

산란종계 사료 내 이소플라본 및 Casein Phosphopeptide의 첨가가 종란 생산성 및 후기 난각질에 미치는 영향

김은집 · 유선종 · 김용란 · 안병기 · 강창원

건국대학교 동물생명과학대학

Effects of Dietary Isoflavone and Casein Phosphopeptide on Hatching Egg Production and Eggshell Quality in Aged Egg-Type Breeder Hens

E. J. Kim, S. J. You, Y. R. Kim, B. K. Ahn, and C. W. Kang

College of Animal Bioscience and Technology, Konkuk University

ABSTRACT

This experiment was conducted to investigate the effects of dietary Ca levels and some feed additives such as isoflavone and casein phosphopeptide (CPP) on eggshell quality and hatching egg production in aged egg-type breeder hens. A total of three hundred and sixty, 56-week-old Hy-Line Brown breeder hens were divided into six groups and fed experimental diets of two levels of Ca (3.3% or 3.6%) either with addition of 0.2% isoflavone, 0.5% CPP or devoid of all for 5 weeks. There were no significant differences in laying performances and settable egg production among the groups. Significant increases ($P<0.05$) in eggshell strength were observed with increasing dietary Ca and addition of isoflavone, but not with addition of CPP. Fertility and hatchability were not influenced by dietary Ca and addition of isoflavone or CPP. The treatment had few significant effects on tibial proximal compositions and breaking strength. The concentrations of Ca, P, estrogen and calcitonin in serum were not affected by the dietary treatments. These results indicated that relatively high level of dietary Ca in combination with isoflavone had a beneficial effect on improving eggshell quality in aged egg-type breeder hens. But hatching egg production was not affected by dietary isoflavone or CPP.

(**Key words** : Dietary Ca levels, Isoflavone, Casein phosphopeptide, Eggshell quality, Aged egg-type breeder hens)

I. 서 론

적절한 난각질을 유지하기 위해서는 충분한 영양소, 특히 Ca의 공급이 매우 중요하다(Roland, 1986). 계란 1개당 난각의 무게는 약 5.5 g, 여기에 함유된 Ca은 2.2 g 정도로 이 양은 총 체

내 Ca 양의 10%에 해당하며, 따라서 50주 동안 280개의 계란을 생산하는 개체에서 계란 생산을 위해 필요한 Ca의 양은 총 체내 Ca의 30 배에 달한다(Gilbert, 1983). 따라서 Ca 결핍 없이 지속적으로 산란을 하기 위해서는 사료를 통한 적절한 양의 Ca을 공급해 주어야 한다.

Corresponding author : Dr. C. W. Kang, College of Animal Bioscience and Technology, Konkuk University, Hwayang-dong, Gwangjin-gu, Seoul 143-701, Korea
TEL : 82-2-450-3669, FAX : 82-2-452-9946, E-mail : kkucwkang@empal.com

그러나 사료 내 Ca 공급원이 100% 효율적으로 이용되는 것은 아니며, 특히 주령이 증가함에 따라 Ca 이용률이 점차 저하되기 때문에(Garlich 등, 1984), 산란중기 이후에 Ca의 1일 섭취량을 늘려주는 방법, Ca의 체내 흡수 및 대사에 관여하는 성분의 이용 등 난각질의 개선을 위한 다양한 연구와 검토가 필요할 것이다.

근래 들어 phytoestrogen을 충분히 섭취하는 동양인에게는 골다공증 발생이 적다는 역학조사 결과가 보고되면서(Adlercreutz, 1990), estrogen 활성을 발휘하는 식물 유래의 estrogen 유사화합물에 대해 많은 관심을 가지게 되었다. 대표적인 phytoestrogen인 이소플라본은 대두를 비롯한 콩 제품에 다량 함유되어 있으며, 호르몬의 생산 및 골 대사의 작용에 관여한다(Bingham 등, 1998). Arjmandi 등(1998)은 난소를 제거한 실험용 쥐를 이용하여 이소플라본을 급여했을 때 이소플라본 급여구에서 골밀도가 유의하게 증가하였음을 관찰하였다. 이소플라본의 경구 투여 후 골 손실이 유의하게 예방되었다고 보고된 바 있어(Picherit 등, 2000), 이소플라본이 골 형성 및 골격발달에 긍정적인 영향을 발휘하는 것으로 보여진다.

또한 Ca의 체내 흡수를 촉진시키는 성분 중에 카제인의 가수분해 산물인 casein phosphopeptide (CPP)에 대한 연구도 다수 보고되었다(Gueguen 등, 2000). Sato 등(1983)은 *in vitro* 연구를 통해 우유 유래의 CPP가 Ca의 흡수에 영향을 미치며, Mykkanen과 Wasserman (1980) 역시 CPP가 Ca transfer를 증가시켰다는 결과를 보고하였다. 이소플라본의 일종인 genistein과 CPP가 골 성분에 미치는 영향에 관한 연구에서 골다공증 예방에 genistein과 CPP가 상승적으로 작용하였다(Ma와 Yamaguchi, 2000). 이소플라본 및 CPP가 Ca의 흡수 및 대사에 긍정적인 영향을 미친다는 연구 결과는 인체 및 실험동물을 이용한 연구로 국한되어 있으며, 가축에서의 영향은 충분히 검증되지 않았다. 산란계 역시 주령이 증가함에 따라 골밀도가 크게 감소하는데(Fleming 등, 1998), Ca의 체내 흡수 및 대사에 긍정적인 영향을 미치는 물질을 활용함으로써 난각질에 변화를 줄 가능성에 대한 검토가

필요할 것이다. 따라서 본 연구에서는 산란종계 노계에서 이소플라본과 CPP의 첨가 급여가 종란 생산성 및 후기 난각질에 미치는 영향을 평가하였다. 실험사료 내 Ca을 3.3% 및 3.6%의 두 가지 수준으로 설정하였다.

II. 재료 및 방법

1. 실험설계

이소플라본 (리젠바이오, Eugenflavone[®]) 및 casein phosphopeptide (明治제과, Japan, CPP-II[®])의 영향을 평가하기 위하여, Ca 수준이 3.3% 혹은 3.6% 수준인 실험사료에 이소플라본과 CPP를 각각 0.2%와 0.5% 수준으로 첨가, 이소플라본과 CPP를 전혀 첨가하지 않은 무첨가구 등 전체 6개의 처리구(3반복)로 구성하였다(Table 1).

Table 1. Experimental design^{1) 2)}

Treatments	Ca levels (%)	Isoflavone levels (%)	CPP levels (%)
T1	3.3	—	—
T2	3.3	0.2	—
T3	3.3	—	0.5
T4	3.6	—	—
T5	3.6	0.2	—
T6	3.6	—	0.5

¹⁾ CPP, casein phosphopeptide.

²⁾ T1, Ca 3.3%; T2, Ca 3.3%-isoflavone 0.2%; T3, Ca 3.3%-CPP 0.5%; T4, Ca 3.6%; T5, Ca 3.6%-isoflavone 0.2%; T6, Ca 3.6%-CPP 0.5%.

2. 실험동물 및 실험사료

56주령 Hy-line Brown 산란종계 암탉 360수와 수탉 36수를 실험동물로 공시하여 총 5주간 사양실험을 실시하였다. 실험에 사용된 사료는 옥수수과 대두박을 기초로 하여 질소보정정대사에너지(TME_n)는 2,800 kcal/kg으로, 조단백질 함량은 15%로 동일하게 배합하였다. T1부

터 T3 처리구에는 Ca 수준을 3.3%로, T4부터 T6 처리구에는 Ca 수준을 3.6%로 하였다. 실험 사료 내 다른 영양소 함량은 NRC (1994) 요구 량에 명시된 양을 충족시키거나 상회하는 수준 으로 하였다. 실험사료의 배합비 및 성분조성 은 Table 2에 나타난 바와 같다.

3. 사양관리

공시계는 각 처리구내 반복당 각 22수씩(암 닭 20수 + 수닭 2수) 2단 철제 케이지(너비 180 cm, 깊이 90 cm; 수당 735 cm²)에서 사육하였다. 실험사료와 물은 자유채식 및 음수 시켰으며,

Table 2. Formula and chemical composition of experimental diets¹⁾

Ingredients	T1	T2	T3	T4	T5	T6
Yellow corn	61.17	61.07	61.07	61.68	61.58	61.48
Soybean meal	16.00	16.00	16.00	16.63	16.63	16.63
Corn gluten meal	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00
Animal fat	1.20	1.20	1.20	1.20	1.20	1.20
Limestone	7.82	7.82	7.82	8.74	8.74	8.74
Dicalcium phosphate	1.02	1.02	1.02	1.07	1.07	1.07
Salt	0.30	0.30	0.30	0.30	0.30	0.30
Lysine-HCl	0.12	0.12	0.12	0.11	0.11	0.11
DL-Methionine	0.09	0.09	0.09	0.09	0.09	0.09
Choline-Cl	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10
Mineral mix ²⁾	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10
Vitamin mix ³⁾	0.08	0.08	0.08	0.08	0.08	0.08
Wheat bran	10.00	9.90	9.60	7.90	7.80	7.60
Isoflavone	—	0.20	—	—	0.20	—
Casein phosphopeptide	—	—	0.50	—	—	0.50
Calculated values						
Crude protein (%)		15.00			15.00	
Ether extract (%)		4.04			4.01	
Crude fiber (%)		3.29			3.17	
Ca (%)		3.30			3.60	
Available P (%)		0.30			0.30	
Lys (%)		0.79			0.79	
TSAA (%)		0.64			0.64	
TME _n (kcal/kg)		2,800			2,800	

¹⁾ T1, Ca 3.3%; T2, Ca 3.3%-isoflavone 0.2%; T3, Ca 3.3%-CPP 0.5%; T4, Ca 3.6%; T5, Ca 3.6%-isoflavone 0.2%; T6, Ca 3.6%-CPP 0.5%.

²⁾ Mineral mixture provided following nutrients per kg of diet: Fe, 40 mg; Zn, 65 mg; Mn, 87 mg; Cu, 66 mg; I, 1.5 mg; Se, 0.1 mg.

³⁾ Vitamin mixture provided following nutrients per kg of diet: vitamin A, 10,000 IU; vitamin D₃, 300 IU; vitamin E, 20 IU; vitamin K₃, 2 mg; vitamin B₁, 2 mg; vitamin B₂, 5 mg; vitamin B₆, 3.5 mg; vitamin B₁₂, 0.02 mg; pantothenic acid, 12 mg; niacin, 30 mg; biotin, 0.12 mg; folic acid 0.7 mg.

점등은 전 실험기간 동안 16L:8D로 고정하였다. 기타 사양관리는 종계사양관리의 관행적인 방법(Hy-Line Brown, 2002)에 준하여 실시하였다.

4. 조사항목

1) 사료섭취량 및 난생산성

사료섭취량은 급여량과 잔량을 1주 간격으로 조사하여 각 처리구내 반복별로 주당 섭취량을 산출하였다. 실험기간 동안 매일 오후 3시에 수집한 산란 개수와 연관, 파란 등을 합한 총 산란 개수를 사육수수로 나누어 산란율을 구하였으며, 수집된 계란전부의 무게를 측정하여 계란 수로 나누어 평균 난중을 산출하였다.

2) 난각질

실험 사료 급여 후 주 단위로 생산된 계란을 반복구당 10개씩 정상란 중에서 무작위로 수집하여, 난각강도, 난각두께 등 난각질의 관련 항목을 조사하였다. 난각강도는 난각 강도계(FHK, Japan)를 이용하여 계란의 둔단부를 위로하고 수직으로 고정한 후 압력을 가하여 파각되는 순간의 압력을 측정하였다. 난각두께는 계란 중앙부의 난각 파편을 채취하여 난각 후도계(FHK Peacock, Japan)를 이용하여 측정하여 평균치로 환산하였다.

3) 종란율, 수정율 및 부화율

각 처리구별, 반복구별로 매일 산란된 계란에 대해서 선별 후 종란으로서의 사용 여부를 결정하였는데, 파란, 오염란, 기형란 및 48 g 미만의 계란들을 전체 수집된 계란에서 공제하여 종란율을 계산하였다. 얻어진 종란은 저장온도 15-18℃의 집란실에서 150개씩 수집될 때까지 저장한 후 입란하였다. 수정율을 부화 8일령에 검란을 실시하여 유정란수를 부화기 입란수로 나누어 산출하였으며, 부화율은 온도 99.5°F, 상대습도 55-60%의 조건을 갖춘 부화기(Petersime-576, Belgium)를 통해 부화된 초생추수를 부화기 입란수로 나누어 산출하였다.

4) 경골 내 회분 및 Ca 함량

실험종료 시에 각 처리구내 반복별로 체중이 평균치에 가까운 개체를 2수씩 선발하여 희생시킨 후 우측 경골을 적출하였고, 경골의 길이와 중량을 측정하였다. 채취한 경골 시료는 분석 전까지 뼈의 손상이 가장 적은 -20℃에서 보관하였다(Seldin, 1965). Instron (Model 4465, Instron Standard Testing Machine)을 이용하여 경골 중심부위의 파쇄강도를 측정하였으며(Zhang과 Coon, 1997), 강도는 Newton (N)으로 표시하였다. 경골강도 측정 후 경골의 화학적 분석은 Cheng과 Coon (1990)의 방법을 일부 수정하여 실시하였다.

5) 혈액 성분의 조성

혈액 성분의 조사를 위해 각 처리구내 반복구별로 선발한 개체의 익하정맥에서 혈액을 채취하여 혈청을 분리하였다. 준비된 혈청은 자동혈액분석기(CX-7 Operator, Beckman Counter)를 사용하여 분석기에 설치된 반응기 내에서 각각의 시약과 반응시킨 후 흡광도를 측정하였다. 혈청 내 Ca 및 P 농도를 측정하였고, glutamic-oxaloacetic transaminase (GOT), glutamic-pyruvic transaminase (GPT) 및 alkaline phosphatase (ALP)의 활성을 조사하였다.

Calcitonin 농도는 진단용 kit (CALCITONIN IRMA, DSL)를 이용하여 반응시킨 후 Auto γ -Counter (Cobra series, Packard)에 넣어 측정하였다. Estrogen 농도 측정은 Chen 등(1999)의 방법을 일부 수정하여 실시하였다. 먼저 혈청 0.6 ml에 ethylacetate:hexane 용액(3:2, v/v)을 6 ml 첨가하고 잘 섞어 준 후 top phase를 5 ml 취하고 질소가스로 증발시켰다. Dilution buffer 2.5 ml에 재용해하고 0.5 ml을 취하여 검사용 시료로 하였다. 여기에 anti-total estrogen과 ^{125}I 17 β estradiol를 0.1 ml씩 첨가하였다. 혼합 후 실온에서 90분 방치하였고 이후 second antibody 0.1 ml을 첨가하여 다시 실온에서 60분간 반응시켰다. 원심분리(2,500 rpm, 15분) 후 Auto γ -Counter에 넣어 정량 분석하였다.

6) 난각막 내 uronic acid 및 glycosaminoglycans의 정량분석

Kim 등(1996)의 방법을 일부 수정하여 glycosaminoglycan (GAG)을 정제하였고, Farndale 등 (1982)의 방법을 근거로 난각막 내 GAG를 정량하였다. Uronic acid의 정량은 Scott (1960)의 방법을 일부 수정하여 실시하였으며, 당분석 전용 HPLC (Bio-LC)를 이용하여 galactose를 정량하였다.

5. 통계분석

사양실험 및 분석을 통해 얻어진 자료들의 통계분석은 SAS (SAS, 2002)의 GLM program (Two-way ANOVA procedure)을 이용하여 분산분석을 실시하였고, 분산분석 상의 유의한 차이가 인정되는 경우 Duncan의 다중검정(Duncan, 1955)을 이용하여 처리간의 유의성을 검정하였다. Ca × 이소플라본 및 Ca × CPP의 interaction을 조사하였으며, 얻어진 결과치는 평균값과 표준오차로서 표시하였다.

III. 결과 및 고찰

1. 사료섭취량 및 난생산성에 미치는 영향

사료 내 Ca 수준 및 이소플라본과 CPP의 첨가 급여가 난 생산성 및 종란율에 미치는 영향에 대한 결과에서 Ca 3.6% 급여구(T4-T6)의 평균 일당사료섭취량은 Ca 3.3% 급여구(T1-T3)에 비해 다소 높았으나, 유의한 차이는 없었으며, 이소플라본 및 CPP의 첨가 역시 사료섭취량에 큰 영향을 미치지 않았다. 산란율과 종란율에서 T4 처리구가 다른 처리구에 비해 낮았으나, 사료 내 Ca 수준, 이소플라본 및 CPP의 첨가에 의한 영향은 인정되지 않았다. Ca × 이소플라본 및 Ca × CPP interaction에서도 유의한 변화는 관찰되지 않았다. 난중에서도 처리간에 큰 차이는 없는 것으로 나타났으며, 사료 내 Ca 수준, 이소플라본 및 CPP의 첨가에 의한 영향, Ca × 이소플라본 및 Ca × CPP interaction에서 유의한 변화는 없었다.

2. 난각질에 미치는 영향

사료 내 Ca 수준 및 이소플라본과 CPP의 첨가 급여에 따라 난각강도는 Ca 수준이 증가했을 때 또한 이소플라본 첨가에 의해 유의하게 개선된 것으로 나타났다. CPP의 첨가 효과 및 Ca × CPP interaction에서는 특별한 변화가 관찰되지 않았다. 전 실험기간의 평균 난각두께에서도 처리구간의 차이가 뚜렷하게 나타나지 않았는데, 난각강도에 비해 Ca 수준 및 이소플라본의 첨가에 의한 반응이 민감하지 않았다.

본 실험에서는 Ca 급여 수준이 증가함에 따라 전 실험기간의 난각강도 평균이 유의하게 개선되는 것으로 나타났으나, 난각두께에서는 유의한 차이가 인정되지 않았다. 난각질과 관련된 선행연구(Bar 등, 2002; Jackson 등, 1987)의 결과들은 Ca 급여 수준이 매우 높거나 낮도록 실험한 것들이 대부분으로 본 실험의 결과와 직접 비교하기는 어렵다. 그러나 한인규 등 (1981)은 백색 산란계에 1.75%부터 3.75%까지 다양한 수준으로 Ca를 급여했을 때 3.25% 수준까지는 난각두께가 개선되었으나 3.25% 급여구와 3.75% 급여구간에는 차이가 없었다고 하였으며, Keshavarz (1986)는 56주령의 공시계에 Ca 수준이 3.5, 4.5 및 5.5%인 실험사료를 급여한 결과, 난각질에 큰 변화가 없었다고 다소 상이한 결과를 보고하였다. 본 실험에서는 NRC (1994)의 요구량 수준인 3.3%로는 산란중계 노계에서 난생산성에는 큰 영향이 없었으나 난각질 개선을 위해서는 사료 내 Ca 수준을 3.3% 이상으로 더 높여주는 것이 바람직하다는 결과가 시사되었다.

본 실험에서는 CPP의 첨가에 의한 난각강도의 개선 효과는 발견되지 않았으나 이소플라본의 첨가 급여가 난각강도의 유의한 개선에 도움이 된다는 결과가 관찰되었다. 이소플라본 및 난각질과의 연관성에 대한 선행연구가 없기 때문에 본 실험의 결과를 명확히 해석하기 어렵지만, 산란중계 노계에서 적절한 수준의 Ca 공급과 더불어 이소플라본을 첨가 급여함으로써 난각질의 개선 효과를 기대할 수 있을 것으로 사료된다.

3. 수정율 및 부화율에 미치는 영향

사료 내 Ca 수준 및 이소플라본과 CPP의 첨가 급여가 수정율과 부화율에 미치는 영향에 대한 결과를 Table 3에 명시하였다. 수정율, 수정란대 부화율 및 입란대 부화율은 사료 내 Ca 수준 및 이소플라본과 CPP 첨가의 의해 처리 간에 큰 차이가 없는 것으로 나타났다. 이소플라본 첨가구(T2 및 T5)의 평균 수정율은 89.10%로 이소플라본 무첨가구(T1, T3, T4 및 T6)의 87.12%에 비해 다소 높았으나, 유의한 차이는 아니었다. 이소플라본 첨가구의 수정란대 부화율 및 입란대 부화율은 각각 74.62% 및 66.20%로 이소플라본 무첨가구의 평균 부화율에 비해 다소 낮은 경향을 나타내었다. CPP 첨가구(T3 및 T6)의 수정란대 부화율 및 입란대 부화율은 CPP 무첨가구(T1, T2, T4 및 T5)에 비해 다소 높은 경향이었으나, 통계적으로 유의한 차이는 아니었으며, 이소플라본 및 CPP의 첨가 급여에

의해 종란 생산성이 향상될 것이라고는 기대하기 어려울 것으로 생각되었다.

4. 경골 강도 및 경골성분함량에 미치는 영향

사료 내 Ca 수준 및 이소플라본과 CPP의 첨가 급여가 경골 내 화학적 조성 및 경골강도에 미치는 영향을 Table 4에 나타내었다. 경골 내 조회분 함량은 사료 내 Ca 수준 (Ca 3.3% 급여구, 30.55% vs. Ca 3.6% 급여구, 29.85%), 이소플라본 첨가(무첨가구, 29.99% vs. 첨가구, 30.76%), CPP 첨가(무첨가구, 30.78% vs. 첨가구 29.11%)에 따라 큰 차이를 보이지는 않았다. 경골 내 Ca 함량에서도 Ca 급여 수준의 변화에 따른 영향이나 이소플라본과 CPP 첨가에 의한 영향은 없었던 것으로 나타났는데, 본 실험에서는 사료 내 Ca 수준이 낮은 처리구와 높은 처리구 간에 Ca 수준의 차이가 적었기 때문에 경골 내 Ca 함량에 영향을 주지 못했던 것으로 생각된

Table 3. Effects of dietary isoflavone and casein phosphopeptide on fertility and hatchability in aged egg-type breeder layers^{1) 2)}

Treatments	Fertility (%)	Hatch of fertile egg (%)		Hatch of egg set (%)	
		Female	Total	Female	Total
T1	86.8 ± 3.06	40.1 ± 1.89	82.5 ± 2.70	34.7 ± 0.51	71.4 ± 0.29
T2	89.0 ± 2.90	38.9 ± 3.79	72.7 ± 7.39	34.4 ± 2.28	64.4 ± 5.04
T3	85.2 ± 3.81	40.7 ± 0.44	81.3 ± 3.93	34.7 ± 1.59	69.0 ± 0.92
T4	88.0 ± 1.82	41.0 ± 3.53	81.5 ± 6.38	35.9 ± 2.34	71.6 ± 4.65
T5	89.2 ± 2.65	38.7 ± 2.83	76.5 ± 4.25	34.4 ± 1.55	68.0 ± 1.73
T6	88.4 ± 3.60	42.2 ± 5.85	82.4 ± 4.37	36.9 ± 3.49	72.6 ± 4.65
Ca	NS	NS	NS	NS	NS
Isoflavone	NS	NS	NS	NS	NS
CPP	NS	NS	NS	NS	NS
Ca × isoflavone	NS	NS	NS	NS	NS
Ca × CPP	NS	NS	NS	NS	NS

¹⁾ CPP, casein phosphopeptide.

²⁾ T1, Ca 3.3%; T2, Ca 3.3%-isoflavone 0.2%; T3, Ca 3.3%-CPP 0.5%; T4, Ca 3.6%; T5, Ca 3.6%-isoflavone 0.2%; T6, Ca 3.6%-CPP 0.5%.

Mean ± SE.

Table 4. Effects of dietary isoflavone and casein phosphopeptide on tibial strength and chemical compositions in aged egg-type breeder layers^{1) 2)}

Treatments ²⁾	Crude ash (%)	Ca (%)	P (%)	Bone strength (N)
T1	30.43 ± 1.25	11.93 ± 0.84	5.30 ± 0.37	0.22 ± 0.02
T2	31.86 ± 1.24	12.18 ± 0.91	5.59 ± 0.34	0.22 ± 0.02
T3	29.39 ± 0.62	11.26 ± 0.27	5.01 ± 0.18	0.20 ± 0.01
T4	31.25 ± 1.03	12.26 ± 0.33	5.45 ± 0.19	0.23 ± 0.02
T5	29.66 ± 1.50	11.96 ± 0.63	5.44 ± 0.30	0.23 ± 0.03
T6	28.89 ± 0.82	11.12 ± 0.33	5.01 ± 0.12	0.20 ± 0.01
Ca	NS	NS	NS	NS
isoflavone	NS	NS	NS	NS
CPP	NS	NS	NS	NS
Ca×isoflavone	NS	NS	NS	NS
Ca×CPP	NS	NS	NS	NS

¹⁾ CPP, casein phosphopeptide.

²⁾ T1, Ca 3.3%; T2, Ca 3.3%-isoflavone 0.2%; T3, Ca 3.3%-CPP 0.5%; T4, Ca 3.6%; T5, Ca 3.6%-isoflavone 0.2%; T6, Ca 3.6%-CPP 0.5%.

Mean ± SE.

다. 경골 내 P 함량 역시 Ca 급여 수준의 변화에 따른 영향이나 이소플라본과 CPP 첨가에 의한 영향은 없었던 것으로 나타났다. 경골 파쇄강도는 T4 처리구에서 가장 높았고 T6 처리구에서 가장 낮았으나, Ca 급여 수준의 변화에 따른 영향이나 이소플라본과 CPP 첨가에 의한 영향은 받지 않은 것으로 나타났다.

난소를 제거한 실험용 쥐를 이용한 연구(Arjmandi 등, 1998)에서 이소플라본의 급여 후에 골밀도가 유의하게 증가되었고, 이소플라본의 일종인 genistein과 CPP가 골 성분에 미치는 영향에 관한 연구에서 골다공증 예방에 genistein과 CPP가 상승적으로 작용하였다(Ma와 Yamaguchi, 2000). 이는 이소플라본과 CPP가 골 형성 및 골격발달에 긍정적인 영향을 발휘하며, 혼합사용 시에 상승효과를 나타낼 수 있음을 시사하는 결과이지만, 본 실험에서 관찰된 결과는 닭 즉 조류에서 얻어진 결과로서 실험동물이나 인체에서처럼 포유동물과는 다른 종의 차이인지

아니면 실험기간이 짧아 차이를 관찰 할 수 없었는지 좀 더 깊이 있는 연구가 필요하다고 사료된다. Ruff와 Hughes (1985)는 뼈의 파쇄강도가 다양한 사료적 처리에 있어서 골격의 상태를 예측하는 지표가 된다고 하였는데 본 실험에서는 파쇄강도 항목에서 사료 내 Ca 수준 및 이소플라본과 CPP의 첨가 급여에 의한 영향을 받지 않은 것으로 나타났다. 노성래(2003) 등은 산란중계 병아리를 공시하여 수행한 선행연구를 통해 성장기의 영양상태에 따라 경골 파쇄강도와 조회분 함량에서 유의한 차이가 관찰된 바 있는데, 노계에서는 bone remodelling이 거의 일어나지 않는다는 보고(Newman과 Leeson, 1999)를 고려하면 이러한 결과의 차이가 공시계의 주령 때문이 아닌가 생각된다. 실제로 난각질에 미치는 영향과 경골강도 및 조회분 함량의 결과가 일치하지 않는 결과도 시사된 바 있다(Keshavarz와 McCormick, 1991).

5. 혈액 성상에 미치는 영향

사료 내 Ca 수준 및 이소플라본과 CPP의 첨가 급여가 혈청 내 성분 및 호르몬 농도에 미치는 영향에 대한 결과를 Table 5에 나타내었다. 혈청 내 Ca 농도는 Ca 3.3% 급여구에서 Ca 3.6% 급여구(T4-T5)에 비하여 다소 낮았으나 유의한 차이는 아니었으며, 이소플라본이나 CPP의 첨가 급여구에서도 처리간에 유의한 차이는 없는 것으로 나타났다. 혈청 내 P 농도에서도 Ca 급여 수준의 변화에 따른 영향이나 이소플라본과 CPP 첨가에 의한 영향은 관찰되지 않았다. GOT 및 ALP의 활성은 Ca 급여 수준의 변화에 따른 영향이나 이소플라본과 CPP 첨가에 의한 영향을 받지 않은 것으로 나타났다. 그러나 GPT 활성은 Ca 3.6% 급여구(T4-T6)에서 8.17 U/L로, Ca 3.3% 급여구(T1-T3)의 3.35 U/L에 비해 유의하게 높았다.

혈중 GOT 및 GPT 수준은 조류에서도 조직의 손상을 반영하는 지표로서 활용된다(Lumeij, 1997). 조직 손상 외에도 골다공증 및 부갑상선 기능항진의 조건에서 혈중 ALP 농도가 상승하며, ALP 활성은 Ca 대사의 간접적인 지표로 이용될 수 있다(Lumeij, 1997). 본 실험에서는 생리적 반응의 지표로서 이를 조사하였지만 이소플라본과 CPP의 첨가에 의한 유의한 변화는 인정되지 않았다. 그러나 본 실험에서 나타난 GPT 수준은 정상범위에 포함되는 수치이기 때문에 Ca 섭취 수준의 증가에 의해 조직 손상이 동반되었다고 보기는 어려울 것 같다.

혈청 estrogen 농도는 T5 처리구에서 가장 낮았고 T3 처리구에서 가장 높았으나, 처리간에 큰 차이는 없는 것으로 나타났다. Ca 급여 수준의 변화에 따른 영향이나 이소플라본과 CPP 첨가에 의한 영향은 관찰되지 않았다. 이소플라본은 estrogen 유사 화합물이기 때문에 혈청

Table 5. Effects of dietary isoflavone and casein phosphopeptide on various profiles of serum in aged egg-type breeder layers^{1) 2)}

Treatments ²⁾	Ca (mg/dl)	P (mg/dl)	GOT (U/L)	GPT (U/L)	ALP (IU/dl)	Estrogen (pg/ml)	Calcitonin (pg/ml)
T1	12.46±0.72	5.20±0.65	180.43±24.28	3.71±0.61	470.17± 74.82	182.11±26.86	4.89±0.39
T2	14.30±0.69	4.16±0.51	156.43±24.77	3.17±0.75	558.43±138.36	191.43±20.69	6.04±1.00
T3	15.63±0.52	5.01±0.58	187.71±20.53	3.14±0.51	370.71± 87.01	194.71± 7.85	6.65±0.81
T4	14.76±1.04	4.91±0.67	198.86±10.62	2.50±0.43	517.71±104.16	177.14±16.98	9.16±1.85
T5	15.95±1.24	4.66±0.59	207.71±31.75	10.17±4.30	620.17± 88.07	148.00±24.21	5.00±0.40
T6	15.01±0.74	4.74±0.46	249.29±87.99	11.85±2.48	702.33±131.99	188.29±18.31	4.69±0.25
Ca	NS	NS	NS	P<0.01	NS	NS	NS
Isoflavone	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
CPP	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
Ca×isoflavone	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
Ca×CPP	NS	NS	NS	P<0.05	NS	NS	P<0.05

¹⁾ CPP, casein phosphopeptide; GOT, glutamic-oxaloacetic transaminase; GPT, glutamic-pyruvic transaminase; ALT, alkaline phosphatase.

²⁾ T1, Ca 3.3%; T2, Ca 3.3%-isoflavone 0.2%; T3, Ca 3.3%-CPP 0.5%; T4, Ca 3.6%; T5, Ca 3.6%-isoflavone 0.2%; T6, Ca 3.6%-CPP 0.5%.

Mean ± SE.

내 호르몬 농도에 영향을 미칠 가능성에 대해 주목하였는데, 혈청 내 estrogen 농도는 이소플라본 첨가구(T2 및 T5)에서 169.71 pg/ml로, 이소플라본 무첨가구(T1, T3, T4 및 T6)의 평균인 185.56 pg/ml 보다 다소 낮은 경향을 나타내었다. 혈청 calcitonin 농도 역시 4.69 pg/ml에서 9.16 pg/ml의 범위로서 Ca 급여 수준의 변화에 따른 영향이나 이소플라본과 CPP 첨가에 의한 영향은 나타나지 않았다.

Estrogen은 조류에서 미네랄 항상성을 유지하는 중요한 역할을 하는 호르몬이다(Elaroussi 등, 1993). 성성숙 이후에 estrogen은 혈장 내 총 Ca 농도의 상승에 중요한 기능을 하며, 난각의 calcification에 필요한 대부분의 Ca을 저장하는 medullary bone의 형성을 자극한다(Mueller 등, 1964). 본 실험에서는 이소플라본이 estrogen 유사화합물로서 혈중 estrogen 농도를 증가시킬 수 있을지에 대해 조사하였지만, 혈중 estrogen 수준은 처리별로 크게 차이가 없었다. Calcitonin

역시 갑상선의 C-세포에서 만들어져서 파골세포에 직접 작용하여 혈중 Ca 농도를 저하시키는 역할을 한다. 따라서 장내에서의 Ca 흡수, 신장을 통한 Ca 배설 및 골격에서의 Ca 대사를 조절하는 주요 인자이다(Elaroussi 등, 1994). 본 실험에서는 혈중 호르몬 농도와 Ca 농도에서 처리간에 큰 차이가 없었으며 대체로 일치하는 결과가 관찰되었다.

6. 난각막 내 uronic acid 및 GAG 함량에 미치는 영향

사료 내 Ca 수준 및 이소플라본과 CPP의 첨가 급여가 난각막 내 uronic acid, GAG 함량 및 galactose 비율에 미치는 영향에 대한 결과를 Table 6에 나타내었다. 난각막 내 uronic acid 함량은 Ca 3.6% 급여구에서 Ca 3.3% 급여구에 비해 유의하게 증가하는 결과가 관찰되었다 ($P < 0.001$). CPP 첨가구(T3 및 T6)의 평균 uronic

Table 6. Effects of dietary isoflavone and casein phosphopeptide on the contents of uronic acid, glycosaminoglycan and galactose of egg shell membrane in aged egg-type breeder layers^{1) 2)}

Treatments ²⁾	Uronic acid (µg/g)	Glycosaminoglycan (µg/g)	galactose (%)
T1	4,156.67 ± 398.84	2,430.00 ± 160.73	0.37 ± 0.03
T2	5,290.00 ± 610.11	2,830.00 ± 186.10	0.39 ± 0.04
T3	6,246.67 ± 576.46	3,052.33 ± 294.38	0.43 ± 0.03
T4	6,983.33 ± 161.80	3,966.00 ± 144.07	0.53 ± 0.05
T5	6,913.33 ± 873.41	3,784.67 ± 118.22	0.44 ± 0.05
T6	7,473.33 ± 504.06	4,236.67 ± 352.72	0.57 ± 0.01
Ca	P<0.001	P<0.001	P<0.001
Isoflavone	P<0.001	P<0.001	P<0.001
CPP	P<0.001	P<0.001	P<0.001
Ca × isoflavone	P<0.001	P<0.001	P<0.001
Ca × CPP	P<0.001	P<0.001	P<0.001

¹⁾ CPP, casein phosphopeptide.

²⁾ T1, Ca 3.3%; T2, Ca 3.3%-isoflavone 0.2%; T3, Ca 3.3%-CPP 0.5%; T4, Ca 3.6%; T5, Ca 3.6%-isoflavone 0.2%; T6, Ca 3.6%-CPP 0.5%.

Mean ± SE.

acid 함량은 6,950 µg/g으로 CPP 무첨가구(T1, T2, T4 및 T5)의 5,836 µg/g에 비해 역시 유의한 증가를 보여주었다($P < 0.001$). 그러나 이소플라본 첨가구에서는 이소플라본 무첨가구에 비해 유의하게 감소하는 결과가 나타났다. 난각막 내 GAG 함량에서도 uronic acid와 유사한 경향을 관찰할 수 있었다. 사료 내 Ca 수준의 증가와 CPP 첨가 급여에 의해 GAG 함량이 유의하게 증가한 것과 대조적으로 이소플라본은 무첨가구의 GAG 함량이 첨가구에 비해 유의하게 높은 수치를 나타내었다($P < 0.001$).

GAG는 disaccharide unit가 반복되는 음전하의 긴 사슬 다당류로, 결합조직 내에 주로 존재하면서 중요한 생리적 작용을 수행하는 성분으로 알려져 있다(Nakano 등, 2001). Carrino 등(1997)은 난각으로부터 proteoglycan을 추출하여 GAG chain의 특성을 조사하였다. 이미 오래 전에 Bronsch와 Diamantstein (1965)은 난각 내 GAG 함량과 난각의 강도간에 정(+)의 상관관계가 있다고 하였다. 본 실험에서는 사료 내 Ca 수준의 증가와 함께 난각막 내 uronic acid와 GAG 함량이 유의하게 증가하였으며, 이는 난각강도의 개선과 잘 일치하는 결과였다. 그러나 이소플라본 첨가에 의해 난각막 내 uronic acid와 GAG 함량은 유하게 감소함으로써 난각강도의 결과와는 일치하지 않았기 때문에 본 실험의 결과만으로 난각막 내 uronic acid 및 GAG 함량과 난각질과의 관련 여부를 설명하기는 어려울 듯하다. GAG 함량이 난각두께와 상관없이 항상 일정하다는 대조적인 연구 결과 역시 보고되었다(Cooke와 Balch, 1970).

IV. 요약

본 실험은 산란중계 노계에서 이소플라본과 CPP의 첨가 급여가 종란 생산성 및 후기 난각질에 미치는 영향과 Ca 대사에 미치는 영향을 검토하기 위한 목적으로 실시하였다. 56주령의 Hy-Line Brown 산란중계 암탉 360수와 수탉 36수를 공시하여 사료 내 Ca를 3.3% 및 3.6% 수준으로 하고 이소플라본과 CPP를 각각 0.2% 및 0.5% 수준으로 첨가한 총 6개의 실험사료(3

반복)를 5주간 급여하였다. 주별로 사료섭취량을 조사하였고, 산란율과 난중은 매일 조사하였다. 주별로 생산된 종란으로부터 종란율과 부화율을 조사하였다. 실험사료 급여 후 생산된 계란을 반복구별로 수집하여 난각질 및 난각막 내 glycosaminoglycan과 uronic acid 분석에 이용하였다. 실험 종료 시 반복구별로 평균체중이 비슷한 개체를 선발하여 채혈 후 희생시킨 다음 경골을 적출하였다. 채취한 경골은 화학적 조성의 분석을 위한 시료로 이용하였고, 얻어진 혈액에서 화학성분 및 호르몬 분석을 실시하였다.

사료섭취량, 난생산성 및 종란율에서는 처리간에 유의한 차이가 없었다. 사료 내 Ca 수준 및 이소플라본 첨가는 난각강도를 각각 유의하게 개선시킨 것으로 나타났으며, CPP의 첨가에 의해서는 특별한 변화가 관찰되지 않았다. 수정율 및 부화율에서도 처리간에 유의한 차이는 없는 것으로 나타났다. 경골강도 및 경골 내 성분 조성에서 사료 내 Ca 수준 및 이소플라본과 CPP의 첨가 효과는 발견되지 않았다. 혈중 Ca, P, estrogen 및 calcitonin 농도 역시 처리간에 차이가 없는 것으로 나타났다.

본 실험에서는 사료 내 Ca 수준의 증가 및 이소플라본 같은 Ca의 이용성에 영향을 미치는 성분을 적절히 활용함으로써 후기 난각질의 개선을 통해 생산성을 향상시킬 수 있을 것으로 사료된다. 그러나 종란 생산성에 대해서는 이소플라본 및 CPP의 첨가가 크게 영향을 미치지 않았다.

(색인어 : 사료 내 Ca 수준, 이소플라본, 카제인 포스포펩타이드, 난각질, 산란중계 노계)

V. 사 사

본 연구는 농림부 농림기술개발사업의 지원에 의해 이루어진 것입니다

V. 인용 문헌

1. Adlercreutz, H. 1990. Western diet and western diseases: some hormonal and biochemical mecha-

- nisms and associations. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* 50(suppl.) 210:3-23.
2. Arjmandi, B. H., Birnbaum, R., Goyal, N. V., Gentlinger, Juma, M. J., Alekel, S. L., Hasler, C. M., Drum, M. L., Holis, B. W. and KuKreja, S. C. 1998. Bone-sparing effect of soy protein in ovarian hormone-deficient rats is related to its isoflavone content. *Am. J. Clin. Nutr.* 68(Suppl.): 1364s-1368s.
 3. Bar, A., Razaphkovsky, V. and Vax, E. 2002. Re-evaluation of calcium and phosphorus requirements in aged laying hens. *Br. Poult. Sci.* 43:261-269.
 4. Bingham, S. A., Atkinsan, C., Liggins, J. and Coward, A. 1998. Phyto-oestrogens: where are we now? *Br. J. Nutr.* 79:393-406.
 5. Bronsch, K. and Diamantstein, T. 1965. Mucopolysaccharides as a localized factor of eggshell stability. *Nature.* 207:635-636.
 6. Carrino, D. A., Rodriguez, J. P. and Caplan, A. I. 1997. Dermatan sulfate proteoglycans from the mineralized matrix of the avian eggshell. *Connect. Tissue Res.* 36:175-193.
 7. Cheng, T. K. and Coon, C. N. 1990. Sensitivity of various bone parameters of laying hens to different daily calcium intake. *Poultry Sci.* 69: 2209-2213.
 8. Chen, S. E., Long, D. W., Nestor, K. E., Westor, R. L., Meuniot, V. L., Zhu, H., Hansen, R. J. and Bacon, W. L. 1999. Effect of divergent selection for total plasma phosphorus on plasma and yolk very-low density lipoproteins and plasma concentration of selected hormones in laying Japanese quail. *Poultry Sci.* 78:1241-1251.
 9. Cooke, A. S. and Balch, D. A. 1970. The distribution and carbohydrate composition of the organic matrix in hen egg shell. *Br. Poultry Sci.* 11:353-365.
 10. Duncan, D. B. 1955. Multiple range and multiple F tests. *Biometr.* 11:1-42.
 11. Elaroussi, M. A., Forte, L. R., Eber, S. L. and Biellier, H. V. 1993. Adaptation of the kidney during reproduction: role of estrogen in the regulation of responsiveness to parathyroid hormone. *Poultry Sci.* 72:1548-1556.
 12. Elaroussi, M. A., Forte, L. R., Eber, S. L. and Biellier, H. V. 1994. Calcium homeostasis in the laying hen. 1. Age and dietary calcium effects. *Poultry Sci.* 73:1581-1589.
 13. Farndale, R. W., Sayers, C. A. and Barrett, A. J. 1982. A direct spectrophotometric assay for sulfated glycosaminoglycans in cartilage cultures. *Connect. Tissue Res.* 9:247-248.
 14. Fleming, R. H., McCormack, H. A. and Whitehead, C. C. 1998. Bone structure and strength at different ages in laying hens and effects of dietary particulate limestone, vitamin K and ascorbic acid. *Br. Poult. sci.* 39:434-440.
 15. Garlich, J., Brake, J., Parkhurst, C. R., Thaxton, J. P. and Morgan, G. W. 1984. Physiological profile of caged layers during one production year, molt and postmolt: Egg production, egg shell quality, liver, femur, blood parameters. *Poultry Sci.* 63: 339-343.
 16. Gilbert, A. B. 1983. Calcium and reproduction function in the hen. *Proc. Nutr. Soc.* 42:195-212.
 17. Guegeun, L., MsScAgar and Pointillart, A. 2000. The bioavailability of dietary calcium. *J. Am. College Nutr.* 19:119S-136S.
 18. Hy-Line VARIETY Brown. 2002. Parent Stock Management Guide.
 19. Jackson, M. E., Hellwig, H. M. and Waldroup, P. W. 1987. Shell quality : Potential for improvement by dietary means and relationship with egg size. *Poultry Sci.* 66:1702-1713.
 20. Keshavarz, K. 1986. The effect of variation of calcium intake on production performance and shell quality. *Poultry Sci.* 65:2120-2125.
 21. Keshavarz, K. and McCormick, C. C. 1991. Effect of sodium aluminosilicate, oyster shell, and their combinations on acid base balance and eggshell quality. *Poultry Sci.* 70:313-325.
 22. Kim, Y. S., Jo, Y. Y., Chang, I M., Toida, T., Park, Y. and Linhardt, R. J. 1996. A new glycosaminoglycan from the giant african snail

- achatina fulica. *J. Biol. Chem.* 271:11750-11755.
23. Lumeij, J. T. 1997. Avian Clinical Biochemistry. In: *Clinical Biochemistry of Domestic Animals* (ed. J. J. Kanebo, J. W. Harvey, and M. L. Bruss, 5th) Academic Press. pp. 857-883.
 24. Ma, Z. J. and Yamaguchi, M. 2000. Synergistic effect of genistein and casein phosphopeptides on bone components in young and elderly female rats. *J. Health Sci.* 46:474-479.
 25. Mueller, W. J., Schraer, R. and Schraer, H. 1964. Calcium metabolism and skeletal dynamics of laying pullets. *J. Nutr.* 84:20-26.
 26. Mykkanen, H. M. and Wasserman, R. H. 1980. Enhanced absorption of calcium by casein phosphopeptides in rachitic and normal chicks. *J. Nutr.* 110:2141-2148.
 27. Nakano, T., Ikawa, N. and Ozimek. 2001. Extraction of glycosaminoglycans from chicken eggshell. *Poultry Sci.* 80:681-684.
 28. NRC. 1994. *Nutrient Requirements of Poultry*, 9th ed. Natl. Acad. Sci., Washington, DC.
 29. Newman, S. and Leeson, S. 1999. The effect of dietary supplementation with 1,25-dihydroxycholecalciferol or vitamin C on the characteristics of the tibia of older laying hens. *Poultry Sci.* 78:85-90.
 30. Picherit, C., Coxam, V., Bennetau-Pelissero, C., Kati-Coulibaly, S., Davicco, M. J., Lebecque, P. and Barlet, J. P. 2000. Daidzen is more efficient than genistein in preventing ovariectomy-induced bone loss in rats. *J. Nutr.* 130:1675-1681.
 31. Roland, D. A. Sr. 1986. Egg shell quality III: Calcium and phosphorus requirements of commercial Leghorn. *World's Poultry Sci. J.* 42:154-165.
 32. Ruff, C. R. and Hughes, B. 1985. Bone strength of heigh restricted broilers as affected by levels of calcium, phosphorus, and manganese. *Poultry Sci.* 64:1682-1636.
 33. Sato, R., Noguchi, T. and Naito, T. 1983. The necessity for the phosphate portion of casein molecules to enhance Ca absorption from the small intestine. *Agric. Biol. Chem.* 47:2415-2417.
 34. SAS, 2002. *SAS User's Guide. Statistics, Version 8.e*, SAS Institute. Inc., Cary, NC.
 35. Scott, J. E. 1960. Aliphatic ammonium salts in the essay of acidic polysaccharides from tissues. *Methods Biochem. Anal.* 8:145-197.
 36. Seldin, E. D. 1965. Arheologic model for cornical bone. *Acta. Orthop. Scand.* 36(Suppl. 83):1-77.
 37. Zhang, B. and Coon, C. N. 1997. The relationship of various tibia bone measurements in hens. *Poultry Sci.* 76:1698-1701.
 38. 노성래, 유선종, 김성권, 김은집, 안병기, 강창원. 2003. 산란중계 육성기 사료의 에너지 및 단백질 수준이 성장에 미치는 영향. *한국가금학회지.* 30: 73-81.
 39. 한인규, 이규호, 이상진, 강태홍, 권관. 1981. 산란기에 대한 칼슘 공급제의 사료가치 비교시험. 2. 칼슘 공급수준이 산란율, 난각질 및 사료효율에 미치는 영향. *한국축산학회지* 23:199-205.
- (접수일자 : 2006. 7. 14. / 채택일자 : 2006. 10. 18.)