

## 인 수준이 다른 육계사료에 Crude Phytase 첨가시 생산성에 미치는 영향

이선재<sup>1</sup> · 엄재상<sup>1</sup> · 백인기<sup>1</sup> · 이재관<sup>2</sup>

중앙대학교 산업과학대학<sup>1</sup> 동물자원과학과, <sup>2</sup> 생명공학과

### Effect of Crude Phytase Supplementation on Performance of Broilers Fed Different Levels of Phosphorus

S. J. Lee<sup>1</sup>, J. S. Um<sup>1</sup>, I. K. Paik<sup>1</sup> and J. G. Lee<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Department of Animal Science and Technology, <sup>2</sup>Department of Biotechnology,

College of Industrial Science, Chung-Ang University

Ansung-Si, Kyonggi-Do 456-756

**ABSTRACT :** An experiment was conducted to measure the effect of crude phytase supplementation on the growing performance, blood concentrations of some minerals and tibia characteristics of broiler chickens. Day-old 240 male broiler chickens (Avian<sup>®</sup>) were randomly allotted to four treatments. There were six replicates per treatment, and ten chicks per replicate. Treatments consisted of two levels of crude phytase (0 and 600 U/kg) made from *Aspergillus ficuum* and two levels of non-phytate P (0.45 and 0.35% NPP for the starter period, and 0.35 and 0.25% NPP for the grower period), making the experiment 2 × 2 factorial. The starter period was from hatch to 21 d of age, and grower period was from 22 to 35 d of age. Feed intake and weight gain of chicks fed diet containing phytase were higher (P<0.05) than those of chicks fed diets without phytase, however, no differences were found in feed/gain, mortality, and nutrient availabilities regarding the phytase supplementation. Chickens fed diets with low NPP and phytase excreted lower P than did birds fed diets containing normal NPP without phytase. The level of NPP and phytase did not affect N excretion. The Ca availability was increased by feeding low NPP diet. Dietary phytase increased the availabilities of P and Mg, but decreased those of Fe and Zn. There were interactions between dietary NPP level and phytase addition on mineral availability. Tibia was lighter and shorter in low NPP groups, and heavier in phytase treated groups. The tibial contents of Ca, P and Mg decreased in low NPP treated groups, but increased in phytase treated groups. The ash content of tibia of chickens fed diet with phytase was higher than that of birds fed diets without phytase. These data suggest that the crude phytase supplementation to broiler diets containing low NPP level improves growth performance and mineral availability and, reduces fecal P excretion.

**(Key words :** broiler, non-phytate P, crude phytase, growth performance, mineral availability, P excretion, tibial minerals)

### 서론

P가 모든 생물의 에너지 대사에 필수적 요소이고, 골격 성장에 중요하다는 것은 이미 잘 알려진 사실이다. P 결핍은 비정상적 골격성장의 주요한 요인으로서 P가 결핍된 가

축의 골격은 정상적인 것에 비해 훨씬 짧고, 중량과 광물질 함량에 있어서도 현저한 차이를 나타낸다 (Yoshida, 1986; Edwards과 Veltmann, 1993).

배합사료는 대부분 곡류와 박류로 이루어지며 식물성 사료에 함유된 P의 약 50~80%는 phytic acid (myo-

inositol hexa phosphate) 형태로 존재한다 (Cromwell, 1980). Phytate P는 매우 안정하기 때문에 그 자체가 단 위가축의 소화장기 내에서 소화되지 않을 뿐 아니라 Ca, Mg, Cu, Zn 그리고 Fe 등의 광물질들과도 강하게 결합되어 있기 때문에 이들 광물질의 소화율이 감소하게 된다 (Eardman, 1979). 따라서 많은 양의 phytate가 소화되지 않은 채 분으로 배설됨으로써 토양과 수질을 오염시키게 된다. Phytase의 첨가는 phosphate의 결합을 절단하여 P의 이용율을 향상시킬 뿐만 아니라 phytate와 결합되어 있는 Ca, Zn, Fe, Cu 등을 phytic acid로부터 유리시켜 이들의 이용율을 향상시킨다. Schoener 등 (1993)과 Brot 등 (1994)은 육계사료에 미생물 phytase 첨가시 생산성이 향상되었다고 하였으며, Simons 등 (1992)와 Hoppe와 Schwarz (1993)은 Ca 및 P의 이용율과 골격내 이들 영양소의 축적율이 phytase 첨가에 의해 향상되었다고 하였다. Simon과 Vers - teegh (1990)는 2 주령 병아리 사료에 750 U/kg의 phytase를 첨가한 결과 Ca와 P의 이용율이 약 65% 증가되었다고 보고하였고, Saylor 등 (1991)은 병아리에게 phytase를 급여시켰을 때 인의 배설량은 34% 까지 감소되었다고 하였다. 본 시험은 *Aspergillus ficuum* 으로부터 자체 생산한 crude phytase를 무기태 인(non-phytate, NPP) 수준이 다른 육계사료에 첨가하였을 때 육계의 생산성과 영양소이용에 미치는 영향을 알아보고, P 배설량을 조사하기 위하여 실시하였다.

## 재료 및 방법

### 1. Phytase

Crude phytase 생산을 위해 사용된 배지는 Table 1과 같다. 100 mL의 배지를 500 mL flask에서 멸균하여 2 mL의 포자용액 (*Aspergillus ficuum*, NRRL 3135)을 접종하여 5일간 27 °C에서 200 rpm으로 진탕배양 하였다. 발효조 배양은 5 L Jar fermentor (한국발효기)를 사용하였고, 발효기의 운전조건은 27°C에서 400 rpm과 1 vvm (working solution volume/air volume/minute) air 상태에서 배양하였다. 이를 유가식으로 배양하였고, 배양액은 규모토 여과에 의해 cell과 broth를 분리하였다. 분리된 broth는 농축하여 동결건조시켜 사양시험에 이용하였다.

### 2. Phytase activity 측정

Phytase activity는 Engelen (1994) 방법에 준하여 측정하였다. 0.2 mL의 시료와 표준용액이 들어있는 시험관을

**Table 1.** Composition of media used for phytase production

Ingredients	g/L
Glucose	30.0
Sodium nitrate	8.6
Potassium phosphate - dibasic	0.17
Magnesium sulfate - 7H <sub>2</sub> O	0.5
Ferrous sulfate	0.1
Potassium chloride	0.5

약 5분 동안 37±0.1°C의 온수조에서 평형을 유지한 후 0.4 mL의 기질용액을 첨가하였다. 시험관을 정확히 30분 동안 배양을 시킨 후 0.4 mL의 color - stop mix 용액을 첨가한 후, 이들 용액을 30분 안에 분광광도계 (UVIKON, USA)로 415 nm에서 측정하였다. Crude phytase 분석결과 phytase activity는 550 U/g 였다. Phytase activity 1 U는 37°C, pH 5.5인 상태에서 5.1 mM의 Na - phytate 용액으로부터 1분 동안 1μM의 무기태 인을 유리시킬 수 있는 phytase 효소의 양으로 나타내었다.

### 3. 사양시험 및 시험설계

시험동물은 갓 부화한 육계 수평아리 (Avian<sup>®</sup>) 240수를 4처리 6반복 반복당 10수씩 공시하여 2단 철제 케이지 (가로:90, 세로:90, 높이:50)에 완전임의 배치하였다. 공시한 병아리들을 전기 (0~21일)와 육성 (22~35일)로 나누어 35일 동안 사양시험을 실시하였으며, 시험기간 동안 물과 사료는 자유로이 섭취토록 하였고, 점등은 24시간 해주었다. 그리고 매주 체중과 사료섭취량을 측정하였다. 시험사료는 NRC (1994) 요구량에 준하여 배합하였으며, 기본배합표는 Table 2와 3에서 보는 바와 같다. NPP의 공급 원으로는 tricalcium phosphate (TCP)를 사용하였다. 각 처리구는 T1, 대조구(전기-0.45% NPP, 육성기-0.35% NPP); T2, 대조구+사료 kg당 600 U phytase; T3, Low P(전기-0.35% NPP, 육성기-0.25% NPP); T4, T3+사료 kg당 600 U phytase의 4처리구를 두어 2 수준의 NPP와 phytase 첨가 유무에 따른 2×2 요인설계 배치하였다.

### 4. 대사시험

영양소이용율과 분배 함유된 광물질을 측정하기 위해 19일령에 각각의 케이지로부터 전분채취법으로 3일 동안 대사시험을 실시하였다. 채취한 분은 비닐봉투에 넣어 즉시 -30°C에서 동결시켰다. 동결시킨 분은 공기중에서 해동시킨 후 60°C에서 48시간 건조시켜 분석에 이용하였다.

Table 2. Formula and composition of broiler starter (1~21 d) diets

Ingredients	Treatments <sup>3</sup>			
	T1	T2	T3	T4
	----- % -----			
Corn, ground	58.85	58.85	58.85	58.85
Soybean meal (44% CP)	22.20	22.20	22.20	22.20
Corn gluten meal	11.99	11.99	11.99	11.99
Rapeseed meal	2.00	2.00	2.00	2.00
Tricalcium phosphate (18% P, 32% Ca)	1.65	1.65	1.13	1.13
Limestone	0.88	0.88	1.32	1.32
Animal fat	1.50	1.50	1.50	1.50
Broiler premix <sup>1</sup>	0.22	0.22	0.22	0.22
Salt	0.40	0.40	0.40	0.40
DL - Methionine (50%)	0.14	0.14	0.14	0.14
Lysine - HCl (78%)	0.18	0.18	0.18	0.18
Sand	-	-	0.07	0.07
Phytase <sup>2</sup>	-	+	-	+
Total	100.00	100.00	100.00	100.00
Calculated composition				
ME, kcal/kg	3100.00	3100.00	3100.00	3100.00
Crude Protein, %	23.00	23.00	23.00	23.00
Lysine, %	1.10	1.10	1.10	1.10
Methionine + Cystine, %	0.90	0.90	0.90	0.90
Calcium, %	1.00	1.00	1.00	1.00
Non - phytate phosphorus, %	0.45	0.45	0.35	0.35
Total phosphorus, %	0.72	0.72	0.62	0.62

<sup>1</sup>. Broiler premix provides followings per kg of starter diet: vitamin A, 12,960 IU; vitamin D<sub>3</sub>, 3300 IU; vitamin E, 11mg; vitamin K<sub>3</sub>, 2.4mg; vitamin B<sub>1</sub>, 2.6mg; vitamin B<sub>2</sub>, 5.9mg; vitamin B<sub>6</sub>, 3.3mg; vitamin B<sub>12</sub>, 15µg; Niacin, 52.8mg; Folic acid, 1.4mg; Biotin, 72mg; Calcanto, 110mg; Zn, 58.8mg; Mn, 79.2mg; Fe, 62.4mg; Cu, 6mg; I, 1.3mg; Mo, 0.12mg Endox, 72mg; Se, 0.12mg; Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 120mg.

<sup>2</sup>. Supplemented at the level of 600 U/kg diets with crude phytase made from *Aspergillus ficuum* at Chung - Ang University.

<sup>3</sup>. T1, Control diet (starter, 0.45% NPP, grower, 0.35% NPP); T2, T1+600 U phytase/kg diet; T3, Low - P (starter, 0.35% NPP, grower, 0.25% NPP); T4, T3+600 U phytase/kg diet.

분과 시험사료를 직경 1 mm로 분쇄한 후 AOAC (1990) 방법으로 일반 조성분을 측정하였고, Ca, P, Mg, Zn 그리고 Fe을 측정하기 위해 AOAC (1990)의 건식법으로 전처리를 한 후 ICPAES (Inductively Coupled Plasma - Atomic Emission Spectrophotometer; Model JY, Jobin Yvon, France)를 이용하여 측정하였다.

##### 5. 혈장 및 경골 내 광물질함량 분석

사양시험을 종료한 후 각 처리 평균체중에 근접한 (각 처리평균±40 g) 닭을 각 처리의 반복당 2수씩을 희생시

켜 heparin 처리된 Vacutainer<sup>®</sup> (Becton Dickinson, USA)를 이용하여 심장으로부터 혈액을 채취한 다음 3000 × g에서 15분 동안 원심분리하여 혈장을 분리하였다. 혈장내 광물질 함량은 습식법 (AOAC, 1990)으로 전처리를 한 후 ICP - AES 를 이용하여 측정하였다. 경골은 혈액 채취를 마친 후 왼쪽다리를 절단하여 얻었고, 즉시 -20℃에서 동결시켰다. 분석시 근육과 모든 연골 조직을 제거한 후 60℃에서 72시간 건조하여 분석에 이용하였다. 외관상 분석으로는 무게, 둘레 및 길이를 calipers (Mitu - toyo, Japan)로 측정하였고, 경골의 회분함량은 지방을 제

Table 3. Formula and composition of broiler grower (22~35 d) diets

Ingredients	Treatments <sup>3</sup>			
	T1	T2	T3	T4
	----- % -----			
Corn, ground	65.63	65.63	65.63	65.63
Soybean meal (44% CP)	20.62	20.62	20.62	20.62
Corn gluten meal	7.30	7.30	7.30	7.30
Rapeseed meal	2.00	2.00	2.00	2.00
Tricalcium phosphate (18% P, 32% Ca)	1.16	1.16	0.65	0.65
Limestone	1.05	1.05	1.50	1.50
Animal fat	1.50	1.50	1.50	1.50
Broiler premix <sup>1</sup>	0.27	0.27	0.27	0.27
Salt	0.27	0.27	0.27	0.27
DL - Methionine (50%)	0.03	0.03	0.03	0.03
Lysine - HCl (78%)	0.16	0.16	0.16	0.16
Sand	-	-	0.07	0.07
Phytase <sup>2</sup>	-	+	-	+
Total	100.00	100.00	100.00	100.00
Calculated composition:				
ME, kcal/kg	3100.00	3100.00	3100.00	3100.00
Crude protein, %	20.00	20.00	20.00	20.00
Lysine, %	1.00	1.00	1.00	1.00
Methionine + Cystine, %	0.72	0.72	0.72	0.72
Calcium, %	0.90	0.90	0.90	0.90
Non - phytate phosphorus, %	0.35	0.35	0.25	0.25
Total phosphorus, %	0.61	0.61	0.51	0.51

<sup>1</sup>, Broiler premix provides followings per kg of starter diet: vitamin A, 12,960 IU; vitamin D<sub>3</sub>, 3300 IU; vitamin E, 11mg; vitamin K<sub>3</sub>, 2.4mg; vitamin B<sub>1</sub>, 2.6mg; vitamin B<sub>2</sub>, 5.9mg; vitamin B<sub>6</sub>, 3.3mg; vitamin B<sub>12</sub>, 15 $\mu$ g; Niacin, 52.8mg; Folic acid, 1.4mg; Biotin, 72mg; Calpanto, 110mg; Zn, 58.8mg; Mn, 79.2mg; Fe, 62.4mg; Cu, 6mg; I, 1.3mg; Mo, 0.12mg Endox, 72mg; Se, 0.12mg; Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 120mg.

<sup>2</sup>, Supplemented at the level of 600 U/kg diets with crude phytase made from *Aspergillus ficuum* at Chung Ang University.

<sup>3</sup>, T1, Control diet (starter, 0.45% NPP, grower, 0.35% NPP); T2, T1+600 U phytase/kg diet; T3, Low - P (starter, 0.35% NPP, grower, 0.25% NPP); T4, T3+600 U phytase/kg diet.

저한 후 550°C 회화로에서 6시간 회화시켜 측정하였다. 광물질 분석은 사료와 분에 사용했던 전식법을 이용하였다.

## 6. 통계분석

시험에서 얻어진 자료의 통계처리는 SAS의 GLM (General Linear Model) procedure를 이용하여 요인분석하였고, 처리 평균간의 비교는 Duncan's multiple range test를 이용하였다.

## 결과 및 고찰

사료섭취량, 증체량, 사료요구율 및 사망율은 Table 4에서 보는 바와 같다. 사료섭취량은 전기 (0~21일)에 P 수준에 의해 영향을 받아 정상수준의 P 처리구에 비해 낮은 수준의 P 처리구가 유의하게 낮았으며 육성기 (22~35일)와 전 기간(0~35일) 동안은 phytase 첨가에 의해 유의하게 증가되었다 (P<0.05). 증체량은 전기에는 정상수준의 P와 phytase 첨가구가 유의하게 높았으며, 전 기간동안에는 phytase의 첨가에 의해서만 유의하게 증가되었다

Table 4. Feed intake, weight gain, feed/gain and mortality in chickens fed experimental diets with or without crude phytase supplementation for 35 d

Diets	0~21 d				22~35 d				0~35 d			
	Feed intake	Weight gain	Feed: gain	Mortality %	Feed intake	Weight gain	Feed: gain	Mortality %	Feed intake	Weight gain	Feed: gain	Mortality %
T1	1115.3 <sup>a</sup>	780.6 <sup>a</sup>	1.43	6.67	1538.1 <sup>ab</sup>	801.6	1.92	0.00	2653.4 <sup>a</sup>	1582.3 <sup>a</sup>	1.68	6.67
T2	1112.8 <sup>a</sup>	782.3 <sup>a</sup>	1.42	5.00	1555.4 <sup>ab</sup>	809.7	1.93	1.85	2668.2 <sup>a</sup>	1592.1 <sup>a</sup>	1.68	6.67
T3	1035.8 <sup>b</sup>	723.7 <sup>b</sup>	1.43	6.67	1489.3 <sup>b</sup>	740.1	2.02	3.75	2525.1 <sup>b</sup>	1463.8 <sup>b</sup>	1.73	10.00
T4	1110.1 <sup>a</sup>	778.5 <sup>a</sup>	1.43	10.00	1593.7 <sup>a</sup>	812.2	1.96	0.00	2703.8 <sup>a</sup>	1590.8 <sup>a</sup>	1.70	10.00
SEM	23.40	12.19	0.02	3.56	34.91	28.82	0.05	1.85	51.08	35.50	0.02	4.28
	-----											
	Probabilities -----											
Treatment	3	0.0210	0.9814	0.6739	0.1074	0.1309	0.2115	0.2707	0.0348	0.0128	0.2496	0.8228
Phosphorus	1	0.0441	0.0063	0.7428	0.4006	0.8577	0.2238	0.0717	0.5376	0.2803	0.0521	0.0743
Phytase	1	0.0752	0.0102	0.8267	0.7776	0.0454	0.1040	0.4688	0.5376	0.0311	0.0287	0.5373
P*Phytase	1	0.0582	0.0147	0.9128	0.4006	0.1419	0.1885	0.3932	0.0790	0.0636	0.0568	0.4850
	-----											
	Main effects -----											
Phosphorus												
Control	1114.0 <sup>a</sup>	781.5 <sup>a</sup>	1.42	5.83	1546.7	805.7	1.92	0.93	2660.8	1587.1	1.68	6.67
C - 0.1 %NPP	1073.0 <sup>b</sup>	751.1 <sup>b</sup>	1.42	8.33	1541.5	776.1	1.99	1.88	2614.5	1527.2	1.72	10.00
Phytase												
0 U/kg	1075.6	752.2 <sup>b</sup>	1.42	6.67	1513.7 <sup>b</sup>	770.8	1.97	1.88	2589.2 <sup>b</sup>	1523.0 <sup>b</sup>	1.70	8.33
600 U/kg	1111.4	780.4 <sup>a</sup>	1.42	7.50	1574.5 <sup>a</sup>	810.9	1.94	0.93	2686.0 <sup>a</sup>	1591.3 <sup>a</sup>	1.69	8.33

<sup>1</sup>, T1, Control diet (starter, 0.45% NPP, grower, 0.35% NPP): T2, T1+600 U phytase/kg diet:: T3, Low - P (starter, 0.35% NPP, grower, 0.25% NPP): T4, T3+600 U phytase/kg diet.

<sup>a-b</sup>, Values with different superscripts in the same column within comparing treatments differ at P< 0.05.

Table 5. The availability of organic matter (OM) and crude ash in broiler chickens

Treatments <sup>1</sup>		DM	Protein	Fat	Fiber	NFE	Ash
(%)							
T1		79.8	75.5	84.1	13.0	90.3	38.8
T2		79.4	74.3	86.1	16.0	89.5	39.4
T3		78.7	71.4	84.1	13.0	89.8	38.5
T4		79.1	74.1	83.7	11.6	89.6	40.0
SEM		0.51	2.16	1.79	1.74	0.52	1.19
	df	Probabilities					
Treatments	3	0.0466	0.4301	0.6377	0.0239	0.5315	0.6974
Phosphorus	1	0.1493	0.2335	0.4154	0.1374	0.6881	0.9160
Phytase	1	0.8541	0.6845	0.5867	0.5840	0.2134	0.2829
P*Phytase	1	0.5381	0.2835	0.4030	0.1428	0.5091	0.6428
----- Main effect -----							
Phosphorus							
Control		79.5	74.9	85.1	14.5	89.9	39.1
C - 0.1% NPP		78.9	72.7	83.9	12.3	89.7	39.2
Phytase							
0 U/kg		79.2	73.5	84.1	13.0	90.1	38.6
600 U/kg		79.3	74.2	84.9	13.8	89.5	39.7

<sup>1</sup>, T1, Control diet (starter, 0.45% NPP, grower, 0.35% NPP); T2, T1+600 U phytase/kg diet; T3, Low - P (starter, 0.35% NPP, grower, 0.25% NPP); T4, T3+600 U phytase/kg diet.

( $P < 0.05$ ). 사료효율과 사망률에는 처리간에 차이가 없었다. P 함량이 낮은 사료에 phytase 첨가시 사료섭취량과 증체량이 phytase 미첨가구에 비해 증가되었으며, 정상수준의 P 처리구와 비슷한 결과를 나타내었다. 이는 여러 실험들(Simons 등, 1990; Broz 등, 1994; Kornegay 등, 1996; Sebastian 등, 1996)의 결과와 유사한 것으로서, phytase 첨가에 의해 P 흡수율 증가, phytate - mineral complex로부터 다른 광물질의 해리 이용, inositol의 이용(Simons 등, 1990), 소화율 증가(Knuckles과 Betschart, 1987), 그리고 아미노산의 이용을 증가 등에 의한 것으로 사료된다.

Table 5에서 보는 바와 같이 대사시험을 실시하여 얻은 영양소이용율은 P 수준이나 phytase 첨가에 의해 영향을 받지 않았다. 조단백질, 조지방 및 조섬유의 이용율은 P의 수준이 낮은 처리구가 낮은 경향을 보였으며, phytase 첨가에 의해 조단백질의 이용율이 증가하는 경향이 있었으나 통계적 유의차는 없었다. Schoener (1992) 및 Simons와 Versteegh (1990)도 phytase의 첨가가 건물, 조단백질 등의 영양소이용율에는 영향을 미치지 못하였다고 하였다.

P와 N의 배설량은 Table 6에서 보는 바와 같다. P 배설량은 정상적인 P 급여구에 비해 낮은 수준의 P 급여구가 21.4%까지 유의하게 ( $P < 0.05$ ) 감소하였고, 또한 phytase 첨가구가 무첨가구보다 7.3%까지 유의하게 감소하였다. 그러나 P과 phytase의 상호작용은 유의성이 나타나지 않았다. N 배설량은 P 첨가수준과 phytase 첨가에 의해 영향을 받지 않았다. Kornegay (1996)는 P 수준이 낮은 사료에 사료 kg 당 200~1,200 U phytase를 첨가하면 0.45%의 NPP 처리구에 비해 P 배설량이 25~54%까지 감소한다고 하였다. 또한 Schoener 등 (1990)은 1년 동안 350 마리의 육계가  $P_2O_5$ 를 55 kg 배설하며, phytase를 사료에 첨가할 경우 55 kg의  $P_2O_5$ 의 양은 435~525 마리가 배설한 양과 같다고 하였다. 무기물 이용율은 Table 7에서 보는 바와 같다. 낮은 수준의 P 급여구가 Ca 이용율을 유의하게 향상시켰으나 다른 무기물 이용율에는 영향을 주지 않았다. P과 Mg 이용율은 phytase 첨가에 의해 유의하게 증가되었으나, Fe과 Zn 이용율은 유의하게 감소되었다. P과 phytase의 상호작용은 모든 광물질에서 유의하게 나왔다. 즉 저 수준의 P 처리구에 phytase 첨가시 Mg의 이용율은 유의하게 향상시켰으나 Fe와 Zn의 이용율

**Table 6.** The amount of P and N excreted from chickens fed experimental diets with or without crude phytase supplementation

Treatments <sup>1</sup>	Phosphorus	Nitrogen
	----- (mg/day/bird) -----	
T1	319.2 <sup>a</sup>	861.3
T2	296.0 <sup>b</sup>	882.4
T3	250.9 <sup>c</sup>	928.8
T4	232.8 <sup>c</sup>	931.8
SEM	9.01	71.49
	df	Probabilities
Treatments	3	0.0001
Phosphorus	1	0.0001
Phytase	1	0.0117
P*Phytase	1	0.7334
		----- Main effect -----
Phosphorus		
Control	307.6 <sup>a</sup>	871.8
C - 0.1%NPP	241.8 <sup>b</sup>	930.3
Phytase		
0 U/kg	285.0 <sup>a</sup>	895.0
600 U/kg	264.4 <sup>b</sup>	907.1

<sup>1</sup> T1, Control diet (starter, 0.45% NPP, grower, 0.35% NPP); T2, T1+600 U phytase/kg diet; T3, Low - P (starter, 0.35% NPP, grower, 0.25% NPP); T4, T3+600 U phytase/kg diet.

<sup>a-c</sup>. Values with different superscripts in the same column within comparing treatments differ at P<0.05.

에는 유의한 차이가 없었고, 정상 P 구에서는 phytase 첨가에 의해 Fe과 Zn의 이용율이 유의하게 감소하였다. 본 시험에서 phytase 첨가로 인한 P 이용율이 무첨가 처리보다 11.2% 향상되었는데 이러한 결과는 닭 (Simons 등, 1990; Broz 등, 1994)과 돼지 (Young 등, 1993; Lie 등, 1994; Morz 등, 1994; Bruce와 Sundstol, 1995)로 수행한 여러 시험결과와 유사하였다. 한편 Zn 이용율에 있어서 Roberson과 Edwards (1994)가 보고한 바에 의하면 P 첨가수준이 낮을수록 낮았고 phytase 첨가효과는 없었다고 하였는데, 본 시험에서도 이와 유사한 결과를 보였다. Oberleas (1973)에 의하면 사료에 함유된 phytic acid는 필수 광물질들과 강한 킬레이트 결합을 하므로 불용성 염을 형성하는데, 이러한 염들은 소화관에서 광물질 흡수를 저해하는 것으로 알려져 있다. 따라서 위에 나타난 결과를 살펴보면 phytase 첨가구, 특히 T4가 무첨가구 보다 광

물질 이용성이 좋은 것을 볼 수 있는데, 이는 phytase의 작용으로 인하여 강하게 킬레이트 결합되어 있던 광물질들이 유리되어 흡수·이용된 것으로 사료되며, P 수준과 phytase 처리간의 강한 상호작용은 P의 수준이 다른 광물질의 이용율에 큰 영향을 미치는 것을 시사하고 있다.

혈장내 무기물 함량은 Table 8에서 보는 바와 같다. P의 사료내 수준이나 phytase의 첨가는 혈장내 광물질함량에 영향을 미치지 않았으나, 혈장내 Ca, Mg, Zn의 함량은 사료내 P 수준과 phytase 첨가에 따른 유의한 상호작용이 있어, 저수준의 P가 함유된 사료에 phytase 첨가시 이들 광물질의 혈장내 함량을 증가시키는 것으로 나타났다. 혈장내 Ca 함량은 T1이 9.82 mg/dl로 다른 처리구 즉, T3와 T4의 10.99 mg/dl 그리고 10.68 mg/dl보다 유의하게 낮았다. 이는 P 수준이 낮은 사료를 섭취할 경우, 부갑상선 호르몬의 분비가 증가되므로 혈장에 이온화된 Ca이 증가되기 때문인 것으로 사료된다 (Tayler와 Dacke, 1984). 혈장내 P 함량은 T4가 14.78 mg/dl로 가장 높았고, T3가 12.80 mg/dl로 가장 낮아 처리간 유의성 (P<0.05)을 나타내었다. Perney 등 (1993)과 Broz 등 (1994)은 P 수준이 낮은 사료에 phytase 첨가시 혈장내 P 함량이 증가한다고 하였으며, Sebastian (1996)은 혈장내 Zn 함량은 처리간 차이가 없었다고 하였는데, 본 시험에서는 P의 수준과 phytase 첨가에 따른 강한 상호작용이 있어 정상 P 수준에서는 phytase 첨가가 혈장 Zn 수준을 유의하게 증가시켰고, 낮은 P 수준에서는 유의한 차이가 없었는데 이는 Zn 이용율에서 본 결과와는 상반되는 것이어서 이에 대한 추가적인 시험이 요망된다.

경골의 무게, 둘레, 그리고 길이는 Table 9에서 보여주는 바와 같다. 경골의 무게와 길이는 사료내 P수준과 phytase의 첨가유무에 의해 영향을 받아 저수준의 P를 급여시 경골이 가볍고 짧았으며 phytase 첨가시 경골의 무게가 증가하였다. 경골의 둘레는 처리간에 차이가 없었다. 이러한 결과는 P가 결핍된 골격은 훨씬 더 짧고, 중량과 광물질 함량이 감소하게 된다는 Veltmann (1993)과 Yoshida (1986)의 보고와 유사하였다. 따라서 P 수준을 0.1% 감소시킨 사료에 phytase를 첨가해 주면 골격이 정상적으로 성장하였는데, 이는 phytase가 phytate를 phosphate 그룹과 이에 결합되어 있던 광물질들을 유리시켜 골격성장에 영향을 끼친 것으로 사료된다.

경골의 광물질함량은 Table 10에서 보는 바와 같다. 경골의 회분함량은 P수준에 의해 영향을 받지 않았으나 phytase 첨가에 의해 유의하게 향상되었다. 경골내 회분함량의 증가는 phytate와 결합된 무기물이 phytase에 의

**Table 7.** The availability of minerals in chickens fed experimental diets with or without crude phytase supplementation

Treatments <sup>1</sup>	Calcium	Phosphorus	Magnesium	Iron	Zinc	
	(%)					
T1	43.3 <sup>bc</sup>	47.5 <sup>b</sup>	17.8 <sup>b</sup>	30.4 <sup>a</sup>	23.6 <sup>a</sup>	
T2	41.7 <sup>c</sup>	49.9 <sup>b</sup>	19.6 <sup>b</sup>	16.5 <sup>b</sup>	8.8 <sup>b</sup>	
T3	45.4 <sup>b</sup>	47.1 <sup>b</sup>	16.4 <sup>b</sup>	24.8 <sup>a</sup>	16.6 <sup>a</sup>	
T4	49.8 <sup>a</sup>	55.1 <sup>a</sup>	22.9 <sup>a</sup>	26.6 <sup>a</sup>	19.0 <sup>a</sup>	
SEM	1.43	1.59	1.31	2.28	3.08	
	df	Probabilities				
Treatments	3	0.0006	0.0009	0.0023	0.0003	0.0042
Phosphorus	1	0.0003	0.0834	0.3799	0.2437	0.5209
Phytase	1	0.2635	0.0006	0.0010	0.0041	0.0233
P*Phytase	1	0.0195	0.0432	0.0369	0.0004	0.0027
		Main effect				
Phosphorus						
Control	42.5 <sup>b</sup>	48.7	18.7	23.5	16.7	
C - 0.1 %NPP	47.6 <sup>a</sup>	51.1	19.7	25.7	17.8	
Phytase						
0 U/kg	44.4	47.2 <sup>b</sup>	17.1 <sup>b</sup>	27.6 <sup>a</sup>	20.1 <sup>a</sup>	
600 U/kg	45.7	52.5 <sup>a</sup>	21.3 <sup>a</sup>	21.6 <sup>b</sup>	13.9 <sup>b</sup>	

<sup>1</sup>. T1, Control diet (starter, 0.45% NPP, grower, 0.35% NPP); T2, T1+600 U phytase/kg diet; T3, Low - P (starter, 0.35% NPP, grower, 0.25% NPP); T4, T3+600 U phytase/kg diet.

<sup>a-b</sup>. Values with different superscripts in the same column within comparing treatments differ at P<0.05.

**Table 8.** The amount of mineral in plasma of chickens fed experimental diets with or without crude phytase supplementation

Treatments <sup>1</sup>	Calcium	Phosphorus	Magnesium	Iron	Zinc	
	(mg/dl)					
	μg/dl					
T1	9.82 <sup>b</sup>	14.50 <sup>ab</sup>	2.82	0.56	167.6 <sup>b</sup>	
T2	10.82 <sup>a</sup>	14.42 <sup>ab</sup>	3.30 <sup>a</sup>	0.65	199.8 <sup>a</sup>	
T3	10.99 <sup>a</sup>	12.80 <sup>b</sup>	3.44 <sup>a</sup>	0.60	206.0 <sup>a</sup>	
T4	10.68 <sup>a</sup>	14.78 <sup>a</sup>	3.19 <sup>ab</sup>	0.46	180.5 <sup>ab</sup>	
SEM	0.43	0.97	0.22	0.14	16.0	
	df	Probabilities				
Treatments	3	0.0200	0.1130	0.0249	0.4728	0.0520
Phosphorus	1	0.0638	0.2838	0.0866	0.4014	0.2328
Phytase	1	0.2111	0.1302	0.4122	0.7386	0.5545
P*Phytase	1	0.0207	0.1018	0.0136	0.1963	0.0141
		Main effect				
Phosphorus						
Control	10.32	14.46	3.06	0.61	183.7	
C - 0.1 %NPP	10.83	13.79	3.31	0.53	196.0	
Phytase						
0 U/kg	10.40	13.65	3.13	0.58	186.8	
600 U/kg	10.75	14.60	3.24	0.55	192.9	

<sup>1</sup>. T1, Control diet (starter, 0.45% NPP, grower, 0.35% NPP); T2, T1+600 U phytase/kg diet; T3, Low - P (starter, 0.35% NPP, grower, 0.25% NPP); T4, T3+600 U phytase/kg diet.

<sup>a-b</sup>. Values with different superscripts in the same column within comparing treatments differ at P<0.05.



**Table 9.** Weight, girth, and length of tibia of chickens fed experimental diets with or without crude phytase supplementation

Treatment <sup>1</sup>	Weight	Girth	Length
	g	----- cm -----	
T1	4.13 <sup>a</sup>	2.90	9.07 <sup>a</sup>
T2	4.16 <sup>a</sup>	2.79	9.02 <sup>a</sup>
T3	3.39 <sup>b</sup>	2.74	8.67 <sup>b</sup>
T4	4.05 <sup>a</sup>	2.86	8.90 <sup>ab</sup>
SEM	0.14	0.10	0.14
	df	----- Probabilities -----	
Treatments	3	0.0001	0.0052
Phosphorus	1	0.0001	0.0024
Phytase	1	0.0003	0.2749
P*Phytase	1	0.0003	0.0888
		----- Main effect -----	
Phosphorus			
Control	4.13 <sup>a</sup>	2.84	9.04 <sup>a</sup>
C - 0.1 %NPP	3.72 <sup>b</sup>	2.79	8.78 <sup>b</sup>
Phytase			
0 U/kg	3.76 <sup>b</sup>	2.82	8.87
600 U/kg	4.09 <sup>a</sup>	2.82	8.96

<sup>1</sup>, T1: Control diet(NPP-starter:0.45%, grower:0.35%), T2: T1+600 U phytase/kg diet, T3: Low - P(NPP-starter:0.35%, grower:0.25%), T4: T3+600 U phytase/kg diet

<sup>a-b</sup>, Values with different superscripts in the same column within comparing treatments differ at P<0.05.

해 유리되어 광물질이용율이 증가되었기 때문인 것으로 사료된다 (Nelson, 1971; Perney 등, 1993). 경골의 Ca, P, Mg 함량은 P수준이 낮은 사료를 급여시 유의하게 감소되었으나, phytase 첨가시 증가되었다. 경골의 회분, Ca, P의 함량은 사료내 P수준과 phytase 첨가에 따른 상호작용이 있어 저 수준의 P 처리구에 phytase를 첨가시 이들 광물질의 경골내 축적을 증가시켰다.

이상의 결과들을 종합해 볼 때, P 수준이 낮은 사료에 crude phytase의 첨가는 증체량을 향상시키며 사료내 P의 이용을 증가에 따라 사료내 P 수준을 감소시킬 수 있고 분으로 배설되는 P의 양을 감소시킬 수 있을 것으로 기대된다.

## 적 요

본 시험은 *Aspergillus ficuum*으로부터 생산된 crude phytase가 육계의 생산성, 영양소이용율 및 경골과 혈장의 광물질 함량에 미치는 영향을 측정하고자 실시하였다. 갖 부화한 육계 수평아리 (Avian<sup>®</sup>) 240수를 공시하여 2 수준의 phytase (0과 600 U/kg)와 2 수준의 무기태 P(non-phytate P, NPP)의 요인실험으로서, P의 수준은 전기(1~21일)에 0.45 및 0.35% 이었고, 육성기(21~35일)에는 0.35 및 0.25% 이었다. 사료섭취량과 증체량은 phytase 첨가에 의해 유의하게 향상되었다 (P<0.05). 사료효율과 사망율에 있어서는 처리간에 유의한 차이가 없었다. 영양소이용율은 P 수준과 phytase에 의해 유의한 영향을 받지 않았다. 저수준의 P과 phytase 첨가구의 P 배설량이 유의하게 감소되었다. 그러나 N의 배설량에는 유의한 차이가 없었다. 저 수준의 N 급여에 의해 Ca이용율이 향상되었으며 phytase 첨가에 의해 P, Mg 이용율은 향상되었으나 (P<0.05) Fe과 Zn의 이용율은 감소되었다. 광물질 이용율에는 사료내 P 수준과 phytase 첨가간에 유의한 상호작용이 있었다. 경골의 무게는 저수준의 P 급여시 가볍고 짧았으며 phytase 첨가에 의해 무거워졌다. 경골내 Ca, P, Mg 함량은 저수준의 P 급여시 감소되었으며 phytase 첨가시 증가되었다. 경골의 회분함량은 phytase 첨가에 의해 증가되었다. 결론적으로 P 수준이 낮은 육계사료에 crude phytase 첨가시 생산성과 광물질이용율 (Ca, P 그리고 Mg)을 향상시키며 사료내 P 수준을 낮출 수 있으므로 P의 배설량을 효과적으로 감소시킬 수 있었다.

(색인어 : 육계, *Aspergillus ficuum*, crude phytase, 생산성, 영양소이용율, P 배설량, 경골)

## 사 사

본 실험은 농림부의 첨단기술개발 연구비 지원에 의하여 수행되었음.

## 인용문헌

- AOAC 1990 Official Methods of Analysis (15th Ed.). Association of Official Analytical Chemists Washington D.C.
- Broz J, Odale P, Perrin - Voltz AH, Rychen G, Schulze J, Simoes Nunes C 1994 Effect of supplemental phytase on performance and phosphorus utilization

**Table 10.** The contents of minerals in fat - free dry tibia of chickens fed experimental diets with or without crude phytase supplementation

Treatments <sup>1</sup>	Ash	Calcium	Phosphorus	Magnesium	Iron	Zinc
	% DM	----- (% of tibia) -----			----- ( $\mu\text{g/g}$ of tibia) -----	
T1	50.9 <sup>a</sup>	17.53 <sup>b</sup>	8.59 <sup>a</sup>	0.303 <sup>ab</sup>	191.5 <sup>ab</sup>	169.8
T2	51.1 <sup>a</sup>	18.64 <sup>a</sup>	8.62 <sup>a</sup>	0.317 <sup>a</sup>	192.9 <sup>ab</sup>	167.0
T3	48.8 <sup>b</sup>	17.23 <sup>bc</sup>	7.83 <sup>c</sup>	0.278 <sup>c</sup>	210.3 <sup>a</sup>	160.9
T4	51.5 <sup>a</sup>	16.93 <sup>c</sup>	8.24 <sup>b</sup>	0.300 <sup>b</sup>	170.4 <sup>b</sup>	167.1
SEM	0.72	0.32	0.16	0.009	0.002	0.54
----- Probabilities -----						
Treatments	0.0005	0.0001	0.0001	0.0001	0.0866	0.4811
Phosphorus	0.0767	0.0001	0.0001	0.0003	0.8641	0.2987
Phytase	0.0024	0.0448	0.0243	0.0013	0.0794	0.6626
P*Phytase	0.0095	0.0009	0.0477	0.4587	0.0587	0.2784
----- Main effect -----						
Phosphorus						
Control	51.0	18.08 <sup>a</sup>	8.60 <sup>a</sup>	0.310 <sup>a</sup>	192.2	168.4
C - 0.1 %NPP	50.2	17.08 <sup>b</sup>	8.04 <sup>b</sup>	0.289 <sup>b</sup>	190.4	164.0
Phytase						
0 U/kg	49.9 <sup>b</sup>	17.38 <sup>b</sup>	8.21 <sup>b</sup>	0.291 <sup>b</sup>	200.9	165.4
600 U/kg	51.3 <sup>a</sup>	17.79 <sup>a</sup>	8.43 <sup>a</sup>	0.309 <sup>a</sup>	181.7	167.1

<sup>1</sup>. T1. Control diet (starter, 0.45% NPP, grower, 0.35% NPP): T2. T1+600 U phytase/kg diet: T3. Low - P (starter, 0.35% NPP, grower, 0.25% NPP): T4. T3+600 U phytase/kg diet.

<sup>a-b</sup>. Values with different superscripts in the same column within comparing treatments differ at  $P < 0.05$ .

in broiler chickens fed a low phosphorus diet without addition of inorganic phosphates. *Br Poult Sci* 35:273 - 280.

Bruce JAM, Sundstol F 1995 The effect of microbial phytase in diets for pigs on apparent ileal and faecal digestibility, pH and flow of digesta measurements in growing pigs fed a high - fibre diet. *Can J Anim Sci* 75: 121 - 127.

Cromwell GL 1980 Biological availability of phosphorus in feedstuffs for swine. *Feedstuffs* 52(9):38 - 42.

Eardman JW, Jr 1979 Oil seed phytates: nutritional implications. *J Am Oil Chem Soc* 56:736 - 741.

Engelen AJ, Van Der Heeft FC, Randsdorp PHG, Smit ELC 1994 Simple and rapid determination of phytase activity. *J AOAC Int* 77(3):760 - 764.

Hoppe PP, Schwarz G 1993 Experimental approaches to establish the phosphorus equivalency of

*Aspergillus niger* phytase in pigs. Pages 187 - 192 in: Proceeding of 1st Symposium, Enzymes in Animal Nutrition. Kartause Ittingen, Switzerland.

Kornegay ET, Denbow DM, Yi Z, Ravindran V 1996 Response of broilers to graded levels of Natuphos phytase added to corn - soybean meal based diets containing three levels of nonphytate phosphorus. *Br J Nutr* 75:839 - 852.

Knuckles BE, Betschart AA 1987 Effects of phytate and other myo - inositol phosphatate esters on alpha - amylase digestion of starch. *Journal of Food Science* 52:719 - 721.

Lei XG, Ku PK, Millar ER, Yokoyama MT, Ullrey DE 1994 Calcium level affects the efficacy of supplemental microbial phytase in corn - soybean diets of weanling pigs. *J Anim Sci* 72:139 - 143.

Michell RD, Edwards HM 1996 Effects of phytase and 1,25 - dihydroxycholecalciferol on phytate utiliza -

- tion and the quantitative requirement for calcium and phosphorus in young broiler chickens. *Poultry Science* 75:95 - 110.
- McCuaig LW, Davis MI, Motzok I 1972 Intestinal alkaline phosphatase and phytase of chicks: Effect of dietary magnesium, calcium, phosphorus, and thyroactive casein. *Poultry Sci* 51:526 - 530.
- Mohammed A, Gibney MJ, Taylor TG 1991 The effect of dietary levels of inorganic phosphorus, calcium and cholecalciferol on the digestibility of phytate - P by the chicks. *Br J Nutr* 66:251 - 259.
- National Research Council 1994 Nutrient Requirements of Poultry. 9th rev. ed. National Academy of Science, Washington D.C.
- Nelson TS, Kirby LK 1987 The calcium binding properties of natural phytate in chick diets. *Nutr Rep Int* 35:949 - 956.
- Nelson TS, Ferrara LW, Storer NL 1968a Phytate phosphorus content of feed ingredients derived from plants. *Poultry Sci* 47:1372 - 1374.
- Nelson TS, Shieh TR, Wodzinski RJ, Ware JH 1968b The availability of phytate phosphorus in soybean meal before and after treatment with a mold phytase. *Poultry Science* 47:1842 - 1848.
- Oberleas D 1973 Phytates. In: *Toxicant Occurring Naturally in Foods*, 2nd Edition. National Academy of Sciences, Washington DC. pp.363 - 371.
- Peeler HT 1972 Biological availability of nutrients in feeds: Availability of major mineral ions. *J Anim Sci* 35:695 - 699.
- Perney KM, Cantor AH, Straw ML, Herkelman KL 1993 The effect of dietary phytase on growth performance and phosphorus utilization of broiler chickens. *Poultry Sci* 72:2106 - 2114.
- Roberson KD, Edwards HM 1994 Effects of 1,25 - Dihydroxycholecalciferol and phytase on zinc utilization in broiler chicks. *Poultry Sci* 73:1312 - 1326.
- Saylor WW, Bartnikovski A, Spencer TL 1991 Improved performance of broiler chicks fed diets containing phytase. *Poul Sci* 70:104.
- Sandberg AS, Larsen T, Sandstorm B 1993 High dietary calcium levels decrease colonic phytate degradation in pigs. *J Nutr* 123:559 - 566.
- SAS 1985 SAS User's Guide; Statistics. SAS Inst Inc Cary NC.
- Scheideler SE, Sell JL 1987 Utilization of phytate phosphorus in laying hens as influenced by dietary phosphorus and calcium. *Nutr Rep Int* 35:1073 - 1081.
- Schoener BRJ, Hoppe PP, Schwarz G, Wiesche H 1993 Effects of microbial phytase and inorganic phosphate in broiler chickens: performance and mineral retention at various calcium levels. *J Anim Physiol Anim Nutr* 69:235 - 244.
- Schoener VFJ, Hoppe PP, Schwarz G 1991 Comparative effects of microbial phytase and inorganic P on performance and on retention of P, Ca and crude ash in broilers. *J Anim Physiol Anim Nutr* 66:248 - 255.
- Sebastian S, Touchburn SP, Chavez ER, Lague PC 1996 The effects of supplemental microbial phytase on the performance and utilization of dietary calcium, phosphorus, copper, and zinc in broiler chickens fed corn - soybean diets. *Poultry Sci* 75:729 - 736.
- Simons PCM, Versteegh HAJ 1990 Phytase in feed reduces phosphorus excretion. *Poultrymisset June/July*:15 - 17.
- Simons PCM, Versteegh HAJ, Jongbloed AW, Kemme PA, Slump P, Bos KD, Wolters MGE, Beudeker RF, Verschoor GJ 1990 Improvement of P availability by microbial phytase in broilers and pigs. *Br J Nutr* 64:525 - 540.
- Taylor TG, Dacke CG 1984 Calcium metabolism and its regulation. Pages 126 - 170 in: *Physiology and Biochemistry of the Domestic Fowl*. B. M. Freeman, ed. Academic Press, London, UK.
- Vohra P, Gray GA, Kratzer FH 1965 Phytic acid - metal complex. *Proceeding of the Society for Experimental Biology and Medicine* 120:447 - 449.
- Young LG, Leunissen M, Atkinson JL 1993 Addition of microbial phytase to diets of young pigs. *J Anim Sci* 71:2147 - 2150.