

## 사료 내 매리골드 추출물의 첨가 급여가 계란 생산성과 계란 품질 및 난황 내 루테인 함량에 미치는 영향

김 은 집<sup>†</sup>

천안연암대학교 축산계열

### The Dietary Effects of Marigold Extracts on Egg Production, Egg Quality and the Production of Lutein Fortified Chicken Eggs

Eun-Jib Kim<sup>†</sup>

Division of Animal Science, Cheonam Yonam College, Cheonam 330-709, Korea

**ABSTRACT** This study was conducted to evaluate dietary effects of Marigold extract on laying performance, egg quality, oxidative stability of egg yolk and lutein transfer into chicken eggs. A total of one-hundred eighty nine 55-wk-old Hy-Line Brown layers were divided into seven groups and fed control diet or each experimental diet containing 0.1, 0.3, 0.5, 1.0, 1.5 or 2.0% Marigold extract. Egg production, egg weight and daily egg mass were not affected by dietary treatments. The yolk colors in groups fed diets containing Marigold extract were significantly higher than that of control. The Haugh unit were tended to be improved by feeding of diets containing Marigold extract although there were no significant difference in egg shell strength and thickness. The MDA (malondialdehyde) contents in groups fed diets containing Marigold extract above 0.5% were significantly reduced than that of control. After 14d of storage, the Haugh unit values in groups feed diets containing 0.3 and 1.0% Marigold extract were significantly higher than that of control ( $p<0.05$ ). The concentration of lutein in egg yolk increased by feeding of Marigold extract. When 2% Marigold extract was supplemented to the diet, lutein content of egg was increased as much as 1.71 mg/60 g. These results indicated that the use of Marigold extract in layer diets was effective in egg quality and for the production of lutein fortified eggs.

(Key words : egg quality, Marigold, malondialdehyde, lutein, laying hens)

## 서 론

난황색은 계란의 품질을 판단하는데 있어 중요한 요소로 자리잡고 있다(Delgado-Vargas et al., 1998). 전 세계적으로 소비자들은 금황색, 오렌지색 등과 같은 짙은 난황색을 선호하며(Hasin et al., 2006), 특히, 난황만 분리하여 제품을 생산하는 특수한 생산 과정에서는 더욱 짙은 난황색을 필요로 하고 있다(Johnson et al., 1980; Karunajeewa et al., 1984). 카로티노이드 중 황색계 색소인 크산토펜(xanthophylls)은 섭취한 사료로부터 계란의 난황 내에 축적되며, 주로 루테인(lutein)과 지아잔틴(zeaxanthin) 두 가지 형태로 존재한다(Karunajeewa et al., 1984). 카로티노이드는 일중항산소와 peroxy radicals를 억제하는 항산화 능력을 갖고 있어(Burton and

Ingold, 1984) 천연 색소로 사용될 뿐만 아니라, 천연 항산화제로도 사용할 수 있다.

루테인은 망막 세포에 대한 항산화 효과와 황반 변성 환자의 시력을 개선하는 작용으로 인해 최근 이에 대해 많은 연구가 진행되고 있으며, 루테인이 눈의 망막 표면에 퇴화된 세포막에 대해 푸른빛의 흡수를 가능하게 하여 시력 효과를 개선한다고 보고되었다(Landrum and Bon, 2001). 하루에 미국인들은 1.7 mg, 유럽인들은 2.2 mg의 루테인을 섭취하는 것으로 알려져 있다(Nebeling et al., 1997).

매리골드는 국화과의 *Tagetes* 속의 식물을 통칭하며, 아프리카 매리골드는 그 중 한 속이다. 세계 여러 지역에서 관상용 식물로 재배되고 있으며, 노란색에서 오렌지색을 가지고 있는 꽃으로 알려져 있다. 매리골드의 주요 성분은 루테인

<sup>†</sup> To whom correspondence should be addressed : ej-poultry@nate.com

인이며, 매리폴드에 있는 총 카로티노이드의 90% 이상이 루테인으로 구성되어 있다(Quackenbush and Miller, 1972; Quackenbush, 1973).

매리폴드는 천연 착색제로써의 가치뿐 아니라, 천연 항산화제 및 항생제 대체제로써의 가치를 가지고 있다. 매리폴드에는 카로티노이드 계통의 루테인, 지아잔틴뿐만 아니라, flavonoids(Rodriguez and Mabry, 1975) 및 monoterpeneoid(Garg et al., 1999)와 같은 항산화 및 항균 효과를 가지고 있는 생리활성 물질이 함유되어 있기 때문이다. 매리폴드 및 그 추출물은 염료 또는 향료로 사용되고, 피부의 염증 질환 및 살충제로 활용되며(Khan, 1996; Khan et al., 1996), 산화 억제 및 산화에 의해 유도된 세포 손상에 관한 방어(Zitterl-Eglseer et al., 1997) 작용이 있는 것으로 보고되었으며, 또한 가금분야에서는 사료에 첨가 시 계육 및 난황의 착색을 개선시킬 수 있다는 연구 보고가 있다(Hadden et al., 1999; Karadas et al., 2006). 지금까지 매리폴드는 닭에게 급여하는 실험에서 난황 착색 정도에 초점을 맞춘 연구가 일부 수행되었으나, 계란의 저장성 등 가금에서 항산화 작용에 관한 연구는 거의 없는 실정이다. 따라서 본 연구는 매리폴드를 산란계 사료에 첨가하여 계란 품질과 계란을 저장하는 과정 중 지질 산화에 미치는 영향을 구명하고자 실시하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 실험 시료

시료로 이용한 매리폴드는 전남 장성군 서삼면 인근에서 채배하여 6월경에 수확한 후 별도의 추출 공정(특허 제 10-1016104호)을 통해 제조된 것을 공급받아 사용하였다.

### 2. 실험동물 및 실험 설계

산란계에 대한 매리폴드 추출물의 사료 내 첨가 급여가 계란 생산성과 계란 품질 및 난황 내 루테인 함량에 미치는 영향을 조사하기 위하여, 55주령 하이라인 갈색 산란계 189수를 공시하였다. 3반복, 반복당 9수씩(케이지 당 3수/45 cm × 62 cm × 66 cm) 7개 처리구에 완전임의 배치하고, 총 6주간 사양 실험을 실시하였다. 처리구는 시험 사료에 매리폴드 추출물을 첨가하지 않은 대조구(C)와 매리폴드 추출물을 각각 0.1%, 0.3%, 0.5%, 1.0%, 1.5%, 2.0% 수준으로 첨가한 처리구를 두었으며, 이때 매리폴드의 영양 성분은 고려하지 않고 사료에 첨가하였다. 시험 사료는 옥수수, 대두박을 기초로 NRC(1994)에 근거하여 대사 에너지와 조단백질 함량

을 각각 2,800 kcal/kg 및 CP 17.0%가 되도록 배합하였으며, 시험 사료의 배합비 및 영양소 조성은 Table 1에 나타내었다. 시험 사료와 물은 자유 채식 및 자유 음수를 시켰으며, 점등은 전 실험 기간 동안 16L:8D로 고정하였다. 사양 관리는 Hy-Line 사양 관리 지침(Hy-line, 2006)에 명시된 방법에

**Table 1.** Formula and chemical compositions of basal diet

Ingredients	Diet
	----- % -----
Yellow corn	58.45
Wheat	2.50
Rice bran	1.00
Soybean meal	18.70
Rapeseed meal	2.50
Corn gluten meal	3.00
Tallow	1.80
DL-Methionine (88%)	0.15
Choline-chloride (50%)	0.02
Dicalcium phosphate	1.80
Limestone	9.60
Salt	0.20
NaHCO <sub>3</sub>	0.06
Vit.+Min. mixture <sup>1,2</sup>	0.22
Total	100.00
Calculated values	
TMEn(kcal/kg)	2,800
Crude protein(%)	17.00
Ca(%)	4.00
P(%)	0.48
Lysine(%)	0.85
Total TSAA(%)	0.65

<sup>1</sup> Mineral mixture provided following nutrients per kg of diet : Fe, 70 mg; Zn, 60 mg; Mn, 8 mg; Cu, 7.5 mg; I, 1 mg; Se, 0.2 mg; Co, 0.13 mg.

<sup>2</sup> Vitamin mixture provided following nutrients per kg of diet : vitamin A, 10,000 IU; vitamin D<sub>3</sub>, 2,300 IU; vitamin E, 20 IU; vitamin K<sub>3</sub>, 2 mg; vitamin B<sub>1</sub>, 2 mg; vitamin B<sub>2</sub>, 5 mg; vitamin B<sub>6</sub>, 3.5 mg; vitamin B<sub>12</sub>, 0.02 mg; biotin, 0.12 mg; niacin, 30 mg; pantothenic acid, 10 mg; folic acid, 0.7 mg.

준하여 실시하였다.

### 3. 조사 항목 및 분석 방법

#### 1) 사료 섭취량 및 난생산성

사료 섭취량은 급여량과 잔량을 1주 간격으로 측정하여 섭취량을 산출하였다. 실험기간 동안 매일 오후 2시에 수집한 정상 산란 개수와 연란, 파란 등을 합한 총 산란 개수를 사육수수로 나누어 산란율을 구하였으며, 수집된 정상란 전부의 무게를 측정하여 정상란 수로 나누어 평균 난중을 산출하였다.

#### 2) 계란 품질

2주 간격으로 처리당 10개씩 수집하여 난질 및 난각질 관련 항목을 측정하였다. 난황색 및 난백 높이는 계란 품질 자동 분석기(QCM<sup>TM</sup>, Technical services and supplies Ltd. England)를 이용하여 측정하였고, 난각 강도는 난각 강도계(FHK, Fugihira Ltd. Japan)를 이용하여 정상 계란의 난각 강도를 측정하였다. 난각 두께는 난각 후도계(Digimatic micrometer, Series 293-330, Mitutoyo Ltd. Japan)를 이용하여 측정하였으며, Haugh unit은 Haugh unit 공식에 의해 값을 구하였다(Haugh, 1937).

#### 3) 저장 기간에 따른 Haugh unit 변화

시험 종료 시 생산된 계란을 전량 수집하여 실온(28°C)에서 보관하였다가 7일 및 14일 경과 후 처리구 별로 10개씩 Haugh unit 변화를 조사하였다.

#### 4) 난황 내 지질 과산화물의 생성

난황 내 지질 과산화물인 malondialdehyde(MDA)는 Bot-soglou 등(1994)의 방법을 일부 수정하여 조사하였다. 시험 종료일에 생산된 계란을 전량 수집하여 난황과 난백을 분리한 후 -20°C의 냉동고에 보관하였다가 분석 전 4°C의 냉장실에서 해동한 후 분석에 이용하였다. 시료 1.5 g을 취하고, butylated hydroxyanisole(BHT) 5 mL와 trichloroacetate(TCA) 용액 8 mL를 가한 후 균질화 시킨 후 원심분리(3,000 g, 5 min)하였다. 그 다음 여과액을 취한 후, TCA 용액을 가하여 부피를 10 mL로 조정하였다. 이 중 3 mL를 10 ml 시험관에 옮긴 후 0.8 mL 2-thiobarbituric acid 용액(in distilled water) 2 mL를 가하였다. 70°C 항온 수조에 넣어 30분간 반응시키고 냉각하였다. 발색 물질의 흡광도는 UV-visible spectrophotometer(Meckman DU-530, Beckman Counter, Inc., Fullerton,

USA)를 사용하여 최대 흡수 파장인 532 nm에서 측정하였다.

#### 5) 난황 내 루테인 함량 측정

난황 내 루테인 함량의 측정은 Schlatterer와 Breithaupt (2006)이 제시한 방법을 이용하여 조사하였다. 난백이 분리된 난황을 준비한 후, 처리구 당 3개의 난황을 모아 spatula로 균질화 시킨 후 추출에 활용하였다. Ternary solvent mixture(light petroleum/ethyl acetate/methanol, 1:1:1, v/v/v; 각각 15 ml 씩)에 균질화된 난황 4.5 g을 분주하였고, 분리를 용이하게 하기 위해 2 mL의 증류수를 첨가한 후, 둥근 플라스크에 상층액을 회수하였다. 상층액에 2 mL의 에탄올을 첨가한 후 감압 농축시켰다(50 mBar, 30°C, 10 min). 감압 농축 이후에 회수된 시료에 지질이 많이 유리되기 때문에, 기름기 잔류물까지 전부 volumetric flask에 잘 옮긴 후, TMBE/methanol (1:1, v/v) 용액을 채워 총량 10 mL을 만들었다. Membrane filter(0.45 µm)를 이용하여 제균한 후, 바로 HPLC (Agilent 1100 series)를 이용하여 측정하였다. 모든 절차는 암실에서 진행되었으며, 루테인의 농도(C)는 다음과 같은 계산식을 이용하여 구하였고, HPLC의 분석조건은 Table 2 에 나타내었다.

$$C(\text{mg}/60 \text{ g}) = [\text{Concentration in final solution}(\text{mg}/\text{L}) \times 1,000 \times 100/4.5] \times 60$$

### 4. 통계 분석

모든 얻어진 결과에 대한 통계 분석은 Statistical Analysis System(SAS, 2002)의 General Linear Model(GLM) procedure를 이용하여 실시하였고, 처리구 간의 유의성 검정은 Duncan의 다중검정(Duncan, 1955)을 통해 유의 수준  $p < 0.05$ 에서 검

**Table 2.** Analytical conditions of HPLC

Temperature control module and oven	35°C
Analytical column	Capcellpak C18 5 µm × 4.6 × 250 mm
Mobile phase 1st.	97% Methanol
Mobile phase 2nd.	Methanol/ <i>tert</i> -butyl methyl ether/water (6:90:4 v/v/v)
HPLC pump flow rate	1 mL/min
Fluorescence detector	450 nm
Injection volume	10 µL

정하였다.

## 결과 및 고찰

### 1. 계란 생산성에 미치는 영향

매리골드 추출물의 첨가 수준별 급여가 사료 섭취량 및 난 생산성에 미치는 영향에 대한 결과를 Table 3에 나타내었다. 사료 섭취량에 있어 각 처리구 간 큰 차이가 없었고, 이는 매리골드 추출물이 산란계의 기호성에 미치는 영향이 없었음을 보여준다. 산란율에서는 처리간에 유의차가 인정되는 큰 차이가 없었지만, 매리골드 추출물을 첨가한 모든 처리구에서 대조구보다 높은 경향이 관찰되었다. 난중은 대조구에 비해 매리골드 추출물을 첨가한 처리구에서 증가하는 경향이 있었지만 유의차는 없었다. 일산란량에서는 매리골드 추출물을 0.5% 첨가한 처리구를 제외한 모든 처리구가 대조구에 비해 상대적으로 높았지만 처리구간 유의차는 없었다.

지금까지 매리골드 추출물을 가금에 활용하기 위한 연구는 육계의 피부색 및 난황 내 착색에 그 목적이 있었기 때문에, 대부분의 연구에서 매리골드 추출물이 가금의 생산성에 미치는 영향에 대한 보다 세밀한 연구는 진행되지 않았던 것으로 보인다. 본 실험의 결과로 볼 때, 산란계 사료에 매

리골드 추출물의 다량 첨가가 산란율에 부정적인 영향을 미치는지는 않은 것으로 나타났다.

### 2. 난질 및 난각질에 미치는 영향

매리골드 추출물의 수준별 급여가 난질 및 난각질에 미치는 영향에 대해 Table 4에 그 결과를 명시하였다. 난각 강도와 난각 두께에서는 처리구간 큰 차이가 없었다. 난황색은 매리골드 추출물의 첨가 수준에 따라 유의차 있게 높아지는 것을 확인할 수 있었으며( $p<0.05$ ), Haugh unit에서는 매리골드 추출물을 0.1%, 0.3%, 0.5% 첨가한 처리구가 대조구에 비해 유의차 있는 높은 수치를 보여 주었다( $p<0.05$ ).

본 실험 결과, 약용 식물 가공 부산물을 산란계 사료에 적용한 결과, 대조구에 비해 약용 식물 가공 부산물을 첨가한 처리구에서 유의차는 없었으나, 산란율 및 Haugh unit이 개선되었다고 보고한 Kim 등(2006)과 산란계 사료에 인도 자생 허브 5종을 첨가한 연구에서 허브를 첨가한 처리구가 대조구에 비해 난질 및 Haugh unit이 개선되었다는 연구 결과(Shon et al., 2004)와 일치한다.

또한 매리골드 추출물 첨가 처리구에서 얻은 난황색 개선 효과는 Sirri 등(2007)의 연구에서 합성 착색제인 apo-ester 40 ppm, 60 ppm, 80 ppm과 루테인 및 지아잔틴이 주성분인

**Table 3.** Effects of dietary African Marigold(*Tagetes erecta*) extract powder on egg production in laying hens<sup>1</sup>

	Control	MG <sup>2</sup> (%)					
		0.1	0.3	0.5	1	1.5	2
Feed intake(g/day/bird)	121.67±6.89	123.33±2.40	119.00±6.24	124.23±0.46	120.53±3.30	120.63±2.75	122.23±0.09
Egg production(%)	83.70±1.37	86.29±1.09	84.25±0.95	84.04±1.05	84.75±0.80	86.93±0.62	84.12±1.09
Eg weight(g/egg)	68.59±0.22	67.12±0.14	68.99±0.10	68.13±0.12	68.00±0.18	68.52±0.13	68.43±0.14
Egg mass(g/day/bird)	57.40±0.97	58.51±0.80	57.87±0.77	57.25±0.73	56.47±0.68	59.22±0.44	57.56±0.80

<sup>1</sup> Values are presented Means±SE.

<sup>2</sup> Abbreviation : MG, African Marigold(*Tagetes erecta*).

**Table 4.** Effects of dietary African Marigold(*Tagetes erecta*) extract powder on egg and eggshell quality in laying hens

	Control	MG <sup>1</sup> (%)					
		0.1	0.3	0.5	1	1.5	2
Eggshell strength(kg/cm <sup>2</sup> )	2.89±0.10	3.05±0.11	3.10±0.10	2.84±0.09	2.96±0.09	2.98±0.09	3.19±0.10
Eggshell thickness(mm/100)	36.66±0.36	35.56±0.47	35.14±0.51	35.44±0.46	35.31±0.39	34.93±0.46	35.75±0.41
Egg yolk color(RCF)	6.36±0.09 <sup>c</sup>	6.64±0.08 <sup>d</sup>	6.78±0.08 <sup>d</sup>	7.22±0.09 <sup>c</sup>	7.70±0.07 <sup>b</sup>	7.92±0.07 <sup>ab</sup>	8.03±0.09 <sup>a</sup>
Haugh unit	88.27±1.22 <sup>c</sup>	92.00±1.06 <sup>ab</sup>	92.94±1.02 <sup>a</sup>	91.90±1.12 <sup>ab</sup>	89.71±1.11 <sup>abc</sup>	89.20±0.96 <sup>bc</sup>	90.69±0.76 <sup>abc</sup>

<sup>a~c</sup> Mean±SE values in a same row with no common superscripts are significantly different( $p<0.05$ ).

<sup>1</sup> Abbreviation: MG, African Marigold(*Tagetes erecta*).

매리골드 추출물을 120 ppm, 180 ppm, 240 ppm을 산란계 사료에 첨가한 결과, 계란 내 착색도는 착색 성분의 첨가량에 비례해서 유의차 있게 증가한( $p < 0.05$ ) 연구와 일치하는 것이다. 산란계 사료에 있어 매리골드 추출물의 급여는 난질 및 신선도를 개선시키는 효과가 있다는 것을 확인할 수 있었으며, 이는 매리골드 추출물에 함유되어 있는 루테인을 비롯한 생리활성 물질이 가축의 생리기능을 개선시켰으며, 매리골드 추출물 내 함유된 루테인을 포함한 항산화 성분이 계란으로 이행됨으로써 계란의 신선도와 저장성을 개선시킬 수 있음을 본 실험을 통해 확인할 수 있었다.

3. 계란 보존성에 미치는 영향

매리골드 추출물의 수준별 급여가 시간 경과별 Haugh unit의 변화와 난황 내 MDA 농도에 미치는 영향에 대한 결과를 Table 5에 나타내었다. 보존 7일째에 조사한 Haugh unit에서는 유의차가 없었지만 모든 처리구가 대조구에 비해 수치가 높았고, 14일째에 조사한 Haugh unit에서는 대조구에 비해 매리골드 추출물을 0.3%, 1.0% 첨가한 처리구의 값이 유의차 있게 개선되는 경향을 보여주었다( $p < 0.05$ ). 난황 MDA 농도는 대조구에 비해 매리골드 추출물을 0.5% 이상 첨가한 모든 실험구에서 유의하게 감소하는 결과가 관찰되었다( $p < 0.05$ ).

Haugh unit은 계란의 내부 난질을 평가하는 지표이며, 시간 경과에 따라 감소하는 경향을 나타낸다(Williams, 1992). Haugh unit은 영양적 요인에 의해 보통은 잘 변화하지 않지만(Naber, 1979), 천연 항산화 영양소의 급여 후 난백의 품질이 향상되어 Haugh unit이 개선되는 결과가 나타나기도 한다(Keshavarz, 1996; Sahin et al., 2003). 항산화 영양소를 가지는 마늘 분말의 급여 후에 보존 중의 계란의 Haugh unit가 유의하게 개선되는 결과가 관찰되었다(Lim et al., 2006). 난황 내 MDA 농도는 지질 과산화 정도를 판단하는 분석 지표이다(Botsoglou et al., 1994).  $\alpha$ -Tocopherol 등의 천연 항산화 영양소(Cherian et al., 1996; Qi and Sim, 1998)를 사료 내에

강화하거나, 식물 추출물(Botsoglou et al., 2005)을 급여함으로써 계란 내 지질 산패를 방지하는 효과를 얻을 수 있었다. Rosemary 분말을 산란계 사료에 0.5% 및 1% 수준으로 급여하였을 때 계란 내 MDA 수치가 대조구에 비해 유의하게 감소하였고, 투여 수준에 따라 의존적인 변화가 관찰되었다(Florou-Paneri et al., 2006). 사프란(*Crocus sativus* L.)을 급여한 후 생산된 계란의 MDA 수치는 대조구에 비해 유의하게 낮았다(Botsoglou et al., 2005).

실험의 결과로 볼 때, 산란계 사료에 있어 매리골드 추출물의 첨가는 계란 내 과산화를 억제함으로써 저장 기간 동안의 계란의 신선도 유지에 긍정적인 영향을 미치는 것을 확인하였고, 천연 항산화제로써의 잠재적인 가능성을 확인할 수 있었다.

4. 난황 내 루테인 함량에 미치는 영향

매리골드 추출물의 수준별 급여가 난황 내 루테인 함량에 미치는 영향에 대한 결과를 Table 6에 나타내었다. 난황 내 루테인 함량은 매리골드 추출물의 0.5% 이상 첨가한 처리구에서 매리골드 추출물 첨가량에 따라 유의하게 증가하였다( $p < 0.05$ ).

이는 매리골드 추출물에 함유되어 있는 루테인 성분이 계란 내에 순조롭게 이행되었다는 것을 뜻하며, 분말 클로렐라의 수준별 급여에 따라 난황 내 루테인 함량이 유의하게 증가된 결과(Jeon et al., 2012)와 일치한다. 계란 무게를 60 g으로 환산하면 매리골드 추출물을 2% 급여하였을 때 난황 내 루테인 함량이 최대 1.71 mg/60 g까지 증가함을 알 수 있었다. 이 실험 결과는 Leeson과 Caston(2004)이 실시한 1차 실험에서 lutein을 0 ppm, 125 ppm, 250 ppm, 375 ppm, 500 ppm, 625 ppm, 750 ppm, 1,000 ppm까지 산란계 사료에 첨가한 후 난황 내 루테인 함량을 분석한 결과, 루테인의 첨가 수준에 따라 난황 내 루테인 함량이 0.3~1.5 mg/60 g으로 증가하는 것을 관찰하였지만, 사료 내 루테인 첨가량이 375

**Table 5.** Effects of dietary African Marigold(*Tagetes erecta*) extract powder on the change of Haugh unit and yolk lipid peroxidation during storage in laying hens

	Control	MG <sup>1</sup> (%)					
		0.1	0.3	0.5	1	1.5	2
Haugh unit(7d)	68.56±3.27	69.81±3.18	70.57±2.97	68.90±2.09	72.10±2.44	69.06±2.39	71.05±2.61
Haugh unit(14d)	57.21±3.43 <sup>b</sup>	63.34±1.66 <sup>ab</sup>	69.98±1.72 <sup>a</sup>	63.46±3.75 <sup>ab</sup>	66.28±1.38 <sup>a</sup>	63.05±1.90 <sup>ab</sup>	64.26±2.44 <sup>ab</sup>
MDA(μg/g) yolk	0.063±0.01 <sup>a</sup>	0.046±0.00 <sup>ab</sup>	0.045±0.01 <sup>ab</sup>	0.032±0.01 <sup>bc</sup>	0.026±0.00 <sup>c</sup>	0.025±0.01 <sup>c</sup>	0.024±0.00 <sup>c</sup>

<sup>a-c</sup> Mean±SE values in a same row with no common superscripts are significantly different ( $p < 0.05$ ).

<sup>1</sup> Abbreviation : MG, African Marigold(*Tagetes erecta*); MDA, malondialdehyde.

**Table 6.** Effects of dietary African Marigold(*Tagetes erecta*) extract powder on the egg yolk lutein concentration in laying hens

	Control	MG <sup>1</sup> (%)					
		0.1	0.3	0.5	1	1.5	2
Lutein(mg/60 g)	0.51±0.11 <sup>c</sup>	0.69±0.06 <sup>c</sup>	0.62±0.05 <sup>c</sup>	1.14±1.58 <sup>b</sup>	1.18±0.07 <sup>b</sup>	1.45±0.14 <sup>ab</sup>	1.71±0.15 <sup>a</sup>

<sup>a~c</sup> Mean±SE values in a same row with no common superscripts are significantly different( $p<0.05$ ).

<sup>1</sup> Abbreviation : MG, African marigold(*Tagetes erecta*).

ppm 이상에서는 난황 내 루테인 함량의 linear한 증가를 얻을 수 없었고, 이를 보완한 2차 실험에서 사료 내 루테인과 함께 옥수수 글루텐 밀, 알팔파 등과 같은 단백질 함량이 높고, 착색 효과가 있는 사료 원료를 함께 급여하였을 때, 난황 내 루테인 함량이 2.2 mg/60 g까지 증가할 수 있었다고 보고한 연구와 비슷한 결과이다.

## 적 요

본 실험에서는 매리골드 추출물의 첨가 수준별 급여가 산란계에서 난 생산성, 난질 및 계란의 보존성 및 난황 내 루테인 함량에 미치는 영향을 조사하였다. 55주령의 Hy-Line 갈색계 189수를 공시하여 모두 7개 처리구에 3반복 반복당 9수씩 완전임의 배치하였으며, 총 6주간 사양 실험을 실시하였다. 옥수수과 대두박 위주의 시판 사료를 급여하는 대조구와 매리골드 추출물을 각각 0.1%, 0.3%, 0.5%, 1.0%, 1.5%, 2.0% 수준으로 첨가한 실험구로 구분하였다. 실험 기간 중의 사료 섭취량, 산란율, 난중 및 일산란량을 조사하였고, 주별로 수집한 계란의 난질 및 난각질을 평가하였으며, 실험 마지막 주에 생산된 계란은 시간 경과별 Haugh unit의 변화와 난황 내 MDA 농도를 측정함으로써 계란의 보존성 평가를 위한 시료로 사용하였다.

사료 섭취량에 있어 각 처리구간 큰 차이가 없었고, 이는 매리골드 추출물이 산란계의 기호성에 미치는 영향이 없음을 보여준다.

산란율에서는 처리간에 유의차가 인정되는 큰 차이가 없었지만, 매리골드 추출물을 첨가한 모든 처리구에서 대조구보다 높은 경향이 관찰되었다. 난중은 대조구에 비해 매리골드 추출물을 첨가한 처리구에서 증가하는 경향이 있었지만 유의차는 없었다. 일산란량에서는 매리골드 추출물을 0.5% 첨가한 처리구를 제외한 모든 처리구가 대조구에 비해 상대적으로 높았지만, 처리구간 유의차는 없었다.

난질 및 난각질에 미치는 영향 중 난각 강도와 난각 두께에서는 처리구간 큰 차이가 없었다. 난황색은 매리골드 첨가 수준에 따라 유의차 있게 개선되는 것을 확인할 수 있었다

( $p<0.05$ ). Haugh unit에서는 매리골드 추출물을 0.1%, 0.3%, 0.5% 첨가한 처리구가 대조구에 비해 유의차 있는 높은 수치를 보여 주었다( $p<0.05$ ).

매리골드 추출물의 수준별 급여가 시간 경과별 Haugh unit의 변화와 난황 내 MDA 농도에 미치는 영향에서, 보존 7일째에 조사한 Haugh unit에서는 유의차가 없었지만 모든 처리구가 대조구에 비해 수치가 높았고, 14일째에 조사한 Haugh unit에서는 대조구에 비해 매리골드 추출물을 0.3%, 1.0% 첨가한 처리구의 값이 유의차 있게 개선되는 경향을 보여주었다( $p<0.05$ ). 난황 MDA 농도는 대조구에 비해 매리골드 추출물을 0.5% 이상 첨가한 모든 실험구에서 유의하게 감소하는 결과가 관찰되었다( $p<0.05$ ).

난황 내 루테인 함량은 매리골드 추출물의 0.5% 이상 첨가한 처리구에서 매리골드 추출물의 첨가량에 비례하여 유의하게 증가하였다( $p<0.05$ ). 이는 매리골드 추출물에 함유되어 있는 루테인 성분이 계란 내에 순조롭게 이행되었다는 것을 뜻하며, 계란 무게를 60 g으로 환산하면, 매리골드 추출물을 2% 급여하였을 때 난황 내 lutein 함량이 최대 1.71 mg/60 g까지 증가함을 알 수 있다.

산란계 사료에 있어 매리골드 추출물의 다량 첨가는 산란율을 비롯한 생산성에 부정적인 영향을 미치지 않았고, 난황색 및 신선도를 포함한 난질 개선 효과가 있었으며, 계란의 유통 및 저장 기간 동안의 신선도 유지와 계란 내 지질 산화를 억제하는 효과가 있으며, 매리골드 추출물의 첨가 수준에 따라 난황 내 루테인 함량이 증가함을 확인할 수 있었다.

## REFERENCES

- Botsoglou NA, Fletouris DJ, Papageorgiou GE, Vassilopoulos VN, Mantis Trakatellis, AG 1994. Rapid, sensitive, and specific thiobarbituric acid method for measuring lipid peroxidation in animal tissue, food and feedstuff samples. J Agric Food Chem 42(9):1931-1937.
- Botsoglou NA, Florou-Paneri P, Nikolakakis I, Giannenas I, Dotas V, Botsoglou EN Aggelopoulos S 2005 Effect of

- dietary saffron (*Crocus sativus* L.) on the oxidative stability of egg yolk. *Br Poult Sci* 46:701-707.
- Burton GW, Ingold KU 1984 Beta-carotene: an unusual type of lipid antioxidant. *Science* 224:569-573.
- Cherian G, Wolfe FH, Sim JS 1996 Feeding dietary oils with tocopherols: effects on internal qualities of eggs during storage. *J Food Sci* 61:15-18.
- Delgado-Vargas F, Paredes-Lopez O, Avila-Gonzalez E 1998 Effects of sunlight illumination of marigold flower meals on egg yolk pigmentation. *J Agric Food Chem* 46:698-706.
- Duncan DB 1955 Multiple range and multiple F test. *Biometrics* 11:1-12.
- Florou-Paneri P, Dotas D, Mitsopoulos I, Dotas V, Botsoglou E, Nikolakakis I, Botsoglou N 2006 Effect of feeding rosemary and  $\alpha$ -tocopheryl acetate on hen performance and egg quality. *J Poult Sci* 43:143-149.
- Garg SN, Charles R, Kumar S, 1999. A new acyclic monoterpene glucoside from the capitula of *Tagetes patula*. *Fitoterapia* 70:472-474.
- Hadden WL, Watkins RH, Levy LW, Regalado E, Rivadeneira DM, van Breemen RB, Schwartz SJ 1999 Carotenoid composition of marigold (*Tagetes erecta*) flower extract used as nutritional supplement. *J Agric Food Chem* 47:4189-4194.
- Hasin BM, Ferdaus AJ, Islam MA, Uddin MJ, Islam MS 2006 Marigold and orange skin as egg yolk color promoting agents. *J Poult Sci* 5:979-987.
- Haugh RR. 1937 The Haugh unit for measuring egg quality. *U.S. Egg and Poultry Magazine* 43: 552-555; 572-573.
- Hy-line 2006 Hy-line Variety Brown Commercial Management Guide.
- Jeon JY, Kim KE, Im HJ, Oh ST, Lim SU, Kwon HS, Moon BH, Kim JM, An BK, Kang CW 2012 The production of lutein-enriched eggs with dietary chlorella. *Korean J Food Sci Anim Resour* 32:13-17.
- Johnson EA, Lewis MJ, Grau CR 1980 Pigmentation of egg yolks with astaxanthin from the yeast *Phaffia rhodozyma*. *Poultry Sci* 59:1777-1782.
- Karunajeewa H, Hughes RJ, McDonald MW, Shenstone FS 1984 A review of factors influencing pigmentation of egg yolks. *World's Poult Sci J* 40:52-65.
- Karadas F, Grammenidis E, Surai PF, Acamovic T, Sparks NHC 2006 Effects of carotenoids from lucerne, marigold and tomato on egg yolk pigmentation and carotenoid composition. *Br Poult Sci* 47:561-566.
- Keshavarz K 1996 The effect of different levels of vitamin C and cholecalciferol with adequate or marginal levels of dietary calcium on performance and eggshell quality of laying hens. *Poultry Sci* 75:1227-1235.
- Khan MT, Potter M, Birch I 1996 Podiatric treatment of hyperkeratotic plantar lesions with marigold *Tagetes erecta*. *Phytotherapy Res* 10:211-214.
- Khan MT 1996 The podiatric treatment of Hallux Abducto Valgus and its associated condition, bunion, with *Tagetes patula*. *J Pharmacy and Pharmacology* 48:768-770.
- Kim JH, Na JC, Kim SH, Jang BG, Kang HS, Lee DS, Lee SJ, Jwa SH 2006 Effect of dietary medicinal plant by-products on egg production and egg quality in laying hens. *Korean J Poult Sci* 33:121-126.
- Landrum JT, Bone RA 2001 Lutein, zeaxanthin, and the macular pigment. *Archives of Biochemistry and Biophysics*. 385:28-40.
- Leeson S, Caston L 2004 Enrichment of eggs with lutein. *Poultry Sci* 83:1709-1712.
- Lim KS, You SJ, An BK, Kang CW 2006 Effects of dietary garlic powder and copper on cholesterol content and quality characteristics of chicken eggs. *Asian-Aust J Anim Sci* 19: 582-586.
- Naber EC 1979 The effect of nutrition on the composition of eggs. *Poultry Sci* 58:518-528.
- National Research Council 1994 Nutrient Requirement of Poultry, 9th ed. National Academy Press, Washington, DC.
- Nebeling LC, Forman MR, Graubard BI, Snyder RA 1997 The impact of lifestyle characteristics on carotenoid intake in the United States: the 1987 National health interview survey. *Anim J Public Health* 87: 268-271.
- Rodriguez, E, Mabry TJ 1975. *Tageteae*-chemical review. *Biological Chemistry Composition*. 2:785-797.
- Qi GH, Sim JS 1998 Natural tocopherol enrichment and its effect in n-3 fatty acid modified chicken eggs. *J Agric Food Chem* 46:1920-1926.
- Quackenbush FW, Miller SL 1972 Composition and analysis of the carotenoids in marigold petals. *J Assoc Off Anal*

- Chem 55:617-621.
- Quackenbush FW 1973 Use of heat to saponify xanthophyll esters and speed analysis for carotenoids in feed materials: collaborative study. J Assoc Off Anal Chem 56:748-753.
- Sahin N, Sahin K, Onderci M 2003 Vitamin E and selenium supplementation to alleviate cold-stress-associated deterioration in egg quality and egg yolk mineral concentrations of Japanese quails. Bio Trace Element Res 96:179-189.
- Schlatterer J, Breithaupt ED 2006 Xanthophylls in commercial egg yolks: Quantification and identification by HPLC and LC-(APCI)MS using a C30 phase. J Agric Food Chem 54:2267-2273.
- Statistical Analysis System(SAS) 2002.
- Shon KS, Kwon OS, Min BJ, Cho JH, Chen YJ, Kim IH, Kim HS 2004 Effect of dietary herb product(animunin powder) on egg characteristic, blood components, and nutrient digestibility in laying hens. Korean J Poult Sci 31:237-244.
- Sirri F, Iaffaldano N, Minelli G, Meluzzi A, Rosato MP, Franchini A 2007 Comparative pigmentation efficiency of high dietary levels of apo-ester and marigold extract on quality traits of whole liquid egg of two strains of laying hens. J Appl Poult Res 16:429-437.
- Williams KC 1992 Some factors affecting albumen quality with particular reference to Haugh unit score. World's Poult Sci J 48:5-16.
- Zitterl-Eglseer K, Sosa S, Jurenitsch J, Schubert-Zsilavec M, Loggia RD, Tubaro A, Bertoldi M, Franz C 1997 Anti-oedematous activities of the main triterpene diol esters of marigold (*Calendula officinalis* L.). J Ethnopharmacology 57:139-144.
- 특허 제10-1016104호 2011 루테인 성분이 함유된 계란을 생산하기 위한 사료 첨가제용 미생물 조성물  
(접수: 2014. 5. 27, 수정: 2014. 6. 3, 채택: 2014. 6. 10)