, Margalith P 1965 Production of egg yolk coloring material by a fermentation process. *Appl Microbiol* 13:876-881.
- Suarez D 1969 Incorporation of lycopene in egg yolk. *Poultry Sci* 48:733-735.
- Watkins BA 1995 Chapter 7. The nutritive value of the egg. In: W. J. Stadelman and O. J. Cotterill (eds.) *Egg Science and Technology*. pp. 177-194. Haworth Press.
- 홍상필 김명희 황재관 1999 Carotenoids의 생리 기능성과 생산기술. *한국식품영양과학회지* 27:1297-1306.  
(접수: 2011. 8. 19, 수정: 2011. 9. 14, 채택: 2011. 9. 15)