

## 산란 생산성과 인 이용성에 대한 Microbial Phytase의 첨가 효과

### I. 무기태인 수준이 다른 사료에 Microbial Phytase 첨가가 산란성 및 인 이용성에 미치는 영향

김상호 · 유동조 · 나재천 · 최철환 · 상병돈 · 이상진 · 이원준<sup>1</sup> · 류경선<sup>2</sup>

축산기술연구소 대전지소, <sup>1</sup>대성미생물연구소, <sup>2</sup>전북대학교 동물자원과학과

## Efficacy of Supplemental Microbial Phytase on Laying Performance and Phosphorus Utilization

### I. Effect of Microbial Phytase at Different Phosphorus Levels on Laying Performance and Phosphorus Utilization

S. H. Kim, D. J. Yu, J. C. Na, C. H. Choi, B. D. Sang, S. J. Lee, W. J. Lee<sup>1</sup> and K. S. Ryu<sup>2</sup>

Daejeon Branch, National Livestock Research Institute, 253 Gyesan-dong, Yusung-gu, Daejeon, Korea 305-365

<sup>1</sup>Daesung Microbiological Labs, 820-8, Yeoksam-dong, Kangnam-gu, Seoul, Korea 135-080

<sup>2</sup>Department of Animal Resource and Biotechnology, Chonbuk National University, Chonju, Korea 561-756

**ABSTRACT** : The effects of microbial phytase on laying performance and phosphorus utilization were examined at different levels of dietary nonphosphorus (NPP) in 320 23-week-old Hy-line brown hens for 12weeks. Diets were formulated 0.275% (T1), 0.220% (T2), 0.165% (T3) of NPP levels, and supplemental microbial phytase was 300DPU/kg diet constantly. Conventional diet(C) was formulated 0.275% NPP level without microbial phytase. Egg production and egg mass were higher in T2 than the others ( $P<0.05$ ), and average egg weight was higher in T1 than the others ( $P<0.05$ ). Egg productivity was tended to increase with supplemental phytase compared to conventional diet. Daily feed intake a hen also increased in T2 ( $P<0.05$ ). Feed conversion ratio was improved slightly without significant difference. Eggshell breaking strength and thickness were not different significantly among the treatments. Haugh unit and yolk color were also not different. Calcium and phosphorus retention in body increased in T2 ( $P<0.05$ ), but dry matter and nitrogen retention were not different significantly. Differences in nitrogen and calcium excretions were not found among the treatments. But phosphorus excretion decreased in order of dietary phosphorus levels with supplemental phytase compared to C ( $P<0.05$ ). Tibial ash, calcium and phosphorus were similar among the treatments. In conclusion, supplemental microbial phytase in laying diet may help to utilize phytate phosphorus, and could decrease NPP intake.

(Key words : microbial phytase, NPP, hen, laying performance, nutrient retention, eggshell, tibia)

## 서론

가금사료로서 주로 이용되는 식물성 사료인 곡류, 두과식물, 종실내 인은 phytate와 결합되어 복합체를 형성하고 있다 (Ravindran 등, 1995). Phytate는 6분자의 인 외에 단백질 등과 같은 유기물, 그리고 Ca, Mg, Fe, Zn, Cu, K 등의 광물 질과 결합되어 있는데, 단위동물의 경우 이용성이 매우 떨어진다. 그래서, 현재 이용되고 있는 가금사료는 부족되는 인 공급을 위하여 무기태 인을 첨가하여 배합하고 있지만 양계 산업의 집약화 및 대단위 사육 및 생산이 증가하면서 생체 내 이용되어지지 않고 배설되는 다량의 인에 의한 환경오

염 문제가 대두되고 있다. 또 하나의 phytate의 부정적인 측면은 phytate는 소화기관에서 소화효소 특히 단백질분해효소인 trypsin, pepsin과 복합물을 형성하여 단백질 소화에 영향을 미친다고 하는 것이다 (Camus와 Laporte, 1976; Singh과 Krikorian, 1982). Phytate 인은 식물체에 있는 내인성, 소장내, 혹은 microbial phytase에 의해 inositol 분자로부터 유리되어야만 소화기관에서 흡수와 이용이 가능하다 (Sandberg 등, 1993). 내인성 phytase는 역가가 매우 낮고 그 효과가 미미하기 때문에 microbial phytase의 사용이 일반화되어 있다. Microbial phytase는 피틴태 인의 이용성을 개선시킬 뿐만 아니라 (Simons 등, 1990; Denbow 등, 1995; Ravindran 등, 1995), phytate와 결합되어 있는 유기물, 단백질과 아미

노산의 이용성도 개선시킨다(Keteran 등, 1993).

Van der Klis 등 (1994)은 산란계의 경우 사료 kg당 250U phytase는 monocalcium phosphate의 0.8g의 효과가 있다고 하였으며, 500U는 인 1g의 효과가 있다고 하였다 (Peter와 Jeroch, 1993). Um과 Paik (1999)은 산란계에게 사료 kg당 500U 첨가시 산란량을 증가시켰으며, 무기태 인의 첨가를 감소할 수 있다고 하였다. 또 인의 배설량 역시 감소시킬 수 있다고 하였다. 기존의 연구에서 microbial phytase는 주로 곱팡이에서 생산된 효소를 이용하였는데, 생체내에서 phytate 인의 이용성을 개선시킴으로써 사료내 혼합되는 총 인의 함량을 낮추고 결국 인의 배설량을 감소시키는 효과가 있음을 알 수 있다. 곱팡이 유래 phytase와는 달리 새균에서 생산된 phytase의 효과는 상대적으로 연구보고가 매우 빈약한 실정이다.

따라서, 본 연구의 목적은 *Bacillus*속에서 추출된 phytase를 인의 함량이 다른 산란계 사료에 첨가, 급여하여 산란생산성, 영양소 이용효율, 인의 배설량 등에 미치는 영향을 구명하고자 실시하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 시험설계

본 연구의 공시계종은 23주령 Isa-Brown 산란계로서 360수를 이용하여 축산기술연구소 대전지소에서 12주간 실시하였다. 처리내용은 무기태인의 수준을 달리하여 NRC (1994) 권장량수준인 0.275% (C, T1)와 80% 수준인 0.220 (T2), 60% 수준인 0.165% (T3)로 하였다. 사용한 phytase는 Transphos<sup>®</sup>였으며, 대조구 (C)를 제외하고 T1, T2, T3 공히 사료 kg당 300DPU수준으로 첨가하였다. 시험구배치는 처리별 3반복이며 반복당 30수씩 배치하였다.

### 2. 시험사료

산란계에 급여된 기초사료의 비율 및 화학적 조성분은 Table 1에서 보는 바와 같다. 각 단미사료의 영양소 함량은 대사에너지가 2,800kcal/kg이며 조단백질은 16%, 칼슘함량은 3.4%다. 무기태 인의 수준은 tricalcium phosphate (TCP)로 조정하였는데 C와 T1에 0.93%, T2와 T3가 각각 0.62와 0.31%의 함량으로 첨가하였다. TCP의 첨가량변화에 따른 칼슘함량의 차이는 석회석으로 조정하였다.

### 3. 사양관리

공시계는 전 시험기간 동안 니플이 설치된 1수용 3단 케

Table 1. Chemical composition of basal diet

Ingredients	Ratios(%)
Corn	68.33
Soybean meal (CP 44%)	17.83
Corn gluten meal (CP 60%)	3.60
Tricalcium phosphate	0.93
Limestone	8.40
Methionine 50	0.09
Lysine 80	0.08
Vit.-min. mixtures <sup>1</sup>	0.50
Salt	0.25
Chemical composition <sup>2</sup>	
ME, kcal/kg diet	2,800
CP, %	16.00
Ca, %	3.4
Non phytate phosphorus, %	0.275
Methionine, %	0.76
Lysine, %	0.33

<sup>1</sup> Contained per kg diet : Vit. A 1,600,000IU, Vit. D<sub>3</sub> 300,000IU, Vit. E 800IU, Vit. K<sub>3</sub> 132mg, Vit. B<sub>2</sub> 1,000mg, Vit. B<sub>12</sub> 1,200mcg, niacin 2,000mg, pantothenate calcium 800mg, folic acid 60mg, choline chloride 35,000mg, dl-methionine 6,000mg, iron 4,000mg, copper 500mg, manganese 12,000mg, zinc 9,000mg, cobalt 100mg, BHT 6,000mg and iodide 250mg.

<sup>2</sup> Calculated values.

이지에서 사육되었다. 사료는 전기간 자유 채식하였으며 접등은 23주령에 14시간부터 매주 15분씩 점증하여 17시간으로 고정하였다.

### 4. 조사항목 및 조사방법

산란수는 매일 15:00시에 측정하였으며, 정상란과 기형란으로 분류하였다. 산란율은 정상란과 기형란을 합하여 계산하였으며 hen-day 산란율로 표시하였다. 평균난중은 정상란만 사용하여 구하였고, 1일 산란량은 산란율과 평균난중을 곱하여 계산하였다. 사료섭취량 조사는 매 2주 간격으로 실시하였으며 수당 사료섭취량과 사료요구율로 표시하였다.

계란의 내부품질과 난각질은 32주령에 측정하였는데 반복당 5개씩 수집하여 당일 측정하였다. 계란 내부품질은 QCM+ (TSS, England)를 이용하여 Haugh unit와 yolk color를 조사하였으며, 난각질은 난각강도계와 난각두께측정기 (FHK, Japan)로 측정하여 나타내었다.

대사시험은 시험종료후 실시하였는데 전분채취법으로 하

였다. 처리당 6수씩 선발하여 2일간 예비시험 기간을 거친 후 3일 동안 실시하였다. 사료섭취량과 배설량은 매일 측정하였고 수집된 계분은 충분히 섞은 후 열풍건조기로 60°C 상태에서 3일간 건조 후 분쇄하여 분석하였다. 시험사료와 계분의 일반성분은 AOAC방법 (1995)으로 분석하였으며, Ca은 원자흡광도계 (Atomic absorption spectrophotometry)로 P는 비색계 (Spectrophotometry)를 이용하여 분석하였다. 영양소 축적률은 사료섭취량과 영양소이용률을 이용하여 계산하였다.

대사시험이 종료된 후 각 개체의 경골부위를 채취하여 근육, 지방, 인대 등을 제거하고 105°C에서 24시간 건조 후 에테르로 2일간 탈지한 후 회분과 Ca, P를 분석하였다.

## 5. 통계분석

수집된 자료에 대한 통계분석은 SAS package (1996)를 이용하여 분산분석을 실시하였으며 유의성 검정은 Duncan's new multiple range test를 실시하였으며 신뢰수준은 95% 수준으로 하였다.

## 결과 및 고찰

### 1. 산란성적, 사료이용성 및 계란 품질

산란성적과 사료섭취량 및 요구율 그리고 난각 및 계란내부품질은 Table 2에서 보는 바와 같다. Hen-day 산란율은 T2가 가장 높게 나타났으며 ( $P<0.05$ ), T1과 T3 역시 대조구에 비해 높은 경향을 나타내었다. 전반적으로 phytase 첨가로 인하여 산란율이 증가하였다. 평균난중은 T1이 C에 비하여

무거운 것으로 나타났으며 ( $P<0.05$ ), 처리구간 차이는 보이지 않았다. 1일 산란량은 T2가 가장 많았으며 ( $P<0.05$ ) 산란율과 동일한 결과를 보였다. 산란계에게 phytase를 첨가함으로써 전체적으로 생산성이 개선되었음을 알 수 있다.

수당 1일 사료섭취량은 산란량이 가장 많은 T2가 가장 많이 섭취하였고 T3가 가장 적게 섭취한 것으로 나타났다. 사료요구율은 처리간에 유의적인 차이는 보이지 않았으나 phytase 첨가구가 약간 개선되는 경향을 보였다. 난각질과 계란의 내부 품질의 결과에서 난각 강도와 난각 두께는 처리구간에 차이를 보이지 않았으며, 계란의 신선도 및 난황색도 차이가 없었다. 사료내 무기태인의 수준이 감소하더라도 난각질은 차이가 없었다.

Um과 Paik (1999)은 곰팡이 유래 phytase를 사료 kg당 500U첨가하고 무기태 인 수준을 대조구 0.37%에 비하여 0.24, 0.12%로 낮추었을 때 hen-day 산란율은 차이가 없었으며, 대조구와 동일한 무기태 인의 함량에 phytase를 첨가하였을 때 산란율은 증가하였다고 보고하였고, Peter (1992) 역시 microbial phytase 첨가는 산란율을 증가시켰다고 보고하였다. 본 연구에서 첨가한 microbial phytase 역시 비슷한 효과를 보였는데 이러한 것으로 microbial phytase는 식물체의 phytate P의 이용을 개선시키는 것으로 사료된다.

Gordon과 Roland (1997)는 무기태 인의 수준을 0.1%에서 0.1%씩 0.5%까지 증가시키고 phytase 무첨가 혹은 300U 첨가시 난중은 무기태인 결핍사료에서 phytase첨가로 인하여 증가한다고 하였으며, Simons 등 (1992)과 Peter (1992)역시 비슷한 결과를 보고하였다. 본 연구에서 phytase 첨가는 권장량수준 혹은 그 이하의 수준에서도 난중을 증가시켰는데

Table 2. Effects of supplemental microbial phytase on laying performance, feed efficiency, and quality of egg interior and eggshell

	C	T1	T2	T3	SEM
Productivities					
Egg production (%)	88.6 <sup>b</sup>	90.2 <sup>ab</sup>	93.3 <sup>a</sup>	90.2 <sup>ab</sup>	3.57
Egg weight (g)	61.5 <sup>b</sup>	62.6 <sup>a</sup>	62.3 <sup>ab</sup>	62.1 <sup>ab</sup>	0.25
Egg mass (g/d)	54.5 <sup>b</sup>	56.5 <sup>ab</sup>	58.2 <sup>a</sup>	56.1 <sup>ab</sup>	1.53
Feed intake (g/d/hen)	123.2 <sup>ab</sup>	123.2 <sup>ab</sup>	129.9 <sup>a</sup>	120.8 <sup>b</sup>	14.1
Feed conversion	2.26	2.20	2.23	2.16	0.002
Egg qualities					
Eggshell breaking strength (kg/cm <sup>2</sup> )	3.90	3.94	3.84	3.83	0.17
Eggshell thickness (μm)	390	388	384	378	82.6
Haugh unit	93.9	92.7	96.1	92.7	3.79
Yolk color	9.33	9.33	9.33	10.00	0.25

<sup>a,b</sup> Means within the same row with no common superscript differ significantly ( $P<0.05$ ).

이러한 것으로 phytase는 다른 영양소의 이용도 개선시키는 것으로 사료된다. 난각강도와 두께에 있어서 Um과 Paik (1999)은 난각강도가 무기태 인의 수준이 감소하면서 약간 감소하고 난각두께는 차이가 없었으며 Haugh unit 역시 차이가 없었다고 하였는데 본 연구 결과와 비슷한 결과였다.

## 2. 영양소 축적량 및 배설량

건물, 질소, 회분 칼슘 및 인 축적량에 대한 결과는 Table 3에서 보는 바와 같다. 건물소화율은 유의성은 없었으나 phytase 첨가구가 증가하는 경향이었으며 질소축적량은 처리간 일정한 결과를 보이지 않았다. 칼슘축적량은 phytase 첨가구가 유의적으로 증가하였으며 ( $P<0.05$ ), 인의 축적물은 T2가 가장 많은 것으로 나타났다 ( $P<0.05$ ).

영양소 배설량은 역시 Table 3에 나타내었다. 질소의 배설량은 T1과 T2에서 높게 나타났으며 ( $P<0.05$ ), T3가 가장 낮게 나타났다. 칼슘의 배설량은 T2가 가장 낮게 나타났으며 인의 배설량은 phytase 첨가구가 유의적으로 낮게 나타났다 ( $P<0.05$ ).

Um과 Paik (1999)은 phytase 첨가시 무기물의 이용성을 개선시킴으로서 칼슘과 인의 축적량이 증가하고 인의 배설량이 감소된다고 하였다. Yi 등(1996) 역시 phytase 첨가시 인의 축적량을 증가시킨다고 하였는데 본 연구에서도 비슷한 결과를 나타내었다. 이들은 질소의 축적량 역시 증가된다고 하였지만 본 연구에서는 일관된 결과를 보이지 않았다. 본 연구에서 이용된 phytase는 인의 축적물 증가 및 배설량 감소로 인 이용성을 개선시키는 효과가 있는 것으로 나타났다.

## 3. 경골회분, 칼슘, 인 함량

**Table 4.** Ash, calcium and phosphorus contents of tibia in laying hens fed experimental diets

	Ash	Calcium	Phosphorus
	----- (%) -----		
C	52.13	18.76	7.81
T1	52.33	18.90	8.13
T2	52.38	19.42	8.17
T3	52.50	17.93	7.75
SEM	0.85	2.30	0.53

경골내 회분 및 칼슘, 인의 함량은 처리간에 차이를 보이지 않았다 (Table 4). 인이 결핍된 사료에서 뼈의 회분, 칼슘, 인의 함량이 관행급여와 차이가 없는 것은 microbial phytase에 의해 phytin 인에서 부족되는 인이 유리되어 이용되기 때문인 것으로 사료된다.

Qian 등 (1996)은 인 결핍으로 나타나는 주요 증상으로 뼈의 비정상적인 발달이라고 하였으며, microbial phytase 첨가시 뼈회분 함량으로 사료내 phytate 인 이용성이 개선되었음을 보고하였다.

## 적 요

무기태 인의 수준이 다른 산란사료에 microbial phytase 첨가효과를 구명하기 위하여 산란계 360수에 대하여 12주간 사양시험을 실시하였다. 무기태인의 함량은 NRC(1994) 권장량수준인 0.275%(C, T1)와 80% 수준인 0.220(T2), 60% 수준인 0.165%(T3)로 하였다. 첨가된 Phytase는 Transphos<sup>®</sup>였으며, 대조구(C)를 제외하고 T1, T2, T3 공히 사료 kg당

**Table 3.** Nutrients retention and excretion of laying hens fed experimental diets

	C	T1	T2	T3	SEM
	----- (g/d/hen, DM basis) -----				
<b>Nutrients retention</b>					
Dry matter	81.98	81.45	85.54	87.73	41.26
Nitrogen	2.03	1.92	1.81	2.27	0.11
Ash	9.23 <sup>a</sup>	7.42 <sup>b</sup>	8.42 <sup>ab</sup>	9.40 <sup>a</sup>	1.17
Calcium	2.18 <sup>b</sup>	2.52 <sup>ab</sup>	3.43 <sup>a</sup>	2.64 <sup>ab</sup>	0.20
Phosphorus	0.27 <sup>ab</sup>	0.30 <sup>ab</sup>	0.31 <sup>a</sup>	0.22 <sup>b</sup>	0.002
<b>Nutrients excretion</b>					
Nitrogen	1.06 <sup>ab</sup>	1.18 <sup>a</sup>	1.23 <sup>a</sup>	0.72 <sup>b</sup>	0.03
Calcium	2.05 <sup>a</sup>	1.72 <sup>ab</sup>	1.59 <sup>b</sup>	2.10 <sup>a</sup>	0.05
Phosphorus	0.31 <sup>a</sup>	0.30 <sup>a</sup>	0.21 <sup>b</sup>	0.18 <sup>b</sup>	0.003

<sup>a, b</sup> Means within the same row with no common superscript differ significantly ( $P<0.05$ ).

300DPU였다. 산란율과 1일 산란량은 T2가 대조구에 비하여 높았으며( $P<0.05$ ), 난중은 T1이 대조구에 비하여 무거웠고( $P<0.05$ ), phytase 첨가구에서는 차이가 없었다. 수당 1일사료섭취량은 T2가 가장 많이 섭취하였고 T3가 가장 적었으며( $P<0.05$ ), 사료요구율은 처리간 차이가 없었지만 phytase 첨가구가 약간 개선되는 경향이였다. 난각 강도, 난각 두께, Haugh unit, 난황색은 처리간 차이가 없었다. 영양소 축적량에서 건물 및 질소 축적량은 처리간 차이가 없었으며, 칼슘과 인의 축적량은 T2가 가장 많았다( $P<0.05$ ). 인의 배설량은 사료내 인 함량의 순서와 같이 T2와 T3가 적게 나타났다( $P<0.05$ ). 이상의 결과로부터 microbial phytase는 phytate 인의 이용성을 개선함으로써 사료내 첨가되는 무기태인의 수준을 감소시킬 수 있다고 사료된다.

(색인어 : 미생물 phytase, 무기태인, 산란능력, 영양소축적량, 난각, 경골)

## 인용문헌

- AOAC 1995 Official methods of analysis 16th ed. Association of official Analytical Chemists. Arlington VA. USA.
- Camus MC, Laporte JC 1976 Inhibition de la proteolyse pepsique en vitro par de ble. Role de l'acide phytique des issues. Ann Biol Biochem Biophys 16: 719-729.
- Denbow DM, Ravindran V, Kornegay ET, Yi Z, Hulet RM 1995 Improving phosphorus availability in soybean meal for broilers by supplemental phytase. Poultry Sci 74: 1831-1842.
- Erdman JW Jr 1979 Oilseed phytates: nutritional implications. J Am Oil Chem Soc 56: 736-741.
- Gordon RW, Roland DA 1997 Performance of commercial laying hens fed various phosphorus levels with and without supplemental phytase. Poultry Sci 76:1172-1177.
- Ketaren PP, Batterham ES, Dettmann EB, Farrell DJ 1993 Phosphorus studies in pigs. 3 Effect of phytase supplementation on the digestibility and availability of phosphorus in soybean meal for growing pigs. Br J Nutr 70: 289-311.
- Peter W, Jeroch H 1993 The effectiveness of microbial phytase addition to layer rations on maize and wheat basis. pp 206-209 In: Enzymes in Animal Nutrition. Proc 1st Symp C Wenk and M Boessinger, ed. Roche, Kartause Ittingen, Switzerland.
- Qian H, Veit HP, Kornegay ET, Ravindran V, Denbow DM 1996 Effect of supplemental phytase and phosphorus on histological and other tibial bone characteristic and performances of broilers fed semi- purified diets. Poultry Sci 75:618-626.
- Ravindran V, Bryden WL, Lornegay ET 1995 Phytates: occurrence, bioavailability and implications in poultry nutrition. Poult Avian Biol Rev 6:125-143.
- Sandberg, AS, Larsen T, Sandstrom B 1993 High dietary calcium levels decrease colonic phytate degradation in pigs. J Nutr 123:559-566.
- SAS Institute 1996 SAS/STAT Software for PC, Release 6.12. SAS Institute Inc., Cary, NC. USA.
- Simons PC, Versteeg HAJ, Jongbloed AW, Kemme PA, Slump P, Bos KD, Wolters MGE, Beudeker RF, Vershoor GJ 1990 Improvement of phosphorus availability by microbial phytase in broilers and pigs. Br J Nutr 64: 525-540.
- Simons PCM, Jongbloed AW, Versteegh HAJ 1992 Improvement of phosphorus availability by microbial phytase in poultry and pigs. Br J Nutr 66: 100-109.
- Singh M, Krikorian AD 1982 Inhibition of trypsin activity in vitro by phytate. J Agric Food Chem 30: 799-800.
- Um JS, Paik IK 1999 Effects of microbial phytase supplementation on egg production, eggshell quality, and mineral retention of laying hens fed different levels of phosphorus. Poultry Sci 78:75-79.
- Van der Klis JD, Versteegh HAJ, Scheele CW 1994 Practical enzyme use in poultry diets: phytase and NSP enzymes. pp 113-128 In: BASF Tech Symp Carolina Poultry Nutr Conf Dec 1994 Charlotte, NC.
- Yi Z, Kornegay ET, Denbow DM 1996 Effect of microbial phytase on nitrogen and amino acid digestibility and nitrogen retention of turkey poults fed corn-soybean meal diets. Poultry Sci 75: 979-990.