

19702856

G 1159-0753

제 2 차 년 도  
최 종 보 고 서

639.54

L 2937

v. 2

## 계란의 난각두께 강화기술 개발

Study on the Development for Eggshell  
Strengthening Technology

kw 그대로

이문재: 동행수업

연구기관

한국식품개발연구원

농 립 부

# 제 출 문

농림부 장관 귀하

본 보고서를 “계란의 난각두께 강화 기술 개발” 연구과제의 2차년도 최종  
보고서로 제출합니다.

1996. 11. 30.

주관연구기관명 : 한국식품개발연구원

총괄연구책임자 : 윤 칠 석(축산물이용연구부, 책임연구원)

연 구 원 : 이 남 형(축산물이용연구부, 책임연구원)

한 찬 규(축산물이용연구부, 선임연구원)

김 영 봉(축산물이용연구부, 선임연구원)

성 기 승(축산물이용연구부, 선임연구원)

노 정 해(축산물이용연구부, 연구원)

정 근 기(영 남 대 학 교, 교 수)

이 복 희(중 앙 대 학 교, 교 수)

허 준 무(덕 이 농 장)

# 요 약 문

## I. 제목

계란의 난각두께 강화 기술개발

## II. 연구개발의 목적 및 중요성

산란계 영양 및 개량의 눈부신 발전으로 난중 및 산란수는 눈부신 발전을 이룩하였으나, 산란율과 난중 개량에 상응한 난각질 개량은 답보상태이다. 일반적으로 60~65주령 이후 파란율이 증가되는 상황이며, 더욱이 80~85주령시도 산란율은 70%정도로 경제성은 있으나 파란 및 연란 발생증가로 도태시켜야만 하는 상황이다. 또한 매년 계란 총 생산량의 10%가 난각질 불량으로 산란에서 소비자에 이르는 과정에서 파란되어 없어지고 있으며, 파란발생은 농가의 직접적으로 생산비 상승과 수익감소에 결정적 장애요인이다. 따라서 본 연구의 목적은 계란의 난각두께를 강화할 수 있는 기술을 개발 하므로써 파란율 절감에 기여함을 그 목적으로 한다.

우리나라는 축산물 생산을 위한 사료원의 국내 자급율이 30%정도 이하로 극히 불량한 현실이다. 이와같은 현실하에서 도입 사료원을 이용한 최종 생산물인 계란의 파란발생은 국가적인 사료자원의 낭비 및 활용효율을 불량하게 함은 물론 양계농가에서는 생산비 상승요인으로 작용하게 된다. 또한 우리의 경우 계란의 생산비도 미국보다 1.5배 비싼 현실에서 효율적인 생산비 절감방안의 강구도 필요하다. 산란계를 위한 사양기술, 육종기술, 사료제조 기술등은 선진국 수준에 도달한 상태지만, 우리나라는 물론 다른나라에서도 파란율의 발생을 근원적으로 절감할 수 있는 근본적인 처방은 없었다.

따라서 본 연구와 같은 독창적인 기술개발 노력은 양계산업의 선진화 및 경쟁력 확보, 양계농가의 직접 수익을 향상시킬 수 있다는 점에서도 연구의 중요성이 내재하고 있다.

### Ⅲ. 연구개발 내용 및 범위

94년, 95년의 2년에 걸친 연구내용은 다음과 같다.

- ① Air Suspension Encapsulation에 의한 석회석의 입자별 Coating과 표면 관찰
- ② Encapsulation Material 선별과 난각질 향상에 미치는 효과
- ③ Calcium 흡수 촉진제의 첨가효과
- ④ 피복물질로써 HPMCP의 피복함량별 난질 개선효과
- ⑤ Zn과 Histidine 첨가시 난각질 개선효과에 관하여 주로 연구를 수행하였다.

### Ⅳ. 연구개발결과 및 활용에 대한 건의

#### 1. 연구개발 결과

산란계에서 Egg shell의 형성은 Egg가 자궁부에서 머무르는 기간동안에 형성되며, Calcium의 deposition은 주로 사료를 섭취하지 않는 night time에 활발하다. 그러나 이시간은 산란계가 사료를 섭취하지 않은 밤시간에 해당되므로 Egg shell 형성에 필요한 충분한 양의 Calcium을 조달할 수가 없게 된다. 따라서 본 연구에서는 Calcium 공급원으로 산란계 사료에 주로 이용되는 석회석의 가공기술을 개발하여 사료를 섭취하지 않는 밤시간 동안에 충분한 Calcium을 공급하여 주므로써 난각질의 향상을 확보하고자 하였다. 2년동안에 수행된 주된 연구결과를 요약하면 다음과 같다.

- ① Air suspension Encapsulation에 의한 석회석 입자 coating에서 core 함

량대비 film material의 양은 4.5%~6.0% 수준에서 잘 coating이 이루어졌으며, 가공후 무게 증가분은 4%~4.7%가 증가되었다.

- ② Encapsulation된 각각의 석회석 입자 및 powder를 상대습도 85%, 온도 25°C에서 30일간 저장 하였을때 Scanning Electron Microscopy에 의한 표면관찰 결과 표면에는 아무런 이상이 발견되지 않았다.
- ③ 석회석 입자에 Ethylcellulose, Cellulose Acetate Phthalate, Hydroxypropyl Methylcellulose Phthalate, Shellac 및 Shellac과 Ehtylcellulose의 혼합물을 피복한 결과 Hydroxypropyl methylcellulose Phthalate 및 Cellulose Acetate Phthalate를 피복 하였을때 난각질이 가장 많이 향상되었다.
- ④ 칼슘흡수 촉진제로는 lactose가 sorbitol보다 더 우수하게 난각질을 향상시켰으며, 선정된 Encapsulation material인 HPMCP와 CAP 사이에서는 HPMCP coating시 난각질을 현저하게 향상시켰다.
- ⑤ HPMCP로써 석회석을 Encapsulation 시켰을때 칼슘흡수촉진제인 lactose의 coating 유무에는 상관없이 다같이 난각질을 가장 많이 향상시킬 수 있었다.
- ⑥ Ecapsulation 물질로는 HPMCP가 가장 우수하였고, 석회석 대비 3.75% 사용이 가장 우수하였다.
- ⑦ 사료 첨가제로는 Zn과 Histidine 첨가시 난각질을 더욱 개선 시킬 수 있었다.

## 2. 활용에 대한 건의

이상의 연구결과 현행 사료 급여시에도 난각의 질을 더 한층 향상시킬 수 있는 기술개발을 완료하였다.

그러나 개발된 기술의 활용 및 실제 사양농가에서 이용하기 위하여 다음과 같이 건의하고자 한다.

우선 본 연구결과를 토대로 하여 산란계의 전체 산란기간에 걸친 대규모

사양실험 등을 통하여 사양프로그램등의 개발과 실제 응용시의 정확한 경제성의 평가를 실시하여야 하며, 또한 제품을 생산하기 위한 기본적 투자 및 제품생산 후 판매등의 실제 활용방안 등에 대한 기본지침을 마련해야 할 것으로 보여진다. 이러한 Encapsulation 기술을 축산분야에 응용한다면 본 제품을 생산하기 위한 기본 시설 및 기술은 다른 사료 첨가제의 생산에도 응용할 수 있으므로 새로운 기술개발에도 쉽게 적용할 수 있으며, 축산업의 경쟁력 강화에 파급효과가 클 것으로 사료된다.

## SUMMARY

The formation of egg shell is developed at the uterus(shell-gland portion), and shell calcification is very active at the night time. During this night time, the laying hens are normally not receiving sufficient calcium from the feed.

Therefore, it was hypothesized that the encapsulated limestone with enteric slow-released coating polymer would dissolve slowly in the gut of the hen throughout the night, and thus maintaining and promoting a more constant and sufficient entry of calcium into the circulatory system during the night when most of the shell is formed. In here the results for egg shell strengthening are summarized as follows.

1. At the coating of limestone granule by air suspension encapsulation method, the amount of 4.5%~6.0% of film material was sufficient for complete encapsulation of limestone granule. And the increased portion of limestone weight was 4%~4.7% after encapsulation.
2. When the encapsulated limestone granule or powder was stored at the condition of relative humidity 85% and temperature 25°C, the outer surface shape was safe by Scanning Electron Microscopy.
3. At the encapsulation experiment of film forming materials with ethylcellulose, cellulose acetate phthalate, hydroxypropyl methylcellulose phthalate, shellac and shellac and ethylcellulose mixture, the promoting effect on egg shell quality was good at hydroxypropyl methylcellulose phthalate and cellulose acetate phthalate.

4. Addition of lactose as calcium absorption enhancer promoted egg shell quality more highly than that of sorbitol, and this quality tended to be highly increased with hydroxypropyl methylcellulose phthalate(HPMCP) among the used film forming materials.
5. When the limestone was encapsulated with HPMCP, the addition of lactose, regardless of coating and uncoating of lactose itself, showed outstanding results.
6. Of the encapsulated materials, HPMCP was the most active coating material to improve the shell quality and the 3.75% amount of HPMCP to the limestone weight was the best.
7. The egg shell quality was much more improved by the addition of zine and histidine as a supplements.



# CONTENTS

Chapter 1. Introduction .....	17
I. Introduction .....	17
II. Present situation of cracked egg occurrence .....	19
III. Shell structure .....	20
IV. Varius factor about shell quality .....	22
V. Review of domestic tearch .....	24
VI. Review of foreign research .....	26
VII.Theoretical Rationale for Experimental design .....	27
Chapter 2. Limestone encapsulation by air suspension coating method .....	29
I. Introduction .....	29
II. Experimental materials and methods .....	32
1. Instrument for encapsulation .....	32
2. Calculation method of coating material and limestone .....	32
3. Film material and surface observation .....	33
III. Results and discussions .....	33

1. Limestone encapsulation .....	33
2. Surface investigation by SEM after coating and storage .....	36

**Chapter 3. Effect of the egg shell quality by different encapsulation material .....** 59

I. Introduction .....	59
II. Experimental materials and methods .....	60
1. Limestone and encapsulation material .....	60
2. Experimental animal and management .....	60
3. Experimental design and feed .....	60
4. Determination of egg shell quality .....	61
5. Data evaluation and statistical analysis .....	62
III. Results and discussions .....	63

**Chapter 4. Effect of the egg shell quality by calcium absorption enhancer .....** 79

I. Introduction .....	79
II. Materials and methods .....	79
1. Limestone and encapsulation material .....	79
2. Experimental animal and management .....	80
3. Experimental design and feed .....	80
4. Determination of egg shell quality .....	82
5. Data evaluation and statistical analysis .....	91

III. Results and discussions ..... 92

1. Effect of commercial feed on egg shell quality compares with the addition of lactose or sorbitol ..... 92

2. Effect of encapsulation material on egg shell quality ..... 94

3. Effect of HPMCP and CAP-coated limeotone on egg shell quality with addition of lactose and sorbitiol ..... 94

4. Effect of coating lactose or sorbitiol to various encapsulation materials on egg shell quality ..... 94

Chapter 5. Changing pattern of blood by encapsulated limestone feeding ..... 131

I. Introduction ..... 131

II. Materials and methods ..... 131

1. Limestone and encapsulation material ..... 131

2. Experimental animal and management ..... 132

3. Experimental design and feed ..... 133

4. Data analysis and statistical analysis ..... 134

III. Results and discussions ..... 135

1. Mineral composition of egg shell ..... 135

2. Changing pattern of mineral level in plasma ..... 137

3. Phosphorus, magnesium, and manganase level of plasma ..... 132

4. Alkaline phosphatase activity ..... 157

<b>Chapter 6. Effect of the coating level of HPMCP on the egg shell quality</b> .....	160
I. Introduction .....	160
II. Materials and Methods .....	160
1. Limestone and encapsulation treatment .....	160
2. Experimental animal and management .....	161
III. Results and discussions .....	164
 <b>Chapter 7. Effect of the addition of Zine and Histidine on the egg shell quality</b> .....	169
I. Introduction .....	169
II. Materials and Methods .....	170
1. Limestone encapsulation and experimental design .....	170
2. Experimental animal and management .....	172
3. Determination of egg shell quality, chemical analysis and statistical analysis .....	172
III. Results and discussions .....	176
1. Egg production rate and shell quality .....	176
2. Chemical composition of blood .....	184
3. Chang of ALP and Carbonic anhydrase activity .....	191
 <b>References</b> .....	199

# 목 차

제 1 장 서 론 .....	17
제 1 절 총 설 .....	17
제 2 절 파란의 발생 현황 .....	19
제 3 절 Shell의 structure .....	20
제 4 절 난각의 질에 영향을 미치는 요인 .....	22
제 5 절 국내의 기술 연구동향 .....	24
제 6 절 국외 기술 현황 .....	26
제 7 절 실험설계의 Theoretical Rationale .....	27
제 2 장 Air Suspension Coating에 의한 석회석의 Encapsulation .....	29
제 1 절 서 론 .....	29
제 2 절 실험재료 및 방법 .....	32
1. 사용기기 .....	32
2. 피복물질 소요량의 계산 및 석회석 .....	32
3. 사용된 Film material 및 표면관찰 .....	33
제 3 절 결과 및 고찰 .....	33
1. 석회석의 Encapsulation .....	33
2. SEM에 표면관찰 및 저장후 표면관찰 .....	36
제 3 장 Encapsulation Material별 급여효과 .....	59
제 1 절 서 론 .....	59
제 2 절 실험재료 및 방법 .....	60

1. 석회석 및 Encapsulation Materials .....	60
2. 실험동물 및 사양관리 .....	60
3. 실험처리 및 실험사료 .....	60
4. 난각질의 측정 .....	61
5. 결과분석 및 통계처리 .....	62
제 3 절 결과 및 고찰 .....	63
제 4 장 칼슘 흡수 촉진제의 사용효과 .....	79
제 1 절 서론 .....	79
제 2 절 실험재료 및 방법 .....	79
1. 석회석 및 Encapsulation Material .....	79
2. 실험동물 및 사양관리 .....	80
3. 실험처리 및 실험사료 .....	80
4. 난각질의 측정 .....	82
5. 결과분석 및 통계처리 .....	91
제 3 절 결과 및 고찰 .....	92
1. 시판 양계사료 급여와 Lactose 혹은 Sorbitol의 첨가효과 .....	92
2. Encapsulation Material 사이의 효과 비교 .....	94
3. Lactose 및 Sorbitol 첨가시 HPMCP 혹은 CAP에서의 효과 비교 ...	94
4. 처리구별 Lactose, Sorbitol의 Coating, Uncoating시 효과 비교 .....	94
제 5 장 Encapsulated Limestone 급여시 혈액성상의 변화 .....	131
제 1 절 서론 .....	131
제 2 절 실험재료 및 방법 .....	131
1. 석회석 및 Encapsulation Materials .....	131

2. 실험동물 및 사양관리 .....	132
3. 실험처리 및 실험사료 .....	133
4. 결과분석 및 통계처리 .....	134
제 3 절 결과 및 고찰 .....	135
1. 난각의 무기물 조성 .....	135
2. 혈액내 무기물 함량의 변화 .....	137
3. Plasma내 인, 마그네슘, 망간의 변화 .....	152
4. Alkaline phosphatase의 변화 .....	157
제 6 장 HPMCP의 피복함량별 난각질 개선효과 .....	160
제 1 절 서 론 .....	160
제 2 절 실험재료 및 방법 .....	160
1. 석회석 및 Encapsulation 처리 .....	160
2. 실험동물 및 사양관리 .....	161
제 3 절 결과 및 고찰 .....	164
제 7 장 Zn과 Histidine 첨가시 난각질 개선 효과 .....	169
제 1 절 서 론 .....	169
제 2 절 실험재료 및 방법 .....	170
1. 석회석의 Encapsulation 및 실험처리 .....	170
2. 실험동물 및 사양관리 .....	172
3. 난각질 측정, 화학분석 및 통계분석 .....	172
제 3 절 결과 및 고찰 .....	176
1. 산란율 및 난각의 질에 미치는 영향 .....	176

2. 혈액성상에 미치는 영향 .....	184
3. 혈액내 ALP 및 Carbonic anhydrase 역가의 변화 .....	191
참 고 문 헌 .....	199



# 제 1 장 서 론

## 제 1 절 총 설

양계산업에 있어서 난각질 불량은 경제적인 손실을 유발하는 하나의 큰 요인이며, 우리나라의 경우 매년 계란 생산량의 약 10% 이상이 산란에서 소비자에 이르는 과정에서 파란되어 없어진다고 추정된다. 따라서 난각의 질은 양계업자는 물론 계란을 팔고 사는 사람들 모두가 중요시 해야될 문제이다. Hester 등(1980)에 의하면 commercial-type laying hen에서 4.77%의 계란의 thin-shell egg 혹은 soft-shell egg가 차지한다고 하였다.

일반적으로 산란개시후 첫번째 month 및 마지막 2개월 동안에 soft-shelled egg가 많이 발생하며, 이외에도 여러가지 요소 즉 닭의 나이, 환경요인(온도 32°C 이상 및 -12°C 이하), 영양적 요소 등이 있다. 산란계는 older함에 따라 체내 calcium retention 능력이 저하되므로 따라서 shell thickness가 약해지며, 사육온도 증가시도 사료섭취량 감소로 인한 calcium 섭취량 감소 및 과도한 호흡에 의한 산-염기의 균형이 깨어져 난각질의 미세구조에 이상을 초래하여 계란품질이 저하되기도 한다. 이것은 적정사육온도를 넘을 때 땀샘이 발달하지 못한 닭은 체온유지를 위하여 헐떡거림(panting)이 증가하여 CO<sub>2</sub> 손실이 많아져 산-염기 균형이 변하고, 정상적인 산란을 위하여 필요한 mineral이 고갈되는 호흡성 알칼리 중독 현상에 의한다고 한다. 최근에는 산-염기의 균형조절제(시판 전해질 : 동양화학 : 전해질가(Na+K-Cl 8288mEq/kg : NaHCO<sub>3</sub> 40% + KCl 35% + Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 25%의 composition) 및 KHCO<sub>3</sub>를 0.5% 정도 첨가시 난각질이 개선된다는 연구는 많이 있다.

한편 Roland등(1972)은 오후 8시에 egg를 낳는 닭에서는 shell 형성기간이 바로

사료섭취기간 동안이며, 동시에 shell calcification 동안에 Ca에 대한 access가 증가하므로 아침에 생산된 egg보다 더 단단하다고 하였다. 즉 오후에 알을 낳는 닭은 crop에다 feed를 축적하여 영양소의 flow가 일정하므로 shell formation에 필요한 Ca는 intestinal absorption으로 충족될 수가 있다고 하였다.

Egg shell의 형성은 약 21시간이 소요되는데, 처음 5시간 정도는 calcium deposition 속도가 느리고 나머지 16hr 동안에 주로 일어난다. Ca가 3.5% 사료급여시 소장내 Ca 농도를 보면 오전 6시에는 5.08% (0.11mg)으로 낮고 늦은 오후 8시에는 8.4% (1.15mg)으로 큰 차이가 있다. 따라서 오전 6시~오후 8시를 Light day라고 하면 14시간이 낮이다. 이때 오후 8시에 egg를 낳은 닭은 12시간이 낮이고 4시간이 dark time이다(calcification이 16시간에 걸쳐 일어날 때). 반면 오전 6시에 알을 낳은 닭은 6시간이 light day이고 10시간이 dark time 즉 shell 형성기간이다. 오후 8시에 알을 낳은 닭은 2배의 light time을 가지게 되며, light time 증가시 더 많은 calcium에 대한 access time을 가지게 된다. 이러한 현상을 근거로 하여 실제로는 Ca 원료로써 굴껍질(oyster shell), 입자큰 석회석(limestone) 등을 1/3~2/3 수준에서 CaCO<sub>3</sub>와 대체하여 공급할 때 난각질이 향상되었는데, 이것은 입자상태의 Ca-source는 오랫동안 근위에 머물러 보다 오랫동안 Ca를 공급하기 때문이라고 보고있다.

따라서 본 연구에서는 현재 일반적으로 유통되는 산란계 사료 급여시의 난각질을 더 한층 개선시키기 위하여 경제적인 calcium 공급원으로써 산란계사료에 주로 첨가되는 석회석을 가공하여 slow-release 되도록 만들므로써 난각의 질을 더 한층 향상시키고자 하였다.

## 제 2 절 파란의 발생 현황

난각질불량은 양계산업에 경제적 손실을 주는 주요요인의 하나이다. 일반적으로 매년 계란 생산량의 10% 이상이 산란후 소비자 손에 이르는 과정에서 파란되어 없어진다(양계연구, 1993)고 추정되고 있다. 이것을 돈으로 환산하면 엄청난 액수가 된다.

파란의 발생율은 Hamilton등(1979)은 생산에서 소비자까지의 사이에서 7% 정도가 파란으로 없어졌다고 하였고 Australia의 경우 Karunajeewa(1977)에 의하면 매년 생산량의 5~10%가 파란 발생율이라고 하였다. 파란의 발생은 산란후부터 여러 단계를 거치면서 발생되고 있는바, 양계연구(1993)에 의하면 다음과 같이 요약한바 있다(Table 1).

Table 1. 계란 취급과정에서의 파란 발생 범위

구 분	베즈파 등(1972)		존슨과 어니스트(1975)	
	평균(%)	범위(%)	평균(%)	범위(%)
산란시점	3.8	0~17.7	3.2	0.8~9.3
수거(기계수거)	0.3	0~1.4	2.5	0~3.6
계란 벨트 엘리베이터	1.4	0~5.9	1.0	0~7.4
			1.2	0~3.9
선세란척	5.8	0.8~15.0	0.6	0.2~1.4
			1.5	0.5~2.6
포장			1.4	0.2~6.7
합 계	11.3	0.8~40.0	11.4	1.7~34.9

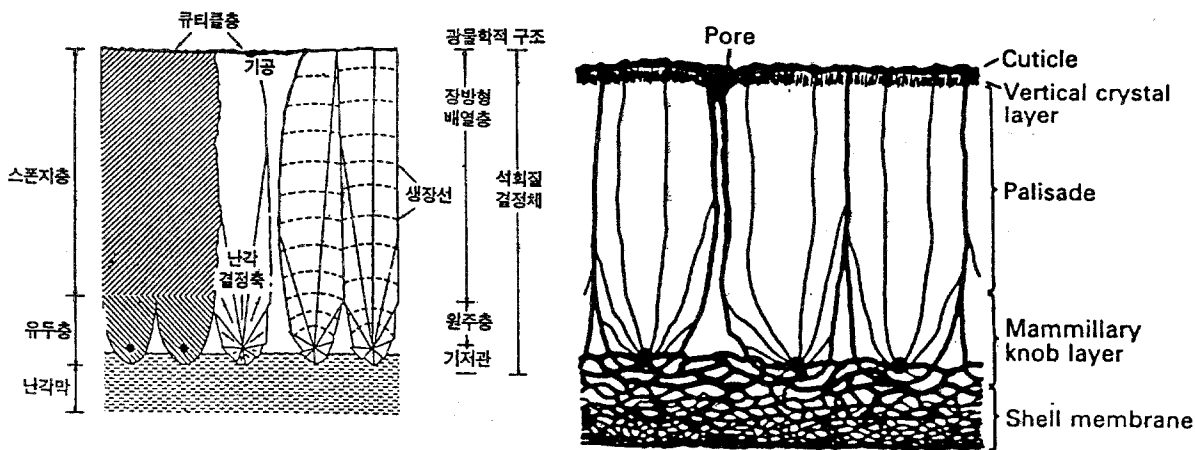
농장에서 발생하는 파란율도 Table 1.에서 보듯이 변이가 상당히 많으나 위의 보고를 평균하면 약 5.0%가 산란 및 수거시 파란으로 발생된다.

우리나라의 경우를 보면 안병윤(1981)등은 계절적으로는 6월~9월에 난각두께가 가장 얇고 9월 이후는 점차 증가하여 난각두께가 3월까지의 높은 수준으로 유지된 후 3월이후 점차로 떨어진다고 하였고 연평균 난각두께는 0.36mm 정도이며 하절기에는 0.33mm까지 저하되었다고 하였다. 파란율은 산란시에서 최종판매처까지가 8% 정도이며, 최종 유통단계에서는 3.8% 정도로써 총 12% 정도의 파란율을 보였으므로 외국의 일반치인 6.4~8%의 파란율보다 높은 것으로 평가되었다.

또한 난각의 두께는 파란 발생율에 가장 큰 영향을 미치는데, 최진호(1983)등은 7월, 8월간 2개월의 시장조사에서 난중 평균은 58.7g, 평균 난각은 0.327mm, 비중은 1.081로 나타났었고, shell weight는 5.21g 및 shell%는 8.88%로 조사된바 있다. 따라서 난각두께가 0.38~4.0mm이면 2% 이하의 파란율을 보이지만 0.3~0.32mm의 난각 두께에서는 10% 정도로 파란율이 엄청나게 증가한다고 하였다(양계연구, 1993).

### 제 3 절 Shell의 structure

난각의 일반적인 구조는 Fig 1에서 보는 바와 같으며 난각의 전체 두께는 보통 280~400 $\mu$ m정도이며 석회질 결정체인 palisade와 mammillary knob layer가 shell의 대부분을 차지하고 있다. Belyavin과 Boorman(1980)에 의하면 cuticle층은 두께가 약 0.01mm 정도이지만 shell thickness 및 strength 유지에 큰 역할을 한다고 하였다. 그리고 membrane은 shell의 breaking strength 측정시 장력에 영향을 미치며, Robinson과 King(1970)에 의하면 mammillary core의 분포가 불규칙하고, 일정치 않으면 breaking strength가 좋지 않으며, 따라서 mammillary knob의



*Basic architecture of the eggshell*

Layer	Approximate thickness (u)
Membrane	
Inner	22
Outer	48
Mammillary knob	
Basal cap	20
Cone	90
Palisade	200
Surface crystal	5
Cuticle	10

**Figure 1** Diagrammatic representation of the layers of the egg shell.

size는 적으면서 치밀한 상태(compact)를 보일때 shell quality가 향상된다고 하였다.

또한 Meyer등(1973)에 의하면 일반적으로 shell의 breaking strength 감소시 shell thickness가 감소하는 경향이 있으나, 때로는 서로 다른 결과가 나오기도 한다. 이러한 이유는, SEM으로 난각 관찰시, breaking strength 증가하면 palisade layer의 thickness, density는 따라서 증가하지만, mammillary layer는 비교적 일정하기 때문이라고 하였다. 따라서 Thickness보다는 breaking strength가 shell quality의 더 좋은 지표라고 하였다(Bennett등, 1988). 또한 breaking strength가 3.39kg일때 thickness는 0.381mm로 good quality를 보였고, thickness가 0.314mm일때 strength는 1.83kg으로 quality가 아주 불량하였다.

그리고 palisade layer는 spongy layer의 역할을 하며 palisade column이 narrow할수록 breaking strength는 증가한다고 보고되고 있다.

#### 제4절 난각의 질에 영향을 미치는 요인

난각의 질은 많은 요인에 의하여 영향을 받는데, 유전적 요인, 주령, 환경온도, 점등, 환우, 영양 등이 가장 크게 영향을 주는 요인들이다.

난각질은 우선 육종과 선발로 일차적으로 개량될 수 있으나 국내의 거의 모든 산란계는 외국에서 선발된 것으로써, 우리나라의 경우 육종에 의한 선발의 기회는 거의 없는 것으로 보여진다. 또한 난각질 개량과 다른 생산 형질은 음의 상관관계가 있으므로 육종계획에 의한 난각질의 개선은 한계가 있다. 따라서 난각의 변이중 60% 이상이 유전적 요인보다는 다른요인 즉, 영양, 사양기술 및 관리등에 영향을 더 많이 받고 있다.

Egg shell의 90~95%가  $\text{CaCO}_3$ 이고 shell에 침착되는 칼슘은 60~75%가 사료로

공급되므로, 사료내 칼슘 함량이 우선 중요하다. 그러나 실제로는 사료내 칼슘 함량이 부족하여 난각질이 저하되는 경우는 거의 없다. 산란계에서 적당한 칼슘 함량은 3.25~3.5%면 충분하며 3.5% 이상의 칼슘함량에서도 serum의 Ca농도에 변화가 없으며, 3.5% Ca 수준이 thickness와 shell weight를 향상시킬 수 있는 Maximum 수준(Singh등, 1981)이며 다만 여름철에는 3.75% Ca농도시 Shell quality가 다소간 향상될 수 있다고 보고되고 있다. 그러나 사료내 Ca 수준은 일정하더라도 Ca 공급제의 물리적 형태에 따라서는 Shell quality에 많은 영향을 미친다고 보고되고 있다(Meyer등 1973; Karunajeewa, 1977; Scott등, 1971).

Calcium 다음으로 phosphorus를 들 수 있다. 사료내 Total P 함량도(0.5~0.65%) 실제 부족되는 일은 없으나, available P 함량(0.3~0.45%)의 중요성이 강조되고 있으나, 사료중 P 함량이 높으면 혈액내 P가 증가하여 Bone에서의 칼슘 동원을 억제하므로 오히려 난각의 질이 저하될 수가 있다. 반대로 난각을 형성하지 않는 시간 동안에는 혈액중의 Ca, P가 Bone으로 재침착이 일어나므로 동시에 이들이 필요하다. 따라서 사료로 공급되는 P 수준이 너무 낮으면 뼈의 재형성이 불량해지지만, 실제 사료에 함유된 P의 함량이 낮은 경우는 거의 없다.

Magnesium은 Shell mineral중 두번째로 많은(약 0.59%) 미네랄 성분이고, Briton(1977)에 의하면 shell ash 함량과 shell의 Ca 함량은 산란계의 나이 증가시 큰 변화가 없으나 Mg는 old-hen에서 증가하는 경향이 있고, Mg/Ca 비율이 감소하면 shell hardness가 감소한다고 하였다. 사료내 Mg 함량이 1.2% 이상이면 shell thickness가 감소하는 경향이 보고되고 있다.

그리고 미량 무기물로서 Cu는 egg shell의 membrane 형성에 관여하며, Cu 부족시는 shell structure 초기단계에 영향을 준다. 즉 mammillary layer에서 crystal column과 adjacent crystal 사이에 gap을 확대시킨다. 그리고 mammillary layer는 계란 shell 형서 초기에 형성되므로 membrane의 structural integrity가 약하게 되지만, Cu 부족시 Palisade layer에서 큰 변화가 없다. Cu는 Shell memb-

rane의 keratin 형성에 주요역활을 하는데 Cu 부족시는 lysyl oxidase activity가 방해받아서 membrane의 cross-link formation이 불량해진다. 미량 광물질중 Cu외에서 Mn은 shell의 organic matrix의 polysaccharide 구성성분의 합성에 관여하며, Mn 부족시 shell이 얇아지며 matrix의 hexosamine과 hexuronic acid 함량이 감소하는데, hexuronic acid 함량 감소시는 shell 형성의 초기단계가 방해받는다(Leach와 Gross, 1983).

## 제 5 절 국내의 기술 연구동향

양계산업에 있어서 파란울의 감소는 직접적으로 경제성과 연결되며, 강한 난각의 계란 생산기술과 높은 산란율을 가진 품종의 개량은 양계농가의 염원이다.

일반적으로 가장 큰 문제가 되는 것은 연란으로 이것은 파란이 쉽게되어 양계농가의 수입과 가장 직접적으로 영향을 미친다. 난각의 질은 많은 요인에 영향을 받는데, 유전적 요인, 주령, 환경온도, 점등, 환우, 질병과 영양 등이 가장 크게 영향을 주는 요인들이다.

난각질은 우선 육종과 선발로 일차적으로 개량될 수 있으나 국내의 거의 모든 산란계는 외국에서 산발된 것이고, 국내에서 개발된 산란계(마니나 종)는 거의 없다. 그러나 난각질 개량과 다른 생산형질이 음의 상관관계가 있기 때문에 육종계획에서 난각질을 개선하기 위한 선발강도에는 한계가 있다. 더구나 난각질의 변이중 60% 이상이 유전적 요인보다는 다른 요인, 즉 영양, 사양기술 및 관리, 질병 등에 영향을 받으므로 국내에서도 영양 및 사양기술 등에 관한 연구가 더 활발한 경향이다. 즉, 난각질에 미치는 Ca 공급제 수준 및 종류 Ca와 Vitamin D<sub>3</sub>의 영향, P의 영향, Mg 혹은 Mn 결핍시 산란율 및 난각질에 대한 연구보고 등이 있다. 그리고 고온환경하에 있는 64주령의 산란계에 염화칼슘



급여시 대조구의 난각은 0.375mm, 실험구는 0.371mm로서 서로 비슷하였다. 연구 결과의 대부분을 보면 shell calcification 및 이와 관련된 대사작용, 내분비적인 측면에서의 연구보고는 없다. 따라서 우리의 환경조건, 사양조건에서의 근본적인 난각질 개선을 위하여 실제로 현장에서 활용될 수 있는 결과는 없고 거의 참고자료용으로 여겨지고 있으며, 사료회사에서도 주로 외국자료에 의존하고 있는 실정이다. 그러나 최근에는 동양화학에서 산-염기 균형조절제(시판 전해질 : 동양화학 : 전해질)가 (Na+K-Cl 8288mEq/kg : NaHCO<sub>3</sub> 40% + KCl 35% + Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 25%의 composition)를 개발하여 0.5~0.75% 첨가시 난각질이 개선된다고 하였다.

난각두께에 관련된 주된 연구결과들을 보면 시판 전해질을 45주령된 산란계에 급여시 대조구는 0.31mm, 처리구는 0.34mm로 향상되었고 20주령 산란계에서는 0.36mm에서 0.38mm로 나타났다. 또한 칼슘공급제인 패분, 석회석, 방해석의 비교 시험에서 보면 난각이 0.359, 0.346, 0.339로 패분이 다소간 높았던 결과, 칼슘 공급수준별(1.75~3.75)의 결과에서 Ca 함량이 3.25% 때 0.353mm, 3.75% 때 0.358mm로 차이가 없었고, 패분과 석회석의 입자도를 다르게 했을 때 평균난각(40주령)은 0.361mm로 차이가 없었으며, 이때 순수한 연란은 3.16%로 조사되었다. 또한 Tricalcium phosphate, dicalcium phosphate, bone ash, oyster shell 급여시 연란은 1.13~1.01%로써 공시된 닭은 21주령이었다. 이외에도 계절적으로 조사된 결과를 보면 초산후 7개월된 산란계가 7, 8월에는 난각이 0.327mm, 년중 유통되는 계란에서 조사된 결과의 평균은 0.36mm 및 하절기는 0.33mm까지 조사된 보고도 있다. 이때 농장에서의 연란을 제외하고 순수한 파란율은 3.5~4.5% 및 생산후 최종 판매 처까지의 파란율은 8%로써 상당히 높았다.

## 제 6 절 국외 기술 현황

1992년도 계란 생산을 보면 미국이 700억개(북미 : 960억개)로써 세계적으로도 많이 생산하고 있으며 유럽공동체는 850억개 생산을 기록하였다. 따라서 연구 결과가 가장 풍부한 나라는 미국이라고 볼 수 있다.

연구의 동향을 살펴보면 소낭의 운동과 뼈와 관련된 Ca 섭취기간에서 산란 계난각 형성을 위하여는 오전보다 오후에 Ca 섭취가 중요하며, 산란계 주령 증가시 Ca 흡수 능력 및 이동관계 혹은 단백질중 메치오닌 제한급여시 산란율에 영향을 주지 않고 난각품질을 개선할 수 있다는 결과도 있다. 그리고 환경온도 증가시 respiratory alkalosis가 난각질에 미치는 영향에 관한 연구보고도 있으나 가장 난각질을 개선한 보고는 입자상태의 석회석을 1/2~2/3로 대체하였을 때 난각질을 효과적으로 개선할 수 있었고, 유효 인 함량과 총 인 함량이 미치는 영향, 고온 환경하에서 Vitamin C 급여시 효과, 전해질 균형이 미치는 효과에서는 Ca 함량을 최소한으로 하고 Na+K-Cl 농도를 증가시키면 난각두께를 개선할 수 있다. 최근에는 shell calcification시 이온화된 Ca, 무기인 P, 1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>(1, 25-dehydroxy cholecalciferol) 농도와 ovulation과의 상호영향, calcium-binding protein(calbindin-9K)의 duodenal cell에서의 농도, 아직은 고가인 CPP(caseinophosphopeptides)가 Ca 생체이용을 증가에 미치는 영향, Vitamin D metabolites, parathyroid hormone 및 gonadalthormone이 laying cycle에 미치는 효과 등도 연구되고 있다.

## 제 7 절 실험설계의 Theoretical Rationale

### 1. Intestinal sustained-released Ca 공급제 가공방법의 개발

- 기존의 결과에서 오후에 Ca 섭취가 많거나, 큰 입자의 Ca 공급에 급여시 난각질이 향상된다.
- 난관의 길이 및 알의 통과시간

구 분	누두부	난백분비부	협부	자궁부	질 부	계
길이(cm)	7.0	33.6	8.0	8.3	7.9	6.18
통과시간	15~20분	3시간	1시간 15분	20~24시간	-	24~25시간

\* Egg shell은 자궁부에서 머무는 기간동안에 형성되며 자궁부의 난각선은 혈액에서 유래한 칼슘염을 높은 농도로 함유한 분비액을 내고, 이 분비액에서  $\text{CaCO}_3$ 가 방출되고 난각막 위에서 결정화하여 침착하여 난각이 형성됨.

- Egg shell 형성은 약 21시간 소요되며, 첫번째 5시간 정도는 Ca deposition 속도가 느리고 나머지 16시간 동안에 주로 일어나고 이때가 night time이다. 따라서 intestine내로 영양소의 flow가 일정하면 shell 형성 동안에 필요한 Ca의 증가된 intestine내 농도 및 흡수에 의하여 충족될 수 있다.
- Egg shell의 90~95%가  $\text{CaCO}_3$ 이며 shell에 침착되는 Ca의 60~75%가 사료로 공급된다.

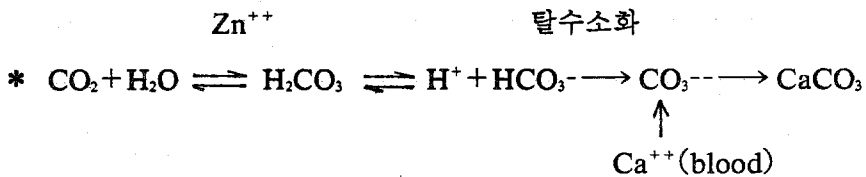


Ca 공급제를 선위 및 근위에서는 분해가 쉽게 되지 않고 intestine에서 서서히 분해후 흡수되도록 가공하면 사료를 섭취하지 않는 night time에 난각형성에 필요한 Ca를 충분히 공급할 수 있다.

2. Carbonic anhydrase의 작용을 촉진하는 Zn의 가공 및 night time 동안에 효소작용의 synchronization 방법 개발

- 흡수되어 blood로 들어온 Ca는 대부분 protein과 결합하고 있으며, 이것이 자궁부에서 유리된 후,  $\text{CO}_3^{--}$  이온과 결합하여  $\text{CaCO}_3$ 로 되어 난각에 침착한다. 이때 자궁부에서는 carbonic anhydrase 작용으로  $\text{HCO}_3^-$  이온이 탈수소하여  $\text{CO}_3^{--}$ 로 되므로, 이 효소 활성 저하시 연란을 생산한다.
- Carbonic anhydrase는 주로 erythrocytes에 있으며 Zn 함량에 따라 특별히 affinity가 변하는 enzyme이다. 따라서 Zn 부족시 이 enzyme의 catabolism은 거의 일어나지 않는다.

Carbonic anhydrase



3. 따라서 위와같은 생리현상을 이론적 배경으로 하여 본 연구에서는

- 1) 석회석의 Encapsulation 방법 및 표면관찰
- 2) Encapsulation용 피복 재료별 실제 급여 효과 관찰
- 3) Calcium 흡수촉진제의 사용효과
- 4) Encapsulated limestone 급여시 혈액성상 변화
- 5) HPMCP의 피복함량별 난각질 개선효과
- 6) Zn과 Histidine 첨가시 난각질 개선효과에 관한 연구를 수행하였다.

## 제 2 장 Air Suspension Coating에 의한 석회석의 Encapsulation

### 제 1 절 서 론

(미세)피복기술은 고체, 액체등을 목적에 맞는 물질로 표면을 포장하여 특정조건에서 조절된 양이 방출되도록 하는 기술이다. Encapsulation 기술은 목적하는 성분을 Coating하므로써 반응성이 높은 Components를 보호하여 다른 영양소와의 상호작용을 방지하거나, 영양가의 손실방지 및 저장시 활력연장, 원하지 않는 냄새 혹은 맛을 masking할 수 있다. 또한 영양소, 약물등을 소장에서 흡수되게 하므로써 원하는 생리적 기능을 강화할 수가 있다. 따라서 사료산업에의 응용은 앞으로 대단히 다양하게 응용되리라 생각되며, 비타민류의 Encapsulation에 의한 사료유통시 Activity 보존, 어류사료에서 가용성 영양소 성분의 손실방지, 생균제를 stomach의 pH에서 Protection 효과등 다양한 적용기술이 개발되고 있다.

Encapsulation 방법의 하나인 Air suspension coating은 Fluidized bed processing이라고도 하며 coating 물질로는 cellulose 유도체, dextrin 유도체, lipid, protein 유도체 및 starch 유도체 등을 사용한다. Air suspension coating으로는 50~5000 $\mu$ m 크기의 core particle에 응용할 수 있다. Fluid bed technology의 일반적인 유효성은 ① Rapid & uniform mixing ② Homogeneous granulation ③ Protective coating 및 ④ Sustained release 등을 목적으로 하고 있다. Fluid bed agglomerator/dryer는 1975년 미국의 pharmaceutical industry에서 처음 사용하였고, 오늘날 큰 발전 및 응용범위가 넓어져서, binder solution 같은 liquids 혹은 coating solution을 여러가지 방법하에서 fluidizing particle에 응용할 수 있게 되었다.

여러 방법이란 particle의 flow 및 fluidizing air에 따라서 counter-current(down spray), concurrent(wurster process), tangential(rotary fluidized process) 등이 있다.

① Conventional fluid bed agglomerator/dryer. 일반적으로 three product contact section으로 구성

- conically shaped product container

- cylindrical expansion chamber

○ single vessel processor에서 powder를 혼합, 과립제조, 건조를 일관작업한다.

○ granulation 특성에 맞추어 particle size 및 분포를 조절할 수 있다.

○ tablet coating에 유리하다.

- batch & batch continuous fluid bed agglomerate/dryer는 1500kg까지 처리가능

\* Powdered milk, beverages, soup mixes, protein mixes 등에 많이 이용

② Down spray coater

- agglomeration을 최소화하기 때문에 powder의 fluidized state를 길게 하고, particle의 가속력을 얻을 수 있다.

- air stream의 uniform deceleration을 얻을 수 있다.

- drying시 particle의 체공시간을 길게할 수 있다.

\* 주로 controlled release coating, hot melts taste-masking film, fat coated food ingredients, enteric coated analgesic 및 coated nutritional products 생산에 이용

③ Rotor granulator/coater : product container 안에 rotating disc를 장착, air

velocity와 air volume을 독립적으로 조절가능, 생산된 granule은 more spherical 및 dense하다.

- bulk density를 10~20%까지 증가가능
- granule friability를 5배 감소시킨다.
- 일정한 particle size distribution 가능
- 단시간에 granule의 colour를 일정하게 할 수 있다.
- magnesium stearate의 distribution을 높일 수 있다.
- \* agglomeration없이 powder, granule 및 pellet을 coating할 수 있다.
- \* 어떤 substrate 위에 drug의 layering이 가능하다. 즉, several layer를 만드는 coating을 할 수 있다.

④ Wurster process-fluid bed bottom spray coating processor

- sustained release
- enteric release
- temperature controlled release
- protection of hydrophilic substances
- taste masking
- colourants application 등에 이용

그리고 Wurster process에서는 uniform film coating이 가능하다.

## 제 2 절 실험재료 및 방법

### 1. 사용기기

Encapsulation을 독일 Glatt사의 Uni-Glatt Fluid Bed coater를 이용하였고, nozzle은 8, 10, 12mm를 제작하였고 spray는 Binary system 및 Bottom spray processing(Wurster HS processing)에 의하여(그림참조) Limestone을 coating 하였다.



그림

### 2. 피복물질 소요량의 계산 및 석회석

사람의 경우 섭취한 음식물은 total GIT 통과시간은 24~48hr(평균 36hr)이고 stomach에서 머무르는 시간은 2hr 정도이다. 이때 sur-release를 위하여 stomach condition에서 2hr 이상 견디기 위하여 일반적으로 20~40 $\mu$ m(평균 30 $\mu$ m)로 coating 하여야 하며, normal한 장용성 film을 얻기 위하여는 최소 정제 surface area당 3~4mg/cm<sup>2</sup>의 피복물질이 필요하다. 산란계에서 선위의 pH조건이 사람과 비슷하다고 가정할 후, 배합사료 급여시 3~4hr후 70%정도가 배설되고 7hr 후 거의 95% 이상이 배설되며 사료 섭취후 배설까지는 4~12hr의 범위이다. 따라서 stomach에서 머무르는 시간을 0.5~1.5hr 및 total GIT 통과시간은 8hr로 가정하고, 산란계의 경우는 4mg/cm<sup>2</sup>의 양을 Encapsulation하는 것으로 계산하였다.

사용한 Limestone 분말은 sieve로 친 후 소요량을 달아서 여기에 필요한 피



복물질의 양을 계산하였다.

계산식(구형과립, pellet, 과립의 경우) :

$$\text{피복물질 소요량(\%)} = \frac{A \times \ell}{W}$$

여기서  $A = \pi \cdot d^2(\text{mm}^2)$ ,  $d = \text{diameter, mm}$ ,  $A = \text{surface area}(\text{mm}^2)$ ,  $W = \text{weight, mg/each grit}$ ,  $\ell = \text{coating하려는 양}(\text{mg/cm}^2)$ 이다.

### 3. 사용된 Film materials 및 표면관찰

일차 실험용으로 사용된 피복물질은 Ethyl Cellulose(EC) Cellulose Acetate Phthalate(CAP), Shellac, Hydroxypropyl Methylcellulose Phthalate(HPMCP), 및 Shellac+EC(20 : 80, w/w)였고, 이차 실험용으로는 HPMCP 및 CAP를 사용하였다.

각 실험에 사용된 coating 된 석회석은 SEM에 의하여 표면관찰 및 상대습도 85% (Resorcinol의 포화용액), 온도 25°C에서 30일 저장후의 표면도 아울러 관찰하였다. 사용된 SEM은 Hitachi Model FE-SEM S-4200이었고, 시료는 double-sided adhesive tape를 사용하여 mounting후 gold layer film을 vacuum coating 하였고 관찰시 acceleration voltage는 5.0KV였다.

## 3절 결과 및 고찰

### 1. 석회석의 Encapsulation

Fluid bed coater에 의한 Encapsulation시는 core material의 particle size가 균일하여야 core의 fluidizing이 잘되고, processing중에 cake가 발생하지 않는다.

실험 I에서는 석회석을 Sieving후 1.4mm particle size 및 powder에다 피복하였으며 실험 II에서는 석회석 10목(mesh), 20목을 구입후 중량비로 70:30으로 우선 혼합하였다. 다시 sieving은 10, 12, 14, 18, 25, 45, 100 및 200 mesh로 조합한 sieve에서 친후 12~14 mesh(14M), 18~25 mesh(25M), 45~100 mesh(100M) 및 200 mesh 이상의 분말을 각각 coating하였다.

그리고 particle 석회석의 경우는 제2절의 "2"항에 의거 피복물질을 계산하였고, powder의 경우는 피복물질을 core의 27% 되는 양으로 하였다. 사용된 가소제는 n-Butyl Phthalate, softner로는 stearic acid를 film량의 10%를 사용하였다(Table 2). 결과론적으로 실험 I의 경우 core대비 피복물질량은 17%, 실험 II에서는 14M이 4.5%, 25M이 5.0%, 100M이 6.0%의 film량이 사용되었다. 이와같은 상이한 결과는 제3장의 실험 I의 결과가 불량하였던 것과도 관련이 있을 것으로 사료되었다. 또한 coating 완료후 실험 I의 경우 EC 사용시 무게증가분은  $16.77\% \pm 1.05$ , shellac+EC는  $14.66\% \pm 2.07$ , EC(powder coating)는  $14.98 \pm 0.93$ , HPMCP  $16.72\% \pm 1.60$ , shellac  $14.93\% \pm 1.90$ , CAP  $16.88\% \pm 0.88$ 가 증가되었다. 또한 실험 II의 경우는 Table 3에 요약하였다.

Table 2. Ingredient composition of one batch Encapsulation processing in Experiment I and II

Item	unit : g			
	Limestone granule		Limestone powder	
	Exp I	ExpII(25M)	-Lactose	+Lactose
Limestone				
- Particle	1600	1600	-	-
- Powder	-	-	600	390
Lactose	-	-	-	390
Vitamine D <sub>3</sub>	-	-	28	18
Vitamine C	-	-	142	92
CuCO <sub>3</sub> · Cu(OH) <sub>2</sub> · H <sub>2</sub> O	-	-	2.6	1.7
Mg SO <sub>4</sub>	-	-	142	92
Mn SO <sub>4</sub> · H <sub>2</sub> O	-	-	17	11
ZnO	-	-	8.7	5.7
Film material	270	80	254	270
n-Butyl phthalate	27	8	25.4	27
Stearic acid	27	8	25.4	27

Table 3. Core weight increase after coating in experiment II

Increase	HPMCP				CAP			
	14M	25M	100M	Powder	14M	25M	100M	Powder
%								
Mean	4.01	3.91	4.74	12.19	3.97	3.59	4.25	16.14
SD	0.34	0.54	0.52	3.39	0.34	0.34	0.29	3.92

## 2. SEM에 의한 표면관찰 및 저장후 표면 관찰

실험에 사용한 석회석중 1.4mm 및 355 $\mu$ m particle size의 외부표면은 Fig 2에, Fig 3, 4에는 Encapsulation 물질별 coating후의 외부표면을 나타내었다. 그리고 Fig 5, 6에는 상대습도 85%에서 30일 저장후 표면을 나타내었는데, 표면 관찰시 아무런 문제점이 발견되지 않았다.

Fig 7, 8, 9에서는 실험II에서는 사용한 석회석을 HPMCP 혹은 CAP로 coating후의 표면을 제시하였다. 그리고 Coating하지 않은 sorbitol 및 HPMCP 혹은 CAP로 coating된 sorbitol의 표면은 Fig 10에 나타내었다. Fig 11, 12에서는 실험II에서 사용된 powder의 coating 모습이다. 이제까지의 모든 그림에서 보듯이 coating된 표면은 균열등의 문제점 없이 양호하게 coating된 것으로 사료되었다.

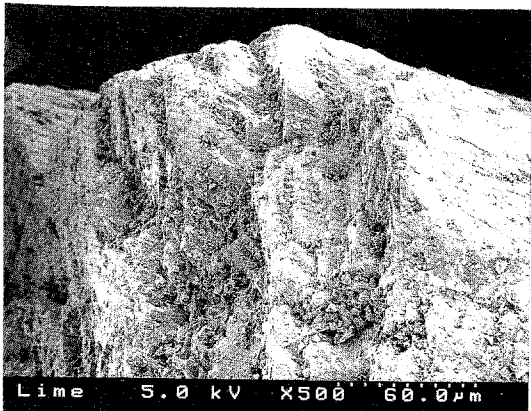
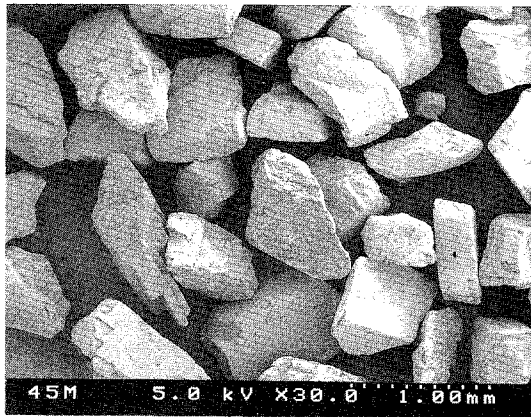
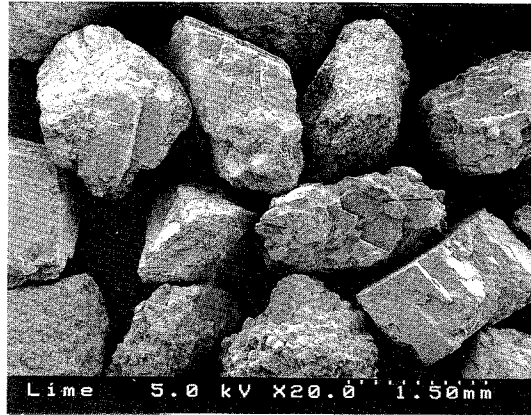


Fig 2. Scanning electron micrographs of limestone  
Lime : 1.4mm( $\times 20$ ), 45M : 355µm( $\times 30$ ), Lime :  $\times 500$

**여 백**

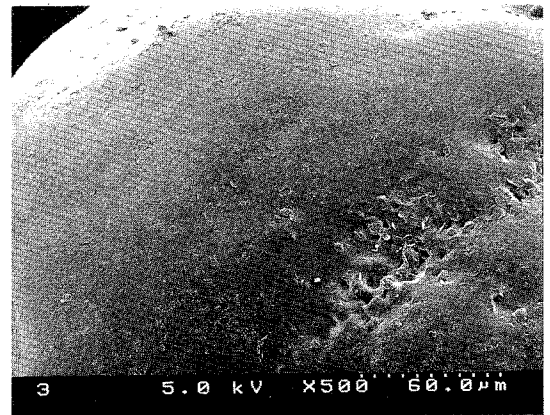
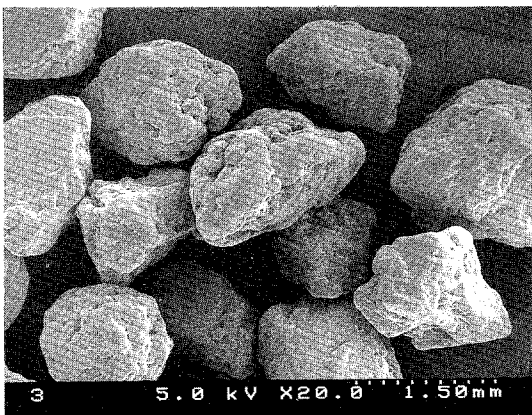
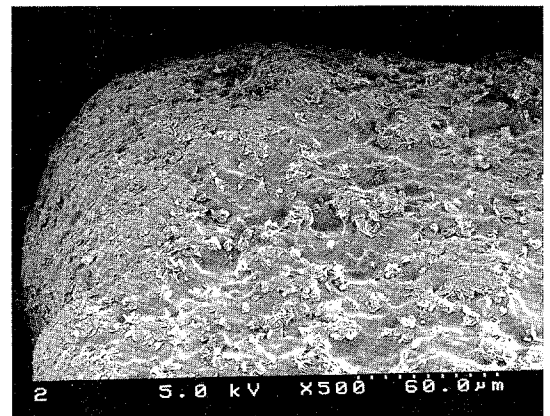
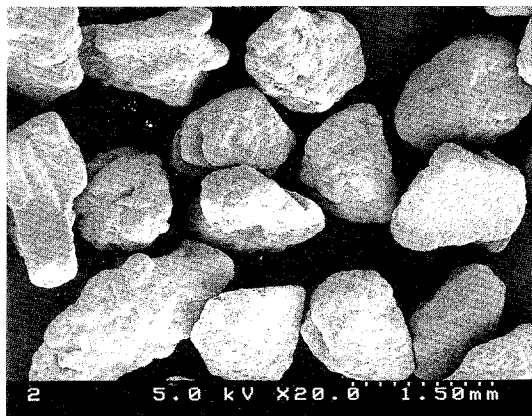
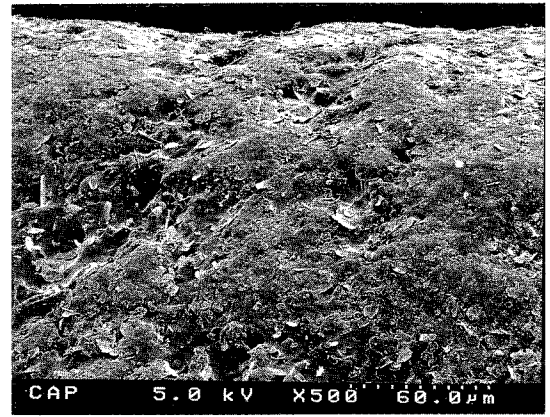
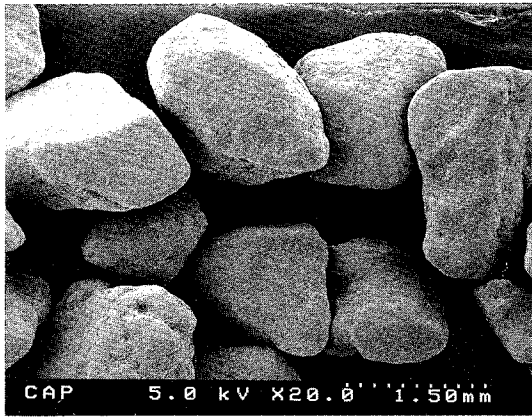


Fig 3. Scanning electron micrographs of encapsulated limestone granule  
 CAP : X20 and X500, 2 : EC(X20 and X500), 3 : Shellac(X20 and X500)

**여 백**



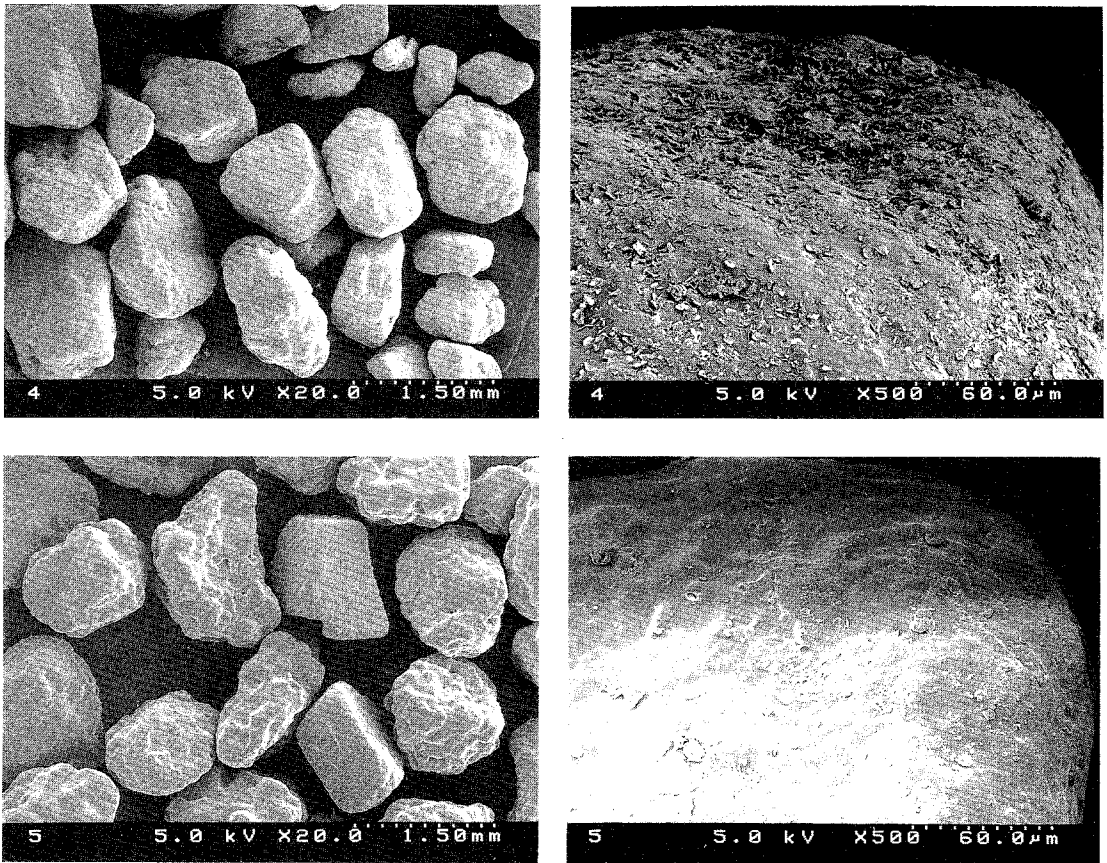


Fig. 4. Scanning electron micrographs of encapsulated limestone  
4 : HPMCP( $\times 20$  and  $\times 500$ ), 5 : Shellac+EC( $\times 20$  and  $\times 500$ )

**여 백**

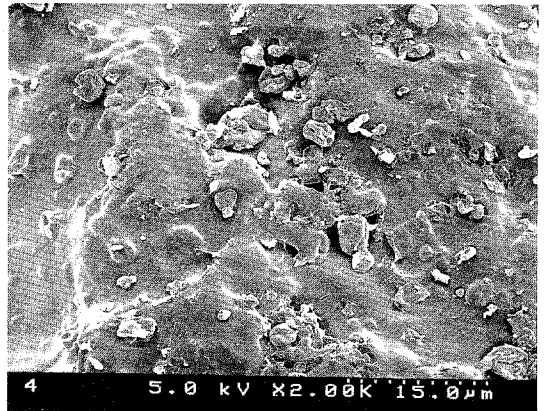
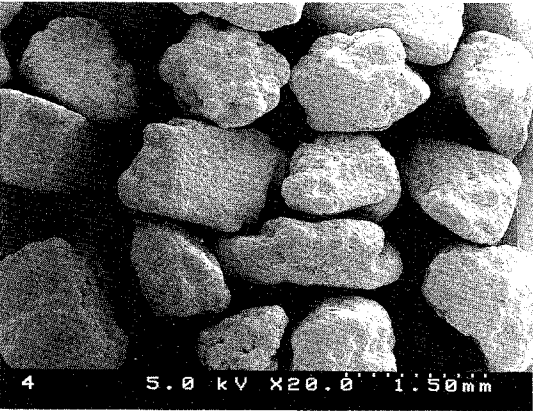
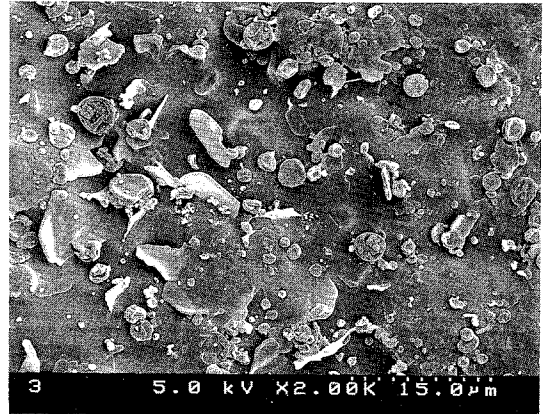
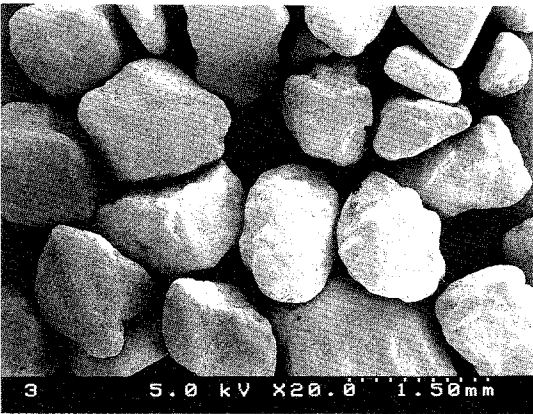
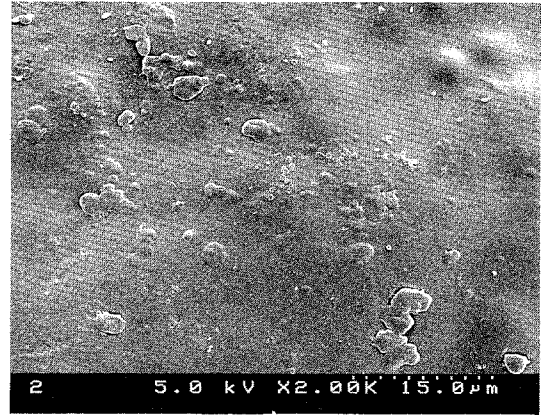
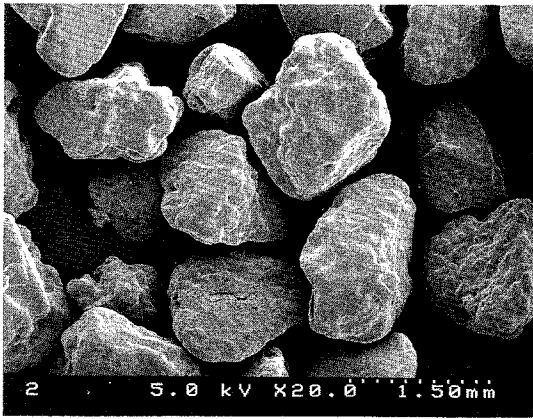


Fig. 5. Scanning electron micrographs of encapsulated limestone after 30days storage at the condition of relative humidity 85% and 25°C  
2 : Shellac+EC, 3 : CAP, 4 : EC(X20 and X2000)

여 백

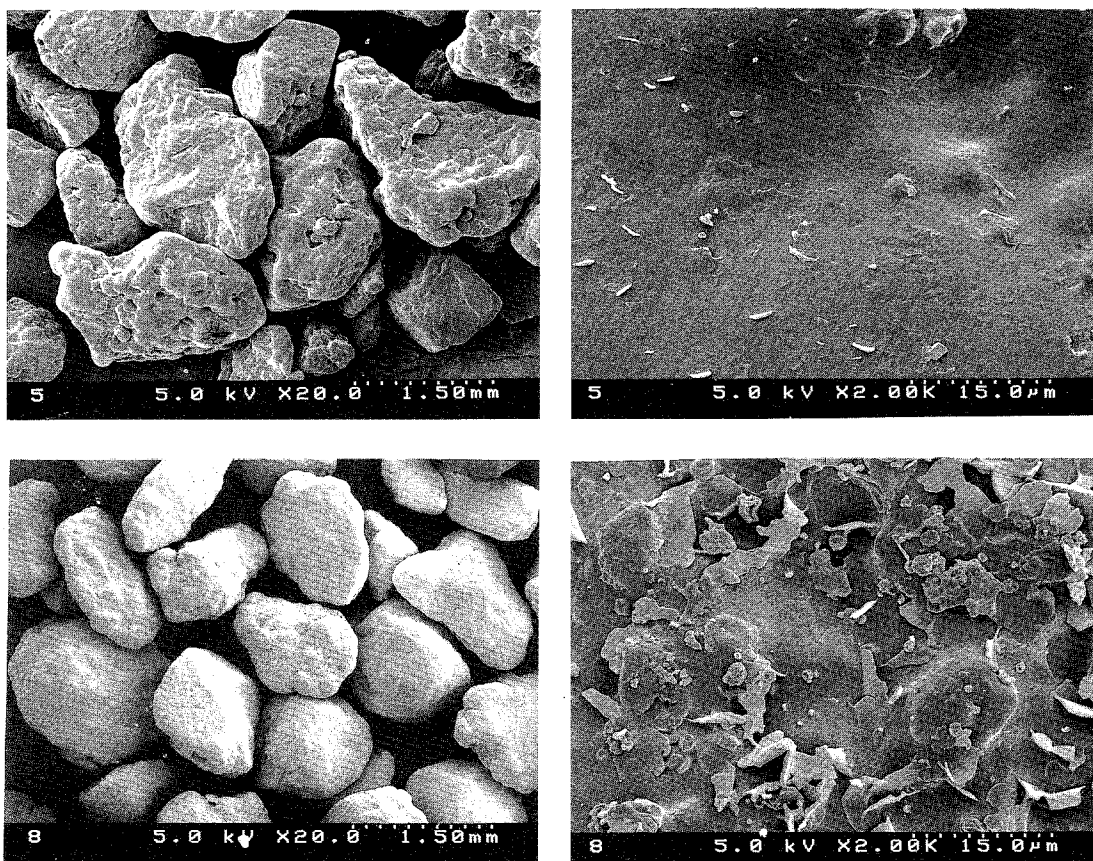


Fig. 6. Scanning electron micrographs of encapsulated limestone after 30days at the condition of relative humidity 85% and 25%  
5 : Shellac, 8 : HPMCP( $\times 20$  and  $\times 2000$ )

여 백

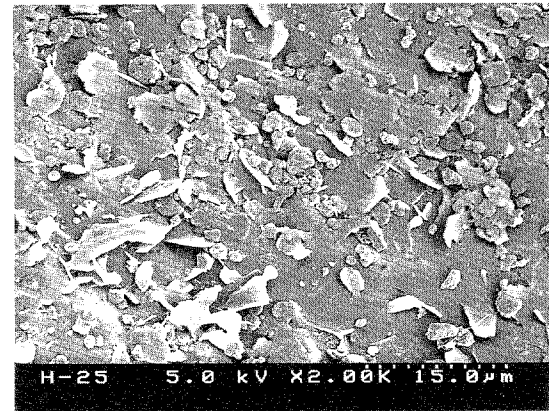
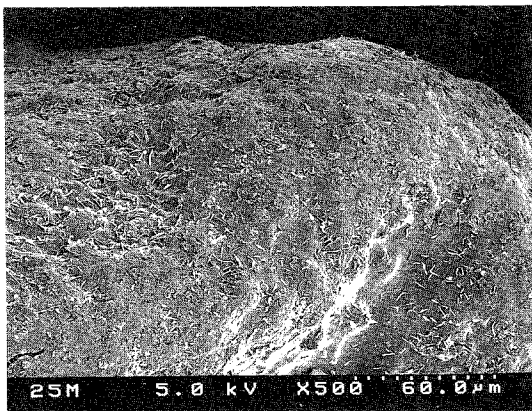
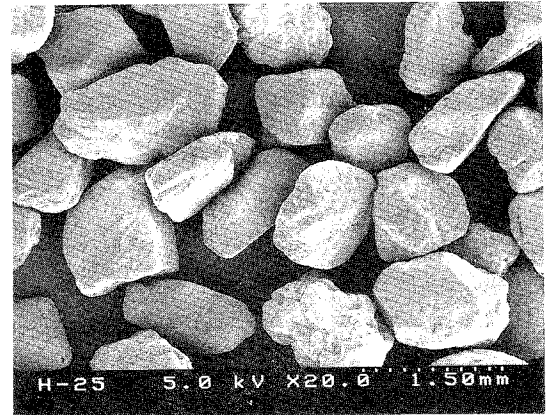
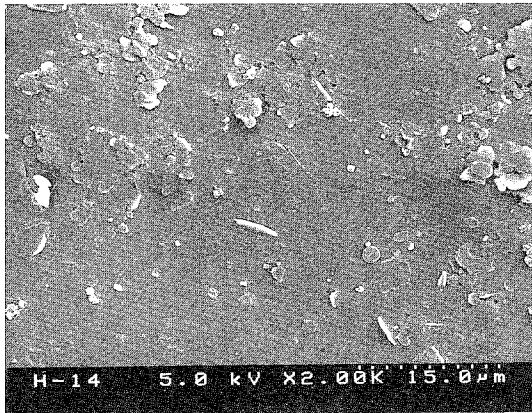
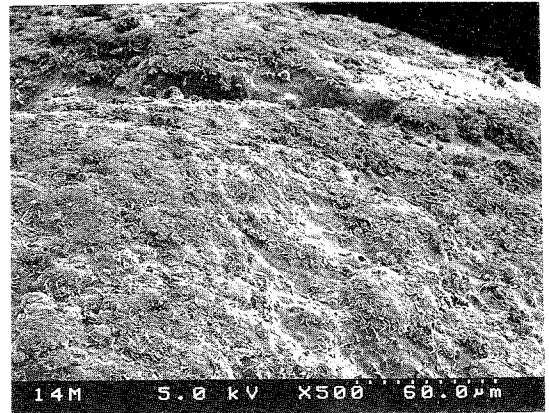
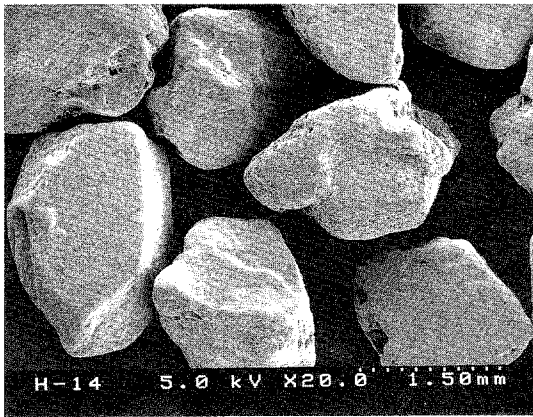


Fig. 7. Scanning electron micrographs of HPMCP-coated limestone granule

H-14 : limestone 14 mesh( $\times 20$ ,  $\times 500$  and  $\times 2000$ )

H-25 : limestone 25 mesh( $\times 20$ ,  $\times 500$  and  $\times 2000$ )

여 백



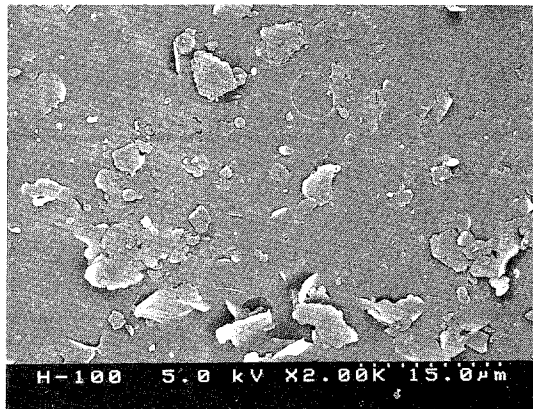
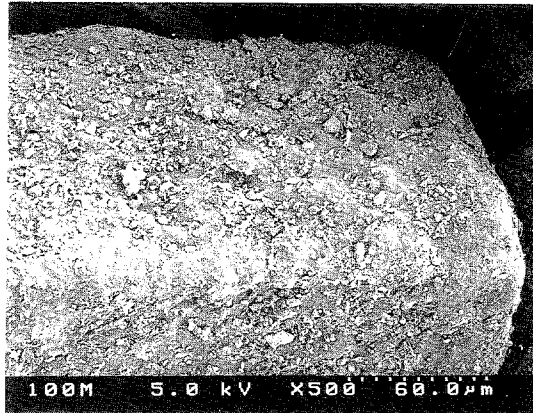
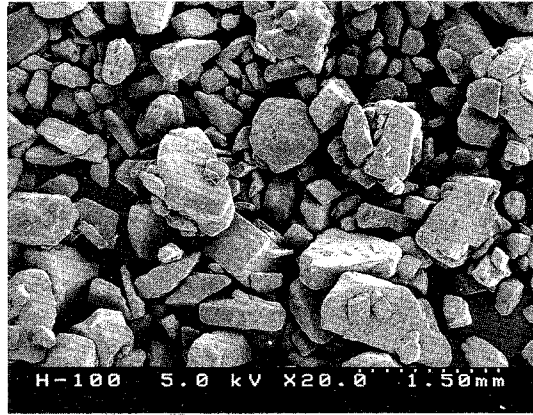


Fig. 8. Scanning electron micrographs of HPMCP-coated limestone granule

H-100 : limestone 100 mesh( $\times 20$ ,  $\times 500$  and  $\times 2000$ )

여 백

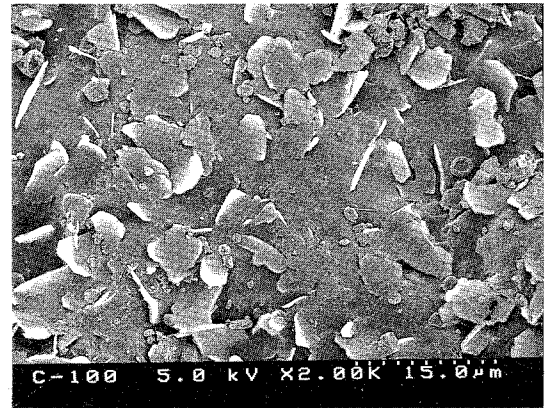
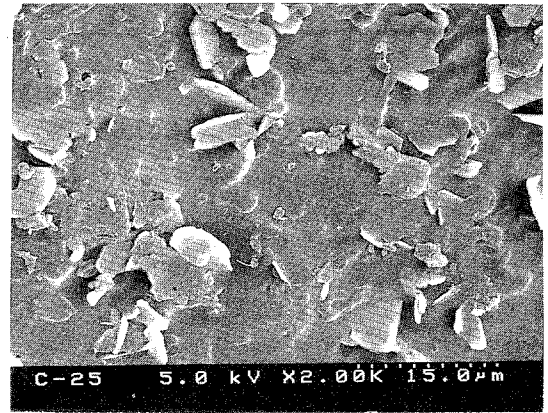
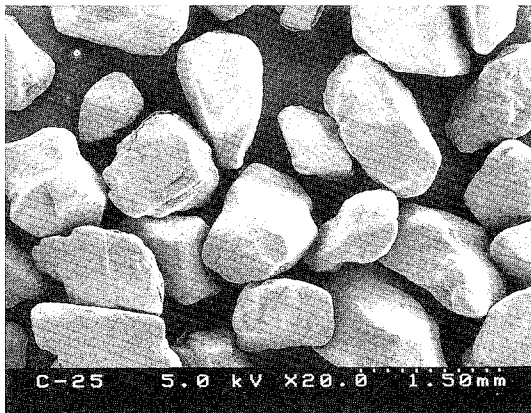
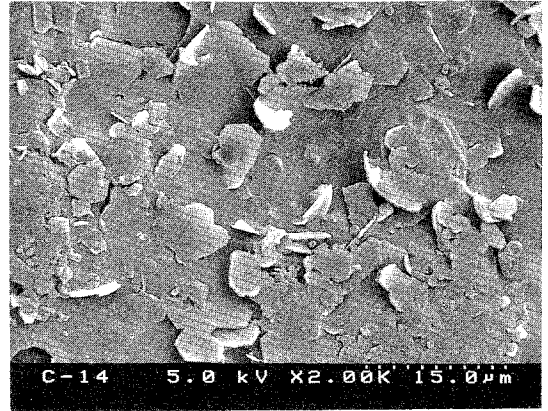
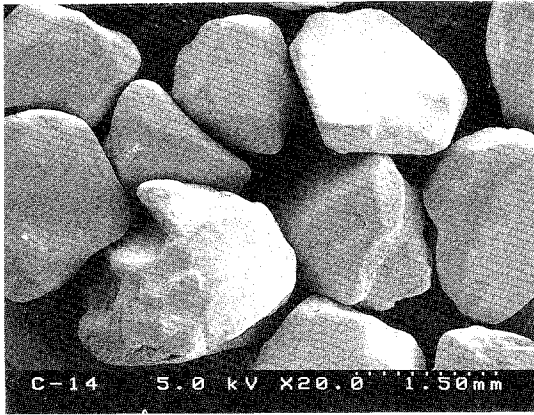


Fig. 9. Scanning electron micrographs of CAP-coated limestone granule

C-14 : limestone 14 mesh( $\times 20$  and  $\times 2000$ )

C-25 : limestone 25 mesh( $\times 20$  and  $\times 2000$ )

C-100 : limestone 100mesh( $\times 20$  and  $\times 2000$ )

여 백

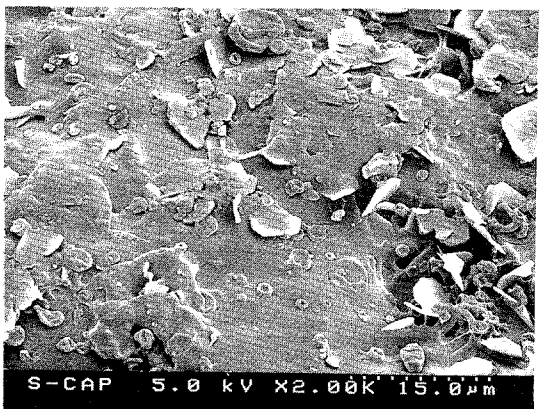
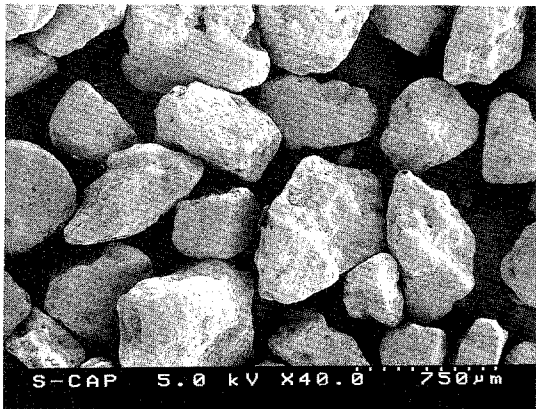
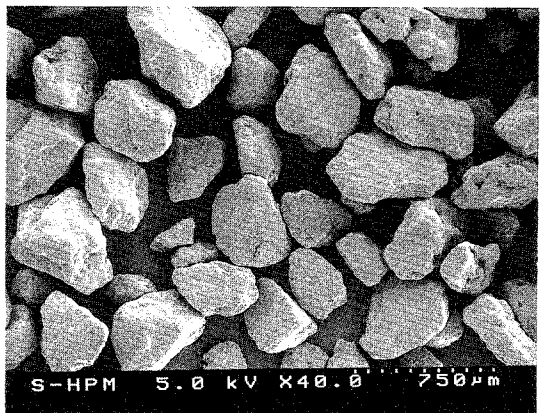
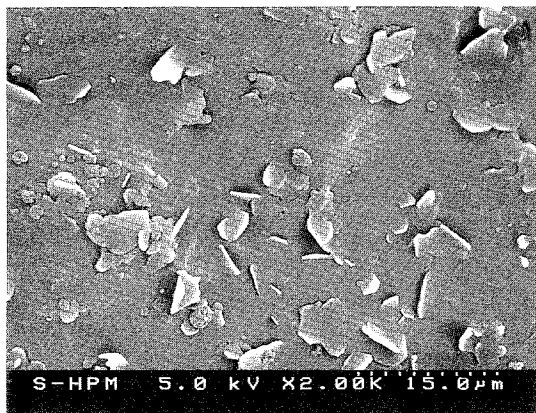
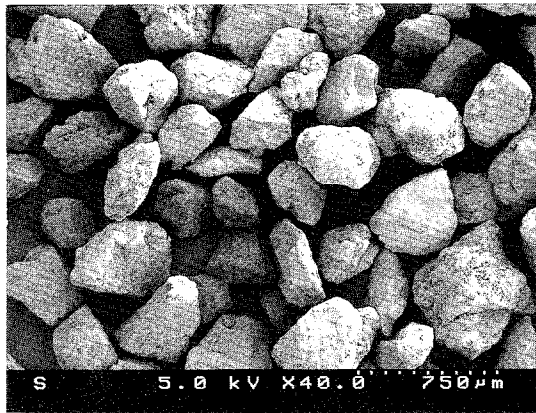


Fig. 10. Scanning electron mirographs of sorbitol

S : Sorbitol( $\times 40$  and  $\times 2000$ )

S-HPM : HPMCP-coated Sorbitol( $\times 40$  and  $\times 2000$ )

S-CAP : CAP-coated Sorbitol( $\times 40$  and  $\times 2000$ )

여 백

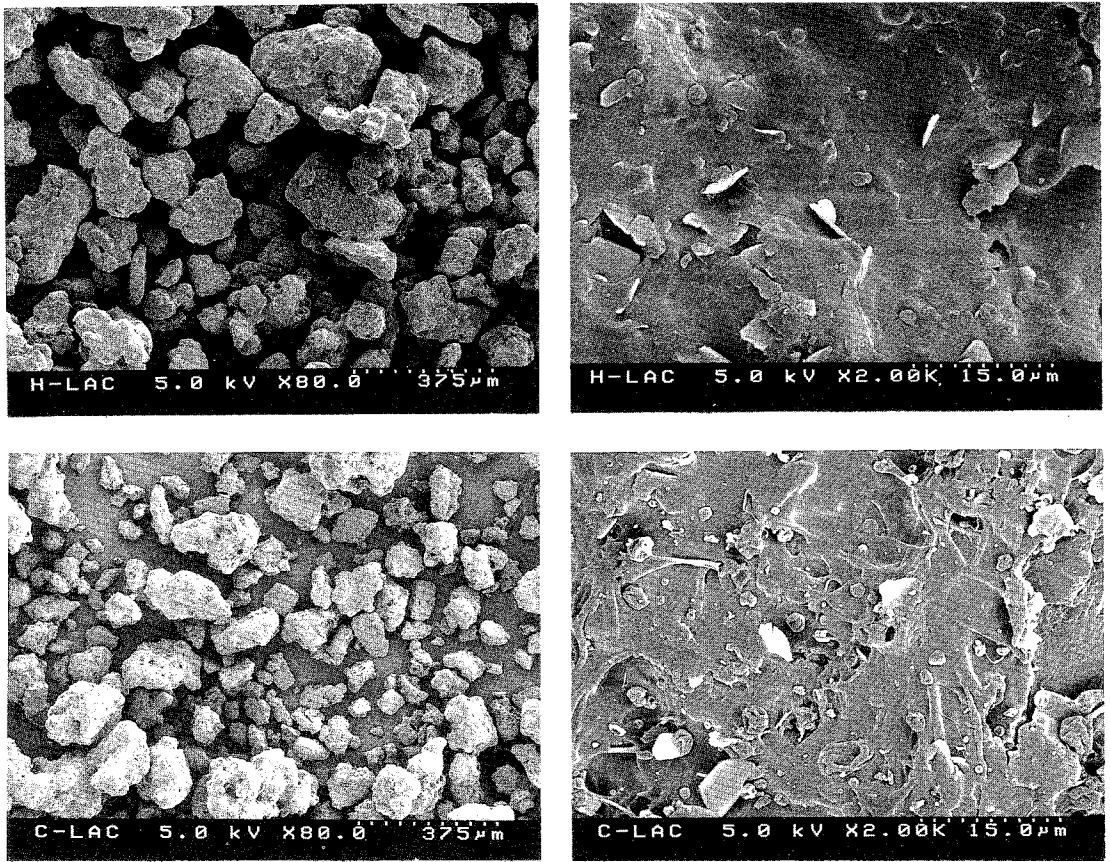


Fig. 11. Scanning electron micrographs of encapsulated limestone powder

H-LAC : HPMCP-coated limestone powder, mineral mixture and lactose( $\times 80$  and  $\times 2000$ )

C-LAC : CAP-coated limestone powder, mineral mixture and lactose( $\times 80$  and  $\times 2000$ )

여 백



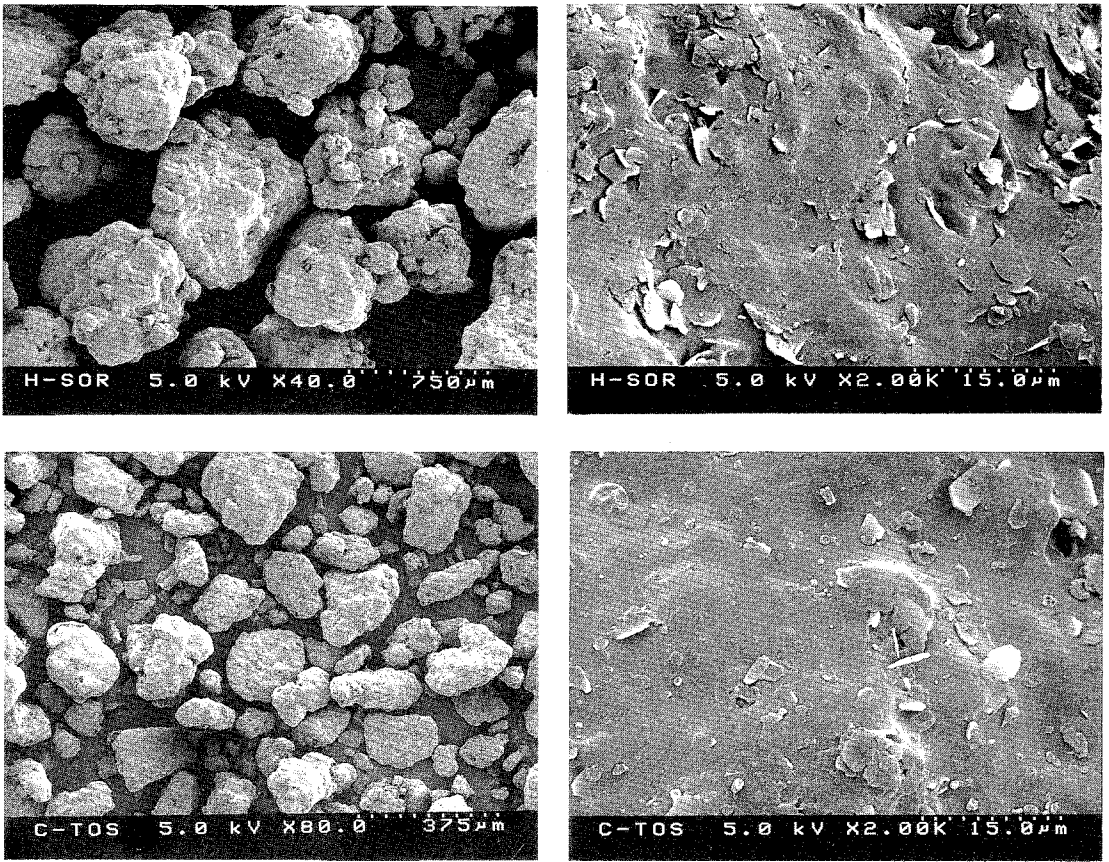


Fig. 12. Scanning electron micrographs of encapsulated limestone powder  
H-SOR : HPMCP-coated limestone powder, mineral mixture and sorbitol( $\times 40$  and  $\times 2000$ )  
C-TOS : CAP-coated limestone powder and mineral mixture( $\times 80$  and  $\times 2000$ )

여 백

## 제 3 장 Encapsulation Material별 급여효과

### 제 1 절 서 론

산란계에서 생산되는 계란 껍질의 질을 향상시키기 위한 많은 연구가 있으나, 그 중에서도 급여되는 칼슘공급제의 Physical form이 중요하다는 사실은 오래 전부터 여러 연구자들(Taylor(1970), Scott등(1971), Miller와 Sunde(1975), Karunajceewa(1977)등)이 주장하여 왔으며, 산란계의 장내에서 칼슘 공급제의 Retention time이 증가시, 밤동안에 칼슘을 더 일정하게 공급해줄 수 있으므로 단단한 shell을 형성 시킬 수 있다고 하였다.

따라서 본 실험에서는 약물의 흡수 및 혈중 농도를 일정하게 유지시켜 주기 위하여 많이 사용되었던 장용성 Coating 물질을 석회석에 피복함으로써 목적하는 효과를 얻고자 시도하였다. 즉, 산란계에서 Shell의 형성은 Egg가 자궁부에서 머무르는 기간동안에 형성되며, Shell의 형성시간은 약 21시간이 소요되고, 첫번째 5시간 정도는 Ca deposition 속도가 느리고 나머지 16시간 동안에 주로 Ca deposition이 일어나며, 이때는 사료를 섭취하지 않는 night time에 해당된다. 따라서 본 실험에서는 칼슘 공급제가 소화관내에서 서서히 분해되어 흡수되도록 하므로써 사료를 섭취하지 않는 night time에 난각형성에 필요한 칼슘을 일정하게 공급하고자 하였다.

## 제 2 절 실험재료 및 방법

### 1. 석회석 및 Encapsulation Materials

실험에 사용한 석회석은 청주석회에서 구입한 20목의 석회석을 sieve로 친후 particale size가 1.40mm의 직경인 것을 주로 사용하였고, 분말 석회석으로는 60 mesh(250 $\mu$ m) 이하의 입자를 사용하였다. 구입한 석회석의 size distribution은 2.4mm가 1.34%, 1.40mm는 36.55%, 1.0mm는 37.33%, 0.59mm는 20.91%, 250 $\mu$ m는 2.91%, 106 $\mu$ m 이하는 0.96%의 분포를 가지고 있었다.

또한 Encapsulation material로는 Ethyl cellulose(EC), Cellulose Acetate Phthalate(CAP), Shellac, Hydroxypropyl Methylcellulose Phthalate(HPMCP) 및 Shellac+EC(20 : 80)을 석회석 granule 및 powder에 피복하였다.

### 2. 실험동물 및 사양관리

실험동물로는 60주령의 Dekalb Brown 산란계를 각 처리구당 30수를 임의로 배치하였으며, 시료 급여는 하루 3회 오전 06 : 30, 오전 09 : 30 및 오후 2 : 00에 실시하였다. 실험기간은 4월 24일(60주령째)부터 4월 30일까지는 예비기간, 5월 1일부터 5월 24일까지를 본 실험 기간으로 하여 3일 간격으로 계란을 수거하여 난각질 측정 항목을 조사하였다.

### 3. 실험처리 및 실험사료

실험에 사용된 사료로는 시판중인 양계사료를 사용하였으며, 처리구에서는 시판 양계사료의 석회석 사용량 8% 중 4%를 다른 석회석으로 대체하여 급여하였으며, 처리구로는 다음과 같다.

- A : Control - Commercial Feed

- B : Limestone Powder 4% 대체 Group
- C : Limestone Granule 4% 대체 Group
- D : EC-coated Limestone Powder 4.65% 대체 Group
- E : CAP-coated Limestone Granule 4.65%
- F : EC-coated Limestone Granule 4.65%
- G : Shellac-coated Limestone Granule 4.65%
- H : HPMCP-coated Limestone Granule 4.65%
- I : Shellac+EC-coated Limestone Granule 4.65%

처리된 석회석은 가공후 평균무게가 15.8% 증가 하였으므로, 석회석의 칼슘 함량을 보상하기 위하여 4.65%를 첨가하였고, 급여된 사료의 영양소 함량은 모든 처리구에서 일정하였다. 즉 단백질 함량은 15% 지방 3.45%, 조섬유 3.5%, 회분 8.5%, 칼슘 3.4% 및 인 함량은 0.5%로 분석되었다.

#### 4. 난각질의 측정

생산되는 계란의 난각질 판정 항목으로는 Egg weight, Shell weight, Shell %, Specific gravity, Breaking strength, Shell weight per unit of surface area (SWUSA), Specific strenght of shell 및 calcium content of shell이었다.

이중 Specific Gravity는 NaCl로 비중이 1.060에서 1.100까지 0.005 unit로 solution을 제조한 후 Flotation method(Potts and Washburn, 1983)에 의하여 측정하였고, Breaking strength는 Texture Analyzer를 이용하였고, 이때 punching needle diameter는 2mm, head speed는 0.5mm/sec였다. SWUSA를 계산하기 위하여 계란의 siface Area는  $3.9782 \times \text{Egg weight}^{0.7056}$  (Izat등, 1985)로 하여 sifacearea를 먼저 구한후(shell weight $\times$ 1000)/Surface Area로 계산하였다. 그리고 Specific strength of shell은 Breaking strength/shell thickness로 구하였으며 난각두께 측정후 0.395mm 이상을 가진 계란의 생산 비율도 아울러 조사하였다. 그리고 전체적인 진행 순서는 다음과 같이 실시하였다.

계란(농장에서 3일 간격으로 수집 및 운송)

↓

Candling하여 연란 및 Cracked egg 선별

↓

무게측정 및 Equator에 선 긋기

↓

비중(1.060~1.100, 0.005 unit : Flotation Method)

↓

소금, 물기 제거후 Air-dry 25°C(Forced draft oven)에서 건조한 후

↓

Breaking strength by Texture Analyzer

↓

이등분하여 albumin 등의 내용물은 다 씻어내고 껍질  
(with membrane)은 loss가 없도록 하여

↓

50°C 24hr drying후(overnight)

↓

Shell weight 측정(소숫점 2째짜리 까지)

↓

Equator 부근의 4군데서 Thickness 측정(Digimatic Indicator)

↓

반쪽은 Ashing(회화전 무게재고)하여 AAS에서 칼슘농도 측정

## 5. 결과 분석 및 통계처리

얻어진 난각질 측정 항목에 대한 통계처리는 SAS 통계 프로그램의 General

Linear Model에 의하여 비교 평가하였고, Control Treatment의 성격을 지닌 A, B, C, D 즉 Commercial Feed, Limestone Powder 4%, Limestone Granule 4%, 및 EC-coated Limestone Powder 4.65% 간에 분석 및 Limestone Granule 대체시 Encapsulation 효과 및 Encapsulation Material 간에 효과를 보고자 C, E, F, G, H, I의 비교 즉 Limestone Granule 4%, CAP-coated Granule, EC-, Shellac-, HPMCP 및 Shellac+EC-coated limestone granule간의 효과도 비교하였다.

### 제 3 절 결과 및 고찰

일차 실험 후 얻어진 결과에 대하여 먼저 Commercial Feed와, Commercial Feed에 사용된 8%의 석회석 첨가량중 4%에 해당하는 석회석을 석회석 분말 4%, 석회석 입자(1.4mm)4% 및 Ethyl cellulose-coated limestone powder 4.65%를 대체하여 급여후 얻어진 결과는 Table 4에 요약하였다. 얻어진 결과를 보면 난각질 판정의 거의 모든 항목에서 석회석 분말 및 Ethylcellulose-coated 석회석 분말 급여구에서 향상되는 결과를 얻었으며, Shell weight, Shell%, SWUSA, Specific gravity, Shell thickness 및 난각두께가 0.395mm 이상인 계란의 생산 비율에서 유의하게 향상되는 경향을 나타내었다. 석회석 분말 급여구와 Ethylcellulose-Coated 석회석 분말 급여구 간에는 서로 비슷한 성적을 나타내어 유의한 차이는 없었으며, 0.395mm 이상인 난각을 가진 계란 생산비율은 각각 46% 및 35%로써 석회석 분말 급여구에서 향상되었으나 통계적 유의성은 없었다.

그리고, 석회석 입자 급여구와 시판사료 급여구에서는 서로 비슷한 성적을 나타내었고, 석회석 입자 4% 처리구에서는 향상된 결과를 얻지 못하였다. 또한 전체적으로 볼때 Encapsulation 처리구에서 향상된 결과를 예상했었으나, 석회석

Table 4. Effect of limestone substitution on egg shell quality

Item	Commercial feed	Limestone powder 4%	Limestone granule 4%	E.C.-coated limestone powder	SEM
Egg wt, g	63.23	63.21	63.55	63.53	0.91
Shell wt, g	5.72 <sup>b</sup>	5.94 <sup>a</sup>	5.75 <sup>b</sup>	5.95 <sup>a</sup>	0.14
Shell, %	9.09 <sup>b</sup>	9.38 <sup>a</sup>	8.94 <sup>b</sup>	9.40 <sup>a</sup>	0.24
SWUSA	71.17 <sup>b</sup>	79.96 <sup>a</sup>	77.50 <sup>b</sup>	80.15 <sup>a</sup>	1.64
Gravity	1.085 <sup>b</sup>	1.087 <sup>a</sup>	1.085 <sup>b</sup>	1.087 <sup>a</sup>	0.002
Breaking strength, kg	2.828	2.901	2.799	2.929	0.150
Shell thickness, mm	0.378 <sup>AB</sup>	0.387 <sup>A</sup>	0.372 <sup>B</sup>	0.386 <sup>A</sup>	0.013
Specific strength	7.316	7.474	7.234	7.400	0.539
Calcium, %	34.20	34.56	34.20	34.77	2.72
≥ 0.395mm thickness, %	28.30 <sup>b</sup>	45.93 <sup>a</sup>	24.71 <sup>b</sup>	35.44 <sup>ab</sup>	13.88

\* A, B : P<.05, a, b : P<.01



분말 급여구와 큰 차이가 없었다. 따라서 이러한 경향은 실험에 사용된 60주령의 산란계의 영양소 소화흡수 능력이 아직도 저하되지 않았거나, 아니면 사용된 석회석 8% 및 4%의 입자도가 충분하여 큰 영향을 줄 수 없었을 것 등으로 사료되었다.

다음은 석회석 입자를 CAP(=Cellulose Acetate Phthalate), EC(=Ehtylcellulose), Shellac, HPMCP(=Hydroxyprophl Methlcelulose phthalate) 및 Shellac + EC(20 : 80)으로 Encapsclation하였을 때의 결과(Table 5)를 비교하였다. Coating material간에서 보면 대체로 CAP, EC, HPMCP 사용시 다소간 향상되는 경향을 나타내었고 난중은 CAP, EC 처리시 유의하게 향상되었다. 그리고 Shell weight는 CAP 및 EC, Shell%와 Breaking strength는 HPMCP 처리시 향상되었고, 0.395mm 이상의 난각을 가진 계란의 생산비율도 HPMCP구에서 40%로 유의한 증가 현상을 나타내었다. 따라서 석회석 입자(1.4mm)를 HPMCP, CAP, EC등으로 피복하였을때 0.395mm 이상의 난각을 가진 계란 생산비율에서는 뚜렷한 효과가 관찰되었으나, 다른 항목에서는 기대한 만큼의 차이를 얻을 수 없었다.

또한 일차실험의 결과를 다음에 첨부된 그림(Fig. 13)에서 종합하여 볼때 산란계에 첨가되는 석회석의 입자도가 중요한 요인으로 사료되었으며, 따라서 석회석 입자(1.40mm) 및 분말의 Encapsulation 효과가 크지 않은 것으로 평가되었다. 그러나 Encapsulation Materials 간에서는 HPMCP, CAP에서 향상되는 결과를 나타내었다. 얻어진 결과를 순서대로 배열후 산정한 평가점수에서는 Ethylcellulose-Coated powder 4.65% 대체급여구에서 82점으로 가장 우수하였고, 그 다음이 Limestone powder 4% 대체구에서 77점, HPMCP-coated limestone granule 4.65% 대체 급여구에서는 66점을 나타내었다.

Table 5. Effect of encapsulated limestone substitution on egg shell quality

Item	Limestone granule	Encapsulated limestone granule					SEM
		CAP	EC	Shellac	HPMCP	Shellac + EC	
Egg wt, g	63.55 <sup>bc</sup>	65.17 <sup>a</sup>	64.27 <sup>b</sup>	62.67 <sup>c</sup>	63.52 <sup>bc</sup>	63.72 <sup>b</sup>	0.97
Shell wt, g	5.72 <sup>bc</sup>	5.91 <sup>a</sup>	5.84 <sup>ab</sup>	5.66 <sup>c</sup>	5.78 <sup>abc</sup>	5.76 <sup>bc</sup>	0.15
Shell, %	8.94	9.09	9.10	9.09	9.15	9.06	0.21
SWUSA	77.50	78.18	77.73	77.04	78.24	77.13	1.60
Gravity	1.085	1.085	1.085	1.085	1.086	1.085	0.002
Breaking strength, kg	2.799	2.789	2.781	2.791	2.845	2.788	0.135
Shell thickness, mm	0.372	0.378	0.378	0.368	0.376	0.370	0.010
Specific strength	7.234	7.233	7.120	7.309	7.401	7.394	0.420
Calcium, %	34.20	34.37	34.65	34.67	34.52	34.45	2.75
≥ 0.395mm thickness, %	24.71 <sup>B</sup>	30.88 <sup>AB</sup>	30.95 <sup>AB</sup>	22.98 <sup>B</sup>	39.55 <sup>A</sup>	24.88 <sup>B</sup>	13.02

\* A, B : P < .05, a, b, c : P < .01

Fig 13. The combined figure at experiment I

1. Scoring by Item Rating : 측정된 모든 항목의 결과를 순서별로 배열후 얻어진  
평가 점수의 총점
2. Egg Weight
3. Shell Weight
4. Shell %
5. Shell weight per unit of Surface Area
6. Specific Gravity
7. Breaking Strength
8. Shell thickness
9. Specific strength
10. Calcium content of Egg shell
11. Appearance rate of egg with 0.395mm shell thickness

\* Commer=Commercial feed 급여구

Lime-P=Limestone powder 4% 대체 첨가

Lime-G=Limestone granule 4% 대체 첨가

E.C.-P=Ethylcellulose-coated limestone powder 4.65% 대체 첨가

C.A.P=CAP-coated limestone granule 4.65% 대체 첨가

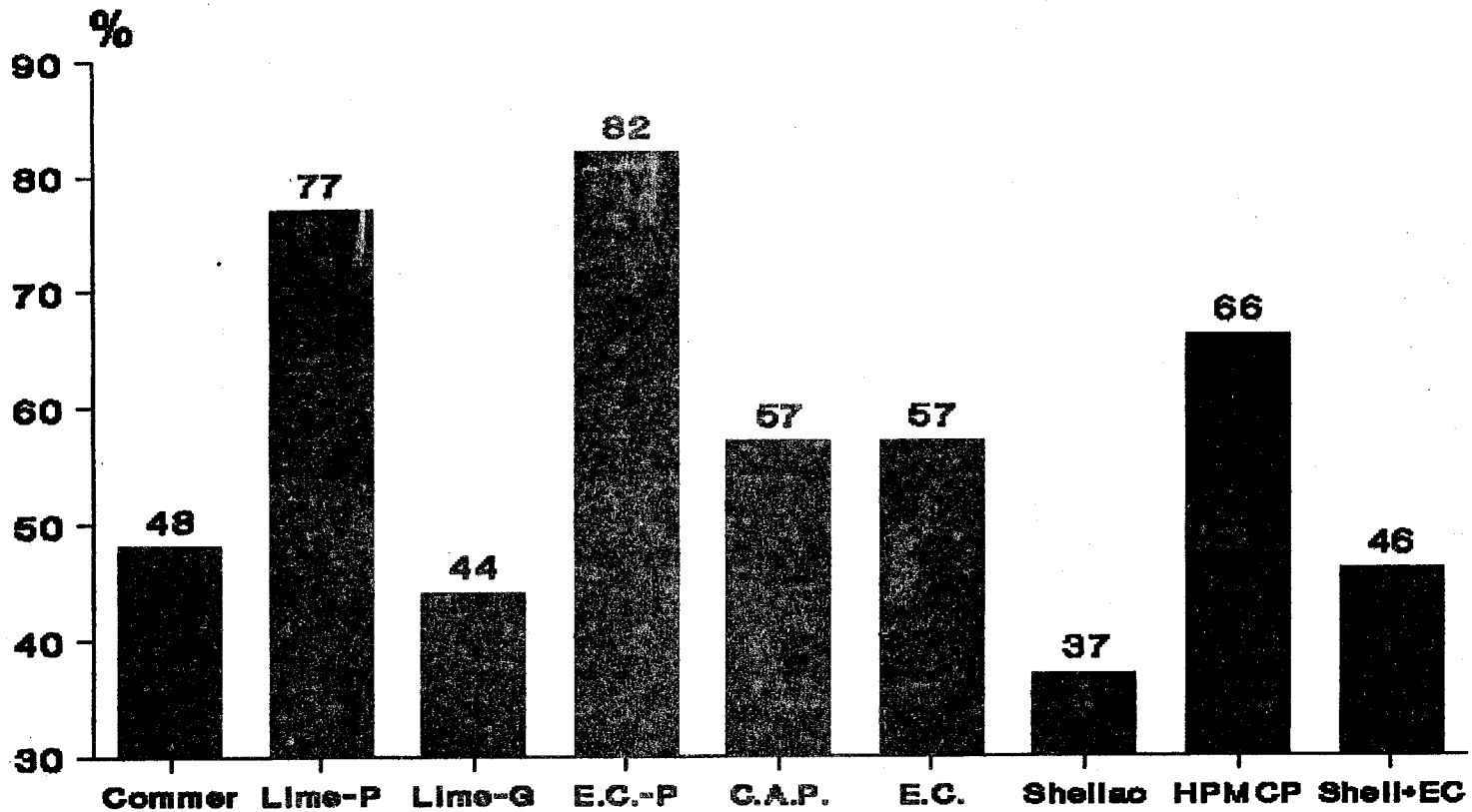
E.C=EC-coated limestone granule 4.65% 대체 첨가

Shellac=Shellac-coated limestone granule 4.65% 대체 첨가

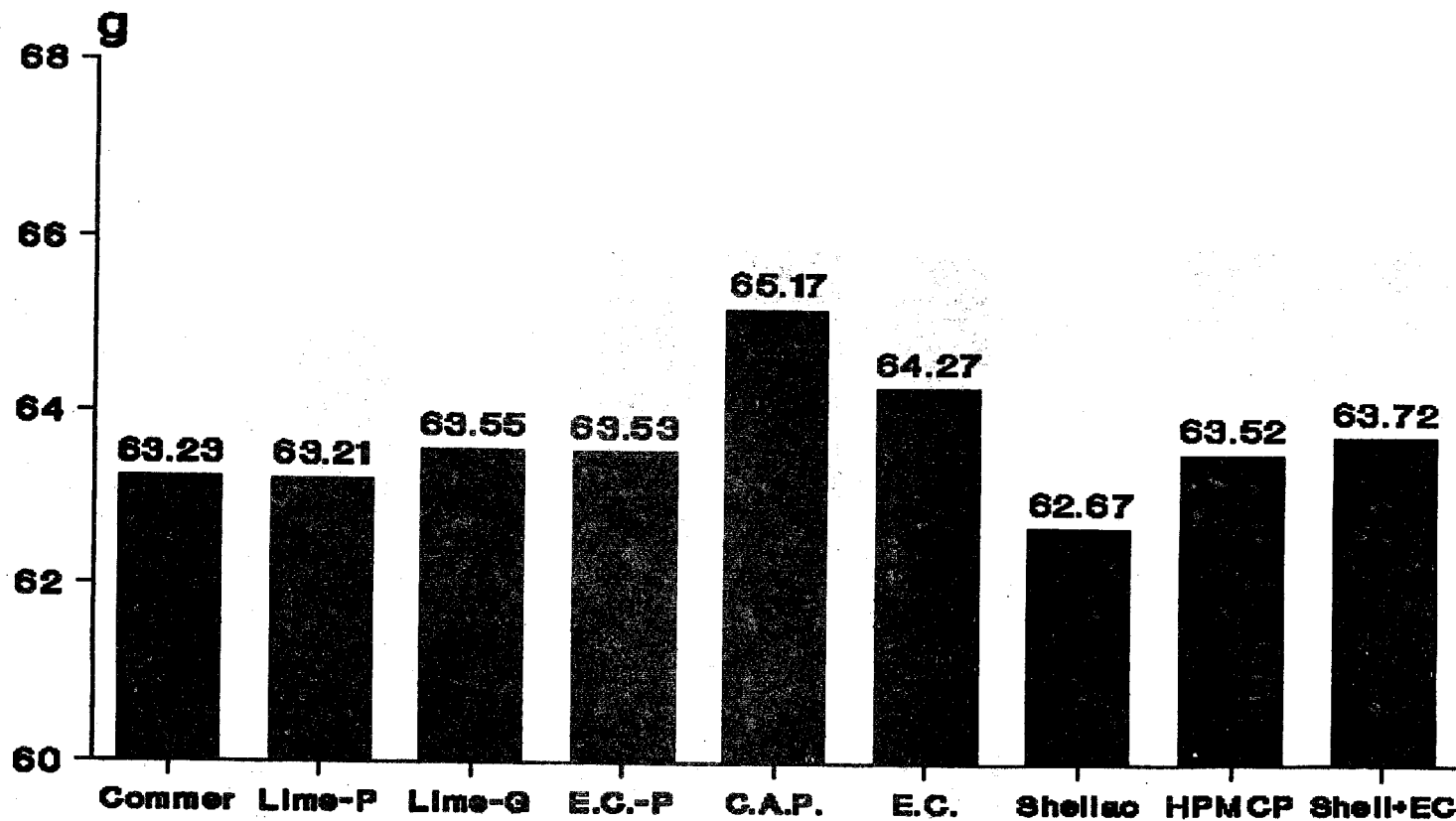
HPMCP=HPMCP-coated limestone granule 4.65% 대체 첨가

Shellac+EC=Shellac+EC-coated limestone granule 4.65% 대체 첨가

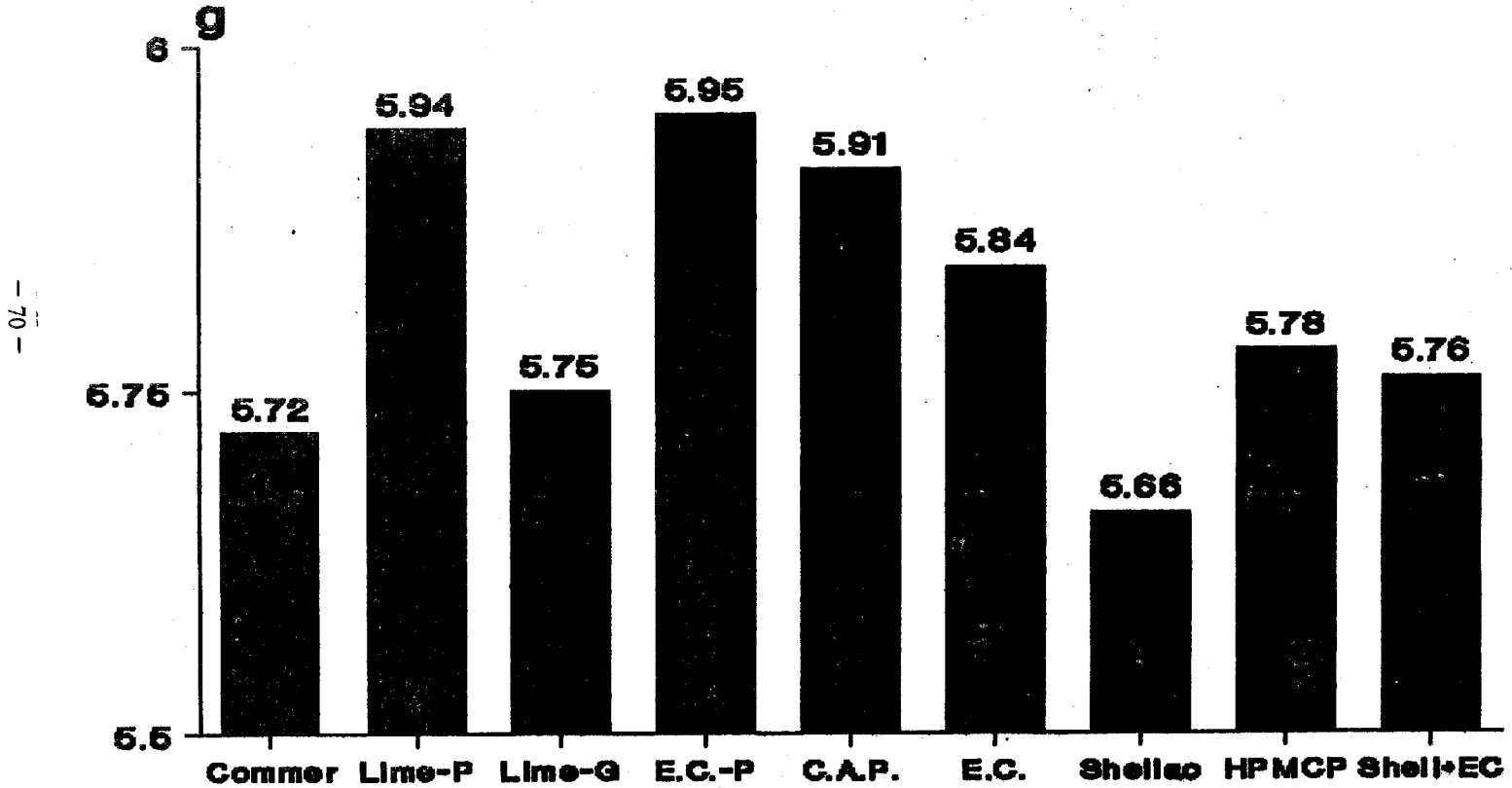
# Scoring by Item Rating



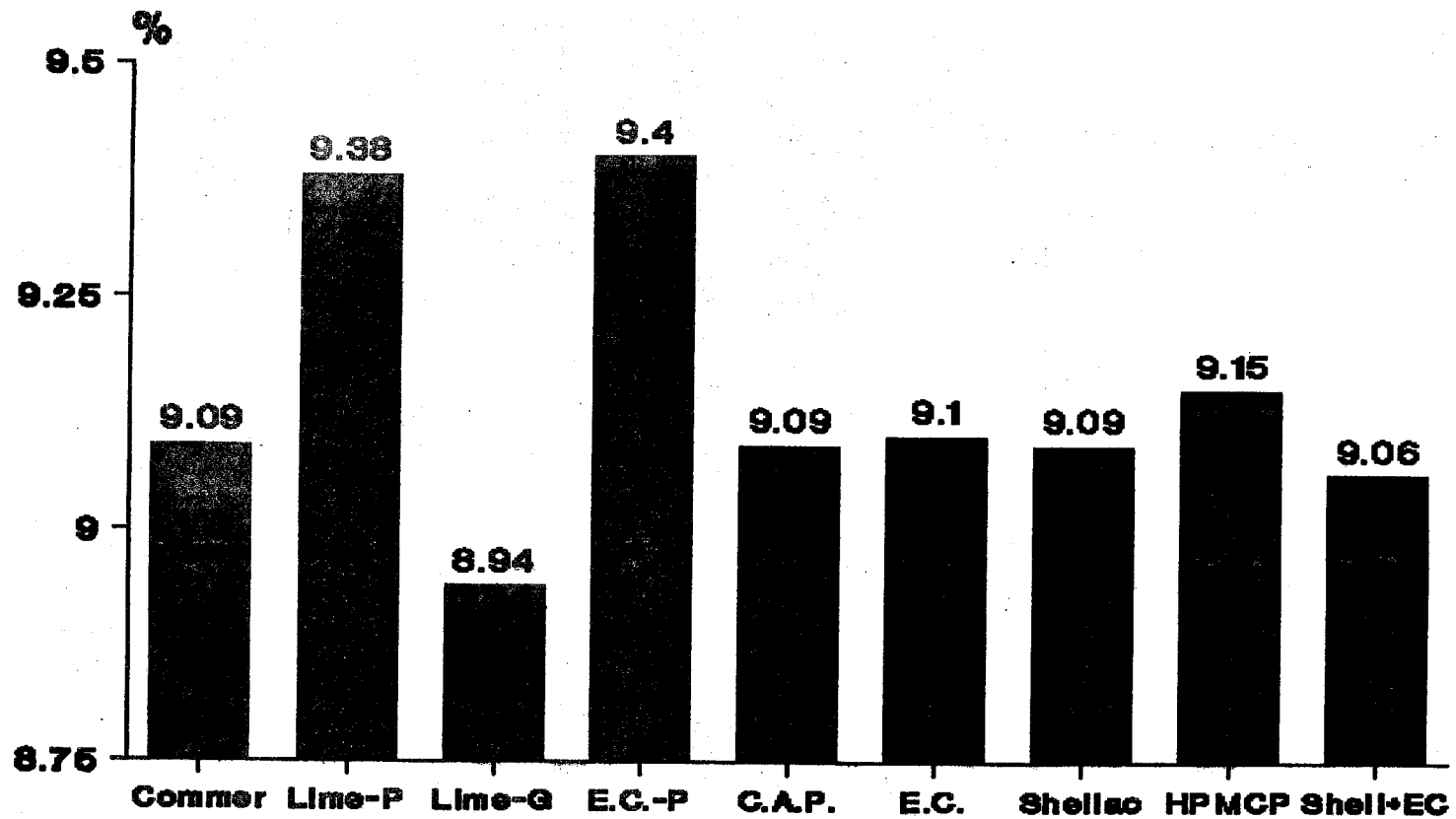
# Egg Weight



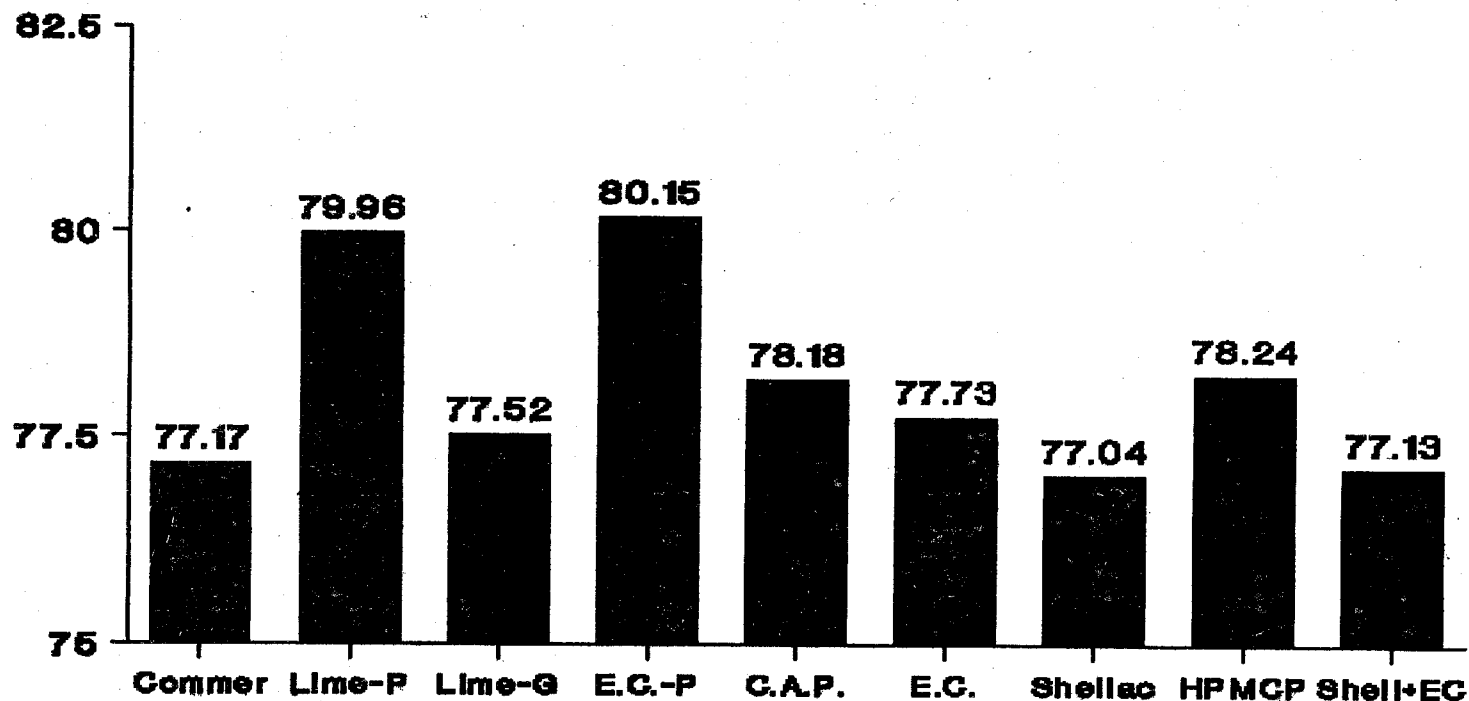
# Shell Weight



# Shell %



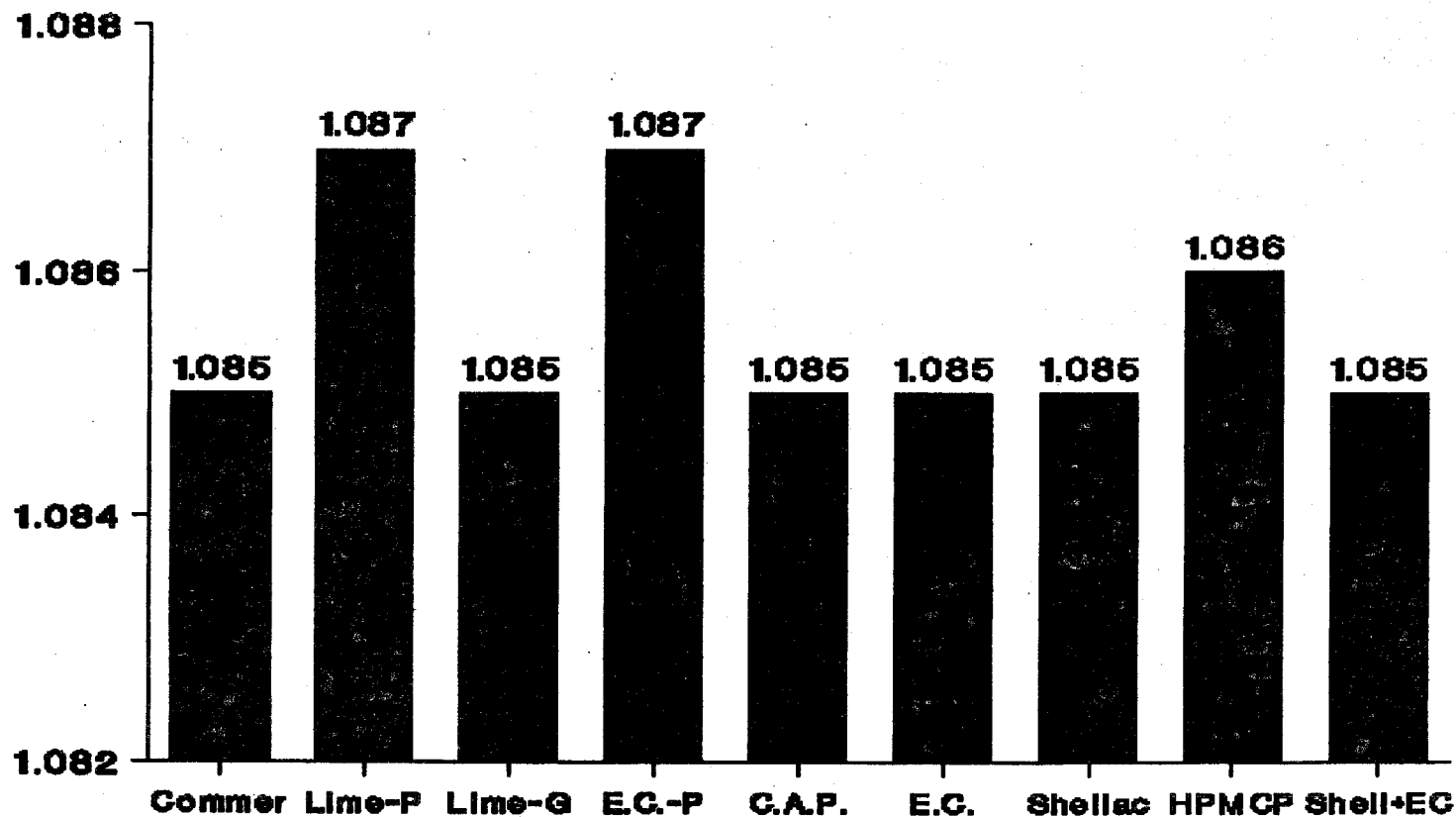
## Shell wt. per unit of Surface Area (SWUSA)



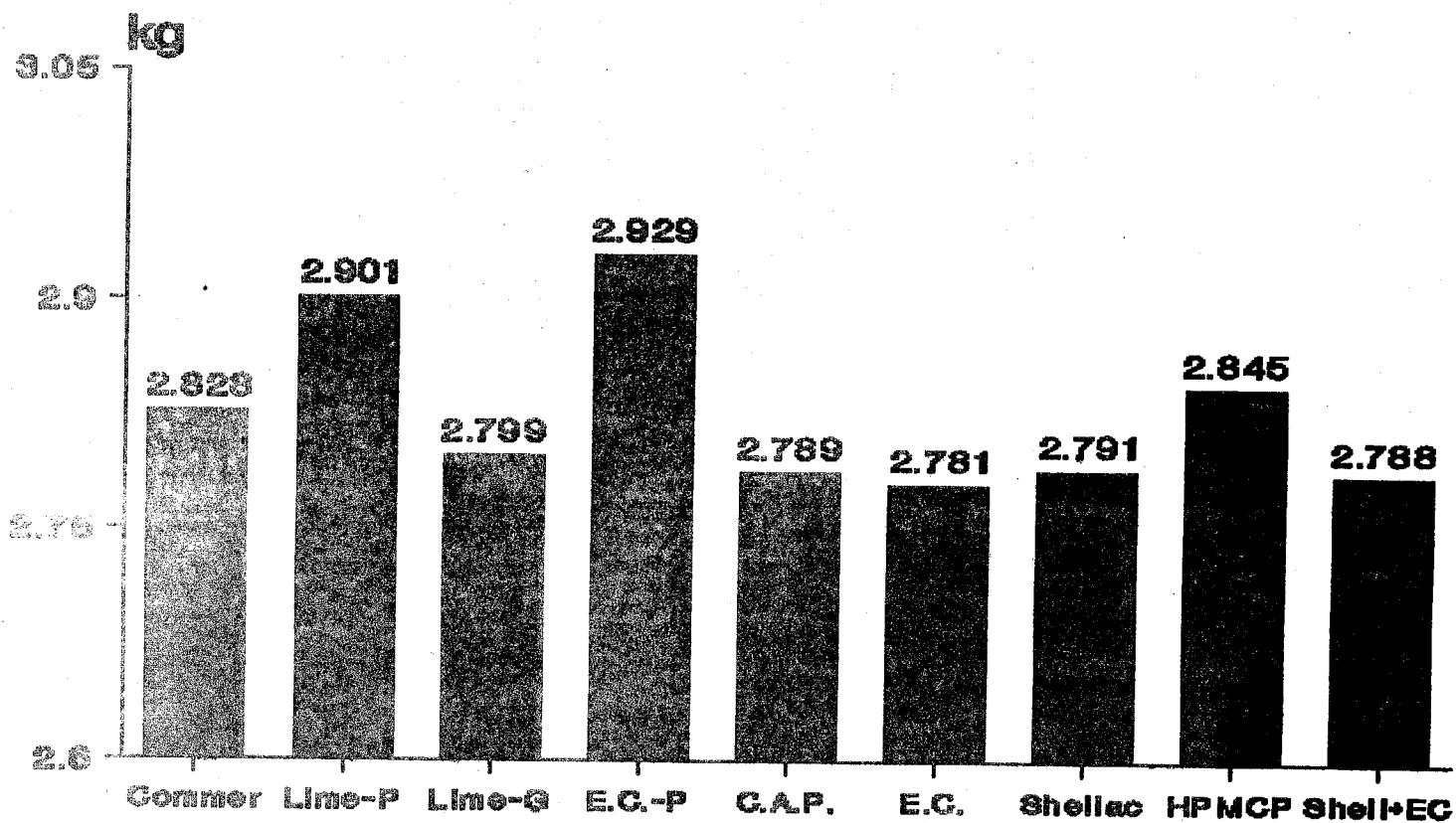
• mg of shell per square centimeter of surface area



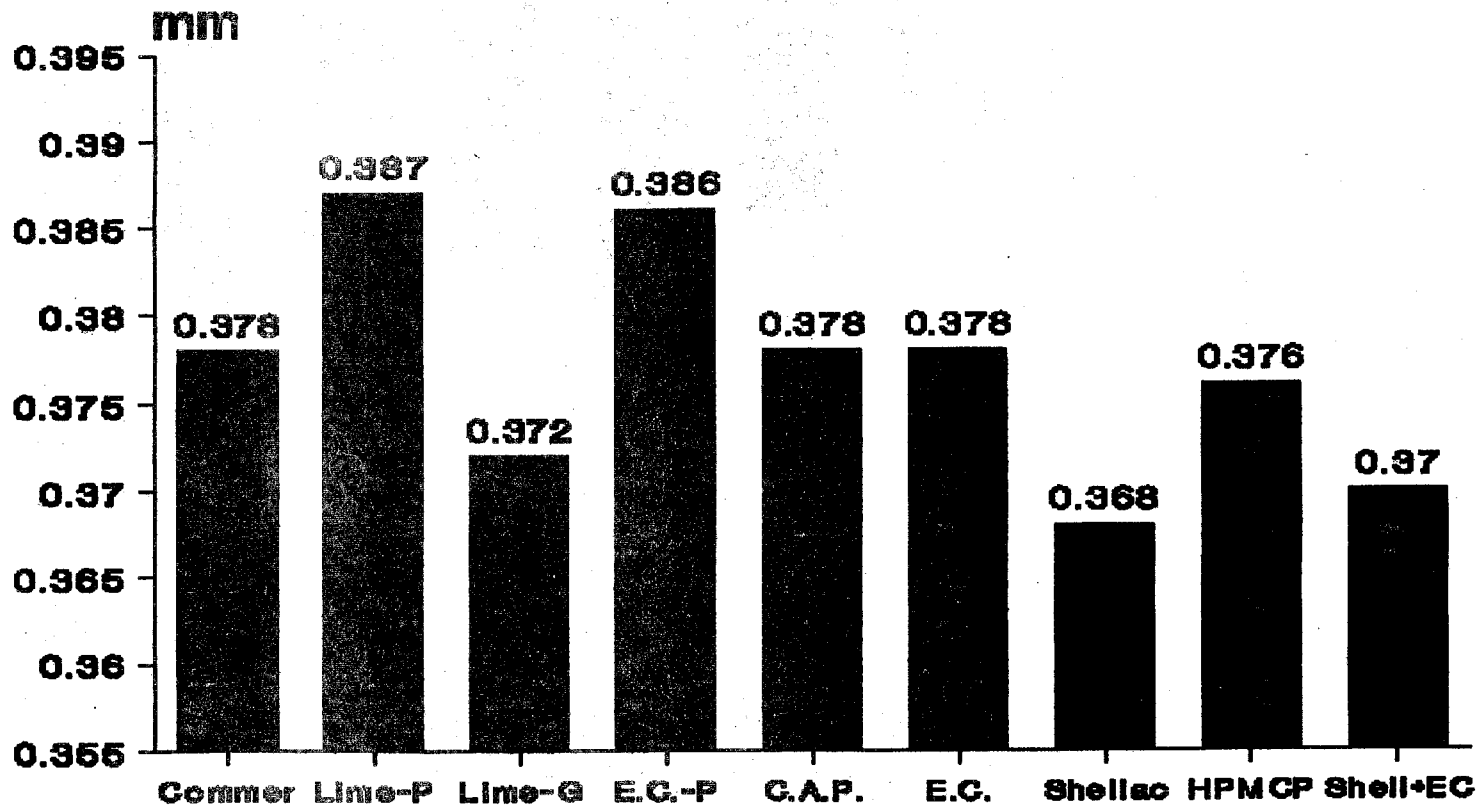
# Specific Gravity



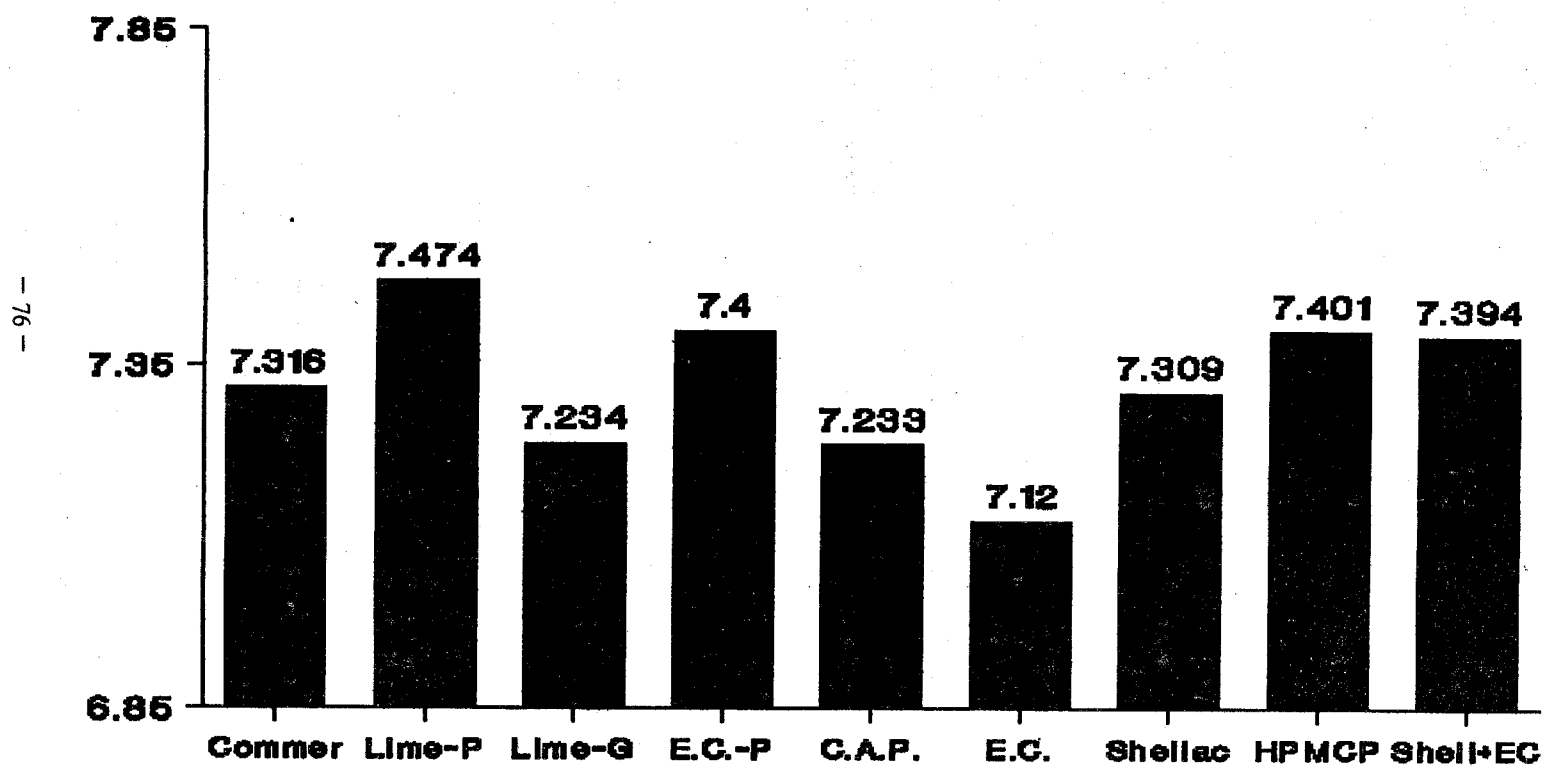
# Breaking Strength



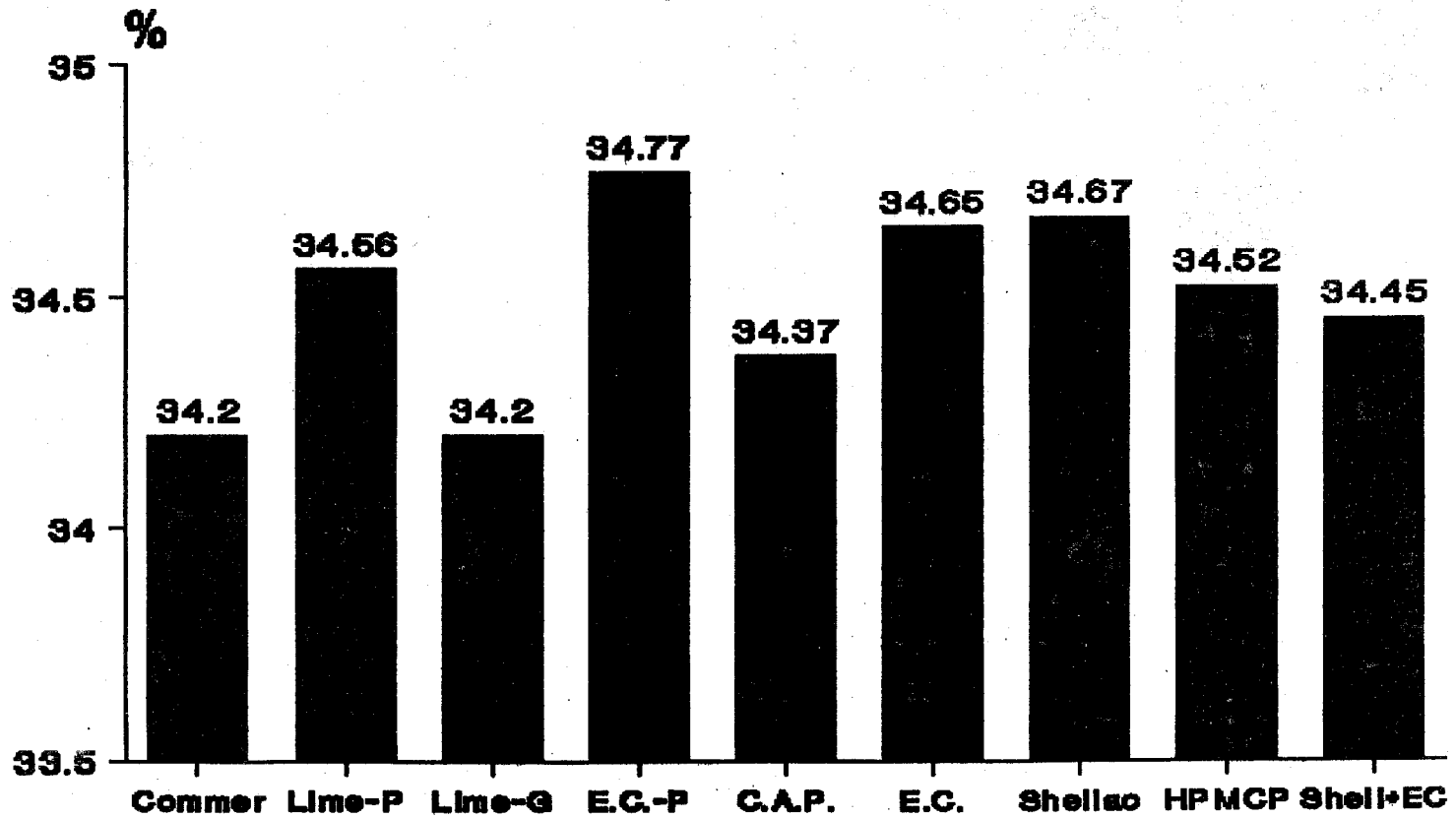
# Shell Thickness



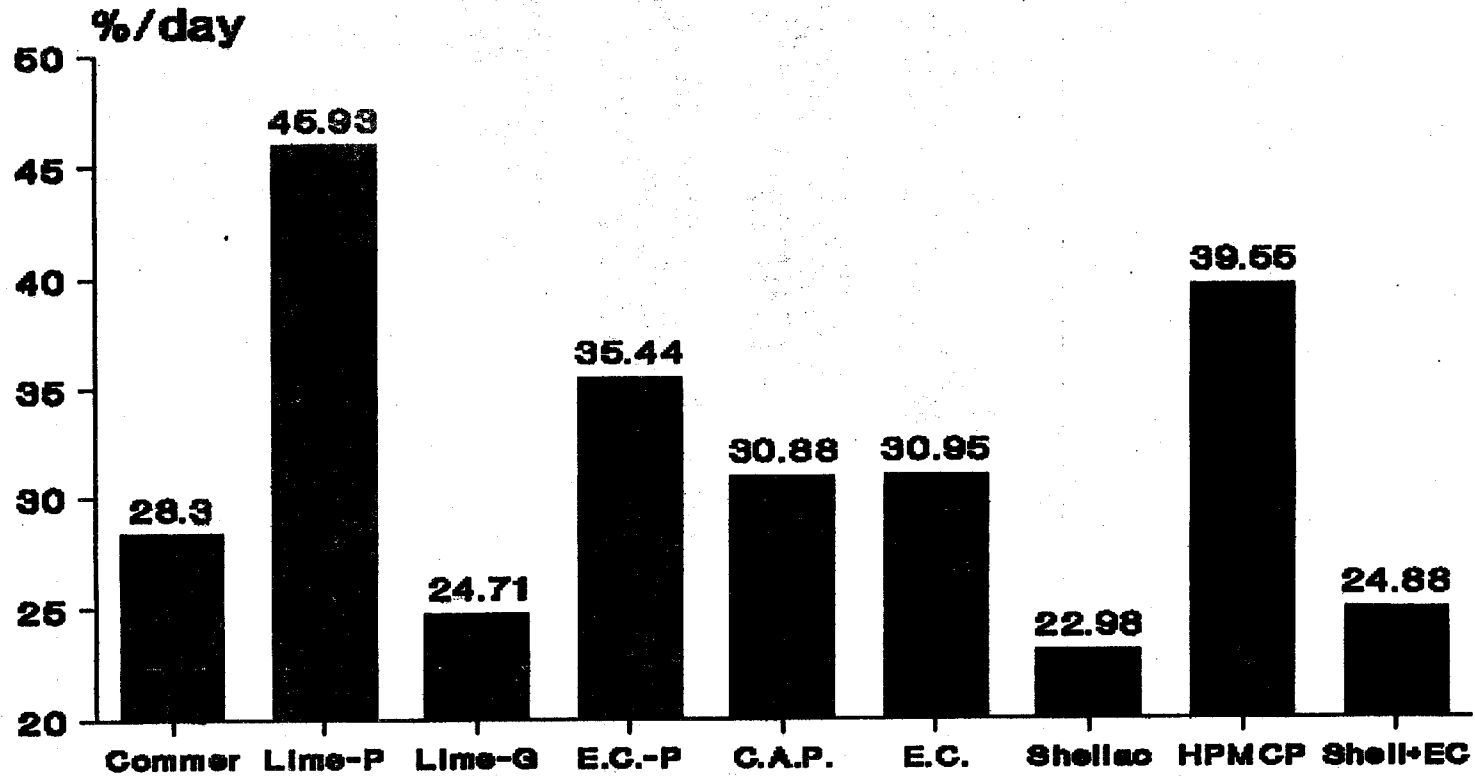
# Specific Strength (Breaking Strength/Shell Thickness)



# Calcium Content of Egg Shell



## Appearance Rate of Egg with $\geq 0.395\text{mm}$ Shell Thickness



## 제 4 장 칼슘 흡수 촉진제의 사용효과

### 제 1 절 서 론

칼슘 흡수 촉진제의 사용효과 실험에서는 일차실험의 결과를 고려하여 예비실험 개시시 82주령의 산란계를 이용하는 것으로 하였고, Encapsulation 물질로는 HPMCP와 CAP를 선정하였다. 칼슘의 흡수 촉진제로는 Lactose, Sorbital, 비타민 D<sub>3</sub> 및 C를 이용하였고, Lactose 및 Sorbitol은 실용화시의 가격상승 문제 및 Fluid Bed coater(Uni Glatt model) 사용시 one batch의 작업량등을 고려하여 최소량 사용 및 급여 형태에 수반된 효과를 얻고자 시도하였다. Lactose의 경우 Brommage등(1993)에 의하면 5~10% 혹은 그 이상을 사용시 칼슘 흡수촉진 효과가 크다고 하였으며, Sorbitol은 장내 분해시 섭취량의 70%가 CO<sub>2</sub>로 전환하므로 호흡에 의한 CO<sub>2</sub>의 손실을 보전하여 체내 산-염기 균형을 보전하고자 하였다. 그외 난각질에 영향을 미칠 수 있는 무기물로서 Mg, Mn, Cu, Zn도 보강하였다.

### 제 2 절 실험재료 및 방법

#### 1. 석회석 및 Encapsulation Materials

실험에 사용한 석회석은 청주석회에서 구입한 10목, 20목의 석회석을 중량비로 각각 70 : 30으로 혼합한 다음 10, 12, 14, 18, 25, 45, 100 및 200 mesh로 조합한 sieve에서 친 후 12~14 mesh, 18~25 mesh, 45~100 mesh 및 200 mesh 이하의

석회석을 각각 coating 하였다. Siveing 했을때 각각의 mesh별 distribution ratio는 1.56, 5.16, 11.52, 23.82, 22.53, 18.54, 7.86, 3.10 및 5.99(밀받침)%로 측정되었다. Mesh별로 사용한 피복물질은 HPMCP 및 CAP를 사용하였다.

## 2. 실험동물 및 사양관리

실험동물로는 예비실험 개시 82주령의 Dekalb Brown 산란계를 각 처리당 35수씩 임의로 배치하였고, 사료급여는 오전 06:30, 오전 09:30 및 오후 2:00에 실시하였다. 실험기간은 예비사양이 9월 26일 부터 10월 12일까지, 10월 13일부터 11월 17일까지를 본 실험의 계란 채취기간으로 하여 3일 간격으로 계란을 수거하여 난각질 측정 항목을 조사하였다.

## 3. 실험처리 및 실험사료

실험에 사용된 실험사료는 시판 양계사료를 사용하였고 Table 6에서는 실험 처리구를 요약하였다.



Table 6. Experimental Design

Trt. code	Treatment	Remarks
AA	Commercial feed-control	
A	Control	○ 10목 : 20목 = 70 : 30(W/W) 비율로 Mix한 석회석 8% 사용
B	Control-Lactose	○ 석회석은 A와 동일 ○ Lactose 0.4% 첨가
C	Control-Sorbitol	○ 석회석은 A와 동일 ○ Sorbitol 0.4% 첨가
D	Control-Lactose+Sorbitol	○ 석회석은 A와 동일 ○ Lactose 0.2%, Sorbitol 0.2% 첨가
E	HPMCP-(무기물 Mixture+석회석+Lactose)	○ "A"의 석회석은 4% ○ 무기물 첨가제, 석회석 4%, Lactose 0.4%를 Encapsulation 후 첨가
F	HPMCP-(무기물 Mixture+석회석)+Lactose	○ "A"의 석회석은 4% ○ 무기 첨가제, 석회석 4%는 coating ○ Lactose 0.4%는 그대로 첨가
G	HPMCP-(무기물 Mixture+석회석+Sorbitol)	
H	HPMCP-(무기물 Mixture+석회석)+Sorbitol)	
I	HPMCP-(무기물 Mixture+석회석+Lactose+Sorbitol)	○ Lactose 0.2%, Sorbitol 0.2%를 coating한것
J	HPMCP-(무기물 Mixture+석회석)+Lactose+Sorbitol)	○ Lactose 0.2%, Sorbitol 0.2%를 그대로 첨가한 것
K	CAP-(무기물 Mixture+석회석+Lactose)	
L	CAP-(무기물 Mixture+석회석)+Lactose	
M	CAP-(무기물 Mixture+석회석+Sorbitol)	
N	CAP-(무기물 Mixture+석회석)+Sorbitol	

Table 6에서 Commercial feed-control group은 시판 양계사료를 그대로 급여하였으며, A에서 D처리까지는 10목 : 20목의 석회석을 70 : 30으로 혼합한 후 8%를 배합하였고, E에서 N까지 처리구에서는 사용된 8%의 석회석중 4%는 대조구에서 사용한 것과 동일한 석회석이며, 나머지 4%는 HPMCP 혹은 CAP로 Encapsulation한 제품을 사용하였다. 그리고 Lactose 및 Sorbitol은 Encapsulation한 후 첨가 및 그대로 첨가구로 두었으며, 여기에서 무기물 Mixture는 완전배합사료 kg당 Vitamine D<sub>3</sub> ; 1000 IU, Vitamine C ; 1000mg, Cu ; 10mg, Mg ; 200mg, Mn ; 40mg, 및 Zn ; 50mg이 배합토록 하였다. 사용한 무기물 source는 CuCO<sub>3</sub> · Cu(OH)<sub>2</sub> · H<sub>2</sub>O, MgSO<sub>4</sub>, MnSO<sub>4</sub> · H<sub>2</sub>O, ZnO였다.

급여된 사료의 단백질 함량은 평균 15.5%, 회분은 8.5%, 총에너지는 3500 cal/g으로 분석되었고 무기물의 함량은 Table 7에 나타내었다.

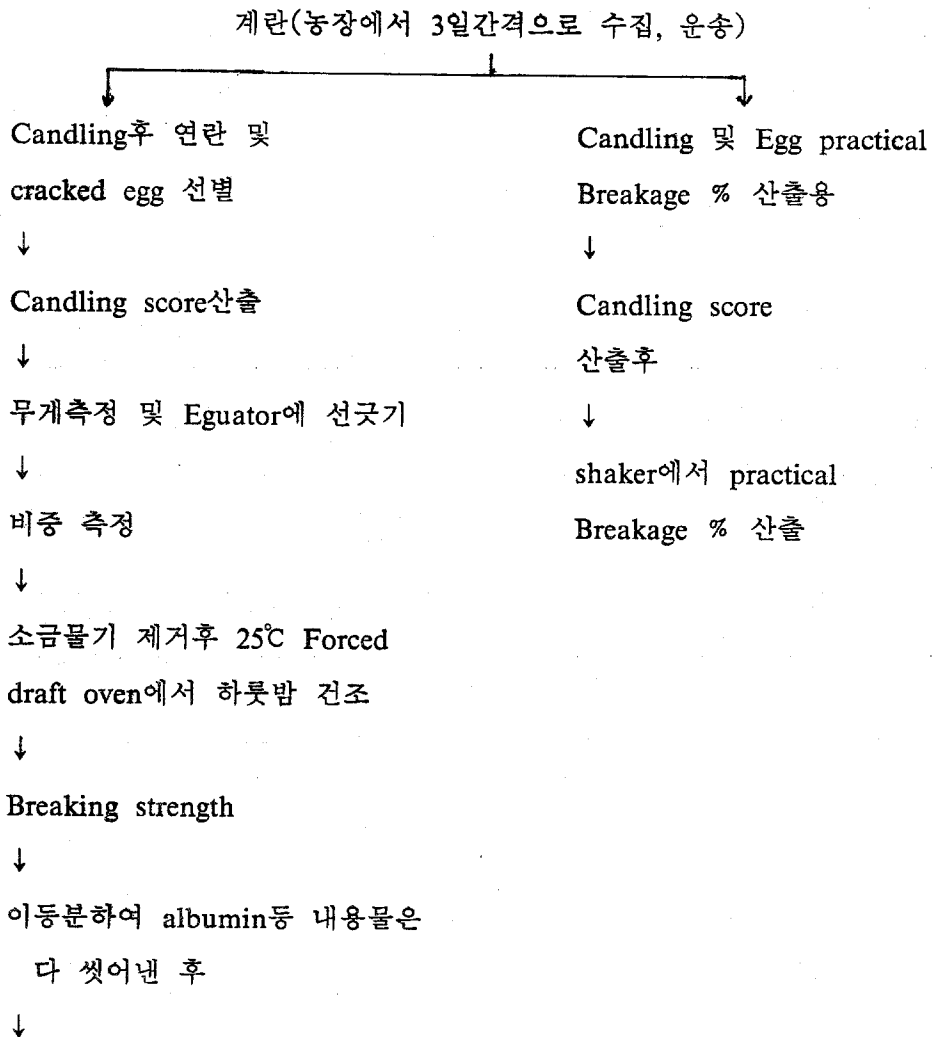
#### 4. 난각질의 측정

생산되는 계란의 난각질 측정 항목으로는 Egg weight, Shell weight, Shell%, specific gravity, Breaking strenght, SWUSA, Specific strength of shell, Calcium content of shell, 및 0.395mm 이상의 두께를 가진 계란의 생산비율등은 일차실험에서와 동일하게 실시하였고, 다시 몇가지 항목을 더 조사하였다. 수거된 계란을 candling한 다음 육안으로 관찰한 candling score를 산출하였으며 그림14에서 평가기준을 나타내었다. 그림14에서의 평가기준의 합당성을 알아보기 위하여 10점, 6점 및 2점인 난각을 수거하여 SEM으로 확인한 결과를 그림15, 16에 나타내었다. 즉 그림15에서 보면 Candling score가 2점인 soft shell은 난각 단면층의 두께도 얇고, palisade 및 mammillary layer의 형성이 엉성하며 치밀하지 못하다. 그림16에서도 보면 10점인 hard shell과 2점인 soft shell의 palisade layer에 분포된 vesicles(×3000)의 수가 soft shell에서 훨씬 많은 것을 알수 있다. 그리고 생산된 계란을 240×260×80mm 크기의 cardboard Box에 10개씩 넣은

Table 7. Each mineral contents of experimental feed

Treat.	Minerals					
	Ca, %	P, %	Cu, ppm	Zn, ppm	Mn, ppm	Mg, ppm
AA	3.25	0.52	23.3	79.4	67.4	2158
A	3.26	0.53	23.8	81.5	66.6	2253
B	3.20	0.56	22.4	83.1	68.3	2169
C	3.31	0.52	23.5	84.6	67.5	2272
D	3.13	0.61	23.5	82.4	67.5	2226
E	3.42	0.58	31.7	116.0	114.8	2457
F	3.32	0.58	31.4	127.8	114.8	2394
G	3.25	0.55	30.6	114.7	120.1	2477
H	3.25	0.54	29.5	114.2	120.9	2448
I	3.33	0.57	29.8	115.2	117.4	2421
J	3.20	0.57	32.8	119.5	122.6	2367
K	3.16	0.54	32.7	116.1	105.9	2439
L	3.23	0.57	33.2	118.9	119.7	2416
M	3.12	0.54	30.7	114.5	121.7	2470
N	3.32	0.56	31.3	119.8	120.6	2417

후 직선 운동거리가 3.5cm가 되도록 조절된 shaker에 장치한 후 1분간 120회 shaking후 깨어진 계란의 비율을 Breaking score of egg by collision으로 표시하였다. 그외 계란 껍질의 무기물 성분으로써 Ca의 Mg, Mn 및 P의 함량도 분석하도록 하였다. 그리고 전체적인 일의 진행순서는 다음과 같이 실시하였다.



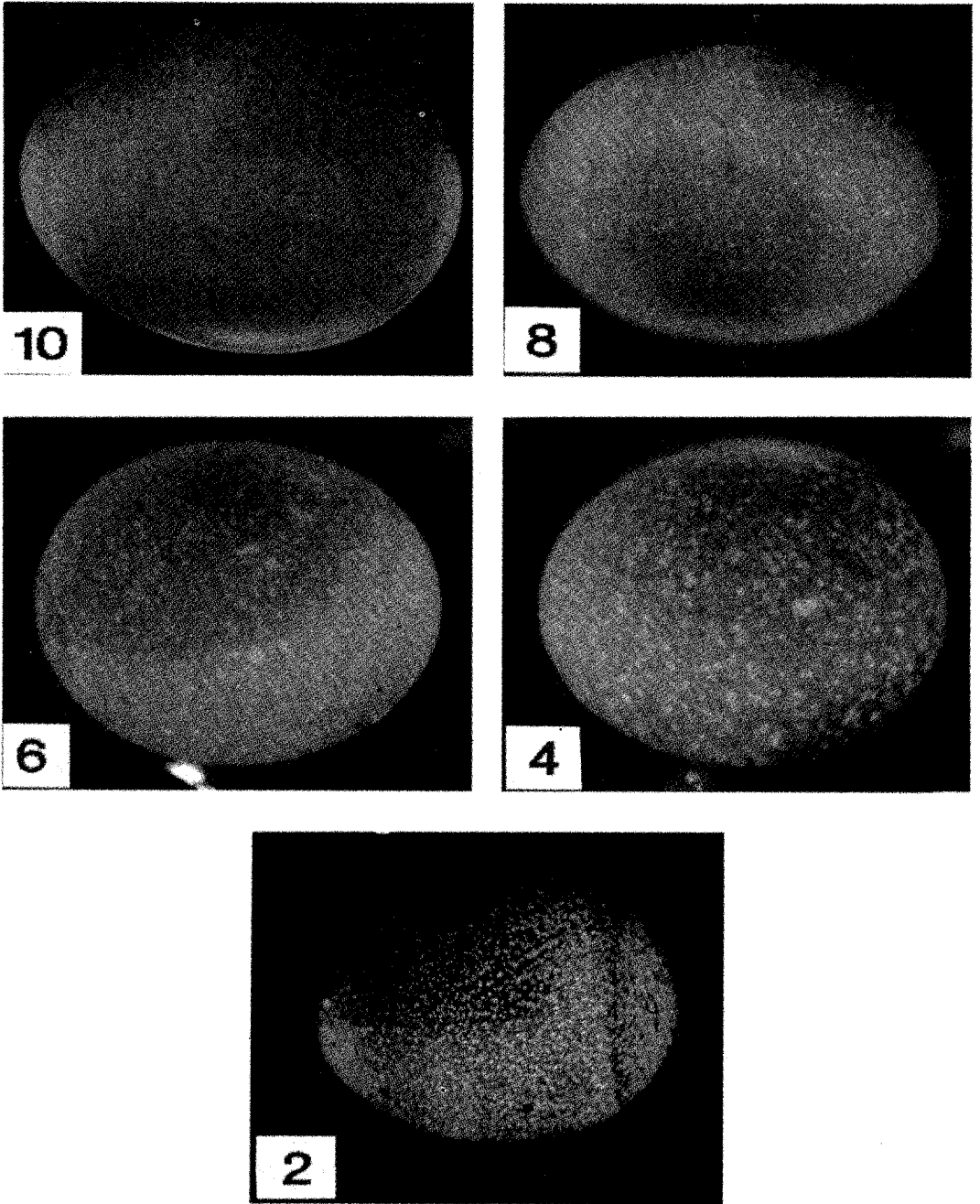


Fig. 14. Eggshell evaluation score by candling method

**여 백**

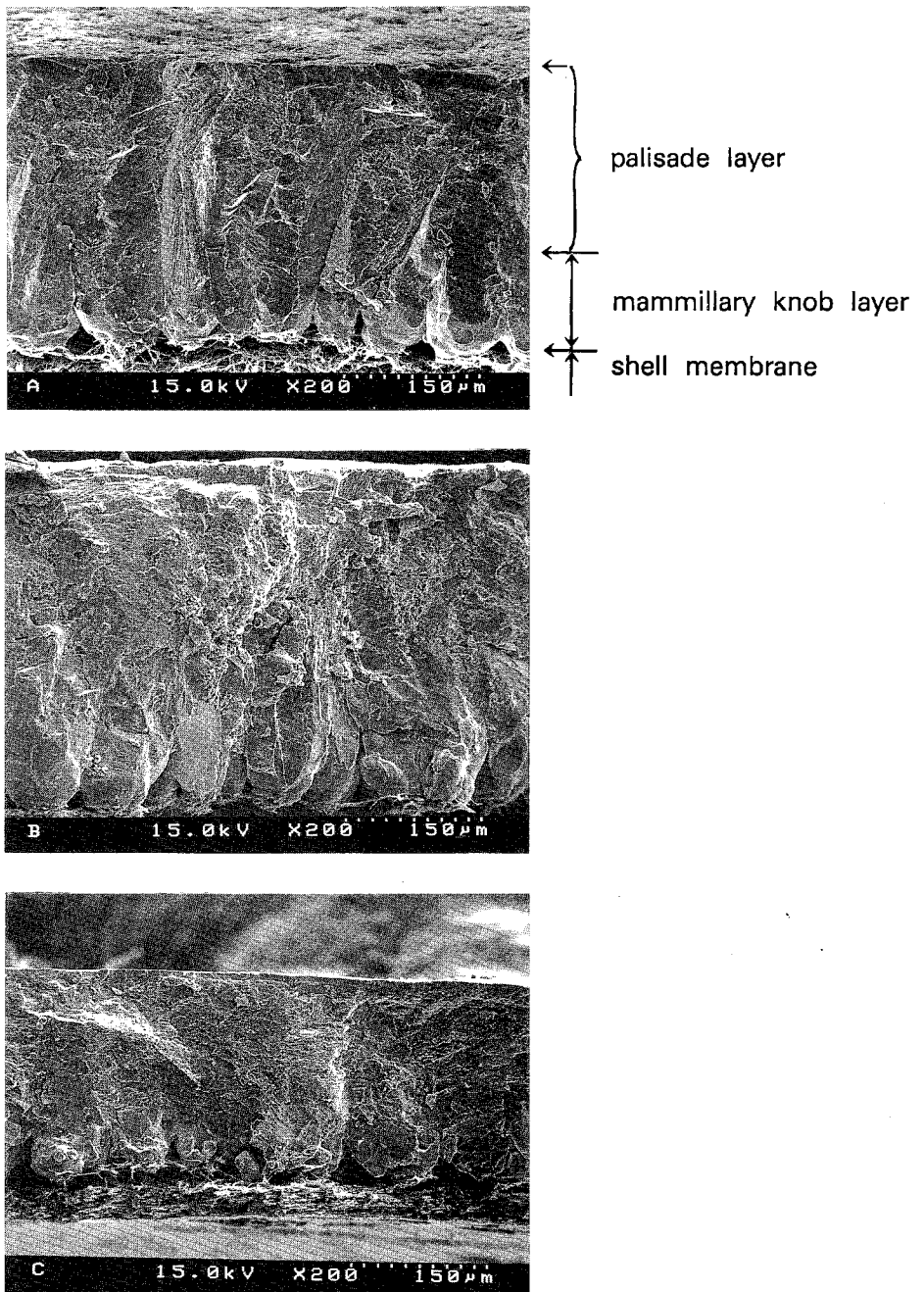


Fig. 15. Scanning electron micrography of eggshell layer

A : Candling 10, B : Candling score 6, C : Candling score 2

여 백



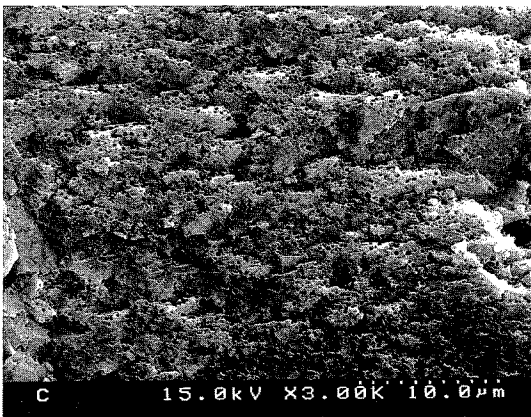
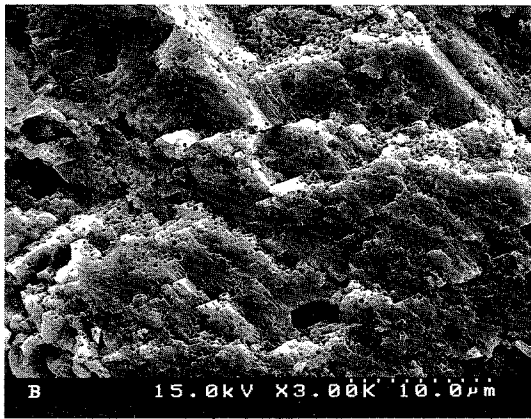
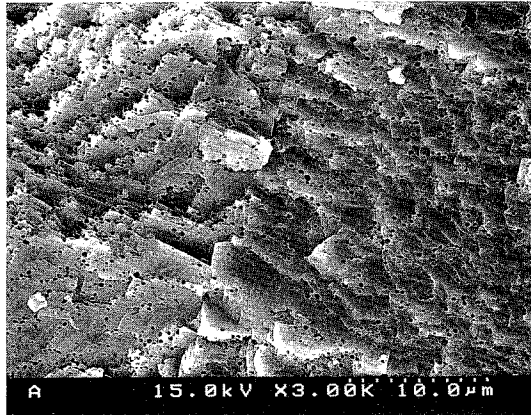


Fig. 16. Scanning electron micrography of vesicles of palisade layer  
A : Candling score 10, B : Candling score 6, C : Candling score 2

**여 백**

Shell(with membrane)은 50℃  
draft oven에서 하룻밤 건조후

↓

Shell weight 측정

↓

Eguator부근의 서로 다른 4곳에서 Thickness 측정

↓

Ashing후 Shell의 Ca, Mg, Mn, P측정(5회 실시)

## 5. 결과 분석 및 통계처리

얻어진 결과에 대한 통계분석은 SAS 통계 프로그램의 GLM에 의하였다. Control treatment의 성격을 지닌 처리구 비교로써 AA, A, B, C, D 처리간에 비교하여 기존 산란계 사료에 10목 20목을 70:30으로 혼합된 석회석 사용효과 및 Lactose, Sorbitol 첨가 효과를 평가하고자 하였으며, 그 다음은 Control로써 AA, A, B, C, D 처리구 및 HPMCP구로써 E, F, G, H, CAP처리구로써 K, L, M, N의 3처리를 비교하여 무기물 첨가 효과 및 Encapsulation 물질간의 효과를 평가하였다. 그 다음에는 Lactose, Sorbitol 첨가시 HPMCP 혹은 CAP의 어느 피복물질이 효과적인지 알아보려고 하였고, 마지막으로 HPMCP 및 CAP coating시 Lactose 혹은 Sorbitol의 coating or uncoating 효과를 평가하는 것으로 하였다.

### 제 3 절 결과 및 고찰

#### 1. 시판 양계사료 급여와 Lactos 혹은 Sorbitol의 첨가효과

Table 8에서는 Commercial Feed, Control(A), Control-Lactose(B), Control-Sorbitol(C) 및 Control-Lactose+Sorbitol(D)간에 난각질에 미치는 영향을 평가하였다. 난중은 A, B, C, D구로 갈수록 순차적으로 유의하게 증가되는 경향을 보였고, Shell weight에서는 Control-Sorbitol+Lactose구에서 5.92g으로 가장 높았다. 따라서 난중대비한 Shell %에서는 가장 낮은 경향을 나타내었다. 그리고 SWUSA 및 비중은 처리구간에 큰 차이를 보이지 않았다. Breaking strength, Shell thicknes 및 specific strength에서는 시판사료 급여구가 유의하게 낮은 결과를 나타내었다. 이것은 시판사료에다 석회석만 교체하여도 shell thicknes등을 향상시킬 수 있었으며, 10목 20목의 석회석을 70:30으로 혼합한 것을 8% 사용하고 혹은 이와 더불어 Lactose 혹은 sorbitol을 첨가한 처리구들(A, B, C, D)사이에는 유의한 차이를 보이지 않았다. 그리고 계란의 층들에 의한 Breaking score 및 0.395mm 이상의 난각을 가진 계란 생산율등은 처리구간에 큰 차이는 없었으나, Lactose 및 Sorbitol 첨가구(B, C)는 Control(A)에 비하여 Breaking score는 다소 향상된 결과였으나, 0.395mm 이상의 계란 생산율은 감소 되었다.

이상의 결과로 볼때 본 실험에서는 상당히 적은양(0.4%)의 Lactose 혹은 Sorbitol이 사용되었음에도 불구하고 난각질을 개선시킬 수 있을 것으로 사료되었다. Brommage등(1993), Atkinson등(1957)은 Rat를 실험동물로 사용한 실험에서 Lactose를 5, 10, 15% 첨가시 Calcium의 흡수율은 거의 직선적으로 증가하였다고 보고하였다.

Table 8. Effect of lactose and sorbitol addition into the control feed on egg shell quality

Item	Commerical feed	Control	Control -Lactose	Control -Sorbitol	Control -Lactose + Sorbitol	SEM
Egg wt, g	65.27 <sup>c</sup>	64.99 <sup>c</sup>	65.80 <sup>bc</sup>	68.15 <sup>a</sup>	68.15 <sup>a</sup>	1.22
Shell wt, g	5.73 <sup>B</sup>	5.77 <sup>B</sup>	5.82 <sup>AB</sup>	5.81 <sup>AB</sup>	5.92 <sup>A</sup>	0.16
Shell, %	8.79 <sup>AB</sup>	8.88 <sup>AB</sup>	8.89 <sup>A</sup>	8.77 <sup>AB</sup>	8.69 <sup>B</sup>	0.22
SWUSA	75.47	76.18	76.48	75.71	75.64	1.81
Gravity	1.085	1.086	1.086	1.085	1.085	0.003
Breaking strength, kg	2.164 <sup>b</sup>	2.843 <sup>a</sup>	2.780 <sup>a</sup>	2.713 <sup>a</sup>	2.764 <sup>a</sup>	0.200
Shell thickness, mm	0.368 <sup>b</sup>	0.377 <sup>a</sup>	0.379 <sup>a</sup>	0.379 <sup>a</sup>	0.379 <sup>a</sup>	0.008
Specific strength	5.873 <sup>b</sup>	7.483 <sup>a</sup>	7.241 <sup>a</sup>	7.178 <sup>a</sup>	7.217 <sup>a</sup>	0.450
Breaking score, %	53.50	52.00	47.83	42.74	51.75	9.75
$\geq 0.395$ mm thickness, %	22.35	30.36	28.32	23.15	29.68	11.08

\* A, B, C :  $P < .05$ , a, b, c :  $P < .01$

## 2. Encapsulation Material 사이의 효과 비교

Control처리구(AA+A+B+C+D), HPMCP처리구(E+F+G+H) 및 CAP처리구(K+L+M+N)간의 비교분석 결과는 Table 9에 제시하였다. 여기서는 실험설계시 Control처리구에 Mineral mixture의 추가 첨가구를 두지 않았으므로 HPMCP 및 CAP처리구에서는 이 요인이 숨어있는 통계분석상의 문제점은 내재하고 있다. 분석된 결과를 보면 HPMCP처리구에서 Shell weight, Shell %, SWUSA, Breaking strength, Shell thicknes, Specific strength, Breaking score 및 0.395mm 이상의 난각을 가진 계란 생산비율등 거의 모든 항목에서 HPMCP처리구에서 유의하게 향상된 결과를 나타내었다.

## 3. Lactose 및 Sorbitol 첨가시 HPMCP 혹은 CAP에서의 효과 비교

다음은 Sorbitol 혹은 Lactose를 Encapsulation후 첨가 및 그대로 첨가한 결과를 비교분석하였다(Table 10). Control, HPMCP 및 CAP 처리구에 관계없이 Lactose 첨가시 Sorbitol보다 거의 모든 측정치에서 향상된 결과를 나타내었고, Sorbitol은 Egg weight에서만 Lactose보다 향상된 결과를 보여주고 있다. 이러한 경향은 요약된 그림17에서 보면 쉽게 알 수 있다.

또한 그림17에서 보듯이 계란의 충돌시 Breaking rate, Shell thicknes, Breaking strength, SWUSA, Shell % 및 Shell weight 성적에서는 CAP-Lactose, CAP-sorbitol 처리구에서 가장 불량한 것으로 평가되었다. 따라서 HPMCP-Lactose (E+F) 처리구가 난각질을 가장 많이 향상시킨 것으로 사료된다.

## 4. 처리구별 Lactose, Sorbitol의 Coating, Uncoating시 효과비교

### 1) HPMCP구에서 Lactose의 Coating 및 Uncoating.

HPMCP를 사용하여 Lactose를 Coating 및 Uncoating 후 첨가시의 결과

Table 9. Effect of substitution of HPMCP and CAP-encapsulated limestone on egg shell quality

Item	Control	HPMCP	CAP	SEM
Egg wt, g	66.14	66.59	66.67	0.92
shell wt, g	5.81 <sup>AB</sup>	5.87 <sup>A</sup>	5.76 <sup>B</sup>	0.11
Shell, %	8.80 <sup>a</sup>	8.84 <sup>a</sup>	88.67 <sup>b</sup>	0.12
SWUSA	75.90 <sup>a</sup>	76.36 <sup>a</sup>	74.93 <sup>b</sup>	1.06
Gravity	1.085	1.086	1.084	0.003
Breaking strength, kg	2.653 <sup>B</sup>	2.843 <sup>A</sup>	2.729 <sup>AB</sup>	0.180
Shell thickness, mm	0.376 <sup>b</sup>	0.381 <sup>a</sup>	0.373 <sup>b</sup>	0.006
Specific strength	6.998 <sup>B</sup>	7.394 <sup>A</sup>	7.255 <sup>AB</sup>	0.405
Breaking score, %	49.56 <sup>a</sup>	44.46 <sup>b</sup>	53.85 <sup>a</sup>	5.71
≥ 0.395mm thickness, %	26.77 <sup>b</sup>	38.08 <sup>a</sup>	28.54 <sup>b</sup>	6.25

\* A, B, C : P<.05, a, b : P<.01

비교를 Table 11에 나타내었다.

Lactose를 HPMCP로 Coating하여 급역시에는 Breaking strength, specific strength 및 0.395mm 이상의 난각두께를 가진 계란의 생산비율에서 다소간 향상되었고, Lactose를 그대로 첨가하는 Egg weight, Shell weight, Shell %, SWUSA, Shell thickness 및 계란 충돌에 의한 Breaking rate에서 더 향상되었으나, Lactose의 Coating 및 Uncoating의 차이에 의한 효과는 유의성은 없었다.



Table 10. Effect of lactose and sorbitol addition into encapsulated limestone treatment on egg shell quality

Item	Control -Lactose	Control -Sorbitol	HPMCP -Lactose	HPMCP -Sorbitol	CAP -Lactose	CAP -Sorbitol	SEM
Egg wt, g	65.80 <sup>B</sup>	66.50 <sup>AB</sup>	66.14 <sup>AB</sup>	67.03 <sup>A</sup>	66.46 <sup>AB</sup>	66.89 <sup>A</sup>	1.25
shell wt, g	5.82	5.81	5.87	5.87	5.79	5.74	0.16
Shell, %	8.89 <sup>a</sup>	8.77 <sup>ab</sup>	8.91 <sup>a</sup>	8.77 <sup>ab</sup>	8.73 <sup>ab</sup>	8.60 <sup>b</sup>	0.20
SWUSA	76.48 <sup>a</sup>	75.71 <sup>ab</sup>	76.76 <sup>a</sup>	75.95 <sup>a</sup>	75.42 <sup>ab</sup>	74.43 <sup>b</sup>	1.75
Gravity	1.086	1.085	1.086	1.085	1.084	1.084	0.003
Breaking strength, kg	2.780	2.713	2.905	2.782	2.727	2.730	0.222
Shell thickness, mm	0.377 <sup>ab</sup>	0.376 <sup>bc</sup>	0.384 <sup>a</sup>	0.378 <sup>ab</sup>	0.376 <sup>bc</sup>	0.371 <sup>c</sup>	0.008
Specific strength	7.241	7.178	7.510	7.278	7.204	7.307	0.507
Breaking score, %	47.83 <sup>abc</sup>	42.74 <sup>c</sup>	42.57 <sup>c</sup>	46.35 <sup>bc</sup>	54.89 <sup>a</sup>	52.81 <sup>ab</sup>	8.72
$\geq 0.395$ mm thickness, %	28.32 <sup>bc</sup>	23.15 <sup>c</sup>	41.14 <sup>a</sup>	35.01 <sup>ab</sup>	30.38 <sup>bc</sup>	26.70 <sup>c</sup>	9.37

\* A, B, C :  $P < .05$ , a, b, c :  $P < .01$

\* Control-Lactose ; B

Control-Sorbitol ; C

HPMCP-Lactose ; E+F

HPMCP-Sorbitol ; G+H

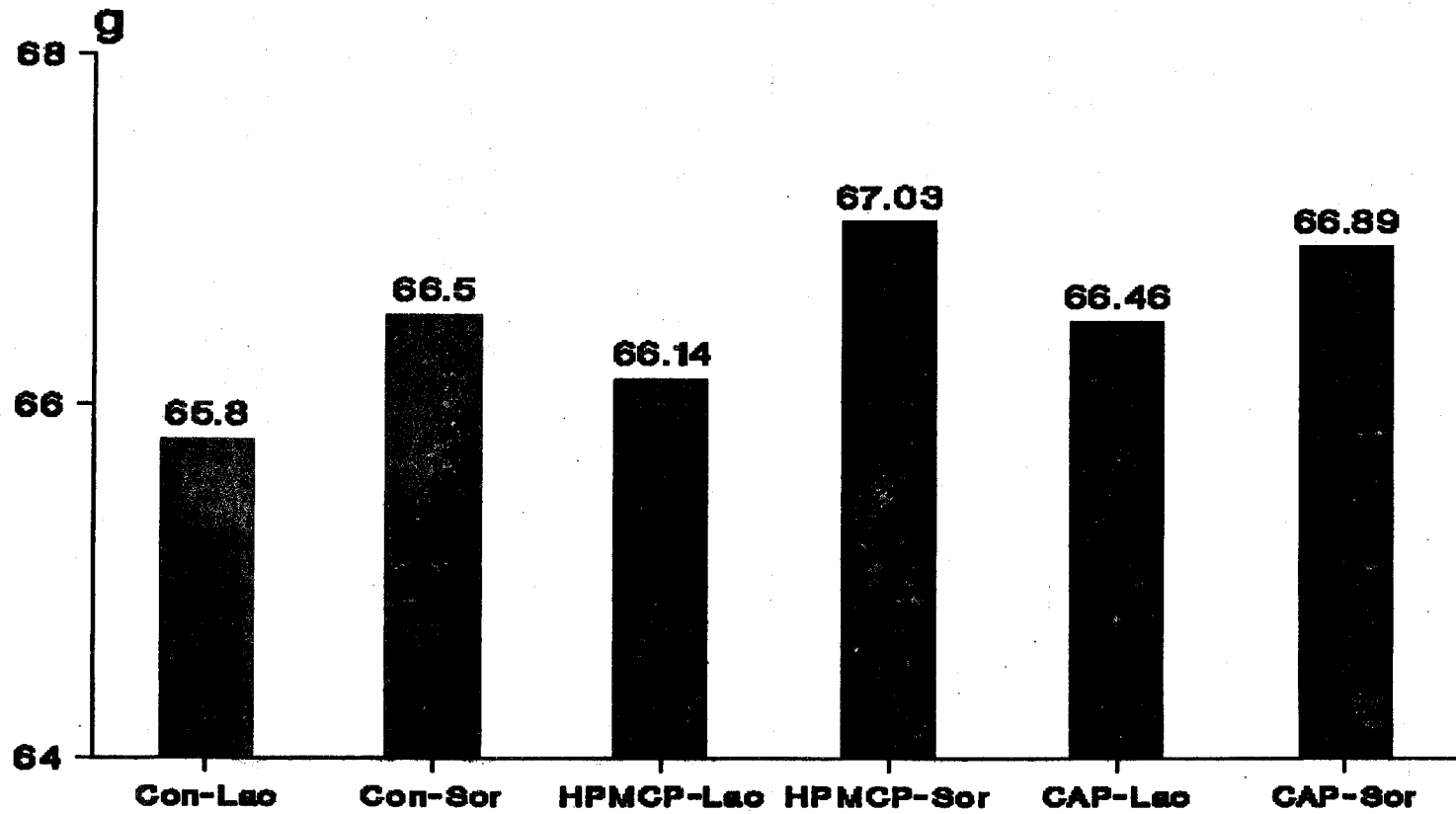
CAP-Lactose ; K+L

CAP-Sorbitol ; M+N

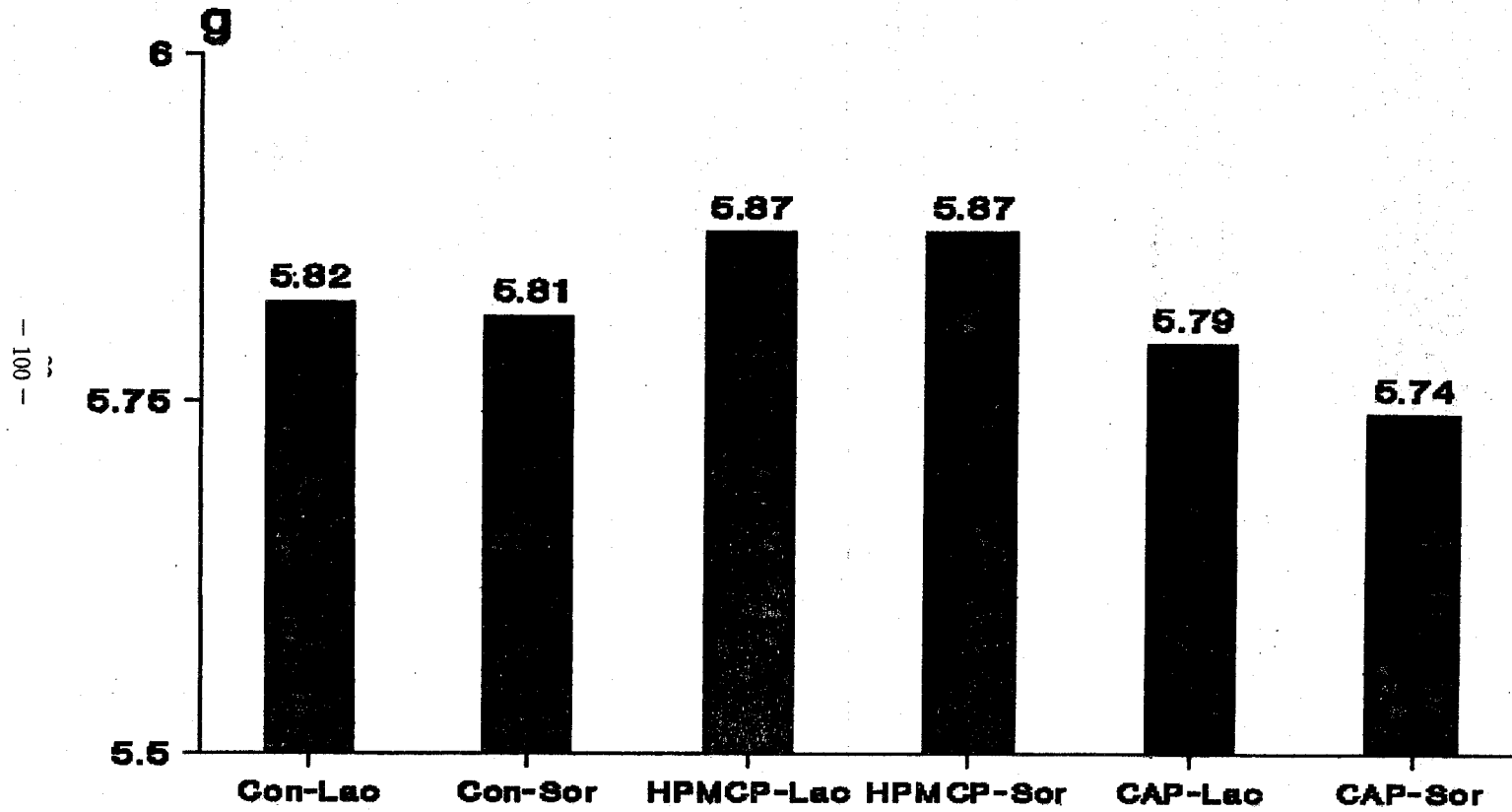
Fig. 17. The combined figure for result evaluation 3 at experiment II

1. Egg weight
2. Shell weight
3. Shell %
4. Shell weight per unit of surface area(SWUSA)
5. Specific gravity
6. Breaking strength
7. Shell thickness
8. Specific strength(Breaking strength/Shell thickness)
9. Breaking rate of egg shell by collision
10. Appearance rate of egg with  $\geq 0.395\text{mm}$  shell thickness

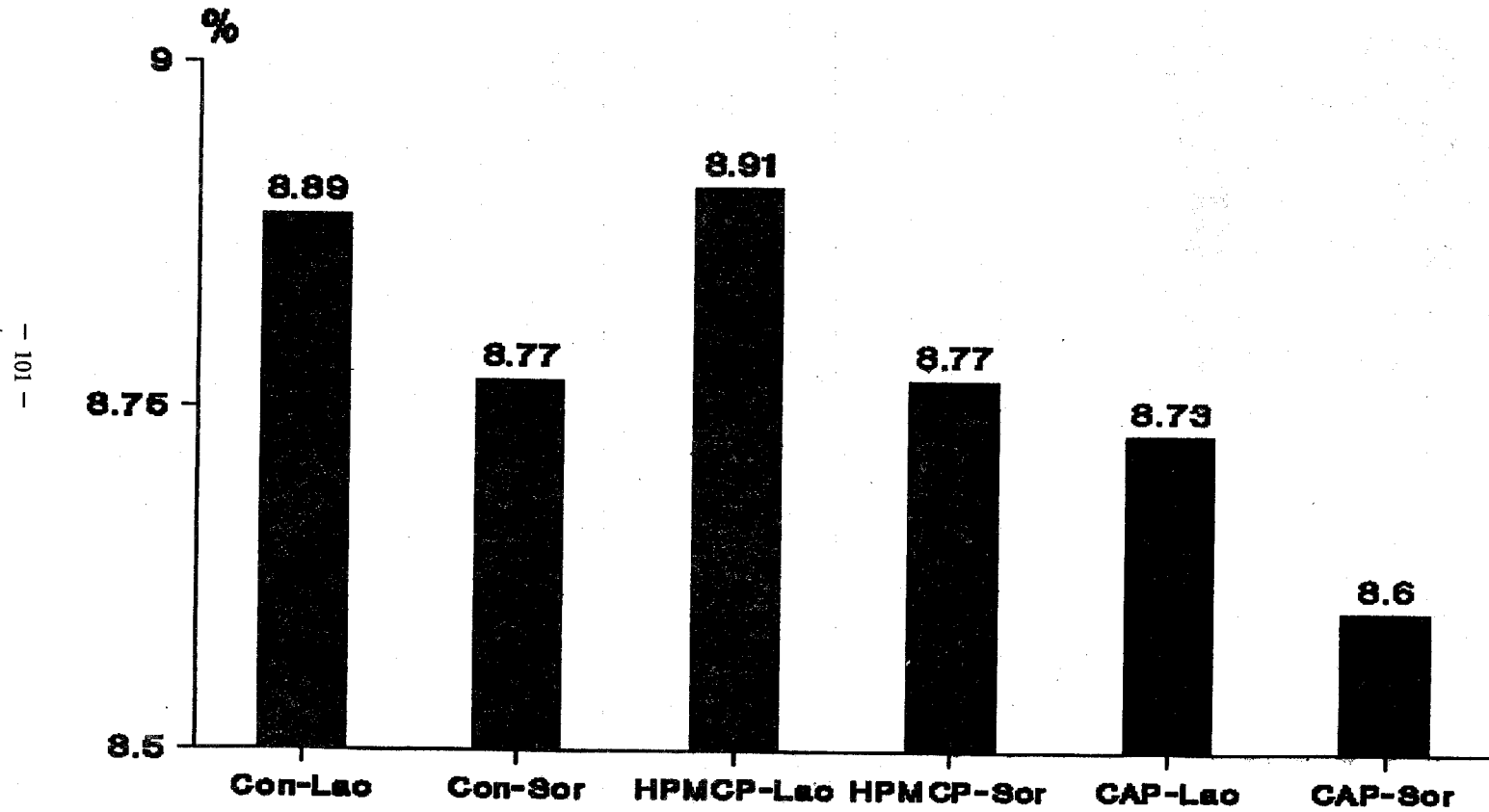
# Egg Weight



# Shell Weight

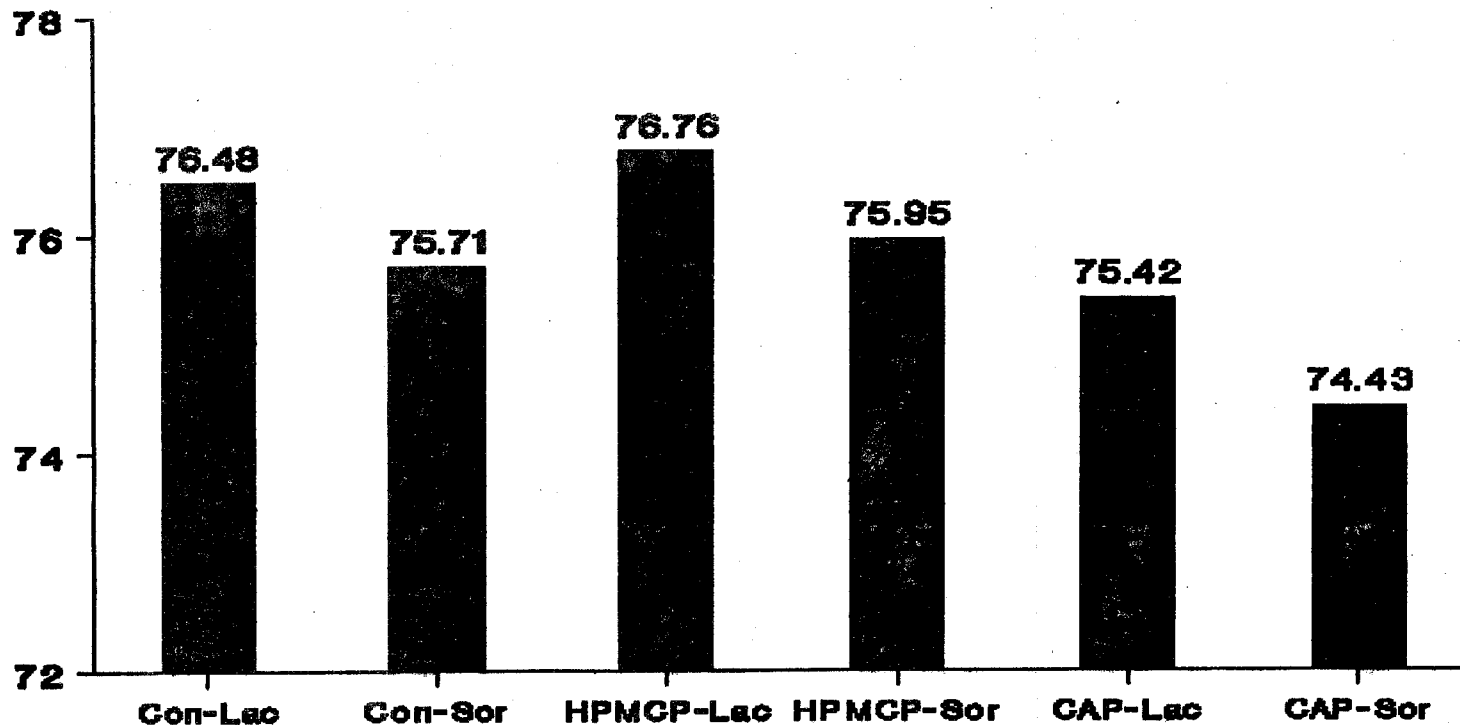


# Shell %



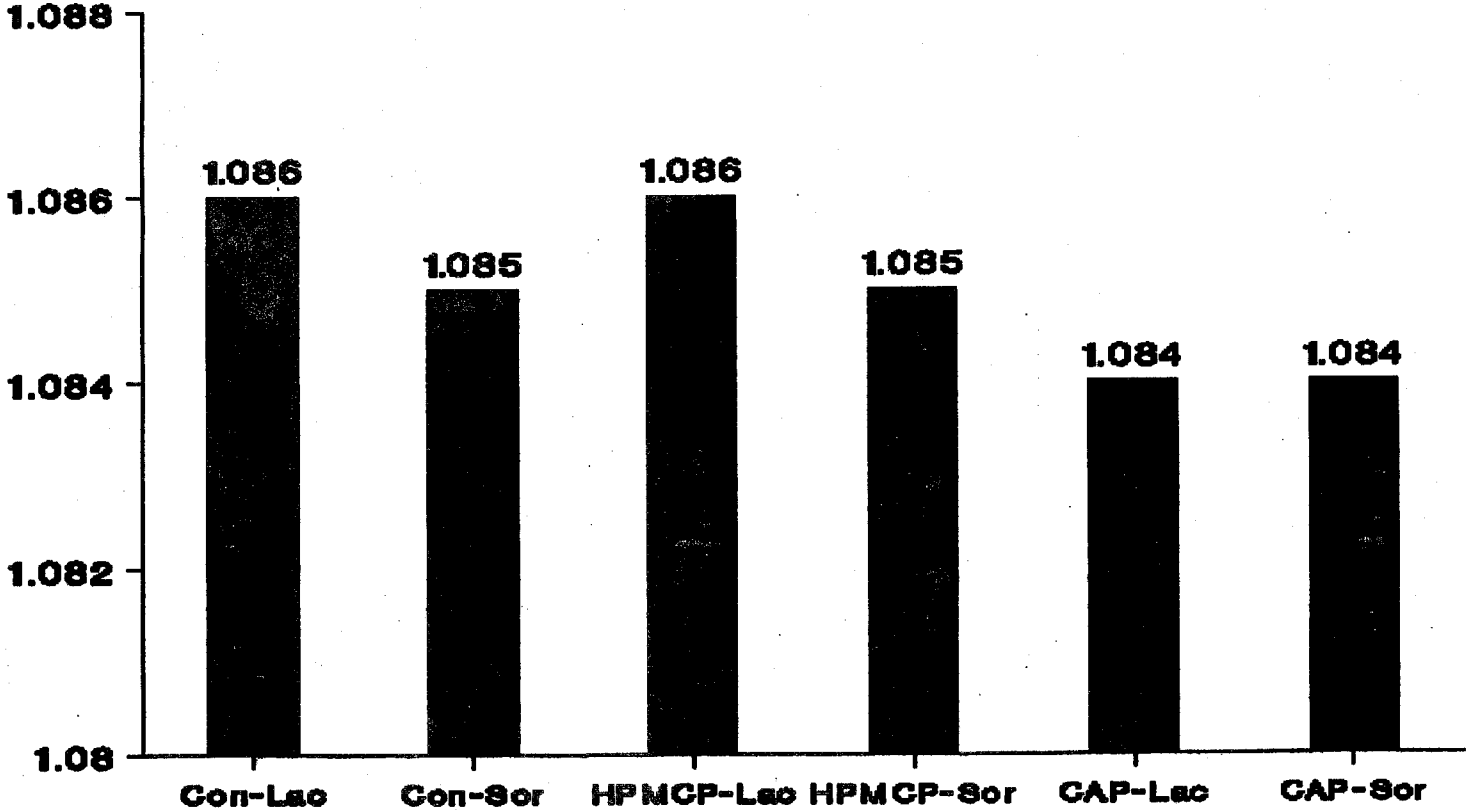
## Shell wt. per unit of Surface Area (SWUSA)

- 102 -

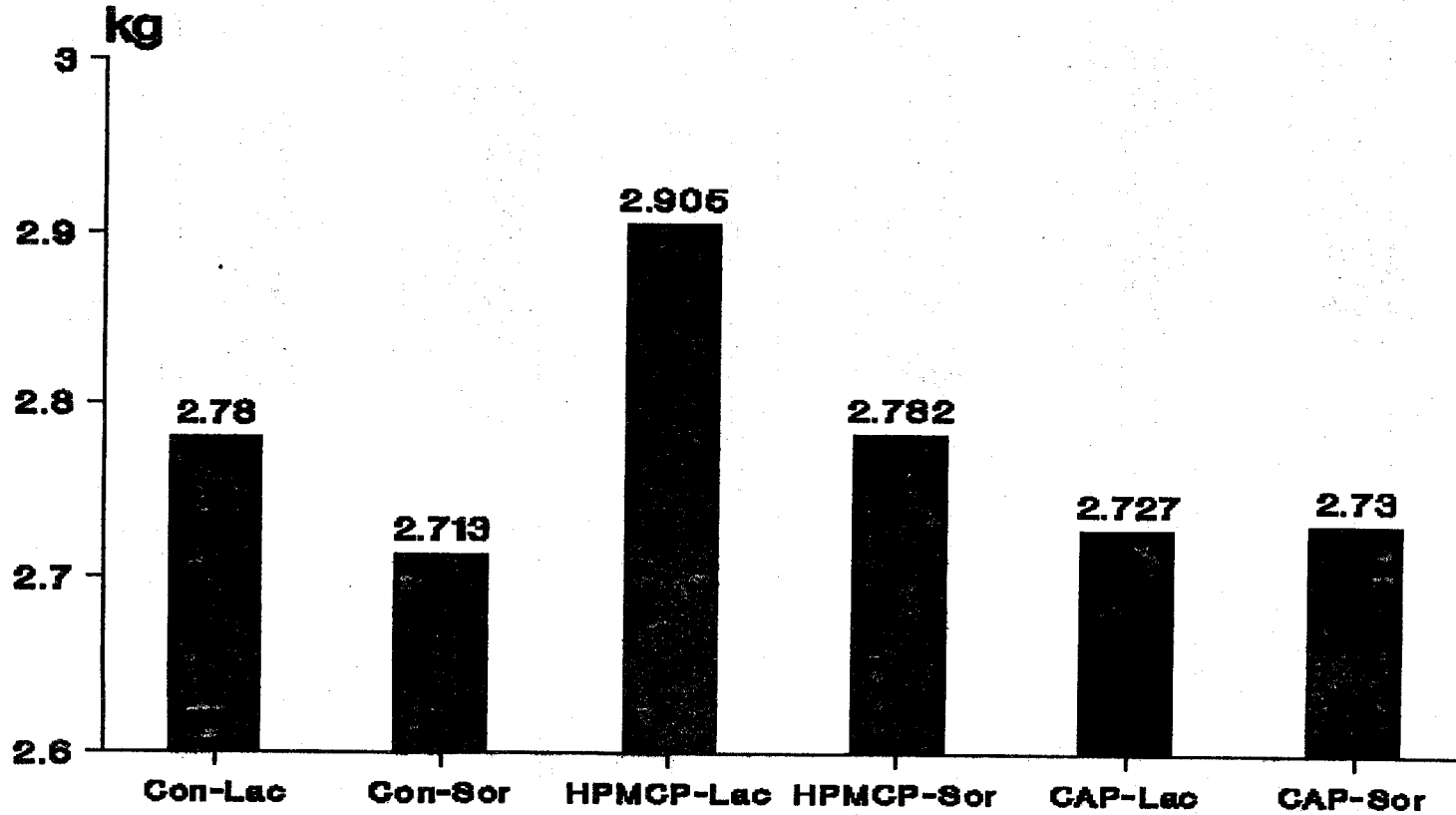


\* mg of shell per square centimeter of surface area

# Specific Gravity

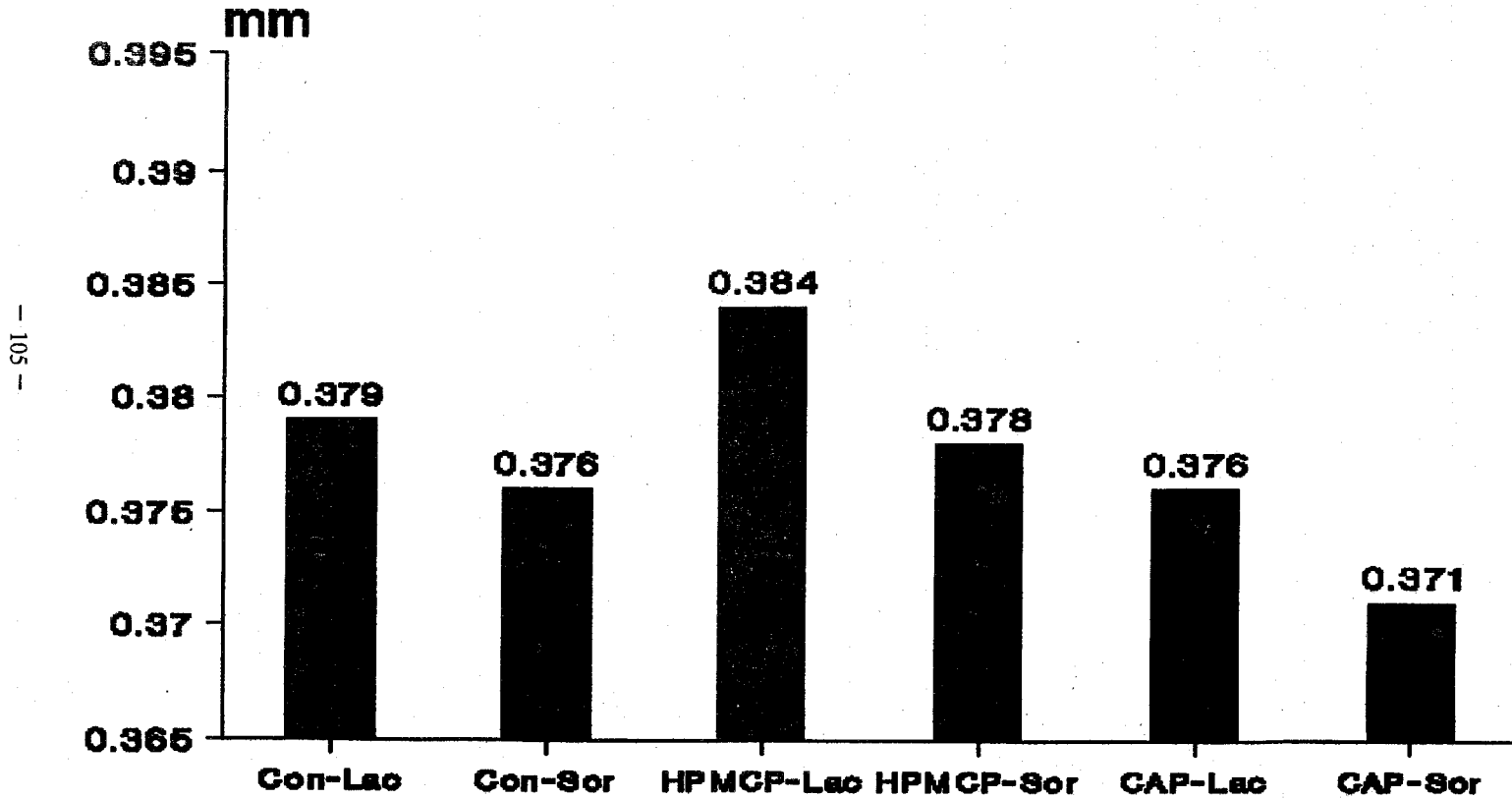


# Breaking Strength



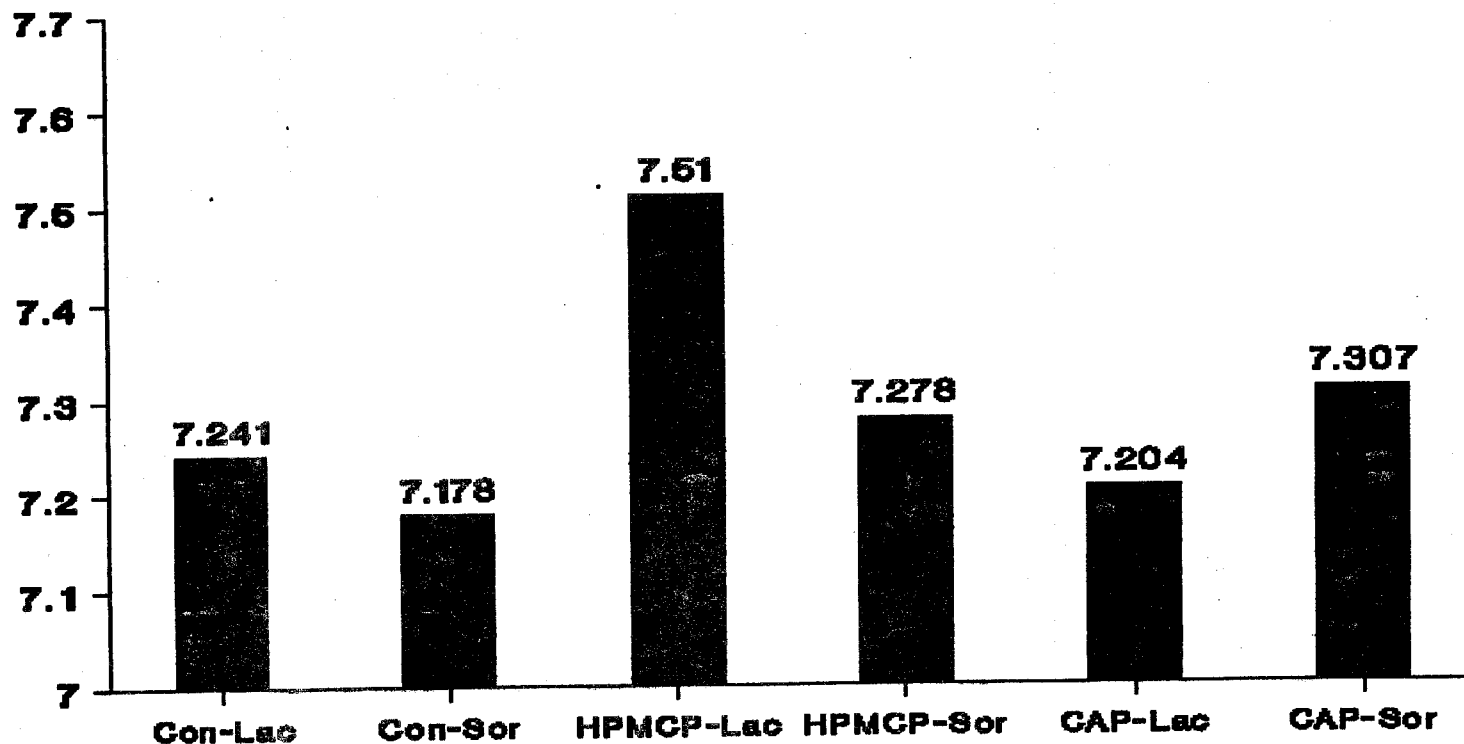


# Shell Thickness

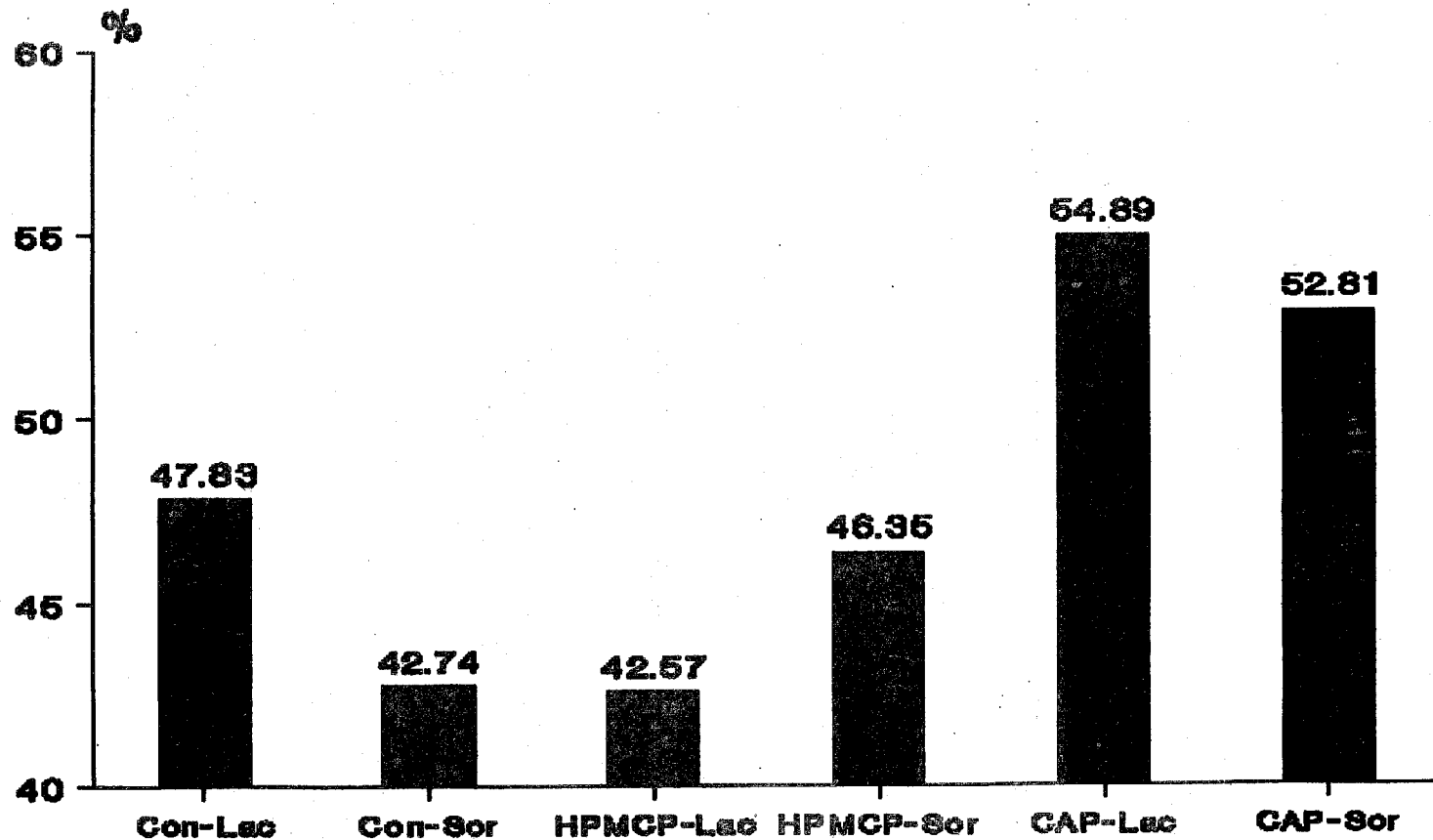


# Specific Strength (Breaking Strength/Shell Thickness)

- 106 -



# Breaking Rate of Egg Shell by Collision



# Appearance Rate of Egg with $\geq 0.395$ mm Shell Thickness

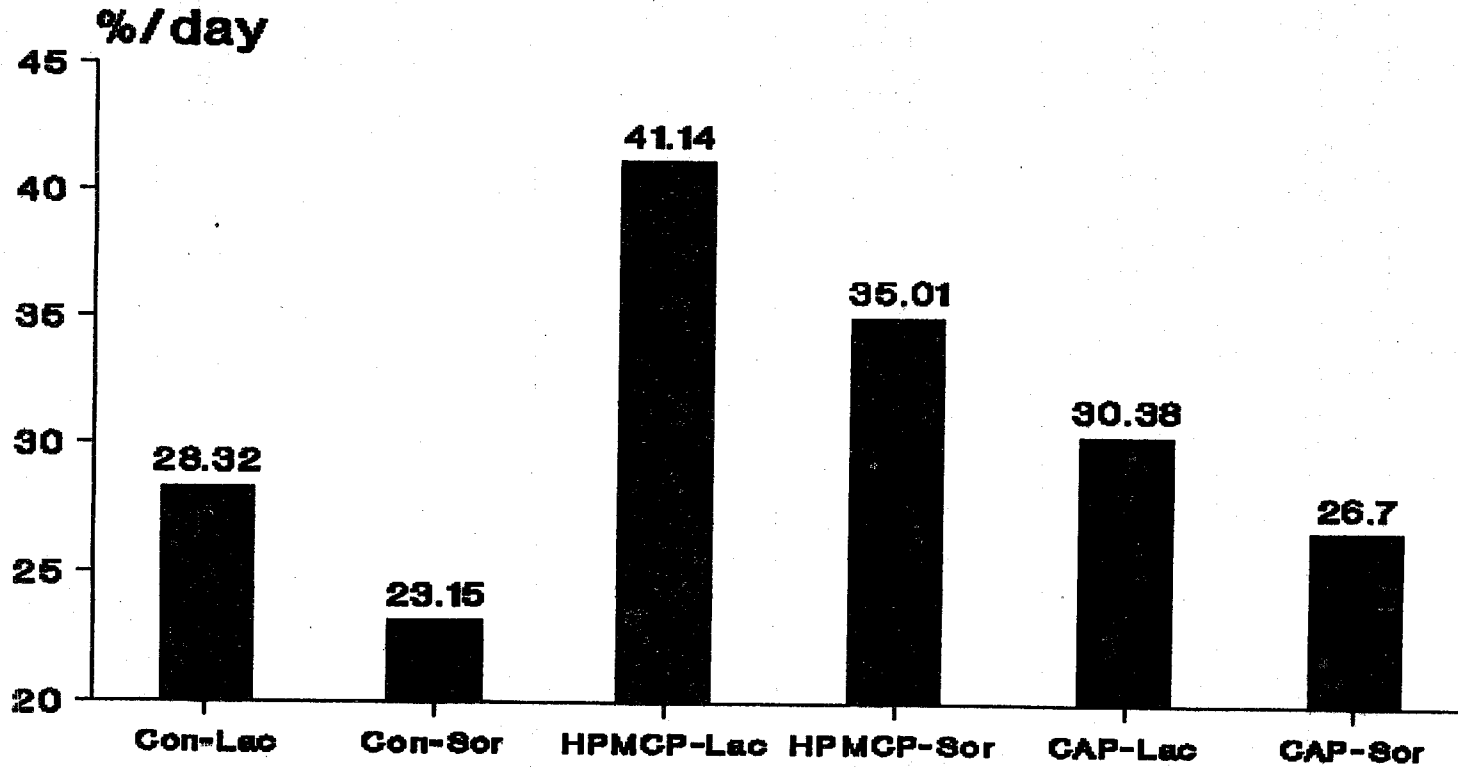


Table 11. Effect of coated- and uncoated- lactose addition into HPMCP coated limestone on egg shell quality

Item	Lactose- HPMCP					SEM
	AA	A	B	E	F	
Egg wt, g	65.30 <sup>B</sup>	64.99 <sup>B</sup>	65.80 <sup>AB</sup>	65.59 <sup>Ab</sup>	66.70 <sup>A</sup>	1.43
shell wt, g	5.73	5.77 <sup>AB</sup>	5.82 <sup>AB</sup>	5.81 <sup>AB</sup>	5.93 <sup>A</sup>	0.19
Shell, %	8.79	8.88	8.89	8.88	8.93	0.25
SWUSA	75.47	76.18	76.48	76.37	77.15	2.14
Gravity	1.085	1.086	1.086	1.087	1.086	0.003
Breaking strength, kg	2.164 <sup>b</sup>	2.843 <sup>a</sup>	2.780 <sup>a</sup>	2.963 <sup>a</sup>	2.846 <sup>a</sup>	0.229
Shell thickness, mm	0.368 <sup>c</sup>	0.377 <sup>b</sup>	0.379 <sup>ab</sup>	0.382 <sup>ab</sup>	0.387 <sup>a</sup>	0.010
Specific strength	5.873 <sup>b</sup>	7.483 <sup>a</sup>	7.241 <sup>a</sup>	7.648 <sup>a</sup>	7.373 <sup>a</sup>	0.500
Breaking score, %	53.50 <sup>a</sup>	52.00 <sup>ab</sup>	47.83 <sup>abc</sup>	44.14 <sup>bc</sup>	41.00 <sup>c</sup>	8.99
$\geq 0.395$ mm thickness, %	22.35 <sup>b</sup>	30.36 <sup>b</sup>	28.32 <sup>b</sup>	41.76 <sup>b</sup>	40.53 <sup>a</sup>	12.81

\* A, B, C :  $P < .05$ , a, b, c :  $P < .01$

\* AA : Commercial feed

A : Control

B : Control - Lactose

E : HPMCP - (무기물 mixture + 석회석 + Lactose)

F : HPMCP - (무기물 mixture + 석회석) + Lactose

## 2) HPMCP구에서 Sorbitol의 Coating 및 Uncoating

Table 12에서 Sorbitol을 Coating 및 Uncoating후 첨가시의 결과를 나타내고 있다. Sorbitol을 HPMCP로 Coating하여 급여시의 결과를 보면 HPMCP의 Lactose coating 급여 결과와 비슷하게 Breaking strength, Specific strength에서 약간의 상승효과를 나타내었다. 기타 다른 측정치에서는 대체로 Sorbitol의 Uncoating시 대체로 좋았으나 그 차이는 크지 않았고 또한 Control-sorbitol 결과와도 비슷한 수준을 나타내었다. 그러나 Control-Sorbitol과 비교시 0.395mm 이상의 난각가진 계란 생산비율에서는 유의하게( $P < .01$ )향상된 결과를 보였다.

## 3) HPMCP구에서 Lactose+Sorbitol의 Coating효과

다음은 Lactose와 Sorbitol을 중량비로 1:1로 Mix한 것을 Coating 및 Uncoating의 효과는 Table 13에 나타내었다. Lactose와 Sorbitol Mixture의 Coating 및 Uncoating 비교시 Coating시는 specific strength에서만 수치상의 높은 수준이었고 역시 Uncoating 처리구에서 더 향상된 결과를 나타내었으나, 이들 결과들을 Control-Lac+Sor 처리의 성적보다 향상되지 못하였다. 따라서 Lactose+Sorbitol의 HPMCP 처리구에서 결과가 가장 불량하였다.

## 4) CAP 처리구에서 Lactose 및 Sorbitol의 Coating 및 Uncoating 효과 비교

Encapsulation 물질로써 CAP처리시 Lactose에 관한 결과는 Table 14에, Sorbitol에 관한 결과는 Table 15에 제시하였다. 여기서는 Lactose 혹은 Sorbitol에 CAP로 coating하여 급여시 더 향상된 경향을 나타내었는데, HPMCP의 경우는 Uncoating된 Lactose 혹은 Sorbitol에서 더 향상된 경향을 보인것과는 상당히 대조적인 경향이였다. 그러나 CAP처리구에서의 결과는 대조구인 Control-Sorbitol(C)혹은 -Lactose(B)처리구보다 더 불량한 결과를 나타내었고 특히 "L" 처리구인 CAP-Uncoated lactose처리구에서는 계란 충돌에 의한 Breaking rate가

64%로써 가장 불량한 결과를 나타내었다.

그리고 실험II에서의 결과들은 그림18에서 종합적으로 나타내었으며, 각 항목에 대한 평가점수를 산정한 결과도 제시하였다. 실험II에서 가장 향상된 처리구로는 HPMCP-(무기물 mixture+석회석+Lactose)구인 “E” 및 HPMCP-(무기물 mixture+석회석)+Lactose 구인 “F”(Table 9, 10, 11 참조) 처리로 평가되었다. 또한 본 연구에서 난각질을 평가하기 위하여 여러가지 항목들을 측정하여 비교평가를 실시하였으나 정확한 비교평가를 판정하는데는 여전히 많은 제한요소가 있다고 보여진다. 따라서 본 실험의 측정항목중 계란 층들에 의한 파손율의 측정 배경은 실제로 계란 생산 및 취급시에 나타나는 문제이므로 상당한 의미가 있다고도 볼 수 있다. 따라서 “F”처리구에서의 계란 파손율이 41%로 가장 낮았으므로 Lactose는 Coating하지 않고 첨가 하는 것이 가공 공정을 감안하더라도 더 합리적이라고 사료된다.

Table 12. Effect of coated- and uncoated-sorbitol addition into HPMCP coated limestone treatment on egg shell quality

Item	Sorbitol-HPMCP					SEM
	AA	A	C	G	H	
Egg wt, g	65.30 <sup>c</sup>	64.99 <sup>c</sup>	65.50 <sup>b</sup>	67.70 <sup>a</sup>	55.36 <sup>b</sup>	1.25
Shell wt, g	5.73 <sup>B</sup>	5.77 <sup>AB</sup>	5.81 <sup>AB</sup>	5.85 <sup>AB</sup>	5.89 <sup>A</sup>	0.16
Shell, %	8.79 <sup>ab</sup>	8.88 <sup>a</sup>	8.77 <sup>ab</sup>	8.66 <sup>b</sup>	8.89 <sup>a</sup>	0.21
SWUSA	75.47	76.18	75.71	75.16	76.74	1.80
Gravity	1.085	1.086	1.085	1.084	1.087	0.003
Breaking strength, kg	2.164 <sup>b</sup>	2.843 <sup>a</sup>	2.713 <sup>a</sup>	2.792 <sup>a</sup>	2.771 <sup>a</sup>	0.223
Shell thickness, mm	0.368 <sup>b</sup>	0.377 <sup>a</sup>	0.376 <sup>a</sup>	0.377 <sup>a</sup>	0.379 <sup>a</sup>	0.009
Specific strength	5.873 <sup>b</sup>	7.483 <sup>a</sup>	7.178 <sup>a</sup>	7.337 <sup>a</sup>	7.219 <sup>a</sup>	0.519
Breaking score, %	53.50 <sup>A</sup>	52.00 <sup>AB</sup>	42.74 <sup>B</sup>	47.28 <sup>AB</sup>	45.43 <sup>AB</sup>	9.79
≥ 0.395mm thickness, %	22.35 <sup>b</sup>	30.36 <sup>ab</sup>	23.15 <sup>b</sup>	32.97 <sup>a</sup>	37.06 <sup>a</sup>	10.97

\* A, B : P<.05, a, b, c : P<.01

\* AA : Commercial feed

A ; Control

C ; Control-Sorbitol

G ; HPMCP-(무기물 mixture+석회석+Sorbitol)

H ; HPMCP-(무기물 mixture+석회석)+Sorbitol



Table 13. Effect of coated and uncoated lactose plus sorbitol mixture addition into HPMCP coated limestone on egg shell quality

Item	Lactose + Sorbitol - HPMCP					SEM
	AA	A	D	I	J	
Egg wt, g	65.30 <sup>cd</sup>	64.99 <sup>d</sup>	68.15 <sup>a</sup>	66.05 <sup>bc</sup>	66.23 <sup>b</sup>	1.10
Shell wt, g	5.73 <sup>b</sup>	5.77 <sup>b</sup>	5.92 <sup>a</sup>	5.65 <sup>b</sup>	5.71 <sup>b</sup>	0.16
Shell, %	8.79 <sup>ab</sup>	8.88 <sup>a</sup>	8.69 <sup>bc</sup>	8.55 <sup>c</sup>	8.63 <sup>bc</sup>	0.20
SWUSA	75.47 <sup>ab</sup>	76.18 <sup>a</sup>	75.64 <sup>ab</sup>	73.33 <sup>c</sup>	74.43 <sup>bc</sup>	1.79
Gravity	1.085	1.086	1.085	1.083	1.084	0.004
Breaking strength, kg	2.164 <sup>c</sup>	2.843 <sup>a</sup>	2.764 <sup>ab</sup>	2.676 <sup>b</sup>	2.691 <sup>b</sup>	0.168
Shell thickness, mm	0.368 <sup>b</sup>	0.377 <sup>a</sup>	0.379 <sup>a</sup>	0.368 <sup>a</sup>	0.374 <sup>ab</sup>	0.008
Specific strength	5.873 <sup>b</sup>	7.483 <sup>a</sup>	7.217 <sup>a</sup>	7.237 <sup>a</sup>	7.168 <sup>a</sup>	0.389
Breaking score, %	53.50	52.00	51.75	51.92	47.03	8.63
≥ 0.395mm thickness, %	22.35	30.36	29.68	20.81	24.68	11.78

\* a, b, c, d : P < .01

\* AA ; Commercial feed

A ; Control

D ; Control - Lactose + Sorbitol

I ; HPMCP - (무기물 mixture + 석회석 + Lactose + Sorbitol)

J ; HPMCP - (무기물 mixture + 석회석) + Lactose + Sorbitol

Table 14. Effect of coated- and uncoated lactose addition into CAP coated limestone on egg shell quality

Item	Lactose-CAP					SEM
	AA	A	B	E	F	
Egg wt, g	65.30 <sup>b</sup>	64.99 <sup>b</sup>	65.80 <sup>b</sup>	65.95 <sup>ab</sup>	66.97 <sup>a</sup>	1.37
Shell wt, g	5.73	5.77	5.82	5.78	5.80	0.18
Shell, %	8.79	8.88	8.89	8.79	8.68	0.23
SWUSA	75.47	76.18	76.48	75.70	75.14	2.01
Gravity	1.085	1.086	1.086	1.085	1.084	0.004
Breaking strength, kg	2.164 <sup>c</sup>	2.843 <sup>a</sup>	2.780 <sup>a</sup>	2.834 <sup>a</sup>	2.621 <sup>b</sup>	0.193
Shell thickness, mm	0.368 <sup>b</sup>	0.377 <sup>A</sup>	0.379 <sup>A</sup>	0.377 <sup>A</sup>	0.375 <sup>AB</sup>	0.010
Specific strength	5.873 <sup>c</sup>	7.483 <sup>a</sup>	7.241 <sup>ab</sup>	7.429 <sup>a</sup>	6.980 <sup>b</sup>	0.419
Breaking score, %	53.50 <sup>b</sup>	52.00 <sup>b</sup>	47.83 <sup>b</sup>	45.78 <sup>b</sup>	64.00 <sup>a</sup>	9.98
$\geq 0.395$ mm thickness, %	22.35	30.36	28.32	27.90	32.86	11.72

\* A, B :  $P < .05$ , a, b :  $P < .01$

\* AA ; Commercial feed

A ; Control

B ; Control-Lactose

K ; CAP-(무기물 mixture+석회석+Lactose)

L ; CAP-(무기물 mixture+석회석)+Lactose

Table 15. Effect of coated- and uncoated sorbitol addition into CAP coated limestone treatment on egg shell quality

Item	Sorbitol-CAP					SEM
	AA	A	C	M	N	
Egg wt, g	65.30 <sup>bc</sup>	64.99 <sup>c</sup>	66.50 <sup>b</sup>	68.50 <sup>a</sup>	65.72 <sup>bc</sup>	1.49
Shell wt, g	5.73 <sup>bc</sup>	5.77 <sup>ab</sup>	5.81 <sup>ab</sup>	5.88 <sup>a</sup>	5.60 <sup>c</sup>	0.17
Shell, %	8.79 <sup>ab</sup>	8.88 <sup>a</sup>	8.77 <sup>ab</sup>	8.64 <sup>bc</sup>	8.57 <sup>c</sup>	0.21
SWUSA	75.47 <sup>a</sup>	76.18 <sup>a</sup>	75.71 <sup>a</sup>	75.18 <sup>a</sup>	73.68 <sup>b</sup>	1.78
Gravity	1.085	1.086	1.085	1.084	1.084	0.003
Breaking strength, kg	2.164 <sup>b</sup>	2.843 <sup>a</sup>	2.713 <sup>a</sup>	2.699 <sup>a</sup>	2.762 <sup>a</sup>	0.186
Shell thickness, mm	0.368 <sup>B</sup>	0.377 <sup>A</sup>	0.376 <sup>A</sup>	0.374 <sup>A</sup>	0.367 <sup>B</sup>	0.009
Specific strength	5.873 <sup>b</sup>	7.483 <sup>a</sup>	7.178 <sup>a</sup>	7.205 <sup>a</sup>	7.408 <sup>a</sup>	0.410
Breaking score, %	53.50 <sup>A</sup>	52.00 <sup>A</sup>	42.74 <sup>B</sup>	53.61 <sup>A</sup>	52.00 <sup>A</sup>	9.10
≥ 0.395mm thickness, %	22.35	30.36	23.15	30.39	23.00	10.84

\* A, B : P<.05, a, b : P<.01

\* AA ; Commercial feed

A ; Control

C ; Control-Sorbitol

M ; CAP-(무기물 mixture+석회석+Sorbitol)

N ; CAP-(무기물 mixture+석회석)+Sorbitol

Fig. 18. The combined figure for result comparison in experiment II

1. A. Scoring by item rating : from "egg weight" to "candling score"
2. B. Scoring by item rating : from "shell %" to "Breaking rate by egg collision"
3. Egg weight
4. Shell weight
5. shell %
6. Shell weight, per unit of surface area(SWUSA)
7. Specific gravity
8. Shell thickness
9. Breaking strength
10. Specific strength(Breaking strength/shell thickness)
11. Appearance rate of egg with  $\geq 0.395\text{mm}$  shell thickness
12. Breaking rate of egg shell by collision
13. Candling score

\* AA ; Commercial feed-control

A ; Control

B ; Control-Lactose

C ; Control-Sorbitol

D ; Control-Lactose+Sorbitol

E ; HPMCP-(무기물 Mixture+석회석+Lactose)

F ; HPMCP-(무기물 Mixture+석회석)+Lactose

G ; HPMCP-(무기물 Mixture+석회석+Sorbitol)

H ; HPMCP-(무기물 Mixture+석회석)+Sorbitol

I ; HPMCP-(무기물 Mixture+석회석+Lactose+Sorbitol)

J ; HPMCP-(무기물 Mixture+석회석)+Lactose+Sorbitol

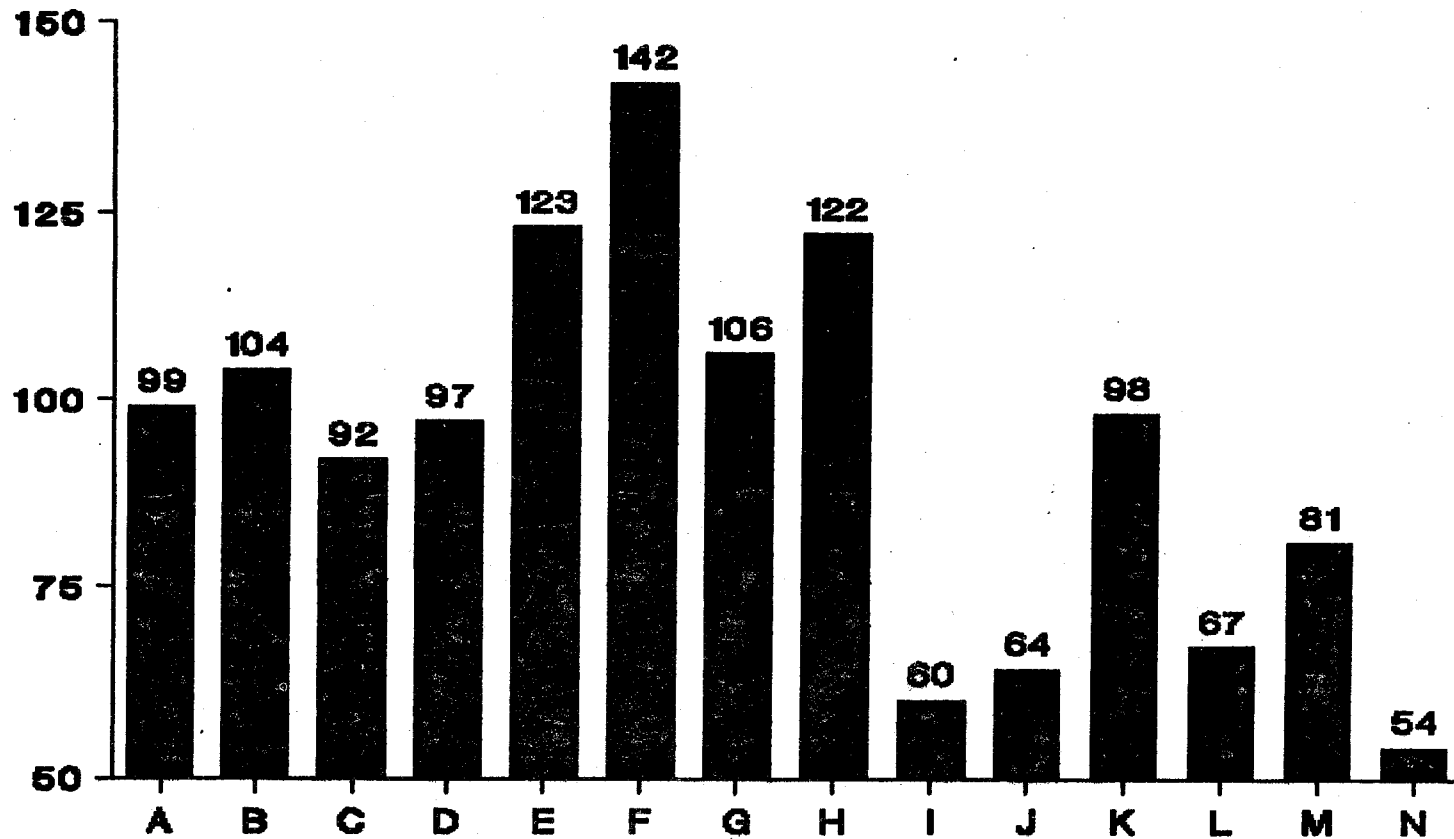
K ; CAP-(무기물 Mixture+석회석+Lactose)

L ; CAP-(무기물 Mixture+석회석)+Lactose

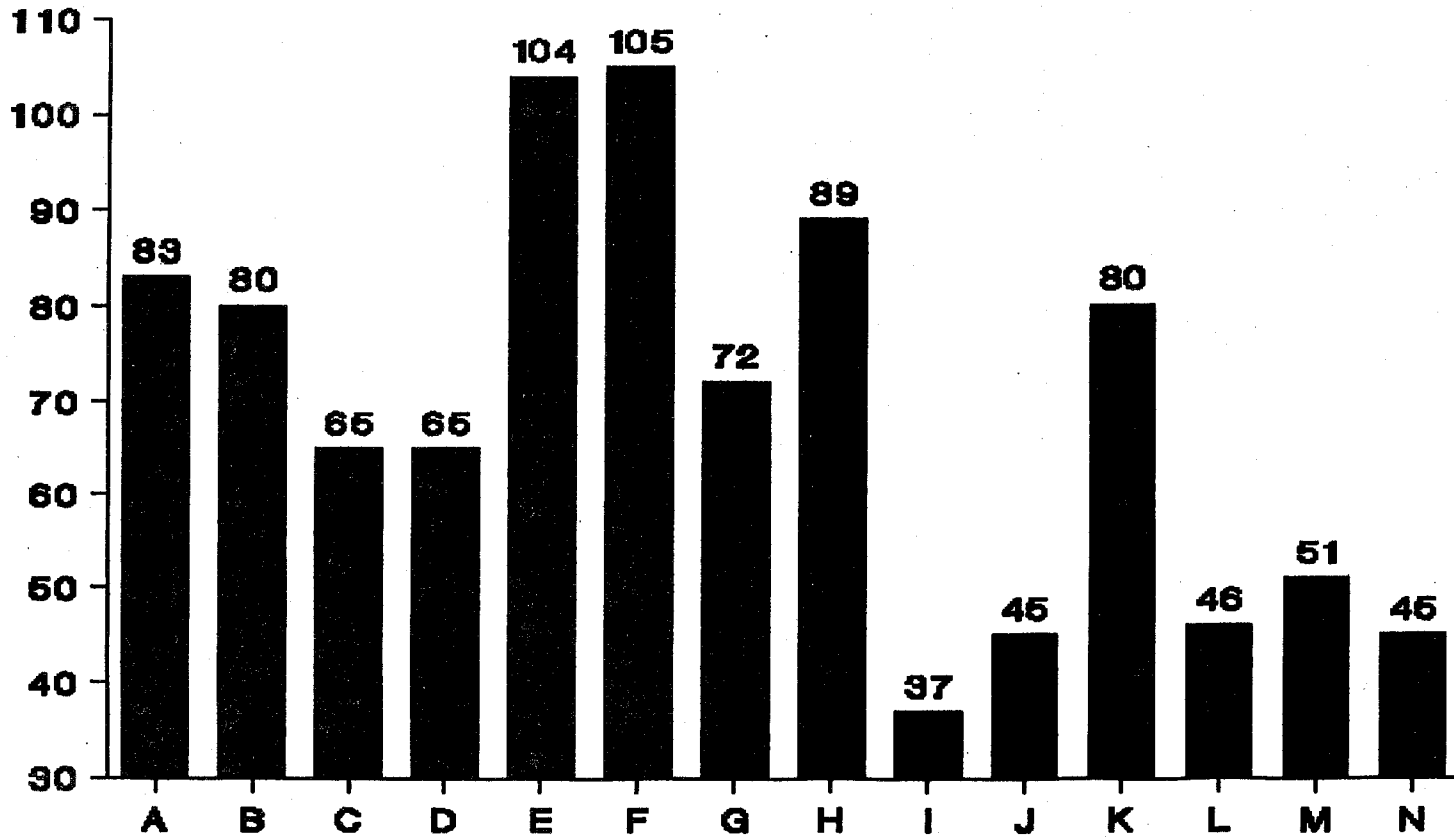
M ; CAP-(무기물 Mixture+석회석+Sorbitol)

N ; CAP-(무기물 Mixture+석회석)+Sorbitol

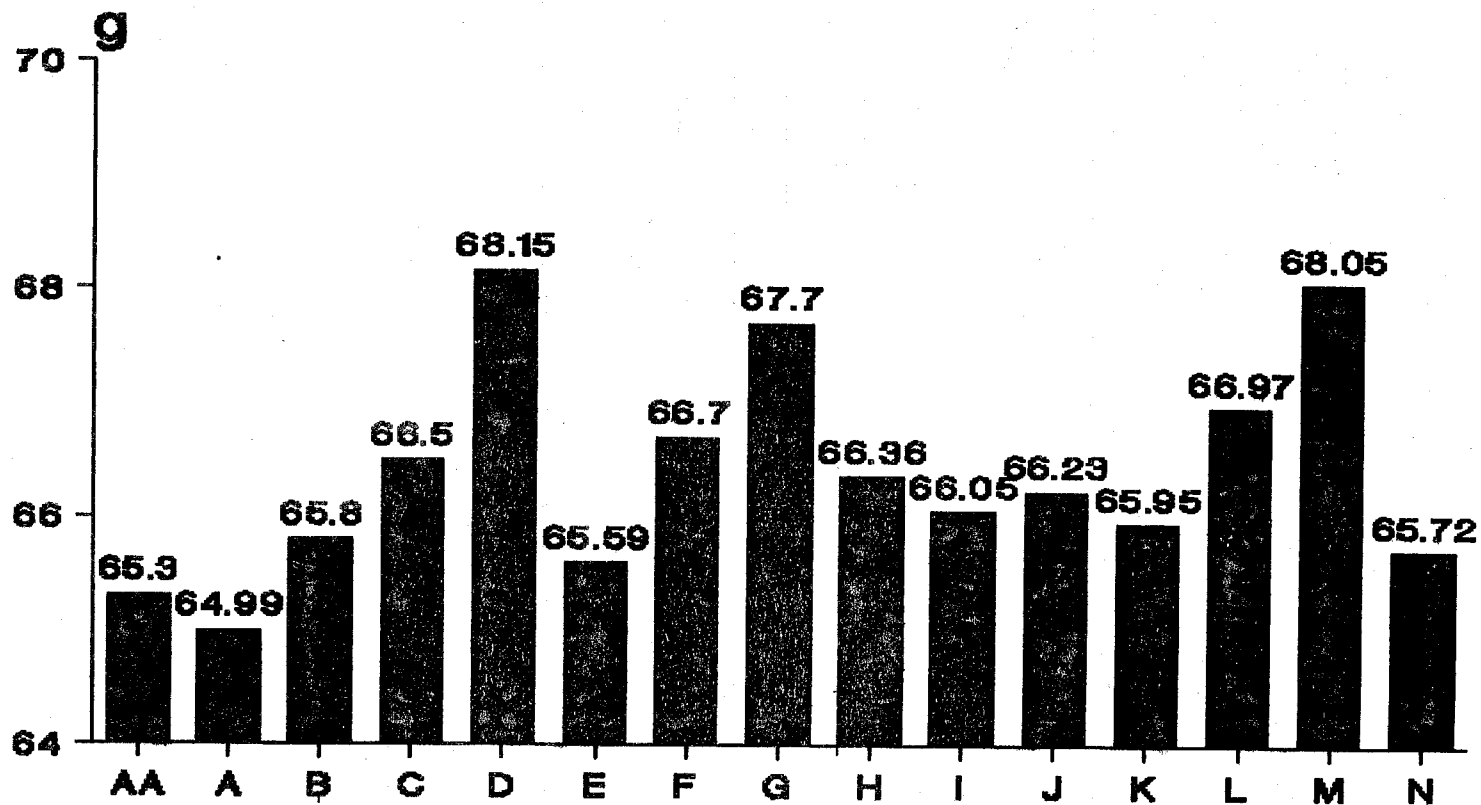
## A. Scoring by Item Rating



## B. Scoring by Item Rating

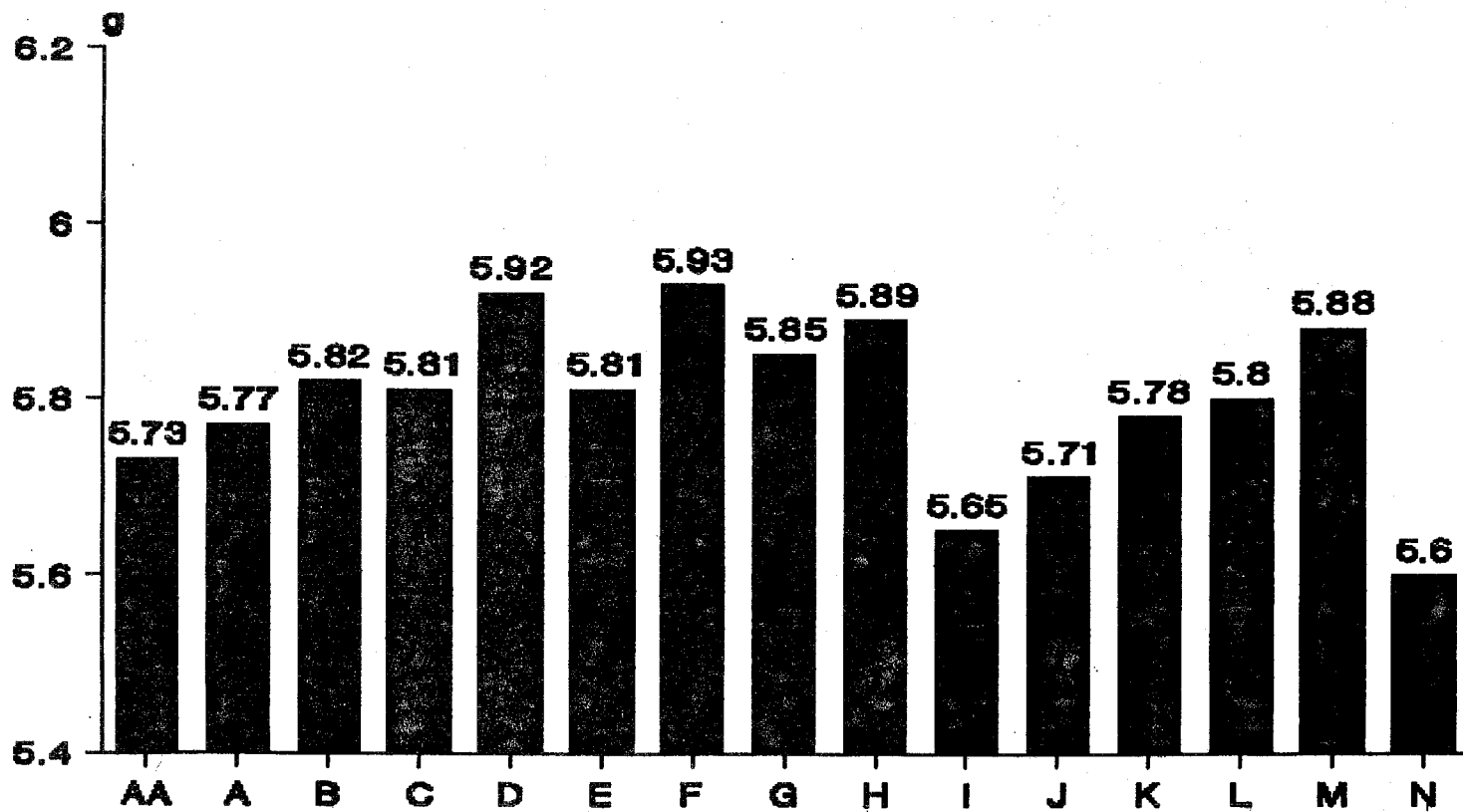


# Egg Weight, g

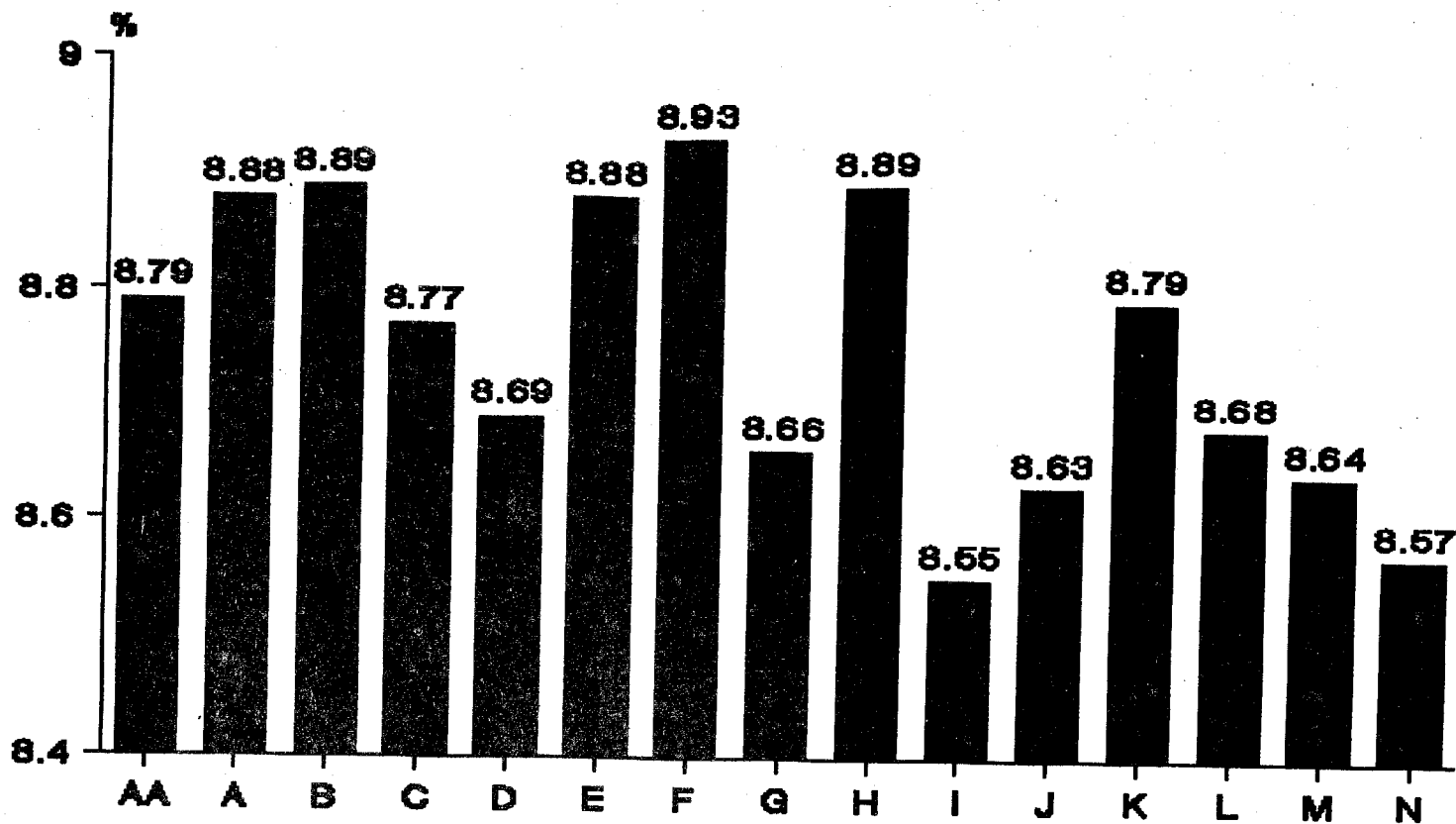




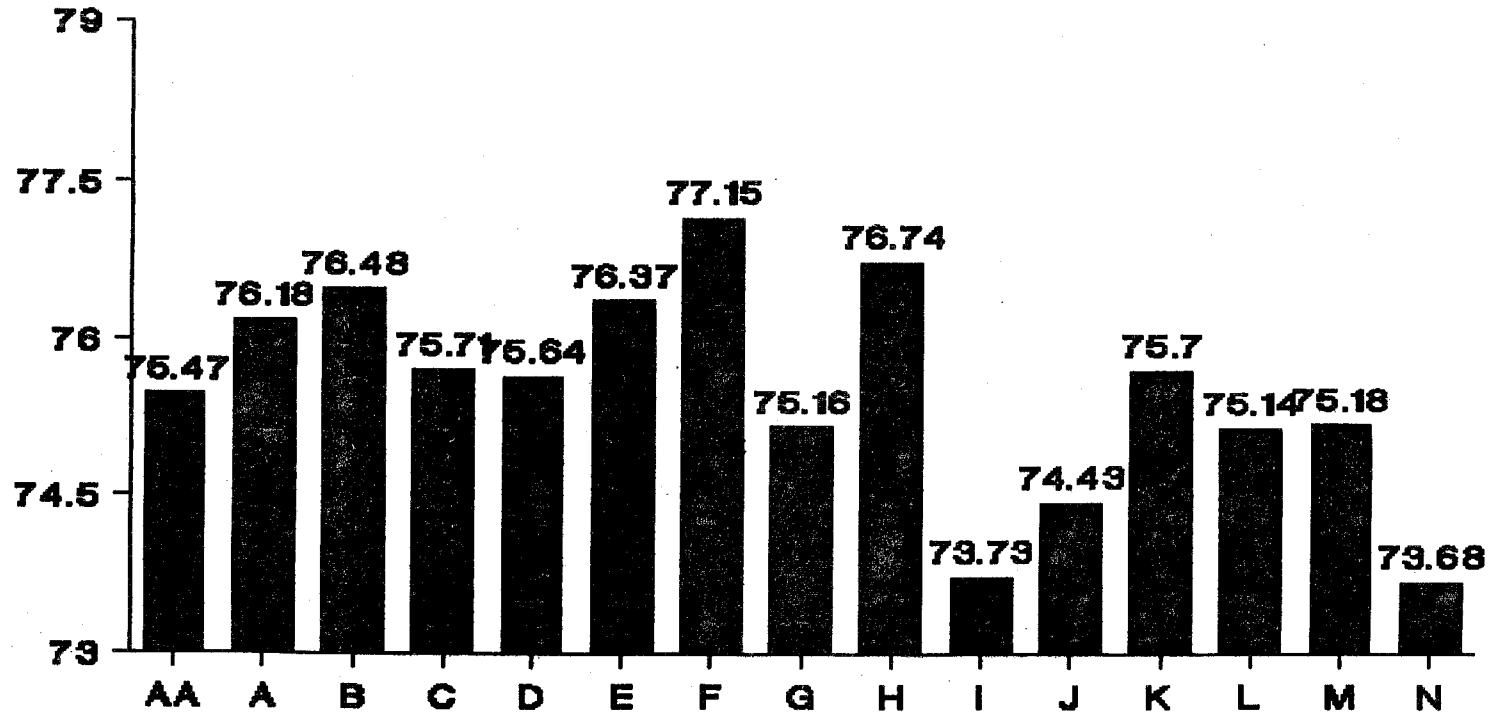
# Shell Weight,g



# Shell, %

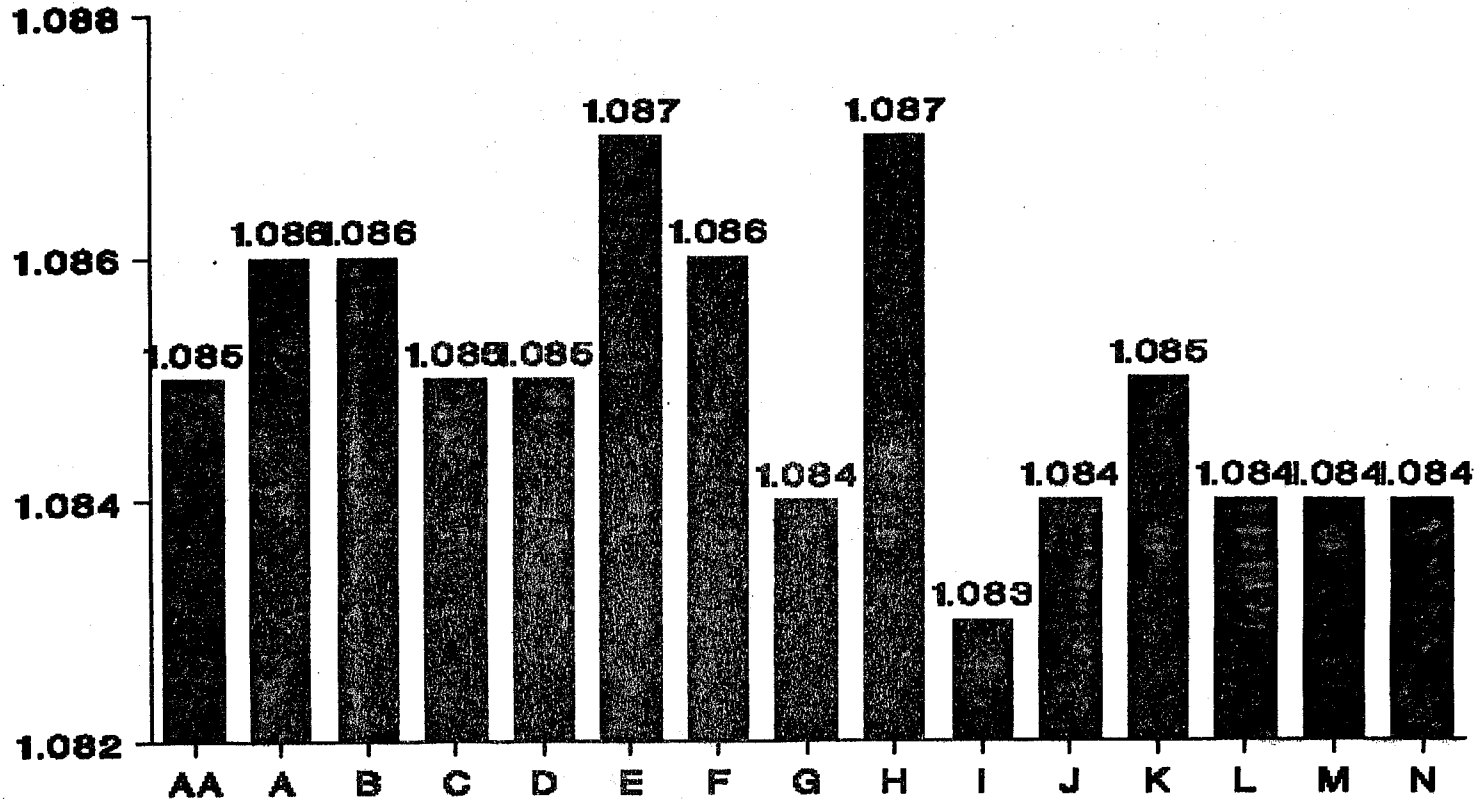


# Shell wt. per unit of Surface Area (SWUSA)

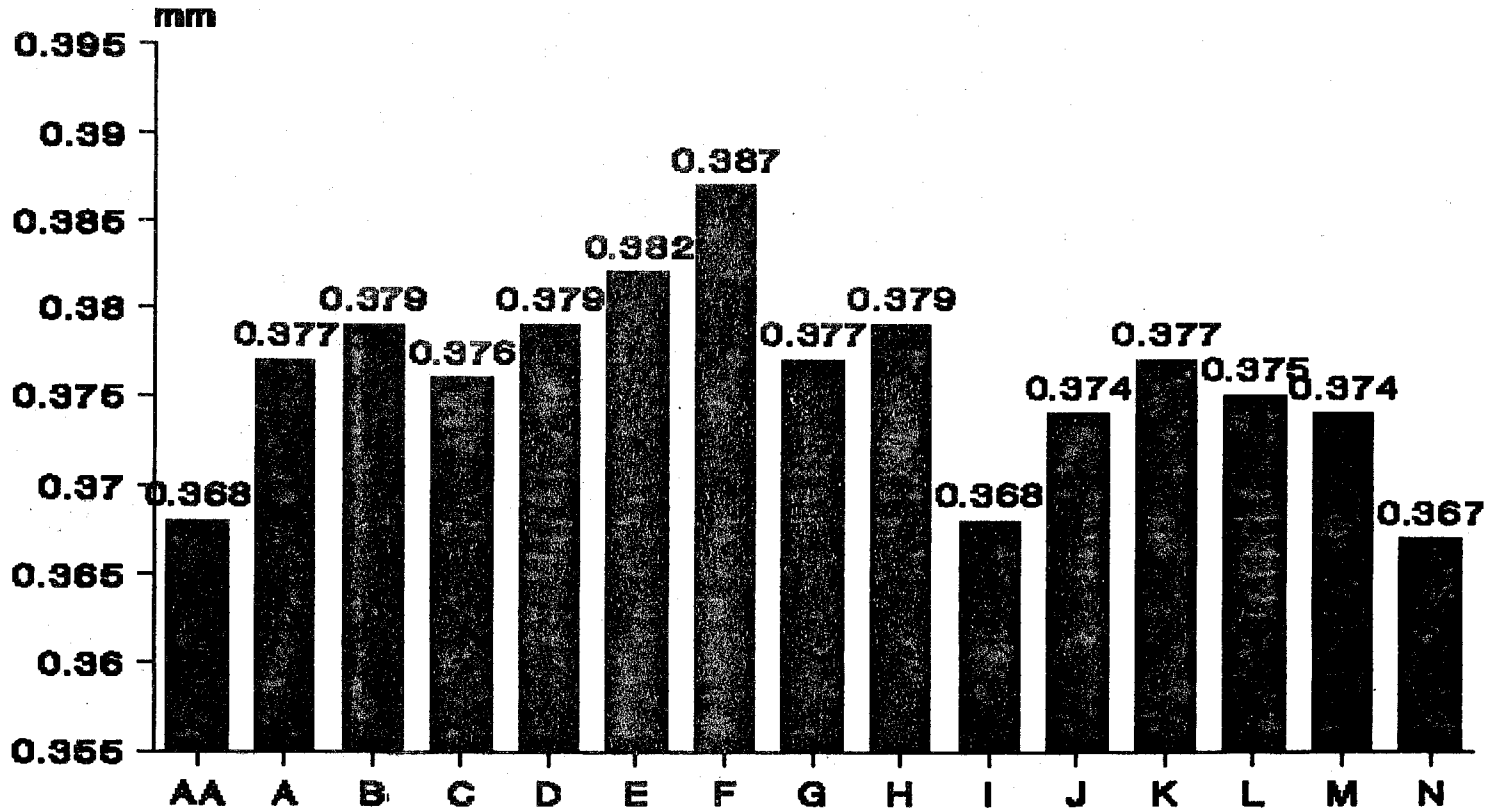


\* mg of shell per square centimeter of surface area

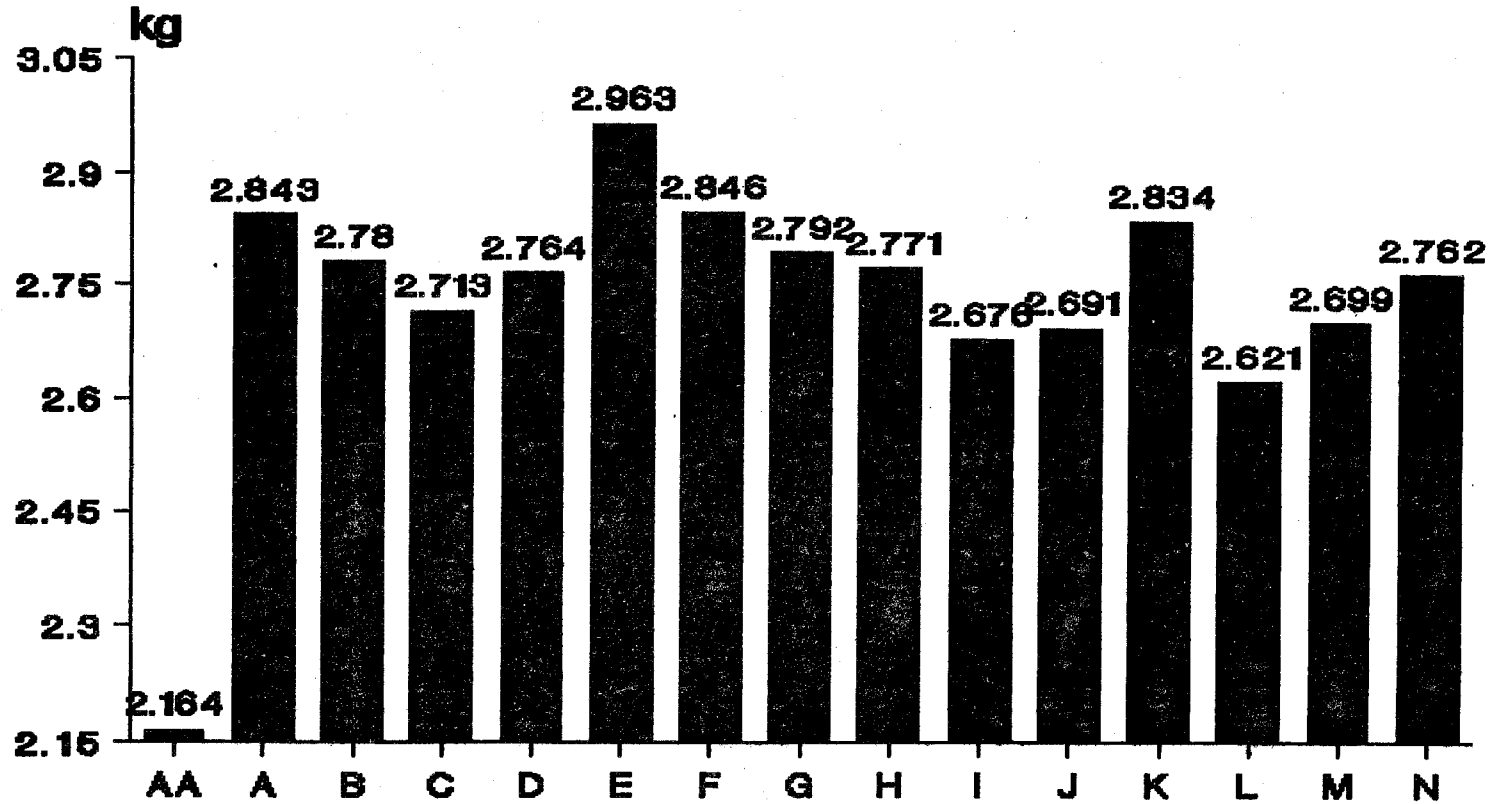
# Specific Gravity



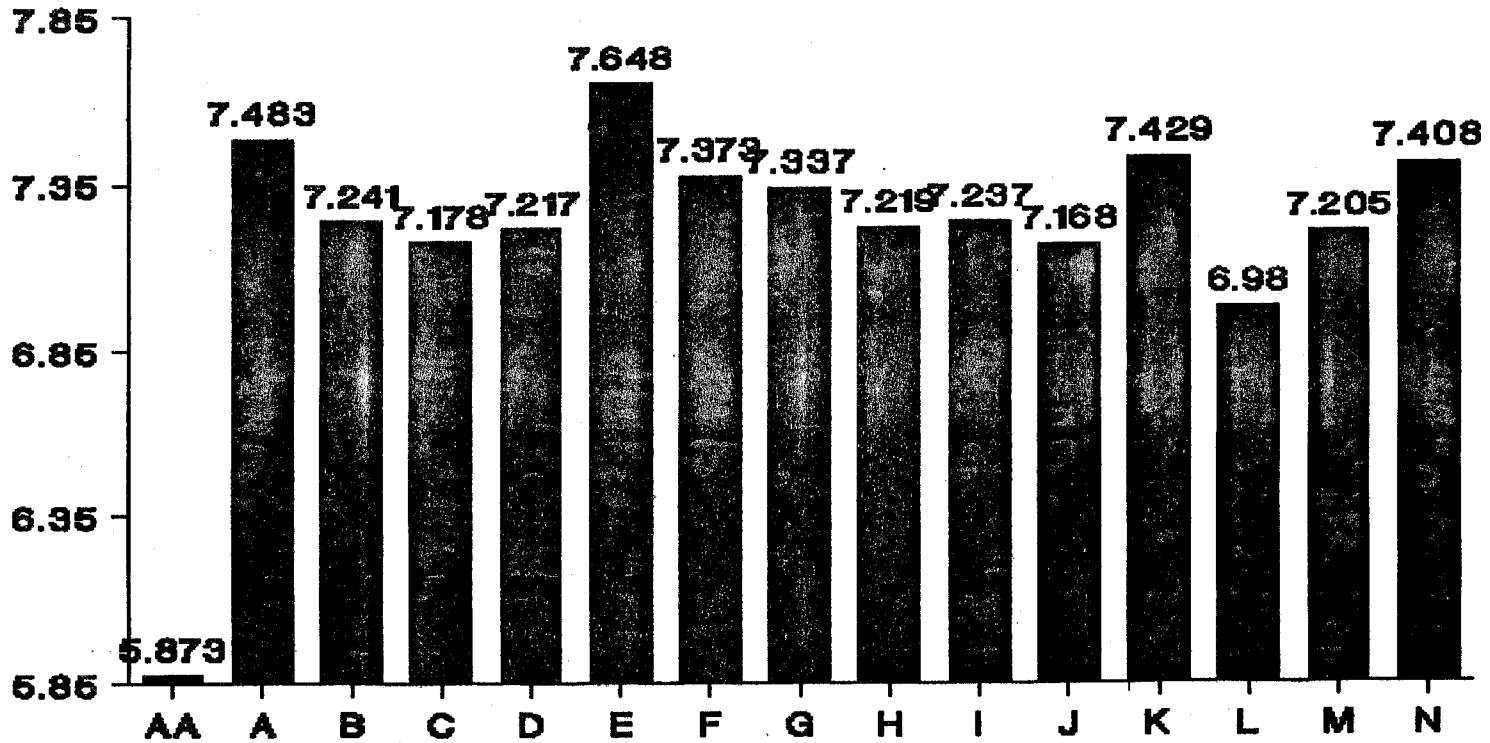
# Shell Thickness, mm



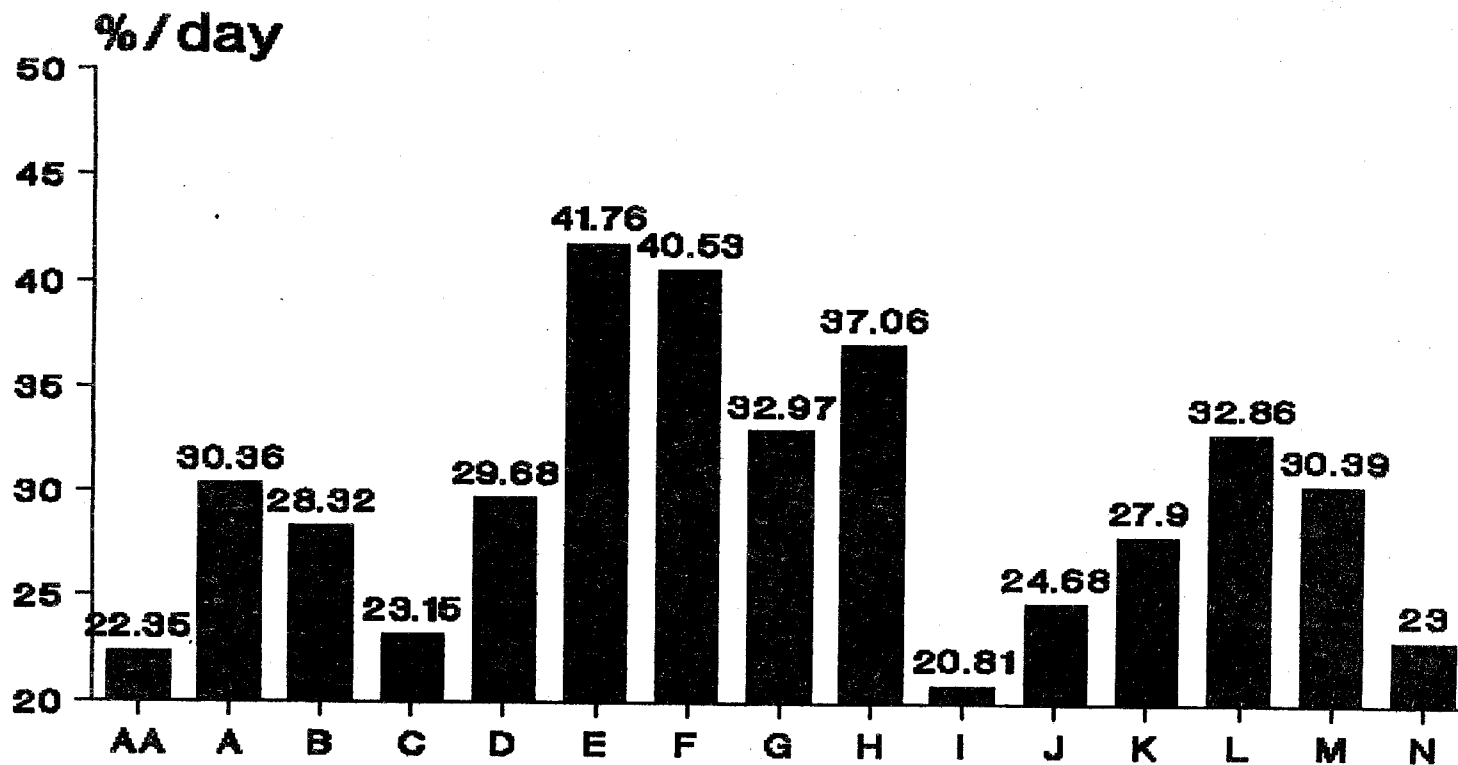
# Breaking Strength, kg



# Specific Strength (Breaking Strength/Shell Thickness)

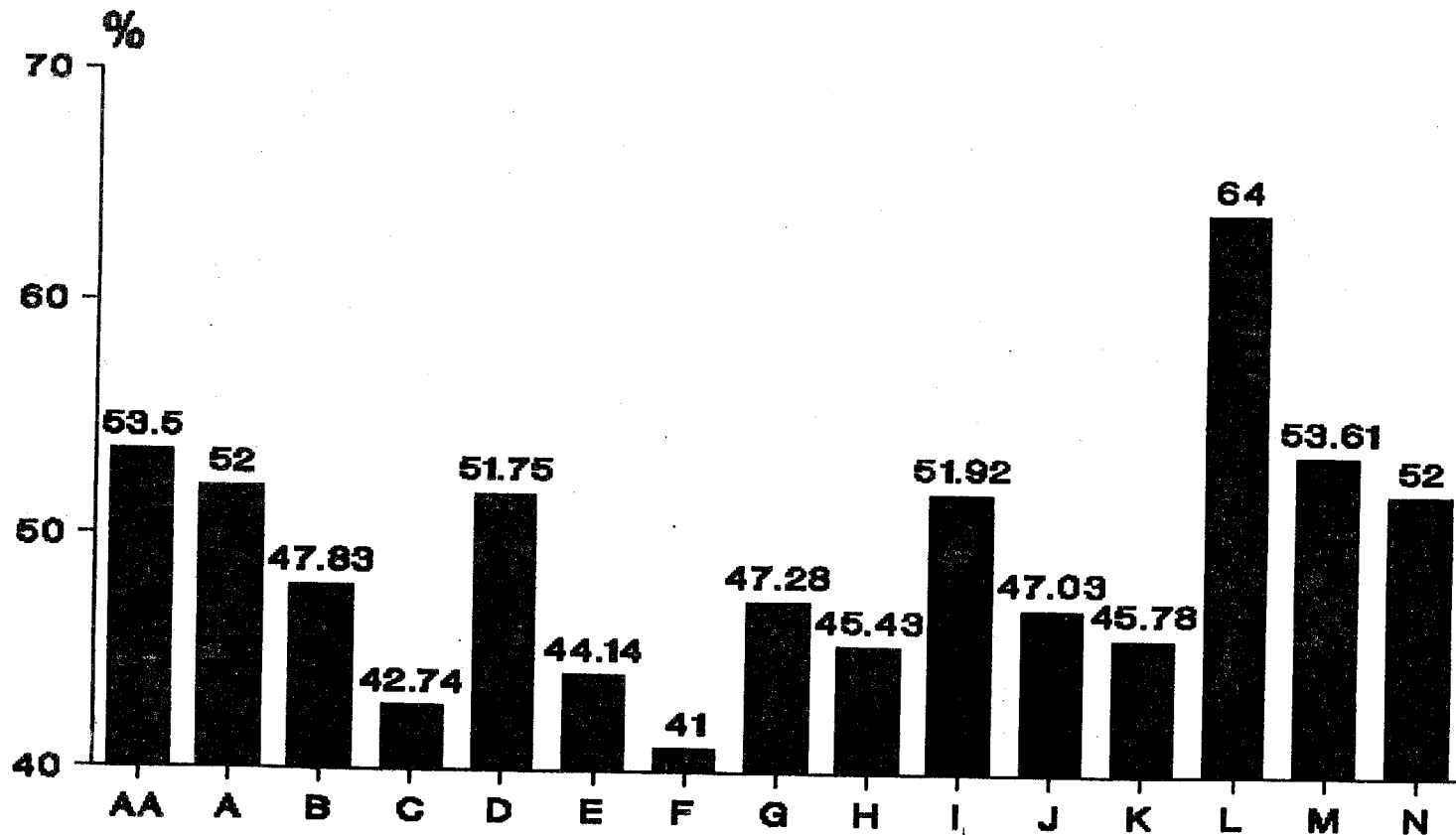


# Appearance Rate of Egg with $\geq 0.395\text{mm}$ Shell Thickness

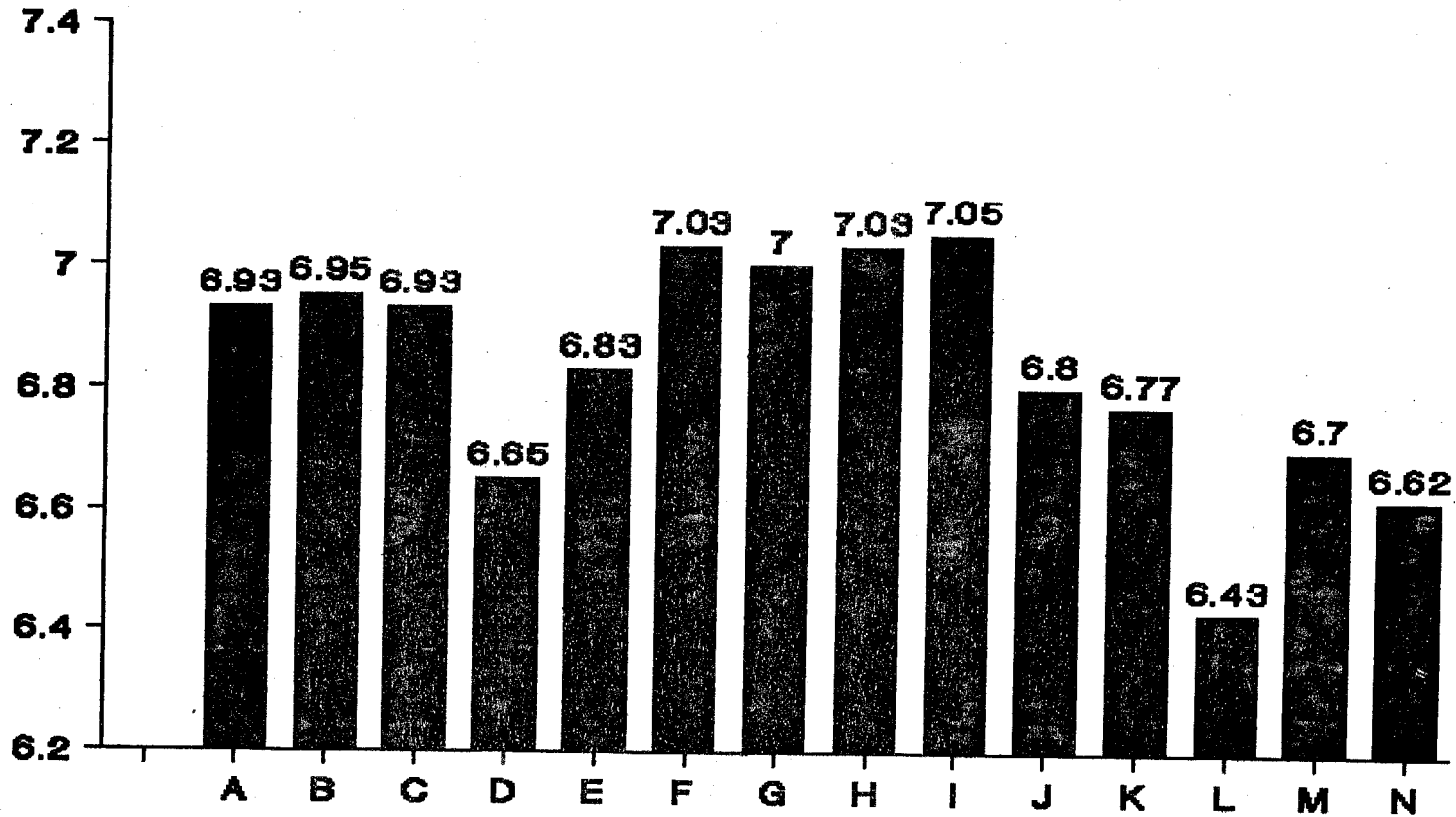




# Breaking Rate of Egg Shell by Collision



# Candling Score



## 제 5 장 Encapsulated Limestone 급여시 혈액성상의 변화

### 제 1 절 서 론

칼슘 흡수 촉진제의 사용효과 실험에서는 일차실험의 결과를 고려하여 예비실험 개시시 82주령의 산란계를 이용하는 것으로 하였고, Encapsulation 물질로는 HPMCP와 CAP를 선정하였다. 칼슘의 흡수 촉진제로는 Lactose, Sorbital, 비타민 D<sub>3</sub> 및 C를 이용하였고, Lactose 및 Sorbitol은 실용화시의 가격상승 문제 및 Fluid Bed coater(Uni Glatt model) 사용시 one batch의 작업량등을 고려하여 최소량 사용 및 급여 형태에 수반된 효과를 얻고자 시도하였다. Lactose의 경우 Brommage등(1993)에 의하면 5~10% 혹은 그 이상을 사용시 칼슘 흡수촉진 효과가 크다고 하였으며, Sorbitol은 장내 분해시 섭취량의 70%가 CO<sub>2</sub>로 전환하므로 호흡에 의한 CO<sub>2</sub>의 손실을 보전하여 체내 산-염기 균형을 보전하고자 하였다. 그의 난각질에 영향을 미칠 수 있는 무기물로서 Mg, Mn, Cu, Zn도 보강하였다.

### 제 2 절 실험재료 및 방법

#### 1. 석회석 및 Encapsulation Materials

실험에 사용한 석회석은 청주석회에서 구입한 10목, 20목의 석회석을 중량비로 각각 70 : 30으로 혼합한 다음 10, 12, 14, 18, 25, 45, 100 및 200 mesh로 조합한

sieve에서 친 후 12~14 mesh, 18~25 mesh, 45~100 mesh 및 200 mesh 이하의 석회석을 각각 coating 하였다. Sieving 했을때 각각의 mesh별 distribution ratio는 1.56, 5.16, 11.52, 23.82, 22.53, 18.54, 7.86, 3.10 및 5.99(밀받침)%로 측정되었다. Mesh별로 사용한 피복물질은 HPMCP 및 CAP를 사용하였다.

## 2. 실험동물 및 사양관리

실험동물로는 예비실험 개시 82주령의 Dekalb Brown 산란계를 각 처리당 35수씩 임의로 배치하였고, 사료급여는 오전 06:30, 오전 09:30 및 오후 2:00에 실시하였다. 실험기간은 예비사양이 9월 26일 부터 10월 12일까지, 10월 13일부터 11월 17일까지 사양후 도살하여 혈액을 채취하였다.

공시된 산란계의 평균 산란시점을 오전 11시~12로 정한 후 오전 11시로 0hr로 하여 총경동맥(common carotid aorta)을 절단하여 처리당 5수씩 혈액을 채취하였다. 그후 2시에 사료급여후 30분동안 섭취케 한다음 모든 사료를 제거하였다. 그후 6hr 시료로써 오후 5시, 12hr 시료는 밤 11시, 17hr 시료로는 오전 5시 21hr 시료로는 오전 9시에 혈액을 채취하여 총 375수를 희생시켰다. 항응고제로는 혈액 ml당 20 unit의 Heparin을 사용하였다.

채취된 혈액은 원심분리(SS-34 Rotor-7000rpm×15분)하여 plasma를 분리하였다. 일부는 Molecular Weight Cut off 10,000의 filter를 이용하여 filtrate는 ionized form의 칼슘, 마그네슘을 분석하기 위하여 따로 냉동보관 하였고, Total plasma에서는 Total calcium, magnesium, inorganic phosphorus 및 ALP 역가(Alkaline Phosphatase, EC 3.1.3.1.)를 측정하고자 냉동보관 하였다. ALP activity는 Sigma diagnostic Kit를 이용하여 Micorplate reader에서 흡광도를 측정하였다.

### 3. 실험처리 및 실험사료

실험에 사용된 실험사료는 제4장의 실험사료였으며, Table 16에서는 실험 처리구를 요약하였다.

Table 16. Experimental design

Trt. code	Treatment	Remarks
A	Control	○ 10목 : 20목 = 70 : 30(W/W) 비율로 Mix한 석회석 8% 사용
B	Control-Lactose	○ 석회석은 A와 동일 ○ Lactose 0.4% 첨가
C	Control-Sorbitol	○ 석회석은 A와 동일 ○ Sorbitol 0.4% 첨가
D	Control-Lactose+Sorbitol	○ 석회석은 A와 동일 ○ Lactose 0.2%, Sorbitol 0.2% 첨가
E	HPMCP-(무기물 Mixture+석회석+Lactose)	○ "A"의 석회석은 4% ○ 무기물 첨가제, 석회석 4%, Lactose 0.4%를 Encapsulation 후 첨가
F	HPMCP-(무기물 Mixture+석회석)+Lactose	○ "A"의 석회석은 4% ○ 무기물 첨가제, 석회석 4%는 coating ○ Lactose 0.4%는 그대로 첨가
G	HPMCP-(무기물 Mixture+석회석+Sorbitol)	
H	HPMCP-(무기물 Mixture+석회석)+Sorbitol)	
I	HPMCP-(무기물 Mixture+석회석+Lactose+Sorbitol)	○ Lactose 0.2%, Sorbitol 0.2%를 coating한것
J	HPMCP-(무기물 Mixture+석회석)+Lactose+Sorbitol)	○ Lactose 0.2%, Sorbitol 0.2%를 그대로 첨가한 것
K	CAP-(무기물 Mixture+석회석+Lactose)	
L	CAP-(무기물 Mixture+석회석)+Lactose	
M	CAP-(무기물 Mixture+석회석+Sorbitol)	
N	CAP-(무기물 Mixture+석회석)+Sorbitol	

\* 여기에서 무기물 Mixture는 완전배합사료 kg당 Vitamine D<sub>3</sub>, 1,000IU ; Vitamine C ; 1000mg, Cu ; 10mg, Mg ; 200mg, Mn ; 40mg 및 Zn ; 50mg이 배합되도록 하였다. 사용한 무기물 source는 CuCO<sub>3</sub> · Cu(OH)<sub>2</sub> · H<sub>2</sub>O, MgSO<sub>4</sub>,

MnSO<sub>4</sub> · H<sub>2</sub>O, ZnO였다.

\*\* E에서 N까지 처리구에서는 사용된 8%의 석회석중 4%는 대조구에서 사용한 것과 동일한 석회석이며, 나머지 4%는 HPMCP 혹은 CAP로 Encapsulation한 제품을 사용하였다.

Table 16에서 Commercial feed-control group은 시판 양계사료를 그대로 급여하였으며, A에서 D처리까지는 10목 : 20목의 석회석을 70 : 30으로 혼합한 후 8%를 배합하였고, E에서 N까지 처리구에서는 사용된 8%의 석회석중 4%는 대조구에서 사용한 것과 동일한 석회석이며, 나머지 4%는 HPMCP 혹은 CAP로 Encapsulation한 제품을 사용하였다. 그리고 Lactose 및 Sorbitol은 Encapsulation한 후 첨가 및 그대로 첨가구로 두었으며, 여기에서 무기물 Mixture는 완전배합사료 kg당 Vitamine D<sub>3</sub> ; 1000 IU, Vitamine C ; 1000mg, Cu ; 10mg, Mg ; 200mg, Mn ; 40mg, 및 Zn ; 50mg이 배합토록 하였다. 사용한 무기물 source는 CuCO<sub>3</sub> · Cu(OH)<sub>2</sub> · H<sub>2</sub>O, MgSO<sub>4</sub>, MnSO<sub>4</sub> · H<sub>2</sub>O, ZnO였다. 급여된 사료의 단백질 함량은 평균 15.5%, 회분은 8.5%였으며, 무기물의 함량은 제4장의 Table 7에 나타내었다.

#### 4. 결과 분석 및 통계처리

얻어진 결과에 대한 통계분석은 SAS 통계 프로그램의 GLM에 의하였다. Control treatment의 성격을 지닌 처리구 비교로써 A, B, C, D 처리간에서 기준산란계 사료에 10목 20목을 70 : 30으로 혼합된 석회석 사용효과 및 Lactose, Sorbitol 첨가 효과를 평가하고자 하였으며, 그 다음은 Control로써 A, B, C, D 처리구 및 HPMCP구로써 E, F, G, H, CAP처리구로써 K, L, M, N의 3처리를 비교하여 무기물 첨가 효과 및 Encapsulation 물질간의 효과를 평가하였다. 그 다음에는 Lactose, Sorbitol 첨가시 HPMCP 혹은 CAP의 어느 피복물질이 효과적인지 알아보려고 하였고, 마지막으로 HPMCP 및 CAP coating시 Lactose 혹은 Sorbitol의 coating or uncoating 효과를 평가하는 것으로 하였다.

### 제 3 절 결과 및 고찰

#### 1. 난각의 무기질 조성

난각에 함유된 무기물 함량은 Table 17에서 나타내었다. 조사분석된 회분, 칼슘, 인, 마그네슘, 망간의 함량에서는 처리구간에 큰 차이가 없었다. 난각의 무기물 중 칼슘은 약 35% 마그네슘은 2.95~3.5mg/g 및 인은 1.1mg/g정도 함유되고 있었다. Britton(1977)에 의하면 shell의 회분은 57%, 칼슘은 45%, 마그네슘은 0.4~0.44%로써 본 실험 결과와는 다소간의 차이가 있었으며, 이러한 경향은 공시동물의 주령 및 사양조건등에 따라 다소간의 차이가 발생한다고 보여진다.

또한 Klingensmith와 Hester(1985)에 의하면 hard shell의 칼슘은 33%, 마그네슘은 3.5mg/g, 인은 1.0mg/g이었고 soft shell에서 각각 30%, 2.8mg/g 및 0.76 mg/g으로 차이가 있었고 Ash 함량도 52.7% 및 49.5%로 서로간에 차이가 발견되었다. 마그네슘과 관련하여 본 실험의 결과를 보면 F 처리구에서 마그네슘이 3.53mg/g일때 shell thickness는 0.387mm였고, 마그네슘이 2.95mg/g인 H 및 J 처리구에서는 thickness가 0.375mm 정도로 다소간의 차이는 있었다.

Table 17. Mineral content of egg shell

Treat.	Minerals				
	Ash, %	Ca, %	P, mg/g	Mg, mg/g	Mn, mg/kg
A	55.60± 0.59	35.57± 0.66	1.24± 0.16	3.14± 0.52	10.89± 3.69
B	55.17± 0.66	35.74± 0.52	1.18± 0.16	0.03± 0.72	9.56± 1.71
C	55.27± 0.75	36.03± 0.80	1.12± 0.09	3.44± 0.66	19.23± 3.80
D	55.03± 0.80	35.75± 0.88	1.09± 0.17	3.31± 0.49	21.33± 3.87
.....					
E	54.95± 0.59	35.92± 0.70	1.03± 0.12	3.25± 0.52	21.32± 2.07
F	54.74± 0.70	36.74± 1.11	1.26± 0.24	3.53± 1.16	22.44± 2.50
G	54.27± 0.66	35.79± 0.89	1.08± 0.12	3.28± 0.76	18.28± 1.90
H	54.40± 0.50	36.00± 1.75	1.21± 0.13	2.94± 0.65	14.09± 2.97
.....					
I	54.40± 0.67	35.94± 1.72	1.22± 0.19	3.25± 0.99	13.50± 2.63
J	54.45± 0.82	35.59± 1.22	1.20± 0.12	2.96± 0.58	14.47± 2.16
.....					
K	54.94± 1.07	35.69± 0.96	1.17± 0.11	3.15± 0.83	15.11± 2.13
L	54.46± 0.33	35.14± 1.28	1.12± 0.20	3.34± 1.25	17.46± 2.27
M	54.45± 1.01	36.00± 1.70	1.15± 0.15	3.19± 1.00	19.93± 1.26
N	54.33± 0.66	35.67± 1.73	1.10± 0.15	3.13± 0.91	16.41± 2.20



## 2. 혈액내 무기물 함량의 변화

혈액내 Total calcium의 시간별 변화는 Table 18, ionized calcium은 Table 19에 나타내었고 Total calcium 및 ionized calcium의 상호변화하는 경향을 처리별로 조합후 Fig. 19, 20, 21, 22, 23, 24 및 25에 나타내었다. Table 18에서의 결과중 시간별변화의 총평균 칼슘 함량을 크게 세 처리로 나누어서 보면, 즉 대조군(처리 A~D), HPMCP군(E~H) 및 CAP군(K~N)에서의 각각 203.9, 182.8 및 186.5ppm으로써 절대량은 Encapsulation 가공을 하지 않은 석회석 급여구에서 가장 높게 나타났었다. 그리고 ionized calcium 함량은 대조군(A~D)이 51.2, HAMCP군(E~H) 52.4 및 CAP군(K~N)은 47.7ppm으로써 대조군과 HPMCP군 사이에는 서로 비슷한 경향을 보였다.

칼슘 함량의 시간별 변화를 대조군 사이에서 보면(Fig. 19) 산란후 최고함량을 보인후 전체적으로 감소하는 경향을 나타내었고 평균함량에서는 Lactose 및 Sorbitol 첨가구(B, C) 증가하여 칼슘의 흡수를 강화하는 것으로 사료되었다. 그리고 ionized calcium 함량은 대조구(A)에서 가장 낮은 경향을 보였다.

그리고 Fig. 20에서는 Control group, HPMCP group 및 CAP group간의 변화를 표시하였는데 시간별 변화에서 Total calcium은 Encapsulation 석회석 급여구에서는 완만하게 감소하고 있었으나 Control group는 급격히 감소되고 있었다. 따라서 석회석을 Encapsulation하여 급여하면 흡수속도를 일정하게 하므로써 혈액내 칼슘농도를 어느정도 조절할 수 있음을 나타내었다. 또한 ionized 칼슘함량은 HPMCP group에서 가장 높은 수준 및 시간별 변화에서도 일정한 수준을 유지하고 있었으며, Total calcium의 시간별 변화하는 반대로 후반부에서 ionized calcium 함량이 증가되는 경향을 보였다.

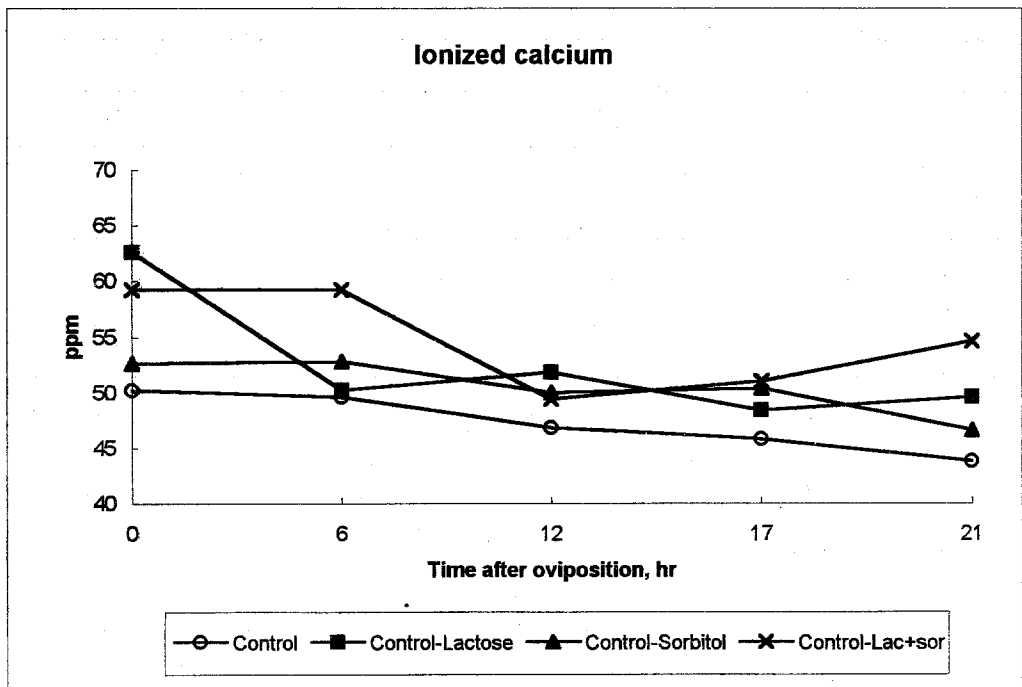
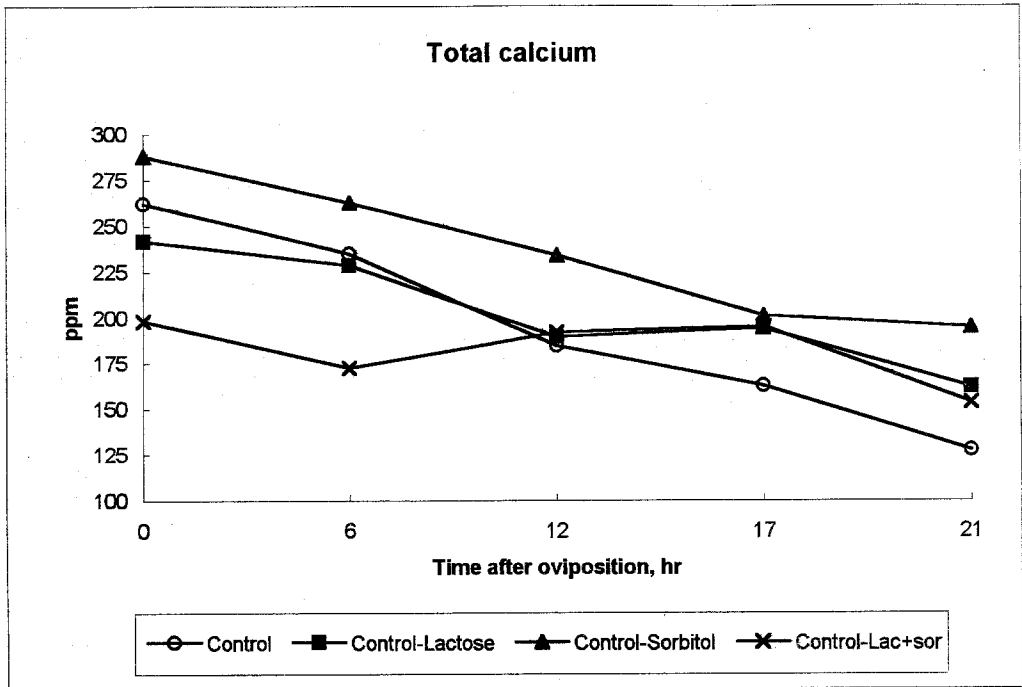
Fig. 21에서는 Lactose, Sorbitol을 첨가시 HPMCP 혹은 CAP 처리구에서의 차이를 나타내었다. Fig. 21에서 보듯이 HPMCP-Lactose(E+F) group에서 Total calcium의 함량이 가장 완만한 변화를 보였으며, ionized calcium 함량은 산란후 12hr이후 상당히 증가하는 경향을 보였고 평균 함량도 55ppm으로써 가장 높았다. 또한 Table 16의 처리중 E 및 F 처리구에서 shell thickness, Breaking strength등의 shell quality에서도 가장 우수하였다. 그리고 Lactose를 encapsulation 및 unencapsulation하여 급여시(Fig. 22)에는 커다란 차이가 없었으며 ionized calcium 함량도 비슷하게 산란 후반부에서 증가하고 있었다.

Table 19에서는 Total calcium 함량대비 ionized calcium 함량의 비율을 나타내었다. Ionized Calcium 함량의 비율은 Lactose를 첨가한 HPMCP group(E, F처리)에서 30% 정도로 가장 높아(Fig. 26)으며, ionized calcium 비율이 20%로써 가장 낮은 처리구인 I군 (HPMCP-Lactose+Sorbitol)에서는 난각질이 가장 불량하였다.

Table 18. Mean values of total calcium content in the plasma after oviposition time

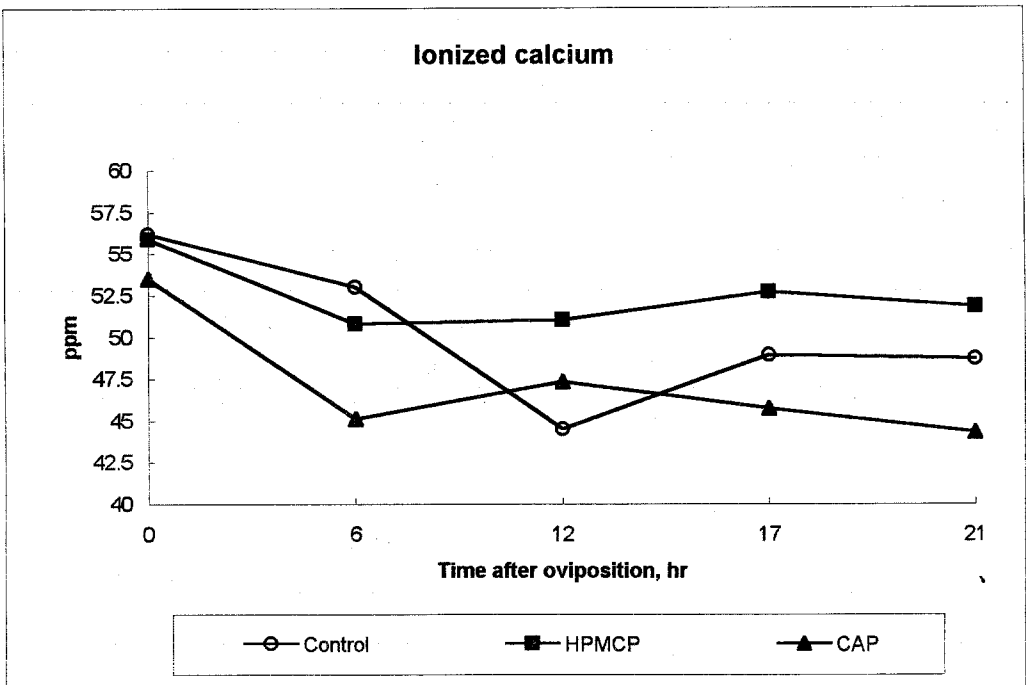
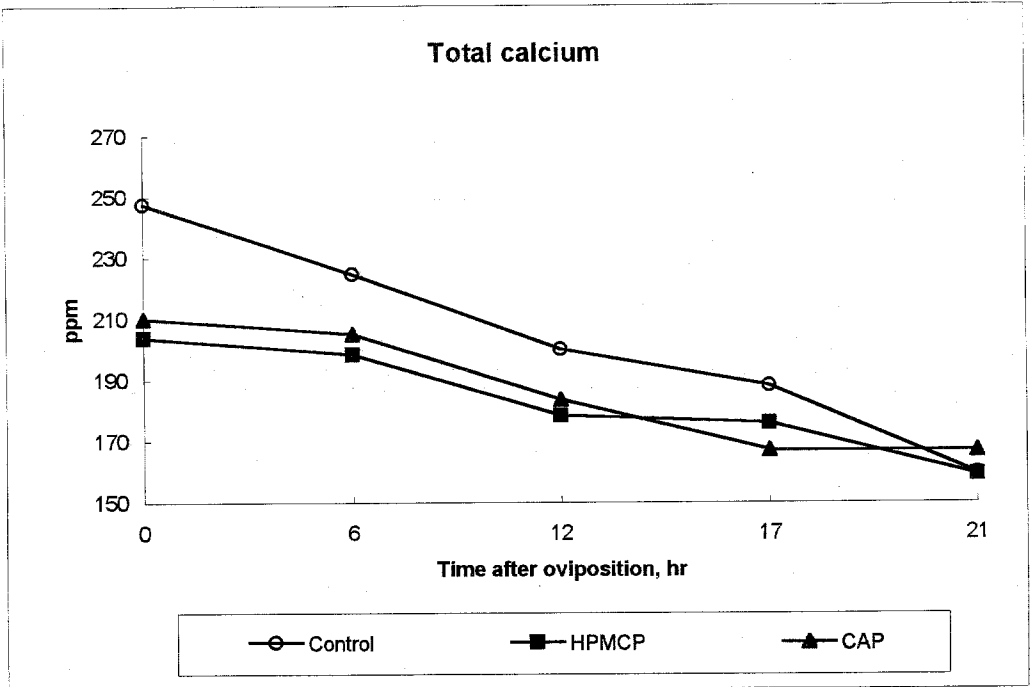
unit : ppm

Treat.	Sampling time after oviposition, hr					Mean
	0	6	12	17	21	
A	262.0	234.5	184.5	162.5	127.5	194.2
B	241.5	228.5	189.5	194.0	162.0	203.1
C	288.0	262.5	234.0	201.0	194.5	236.0
D	198.0	172.5	192.0	195.0	153.7	182.2
.....						
E	204.0	184.5	172.5	173.5	165.5	180.0
F	192.0	185.5	183.5	175.0	158.5	178.9
G	187.5	199.5	170.5	155.0	137.5	170.0
H	231.5	224.0	186.5	196.0	174.5	202.5
.....						
I	233.5	230.0	216.0	207.0	175.0	212.3
J	216.5	177.5	158.5	161.0	181.5	179.0
.....						
K	220.0	227.0	219.0	219.5	184.0	223.9
L	198.0	164.0	180.5	152.0	161.0	171.1
M	243.5	197.0	152.0	141.0	141.0	174.9
N	179.0	182.5	182.5	155.5	181.5	176.2



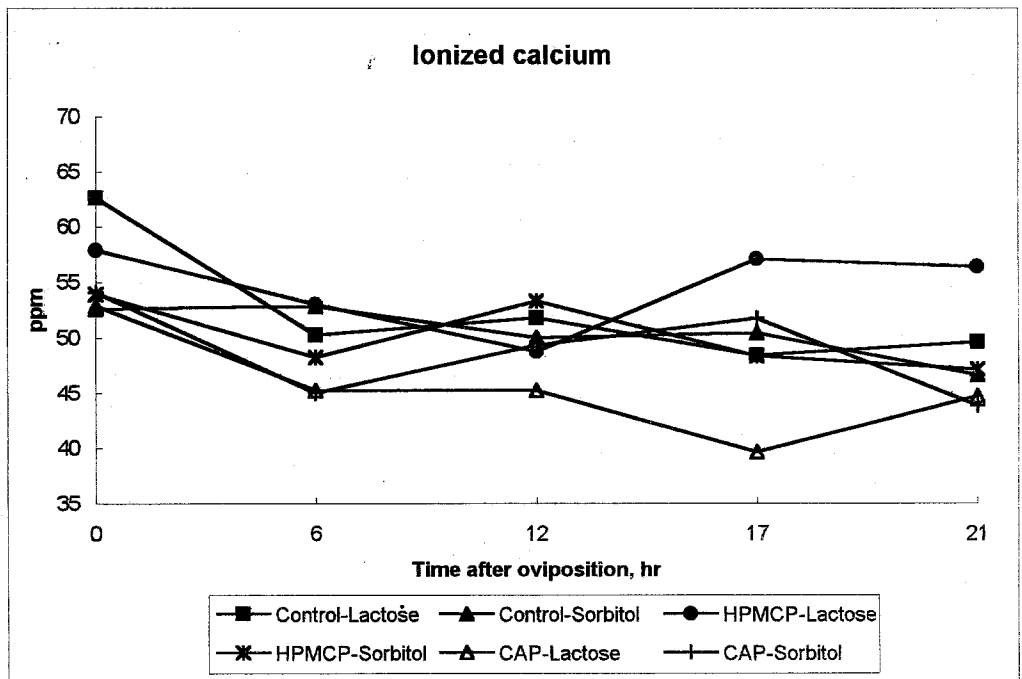
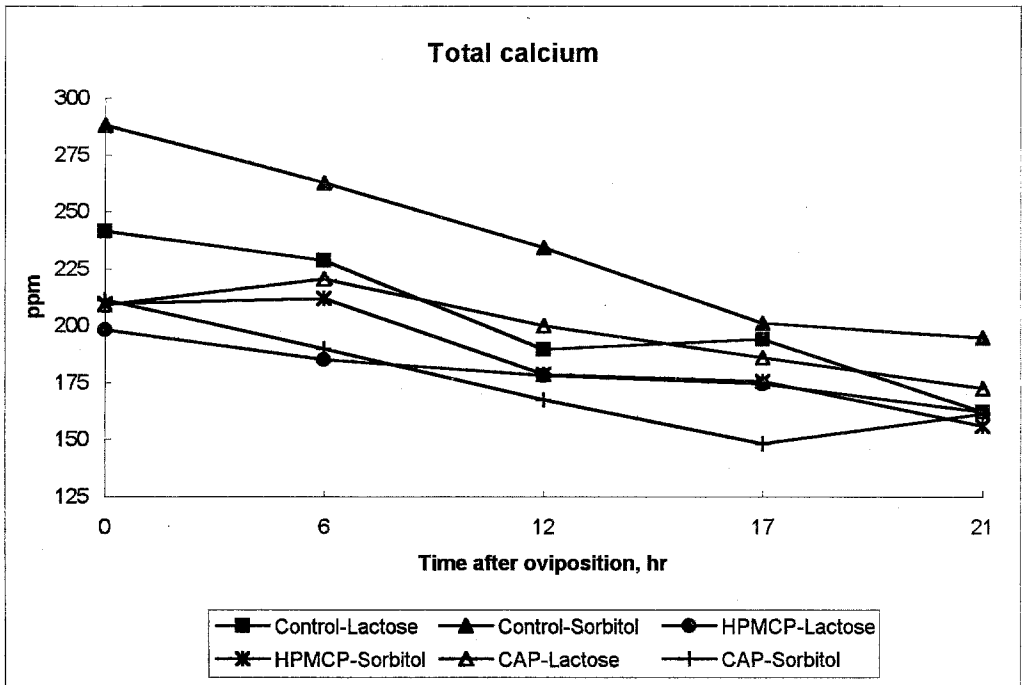
**Fig 19. Changing pattern of plasma calcium level among control group after oviposition time**

\* Control=A, Control-Lactose=B, Control-Sorbitol=C, Control-Lactose+Sorbitol=D



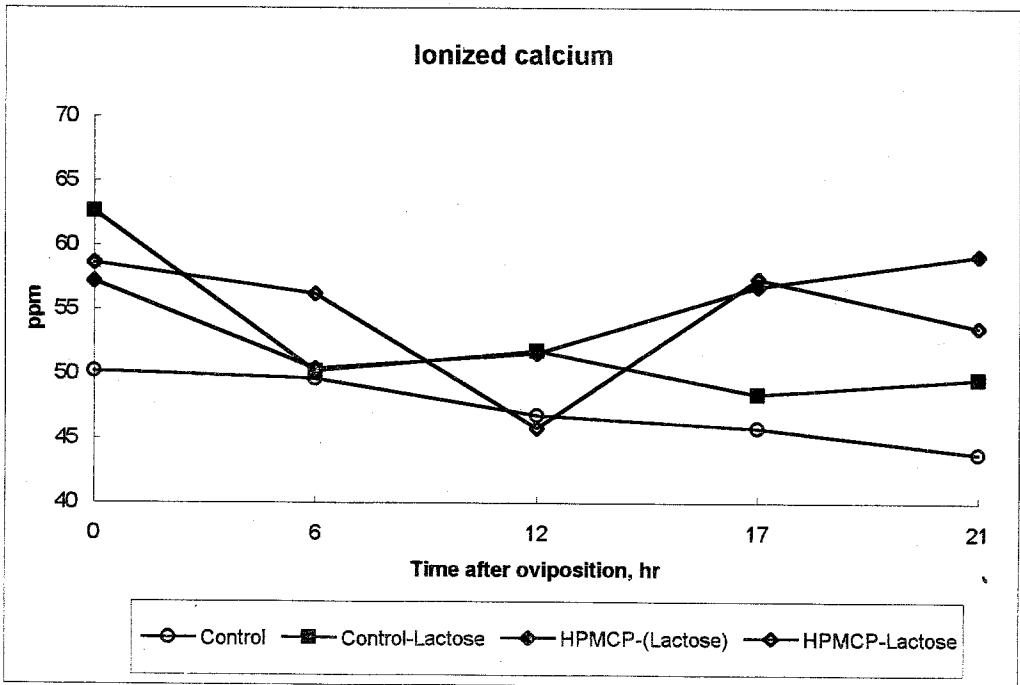
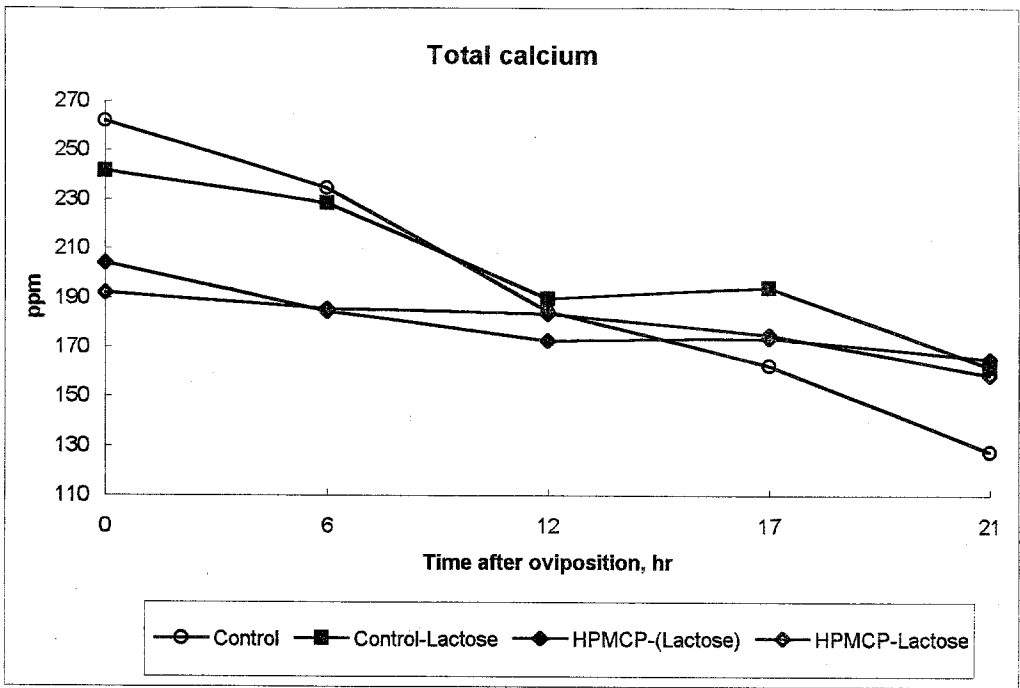
**Fig 20. Changing pattern of plasma calcium level among coating treatment after oviposition time**

\* Control=A+B+C+D, HPMCP=E+F+G+H, CAP=K+L+M+N



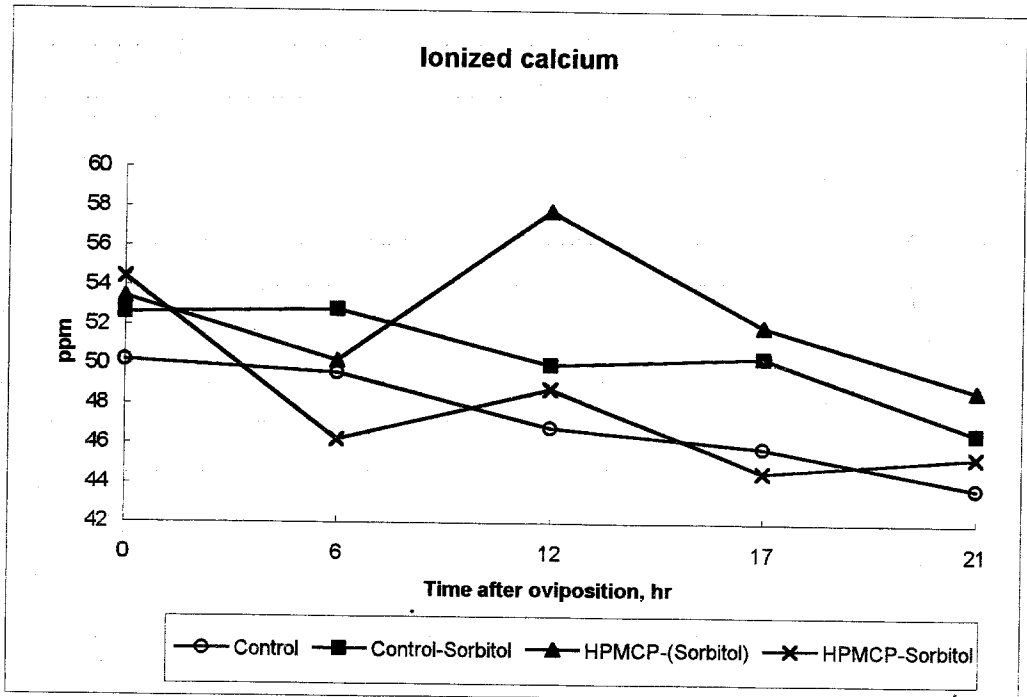
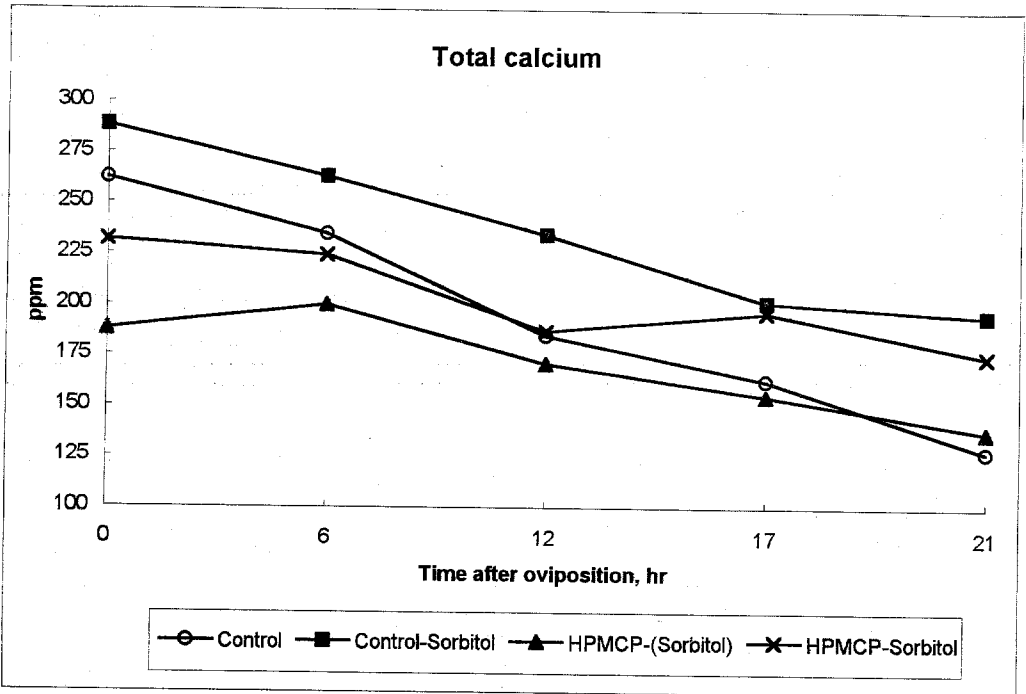
**Fig 21. Changing pattern of plasma calcium level among encapsulation material and absorption enhancer after oviposition time**

\* Control-Lactose=B, Control-Sorbitol=C, HPMCP-Lactose=E+F, HPMCP-Sorbitol=G+H, CAP-Lactose=K+L, CAP-Sorbitol=M+N 142 -



**Fig 22. Changing pattern of plasma calcium level among HPMCP group with lactose after oviposition time**

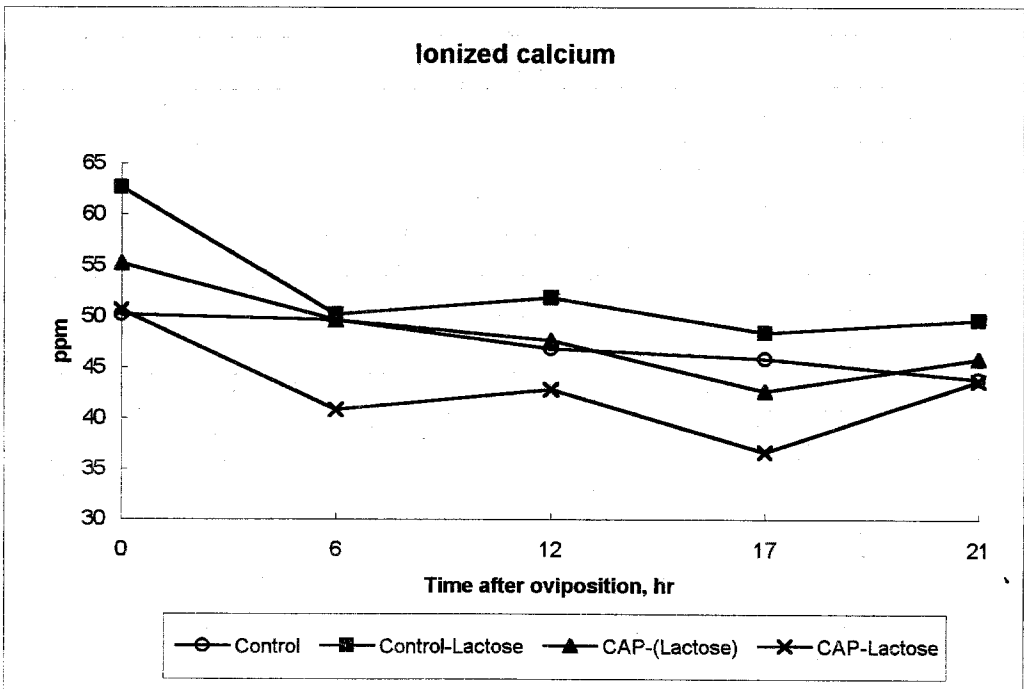
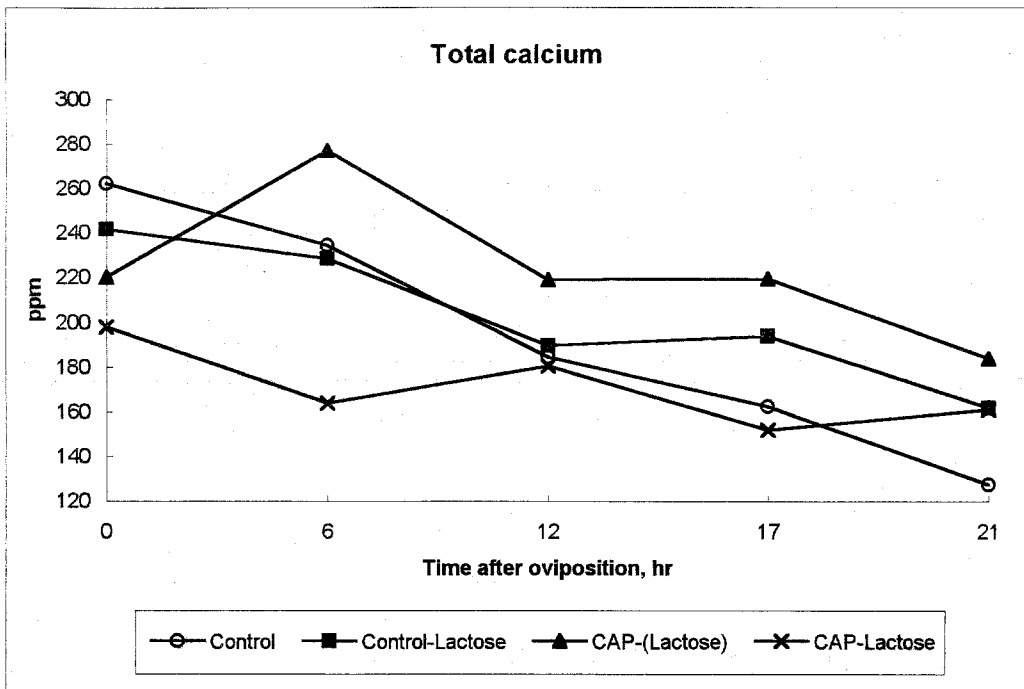
\* Control=A, Control-Lactose=B, HPMCP-(Lactose)=E, HPMCP-Lactose=F



**Fig 23. Changing pattern of plasma calcium level among HPMCP group with sorbitol after oviposition time**

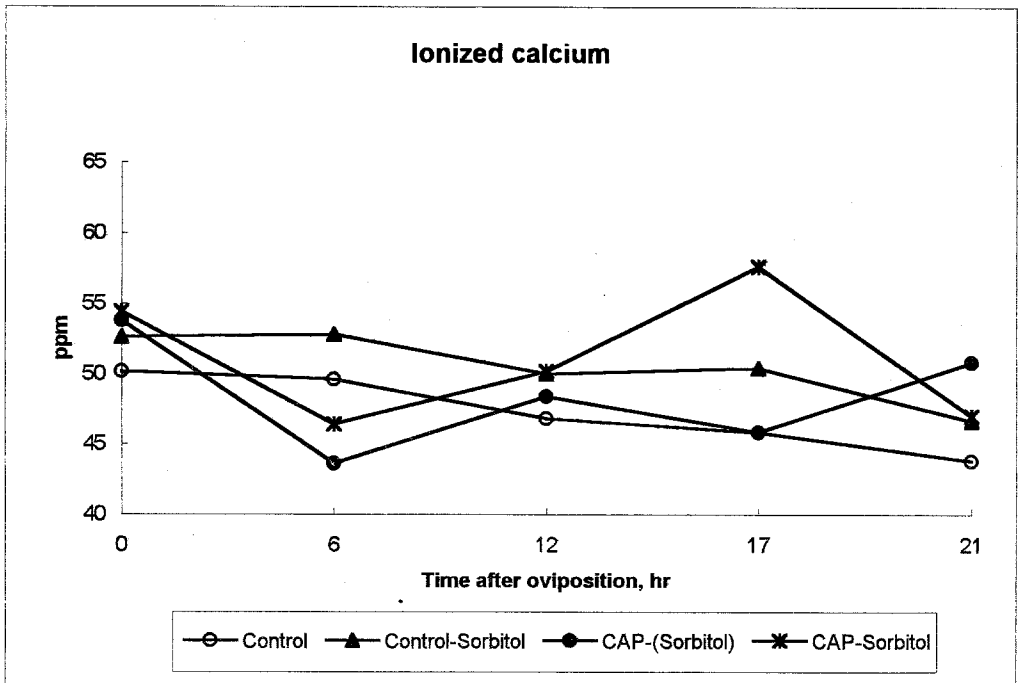
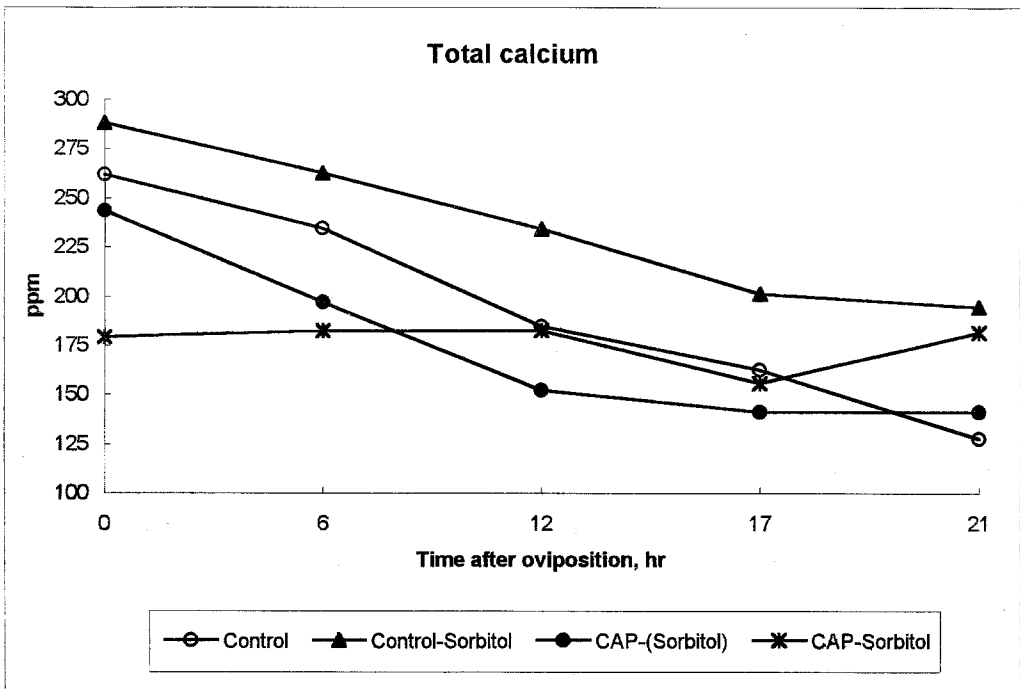
\* Control=A, Control-Sorbitol=C, HPMCP-(Sorbitol)=G, HPMCP-Sorbitol=H





**Fig 24. Changing pattern of plasma calcium level among CAP group with lactose after oviposition time**

\* Control=A, Control-Lactose=B, CAP-(Lactose)=K, CAP-Lactose=L



**Fig 25. Changing pattern of plasma calcium level among CAP group with sorbitol after oviposition time**

\* Control=A, Control-Sorbitol=C, CAP-(Sorbitol)=M, CAP-Sorbitol=N

Table 19. Mean values of ionized calcium content in the plasma after oviposition time

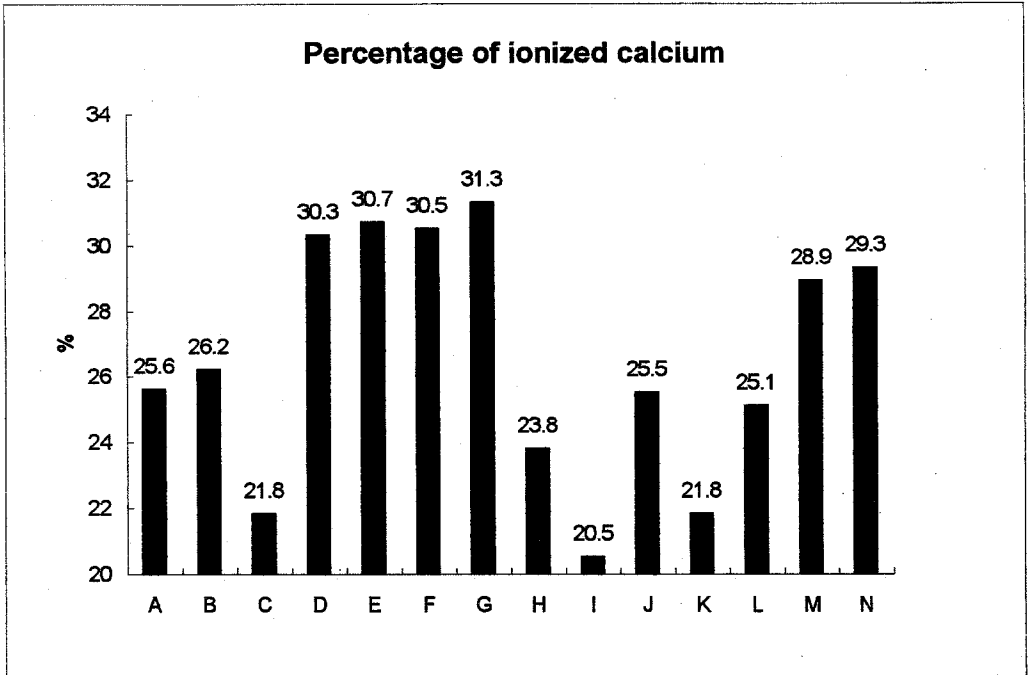
unit : ppm

Treat.	Sampling time after oviposition, hr					Mean
	0	6	12	17	21	
A	50.2	49.6	46.8	45.8	43.8	47.2
B	62.6	50.2	51.8	48.4	49.6	52.5
C	52.6	52.8	50.0	50.4	46.6	50.5
D	59.2	59.2	49.4	51.0	54.6	54.7
.....						
E	57.2	50.4	51.6	56.8	59.2	55.0
F	58.6	56.2	45.8	57.4	53.6	54.3
G	53.4	50.2	57.8	52.0	48.8	52.4
H	54.4	46.2	48.8	44.6	45.4	47.9
.....						
I	47.4	40.4	41.8	43.6	42.2	43.1
J	52.4	45.8	47.2	37.2	44.4	45.4
.....						
K	55.2	49.6	47.6	42.6	45.8	48.2
L	50.6	40.8	42.8	36.6	43.6	42.9
M	53.8	43.6	48.4	45.8	50.8	48.4
N	54.4	46.4	50.2	57.6	47.0	51.1

Table 19. Mean value of the ionized calcium ratio to total calcium in the plasma after oviposition time

unit : %

Treat.	Sampling time after oviposition, hr					Mean
	0	6	12	17	21	
A	19.16	21.15	25.37	28.18	34.35	25.64
B	25.92	21.97	27.34	24.95	30.62	26.16
C	18.26	20.11	21.37	25.07	23.96	21.75
D	29.90	34.32	25.73	26.15	35.52	30.32
.....						
E	28.04	27.32	29.91	32.74	35.77	30.7
F	30.52	30.30	24.96	32.80	33.82	30.48
G	28.48	25.16	33.90	33.50	35.49	31.32
H	23.50	20.63	26.17	22.76	26.02	23.82
.....						
I	20.43	17.57	19.35	21.06	24.11	20.50
J	24.20	25.80	29.78	23.11	24.46	25.47
.....						
K	55.09	17.91	21.74	19.41	24.89	21.81
L	25.56	24.88	23.71	24.08	27.08	25.06
M	22.09	22.13	31.84	32.38	36.03	28.91
N	30.39	25.42	27.51	37.04	25.90	29.25



**Fig 26. Average value of ionized calcium percentage in the total calcium of plasma**

혈액중의 calcium은 보통 plasma protein인 albumin 및 globulin등과 결합된 nondiffusible(protein-bound), diffusible(ionized) 및 organic complexed Ca 등으로 구분되어지며 사람의 경우 각각의 평균 비율은 46%, 47.5% 및 6.5% 정도이다(williams, 1993). 이들중 생리학적으로 가장 큰 영향을 발휘하는 것은 ionized form으로써 각종 대사, 뼈 형성 및 신경계 혹은 심장 근육운동 등에 직접적으로 관여하게 된다. 그리고 가금에 있어서 혈액내 칼슘함량은 산란계 및 육계의 경우 큰 차이가 있다. 즉, Hurwitz(1968)에 의하면 plasma내 total calcium의 경우 어린수탉은 12.5mg/100ml 및 산란계는 평균 29.0mg/100ml로 조사되었으며 ionized calcium은 각각 8.75mg/100ml 및 10.15mg/ml로써 차지하는 비율은 각각 72% 및 35%로써 큰 차이가 있다. 그리고 산란계에서 ionized calcium의 비율을 보면 Bolden과 Jensen(1985)은 약 18% 정도였고 Combs등(1979)은 산란 일령에 따라 20%~60%의 범위였다고 하였다. 혈액내 ionized calcium의 측정 및 비율등은 사료처리 방법 및 분석방법에 따라 상당한 변이도 있을 수 있다(Fuchs 등, 1976). 본 실험에서는 ionized calcium의 비율은 20%~30%의 범위에 있었다.

그리고 Bolden과 Jensen(1985)에 의하면 산란계의 경우 배합되는 사료원의 종류에 따라서 plasma내 Total calcium 및 nondiffusible calcium의 함량에 변화가 있음 물론 사료의 calcium 함량을 3.5%에서 2.75%로 낮출 경우 난각두께 및 파열강도등이 유의하게 낮아지며 아울러 plasma total calcium 함량이 낮아지고 동시에 nondiffusible calcium 함량도 역시 유의하게 감소되지만 diffusible calcium의 함량은 큰 변화가 없다고 하였으며, 이것은 생리학적으로 우선 필요한 Ca 수준을 유지하기 위한 homesostasis 작용으로 보여진다. Claggett등(1977)에 의하면 thin-shell line의 산란계는 blood total calcium 수준이 저하되며, 이것은 주로 protein-bound calcium이 감소되는 결과라고 하였다(Grunder등, 1978). 또한 Combs등(1979)에 의하면 사료내 칼슘수준 변화시 즉, 1%에서 3.47

%로 칼슘수준 변화시 ionized 및 total calcium이 동시에 증가하였으므로, ionized calcium의 비율(45~50%)은 거의 일정하게 유지한다고 하였다. 그러나 본 실험에서는 모든 처리구의 사료내 칼슘함량은 3.25%로 서로 동일하였으나 석회석을 가공하여 이론상 흡수정도를 조절하였으므로 다른 연구결과와 비교하기는 곤란하였으나, Control group(A+B+C+D 처리)의 Total calcium보다 HPMCP group(E+F+G+H 처리)이 훨씬 낮고 ionized calcium 함량은 51~52 ppm으로 서로 비슷하여 경과적으로 ionized calcium의 비율은 HPMCP group에서 다소간 증가되었다. 또한 shell quality도 HPMCP group에서 가장 향상되었다. 따라서 이와같은 결과는 난각형성 기간동안에 Total calcium 함량을 일정하게 유지시켜 준다면 동일함량의 칼슘이 함유된 사료를 공급하더라도 shell quality를 향상시킬 수 있다고 사료된다.

또한 Nys등(1986)의 보고에 의하면 hard-shelled 산란계에서 전번 oviposition후 10시간째부터는 ionized calcium 함량이 유의하게 감소하였는데, 이것은 shell formation 기간동안에 소화기관(gut) 및 뼈로부터 충분한 양의 calcium을 공급해주지 못하였기 때문이라고 하였다. 본 실험이 결과를 보면(Table 18, 19 및 Fig. 19~25) Control(A처리)과 HPMCP-Lactose(E)처리를 비교시 oviposition 후(ohr) Total calcium 함량은 각각 262ppm, 204ppm으로 큰 차이가 있었으나 12시간째에는 185ppm 및 173ppm으로 비슷하였으며 21hr에는 각각 128ppm 166ppm으로써 HPMCP 처리시 칼슘농도를 완만하게 유지시킬 수 있었고, 따라서 HPMCP 처리구(E)의 경우 12시간 부터는 ionized calcium 농도가 증가하여 Nys등(1986)의 결과와는 상반된 경향을 보였다. 따라서 결과를 종합하여 볼때 shell formation 기간동안에 혈액내의 calcium 농도를 일정하게 유지시켜 준다면 동일 사료조건 하에서도 난각의 질을 향상시킬 수 있는 것으로 사료되었다.

### 3. Plasma내 인, 마그네슘, 망간의 변화

Plasma내 인, 마그네슘, 망간의 함량변화는 Table 20, 21, 22에 나타내었고 인의 함량변화는 대조군 group(A+B+C+D), HPMCP group(E+F+G+H) 및 CAP(K+L+M+N) group으로 나누어 Fig. 27에 표시하였다. 얻어진 결과를 보면 Control group, HPMCP group 및 CAP group에서 각각 12.4, 13.9, 11.1 ppm으로 서로간에 큰 차이가 없었고, oviposition 후 변화는 12시간 내지 17시간 사이에서 plasma내 인의 함량이 증가하는 경향을 보였다. 일반적으로 사료내 인의 수준이 낮고 칼슘 수준이 높으면 계란 생산이 감소하고 인의 이용율도 저하되는 것으로 알려져 있다(Paul과 Snetsinger, 1969). 또한 plasma내 인의 수준은 mid-calcification 동안 즉 oviposition 후 16시간 정도에서 peak에 도달하고 전, 후에는 기초수준을 유지한다. 또한 Nys등(1986)의 보고에 의하면 hard-shelled egg의 경우 13시간에서 plasma 인의 수준이 최고에 달하며 shell-less egg의 경우는 정반대로 인의 수준이 계속 감소하는 결과를 얻은바 있다. 본실험은 사료내 인의 수준은 평균 0.55%로 거의 일정하였으며, shell thickness의 결과와 비교시 A 처리는 thickness는 0.377mm, 가장 좋았던 F 처리는 0.387mm 및 가장 불량하였던 I 처리의 0.368mm인 처리간에서 대표로 비교할 때 Table 20에서 보듯이 I처리에서는 인의 함량이 계속 감소하였다. 그러나 이러한 단순 비교만으로는 정확한 비교가 불가능하였다.

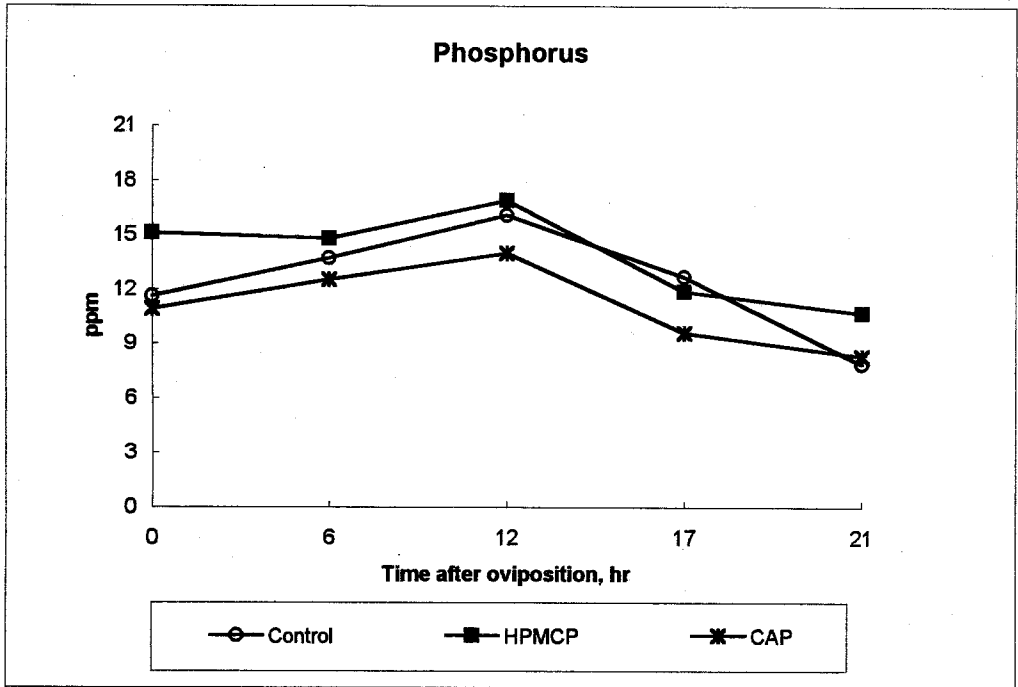
그리고 기타 마그네슘, 망간의 함량에서는 큰 차이가 없었으며, 마그네슘의 경우 결과는 제시되지 않았지만 diffusible 마그네슘 함량도 13~18ppm의 범위로 측정되었으며 plasma내 총 마그네슘 함량대비 diffusible form이 약 48%로써 Stafford와 Edwards(1973)이 보고한 49%와 비슷한 수준을 유지하였다.



Table 20. Mean values of phosphorus content in the plasma after oviposition time

unit : ppm

Treat.	Sampling time after oviposition, hr					Mean
	0	6	12	17	21	
A	7.08	7.26	15.08	5.46	5.24	8.02
B	14.06	18.64	18.54	15.94	6.94	14.93
C	15.80	11.80	13.96	9.14	7.20	11.44
D	9.54	16.96	16.72	20.38	12.06	15.13
.....						
E	17.22	15.42	23.74	15.00	11.42	16.56
F	14.80	12.12	16.00	14.64	12.24	13.96
G	19.92	15.64	11.66	9.68	10.80	13.54
H	8.26	15.90	16.24	8.44	8.48	11.46
.....						
I	11.14	8.12	8.70	5.26	2.36	7.12
J	16.94	10.76	14.94	14.82	11.04	13.70
.....						
K	8.40	15.40	15.32	11.08	8.74	11.79
L	10.32	14.44	13.36	7.20	6.84	10.43
M	16.66	13.66	16.38	11.08	7.88	13.13
N	8.00	6.52	10.98	9.08	9.80	8.88



**Fig 27. Changing pattern of inorganic phosphorus level among encapsulation treatment after oviposition time**

\* Control=A+B+C+D, HPMCP=E+F+G+H, CAP=K+L+M+N

Table 21. Mean values of total magnesium content in the plasma after oviposition time

unit : ppm

Treat.	Sampling time after oviposition, hr					Mean
	0	6	12	17	21	
A	29.8	27.6	25.2	24.8	26.5	26.8
B	39.9	39.5	38.2	36.5	36.1	38.04
C	38.3	34.7	35.5	30.9	31.4	34.2
D	39.9	39.5	38.2	36.5	36.1	38.0
.....						
E	37.9	38.6	33.5	34.6	35.8	36.1
F	38.3	42.1	36.7	33.4	34.4	36.9
G	31.6	38.0	34.0	30.9	29.1	32.8
H	43.8	41.4	40.0	40.2	35.9	40.3
.....						
I	39.9	40.5	42.0	40.3	35.3	39.6
J	45.6	43.7	39.5	39.4	38.9	41.4
.....						
K	44.7	48.9	42.5	39.7	35.1	42.2
L	37.0	38.9	34.6	31.7	31.1	34.5
M	43.4	37.1	33.1	31.4	29.5	34.9
N	36.5	33.0	34.2	28.9	34.8	33.5

Table 22. Mean values of total manganese content in the plasma after oviposition time

unit : ppm

Treat.	Sampling time after oviposition, hr					Mean
	0	6	12	17	21	
A	0.235	0.183	0.153	0.181	0.171	0.185
B	0.142	0.154	0.181	0.098	0.124	0.140
C	0.144	0.097	0.092	0.096	0.105	0.107
D	0.091	0.087	0.092	0.093	0.064	0.085
.....						
E	0.069	0.098	0.095	0.083	0.088	0.087
F	0.072	0.095	0.095	0.072	0.087	0.084
G	0.104	0.130	0.108	0.118	0.085	0.109
H	0.082	0.087	0.083	0.096	0.083	0.086
.....						
I	0.072	0.100	0.085	0.080	0.063	0.080
J	0.095	0.088	0.057	0.080	0.105	0.085
.....						
K	0.079	0.143	0.104	0.073	0.081	0.096
L	0.088	0.120	0.109	0.084	0.094	0.099
M	0.100	0.102	0.078	0.064	0.085	0.086
N	0.075	0.073	0.115	0.072	0.085	0.084

#### 4. Alkaline phosphatase의 변화

ALP는 산란계의 경우 egg-shell 형성에 관여하는 효소중의 하나로써 급여되는 사료의 칼슘수준과 plasma내 ALP 역가를 보면 일반적으로는 low calcium diet에서 높은 ALP 역가를 보이고 있다. ALP를 측정된 결과는 Table 23 및 Fig. 28에서 변화경향을 요약하였다. 처리간의 전체적인 역가를 보면 Control group (A+B+C+D)는 80.5 HPMCP group(E+F+G+H) 59.3 및 CAP group(K+L+M+N)에서는 69.6IU/L로써 대조 group에서 훨씬 높게 측정되었다. ALP역가는 Shell Calcification시의 Calcium 공급능력, 사료내 칼슘함량 등에 의하여 상당한 변이를 가되는데 30~300IU/L의 범위를 가지고 있다(Snapir와 Perek, 1970). 일반적으로 ALP역가가 증가될 때 Shell quality가 향상된다는 Snapir와 Perek(1970)의 결과와는 상이한 경향을 보였다. 본 실험에서는 HPMCP group에서 shell quality가 유의하게 증가되었다.

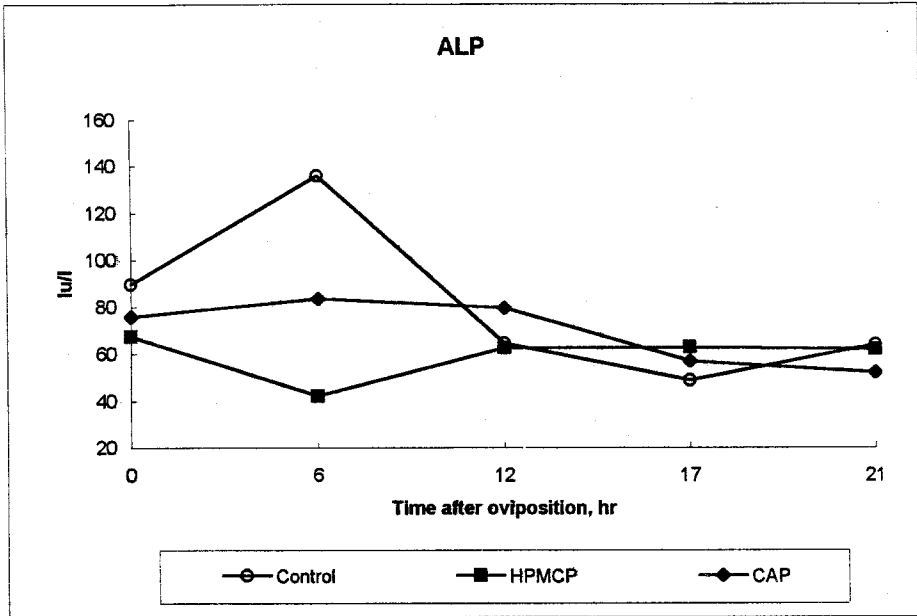
그리고 ALP의 oviposition후 경시적 변화(Fig. 28)를 보면 Control 처리군에서는 6시간째에 대체로 증가하는 경향을 보이고 있으나 Encapsulated limestone 급여구에서는 전체시간에 있어서 큰 변화가 없이 대체로 일정한 경향을 나타내었다. Paul과 Snetsinger(1969)에 의하면 ALP level은 Active shell calcification동안에는 oviposition 전, 후보다도 더 높은 수준을 유지하는데 이때가 oviposition후 8~9시간경이며, egg calcification으로 보면 calcification이 4~5시간 진행된 시간에 해당한다고 하였다. 그리고 사료에서 공급되는 calcium 공급량이 shell calcium의 1/2되는 양보다도 더 적게 공급되면 bone calcium의 방출량을 증가시키기 위하여 ALP 역가가 증가한다.

따라서 본실험의 결과 및 경시적 변화에서의 상이한 경향은 칼슘 급여원의 차이에서 기인한 결과로 예측되었다.

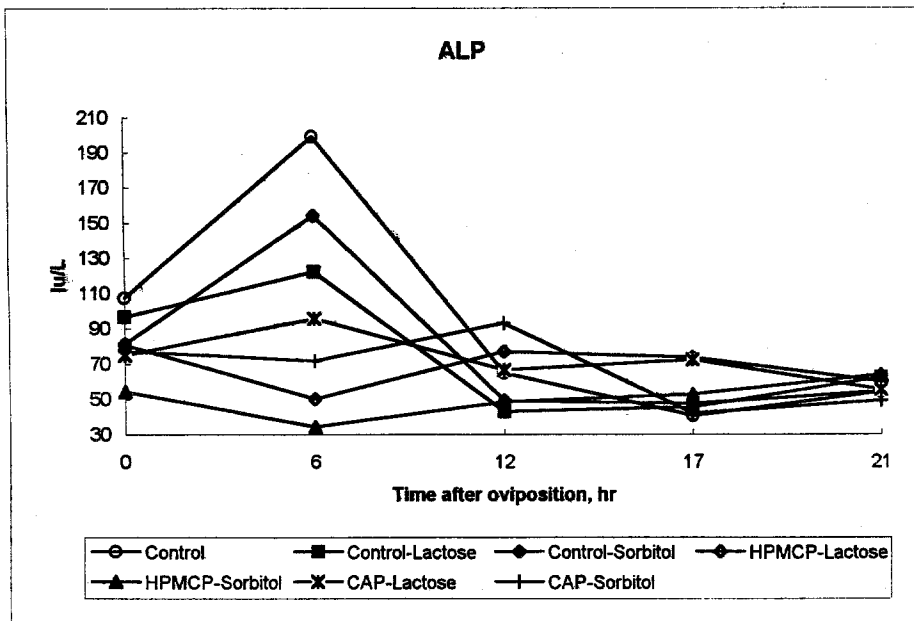
Table 23. Mean values of alkaline phosphatase activity in the plasma after oviposition time

unit : IU/L

Treat.	Sampling time after oviposition, hr					Mean
	0	6	12	17	21	
A	107.5	199.2	64.5	40.5	53.7	93.1
B	96.6	122.2	42.8	45.2	62.0	73.8
C	81.2	154.0	48.0	47.3	54.3	77.1
D	73.4	67.9	101.9	61.7	84.9	78.0
.....						
E	120.0	41.4	65.1	74.5	74.5	75.1
F	41.4	58.5	88.3	72.4	45.1	61.1
G	43.1	36.5	41.7	50.4	40.3	42.4
H	65.3	31.9	54.9	54.3	87.3	58.7
.....						
I	33.0	36.4	24.1	26.8	39.1	31.9
J	99.1	48.1	54.6	25.1	73.1	60.0
.....						
K	85.0	70.2	66.5	81.2	42.5	69.1
L	64.3	120.8	65.8	62.8	68.0	76.3
M	45.3	54.8	34.7	22.2	42.3	39.9
N	109.1	88.0	151.4	61.5	55.6	93.1



\* Control=A+B+C+D, HPMCP=E+F+G+H, CAP=K+L+M+N



**Fig 28. Changing pattern of alkaline phosphatase activity among encapsulation treatments after oviposition time**

\* Control=A, Control-Lactose=B, Control-Sorbitol=C, HPMCP-Lactose=E+F  
 HPMCP-Sorbitol=G+H, CAP-Lactose=K+L, CAP-Sorbitol=M+N

## 제 6 장 HPMCP의 피복함량별 난각질개선 효과

### 제 1 절 서 론

피복물질로써 HPMCP와 CAP의 급여실험에서 HPMCP처리구에서 난각의 질을 더 많이 향상시킬 수 있었다. 따라서 본 실험에서는 HPMCP의 피복함량별로 limestone을 제조하여 적절한 사용수준을 알아보려고 하였다.

### 제 2 절 실험재료 및 방법

#### 1. 석회석 및 Encapsulation 처리

사용한 석회석은 청주석회에서 일괄로 구입하였고, 10목, 20목의 석회석을 70 : 30(w/w)로 혼합한 후 Mesh No. 10, 25, 밀받침으로 조합하여 석회석을 sieving한 후 25mesh의 것을 사용하였으며, powder로는 밀받침에서 얻어진 것을 이용하였다. 그리고 HPMCP 함량 및 coating 물질의 사용량은 아래의 Table 24에 처리별로 표시하였다.



Table 24. Encapsulation formulation of limestone with HPMCP

Items	Limestone 25 Mesh				Limestone Powder	
	80	60	40	20	Powder	HPMCP-powder
Limesline, g	1600	1600	1600	1600	1600	1600
HPMCP, g	80	60	40	20	—	60
n-Butyl phthalate, g	8	6	4	2	—	6
Stearic acid, g	8	6	4	2	—	6

그리고 Table 에서 나타낸 함량은 작업시의 one batch에 사용된 량을 나타내었으며 limestone 25mesh의 경우 Encapsulation후 석회석 1600g 대비 무게증가 분량은 HPMCP 80은  $4.6\% \pm 0.27$ , 60은  $3.3\% \pm 0.25$ , 40은  $2.4\% \pm 0.12$  및 HPMCP 20은  $1.3\% \pm 0.41$ 로 집계되었다.

## 2. 실험동물 및 사양관리

실험동물로는 35주령의 Isa Brown 산란계를 처리구당 35수씩 배치하였고, 시료급여는 하루 3회, 오전 06:00, 오전 09:30 및 오후 02:00에 급여하였다. 그의 사양관리는 전 실험과(제4장) 동일하게 실시하였다. 그리고 실험처리로는 Control구에는 10목 및 20목의 석회석을 70:30(w/w)으로 혼합한 것을 8% 사용하였고 처리구에서는 사용한 석회석의 4%는 대조구의 석회석과 동일하였고 나머지 4%에 해당하는 함량은 가공된 석회석 즉, HPMCP 80, 60, 40, 20(Table 참조) 및 powder, HPMCP-powder를 사용하였다. 실험의 예비기간은 6월 14일에서 6월 23일까지 본 실험은 6월 24일부터 8월 8일까지 실시하였다.

기타 난각질 측정 및 통계처리도 제4장에서와 동일하게 실시하였다. 제5장에서

급여한 실험사료의 무기물 함량은 Table 25에서와 같이 분석되었으며 사료의 단백질 함량은 평균 15.5%로 나타났었다.

Table 25. Mineral contents of experimental diests

Items	Treatments						
	Control	HPMCP				Powder	HPMCP powder
		80	60	40	20		
Ca, %	3.64	3.54	3.63	3.57	3.68	3.51	3.41
P, %	0.63	0.60	0.60	0.60	0.60	0.63	0.63
Mg, %	0.25	0.25	0.26	0.25	0.25	0.24	0.24
Cu, ppm	20.75	20.97	19.64	19.66	20.75	19.85	20.80
Zn, ppm	72.15	71.90	71.23	69.38	69.44	71.44	71.31
Mn, ppm	93.90	94.88	91.99	89.20	89.29	93.40	94.10

### 제 3 절 결과 및 고찰

HPMCP의 피복농도별로 난각질에 미치는 여러 요인을 종합한 결과는 Table 26 에서 보는 바와 같으며 또한 뚜렷한 차이가 있었던 산란율, shell weight, SWUSA, Breaking strength 및 shell thickness등은 비교하기 쉽도록 Fig. 29, 30, 31에 표시하였다.

우선 Table 26에서 보듯이 HPMCP 60처리구의 산란율이 72.5%로써 대조구의 63.3%보다 9.2%나 향상된( $P < .001$ ) 좋은 경향을 나타내었다. 그리고 HPMCP 40처리구의 산란율도 상당히 좋은 것으로 평가되었다. 난중에 있어서는 limestone powder구에서 다소간 향상되었고 이를 제외한 다른 처리구에서는 서로 비슷하였다. 그리고 shell weight 및 shell %에서는 HPMCP 60처리구에서 가장 우수하였고 shell의  $\text{cm}^2$ 당 shell의 mg 함량을 의미하는 SWUSA 역시 HPMCP 60 처리구에서 가장 향상되었다.

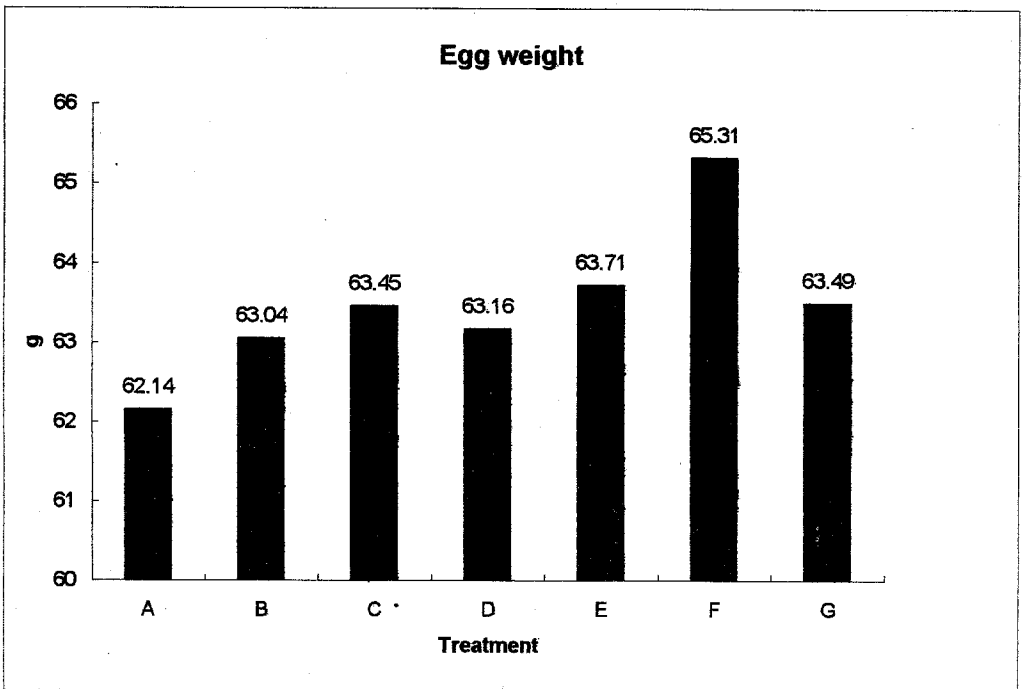
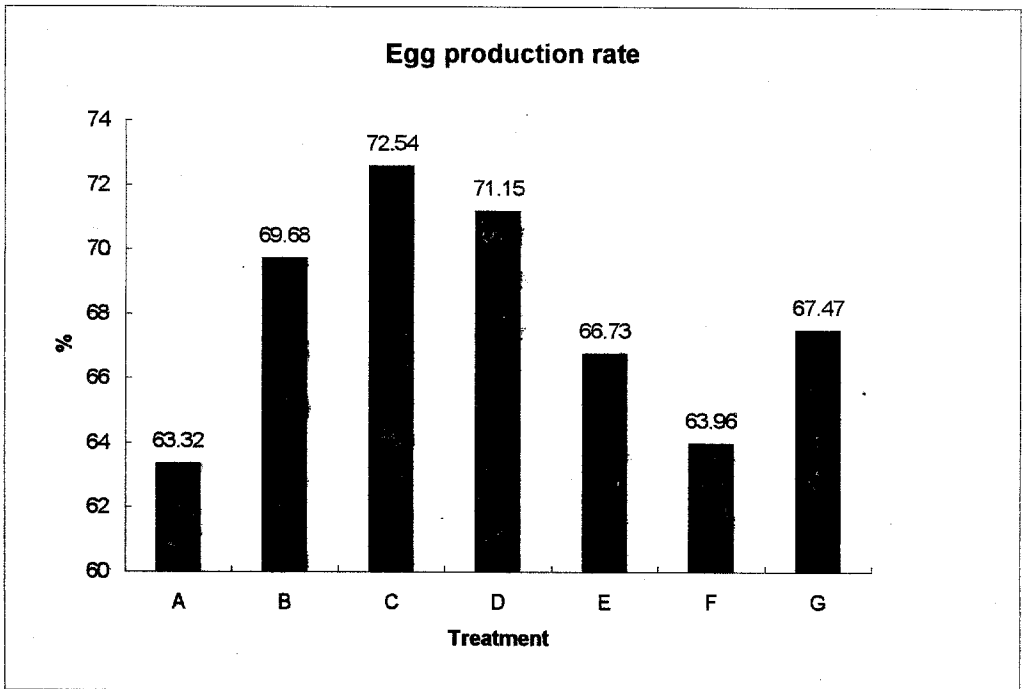
비중에서는 1.089~1.091로 서로간에 큰 차이를 보이지 않았다. 또한 계란의 난각파열에 중요한 요소인 Breaking strength 및 shell thickness 역시 HPMCP 60처리구에서 각각 2.962kg, 0.383mm로서 대조구의 2.719kg 및 0.373mm보다 크게 향상되었다. 따라서 specific strength 역시 HPMCP 60처리구에서 증가된 결과를 얻었다.

그리고 계란의 실제 운송 및 보관등의 조건이 계란 파열에 미치는 영향을 예측하기 위한 계란 충돌 성적에서도 HPMCP 60 처리구에서 37.7%가 파손되어 유의성은 없었으나 가장 적은 파손율을 나타내었다.

Table 26. Effect of limestone addition encapsulated with various amount of HPMCP on egg shell quality

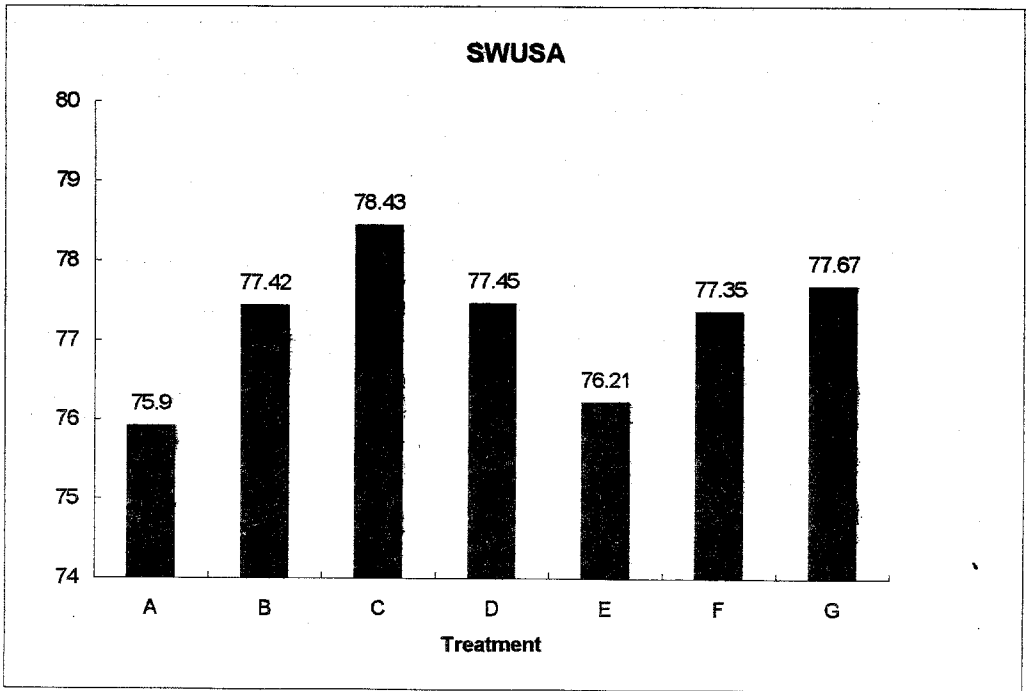
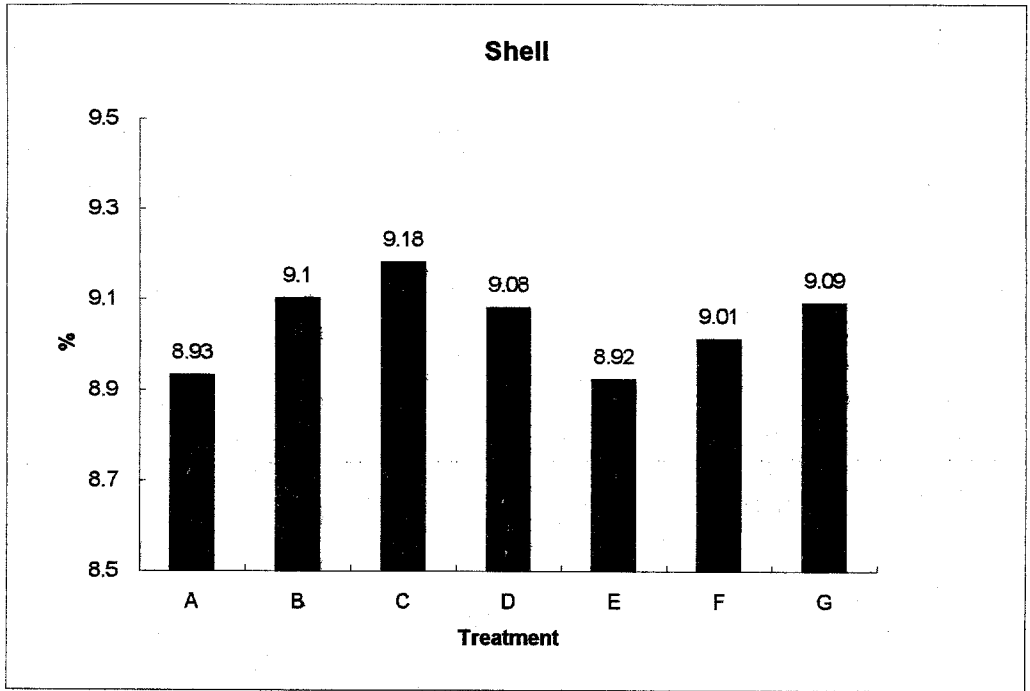
Items	Treatments							SEM
	Control	HPMCP				Powder	HPMCP Powder	
		80	60	40	20			
Egg production, %	63.32 <sup>c</sup>	69.68 <sup>ab</sup>	72.54 <sup>a</sup>	71.15 <sup>ab</sup>	66.73 <sup>bc</sup>	63.96 <sup>c</sup>	67.47 <sup>bc</sup>	3.45
Egg wt, g	62.14 <sup>c</sup>	63.04 <sup>b</sup>	63.45 <sup>b</sup>	63.16 <sup>b</sup>	63.71 <sup>b</sup>	65.31 <sup>a</sup>	63.49 <sup>b</sup>	0.41
shell wt, g	5.55 <sup>d</sup>	5.74 <sup>bc</sup>	5.83 <sup>ab</sup>	5.74 <sup>bc</sup>	5.68 <sup>c</sup>	5.86 <sup>a</sup>	5.79 <sup>ab</sup>	0.06
shell, %	8.93 <sup>c</sup>	9.10 <sup>ab</sup>	9.18 <sup>a</sup>	9.08 <sup>abc</sup>	8.92 <sup>c</sup>	9.01 <sup>bc</sup>	9.09 <sup>ab</sup>	0.09
SWUSA	75.90 <sup>c</sup>	77.42 <sup>ab</sup>	78.43 <sup>a</sup>	77.45 <sup>ab</sup>	76.21 <sup>bc</sup>	77.35 <sup>ab</sup>	77.67 <sup>a</sup>	0.73
Gravity	1.089	1.091	1.091	1.091	1.089	1.090	1.090	0.001
Breaking strength, kg	2.719 <sup>d</sup>	2.843 <sup>bc</sup>	2.962 <sup>a</sup>	2.867 <sup>abc</sup>	2.767 <sup>dc</sup>	2.823 <sup>bcd</sup>	2.922 <sup>ab</sup>	0.063
shell thickness, mm	0.373 <sup>cd</sup>	0.381 <sup>ab</sup>	0.383 <sup>a</sup>	0.376 <sup>bc</sup>	0.371 <sup>d</sup>	0.379 <sup>ab</sup>	0.381 <sup>ab</sup>	0.003
Specific strength	7.265 <sup>d</sup>	7.449 <sup>bcd</sup>	7.716 <sup>a</sup>	7.575 <sup>abc</sup>	7.430 <sup>bcd</sup>	7.363 <sup>cd</sup>	7.630 <sup>ab</sup>	0.145
Collision score, %	43.06	40.93	37.67	40.37	40.48	43.44	38.89	3.34

\* a, b, c, d =  $p < 0.001$



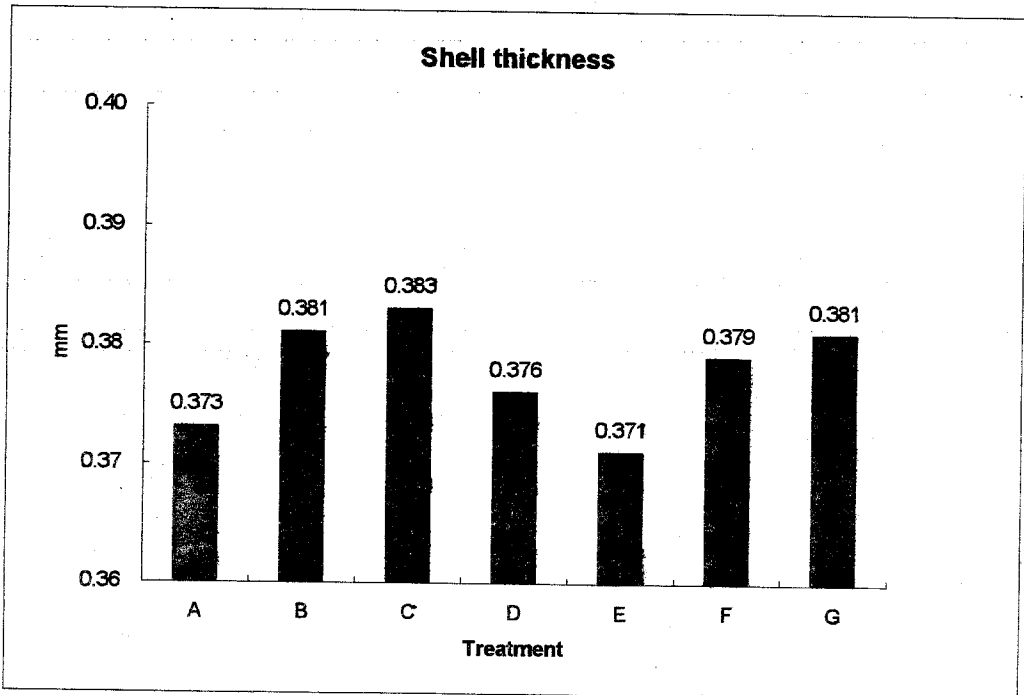
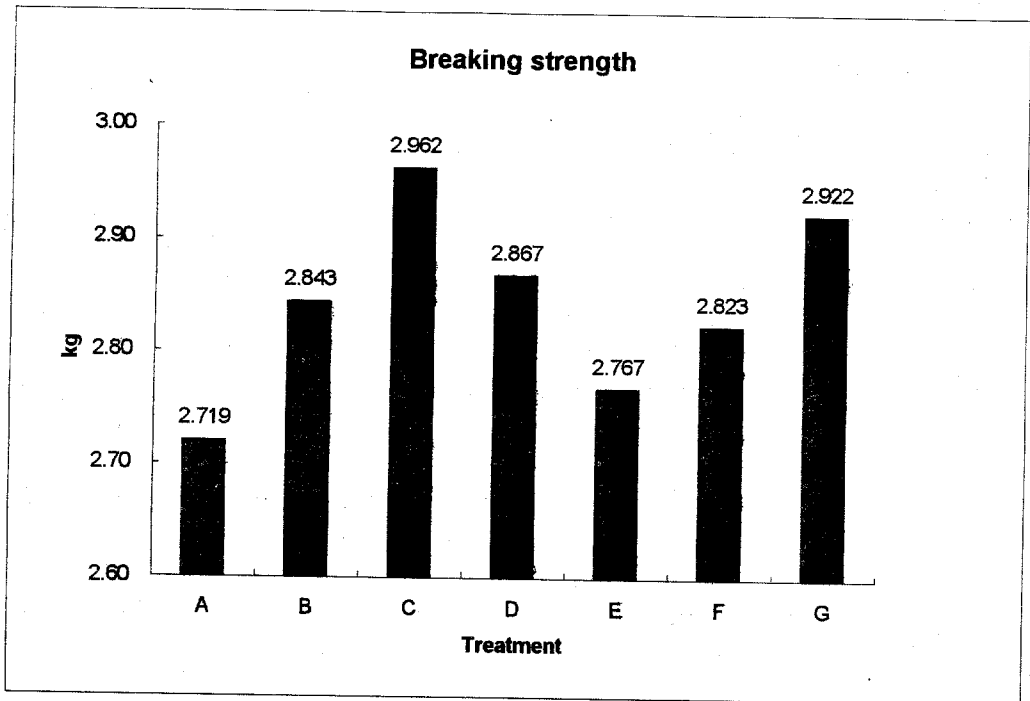
**Fig 29. Comparison of the egg production rate and egg weight**

**\* Control=A, HPMCP-80=B, HPMCP-60=C, HPMCP-40=D, HPMCP-20=E, Power=F, HPMCP-Powder=G**



**Fig 30. Comparison of the shell percentage and SWUSA**

\* Control=A, HPMCP-80=B, HPMCP-60=C, HPMCP-40=D, HPMCP-20=E, Power=F, HPMCP-Powder=G



**Fig 31. Comparison of the breaking strength and shell thickness**

\* Control=A, HPMCP-80=B, HPMCP-60=C, HPMCP-40=D, HPMCP-20=E, Power=F, HPMCP-Powder=G



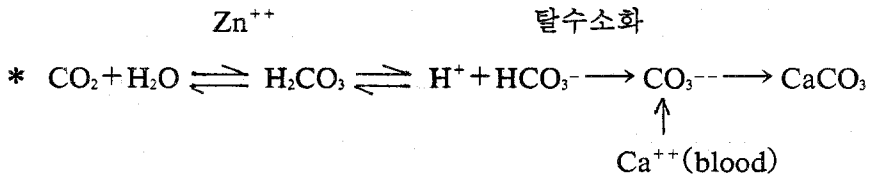
## 제 7 장 Zn와 Histidine 첨가시 난각질 개선 효과

### 제 1 절 서 론

흡수되어 blood로 들어온 Ca는 대부분 protein과 결합하고 있으며, 이것이 자궁부에서 유리된 후,  $\text{CO}_3^{--}$  이온과 결합하여  $\text{CaCO}_3$ 로 되어 난각에 침착한다. 이때 자궁부에서는 carbonic anhydrase 작용으로  $\text{HCO}_3^-$  이온이 탈수소하여  $\text{CO}_3^{--}$ 로 되므로, 이 효소 활성 저하시 연란을 생산한다.

- Carbonic anhydrase는 주로 erythrocytes에 있으며 Zn 함량에 따라 특별히 affinity가 변하는 enzyme이다. 따라서 Zn 부족시 이 enzyme의 catabolism은 거의 일어나지 않는다.

Carbonic anhydrase



따라서 Zn의 흡수율을 증가시켜 carbonic anhydrase activity를 blood, shell gland fluid등에서 증가시키면 shell formation시 난각형성을 향상시킬 수 있을 것으로 예상되었다. 그러나 Zn은 길항작용을 가지는 2가이온으로써 실제 흡수율이 불량할 수도 있다. 한편 histidine은 Zn의 ligand로 작용을 하므로 Zn의 흡수율을 30%~45% 정도 향상시키는 것으로 보고되고 있다(Sandstrom 등, 1985). 그리고 비타민 C도 칼슘의 흡수를 강화하여 뼈등에서 칼슘의 동원능력을 증가시켜서 shell quality를 향상(Orbon 등, 1993)시키며 Lactose 및 Citric acid 등도 칼슘

혹은 Zn의 흡수를 증가시키는 것으로 알려져 있다. 따라서 본 실험에서는 사료내 칼슘함량이 일정할 때 이러한 요인들이 난각의 질을 개선시킬 수 있는지를 평가하고자 하였다.

## 제 2 절 실험재료 및 방법

### 1. 석회석의 Encapsulation 및 실험처리

석회석의 Encapsulation은 제6장에서 사용한 것과 동일하였으며 Encapsulation은 제6장의 실험처리표(Table 24)중 HPMCP 60처리만을 사용하였다. 그리고 Coating후의 limestone 대비 무게 증가분량은  $3.50\% \pm 0.28$ 이었고, limestone 1600 g당 피복재료의 양은 4.5%로써 피복효율은 78%로 나타났다.

실험처리는 Table 27에 나타내었으며 Control 처리는 피복하지 않은 석회석 8%를 배합하였고 그의 다른 처리구에서는 Zn은 150mg/kg 및 vitamine D<sub>3</sub>는 2000IU/kg of complete feed을 동일하게 첨가한 후 처리구별로 Histidine 0.5%, Citric acid 1.5%, Vitamine C 0.25% 및 Lactose를 1.5% 배합하였다.

Table 27. Experimental design for zinc and histidine supplementation into laying hen feed

Items	Limestone		HPMCP limestone					
	Control	Zn <sup>+</sup> VitD <sub>3</sub>	Zn <sup>+</sup> VitD <sub>3</sub>	Histidine	Citric acid	VitC	Lactose	All
Limestone, % (70 : 30)	8	8	4	4	4	4	4	4
HPMCP 60 limestone, %	—	—	4	4	4	4	4	4
Zn, mg/kg	—	150	150	150	150	150	150	150
Vitamine D <sub>3</sub> , IU/kg	—	2000	2000	2000	2000	2000	2000	2000
Histidine, %	—	—	—	0.5	—	—	—	0.5
Citric acid, %	—	—	—	—	1.5	—	—	1.5
Vitamine C, mg/kg	—	—	—	—	—	2500	—	2500
Lactose, %	—	—	—	—	—	—	1.5	1.5

## 2. 실험동물 및 사양관리

실험동물로는 49주령의 Isa Brown 산란계를 처리구당 30수씩 배치하였고 그의 사양관리는 제5장에서와 동일하게 실시하였다. 예비기간은 9월 23일부터 10일 간이었고 그후 30일간을 계란을 수거하였고 혈액은 0, 5, 10, 15 및 20시간으로 구별하여 각 처리 및 각 시간당 6수를 도살하였다.

## 3. 난각질 측정, 화학분석 및 통계분석

난각질의 측정은 제4장의 방법과 동일하게 실시하였고 통계분석도 동일하였다. 실험에 사용된 처리별 배합사료의 무기물 함량은 Table 28에 나타내었으며, 사료내 단백질 함량은 평균 16.7%로 분석되었다. ALP activity의 측정은 제5장에서와 같이 sigma diagnostic kit를 이용하였고 Carbonic anhydrase activity의 측정은 Fig. 32의 반응장치를 만든 후 Wilbur와 Anderson(1948)의 방법에 준하였다. 즉, 항응고제를 혈액 ml당 20unit를 이용하여 총 경동맥 절단으로 얻은 혈액을 원심분리하여 혈구부분을 분리후 냉동하였다. 채취된 혈구는 해동후 5g을 sampling하여 증류수 25ml을 가하여 혼합후 30분간 방치한 후, 다시 2500g×15분 원심분리후 얻어진 상등액을 사용하였다. 그후 상등액 2ml, Buffer 4ml 및 1ml의 CO<sub>2</sub> solution을 Fig. 32 장치에서 혼합후 pH를 측정하였다. 이때 모든 조건은 0°C~1°C로 유지시켰으며 pH가 6.30에 이르는 시간을 측정하였다.

Table 28. Mineral contents of experimental dists

Items	Limestone			HPMCP limestone				
	Control	Zn+ VitD <sub>3</sub>	Zn+ VitD <sub>3</sub>	Histidine	Citric acid	VitC	Lactose	All
Ca, %	3.66	3.60	3.62	3.61	3.55	3.41	3.62	3.79
P, %	0.55	0.50	0.53	0.53	0.55	0.53	0.53	0.55
Mg, %	0.25	0.25	0.26	0.26	0.26	0.26	0.26	0.27
Cu, ppm	32.50	27.68	31.67	33.96	32.64	30.67	30.68	32.91
Zn, ppm	85.69	210.34	222.89	218.75	211.00	223.36	241.85	249.27
Mn, ppm	107.36	95.14	100.90	113.86	105.84	100.91	100.96	108.69

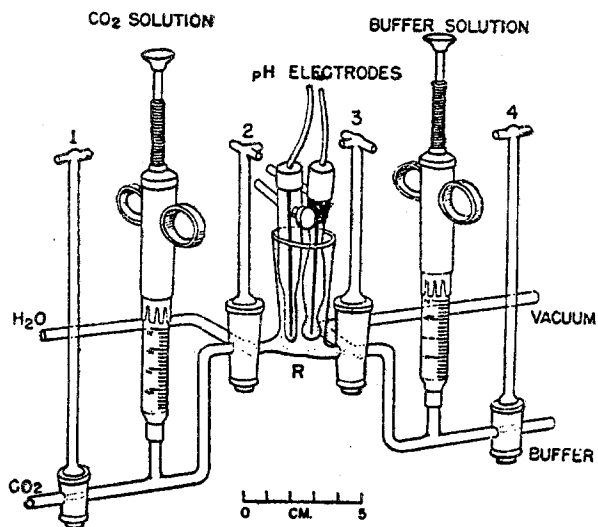
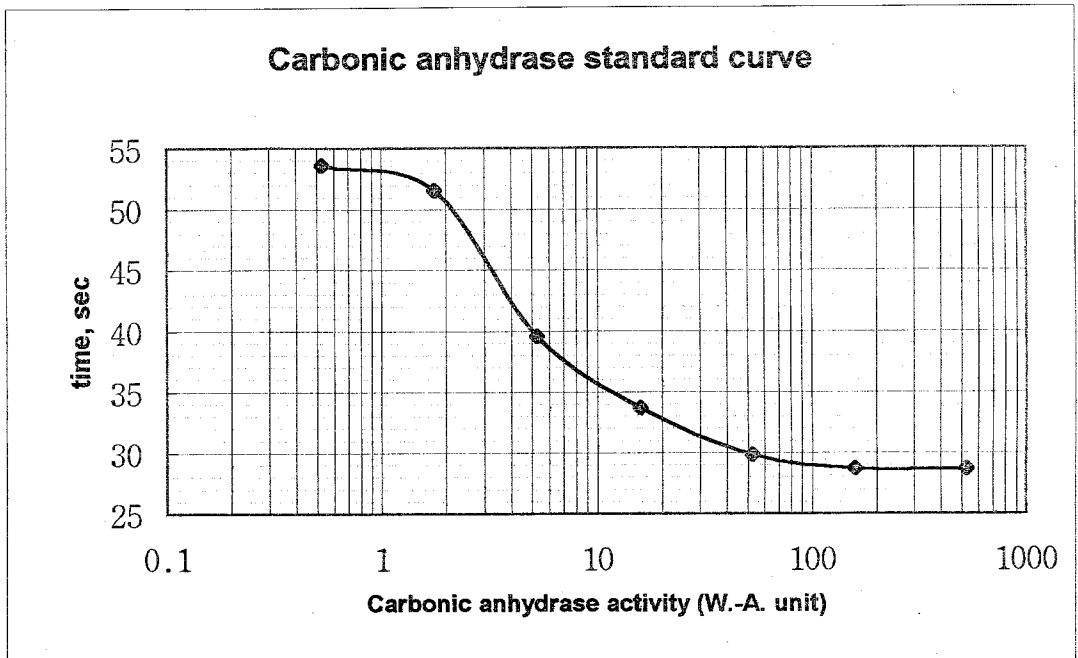


Fig 32. Apparatus for determination of carbonic anhydrase activity



W.-A. unit	Reaction, sec	W.-A. unit	Reaction, sec
0.5278	53.60 ± 1.19	52.780	29.82 ± 1.81
1.7593	51.58 ± 2.51	158.340	28.68 ± 1.20
5.2780	39.57 ± 2.06	527.80	28.70 ± 1.83
15.8340	33.68 ± 1.82	—	—

Fig 33. Conversion curve of carbonic anhydrase activity after measuring reaction time

그후 얻어진 반응시간(second)은, carbonic anhydrase 효소 단위당 얻어진 반응시간과의 그래프(Fig 33)와 비교하여 packed blood cell 9당 W. A unit로 나타내었다. 반응시간 측정시 Blank는 증류수를 사용하였고, 최대 반응시간은 75초로 종료하였다. 실제로 측정되어지는 평균 반응시간은 25초~55초 사이로 측정되어졌다.

### 제 3 절 결과 및 고찰

#### 1. 산란율 및 난각의 질에 미치는 영향

Zn의 급여원으로써 ZnO 및 Vitamin D<sub>3</sub>를 공동으로 첨가하고 HPMCP coating된 석회석을 급여했을 때의 난각질에 미치는 효과를 Table 29 및 Fig 34, 35, 36, 37에 나타내었다.

이들 처리에서 대조군 group의 control은 70 : 30(w/w, 10목 : 20목)으로 Mix한 석회석 첨가구였고, Zn+Vit D<sub>3</sub> 처리시 석회석은 control 처리와 같으며 Zn+Vitamin D<sub>3</sub>을 더 첨가한 것을 의미한다. Control과 Zn+Vitamin D<sub>3</sub> 처리를 비교해 보면 산란율 및 난각질 측정 항목의 거의 모든 조사항목에서 향상된 결과를 나타내었고, 특히 shell weight, shell %, SWUSA, shell thickness 및 shell thickness가 0.395mm 혹은 0.390mm 이상을 가진 계란의 생산 비율등에서는 유의한 향상을 나타내었다. 그리고 HPMCP 처리한 group중에서는 Histidine을 0.5% 첨가한 group에서 난각질이 가장 많이 향상되었다. 즉 산란율에서는 67%로써 대조구의 60%보다 약 7%이상 향상되었고 Egg weight 역시 3% 정도 향상되었다.

Shell weight에서는 HPMCP 처리구중 Zn+Vit D<sub>3</sub>, Histidine 및 Vitamin C 처리구에서 6.03~6.06g으로 가장 우수하였고, shell %와 SWUSA(mg of shell

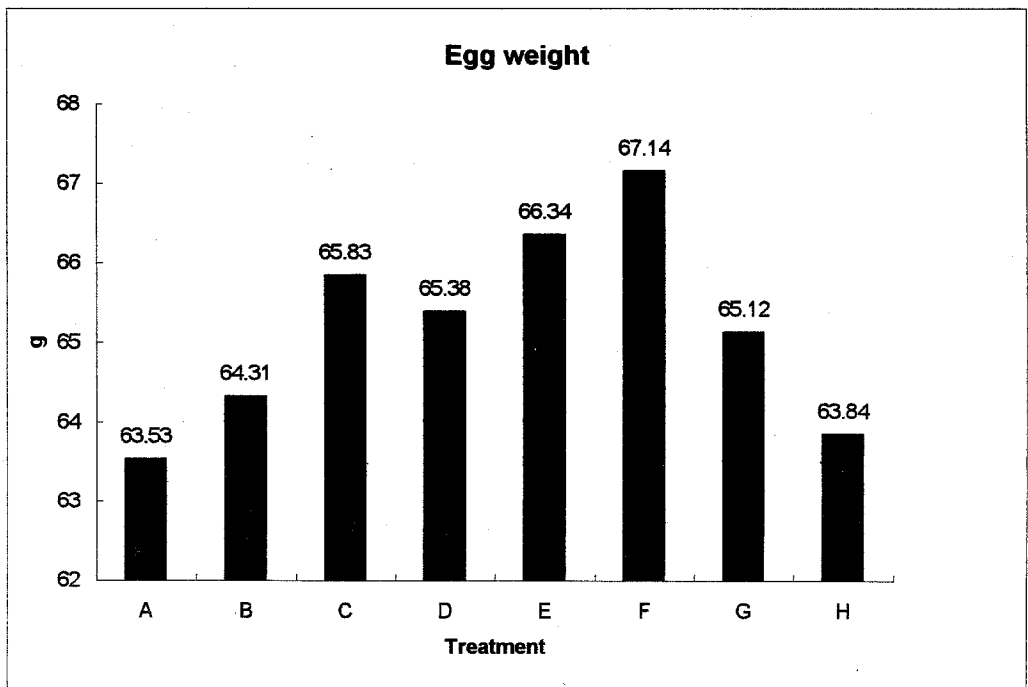
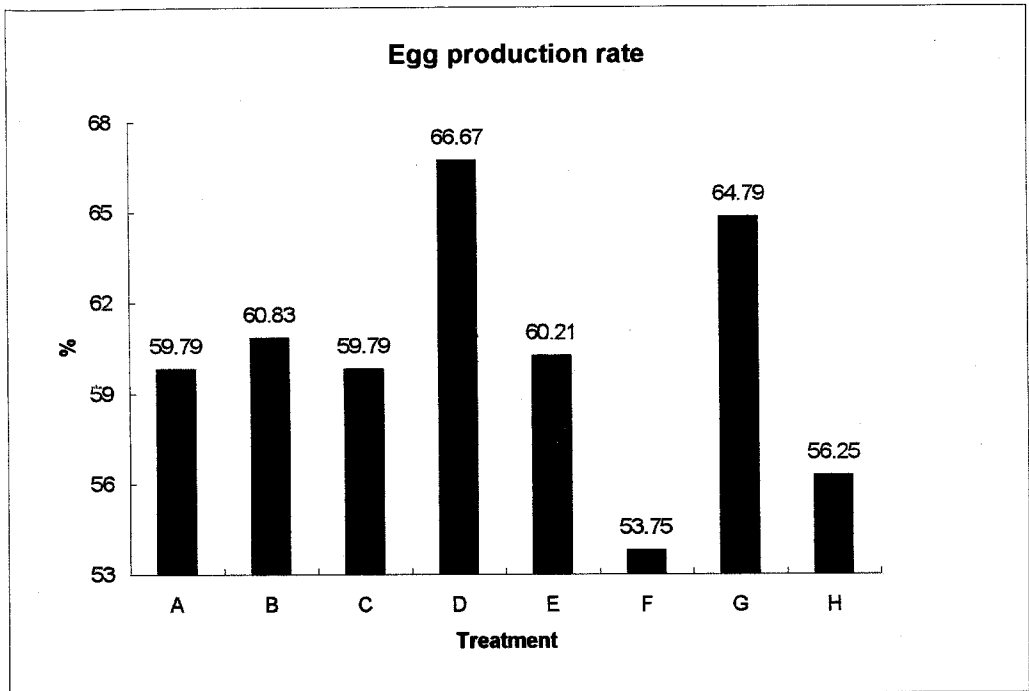


per cm<sup>2</sup> of surface area)에서는 HPMCP 처리구의 Zn+Vit D<sub>3</sub>, Histidine 및 all 처리구에서 가장 우수하였으며 HPMCP 처리를 하지 않은 Zn+Vitamine D<sub>3</sub>구에서도 좋은 성적을 보였다. 그리고 난각의 질 측정시 중요요소인 breaking strength와 shell thickness를 보면 HPMCP 처리구 중 Histidine 첨가시 각각 3.044kg 및 0.393mm로 우수한 성적을 나타내었으며, 전체 처리구에서 citric acid 첨가시 가장 불량한 결과를 보였다.

Table 29. Effect of HPMCP eccapsulated limestone with varius addition ingredients on egg shell quality

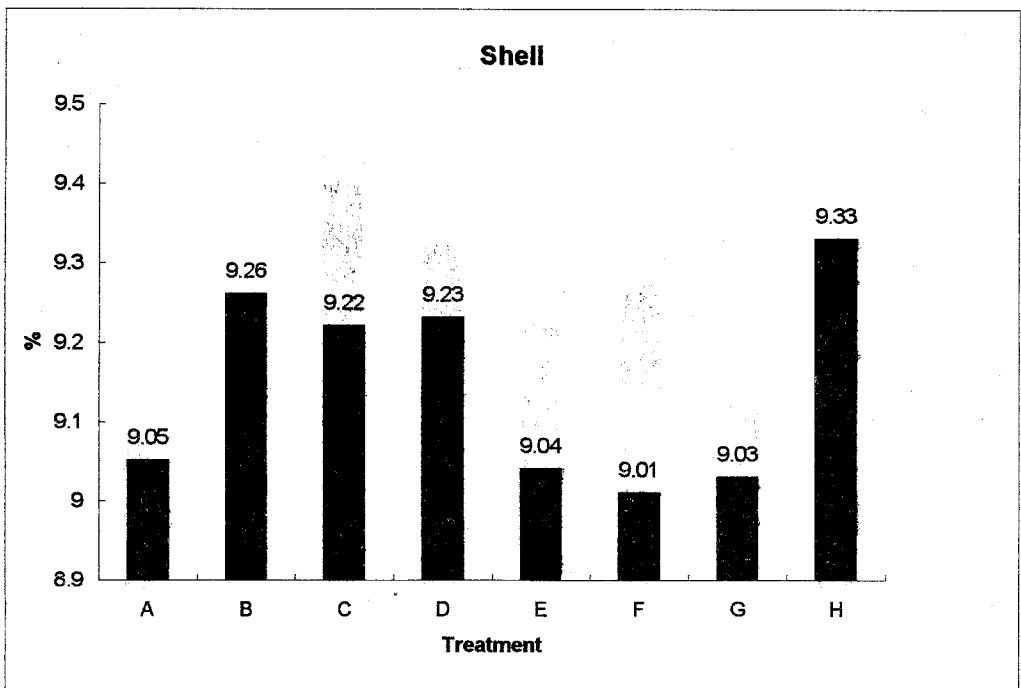
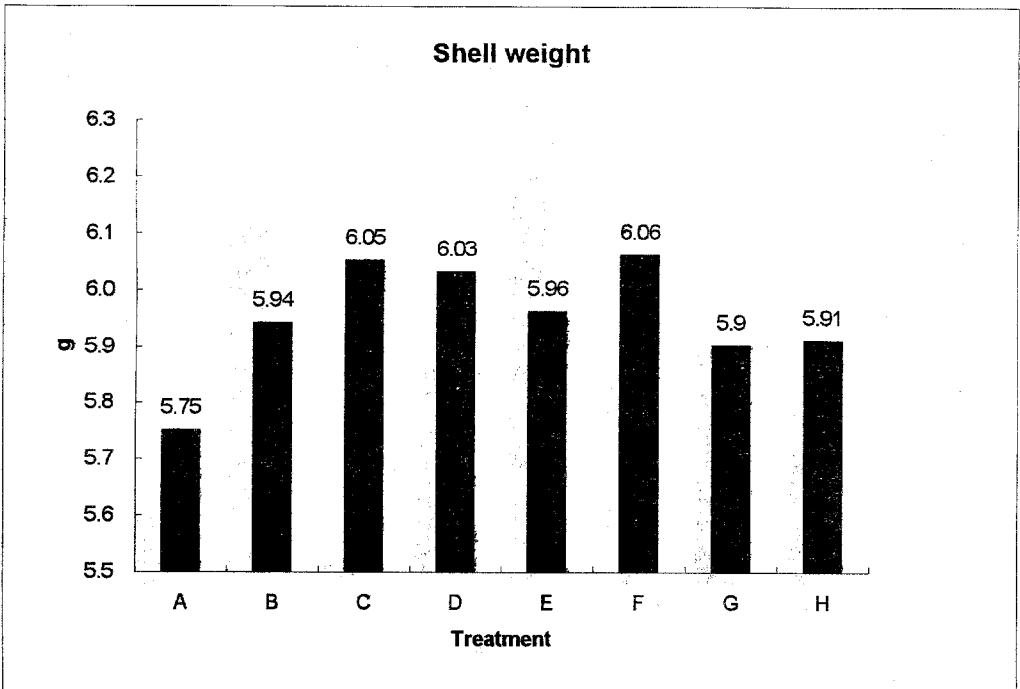
Items	Limestone		HPMCP limestone						SEM
	Control	Zn+ VitD <sub>3</sub>	Zn+ VitD <sub>3</sub>	Histidine	Citric acid	VitC	Lactose	ALL	
Egg production, %	59.79 <sup>ab</sup>	60.83 <sup>ab</sup>	59.79 <sup>ab</sup>	66.67 <sup>a</sup>	60.21 <sup>ab</sup>	53.75 <sup>b</sup>	64.79 <sup>a</sup>	56.25 <sup>b</sup>	2.99
Egg weight, g	63.53 <sup>c</sup>	64.31 <sup>dc</sup>	65.83 <sup>bc</sup>	65.38 <sup>c</sup>	66.34 <sup>ab</sup>	67.14 <sup>a</sup>	65.12 <sup>dc</sup>	63.84 <sup>c</sup>	0.30
Shell weight, g	5.75 <sup>c</sup>	5.94 <sup>ab</sup>	6.05 <sup>a</sup>	6.03 <sup>ab</sup>	5.96 <sup>ab</sup>	6.06 <sup>a</sup>	5.90 <sup>b</sup>	5.91 <sup>b</sup>	0.04
Shell %	9.05 <sup>bc</sup>	9.26 <sup>a</sup>	9.22 <sup>ab</sup>	9.23 <sup>ab</sup>	9.04 <sup>bc</sup>	9.01 <sup>c</sup>	9.03 <sup>bc</sup>	9.33 <sup>a</sup>	0.06
SWUSA	77.18 <sup>b</sup>	79.30 <sup>a</sup>	79.37 <sup>a</sup>	79.28 <sup>a</sup>	77.93 <sup>ab</sup>	78.08 <sup>ab</sup>	77.63 <sup>b</sup>	79.48 <sup>a</sup>	0.53
Gravity	1.088	1.090	1.089	1.090	1.088	1.088	1.088	1.090	0.001
Breaking strength, kg	2.893 <sup>BC</sup>	2.959 <sup>ABC</sup>	3.013 <sup>AB</sup>	3.044 <sup>A</sup>	2.860 <sup>C</sup>	2.909 <sup>BC</sup>	2.901 <sup>BC</sup>	2.973 <sup>ABC</sup>	0.041
Shell thickness, mm	0.386 <sup>bc</sup>	0.394 <sup>a</sup>	0.395 <sup>a</sup>	0.393 <sup>a</sup>	0.383 <sup>c</sup>	0.391 <sup>ab</sup>	0.390 <sup>ab</sup>	0.392 <sup>ab</sup>	0.001
specific strength	7.458	7.493	7.591	7.697	7.453	7.375	7.389	7.572	0.091
Collision score, %	43.50 <sup>a</sup>	42.50 <sup>ab</sup>	40.50 <sup>ab</sup>	39.50 <sup>ab</sup>	36.00 <sup>bc</sup>	43.00 <sup>ab</sup>	40.00 <sup>ab</sup>	32.50 <sup>c</sup>	2.35
Thickness $\geq$ 0.395, %	38.38 <sup>dc</sup>	54.59 <sup>a</sup>	51.41 <sup>ab</sup>	51.47 <sup>ab</sup>	34.52 <sup>d</sup>	40.76 <sup>dc</sup>	45.98 <sup>abc</sup>	44.38 <sup>bc</sup>	3.17
Thickness $\geq$ 0.395, %	41.51 <sup>d</sup>	62.21 <sup>a</sup>	60.10 <sup>ab</sup>	56.12 <sup>ab</sup>	43.46 <sup>dc</sup>	45.93 <sup>dc</sup>	52.08 <sup>bc</sup>	52.39 <sup>bc</sup>	3.18

\* SWUSA = mg of shell per cm<sup>2</sup> of surface area  
specific strength = Breaking strength/shell thickness  
\* A, B, C = P < .05, a, b, c, d : P < .001



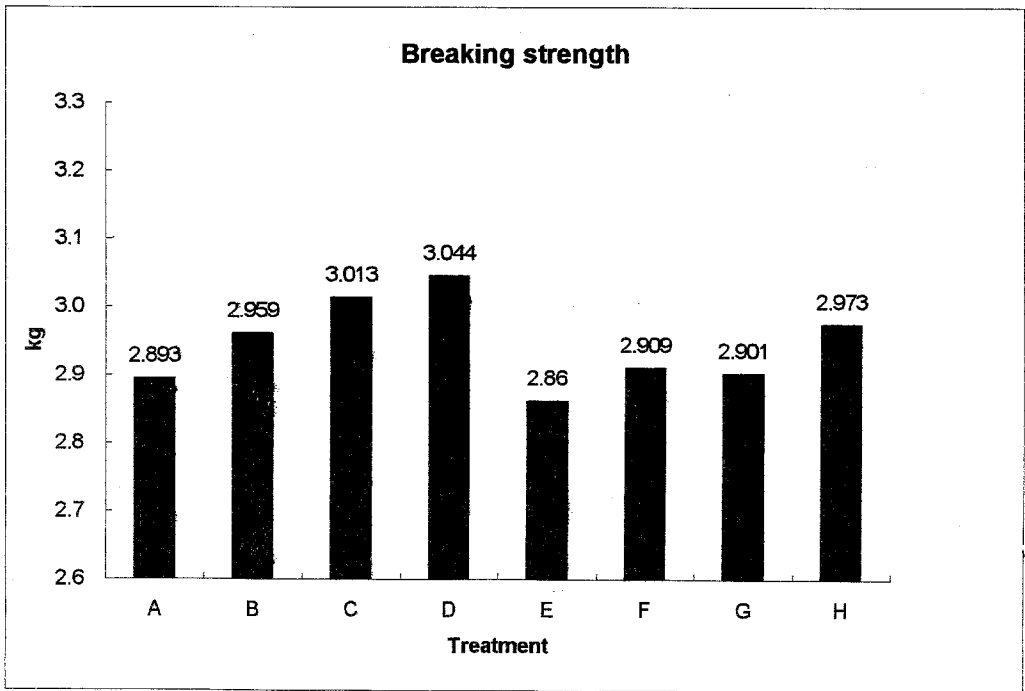
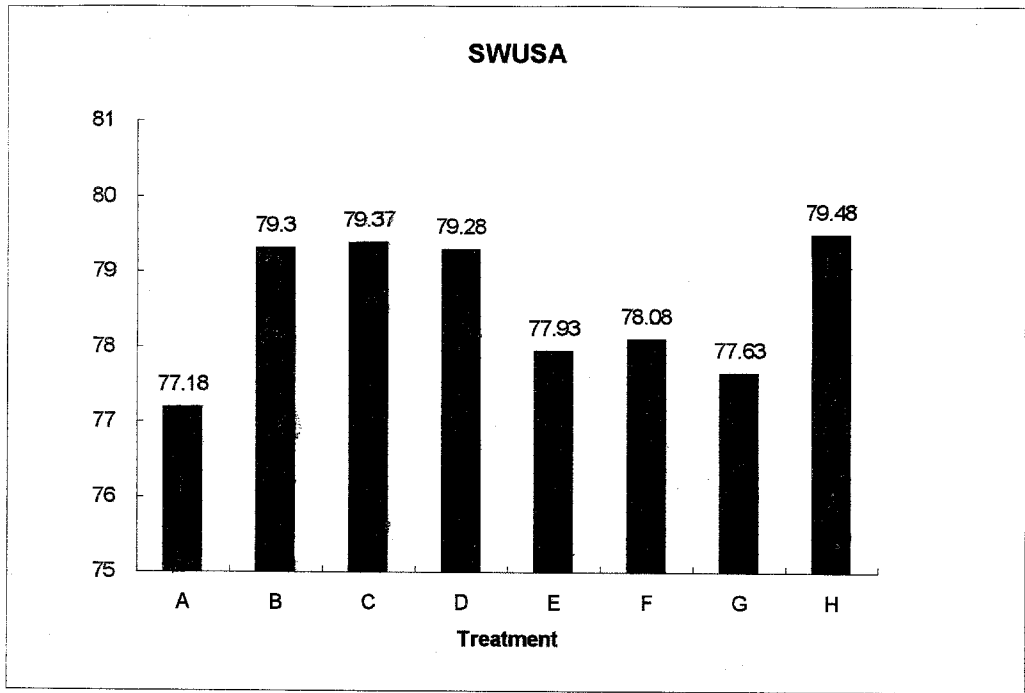
**Fig 34. Comparison of the egg production rate and egg weight**

\* Control=A, Zn+VitD<sub>3</sub>=B, H-Zn+VitD<sub>3</sub>=C, H-Histidine=D, H-Citrate=E, H-VitC=F, H-Lactose=G, H-All=H



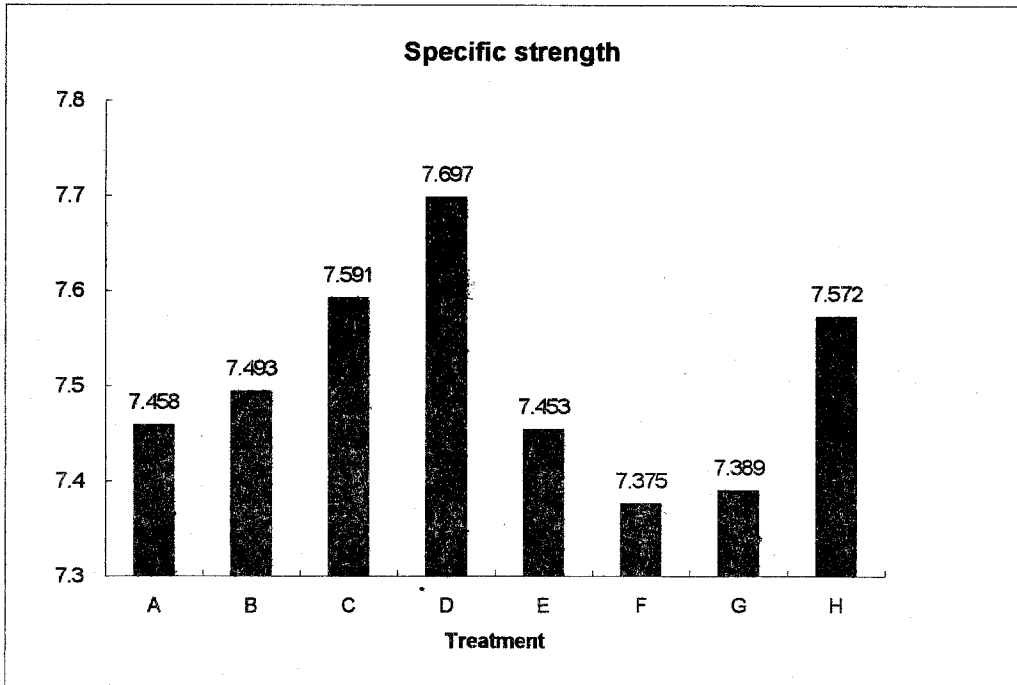
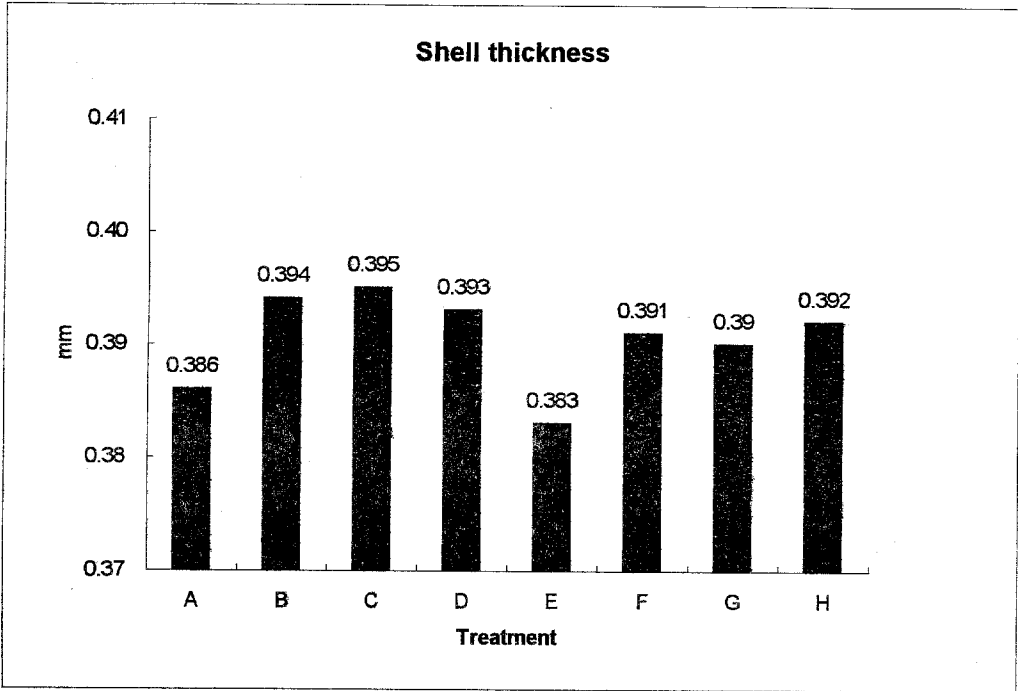
**Fig 35. Comparison of the shell weight and shell percentage**

\* Control=A, Zn+VitD<sub>3</sub>=B, H-Zn+VitD<sub>3</sub>=C, H-Histidine=D, H-Citrate=E, H-VitC=F, H-Lactose=G, H-All=H



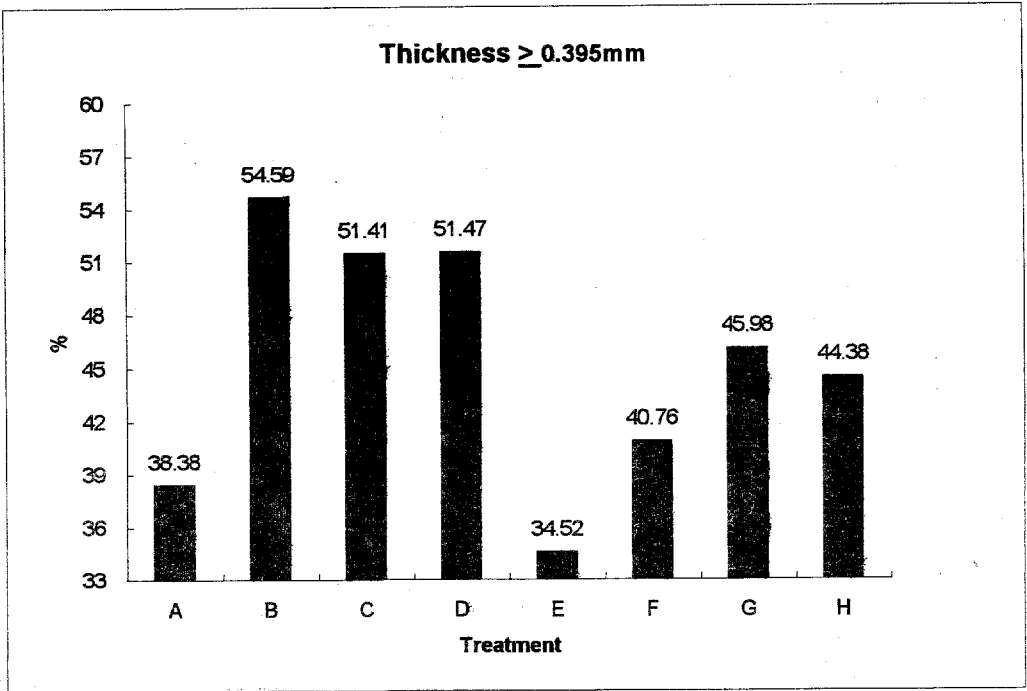
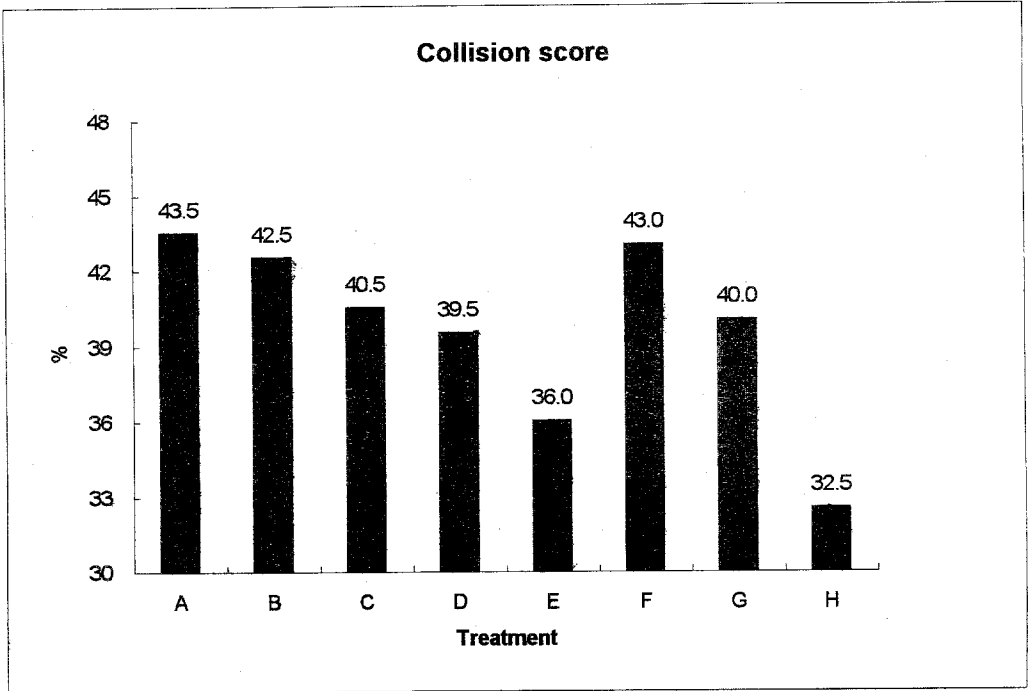
**Fig 36. Comparison of the SWUSA and breaking strength**

\* Control=A, Zn+VitD<sub>3</sub>=B, H-Zn+VitD<sub>3</sub>=C, H-Histidine=D, H-Citrate=E, H-VitC=F, H-Lactose=G, H-All=H



**Fig 37. Comparison of the shell thickness and specific strength**

\* Control=A, Zn+VitD<sub>3</sub>=B, H-Zn+VitD<sub>3</sub>=C, H-Histidine=D, H-Citrate=E, H-VitC=F, H-Lactose=G, H-All=H



**Fig 38. Comparison of the collision score and egg production rate with  $\geq 0.395\text{mm}$  shell thickness**

\* Control=A, Zn+VitD<sub>3</sub>=B, H-Zn+VitD<sub>3</sub>=C, H-Histidine=D, H-Citrate=E, H-VitC=F, H-Lactose=G, H-All=H

특별히 Zn+Vit D<sub>3</sub> 처리구, HPMCP 처리한 Zn+Vit D<sub>3</sub> 및 Histidine 처리구 사이에서 breaking strength는 각각 2.959, 3.013 및 3.044kg이었고, shell thickness는 각각 0.394, 0.395 및 0.393mm로 측정되었다. 즉 이러한 경향을 유추해보면 서로 비슷한 shell thickness에서도 breaking strength에서는 차이점이 발견되었으므로, HPMCP 처리한 limestone을 급여하므로써 난각의 석회질 결정체인 palisade와 mammillary knob layer등의 column 및 size 등을 더 치밀하게 형성시켰으므로 breaking strength가 향상된 것으로도 보여진다. 이러한 경향은 HPMCP 처리구중 All 처리에서도 발견되었다. 따라서 specific strength 및 계란의 충돌실험시 파손율에서도 HPMCP 처리구에서 향상된 결과를 보여주었다.

## 2. 혈액 성상에 미치는 영향

plasma에 함유된 칼슘함량은 Table 30 및 Fig 39에 나타내었고 인의 함량은 Table 31, 그리고 마그네슘 및 아연의 함량 변화는 각각 Table 32, 33 및 Fig 39, 40에 나타내었다. 칼슘의 함량에서는 전체 처리구간에서 평균 함량은 처리구간에 큰 차이점은 보이지 않았으나, Control group의 Control 처리, Zn+Vit D<sub>3</sub> 처리 및 HPMCP 처리구중 Histidine 처리구에서 약 250mg/l로 가장 많은 수준을 보였다. 그리고 Oviposition 후의 칼슘 함량 변화를 Fig 39에서 보면 대체로 10시간 대에서부터는 최저 수준을 유지하였으나 특히 HPMCP 처리한 Histidine구에서는 가장 완만한 감소 경향을 나타내어 다른 처리구와는 대조적이었다.



Table 30. Mean values of foetal calcium level in plasma at each sampling time after oviposition

Treatment	Sampling time after oviposition, hr					Total mean
	0	5	10	15	20	
	ppm					
C* Control	302	233	253	226	267	256
C* Zn+VitD <sub>3</sub>	310	308	208	185	242	250
Zn+VitD <sub>3</sub>	326	214	190	182	158	210
Histidine	289	280	267	218	202	254
H* Citric acid	293	277	200	146	171	217
H* Vit C	241	265	205	170	229	222
Lactose	313	229	196	168	174	216
All	286	264	159	176	185	214

\* C : Limestone group, H : HPMCP limestone group

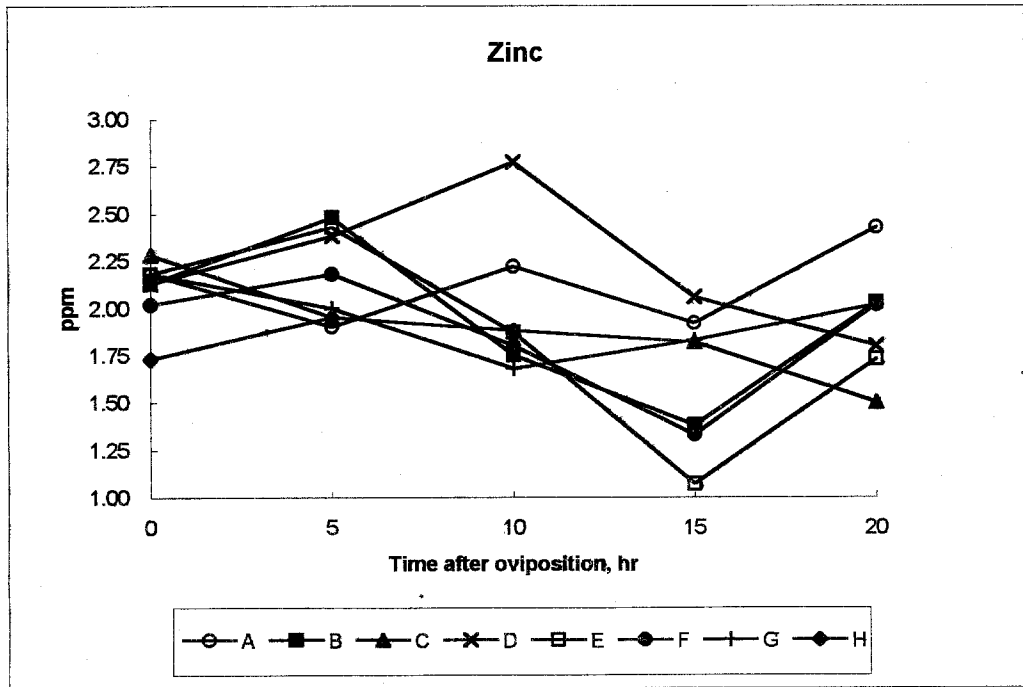
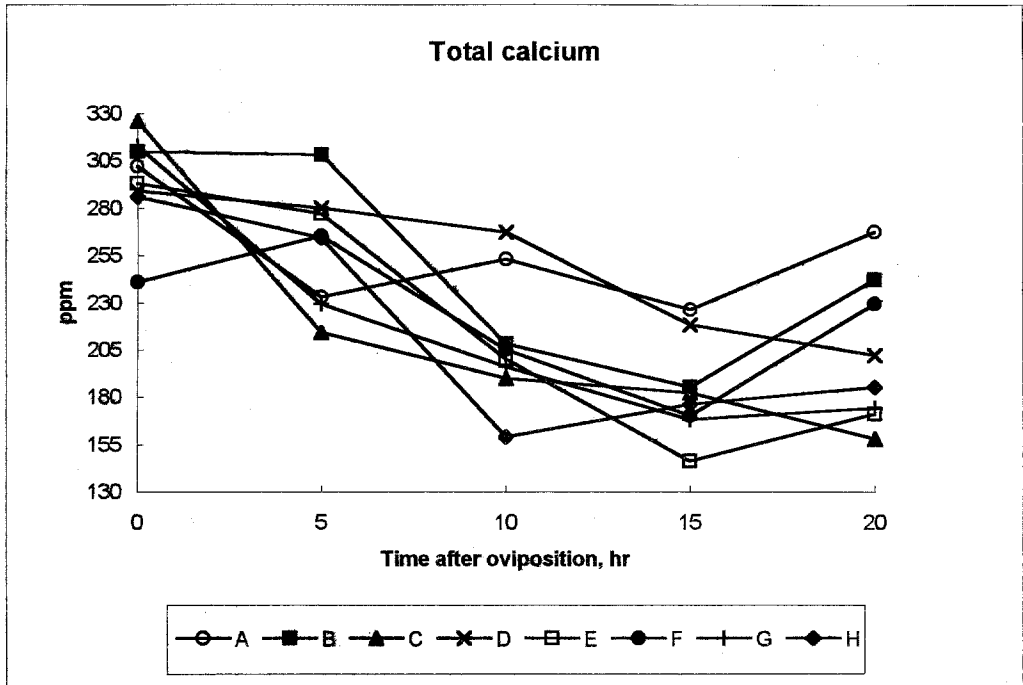


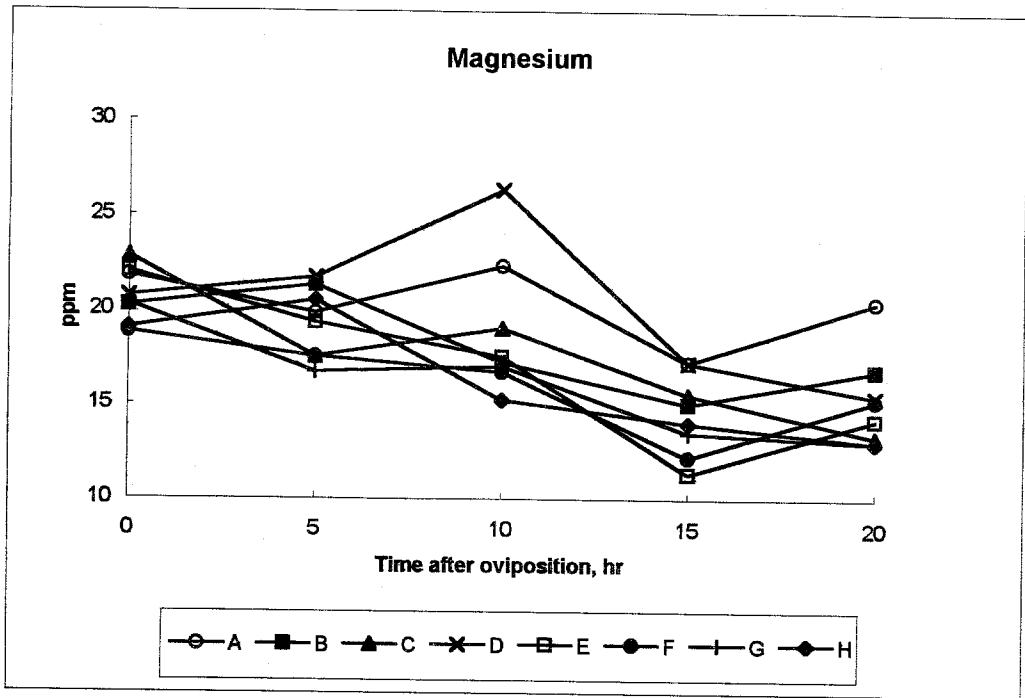
Fig 39. Changing pattern of calcium and zinc level in the plasma after oviposition time

\* Control=A, Zn+VitD<sub>3</sub>=B, H-Zn+VitD<sub>3</sub>=C, H-Histidine=D, H-Citric acid=E, H-VitC=F, H-Lactose=G, H-Ail=H

Table 31. Mean values of inorganic phosphorus level in plasma at each sampling time after oviposition

Treatment	Sampling time after oviposition, hr					Total mean	
	0	5	10	15	20		
	mg/dℓ						
C*	Control	2.90	2.67	2.84	2.67	1.83	2.58
	Zn+VitD <sub>3</sub>	3.26	2.51	2.47	1.21	1.34	2.16
H*	Zn+VitD <sub>3</sub>	3.45	2.32	2.25	1.64	1.66	2.26
	Histidine	2.75	1.89	3.63	1.93	1.18	2.37
	Citric acid	3.26	2.74	2.49	1.62	1.98	2.42
	Vit C	2.71	2.23	2.27	2.00	1.98	2.24
	Lactose	2.79	2.07	2.99	2.18	1.60	2.33
	All	3.36	2.87	3.22	1.66	1.19	2.46

\* C : Limestone group, H : HPMCP limestone group



**Fig 40. Changing pattern of magnesium level in the plasma after oviposition time**

\* Control=A, Zn+VitD<sub>3</sub>=B, H-Zn+VitD<sub>3</sub>=C, H-Histidine=D, H-Citric acid=E, H-VitC=F, H-Lactose=G, H-AlI=H

Table 32. Mean values of total magnesium level in plasma at each sampling time after oviposition

Treatment	Sampling time after oviposition, hr					Total mean
	0	5	10	15	20	
	ppm					
C* Control	21.8	19.8	22.3	17.2	20.4	20.3
C* Zn+VitD <sub>3</sub>	20.2	21.3	17.2	15.0	16.8	18.1
Zn+VitD <sub>3</sub>	22.8	17.5	19.0	15.5	13.3	17.5
Histidine	20.7	21.7	26.3	17.2	15.4	20.5
H* Citric acid	22.0	19.3	17.5	11.3	14.2	16.9
H* Vit C	18.8	17.5	16.7	12.2	15.2	16.1
Lactose	20.3	16.7	17.0	13.5	13.0	16.1
All	19.0	20.5	15.2	14.0	13.0	16.3

\* C : Limestone group, H : HPMCP limestone group

Table 33. Mean values of zinc level in plasma at each sampling time after oviposition

Treatment	Sampling time after oviposition, hr					Total mean	
	0	5	10	15	20		
	ppm						
C* Control	2.18	1.90	2.22	1.92	2.43	2.13	
C* Zn+VitD <sub>3</sub>	2.13	2.48	1.75	1.38	2.03	1.96	
	Zn+VitD <sub>3</sub>	2.28	1.95	1.88	1.82	1.50	1.87
	Histidine	2.13	2.38	2.77	2.06	1.80	2.25
H* Citric acid	2.18	2.43	1.87	1.07	1.73	1.86	
H* Vit C	2.02	2.18	1.80	1.33	2.02	1.87	
	Lactose	2.18	2.00	1.68	1.83	2.02	1.94
	All	2.13	2.57	1.77	1.73	1.95	2.03

\* C : Limestone group, H : HPMCP limestone group

그리고 plasma내 함유된 인의 평균함량은 2.4mg/dl로써 처리구간에 비슷한 함량이었고 Oviposition후 15시간 부터는 감소하는 경향을 나타내었다. 마그네슘 및 아연의 함량을 보면, 마그네슘의 경우 평균함량은 HPMCP 처리한 Histidine구에서 높은 수준을 유지하였고 이러한 경향은 아연의 함량에서도 동일하였다. oviposition후 함량변화는 5시간 및 10시간에서 각각의 처리구 별로 대체로 더 높은 수준을 보였으며 특별히 HPMCP 처리한 Histidine구에서는 10시간에서 마그네슘 및 아연 함량이 가장 높았으며 시간별 변화도 특징적이었다.

아연의 경우는 길항작용을 가지는 무기물으로써 Scholmerich등(1987), Sandstrom등(1985)에 의하면 아연의 ligand인 Histidine과 같이 급여시 serum내 아연의 농도를 25% 정도 증가시켰으며 흡수율은 35~45% 증가되었다고 하였다.

Vitamine C는 일반적으로 포유류 및 조류의 체내 합성이 불가능하므로 반드시 Diet로써 공급하게 된다. 산란계에서 Vitamine C 첨가시 산란율 및 난중, 난각질등이 개선되었다는 보고(Orban 등, 1993; Bell과 Marion, 1990) 및 효과가 없다는 보고(Rowland등, 1973)들이 있다. 동물에서 Ascorbic acid는 collagen 형성에 필요한 hydroxyproline 생산을 증가시켜 뼈 형성에 관여하고 있는 것으로 여겨진다(Weiser등, 1988; Dorr과 Balloun, 1976). 특히 Orban등(1993)에 의하면 Vitamine C를 산란계에 2,000~3,000ppm 첨가시 plasma 칼슘이 증가되었고 ionic calcium 수준에는 변화가 없었으며, 난중 및 비중이 향상되었다는 결과를 보고하였으나, 본 실험에서는 뚜렷한 차이를 발견하지 못하였다.

### 3. 혈액내 ALP 및 Carbonic anhydrase 역가의 변화

시간별로 채취한 혈액내 ALP 역가변화는 Table 34 및 Fig 41에 나타내었고 carbonic Anhydrase 역가의 변화는 Table 35 및 Fig 42에서 시간별 역가변화를 나타내었다.

ALP(alkaline phosphatase)역가는 모든 처리구에서 평균역가가 서로 비슷하였으나

HPMCP 처리구중 Vitamin C 처리구에서는 특별히 증가되었고 Lactose 구에서는 가장 낮은 수준을 보였다. 특히 시간별 변화에서 보면 Vitamine C 처리구의 경우 0시간에서 36IU/L에서 10시간째에는 119IU/L로 급격히 감소하였고, Lactose구의 경우 전체처리구 중 가장 낮은 수준을 유지하고 있었다. 또한 앞의 shell quality에서도 즉, shell %, specific strength에서도 불량하였고 또한 collision score에서도 대체로 높은 경향을 보였다.

또한 일반적으로 통상의 사료급여시 ALP는 난각형성의 증기에 증가하지만 본 실험의 경향은 전체적으로 5시간째부터 20시간째까지 거의 일정한 수준을 유지하고 있었다.

Carbonic anhydrase 역가의 변화를 보면 산란직후인 0시간대에 특별히 모든 처리구에서 높은 수준을 보인 후 급격히 감소하여 15시간에서는 최저수준을 나타내었다. 또한 HPMCP처리한 limestone을 급여한 Citric acid군 및 Vitamine C군에서 각각 300, 270 unit로써 예외적으로 높은 경향을 나타내었다.

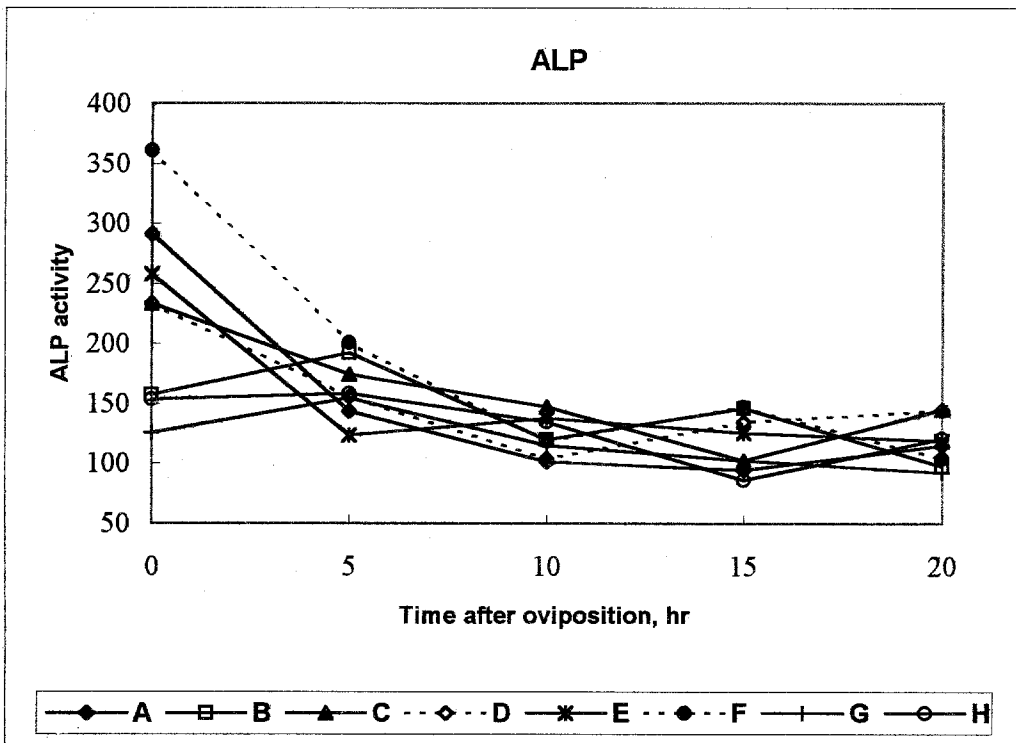


Table 34. Mean values of alkaline phosphatase activity in plasma at each sampling time after oviposition

unit : IU/L

Treatment	Sampling time after oviposition, hr					Total mean	
	0	5	10	15	20		
C*	Control	291.3	143.4	101.5	94.3	114.9	149.1
	Zn+VitD <sub>3</sub>	157.4	192.0	120.0	146.3	97.6	142.6
H*	Zn+VitD <sub>3</sub>	233.6	174.0	147.2	102.5	145.3	160.5
	Histidine	233.7	156.0	103.7	134.7	144.6	154.5
	Citric acid	257.8	123.6	137.7	125.7	118.8	152.7
	Vit C	360.8	200.7	119.0	147.0	103.8	186.3
	Lactose	125.4	154.8	115.0	102.2	92.4	118.0
	All	153.8	158.3	134.8	86.0	120.7	130.7

\* C : Limestone group, H : HPMCP limestone group



**Fig 41. Time interval variation of alkaline phosphatase activity in the plasma after oviposition time**

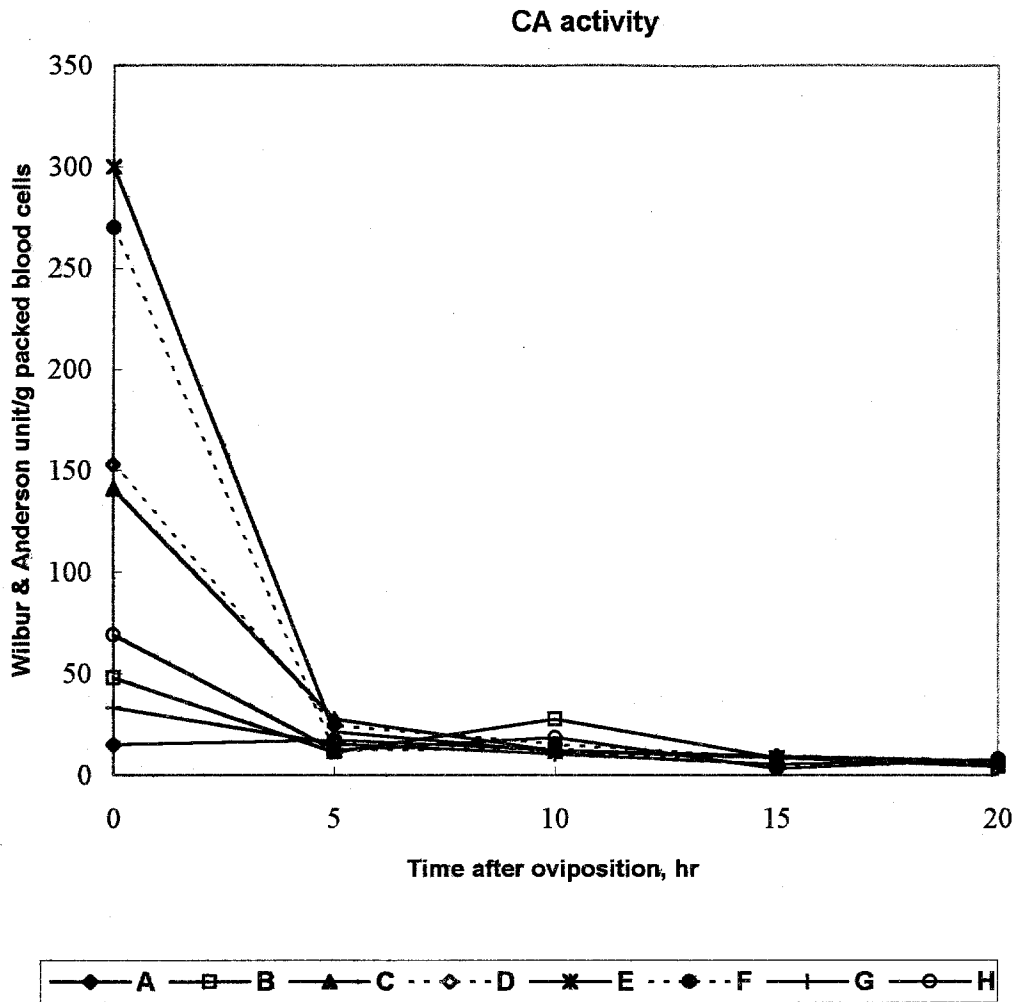
\* Control=A, Zn+VitD<sub>3</sub>=B, H-Zn+VitD<sub>3</sub>=C, H-Histidine=D, H-citric acid=E, H-vitC=F, H-Lactose=G, H-All=H

Table 35. Mean values of carbonic anhydrase activity in blood cells at each sampling time after oviposition

unit : Wilbur & Anderson unit/g packed blood cells

Treatment	Sampling time after oviposition, hr					
	0	5	10	15	30	
C*	Control	15.0	17.1	12.2	9.3	6.9
	Zn+VitD <sub>3</sub>	48.0	11.4	27.6	8.4	4.2
H*	Zn+VitD <sub>3</sub>	141.0	27.6	12.0	8.7	6.2
	Histidine	153.0	24.3	15.2	8.4	5.7
	Citric acid	300.0	21.3	11.7	8.4	5.4
	Vit C	270.0	12.2	13.2	4.8	7.2
	Lactose	33.0	15.3	10.2	5.4	7.5
	All	69.0	12.3	18.3	3.0	7.8

\* C : Limestone group, H : HPMCP limestone group



**Fig 42. Time interval variation of carbonic anhydrase activity after oviposition time**

\* Control=A, Zn+VitD<sub>3</sub>=B, H-Zn+VitD<sub>3</sub>=C, H-Histidine=D, H-citric acid=E, H-vitC=F, H-Lactose=G, H-All=H

이러한 경향은 본 실험만으로는 잘 설명될 수 없었으나, 높은 수준의 Acid 공급체 급여시(본 실험에서는 Vitamine C는 2500ppm 및 Citrate는 1.5% 첨가) 체내의 산·염기 전해질의 균형이 carbonic anhydrase 역가에 영향을 미쳤을 것으로도 사료되었다. 그리고, 이들 두 처리군을 제외하고 다른 처리들 간에 비교하여 보면 HPMCP처리한 급여구의 Zn+VitD<sub>3</sub>군 및 Histidine 첨가군에서 0시간에서 141, 153 Unit로써 가장 높았으며 또한 다른 처리군과 비교하여 5시간째까지도 상대적으로 높은 수준을 유지하였다. 그리고 난각질에서도 대체로 제일 많이 향상된 경향을 보여준 바 있다(Table 29).

Carbonic anhydrase(CA)는 shell 형성시  $CO_2 + H_2O \rightleftharpoons H_2CO_3$  작용을 통하여 calcium carbonate의 구성분인  $CO_3^{--}$  이온을 공급하므로 중요하다는 보고는 많다(Heald등, 1968; Salevsky와 Leach, 1980; Muller, 1962; Chang과 Stokstad, 1975). Lindskog(1960)에 의하면 bovine carbonic anhydrase enzyme은 16.1% N, 0.34% S, 0.21% Zn 및 0.049%의 Cu를 함유하고 있으며 Rat의 경우 CA는 mineralization 과정의 초기단계에서 carbonate ion을 공급하여 핵 형성(nucleation)을 유도한다고 하였다(Karei와 Nakahara, 1996). 산란계에서 CA 역가와 shell quality와의 관계를 살펴보면 Chang과 Stokstad(1975)는 CA activity는 shell gland보다 blood에서 훨씬 높으며 pesticide(DDE) 첨가시 CA 역가가 shell gland에서 55~65% 감소하였고 soft shelled egg를 생산하였으므로 CA가 shell thickness에 중요하다고 하였다. 또한 Hirakata등(1977)은 7개월령의 pullet와 20개월령의 hen을 비교시 shell quality와 shell gland의 CA역가 비교시 pullet에서 유의(P<.01)하게 높았다고 하였다.

그러나, Muller(1962)는 active shell formation시 CA역가는 증가되지 않으며 shell thickness와 CA역가와의 상관관계는 0.26~0.21로써 유의성이 없었으며 역시 Salevsky와 Leach(1980)도 shell calcification의 초기단계에서 shell gland내 CA역가와 shell 형성 stage간에는 상관관계는 없으며 thick 및 Thin egg shell

line간에도 CA의 catalyzed reaction rate가 각각  $36 \pm 4.1$ 초,  $38 \pm 2.4$ 초로써 유의한 차이가 없었다.

따라서, 이러한 보고들을 볼때 Heald등(1968)은 일반적으로 CA역가와 shell strength간에 상관은 없으며, 이것은 CA enzyme의 potential이 shell 형성시  $\text{CO}_3^{--}$  이온을 항상 적정하게 공급해 줄 수 있기 때문이라고 하였다.

## 참 고 문 헌

1. Atkinson, R.L., Kratzner, F.H., and Stewart, G.F. 1957. Lactose animal and human feeding : A review. *J.Dairy Sci.* 40 : 1114
2. Baumgartner, S., D.J. Brown, E. Salevsky, Jr., and R.M. Leach, JR. 1978. Copper deficiency in laying hen, *J.Nutr.* 108 : 804
3. Bell, D.E., and J.E. Marion. 1990. Vitamine C in laying hen diets. *Poult. Sci.* 69 : 1900
4. Bennett, J.K. 1988. Comparison of breaking strength and shell thickness as evaluators of egg shell quality. *Environ. Toxicol. Chem.* 7 : 351
5. Bolden, S.L., and L.S. Jensen. 1985. Effect of dietary calcium level and ingredient composition on plasma calcium and shell quality in laying hens. *Poult. Sci.* 64 : 1499
6. Bolden, S.L., L.S. Jensen and K. Takahashi. 1984. Responses in calcium and phosphorus metabolism and hepatic lipid deposition among estrogenized chicks fed various dietary ingredients. *J. Nutr.* 1984. 114 : 591
7. Briton, W.M. 1977. Shell membranes of eggs differing in shell quality from young and old hens. *Poult. Sci.* 54 : 647

8. Brommage, Robert., Claudine Binacua, Simone Antille and Anne-Lise Carrie. 1993. Intestinal calcium absorption in rats in stimulated by dietary lactose and other resistant sugars. *J. Nutr.* 123 : 2186
9. Chang, E.S., and E.L.R. Stokstad. 1975. Effect of chlorinated hydrocarbons on shell gland carbonic anhydrase, and egg shell thickness in japanese quail *Poul Sci.* 54 : 3
10. Claggett, C.O., E.G. Buss, and Y. Tamaki. 1977. Egg shell quality : Calcium metabolism in thick and thin shell genotypes. *Poul. Sci.* 56 : 1703(abstr.)
11. Clunies, M., D. Parks, and S. Leeson, 1992. Calcium and Phosphorus metabolism and egg shell thickness in laying hens producing thick or thin shells. *Poul. Sci.* 71 : 490
12. Combos, G. F., JR., A.H. Parsons and M. B. Ross. 1979. Calcium homeostasis in pullets of two lines selected for differences in egg shell strength. *Poul. Sci.* 58 : 1250
13. Dorr. P., and S.L. Balloun. 1976. Effect of dietary vitamine A. as corbic acid and their interaction on turkey bone mineralization. *Br. Poult. Sci.* 17 : 581
14. Fuchs. C., D. Dorn, C. McIntosh, and F. Scheler. 1976. Comparative calcium



- ion determinations in plasma and whole blood with a new calcium ion analyzer. *Clin. chim. Acta.* 67 : 99
15. Gay, C., and W. Mueller. 1973. Cellular localization of carbonic anhydrase in avian tissues by labeled inhibitor autoradiography. *J. Histochem. Cytochem.* 21 : 693
  16. Grunder, A.A., R.B. Guyer, E.G. Buss, and C.O. Claggett. 1978. Calcium binding in serum : quantitative differences between thick and thin shell lines. *Poult. Sci.* 57 : 1140(abstr.)
  17. Heald, P.J., and D. Pohlman. 1968. Shell strength and carbonic anhydrase activity of the shell gland of the domestic fowl, *Poul. Sci.* 47 : 858
  18. Hester, P.Y., Wilson, E.K., Pierson, F.W., and Fabijanska, I. 1980. Plasma inorganic phosphate, calcium, and magnesium levels of hens which laid soft-shelled or shell-less eggs, *Poul. Sci.* 59 : 2336
  19. Hirakata, Y., K. Hetsuka and T. Ohashi. 1977. Egg shell quality and carbonic anhydrase activity of the shell gland in the domestic fowe, *Bulletin of the Faculty of Agricaltre, Miyazaki Univ.* 24(1) : 1
  20. Hurwit Z. S. 1968. Calcium exchange in plasma of the fowl. *Biochim, Biophys, Acta.* 156 : 389

21. Hamiltan, R.M.G., K.G. Hollands, P.W. Voisey and A.A. Grunder. 1979. Relationship between egg shell quality and shell breakage and factors that affect breakage in the field. *World's Poul. Sci.* 35 : 177
22. Izat, A. L., Gardner, F.A., and Mellor, D.B. 1985. Effects of age of Bird and Season of the year on egg quality 1. Shell quality. *Poult. Sci.* 64 : 1900
23. Kakei, M., and H. Nakahara. 1996. Aspects of carbonic anhydrase and carbonate content during mineralization of the rat enamel. *Biochim. Biophys. Acta.* 1289 : 226
24. Karunajeewa, H. 1977. Effects of rearing regime, a chelating agent and the source of supplemental calcium and protein in the laying diet on egg shell thickness and performance of crossbred layers. *Aust. J. Exp. Agric. Anim. Husb.* 17 : 934
25. Leach, R.JR., and J.R. Gross. The effect of manganese deficiency upon the ultra structure of the egg shell. *Poul. Sci.* 62 : 499
26. Lindskog, S. 1960. Purification and properties of bovine erythrocyte carbonic anhydrase. *Biochim. Biophys. Acta.* 39 : 218
27. Meyer, R., R.C. Baker and M.L. Scott. 1973. Effects of hen egg shell and other calcium sources upon egg shell strength and ultrastructure. *Poult. Sci.* 52 : 949

28. Mueller, W.J. 1962. Carbonic anhydrase, diuretics and egg shell formation. Poul. Sci. 41 : 1792
29. Mueller, W.J. and R.M. Leach Jr. 1974. Effects of chemicals on egg shell formation. Ann. Rev. Pharm. 14 : 289
30. Nys, Y., T.M. N'Guyen, J. Williams and R.J. Etches. 1986. Blood levels of ionized calcium, inorganic phosphorus, 1,25-dihydroxy cholecalciferol and gonadal hormones in hens laying hard-shelled or shell-less eggs. J. Endocr. 111 : 151
31. Orban, J.I., D.A. Roland, S.R., K. Cummins, and R.T. Lovell. 1993. Influence of large doses of ascorbic acid on performance, plasma calcium, bone characteristics, and egg shell quality in broilers and leghorn hens. Poul. Sci. 72 : 691
32. Parsons, A.H. Structure of the egg shell. Poul. Sci. 61 : 2013
33. Paul, H.S. and D.C. Snetsinger. 1969. Dietary calcium and phosphorus and variations in plasma alkaline phosphatase activity in relationship to physical characteristics of egg shells. Poul. Sci. 48 : 241
34. Purohit, V.D. and I.C. Peoples. 1983. Effects of lauryl sulfate on egg-shell quality in laying hens. Brit. Poul. Sic. 24 : 517

35. Roland, Sr., Solan, D.A., and Harms, R.H. 1972. Calcium metabolism in the laying hen. 1. Calcium retention in the digestive tract on the laying bird. *Poul. Sci.* 51 : 598
36. Robinson, D.S., and N.R. King. 1970. The Structure of the organic mammillary cores in some weak egg shells. *Br. Poult. Sci.* 11 : 39
37. Rowland, L.O., Jr., D.A. Roland, Sr., and R.H. Harms, 1973. Ascorbic acid as related to tibia strength in spent hens. *Poult. Sci.* 52 : 347
38. Salevsky, E., JR., and R. M. Leach. JR. 1980. Studies in the organic Components of shell gland fluid and the hen's egg shell. *Poul. Sci.* 59 : 438
39. Sandstrom, B., L. Davidsson, A. Cederblad and B. Lonnerdal. 1985. Oral iron, dietary ligands and zinc absorption, *J. Nutr.* 115 : 411
40. Scholmerich, J., A. Freudemann, E. Kottgen, H. Wietholtz, B. Steiert. E. Lohle. 1987, Bioavailability of zinc from zinc-histidine complexes. 1. Comparison with zinc sulfate in healthy men. *Am. J. Clin. Nutr.* 45 : 1480
41. Scott, M.L., S.J. Hull and P.A. Mullenhoff. 1971. The calcium requirements of laying hens and effects of dietary oyster shell upon egg shell quality. *Poul. Sci.* 1971. 50 : 1055

42. Singh. C.R., O.N. Seth, R.K. Srivastava and K.Q. Husain, 1981. Effects of calcium on serum calcium and phosphorus and egg shell quality in an improved strain of white leghorn breed. *Vet. Res. J.* 4(2) : 114
43. Snapir, N., and M. Perek. 1970. Comparative studies of blood and uterus calcium levels, alkaline phosphatase and carbonic anhydrase activities in white leghorn and white plymouth rock hens, in relation to shell quality and production rate, *Poul. Sci.* 1970. 49(1) : 37
44. Stafford, J.E.H. and N.A. Edwards. 1973. Magnesium metabolism in the laying fowl. *Br. Poul. Sci.* 14 : 137
45. Taylor. T.G. 1970. The provision of calcium and carbonate for laying hens. In "Proceedings of the university of Nottingham Fourth Nutrition Conference for feed manufactures" Edited by H. Swan and D. Lewis. J. and A. Churchill, London. page 108.
46. Weiser. H., M. Schlachter, and H. Bachmann. 1988. The importance of vitamin C for hydroxylation of vitamin D<sub>3</sub> to 1 $\alpha$ , 25(OH)<sub>2</sub> D<sub>3</sub> and 24, 25(OH)<sub>2</sub> D<sub>3</sub> to a more active metabolite. pp 644-653 in., *Molecular, Cellular and Clinical Endocrinology*. Walter de Gruyter and CO., Berlin Germany.
47. Whisenhunt, J.E., and D.V. Maurice. 1985. Effect of dietary manganese and phosphorus on the strength of avian egg shell. *Nutrition Reports Internat.* 31(4) : 757