

## 가금 원료사료의 새로운 엽산 분석방법과 어린 육계의 엽산과 메티오닌의 요구량에 관한 연구

류경선 · 박강희 · 신원집

전북대학교 축산학과

### Studies on the Folic Acid and Methionine Requirements for Young Broiler Chicks Including New Analytical Methods for Folic Acid in Poultry Feedstuffs

K. S. Ryu, G. H. Rark and W. J. Shin

Department of Animal Science, Chonbuk National University

Chonju, Korea 560-756

#### ABSTRACT

In Experiment 1, microbial assays were conducted on 57 feed ingredient samples to determine the content of total folic acid using *Lactobacillus casei*(ATCC 7469). Folic acid contents of feed samples pretreated with conjugase,  $\alpha$ -amylase, and a mixture of protease(Pronase<sup>®</sup>)were corn,  $09 \pm 1.18(\mu\text{g} \pm \text{SD})$ ; fish meal,  $23.05 \pm 1.27$ ; milo,  $29.34 \pm 0.55$ ; bakery meal,  $25.80 \pm 6.93$ ; meat and bone meal,  $56.76 \pm 4.97$ ; wheat middlings,  $85.14 \pm 2.56$ ; and soybean meal,  $193.97 \pm 3.98$ . Experiments 2 and 3 were conducted to determine the effects of dietary supplemental folic acid and methionine on the performance of starting broiler chicks for 18 days. Four levels of dietary folic acid(0.24, 0.54, 1.14 and 2.34mg /kg) and four levels of dietary methionine(0.45, 0.53, 0.61, and 0.69%) were fed in a factorial design. The basal diet was based on corn, isolated soybean protein, meat and bone meal, and fish meal. It contained adequate amounts of all nutrients except methionine and folic acid in both experiments. Increased growth rate was observed in chicks fed the basal diet supplemented with either folic acid or methionine. Total dietary folic acid and methionine plus cysteine requirements for optimum growth were estimated to be 1.80 mg /kg and 0.89% in Experiment 2, and 1.47 mg /kg and 0.91% in Experiment 3, respectively. There were interactions between dietary folic acid and methionine on weight gain in both experiments. Chicks fed diets containing 2.34 mg folic acid /kg tended to display slow growth rate in both experiments. There was a significant linear feed conversion response to folic acid in Experiment 2, and a significant quadratic feed conversion response to methionine in Experiment 3. There were both linear and quadratic liver folic acid responses to dietary folic acid in both experiments. There was no indication that dietary methionine had any effect on liver folic acid content. The incidence of tibial dyschondroplasia increased with increasing supplemental methionine, but were no significant differences detected at 5% level.

이 논문은 1991년도 교육부 지원 한국학술진흥재단의 자유공모과제 학술연구 조성비에 의하여 연구되었음.

(Key words: folic acid, methionine, microbial assay, broiler)

## 서 론

엽산이란 산화된 pteroyl-glutamic acid 분자군에 대한 명칭이며(Farber 등, 1947). 이는 세부분 즉 pteroic acid, p-aminobenzoyl acid(PABA), polyglutamate (Whitely, 1971)로 나뉘어진다. 엽산은 일반적으로 pteridine 부분에서 folic acid reductase에 의하여 산화가 이루어져 tetrahydrofolic acid (THF)의 형태로 소장에서 흡수된다(Blakely, 1977).

사료에서 약 80%의 엽산은 polyglutamates 형태로 존재하며 대두는 52% mono-glutamate, 16% diglutamate, 18.5% pentaglutamat으로 구성되어 있다(Pedersen, 1988). 엽산은 식품내에 다당류 혹은 단백질과 결합되어 있으므로(Konovalova 등, 1974) 높은 수준의 전분과 단백질이 함유된 식품이나 사료 원료에서  $\alpha$ -amylase와 pronase<sup>®</sup>의 이용은 conjugase만을 이용하는 관행적인 방법에 비하여 현저히 높게 엽산을 유리할 수 있었다(Martin 등, 1990). 그 결과 AOAC(1990) 방법으로 분석된 사료 원료내 엽산 함량은 체계화 되어 있지 않다.

엽산은 homocysteine의 methionine의 합성을 위하여 choline과 상호 작용하는 조효소로서 알려져 있다(Dining 등, 1951). 육계 사료에 choline, methionine, betaine 등을 첨가하였을 시에 homocysteine을 methionine으로 변화시켜 주는 homocysteine methyl 전이효소 5-methyl THF homocysteine methyl-transferase는 육계에서 대조구에 비하여 그 수준이 낮았으며(Saunderson과 Mackinlay, 1990) 사료내 methionine을 낮은 수준으로 하였을 시에 5-methyl THF homocysteine methyl-transferase의 수준은 증가되었으며 methionine 결핍증을 나타냈다(Saunderson과 Mackinlay, 1990).

한편 엽산은 육계 사료내 지방과 단백질 수준이 증가됨에 따라서 요구량이 증가되었다. March와 Biely(1956)는 사료내 단백질 수준을 20%에서 26%로 하였을 때에 엽산의 요구량은 0.33 mg /kg에서 1.43 mg /kg으로 증가하였다고 하였다. Wong 등(19

77)은 육계에서 사료내 glycine 수준이 낮았을 때 엽산의 요구량은 1.69 mg /kg 이었을지라도 사료가 높은 수준의 glycine을 함유하였을 때 엽산의 요구량은 0.34에서 0.49 mg /kg 이었다고 하였다.

육계에서 엽산의 요구량에 영향을 미치는 인자는 여러 가지라 할 수 있는데 일반적으로 옥수수와 대두박, 어분을 주원료 사료로서 급여시에 사료내 엽산과 methionine이 충분하다. 그러므로 육계의 성장을 극대화하기에는 충분한 labile methyl group의 영양소를 함유하고 있기 때문에 엽산의 요구량을 결정하기에는 곤란하다(Pesti 등, 1991). 그러나 가금 사료 원료의 엽산 분석방법의 차이로 이러한 사료에서 엽산의 함량은 훨씬 낮을 것으로 보인다. 대두박의 경우 그 가공 방법은 압착 추출에서 hexane 등의 용매를 이용한 추출을 하므로서 압착 추출의 방식보다 더 낮을 것으로 보인다(Ewing, 1963). 또한 사료내 비타민과 광물질 첨가제의 수준에 따라 엽산의 이용률은 증가된다고 보고하였으며(Cropper와 Scott, 1967) 엽산의 활성도는 저장 시에 시간이 경과함에 따라서 현저히 저하된다고 보고되었는데(Mullin 등, 1982; Aramouni와 Godber, 1991) 가금 사료의 장기간 저장은 사료내 엽산의 수준을 감소시킬 수 있다.

원료 사료에서 엽산의 함량은 관행적인 방법만으로는 정확하게 평가할 수 없다(AOAC, 1990). 개선된 엽산분석 방법을 이용하면 육계 전기에서 엽산의 요구량은 원료 사료에 따라 차이가 있을 것이다. 육계 사료에 엽산의 첨가는 methionine의 첨가 수준에 따라서 그 요구량은 NRC(1984)보다 현저하게 높을 것으로 보인다. 그러므로 본 연구는 가금의 원료 사료에서 관행적인 방법에 비하여 발전된 방법으로 엽산의 분석을 통하여 육계 사료내 methionine의 수준에 따른 엽산의 요구량을 규명하고자 시행하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 실험 1

#### 1) 시약

엽산의 standard와 slant로 이용된 agar medium,

inoculum broth, assay media는 Difco(Detroit, MI 48232 USA)에서 구입하였으며, pronase®는 Chlbiochem(La Jolla, CA 92037 USA)에서,  $\alpha$ -amylase는 Sigma(St Louis, MO 63178 USA)에서 구입하였다.

## 2) 엽산의 추출

엽산의 추출 방법은 De Souza와 Eitenmiller (1990). 그리고 Martin(1990)의 방법을 변형하여 이용되었다. 엽산의 분석을 위하여 배양한 후 24시간 이내의 *Lactobacillus casei*가 inoculum broth 시험관에 6시간 동안 37°C에서 배양하여 접종하였다. standard는 0, 0.1, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0ng의 엽산이 각각 함유되었으며 이러한 standard와 sample은 121°C에서 5분간 autoclave하였으며 inoculum broth 한 방울씩 각각의 튜브에 접종하였다. standard와 sample은 24시간 동안 37°C에서 incubation 하였으며 AOAC (1990) 방법으로 측정하였다.

## 3) 통계 분석

엽산의 원료 사료내 함량은 Rao등(1987)이 개발한 computer program에 의하여 계산되었으며 처리간의 분산 분석은 SAS(1985)로서 Duncan 검정을 하였다.

## 2. 실험 2와 3

실험 2와 3은 동일한 실험으로서 기초 사료는 옥수수와 대두粕으로 하였을 시에 함유황 아미노산과 엽산을 제외하고 NRC(1984) 영양소 요구량을 충족시켰다(Table 1). 시험 설계는 사료내 0.77, 0.85, 0.93, 1.01% 함유황 아미노산과 0.24, 0.54, 1.14, 2.34 mg /kg의 엽산을 첨가한 4×4 요인 시험으로서 설계하였다.

## 1) 조사항목

증체량, 사료효율, 간의 엽산함량, 골회분, 경골각약 증

**Table 1.** Composition of the basal diet of Experiment 2 and 3

Ingredients	Amounts (%)
Corn	72.86
Fish meal	14.00
Isolated soybean protein <sup>1</sup>	6.40
Meat and bone meal	5.00
Poultry fat	1.60
Vitamin premix <sup>2</sup>	0.05
Mineral premix <sup>3</sup>	0.05
Salt	0.04
Composition estimated from basal diet :	
Metabolizable energy (kcal /kg)	3.289
Crude protein (%)	23.00
Methionine+cystine (g /kg)	7.73
Choline (g /kg)	1.151
Folic acid (mg /kg)	0.24

<sup>1</sup> It is from Assay protein RP 101, a purified, high quality chemically isolated soybean protein, purchased from Ralston Purina Feed Mill Company.

<sup>2</sup> Vitamin premix provides followings per kg of diet (mg): vitamin A, 5500 IU; vitamin E, 11 IU; vitamin D<sub>3</sub>, 1100 ICU; menadion (as menadion sodium bisulphite) 1.1; riboflavin 4.4; calcium pantothenate 12; niacin 44; choline chloride 200; vitamin B<sub>12</sub> 0.009; pyridoxin 3.0; thiamin (as thiamin mononitrate) 2.2; biotin 0.3; ethoxyquin 125.

<sup>3</sup> Mineral premix provides followings per kg of diet(mg): Mn 120; zinc 100; iron 60; copper 10; iodine 2.10.

## 2) 통계분석

SAS(1985)를 이용한 일차 회귀와 Duncan 검정에 의하여 처리간의 유의성을 검정하였다.

전 시험구에서 실험 기간은 1일령 육계를 공시하여 18일 동안 실시하였으며 9일과 18일에 중체량, 사료섭취량, 사료효율을 측정하였다. 사료내 엽산의 함량은 De Souza와 Eitenmiller(1990)의 방법으로 분석하였다. 시험 종료 시에 혈액은 심장으로부터 채취하였으며 경골각약증은 좌측 경골로서 측정하였다. 경골각약증은 Edwards와 Veltman(1983)의 방법으로 측정하였고 골회문은 AOAC(1955)의 방법으로, valgus와 varus는 Julian(1984)의 방법으로, 간 지방은 Folch 등(1957)의 방법으로서 측정하였다.

## 결과 및 고찰

### 1. 실험 1

본 시험의 결과는 가금의 원료 사료에서 엽산분석을 위하여  $\alpha$ -amylase와 pronase<sup>®</sup>를 첨가하므로서 엽산 함량은 Martin(1990)등과 De Souza와 Eitenmiller(1990)가 여러가지 식품에서  $\alpha$ -amylase와 pronase<sup>®</sup>를 첨가한 구에서 유리된 엽산 함량은 대조구에 비하여 증가되었다는 보고와 일치한다. 원료 사료의 엽산분석을 위하여  $\alpha$ -amylase와 pronase<sup>®</sup>를 첨가하-

므로서 conjugase만을 이용하는 관행의 엽산 분석 방법에 비하여 평균 24.3% 이상의 증가를 가져왔다 ( $p<0.05$ ) (Table 2). 과자박은 원료 사료에서 구성 성분의 차이로 인하여 변이가 심하였으므로  $\alpha$ -amylase와 pronase<sup>®</sup>를 첨가한 처리구에서 현저하게 엽산의 함량이 증가되었음에도 불구하고 처리간의 통계적인 유의성이 없었다. 과자박, 어분, 육골분, 밀기울의 엽산함량은 NRC(1984)의 성분 분석표와 비슷하였으나 사료의 주요 원료인 옥수수와 대두박의 경우에는 훨씬 낮았음을 보여준다. 옥수수와 대두박의 경우에 엽산의 함량이 저하되었던 요인은 엽산 분석 방법에서의 차이(Khalsa, 1982)와 유통과정에서 저장되었던 기간(Hunt, 1984), 종의 변화(Mullin 등, 1982), 가공의 방법(Cropper와 Scott, 1967; Lee, 1982)의 차이에 기인된 것으로 생각된다.

### 2. 실험 2와 3

사료내 methionine 혹은 엽산의 첨가구는 대조구에 비하여 중체량과 사료효율에서 통계적인 유의차 ( $P<0.05$ )가 있었다. 18일령 육계에서 1.46, 1.80 mg /kg의 사료내 엽산 수준은 성장을 극대화시켰으며 1.62, 0.86 mg /kg의 사료내 엽산 수준에서 사료효율을 개선하였다(Table 3). 실험 2와 3에서 최적의 사료효율을 위한 사료내 함유황 아미노산 수준은 각각 0.89%와 0.91% 그리고 0.88%와 0.91%를 보였는데

**Table 2.** Effects of various different treatments on folate contents( $\mu\text{g} / 100\text{g} \pm \text{SD}$ ) of feed ingredients

Source	Sample size	Free folate	Conjugase digestion	C+A+P <sup>1</sup> digestion	Increase %
Corn	14	8.6 <sup>c</sup> ±0.4	18.6 <sup>b</sup> ±0.7	22.9 <sup>a</sup> ±2.0	23.0
Fish meal	7	13.8 <sup>c</sup> ±0.6	19.1 <sup>b</sup> ±1.1	22.0 <sup>a</sup> ±1.2	15.5
Milo	4	9.2 <sup>c</sup> ±0.4	18.7 <sup>b</sup> ±1.8	29.3 <sup>a</sup> ±0.6	36.4
Bakery meal	5	10.4 <sup>b</sup> ±1.4	20.9 <sup>b</sup> ±5.2	25.8 <sup>a</sup> ±6.9	18.9
Meat and bone meal	4	24.4 <sup>c</sup> ±2.3	42.7 <sup>b</sup> ±5.3	56.8 <sup>a</sup> ±5.0	33.0
Wheat middlings	5	17.5 <sup>c</sup> ±1.7	72.1 <sup>b</sup> ±2.7	85.1 <sup>a</sup> ±2.6	18.0
Soybean meal	18	31.5 <sup>c</sup> ±0.9	168.4 <sup>b</sup> ±4.1	194.0 <sup>a</sup> ±11.2	15.0

<sup>1</sup> C : Conjugase, A : Amylase, P : Pronase<sup>®</sup>

<sup>a, b, c</sup> Means within a row with no common superscripts are significantly different ( $P<0.05$ ).

**Table 3.** The effect of various dietary folic acid (FA) and methionine (MET) levels on body weight gain (g), and gain:feed (g/g) of young broiler chicks (Exp. 2,3)

Dietary treatments		BW gain (g)		Gain:feed(g/g)	
FA (mg/kg)	METH (%)	Exp. 2	Exp. 3	Exp. 2	Exp. 3
0.24	0.77	353	262	0.529	0.634
	0.85	427	371	0.565	0.701
	0.93	468	395	0.603	0.699
	1.01	475	412	0.605	0.699
0.54	0.77	421	413	0.546	0.692
	0.85	454	444	0.559	0.718
	0.93	502	459	0.622	0.722
	1.01	456	433	0.570	0.692
1.14	0.77	433	430	0.546	0.690
	0.85	483	459	0.591	0.706
	0.93	451	428	0.564	0.685
	1.01	478	434	0.587	0.675
2.34	0.77	489	423	0.590	0.661
	0.85	460	420	0.580	0.663
	0.93	469	447	0.570	0.681
	1.01	455	413	0.544	0.656
Regression analysis					
Intercept		-1107.0	-1558.4*	-0.772	-0.737
FA		21.1*	342.2*	0.195*	-0.097
MET		3115.7*	3914.5*	2.707	3.095*
FA × FA		15.2	-50.9*	0.001	-0.016
FA × MET		254.8	-211.0*	0.226*	-0.076
MET × MET		-1496.2	-1980.0*	-1.325	-1.667
R <sup>2</sup>		0.45	0.54	0.27	0.21
Maximum FA response <sup>1</sup>		1.80	1.47	1.62	0.86
Maximum MET response <sup>2</sup>		0.89	0.91	0.88	0.91
Predicted maximum		529.3	474.9	0.58	0.711

\* The coefficient was significantly less than zero ( $P < .05$ ).

<sup>1</sup> mg / kg diet.

<sup>2</sup> % of diet.

이는 0.93%를 나타내는 NRC(1984)와 차이가 없는 것으로 나타났다(Table 3).

사료내 methionine과 엽산의 첨가는 골회분과 경골 각약증에 영향을 미치지 않았으며(Table 4), 간에

서 엽산의 함량은 사료내 엽산의 수준이 높아짐에 따라 처리구간에 통계적인 유의차를 보였다( $P < 0.01$ ). 본 시험의 결과를 고찰하면 육계에서 성장의 극대화를 위한 엽산의 요구량은 각각 1.80, 1.47 mg /kg으로

**Table 4.** The effect of various dietary folic acid(FA) and Methionine (MET) levels on bone ash (%) and tibial dyschondroplasia (TD; %) of young broiler chicks(Exp. 2,3).

Dietary Treatments		Bone ash (%)		TD(%)	
FA (mg /kg)	MET (%)	Exp. 2	Exp. 3	Exp. 2	Exp. 3
0.24	0.77	40.4	39.1	4.2	0
	0.85	40.6	39.1	0	8.3
	0.93	39.9	39.4	16.7	12.5
	1.01	40.3	39.2	12.5	16.7
0.54	0.77	40.7	39.6	4.2	16.7
	0.85	40.1	39.2	16.7	12.5
	0.93	39.8	38.7	16.7	16.7
	1.01	40.0	39.1	16.7	16.7
1.14	0.77	40.1	39.0	8.3	8.3
	0.85	39.9	39.2	20.8	16.7
	0.93	39.4	38.7	16.7	20.8
	1.01	40.0	39.5	16.7	33.3
2.34	0.77	40.4	39.0	16.7	20.8
	0.85	39.7	38.9	8.3	12.5
	0.93	39.9	39.0	8.3	33.3
	1.01	39.8	38.7	25.0	20.8
Regression analysis					
Intercept		60.0	45.5	-32.9	85.7
FA		-0.9	0.1	40.6	-187.0
MET		-42.2	-13.9	0.8	-0.4
FA × FA		0.3	0.004	11.0	110.4
FA × MET		0.1	-0.03	-0.9	1.0
MET × MET		22.6	7.7	0	-0.01
R <sup>2</sup>		0.32	0.05	0.13	0.19
Maximym FA response <sup>1</sup>		1.62	38.5	1.02	0.67
Maximum MET response <sup>2</sup>		0.93	1.56	70.8	40.2
Predicted maximum		39.8	34.3	16.7	16.1

<sup>1</sup> mg /kg diet.<sup>2</sup> % of diet.

나타났는데 이러한 결과는 본 시험에서 이용된 엽산의 수준 내에 속하기 때문에 신뢰할 수 있다. 또한 간에서 엽산의 함량은 사료내 엽산의 첨가에 비례하여 증가되었음을 볼 수 있으며 methionine의 첨가에 비례하여 엽산의 함량은 감소되는 경향을 보였는데 (Table 5)

이러한 결과는 사료내 methionine의 첨가 수준이 증가함에 따라서 체내에 필요한 methionine의 공급이 증가되므로 labile methyl 경로 대사 과정을 거치지 않고 직접 보충 될 수 있기 때문으로 해석된다. 실험 2와 3의 결과를 고찰하면 사료내 methionine의 수준이

**Table 5.** Effects of various dietary folic acid (FA) and methionine (MET) levels on liver folic acid of young broiler chicks.

Dietary treatments		Total folic acid	
FA (mg /kg)	MET (%)	Experiment 2 .....(μg /100g).....	Experiment 3
0.24	0.77	157	200
	0.85	111	192
	0.93	104	198
	1.01	94	179
0.54	0.77	361	476
	0.85	323	444
	0.93	291	500
	1.01	270	432
1.14	0.77	620	757
	0.85	542	841
	0.93	588	823
	1.01	595	672
2.34	0.77	822	1174
	0.85	726	992
	0.93	752	848
	1.01	745	958
Regression analysis			
Intercept		1919 <sup>0.25</sup>	-714 <sup>0.76</sup>
FA		754 <sup>&lt;.01</sup>	1271 <sup>&lt;.01</sup>
MET		-4220 <sup>0.26</sup>	1742 <sup>0.74</sup>
FA × FA		-1800 <sup>&lt;.01</sup>	-227 <sup>&lt;.01</sup>
FA × MET		28 <sup>0.87</sup>	-342 <sup>0.19</sup>
MET × MET		2224 <sup>0.29</sup>	-1080 <sup>0.72</sup>
R <sup>2</sup>		0.89	0.87
Maximum FA response		2.14	2.49
Maximum MET response		0.93	0.41
Predicted maximum		1046	1228

Superscripts means the probabilities from regression analysis

<sup>1</sup> mg /kg diet.<sup>2</sup> % of diet.

낮을 때 엽산의 침과 효과가 있었으며 함유형 아미노산이 0.93%였을 때 최대의 증체와 사료효율을 개선하기 위한 엽산의 요구량은 0.54, 1.14 mg 이었다.

결 론

실험 1에서 가금 사료 원료인 옥수수, 대두박, 밀기

울, 마일로, 육골분, 어분, 과자박에서 관행적인 방법에 비하여 발전된 방법인 amylase와 protease를 첨가하여 엽산분석을 실시하였다. Amylase와 protease의 전 처리는 대조구에 비하여 엽산함량을 24.3% 증가하였다. 대부분의 사료 원료에서 엽산함량은 NRC (1984)의 성분 분석표와 비슷하였지만 옥수수와 대두 박은 그 함량이 현저하게 감소하였다. 이러한 사료 원료에서 엽산의 함량이 관행적으로 이용되는 NRC (1984) 성분 분석표에 비하여 낮았던 요인은 엽산분석 방법에서의 차이와 유통 과정에서 저장되었던 기간이나 혹은 종의 변화, 가공의 방법에 기인된 것으로 생각된다. 가금의 사료에서 엽산의 분석 방법은 amylase 와 protease를 첨가하여 시행되어야 할 것으로 사료되며 사료 원료에서 엽산의 함량은 저장기간, 가공방법등에 따라서 달라질 수 있을 것으로 사료된다.

실험 2와 3에서 육계 전기에서 성장의 극대화를 위한 엽산과 methionine plus cystine의 요구량은 각각 1.80 mg / kg 0.89%와 1.47 mg / kg, 0.91%로 규명되었다. 사료내 엽산의 첨가는 처리간에 증체량과 간의 엽산함량에서 2차 회귀를 보였으며 ( $P < 0.01$ ) methionine의 첨가는 간의 엽산 수준을 감소시켰으나 처리간에 통계적인 유의성이 없었다. 또한 간에서 엽산의 함량은 사료내 엽산의 첨가에 비례하여 증가되었음을 볼 수 있었다. 본 시험에서는 사료내 methionine의 첨가에 비례하여 간에서 엽산의 함량은 감소되는 경향을 보였다. 육계 전기에서 최적의 성장에 요구되는 엽산의 요구량은 NRC(1984)의 약 3배이었을지라도 사료내 methionine의 첨가 수준이 증가함에 따라서 성장의 극대화를 위한 엽산의 요구량은 감소하였다. 그러므로 육계 전기에서 성장에 필요한 사료내 methionine의 수준에 따라서 methionine은 labile methyl 경로 대사 과정을 거쳐서 합성하거나 혹은 직접 보충 될 수 있으므로 육계 전기에서 성장의 극대화를 위한 엽산의 요구량은 지속적인 연구가 필요하다.

## 적 요

**실험 1:** 가금 사료 원료에서 엽산함량 분석을 위하여 *Lactobacillus casei* (ATCC 7469)를 이용하여 미생물학적인 분석을 시행하였다. 57개의 사료 원료 즉

옥수수(14), 대두박(18), 어분(7), 밀기울(5), 마일로(4), 과자박(5), 육골분(4)의 사료 원료에서 엽산의 함량은 conjugase( $\gamma$ -glutamylcarboxy peptidase), protease,  $\alpha$ -amylase를 첨가시 conjugase만을 이용하는 관행적인 방법에 비하여 24.3% 증가되었다.

**실험 2와 3:** 육계 전기의 사료에서 수준을 달리한 methionine(0.45, 0.53, 0.61, 0.69%)과 엽산(0.24, 0.54, 1.14, 2.34 mg /kg)을 급여시 육계의 능력에 미치는 영향을 구명하고자 시행하였다. 기초 사료는 옥수수, isolated soybean protein, 육골분, 어분이 이용되었으며 사료내 methionine과 엽산을 제외한 모든 영양소는 충분하였다. 육계 전기의 사료내 엽산과 methionine plus cysteine의 수준은 실험 2에서 1.80mg /kg, 0.89% 실험 3에서 1.47mg /kg 0.91%에서 성장을 극대화하였다. 두번의 실험에서 모두 엽산과 methionine 사이에 상호작용이 있었으며 사료내 엽산의 수준이 2.34mg /kg에서 증체량은 감소되는 경향을 보였다. 사료효율은 실험 2에서 엽산을 첨가함에 따라서 선형적으로 개선되는 경향을 보였으며 실험 3에서는 methionine의 첨가 수준이 증가함에 따라서 2차 회귀를 보였다. 실험 2와 3에서 간의 엽산함량은 사료내 엽산의 수준이 증가됨에 따라서 현저하게 증가되었으며 사료내 methionine의 수준은 간의 엽산함량을 감소시키는 경향을 보였으나 통계적인 차이는 없었다. 경골 각약증은 사료내 methionine의 수준이 높아짐에 따라서 증가하는 경향을 보였으나 통계적인 차이는 없었다.

(색인: 미생물학적 분석, 엽산, 메티오닐, 육계)

## 인용문헌

- Aramouni FM, Godber, JS 1991 Folate losses in beef liver due to cooking and frozen storage. J Food Quality 14:357-365.  
 Association of Official Agricultural Chemist 1995 Official methods of analysis, 8th ed. Washington DC.  
 Association of Official Agricultural Chemist 1990 Official methods of analysis, 15th ed.

- AOAC, Washington, 944.12A-12H.
- Lakeley RL 1977 Folic acid biochemistry: Present status and future direction. Page 3 In: Folic acid, biochemistry and physiology in relation to human nutrition requirements. National Academy Sciences, Washington DC.
- Cropper WJ, Scott ML 1967 Studies on folic acid nutrition in chicks and poult. Br Poultry Sci 8:65-73.
- De Souza, S, Eitenmiller RR 1990 Effects of different enzyme treatments on extraction of total folate from various foods prior to microbiological assay and radioassay. J Micronutr Anal 7:37-57.
- Dinning JS, Keith CK, Day PL 1951 The influence of folic acid on methionine Metabolism. 189:515-520.
- Edwards HM Jr, Veltmann JR 1983 The role of calcium and phosphorus in the tibial dyschondroplasia in young chicks. J Nutr 113:1568-1575.
- Ewing WR 1963 Poultry Nutrition, 5th ed. The Ray Ewing Company, Pasadena, CA.
- Farber S, Cutler EC, Hawkins JW, Harrison JH, Pierce EC, Lenz GG 1947 The action of pteroylglutamic conjugates on man. Science 106:619-621.
- Folch J, Lees M, Sloane-Stanley GH 1957 A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissue. J Biol Chem 226:497-509.
- Hunt C 1984 Nutrient losses in cook-freeze and cook-chill catering. Human Nutr(Applied nutr)38A:50-59.
- Julian RJ 1984 Valgus, varus deformity of the intertarsal joint in broiler chickens. Can Vet J 25:254-258.
- Khalsa I 1982 Folate and folate binding capacity of human milk. PhD Dissertation, University of Georgia, Athens GA.
- Konovalova LV, Andreichuck TV, Stepanova EN 1974 Microbiological determination of folacin in potatoes. Vop pitani 2:70-74.
- Lee CY, Massey LM Jr, Van Buren JP 1982 Effects of post-harvest handling and processing on vitamin contents of peas. J food Sci 47:961-964.
- March B, Biely J 1956 Folic acid supplementation of high protein high fat diets. Poultry Sci 35:550-551.
- Martin JI, Landen WO, Soliman AM, Eitenmiller RR 1990 Application of a Tri-enzyme extraction for total folate determination in foods. J Assoc Off Anal Chem 73:805-808.
- Mullin WJ, Wood DF, Howsam SG 1982 Some factors affecting folacin content of spinach, swiss chard, broccoli and brussels sprouts. Nutr Rep Int 26:7-16.
- National Research Council 1984 Nutrient requirements of poultry, 8th ed. Washington, DC. National Academy Press.
- Pedersen JC 1988 Comparison of  $\gamma$ -glutamyl hydrolase(conjugase; EC 3.4.22.12) and amylase treatment procedures in the microbiological assay for food folates. British J Nutr 59:261-271.
- Pesti GM, Rowland GN, Ryu KS 1991 Folate deficiency in chicks fed diets containing practical ingredients. Poultry Sci 70:600-604.
- Rao VNM, Webb K, Eitenmiller RR 1987 A microcomputer based algorithm for quantitative determination of vitamins from turbidimetric methods. J Food Proc Pres 11: 77-82.
- SAS Institute Inc 1985 SAS User's Guide: Statistics Version. 5th ed. SAS Inst. Inc. Cary, NC.
- Saunderson CL, Mackinley J 1990 Changes in

188 류경선 등 : 가금 원료사료의 새로운 엽산 분석방법과 어린 육계의 엽산과 메티오닌의 요구량에 관한 연구

body weight, composition and hepatic enzyme activities in response to dietary methionine, betaine and choline levels in growing chicks. Brit J Nutr 63:339-349.

Whitely JM 1971 Some aspects of the chemistry of the folate molecule. Ann NY Acad Sci

186:29-42.

Wong PC, Vohra P, Kratzer FH 1977 The folacin requirement of broiler chicks and quail (*Coturnix coturnix japonica*). Poultry Sci 56:1852-1860.