

시금치 분말 및 농축액의 첨가 급여 수준이 난황 내 루테인 함량에 미치는 영향

강근호[†] · 김상호[†] · 김지혁 · 강환구 · 김동욱 · 나재천 · 서옥석 · 조수현 · 성필남 · 박범영 ·
장애라 · 강선문 · 김동훈
농촌진흥청 국립축산과학원

Effect of Dietary Supplementation Levels of Spinach Powder and Extract on Lutein Content in Egg Yolk

Geunho Kang[†], Sangho Kim[†], Jihyuk Kim, Hwanku Kang, Dongwook Kim, Jaecheon Na, Oksuk Suh, Soohyun Cho, Pilnam Seong, Beomyoung Park, Aera Jang, Sunmoon Kang and Donghun Kim
National Institute of Animal Science, Rural Development Administration, Suwon 441-706, Korea

ABSTRACT This study was conducted to investigate the effect of dietary supplementation levels of spinach powder and extract on performance, egg quality and lutein content in egg yolk. Laying hens were subjected to one of the following treatments; C, basal diet (BD); T1, BD + 1 ppm lutein from spinach powder; T2, BD + 1 ppm lutein powder from spinach extract; T3, BD + 2 ppm lutein powder from spinach extract; T4, BD + 2 ppm lutein from spinach extract. As a result, performance of laying hens was no significant difference among treatments. T4 had a significantly ($p < 0.05$) higher egg yolk color than the other treatments. As from the lutein content in egg yolk, T4 had a significantly ($p < 0.05$) higher content than the other treatments. Finally, these results suggested that the dietary supplementation for lutein-rich egg production, lutein concentration must be higher than a minimum of 2 ppm. Also, dietary with lutein extract from raw materials was appropriate for lutein-rich egg production than dietary with raw materials.

(Key words : egg, egg yolk, lutein, spinach)

서 론

기능성 계란으로 판매되고 있는 시금치의 제품들은 저콜레스테롤, 지방 등의 성분들을 감소시키는 제품에서 항산화제, 비타민, 칼슘 등과 같이 건강에 유익한 성분들을 강화시키는 제품들로 판매되고 있다. 현재 유통되고 있는 기능성 계란은 산란계 사료 내 특정성분을 첨가하여 난황 내 유익한 성분들을 축적시켜 생산되고 있다. 최근 들어 업계에서는 기능성 계란 생산에 대해 많은 관심을 가지고 시금치에 많은 종류의 상품을 내놓았지만, 기능성 원료 물질의 계란 내 이행되는 함량 미표시 및 함량 미달이 궁극적으로 계란소비 활성화에 긍정적이지 못한 소비자의 불신을 초래시킬 때 마다 채란산업은 더욱 힘들어졌다.

카로티노이드는 계란과 닭고기의 착색을 위하여 가금 산업에 많이 이용되어 왔다(Lesson and Summers, 1997). 루테

인은 일반적으로 황색 색소 물질로써 난황 및 녹황색 채소 등에서 얻은 황색 색소 또는 리포프롬을 말하며, 카로티노이드의 일종으로 크산토펴과 밀접한 관련이 있다. 최근 루테인은 망막세포에 대한 항산화 효과가 강력하여 시력 보호 및 증진에 효과가 있는 물질로 알려지면서 이에 대한 많은 연구가 활발히 진행되고 있다(Bartlett and Eperjesi, 2008; Landrum and Bone, 2001; Liu et al., 2007). 특히, 루테인은 백내장(Gale et al., 2001), 노인황반변성(Mares-Perlman et al., 2002) 등에 효과적인 것으로 알려져 있으며, 루테인 섭취에 따른 임상 효과 검증 사례도 지속적으로 보고되고 있다. 미국농무부의 조사에 따르면, 미국인들은 하루에 1.7 mg의 루테인 섭취를 하는 것으로 알려져 있으며(National Institute of Medicine, 2001), 유럽인들은 하루에 2.2 mg의 루테인을 섭취하는 것으로 알려져 있다(Nebeling et al., 1997). 복미 사람들의 경우, 백내장과 노인성 시력 감퇴 예방을 위

[†] To whom correspondence should be addressed : kangroot@korea.kr, kims2051@korea.kr

해 하루에 루테인과 제아잔틴을 1 mg 수준으로 섭취하더라도 효과가 있는 것으로 보고되었다(Grando et al., 2003).

따라서 본 연구에서는 산란계 사료 내 루테인 함유 물질 급여로 루테인 강화 기능성 계란 생산에 관한 기초 자료를 제공하고자 수행하였다.

재료 및 방법

1. 시험 동물 및 시험 설계

갈색 산란계 200수를 8주간 사육하여 생산성 및 난황 내 루테인 함량을 조사하였다. 처리 내용은 Table 1과 같이 시판 사료를 대조구로 하였으며, 처리구는 시판 사료에 시금치 분말 1 ppm, 분말화된 루테인 추출물 1, 2 ppm, 및 루테인 추출물 2 ppm을 첨가 급여하였다. 본 시험에 사용된 시금치 분말은 일반산업용 회사(가루나라, 한국)로부터 구입 후 발효 주정(대한주정라이프, 한국)과 함께 루테인 화합물을 추출하고, HPLC(10AD, Shimazu, Japan)로 루테인 함량을 측정하여 다음 이용하였다. 루테인 화합물은 일반상온에서 시료 중량에 대한 4배의 발효 주정과 함께 추출하였으며, 농도 조절을 위해 발효 주정을 사용하였다. 시금치 분말로부터 추출하여 분말화된 루테인 화합물은 산업용 회사(누보비엔티, 한국)로부터 구입하였다. 기본 배합사료 내 루테인 함량을 측정할 결과 4 mg/kg이었으며, 최종 처리구별 사료 내 루테인 함량은 C; 4 mg/kg, T1; 5 mg/kg, T2; 5 mg/kg, T3; 6 mg/kg, T4; 6 mg/kg이었다. 난황 내 루테인 함량의 조사는 급여 2주일 간격으로 계란을 수거하여 분석하였다.

2. 시험 사료 및 사양 관리

기초 사료는 옥수수·대두박 위주의 가루 사료 형태로 NRC (1994) 요구량을 충족하도록 대사 에너지는 2,800 kcal/kg, 조단백질은 16% 수준으로 하였다(Table 2). 공시계는 전 시험기간 동안 니플이 설치된 3단 케이지에서 사육하였으며, 환경 변이를 최소화하고자 처리반복간의 배치를 조정하였다. 사료는 전 기간 자유로 채식하도록 하였으며, 점등은 17시간으로 고정하였다.

3. 조사 항목

1) 생산성, 난각색 및 난황색

산란수와 난중은 매일 15시에 측정하였으며, 사료 섭취량은 2, 4, 6 및 8주에 각각 조사하였다. 산란율은 hen day로 표시하였으며, 평균 난중은 기형란을 제외한 정상란에 대하여

Table 1. Formula and chemical composition (%) of the basal diet

Ingredient	Basal diet (%)
Corn	57.69
Soybean meal	24.49
Corn gluten meal	3.36
Soybean oil	2.5
DCP*	1.66
Limestone	9.72
Salt	0.25
Methionine (99%)	0.13
L-Lysine	0.1
Vitamin-mineral mixture ¹	0.1
Total	100
Calculated value	
ME (kcal/kg)	2,800
Crude protein (%)	18
Ca (%)	4
Available P (%)	0.4
Lysine (%)	0.9
Met+Cys (%)	0.7

*Vitamin A, 1,600,000 IU; vitamin D₃, 300,000 IU; vitamin E, 800 IU; vitamin K₃, 132 IU; vitamin B₂, 1,000 mg; vitamin B₁₂, 1,200 mg; niacin, 2,000 mg; pantothenate calcium 800 mg; folic acid, 60 mg; chlorine chloride, 35,000 mg; dl-methionine, 6,000 mg; iron, 4,000 mg; cooper, 500 mg; manganese, 12,000 mg; zinc, 9,000 mg; cobalt, 100 mg; BHT, 6,000 mg; iodine, 250 mg.

칭량하였다. 1일 산란량은 총산란율과 평균 난중을 곱하여 계산하였다. 사료 섭취량은 수당 섭취량으로 표시하였으며, 사료 요구율은 수당 1일 사료 섭취량으로 1일 산란량을 나누어 계산하였다.

난각색 및 난황색은 시험개시 시, 급여 2, 4, 6 및 8주시 반복별 임의로 5개씩 100개의 계란을 수집하여 QCM+(Technical Services and Supplies, York, England)를 이용하여 조사하였다.

2) HPLC 분석

루테인 함량 분석을 위해 난황은 9배의 아세톤과 함께 추출된 색소물질은 0.45 μ m 실린저형 필터(HP045, Advantec,

Table 2. Effect of dietary supplementation of spinach powder and extract on production of laying hens

Treatments*	Egg production (%)	Egg weight (g)	Egg mass (g/bird)	Feed intake (g/day/bird)	Feed conversion
C	83.5	65.9	55.1	111.9	2.07
T1	85.6	65.2	55.9	112.7	2.10
T2	83.3	65.3	54.3	113.7	2.16
T3	85.1	65.5	55.8	111.8	2.07
T4	85.5	66.8	57.4	112.7	2.14
SEM	0.79	0.62	0.83	0.57	0.02

*C; control, T1; 1 ppm lutein from spinach powder, T2; 1 ppm lutein powder from spinach extract, T3; 2 ppm lutein powder from spinach extract, T4; 2 ppm lutein from spinach extract.

Japan)로 여과하여 1 mL의 추출물을 채취하였다. 채취된 시료의 용매를 완전히 제거하여 용액(hexane:ethyl acetate=65:35)으로 용해하여 HPLC(10AD, Shimadzu, Japan)를 이용하여 분석하였다. 루테인 분석은 VP-ODS(250x4.6 mm, Shimadzu, Japan) 칼럼을 이용하여 60분 동안 검출하였다(UV/Vis detector, Shimadzu, Japan). 이때 이동상의 조건은 1 mL/min(20% methanol, 73% acetonitrile, 7% Tris-HCl buffer(pH 8.0))로 용리시켜 주었다. 루테인 분석을 위한 표준물질은 Xanthophyll(6250, Sigma, USA)를 구입하여 이용하였다.

4. 통계분석

실험에서 측정된 생산성, 난각색, 난황색 및 난황 내 루테인 함량 값들은 SAS 9.2 프로그램(2008)을 이용하여 분산분석 및 다중검정을 통해 5% 수준에서 처리구간 유의성을 검정하였다.

결과 및 고찰

1. 생산성, 난각색 및 난황색

산란계 사료 내 루테인 함유 물질의 첨가 급여 수준에 따른 산란계의 총산란율, 평균 난중, 일산란량, 사료 섭취량 및 사료 효율은 처리구간 유의적인 차이가 없는 것으로 나타났다(Table 2). 한편, 난각 색깔에 있어서는 급여 2주 후에는 처리구간 유의적인 차이가 없는 것으로 나타났다(Table 3). 루테인 첨가 급여 수준에 따른 난황색을 조사한 결과, 2 ppm의 루테인을 첨가 급여한 T4 처리구는 급여 2주부터 다른 처리구에 비해 유의적으로($p<0.05$) 진한 것으로 나타났다(Table 4). 이상의 결과에서 루테인 함유 물질의 첨가 급여가 산란계의 생산성 및 계란의 외부 품질인 난각색에 영향을 미치지

Table 3. Effect of dietary supplementation of spinach powder and extract on egg shell color of laying hens

Treatments*	Feed period (weeks)				
	0	2	4	6	8
C	26.7 ^{Bbc}	25.6 ^c	27.6 ^{abc}	28.5 ^{ab}	29.9 ^a
T1	29.7 ^{Aa}	25.6 ^b	29.1 ^a	28.6 ^a	29.6 ^a
T2	28 ^{ABa}	24.9 ^b	29.8 ^a	29.3 ^a	28.7 ^a
T3	27.5 ^{ABbc}	25.8 ^c	28.3 ^{ab}	29.3 ^{ab}	30.3 ^a
T4	26.6 ^{Bbc}	25 ^c	29.3 ^{ab}	28.1 ^{ab}	30.2 ^a
SEM	0.34	0.36	0.46	0.43	0.41

*C; control, T1; 1 ppm lutein from spinach powder, T2; 1 ppm lutein powder from spinach extract, T3; 2 ppm lutein powder from spinach extract, T4; 2 ppm lutein from spinach extract.

^{A,B} Means with different superscripts within a column differ significantly ($p<0.05$).

^{a-c} Means with different superscripts within a row differ significantly ($p<0.05$).

않는 것으로 나타났으며, 처리구간 난황 내 루테인의 함량에 차이가 있을 것으로 판단되었다.

2. 난황 내 루테인 함량

산란계 사료 내 루테인 함유 물질의 첨가 급여 수준에 따른 난황 내 루테인의 함량은 Table 5에 나타내었다. 그 결과, 2 ppm의 루테인을 첨가 급여한 T4 처리구에서 급여 2주부터 다른 처리구에 비해 유의적으로($p<0.05$) 높게 나타났다(Table 5). 이러한 결과는 난황 색깔의 변화와 유사한 양상을 보여 기능성 축산물에 대해 시각적인 차이를 기대하는 소비자들의 기대에 부응할 수 있을 것으로 판단된다.

Lesson과 Caston(2004)은 정제된 루테인 125 ppm을 산란계에 급여시 일주일 후에 난황색이 짙어지는 것으로 나타났으며, 125 ppm의 10배인 1,250 ppm을 급여하더라도 루테인 급여구간에는 난황색에 영향을 주지 않는 것으로 보고하였다. 하지만, 루테인이 시력 보호에 효과가 있는 물질로 알

Table 4. Effect of dietary supplementation of spinach powder and extract on egg yolk color of laying hens

Treatments*	Feed period (weeks)				
	0	2	4	6	8
C	6.48 ^{Ab}	7.63 ^{Aa}	7.45 ^{Ba}	7.81 ^{Ba}	7.41 ^{Ba}
T1	6.23 ^{ABd}	7.17 ^{Bc}	7.7 ^{Bb}	8.14 ^{ABa}	7.31 ^{Bc}
T2	5.93 ^{Bd}	7.17 ^{Bc}	7.75 ^{Bb}	8.3 ^{Aa}	8.03 ^{Aab}
T3	6.45 ^{ABc}	7.5 ^{ABb}	7.95 ^{ABa}	8.29 ^{Aa}	7.32 ^{Bb}
T4	6 ^{ABc}	7.6 ^{Ab}	8.3 ^{Aa}	8.21 ^{ABa}	7.21 ^{Bb}
SEM	0.08	0.06	0.08	0.07	0.07

*C; control, T1; 1 ppm lutein from spinach powder, T2; 1 ppm lutein powder from spinach extract, T3; 2 ppm lutein powder from spinach extract, T4; 2 ppm lutein from spinach extract. ^{A,B} Means with different superscripts within a column differ significantly ($p < 0.05$).

^{a-d} Means with different superscripts within a row differ significantly ($p < 0.05$).

Table 5. Effect of dietary supplementation of spinach powder and extract on lutein content (mg/18 g egg yolk) accumulation from egg yolk

Treatments*	Feed period (weeks)			
	2	4	6	8
C	0.42 ^{Aa}	0.33 ^{Bb}	0.35 ^{Cb}	0.44 ^{Da}
T1	0.36 ^{Bb}	0.39 ^{Bb}	0.40 ^{BCb}	0.50 ^{Ca}
T2	0.32 ^{Bc}	0.33 ^{Bc}	0.44 ^{ABCb}	0.51 ^{Ca}
T3	0.34 ^{Bc}	0.56 ^{Aa}	0.45 ^{ABb}	0.59 ^{Ba}
T4	0.45 ^{Ac}	0.57 ^{Aab}	0.52 ^{Abc}	0.64 ^{Aa}
SEM	0.02	0.03	0.02	0.02

* C; control, T1; 1 ppm lutein from spinach powder, T2; 1 ppm lutein powder from spinach extract, T3; 2 ppm lutein powder from spinach extract, T4; 2 ppm lutein from spinach extract. ^{A-D} Means with different superscripts within a column differ significantly ($p < 0.05$).

^{a-c} Means with different superscripts within a row differ significantly ($p < 0.05$).

려진 기능성 식품이라 할지라도 소비자들은 루테인이 강화된 계란과 일반 계란간의 외관적인 차이점을 기대하고 있는 실정이다. 따라서 이상의 결과를 종합해 볼 때 난황 내 루테인 강화뿐만 아니라, 난황색의 변화를 시각적으로 판단할 수 있는 적정 급여 수준에 대해 보다 세밀한 연구가 진행되어야 할 것으로 사료된다.

본 실험에서 루테인 첨가 수준이 증가함에 따라 난황 내 축적되는 루테인의 함량도 증가하였으나, 기대치보다는 루테인의 축적률이 높지 않은 것으로 나타났다. 앞선 연구에서 *caco-2* cell을 이용하여 루테인 공급 물질별 생체 이용성을 조사한 결과, 루테인 공급원 물질에 비해 추출물의 루테인 함량이 낮을지라도 생체 이용성은 높은 것으로 밝혀졌다(Kim et al., 2007). Steinberg et al.(2000)은 난황 내 루테인 축적률은 사료 내 첨가되는 루테인의 함량이 증가할수록 증가하지만, 최적 전이율은 120 ppm 수준인 것으로 보고하였다.

따라서 이상의 결과를 종합해 볼 때 루테인 강화 기능성 계란을 생산하기 위한 첨가 급여 수준은 최소한 2 ppm 이상은 되어야 할 것으로 판단된다. 또한, 원물질 급여보다는 루테인 함유 물질을 추출하여 급여하는 것이 난황 내 루테인의 축적률을 높일 수 있는 것으로 나타났다.

적 요

본 연구는 시력 보호에 효과가 있는 것으로 알려진 기능성 물질인 루테인을 산란계 사료 내 첨가 급여 하여 난황 내 루테인 함량에 미치는 영향을 조사하였다. 그 결과, 산란계의 생산성에 있어서는 처리구간 유의적인 차이가 없었으나, 난황 색상에 있어서는 루테인 2 ppm을 첨가 급여할 경우 난황색이 짙어지는 것으로 나타났다. 난황 내 루테인 함량에 있어서는 2 ppm을 첨가 급여할 경우 유의적인 차이가 있는 것으로 나타났다. 따라서, 이상의 결과를 종합해 볼 때 루테인 강화 계란 생산을 위해서는 산란계 사료 내 루테인 함유 물질을 첨가 급여할 경우 원물보다는 추출물을 이용하는 것이 효과적인 것으로 나타났다.

(색인어: 계란, 난황, 루테인, 시금치)

사 사

본 연구는 농촌진흥청 공동연구사업에서 연구비를 지원받았습니다.

인용문헌

- Bartlett HE, Eperjesi F 2008 A randomized controlled trial investigating the effect of lutein and antioxidant dietary supplementation on visual function in healthy eyes. *Clin Nutr* 27: 218-227.
- Gale CR, Hall NF, Phillips DI, Martyn CN 2001 Plasma antioxidant vitamins and carotenoids and age-related cataract. *Ophthalmology* 108:1992-1998.
- Grando F, Olmedilla B, Blanco I 2003 Nutritional and clinical relevance of lutein of lutein in human health. *Br J Nutr* 90:487-502.
- Kim JH, Kang GH, Kim SH, Shin SM, Shin DH, Kim YJ 2007 Assessment of lutein bioavailability from *Spinacia oleracea* and *Brassica rapa* using *in vitro* digestion model and caco-2 human intestinal cells. Abstract P6-20, 2007 International Symposium and Annual Meeting, Muju Resort, Korea, p. 243.
- Landrum JT, Bone RA 2001 Lutein, zeaxanthin, and the macular pigment. *Arch Biophys* 385:28-40.
- Lesson S, Caston L 2004 Enrichment of eggs with lutein. *Poult Sci* 83:1709-1712.
- Lesson S, Summers JD 1997 *Commercial Poultry Nutrition*. Publ. Univ. Books, Guelph, ON.
- Liu Y, Perera CO, Suresh V 2007 Comparison of three chosen vegetables with others from South East Asia for their lutein and zeaxanthin content. *Food Chem* 101:1533-1539.
- Mares-Perlman JA, Millen AE, Ficek TL, Hankinson SE 2002 The body of evidence to support a protective role for lutein and zeaxanthin in delaying chronic disease. *Overview J Nutr* 132:528S-524S.
- National Institute of Medicine 2001 DRI's for Vit A, Vit As, B, Cr, Cu, I, Fe, Mn, Mo, Ni, Si, V, and Zn. National Academy Press, National Institute of Medicine, Washington, DC.
- Nebeling LC, Forman MR, Graubard BI, Snyder RA 1997 Changes in carotenoid intake in the United States: The 1987 and 1992 National Health Interview Surveys. *J Am Diet Assoc* 97:991-996.
- NRC 1994 *Nutrient Requirement of Poultry*. 9th ed, National Academy Press, Washington, DC.
- SAS 2008 *SAS/STAT Software for PC*. Release 9.2, SAS Institute Inc., Cary, NC, USA.
- Steinberg W, Grashorn MA, Klünter AM, Schierle J 2000 Comparative pigmentation efficiency of two products containing either apo-ester or tagets extracts in egg yolks and liquid eggs. *Arch Geflugelkd* 64:1-8.

(접수: 2011. 11. 24, 수정: 2011. 12. 12, 채택: 2012. 3. 2)