

유기농 산란계에 *Chlorella*의 급여가 계란 품질과 지방산 조성에 미치는 영향*

김민정** · 심창기**** · 김용기** · 변영웅** · 박종호** · 한은정** · 최근형*** · 고병구**

Effect of Dietary Fresh Water Algae, *Chlorella* Supplementation on Egg Quality and Fatty Acid in Organic Laying Hens

Kim, Min-Jeong · Shim, Chang-Ki · Kim, Yong-Ki · Byeon, Young-Woong · Park, Jong-Ho · Han, Eun-Jung · Choi, Geun-Hyoung · Ko, Byong-Gu

This study was carried out to investigate how chlorella dry powder added to the feed of laying hens influences on the egg quality and the composition of egg yolk's fatty acid. Moisture content, ash content, crude protein content, and crude fat content were 12.8%, 10.8%, 18.0% and 2.5%, respectively. The moisture content of the chlorella powder added to the feed was about 1.54%, the ash content was 6.53%, the crude protein content was 54.56%, and the crude fat content was 2.45%. After feeding chlorella, compared to the control, the color of egg shell significantly became darker. The hardness of egg shell was increased for 10 days after chlorella feeding and was significantly strengthened. Thickness of egg shell was significantly thicker. The height of egg whites was increased. After 10 days of providing chlorella, the quality of egg white was 92.0 HU (Haugh Unit), which was significantly higher than 84.8 HU, the quality of the control. The color of egg yolk significantly revealed more yellow than that of the control. Egg weight was increased by 7.5% after 15 days of feeding chlorella. Protein content was increased by 11.9% and 10.7% after 10 and 15 days of feeding, respectively. The major compositions of fatty acid content of egg yolk fed with chlorella diet were oleic acid, trans-linoleic acid, palmitic acid, α -linolenic acid, stearic acid, DHA, EPA, palmitoleic acid, and heptadecanoic acid, respectively. Palmitoleic acid was decreased in the eggs fed with chlorella diet compared to the control. The Saturated Fatty Acid (SFA) content of the control was higher than that of the eggs fed with

* 본 연구는 농촌진흥청 공동연구사업(과제번호 : PJ01338802)의 지원에 의해 이루어진 것임.

** 국립농업과학원 유기농업과

*** 국립농업과학원 화학물질안전과

**** Corresponding author, 국립농업과학원 유기농업과(ckshim@korea.kr)

chlorella. The content of Unsaturated Fatty Acid (UFA) was higher in egg yolks fed with chlorella than in the control. The ratio of UFA to Saturated Fatty Acid (SFA) was higher in egg yolks fed with chlorella than in the control. These results suggest that the addition of chlorella to the feed of the laying hens brings positive effects on the improvement of egg quality and lowering of the Unsaturated Fatty Acid of egg yolk.

Key words : *chlorella*, *egg*, *fatty acid*, *organic laying hens diet*

I. 서 론

친환경축산물 생산량은 친환경농산물에 비해 미미한 수준이지만 매년 생산량이 증가할 것으로 전망하고 있다. 2007년 친환경농업육성법 시행규칙 개정을 통해 무항생제 축산물 인증제도를 도입함에 따라 친환경축산물 인증이 확대되었다. 2010년 현재, 친환경축산물 중 계란은 579.3 천톤/년으로 전체 생산량의 40.9%로 가장 많은 비중을 차지하고 있는 것으로 보고되었다(Lee, 2011). 그러나 대부분의 사료를 수입에 의존하고 있는 국내 여건을 고려한다면 유기축산물이 증가하지 않는 가장 큰 문제점으로 유기축산사료의 확보와 수급문제를 들고 있으나 유기축산사료 개발을 위한 연구는 매우 적다.

계란은 비타민, 단백질, 탄수화물, 소화지방 등이 풍부하여 다양한 음식재료로 널리 이용되고 있다. 그러나 계란의 콜레스테롤을 낮추기 위한 다양한 방법에 대해 논의되고 있으며 (Schonfeld et al., 1982), 그 효율성은 아직도 불분명하나 산란계에 급여하는 지방의 종류나 식물성 스테롤을 사료에 첨가하는 방안을 제시한 바 있다(Botsoglou et al., 1998; Jee, 2004). 식용동물을 대표하는 닭을 방목할 경우 계란의 성분 중 오메가-3 함량의 증진을 기대할 수 있었으나 대부분의 계란은 모두 사료를 먹여 사육된 닭에서 유래하기 때문에 방목할 경우에 비해 오메가-6 함량은 높고 오메가-3 함량은 줄어드는 것으로 보고되었다(Kang et al., 2006). 따라서 최근 계란 산업의 방향은 계란 노른자의 콜레스테롤 함량을 감소하기 위한 연구에 집중하고 있다(Jee, 2004; Park et al., 2005).

또한 계란 난황의 항산화 물질인 lutein이나 zeaxanthin의 함량을 증가시키기 위해 산란계에 미세조류(Fredriksson et al., 2006), 식물추출물(Karadas et al., 2006) 및 당근(Hammershoj et al., 2010)을 급여할 경우 긍정적인 효과가 있는 것으로 연구되었다.

최근 미세조류에서 다양한 생리활성물질이 발견되어, 이를 새로운 고부가가치 생물자원으로 이용하려는 관심이 매우 높고 미세조류가 생산하는 다양한 생리활성물질에 대한 연구가 진행되고 있다(Baiguz, 2000; Miguel, 2003; Kang et al., 2004). 클로렐라(*Chlorella* sp.)는 미세조류 중 담수에서 자라는 녹조류 중의 하나이며, 다양한 영양소를 골고루 가지고 있으면서도 식이섬유소, 클로로필 및 카로티노이드 등의 생리활성 물질을 많이 함유하고 있다

(Borowitzka, 1986; Kay, 1991). 최유진 등(2010)은 lipopolysaccharide로 염증반응이 활성화된 쥐의 대식세포를 이용하여 *Chlorella ellipsoidea*의 유기용매 추출물이 미치는 영향에 대하여 조사하였다. 그 결과 TNF- α , nitric oxide (NO)와 IL-6의 합성량이 줄어들어 염증 전구물질의 합성을 억제함을 시사하였다.

클로렐라 세포의 구성성분이 산란 수나 계란의 품질을 포함한 조류나 양계의 건강과 행동에 긍정적인 영향을 주는 것으로 연구된 바 있다(Arakawa et al., 1960). 해수 미세조류인 *Nannochloropsis oculata* 양계에 급여하였더니 계란의 색소 중 lutein과 zeaxanthin의 농도가 증가하는 것으로 보고하였다(Fredriksson et al., 2006). 육계 사료 내 클로렐라 분말, 액상 클로렐라 및 클로렐라 성장 촉진 인자(CGF)를 첨가 급여 하였을 때 증체량이 향상되고 액상 클로렐라를 급여한 처리구에서 혈액 내 백혈구 수를 높였으며 장내 유산균을 증가시켰다고 보고하였다(Kang et al., 2013). 김관웅(2011)은 육계 사료 내 클로렐라와 CGF를 첨가 급여 하였을 때 체액성 면역 반응을 향상시킬 수 있으며 성장을 개선시킨다고 보고하였다.

클로렐라를 발효시켜 육계, 산란계 및 오리 사료 내에 농도별로 첨가하여 생산성과 생리 활성에 미치는 영향에 대하여 평가한 바, 발효 클로렐라의 가금류 사료 내 첨가 급여는 육용 가금류에 대한 사료섭취량을 증가시키고 육계에게 성장 성적과 면역 기능을 강화시켰으며, 산란계의 산란율 증가와 난황색의 착색 효과 및 면역력을 향상시키는 것으로 나타나 가금류 성장 촉진용 사료 첨가제로써 가능성이 있음을 보고하였다(Oh, 2013).

따라서 본 연구는 광배양한 클로렐라 배양액 건조분말을 산란계의 사료에 첨가해서 계란의 품질과 난황의 지방산 조성에 미치는 영향에 대해서 조사하였다.

II. 재료 및 방법

1. 시험사료

본 연구는 충남 홍성군 유기 양계사육 농가에서 클로렐라 현장연구의 일환으로 실시하였다. 시험에 사용된 유기 양계사료의 배합표는 NRC 사양 표준(1994)에 근거하여 Table 1에서 보는 바와 같이 사료의 조단백질과 에너지 함량을 동일하게 배합하였으며, 이를 대조구 사료로 이용하였다. 처리는 클로렐라를 첨가하지 않은 처리구, 클로렐라 건조 분말을 1.0% (v/v) 첨가한 처리구로 나누어 실험하였다.

실험에 사용된 클로렐라균주(*Chlorella fusca*)는 국립농업과학원 유기농 작물보호실험실에서 유기농 벼 재배지에서 순수 분리 및 배양한 것을 사용하였다(Kim 등, 2014). 클로렐라 배양액은 실험실에서 7일 간 2,000 Lux 이상의 광조건에서 클로렐라 세포의 농도가 1.5×10^7 cell/mL 이상 되게 배양한 후, 클로렐라 배양액을 동결건조한 분말을 사료첨가제로 이용하

였다(Kim 등, 2014).

Table 1. Ingredients of basal diet organically fed laying hens

Ingredients	Content (g/kg)
Yellow corn (ground)	400.0
Soybean meal (CP, 44%)	265.0
Oyster shell (powder)	100.0
Palm kernel meal	70.0
Rice bran	40.0
Corn gluten	30.0
Rapeseed meal	25.0
Corn germ meal	20.0
Fish meal	20.0
Wheat bran	15.0
Rapeseed oil	10.0
Salt	2.6
Vitamin premix ^Z	1.0
Mineral premix	0.9
Anthelmintic	0.5
Total	1,000

^Z Vitamin premix : Vitamin A 3,200 IU, Vitamin D₃ 1000 IU, a-tocopherol 20 mg, Vitamin K₃ 0.6 mg, Vitamin B₁ 6 ug, Biotin 60 ug, vitamin B₃ 2 mg, betaine 100 mg, ethoxyquin 1.08 mg

2. 시험설계 및 사양

본 실험의 공시 동물로는 산란계(ISA-Brown) 180수를 공시하여 2개의 처리로 나누고, 처리당 3반복으로 반복 당 30수씩 체중을 비슷하게 공시하여 15일간 시험을 실시하였다.

공시 산란계는 반복 당 30수씩 floor pen에서 사육하였고, 사료 급여기 및 급수기의 숫자는 처리구 별로 동일하게 배치하였다. 사료와 물은 자유채식 및 자유음수 시켰으며, 사양 실험 전 기간 동안 18시간 정도 점등을 실시하였다.

3. 일반분석

양계사료 및 동결건조한 클로렐라 분말의 수분, 조회분 함량, 조단백질 함량, 조지방을

AOAC법(1995)에 준하여 분석하였다.

1) 수분

시료의 수분은 수분 정량용 수기를 사용하여 105°C 건조오븐(VS-4048D, Vision Sci. Co, Korea)에서 2시간 동안 미리 건조한 수기의 무게를 달고, 여기에 시료 2 g을 달아 넣고. 시료가 든 수기를 105°C 건조오븐(Vision Sci. Co.)에서 5시간 건조하여 수분함량을 구하였으며 수분함량을 구하는 공식은 다음과 같다.

$$\text{수분}(\%) = \frac{(\text{선조건 시료무게} - \text{건조후 시료무게})}{\text{원래 시료무게}} \times 100 \quad (1)$$

2) 조회분

시료의 조회분은 건식회화법으로 회분 정량용 crucible을 105°C 건조오븐(VS-4048D, Vision Sci. Co., Korea)에서 건조한 후 시료 2 g을 건조된 crucible에 달아 넣고, 600°C 회화로(Isotemp Muffle Furnace, Fisher Sci., USA)에서 2시간 동안 태웠다. 회화도가 200°C 이하로 내려가면 시료를 태운 crucible을 꺼내어 진공 Desiccator에 넣고 30분 동안 식힌 후, 무게를 측정하였다.

3) 조단백질

시료 및 시험구 산란계의 산란계의 조단백질 함량은 Semi-micro-kjeldahl법으로 단백질 자동분석기(Kjeltec Auto 1030 Analyzer, Digestion system 1015 Digester, Foss Tecator, Sweden)로 분석하였다. 시료 2 g을 Tecator tube에 넣고, 분해촉매제(Kjeltabs : 3.5 g K₂SO₄ + 3.5 mg Se) tablet 2개를 tube에 넣고 진한 황산 15 mL를 넣은 다음 Digestion Unit를 이용하여 420°C에서 40분간 분해하였다. 분해가 끝난 tube를 충분히 식힌 다음 3차 증류수 75 mL와 40% NaOH 용액 50 mL을 넣고, Distillation Unit에서 증류하여 125 mL를 받아 0.1N HCl을 이용하여 적정하였으며 조단백질 함량을 구하는 공식은 다음과 같다.

$$\text{조단백질}(\%) = \frac{(\text{mL HCl} - \text{Blank}) \times 0.1 \text{NHCl의 factor} \times 6.25}{\text{Sample (mg)}} \times 100 \quad (2)$$

4) 조지방

시료의 조지방은 Soxhlet 추출법으로 시료 2 g을 달아서 시료가 새어나오지 않도록 밀봉한 후, 105°C 건조오븐(VS-4048D, Vision Sci. Co., Korea)에서 4시간 동안 건조하여 함량을 구하고, Soxhlet 장치(DS8723, Do Sung Sci. Co.)의 수기에 넣어서 약 10시간 동안 ether를 이용하여 추출하였다. 추출에 사용한 ether는 1초에 4~5방울씩 떨어뜨리면서 약 10시간 동안 추출하였다. 그리고 Soxhlet 장치(DS8723, Do Sung Sci. Co.)의 수기 내에 시료가 든 여

과지를 꺼내어 흡후드에서 ether를 완전히 날린 후, 105°C 건조오븐(VS-4048D, Vision Sci. Co., Korea)에서 4시간 동안 건조하여 함량을 구하였고 조지방 함량을 구하는 공식은 다음과 같다.

$$\text{조지방(\%)} = \frac{\text{추출 전 건조한 시료무게} - \text{추출 후 건조한 시료무게}}{\text{원래의 시료무게}} \times 100 \quad (3)$$

4. 계란의 품질 조사

클로렐라 분말을 첨가한 사료를 급여한 계란의 품질 조사는 전북대학교 축산학과 가금 류실험실의 도움을 받아 진행하였다. 계란 품질 조사는 35주령부터 클로렐라 배양액 첨가 사료를 급여한 후 5일 간격으로 총 3회(5일, 10일, 15일)에 걸쳐서 계란을 수거하여 조사하였다. 난중은 채란 시 측정하였고, 채란 후 곧 바로 quality control microprocess (QC-SPA, QCM+, Technical Services and Supplies Co., England)를 이용하여 호유닛(Haugh unit, HU)을 측정하였고 TSS의 호유닛 등급 가이드라인을 기초해 측정한 농후난백 높이와 난중을 측정하여 TTS program (QCM+, Eggware, ver. 1.06)에서 난중과 난백 높이의 자료를 받아 호우산식에 의해 자동적으로 산출하였다(Table 2). 난백높이는 난황으로부터 4~5 mm 떨어진 부분에서 4회 측정하여 평균값으로 나타내었다.

$$\text{Haugh unit (HU)} = (100 \log(H - 1.7W^{0.37} + 7.57)) \quad (4)$$

H : 난백높이 (mm), W: 난중 (g)

Table 2. Guideline for the grade of haugh unit in TSS (Technical Services and Supplies) Co. Ltd.

HU grade	Ranges of Haugh unit (HU)
Excellent	more than 90
Very good	80 ~ 89
Acceptable	70 ~ 79
Fair	65 ~ 69
Consumer resistance point	60 ~ 64
Poor	55 ~ 59
Unacceptable	less than 50

난황색은 호유닛을 측정된 후 난황을 TTS의 QCM+와 연결한 Color meter (QCC)를 이용하여 측정하였으며, 난황색은 1~15까지 판정(1: 연노랑..... 15: 주황)하였다(Roche Com., 1988). 난각두께는 Outside micrometer (FHK, Japan)를 이용하여 호유닛과 난황색 측정에 사용된 계란에서 난각의 막을 제거 후 4회 측정하여 평균값으로 계산하였다.

난각색은 시험구별로 계란을 10개씩 3반복으로 수집하여 Quality control microprocess (QCM+, Technical Services and Supplies Co., England)를 이용하여 중단부의 난각색을 측정하였다.

난각 강도는 시험구별로 계란을 10개씩 3반복으로 수집하여 난각 강도를 측정하였다. 난각 강도는 난각강도계(FHK, Fujihira Industry Co., Ltd, Japan)를 이용하여 계란의 중단부를 위로하여 수직으로 고정된 후 압력을 가하여 파각되는 순간의 압력을 측정하였다.

5. 난황의 지방산 분석

클로렐라 배양액 첨가사료 급여한 계란의 난황의 지방산(fatty acid) 분석은 국립농업과학원 유해물질과 실험실의 도움을 받아 진행하였다. 난황의 지질 추출 및 지방산 분석은 Folch 등(1957), Morrison과 Smith의 방법(1967)을 변형하여 실시하였다. 시료의 계란 난황을 10 g에 chloroform과 methanol의 혼합용액(2:1) 50 mL를 가한 후, homogenizer (2,500 rpm)에서 3분간 교반하고 여과하여 지질을 추출하였다. 이렇게 하여 추출된 지질 분획 4~10 mg을 검화용 반응용기에 넣고 methanolic 0.5N NaOH 용액 1 mL를 가한 후 15분간 가열한 다음 냉각한다. 냉각 후 14% BF₃-methanol을 가하여 다시 15분간 가열하여서 methylation한다. 실온까지 완전히 냉각시킨 다음 여기에 1 mL의 heptane과 8 mL의 NaCl 포화용액을 가하여 1분간 혼합 후 30분간 방치한다. 반응액에 6% Potassium carbonate 2 mL와 Hexane 2 mL 첨가하여 교반한 후, 4°C 3000 rpm에서 15분간 원심분리하여 지방산을 함유한 Hexane 층을 GC 전용 Vial에 1 mL를 담는다. GC/FID (Varian, USA) 분석 전까지 -20°C에서 보관한다. 분석에 사용된 컬럼은 FFAP capillary column (30 m × 0.25 mm I.D., 0.25 μm film thickness)을 사용한다. Carrier gas로는 Nitrogen (1 mL/min)을 이용하였으며 Oven temp. 160°C, Injector temp. 240°C, Detector temp. 250°C, Split ratio는 10:1로 하였다.

6. 통계처리

본 실험은 2처리 3반복으로 진행하였으며, 실험에서 얻어진 모든 자료들의 통계분석은 Statistical Analysis System (SAS release ver 9.1, 2004)의 General Linear Model (GLM) procedure를 이용하여 분산분석을 실시하였고, 처리구간에 대한 유의성은 5% 수준에서 LSD 검정을 하였다.

Ⅲ. 결과 및 고찰

1. 클로렐라의 이화학적 특성

본 연구에 사용된 유기양계 사료와 클로렐라분말의 세포내 수분, 회분, 조단백질, 조지방 함량을 분석하였더니, 시험에 사용한 유기 산란계 사료의 수분함량은 약 12.8%이었고 회분 함량은 10.8%이었다. 특히, 유기 산란계 사료의 조단백질과 조지방 함량은 각각 18.0%와 2.5%이었다(Table 2). 클로렐라분말의 수분함량은 약 1.54%이었고 회분함량은 6.53%이었다. 특히, 클로렐라 생균분말의 조단백질과 조지방 함량은 각각 54.56%와 2.45%로 단백질함량이 큰 비중을 차지하고 있었다(Table 3).

Table 3. Chemical composition of basal diet

Composition (%)	Basal diet	Chlorella
Moisture	12.8±0.35 ¹⁾	1.54±0.01
Crude protein	18.0±0.21	54.56±0.16
Crude lipid	2.5±0.03	2.45±0.02
Crude ash	10.8±0.65	6.53±0.11

¹⁾ All values are expressed as means±standard error (n=3)

Park과 Cho (2004)에 의하면 시판 클로렐라분말의 유용 성분 함량중 수분과 회분함량은 각각 2.28%와 7.16%이며 조단백질과 조지방 함량은 각각 66.91%와 0.92%인 것으로 보고한 바 있다(한국보건산업진흥원, 2001). Atsushi (1999)에 의하면 클로렐라는 고 영양 식품인 우유나 달걀에 비해 단백질, 비타민, 무기질 함량이 매우 높아, 클로렐라의 성분 중에 단백질이 60.6%, 지방산은 12.8%, 회분은 4.5%인 것으로 보고하였다.

2. 클로렐라 급여가 계란품질에 미치는 영향

클로렐라분말(*C. fusca*)을 혼합한 유기농 사료 급여가 산란계의 계란품질에 미치는 영향을 조사한 바, 계란 난각의 색깔은 클로렐라를 급여 후 5일, 10일, 15일, 시간이 경과됨에 따라 점차 진해졌으며 대조구에 비해 유의적($P<0.05$)으로 난각의 색깔이 진해지는 것으로 나타났다. 계란 난각의 경도는 클로렐라를 급여 후 10일까지 증가하다 15일째에는 5일째와 비슷한 강도를 나타내었으나 대조구에 비해 유의적($P<0.05$)으로 강한 것으로 나타났다. 또한 계란 난각의 두께도 클로렐라분말을 급여한 것이 대조구에 비해 유의적($P<0.05$)으로 두

꺼운 것으로 나타났다(Table 4). 클로렐라분말을 급여한 산란계의 계란 흰자의 높이는 대조구에 비해 높았으며 급여 5일, 10일 후까지 계란 난백의 높이가 증가하였으나 15일째는 10일보다 감소하였고 대조구보다 높게 나타났다($P<0.05$). 난백의 품질 기준이 되는 호유닛은 클로렐라분말을 급여 5일 후 75.4 HU를 나타내었으나 10일 후에는 92.0 HU로 대조구(84.8 HU)에 비해 유의적($P<0.05$)으로 높은 값을 나타내었다. 계란 노른자의 황색도는 클로렐라분말을 급여 후 5일, 10일, 15일, 시간이 경과됨에 따라 점차 진해졌으며 대조구에 비해 유의적($P<0.05$)으로 계란 노른자의 색깔이 진해진 것으로 나타났다(Table 4).

Table 4. Effect of *Chlorella* powder on quality of egg in organically fed laying hens

DATZ	Treatment	Egg shell color	Egg shell strength (kg/cm ²)	Egg shell thickness (mm)	Albumin height (mm)	Haugh unit (HU)	Egg yolk color (RCF)
5 days	Chlorella	31.3±2.9 ¹⁾	43.4±0.7*	0.40±0.0 ^a	5.9±1.1*	75.4±7.8	1.8±0.8*
	Control	29.1±2.3	35.3±0.5 ^b	0.37±0.0	4.9±0.6	70.0±5.8	1.3±0.5
10 days	Chlorella	32.4±2.1*	45.9±0.8*	0.40±0.0*	8.4±0.7*	92.0±3.3*	2.5±0.8*
	Control	29.5±2.6	37.2±0.9	0.37±0.0	7.7±0.6	84.8±5.5	2.0±0.7
15 days	Chlorella	32.8±2.2*	43.3±0.9*	0.39±0.0*	6.9±0.7*	82.0±7.2*	4.1±1.0*
	Control	28.3±2.7	32.5±0.7	0.36±0.0	5.8±0.7	77.4±6.1	3.0±1.1

¹⁾ All values are expressed as means±standard error

* Indicates significant differences among treatment according to a LSD test at $p<0.05$ level.

^Z Days after treatment

최근 계란의 품질은 소비를 결정하는 중요한 인자이며 소비자의 기호도와 관련하여 식품적 가치를 높이려면 계란 내부와 외부의 품질이 모두 우수해야 한다고 보고된 바 있다 (Lesson and Summers, 1991).

호유닛, 난각 두께, 파각강도, 난황색은 계란 품질을 결정하는데 요한 요소(Lesson and Summers, 1991)이며, 난황 착색에 긍정적인 영향을 미치는 요인으로 양질의 옥수수, 비타민 E와 항산화제, 지방 우지 등이 있는 것으로 보고되었다(Park et al., 2005).

미세조류는 비타민, 미네랄, 단백질, 불포화지방산(PUFAs, polyunsaturated fatty acids), 황산화물질이 풍부하며(Pulz and Gross, 2004; Del Campo et al., 2007), 천연색소인 carotenoid와 phycobiliprotein이 풍부한 것으로 알려져 있다(Gouveia et al., 1996).

Janczyk 등(2009)은 *Chlorella*를 7.5g/kg까지 투여 양을 증가시켜 지속적으로 양계에 급여하였을 경우 산란수와 계란의 품질이 향상되는 것으로 본 실험결과와 유사한 결과를 보고하였다. *C. vulgaris*와 같은 미세조류 분말을 산란계 사료와 함께 급여할 경우 계란의 색도, 난중, 난각의 두께가 증가하는 것으로 보고하였다(Gouveia et al., 1996; Englmaierová et al.,

2013; Kotrbáček et al., 2013).

본 시험에서는 대조구에 비해 클로렐라분말을 급여한 처리구의 계란의 색도, 난중, 난각의 두께가 유의적으로 증가하였으며, 특히 계란의 품질을 종합적으로 평가하는 호유닛이 높은 것으로 나타나, 클로렐라분말을 급여가 유기산란계 계란의 품질을 향상시키는데 긍정적인 도움이 될 것으로 사료된다.

클로렐라분말을 급여한 유기산란계 계란의 난중은 급여 5일 후 대조구에 비해 5.3% 증가하였으나 급여 10일 후에는 대조구에 비해 3.9% 증가하였고 급여 15일 후에는 대조구에 비해 7.5% 증가한 것으로 나타났다($P<0.05$, Fig. 1, A). 클로렐라분말을 급여한 유기산란계 계란의 단백질함량은 급여 5일 후 대조구와 유의적인 차이가 없었으나 급여 10일과 15일 후, 클로렐라분말을 급여한 유기산란계 계란의 단백질함량이 대조구에 비해 각각 11.9%, 10.7% 증가한 것으로 나타났다(Fig. 1, B).

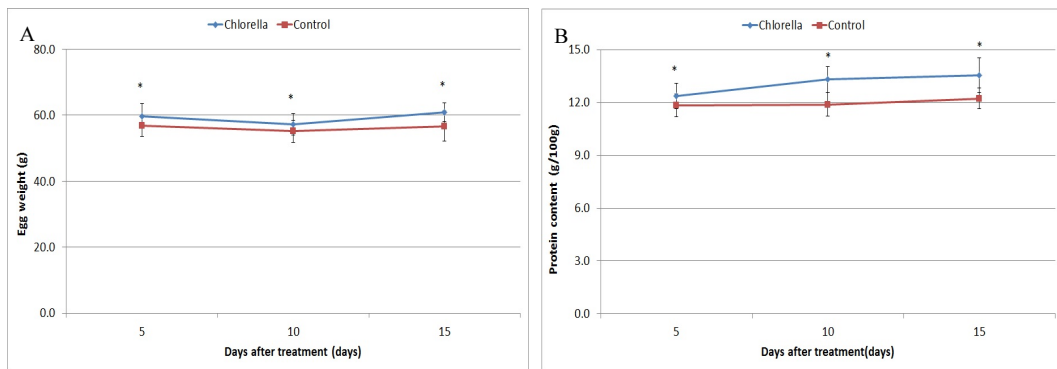


Fig. 1. Effect of *Chlorella* powder on average egg weight (A) and crude protein content (B) of organically feed laying hens.

All values are expressed as means±standard error.

* Indicates significant differences among treatment according to a LSD test at $p<0.05$ level.

Park과 Cho (2004)에 의하면 (주)대상에서 제조한 시판 클로렐라 추출물분말의 유용성분 함량중 수분과 회분함량은 각각 2.28%와 7.16%이며 조단백질과 조지방 함량은 각각 66.91%와 0.92%인 것으로 보고한 바 있으며, Atsush (1999)에 의하면 클로렐라의 성분 중에 단백질이 60.6%, 지방산은 12.8%, 회분은 4.5%인 것으로 보고하였다.

3. 클로렐라 급여가 난황 지방산에 미치는 영향

클로렐라분말(*C. fusca*) 급여에 따른 계란 노른자의 지방산 함량의 변화를 조사한 바, 난황의 주요 지방산 중 포화지방산(Saturated fatty acid)은 3종류로 palmitic acid, heptadecanoic

acid 및 stearic acid 이었고 불포화지방산(Unsaturated fatty acid)은 6종류로 palmitoleic acid, oleic acid, Linoleic acid, α -linolenic acid, Arachidonic acid (EPA) 및 Docosahexaenoic acid (DHA) 이었다(Table 5). 3종의 포화지방산(SFA) 중 heptadecanoic acid는 처리 간에 함량의 변화에 차이가 없었으나 Palmitoleic acid와 stearic acid는 클로렐라를 급여한 처리구비해 대조구에서 급여시간의 경과에 따라 유의적으로 높은 것으로 나타났다($P<0.05$, Table 5).

6종의 불포화지방산(UFA) 중 Oleic acid (C18:1n-7)과 Linoleic acid (C18:2n-6)의 함량이 가장 큰 비중을 차지하였다. 불포화지방산 중 Linoleic acid (C18:3n-3)과 같은 n-6 계열의 고도 불포화지방산의 함량은 무처리에 비해 클로렐라를 급여한 급여 10일 후부터 계란에서 유의적으로 높게 나타났다. 또한 α -linolenic acid과 Docosahexaenoic acid (DHA)와 같은 n-3 계열의 고도불포화지방산의 함량은 무처리에 비해 클로렐라를 급여한 급여 5일 후부터 계란에서 유의적으로 높게 나타났다($P<0.05$, Table 5).

Table 5. Effect of feeding *Chlorella* powder on fatty acids of organically fed egg.

Fatty acids (%)		Days after treatments					
		5 days		10 days		15 days	
		Chlorella	Control	Chlorella	Control	Chlorella	Control
C16:0	Palmitic acid	11.9 ¹⁾	13.2*	11.5	13.8*	13.2	14.7*
C16:1n-7	Palmitoleic acid	1.6	1.6	1.8*	1.6	1.2	1.1
C17:0	Heptadecanoic acid	0.3	0.3	0.3	0.4	0.4	0.4
C18:0	Stearic acid	6.1	6.7*	6.9	7.9*	11.5	12.8*
C18:1n-7	oleic acid	35.0*	32.2	37.7	39.0*	33.7	35.5*
C18:2n-6	Linoleic acid	30.4	34.6*	30.9*	27.0	32.2*	31.8
C18:3n-3	α -linolenic acid	9.4*	5.7	6.5	7.4*	3.9*	1.0
C20:4n-6	Arachidonic acid (EPA)	1.8	2.3*	1.6	2.0*	1.6	2.1*
C22:6n-3	Docosahexaenoic acid (DHA)	3.6*	3.4	2.7*	0.9	2.3*	1.6
Total		100	100	100	100	100	100
UFA ^y		81.8*	79.9	81.2*	77.9	75.0*	72.1
SFA ^z		18.2	20.1*	18.8	22.1*	25.0	27.9*
UFA/SFA		4.56*	4.0	4.35*	3.65	3.02*	2.58

¹⁾ All values are expressed as means

* Indicates significant differences among treatment according to a LSD test at $p<0.05$ level.

^y SFA : Saturated Fatty Acid

^z UFA : Unsaturated Fatty Acids

UFA/SFA : Unsaturated Fatty Acids / Saturated Fatty Acid

포화지방산의 경우 클로렐라를 급여한 계란보다 급여하지 않은 대조구에서 급여시간의 경과에 따라 증가하였고 높게 나타났으나, 불포화지방산의 함량은 대조구보다 클로렐라를 급여한 계란에서 유의적으로 높게 나타났다($P<0.05$, Tabl 3). 불포화지방산과 포화지방산의 비율을 비교해 보면, 대조구보다 클로렐라 생균분말을 급여한 계란이 높은 것으로 나타났다($P<0.05$, Table 5).

난황의 주요 지방산 조성 중 oleic acid, palmitic acid, linolenic acid, stearic acid, 순으로 나타난 결과는 Park 등(2005)의 결과와 유사하였다. 이미 어유, 씨앗 또는 식물성 기름등의 서로 다른 지방을 급여한 암탉을 통해 난황 지방산의 조성을 바꿀 수 있음을 보고된 바 있다 (Leaf and Weber, 1988; Marshall 등, 1994).

사람에게 계란을 풍부하게 섭취 시킨 실험 결과에서 포화지방산보다 고도불포화지방산의 비율이 높았을 때 콜레스테롤이 거의 증가하지 않는 것으로 보고한 바 있다(Schonfeld et al., 1982). EPA와 DHA와 같은 고도불포화지방산(PUFAs)은 혈액의 점도를 낮추고 세포막의 유동성과 변형성을 증가시켜 심장과 순환계 및 염증성 질병의 예방에 효과가 있는 것으로 보고된 바 있다(Yongmanitchai and Ward, 1989). 또한 EPA와 DHA 등 고도불포화지방산은 체내에서 합성할 수 없기 때문에 해양 동물과 식물성 플랑크톤(Phytoplankton)과 같은 식품을 통해 섭취해야 하는 고도 불포화지방산인 것으로 알려져 있다(Yongmanitchai and Ward, 1992; Ward and Singh, 2005; Khozin-Goldberg et al., 2011).

n-6와 n-3 계열 지방산은 혈액 내 좋은 콜레스테롤인 HDL-cholesterol을 높이고 나쁜 콜레스테롤인 LDL-cholesterol을 낮추지만, 포화지방산은 이들을 증가시켜 동맥경화를 비롯한 성인병을 유발하는 것으로 보고되고 있다(Jiang and Sim, 1991; Van et al., 1994). 따라서 본 시험의 결과에서 액상 클로렐라의 식이는 난황의 지방산 조성에 영향을 미치는 것으로 사료되며, 이와 관련된 추후의 연구가 필요할 것으로 판단된다.

IV. 적 요

본 연구는 클로렐라 건조분말을 산란계의 사료에 첨가해서 계란의 품질과 난황의 지방산 조성에 미치는 영향에 대해서 분석하였다. 시험에 사용한 유기 산란계 사료의 수분함량은 약 12.8%, 회분함량은 10.8%, 조단백질함량은 18.0%, 조지방 함량은 2.5%이었다. 사료에 첨가한 클로렐라분말의 수분함량은 약 1.54%, 회분함량은 6.53%, 조단백질은 54.56%, 조지방 함량은 2.45%이었다. 계란 난각의 색깔은 클로렐라를 급여한 후, 시간의 경과에 따라 대조구에 비해 유의적으로 진해졌다. 파각강도는 클로렐라를 급여한 후, 10일까지 증가하였으며 대조구에 비해 유의적으로 강하였다. 계란 난각의 두께도 클로렐라를 급여한 것이 대조구에 비해 유의적으로 두꺼웠다. 클로렐라 급여한 계란 난백의 높이는 대조구에 비해 높

왔다. 계란 난백의 품질 기준이 되는 호유닛은 클로렐라를 급여한지 10일 후, 92.0 HU로 대조구(84.8 HU)에 비해 유의적으로 높았다. 클로렐라를 급여한 계란 난황의 황색도도 대조구에 비해 유의적으로 진한 황색을 나타내었다. 클로렐라를 급여한 계란의 무게는 급여 15일 후, 대조구에 비해 7.5% 증가하였으며, 단백질함량은 급여 10일과 15일 후, 대조구에 비해 각각 11.9%, 10.7% 증가하였다. 클로렐라 급여에 따른 계란 노른자의 지방산 함량의 변화를 조사한 바, 난황의 주요 지방산 조성은 oleic acid, trans-linoleic acid, palmitic acid, α -linolenic acid, stearic acid, DHA, EPA, palmitoleic acid, heptadecanoic acid 순으로 나타났다. Palmitoleic acid는 클로렐라를 급여한 처리구가 대조구에 비해 감소하였다. 포화지방산은 클로렐라를 급여한 계란보다 대조구에서 높게 나타났고, 불포화지방산은 대조구보다 클로렐라를 급여한 계란에서 유의적으로 높게 나타났다. 불포화지방산과 포화지방산의 비율은 대조구보다 클로렐라를 급여한 계란이 높았다. 이상의 결과를 종합하여 볼 때 클로렐라 생균분말을 산란계의 사료에 첨가해서 급여할 경우 계란의 품질 향상과 난황의 불포화지방산 함량을 높이는데 긍정적인 영향을 미치는 것으로 판단된다.

[Submitted, March. 2, 2018 ; Revised, May. 21, 2018 ; Accepted, June. 28, 2018]

References

1. AOAC. 1995. Official Method of Analysis of AOAC Intl. 16th ed. Method 991.43. Association of Official Analytical Communities, Arlington, VA, USA.
2. Arakawa, S., N. Tsurumi, K. Murakami, S. Muto, J. O. Hoshino, and T. Yagi. 1960. Experimental breeding of White Leghorn with the *Chlorella*-added combined feed. Jpn. J. Exp. Med. 30: 185-192.
3. Astushi, M. C. 1999. What is *Chlorella*. Food Ind, 9: 122-138.
4. Bajguz, A. 2000. Effect of brassinosteroids on nucleic acids and protein content in cultured cells of *Chlorella vulgaris*. Plant Physiol Biochem, 38: 209-215.
5. Borowitzka, M. A. 1986. Micro-algae as sources of fine chemicals. Microbiol Sci, 3: 372-375.
6. Botsoglou, N. A., A. L. Tannakopouloes, D. J. Fleouris, A. S. Tserveni, and I. E. Psomas. 1998. Yolk fatty acid composition and cholesterol content in response level and form of dietary flaxseed. J. Agric. Food Chem. 46: 4652-4656.
7. Choi, Y. J., W. S. Jo, H. J. Kim, B. H. Nam, E. Y. Kang, S. J. Oh, G. A. Lee, and M.

- H. Jeong, 2010. Anti-inflammatory effect of *Chlorella ellipsoidea* extracted from seawater by organic solvents. Kor. J. Fish Sci. 43: 39-45.
8. Del Campo, J. A., M. Garcia-González, and M. G. Guerero. 2007. Outdoor cultivation of microalgae for carotenoid production: current state and perspectives. Applied Microbiology and Biotechnology 74: 1163-1174.
 9. Englmaierová M, M. Skřivan, and I. Bubancová. 2013. A comparison of lutein, spray-dried *Chlorella*, and sunthetic carotenoids effects on yolk colour, oxidative stability, and reproductive performance of laying hens. Czech J. Anim. Sci. 58: 412-419.
 10. Folch, J., M. Lees, and G. H. S. Sloan-Stanlet. 1957. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. J. Biol. Chem. 226: 497-509.
 11. Frederiksson, S., K. Elwinger, and J. Pickova. 2006. Fatty acids and carotenoids composition of egg yolk as an effect of microalgae addition to feed formula to laying hens. Food Chemistry 99: 530-537.
 12. Gouveia, L., V. Veloso, A., Reis, H. L. Fernandes, J. Empis and J. M. Novais, 1996. *Chlorella vulgaris* used to colour egg yolk. J. the Sci. Food and Agri. 70: 167-172.
 13. Hammershoj, M., U. Kidmose, and S. Steinfeldt. 2010. Deposition of carotenoids in egg-yolk by short-term supplement of coloured carrot (*Daucus carota*) varieties as forage material for egg-laying hens. J. Sci. Food and Agri. 90: 1163-1171.
 14. Janczyk, P., I. Halle, G. Freyer, and W. B. Souffrant. 2009. Effect of microalgae *Chlorella vulgaris* on laying hen performance. Arch. Zootec. 12: 5-13.
 15. Jee, G. M. 2004. Perspective on modifying aatty acid composition and cholesterol content of eggs. Korean J. Poultry Sci. 31: 61-71.
 16. Jiang, Z. ans J. S. SJim. 1991. Plasma and hepatic cholesterol content ans tissue fatty acid composition od rates fed n-3 fatty acid enriched egg yolk. Inform 2: 351(Abstr.)
 17. Kang, H. K. H. M. Salim, N. Akter, D. W. Kim, J. H. Kim, H. T. Bang, M. J. KIm, J.C. Na, J. Hwangbo, H.C. Choi, and O. S. Suh. 2013. Effect of various forms of dietary *Chlorella* supplementation on growth performance, immune characteristics, and intestinal microflora population of broiler chickens. J. Appl. Poult. Res. 22: 100-108.
 18. Kang, H. K., G. H. Kim, B. S. Park, and A. Jang. 2006. Effects of dietary on the cholesterol content and fatty acid composition of egg yolk. Korean J. Food Sci. Ani. Resour. 26: 517-524.
 19. Kang, M. S., S. J. Sim, and H. J. Chae. 2004. Chlorella as a functional biomaterial. Korean J. Biotechnol Bioeng, 15: 113-118.
 20. Karadas, F., E. Grammenidis, P. F. Surai, T. Acamovic, and N. H. Sparks. 2006. Effect of

- carotenoids from lucerne, marigold and tomato on egg yolk pigmentation and carotenoid composition. *British Poultry Sci.* 47: 561-566.
21. Kay, P. A. 1991. Microalgae as food and supplement. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 30: 555-573.
 22. Khozin-Goldberg, I., U. Iskandarov, and Z. Cohen. 2011. LC-PUFA from photosynthetic microalgae: Occurrence, biosynthesis, and prospects in biotechnology. *Appl. Microbiol. Biot.* 91: 905-915.
 23. Kim, G. H. 2011. Study on dietary effect of *Chlorella vulgaris* on productivity and immune response in poultry and post-weaned pigs. The thesis of Doctor's degree of Konkuk University.
 24. Kim M. J., C. K. Shim, Y. K. Kim, S. J. Hong, J. H. Park, E. J. Han, H. J. Jee, J. C. Yoon, and S. C. Kim. 2014. Isolation and morphological identification of fresh water green algae from organic farming habitats in Korea. *Korean J. Org. Agri.* 22: 743-760.
 25. Kotrbáček, V., M. Skřivan, J. Kopecký, O. Pěnkava, P. Hudečková, I. Uhríková, and J. Doubek. 2013. Retention of carotenoid in egg yolks of laying hens supplemented with heterotrophic *Chlorella*. *Czech J. Anim. Sci.* 58: 193-200.
 26. Lee, C. H.. 2011. Special: In the era of internationalization-Where have you been to the environmental friendly livestock industry? "When it is necessary to have international competitiveness by stable acquisition of organic feed". *Korean Poultry J.* 507: 92-95.
 27. Leaf, A. and P. C. Weber. 1988. Cardiovascular effect of n-3 fatty acid. *New Engl. J. Med.* 318: 549-553.
 28. Marshall, A. C., A. R. Sams, and M. E. Van Elswyk. 1994. Oxidative stability and sensory quality of stored eggs from hens fed 1.5% menhaden oil. *J. Food Sci.* 59: 561-563.
 29. Miguel, O. 2003. Commercial development of microalgal biotechnology : from the test tube to the marketplace. *Biomol Eng.* 20: 459-466.
 30. Morrison, W. R. and L. M. Smith. 1967. Preparation of fatty acid methylesters and dimethylacetates from lipid with boron fluoride methanol. *J. Lipid Res.* 5: 600-608.
 31. Oh, S. T. 2013. Effects of dietary fermented *Chlorella vulgaris* (CBT[®]) on productivity and change of the physiological function in poultry. The thesis of Master degree of Konkuk University.
 32. Park, B. S., H. G. Kang, and A. R. Jang. 2005. Influence of feeding β -cyclodextrin to laying hens on the egg reduction and cholesterol content of yolk. *Asian Aust. J. Anim. Sci.* 18: 835-840.
 33. Park, J. H., S. Y. Park, and K. S. Ryu. 2005. Effects of dietary betaine and protein levels on performance, blood composition, abdominal fat and liver amino acid concentration n

- laying hens. Kor. J. Poult Sci. 32: 157-163.
34. Park, S. B., K. J. Lee, W. H. Lee, and K. S. Ryu. 2012. Effect of feeding *Thymus vulgaris* powder on the productivity, egg quality and egg yolk fatty acid composition in laying hens. Kor. J. Polut. Sci. 39: 157-161.
 35. Park, S. I. and E. J. Cho. 2004. Quality characteristics of noodle added with *Chlorella* extract. Kor. J. Food & Nutr. 17: 120-127
 36. Pulz, O., and W. Gross. 2004. Valuable products from biotechnology of microalgae. Applied Microbiology and Biotechnology 65: 635-648.
 37. Roche, Com. 1988. Egg yolk pigmentation with carophyll. Brochre. p. 1218.
 38. SAS Institute. 2004. SAS User's guide: Statistics. Version 8 edition SAS Institute Inc. Cary, NC, USA.
 39. Schonfeld, G., W. Patcsh, L. L. Ridel, C. Nelson, M. Epstein, and R. E. Olson. 1982. Effects of dietary cholesterol and fatty acids on plasma lipoprotein. J. Clin. Invest. 69: 1072-1080.
 40. Steel, R. G. D. and J. H. Torrie. 1980. Principles and procedure of statistics. McGeaw Hill New York.
 41. Van Elswyk, M. E., B. Hargis, J. D. Williams, and P. S. Haris. 1994. Dietary menhaden oil contributes to hepatic lipidosis in laying hens. Polut. Sci. 73: 657-669.
 42. Ward, O. P. and A. Singh. 2005. Omega-3/6 fatty acid : Alternative sources of production. Process Biochem. 40: 3627-3652.
 43. Yongmanitchai, W. and O. W. Ward. 1989. Omega-3 fatty acid: alternative sources of production. Process Biochemistry. 24: 117-125.
 44. Yongmanitchai, W. and O. W. Ward. 1992. Separation of lipid classes from *Phaeodactylum tricorutum* using silica cartridges. Phytochemistry. 31: 3405-3409.