

Phytate 분해 유산균의 분리 및 이용

양시용* · 송민동 · 김창원 · 유제현 · 정기철

Isolation and Application of Phytate-Hydrolysing Lactic Acid Bacteria. Yang, Si-Yong*, Min-Dong Song, Chang-Won Kim¹, Jae-Hyeon Yu¹, and Ki-Chul Chung². Department of Biotechnology, Konkuk University, Chungju 380-701, ¹Department of Dairy Science, Konkuk University, ²Department of Genetic Engineering, Chonnam National University, Korea – Among lactic acid bacteria isolated from young animal feces, a bacterium having high phytate degradation ability, identified as *L. paracasei* subsp. *paracasei*, was selected. When inoculated into soybean meal, wheat bran and rice bran, the bacterium showed phosphate group of phytate (phytate-P) degradability of 27.07% for soybean meal and 12.18% for wheat bran. However, degradation of phytate-P was not observed for rice bran. *L. paracasei* subsp. *paracasei* had a good acid and bile juice tolerance, having 9.70, 9.66 and 8.80 (log CFU/ml) for control, acid and bile juice treatment. Feed efficiency increased from 3.71 to 3.21 with addition of the bacterium at 0.4% (w/w) level in swine fattener's diets.

Key words: Lactic acid bacteria, phytate, soybean meal, wheat bran

곡류 등에 존재하는 phytate는 주요 미네랄, 단백질 등의 영양소 이용율을 저하시키는 항영양인자로 발아, 가열 및 발효 등의 처리에 의해 phytate 함량을 저하시킴으로써 영양소의 이용효율을 높일 수 있는 것으로 알려져 있는데[3, 14], 특히 발효의 경우 자연발효[10,13]와 *R. oligosporus* [20], *Lactobacillus* sp.[9] 및 *Saccharomyces* sp.[9] 등의 균주접종을 통한 순수발효를 통해 효과적으로 phytate 함량을 감소시킬 수 있는 것으로 알려져 있다.

유산균[19] 및 효모[11,17]의 phytase 활성에 대해서는 보고된 바 있으나 곰팡이와 *Bacillus* sp.가 생산하는 phytase 활성에 비해 매우 낮은 것으로 알려져 있다. 한편 인 함량이 낮은 사료를 급여한 쥐에 있어 *S. cerevisiae* yeast culture 제제 2% 첨가시 phytate의 인산기(phytate-P)의 이용성이 높아지지 않은 반면, 4 또는 6% 첨가에 따라 phytate-P 이용성이 높아졌다고 하였으며[15], 산란계에 있어 인 함량이 낮은(0.25%) 사료급여시 유산균의 첨가에 의해 P 축적율이 개선되었는데, 이는 함유된 phytase 및 장내 pH 저하에 따른 결과라고 하였다[16]. 유산균은 사람 뿐만 아니라 가축에 있어 생균제(direct-fed-microbials)의 주요 균주로서 널리 이용되고 있으며, 가축에 이용할 경우 장내 균총의 balance 유지 및 장관내 pH 저하를 통한 증체, 사료효율 개선 및 질병억제 등의 효과를 가져오는 것으로 알려져 있는데[6,21], 유산균이 생균제 균주로서 단위가

축에 적용하기 위해서는 소나 유무 및 소화시간 등의 차이에 의해 닭과 돼지가 다소 다르지만 기본적으로 성장(특히, 고수준의 phytate 함유시)이 빠르고, 내산성, 내담즙성 이 요구되며 장내 점착성이 높은 균주를 얻기 위해 축종별 장관내에서 분리한 유산균을 이용하고 있다.

본 연구는 가축의 장관내로부터 유기산 생성, phytate 함유 환경하에서의 성장 및 phytate 분해능이 우수한 유산균의 분리 및 phytate 분해능을 나타내는 발효사료용 균주와 생균제용 균주로서의 이용가능성에 관해 검토하였다.

재료 및 방법

균주의 분리 및 동정

여러 어린 가축에서 얻은 분변을 멸균된 생리적 식염수(0.85 % NaCl)를 이용하여 적당히 희석하여 유기산 생성에 의해 배지색깔이 노란색으로 변하는 유산균수 측정용 배지인 BCP(bromo cresol purple) 배지를 이용하여 유기산 생성이 우수한 균주들을 1차적으로 분리하였다. 이들을 pH 5.5의 phytase screening 배지(Ca-phytate 5 g/L 함유)에 streaking하여 37°C에서 24 시간 배양 후 성장 및 phytase 생성(clear zone)을 나타내는 4 균주를 2차적으로 선발하였고, whey 배지(lactose, 10 g/L; whey powder, 10 g/L; sodium acetate, 5 g/L; sodium phytate, 0.6 g/L)[19]를 이용하여 37°C, 150 rpm으로 48 시간 배양한 다음 pH, 성장 및 phytate 분해도를 측정하여 최종 1 균주를 선발하였다.

선별 균주의 동정은 형태적, 생리적, 생화학적 특성을 조사함으로써 Bergey's Manual of Systematic Bacteriology[8]에 따라서 실시하였고, 균주는 MRS agar에 보관하였으며,

*Corresponding author
Tel. 82-43-851-3210, Fax. 82-43-851-3210
E-mail: bonmoon@hanmail.net

한 방법이라 판단되었다.

순수배양에 의한 원료사료의 phytate 분해

평균한 대두박, 쌀겨 및 밀기울에 *L. paracasei* subsp. *paracasei*를 접종하여 24시간 동안 배양한 결과 쌀겨의 phytate 함량만을 제외하고는 원료사료별로 다소 다르지만 pH 저하와 함께 원료사료의 phytate 함량 및 상등액의 P와 수용성 단백질 함량이 유의적으로 감소하였다(P<0.05)(Table 4). 보고에 의하면 유산균을 이용하여 pearl millet을 발효시킨 결과 pearl millet의 phytate 함량 감소 및 무기 인 함량이 증가하였으며, 무기 인 함량의 증가는 phytate의 분해에 의한 결과라고 하였다[9]. 본 실험 결과 무기 인 함량이 유산균 발효에 의해 감소한 것은 배양 상등액 내의 무기 인 함량을 측정함으로써 유산균에 의해 상당부분 이용되었기 때문이며, 수용성 단백질 함량의 감소도 유산균에 의해 분해·이용되었기 때문으로 판단되었다. 발효 등에 의한 phytate 함량의 감소는 처리 방법 외에 원료의 종류에 따라 다른데 평균시간에 따른 여러 곡물들의 phytate 감소율을 파악한 결과 2시간 평균처리에 의해 대두 및 밀은 각각 17% 및 77%의 phytate가 감소된 반면 쌀은 5%밖에 감소되지 않았는데, 결국 원료별 phytate 감소율이 다른 것은 원료내 단백질 및 양이온 환경의 차이 때문이라고 추정하였다[4]. 본 연구결과에서도 대두박, 쌀겨 및 밀기울의 phytate 감소율이 각각 27.07, 0 및 12.18%로 나타났는데 이는 제시된 원료사료의 단백질과 양이온 상태의 차이[4]뿐만 아니라 비수용성 섬유소 함량과 phytate의 원료사료내 분포위치 등의 차이 때문으로 판단된다. 따라서 유산균 등을 이용하여 발효사료를 제조할 때는 원료사료에 따라 phytate 분해가 다른 점을 고려하여야 한다.

발효에 의한 여러 기질의 이용효율을 파악하기 위해서는 pH, *in vitro*에서의 단백질과 전분 소화율, *in vivo* 실험 등을 수행해야 정확한 자료를 도출할 수 있다. 그러나 phytate 분해에 따라 P extractability, 미네랄 이용성 및 단백질과 전분 소화율 등이 개선되는 점을 고려할 때 발효성상을 파악함에 있어 pH 측정과 함께 간접적인 index로서 phytate 함량의 변화를 측정하는 것도 바람직한 방법으로

평가된다.

L. paracasei subsp. *paracasei* 첨가가 비육돈의 생산성에 미치는 영향

비육돈 사료에 0.4%(w/w) 수준으로 *L. paracasei* subsp. *paracasei*를 첨가하여 급여한 결과는 Table 5에 나타난 바와 같이 증체량에는 영향을 미치지 않았으나, 사료효율에 있어서는 개선효과가 나타났다. 0.4%(w/w) 제올라이트구는 유산균의 담체(carrier)로 쓰였기 때문에 참고구로 하여 비교한 것으로 증체량과 사료효율에 있어 대조구와 차이를 보이지 않아 0.4% *L. paracasei* subsp. *paracasei* 처리구의 사료효율 개선효과는 함유된 *L. paracasei* subsp. *paracasei*에 의한 것임을 알 수 있다. 실험농장의 특성상 개체관리와 용

Table 5. Effects of *L. paracasei* subsp. *paracasei* on feed conversion and average weight gain of fattening pigs.

Item	Treatment		
	Control	0.4% LPP ¹	0.4% Zeolite
< 1 - 14 days >			
Initial weight (kg)	59.44	52.08	53.50
Final weight (kg)	72.78	65.00	65.70
Average weight gain (kg)	13.34	12.92	12.20
Average feed intake (kg)	40.56	35.83	37.20
Feed/gain	3.04	2.77	3.05
< 15 - 45 days >			
Initial weight (kg)	72.78	65.00	65.70
Final weight (kg)	101.10	89.17	92.78
Average weight gain (kg)	28.32	24.17	27.08
Average feed intake (kg)	113.89	83.33	108.33
Feed/gain	4.02	3.45	4.00
< 1 - 45 days >			
Initial weight (kg)	59.44	52.08	53.50
Final weight (kg)	101.10	89.17	92.78
Average weight gain (kg)	41.66	37.09	39.28
Average feed intake (kg)	154.44	119.17	145.53
Feed/gain	3.71	3.21	3.71

¹Formulated feed 0.4% (w/w) *L. paracasei* subsp. *paracasei*.

Table 4. Effects of fermentation of soybean meal, rice bran and wheat bran with *L. paracasei* subsp. *paracasei* on phytate, released P and soluble protein content.

Feed ingredient	Time	pH	Phytate (mg/g)	P released (mg/ml)	Soluble protein (mg/ml)
Soybean meal	0 h	6.21 ^a	1.33 ^a	0.19 ^a	4.70 ^a
	24 h	4.70 ^b	0.97 ^b	0.10 ^b	1.32 ^b
Rice bran	0 h	6.17 ^a	1.43	0.27 ^a	1.53 ^a
	24 h	3.97 ^b	1.48	0.23 ^b	0.89 ^b
Wheat bran	0 h	5.85 ^a	1.97 ^a	0.29 ^a	1.54 ^a
	24 h	3.86 ^b	1.73 ^b	0.25 ^b	0.56 ^b

^{a,b}Mean values between two values in a column with unlike superscript letters were significantly different (P<0.05).

(Table 1). 보고에 의하면[19] 유산균에 의한 배지내의 phytate 함량 감소는 균주의 대사에 의해서만 이루어지는 것이 아니라 유산균 대사 결과 저하된 pH에 의해서도 영향을 받는다고 하였는데 본 연구에서도 자료로 제시하지는 않았지만 whey 배지에 유산(lactic acid) 첨가로 pH 4.0으로 조정하여 8시간 처리한 결과 7.9%의 phytate 함량감소를 나타내었으며, Table 1에 나타난 바와 같이 발효 후 pH 값이 낮고 성장이 우수할수록 phytate 분해율이 높은 것을 알 수 있었다.

Phytase 활성 측정을 위해 MRS 배지로 24시간 배양한 배양상층액의 pH를 중성으로 조정하여 다음 Na-phytate를 기질로 하여 phytase 활성을 측정하였으나, phytase 활성이 나타나지 않아 배지조성 등의 배양조건을 달리하여 phytase의 생산성 파악 및 분리정제를 통하여 phytase 생산성에 관한 연구를 수행 중에 있다.

선발 균주 동정

최종적으로 선발된 균주는 현미경 관찰, BCP 배지상에서의 유산의 생성 여부, 그람염색, catalase 시험 등과 Table 2와 같이 API 50 CHL 균 동정 kit(bioMerieux Vitek, Inc.)를 이용한 50종류의 당 이용성 시험을 통한 분석결과 *L. paracasei* subsp. *paracasei*로 나타났다.

내산성 및 내담즙성

최종 선발된 *L. paracasei* subsp. *paracasei*를 본 시험 조건 하에서 내산성 및 내담즙성이 우수한 것으로 알려져 있는 균주와 비교해 본 결과 Table 3에 나타난 바와 같이 내산성 및 내담즙성이 우수한 것으로 나타나 가축의 장내에서 유효하게 작용할 수 있으리라 기대된다. 김치 발효 중 pH 3.0~4.0 범위에서 발견되는 유산균들은 대체로 산에 대한 내성이 강한 균주들이라고 하였는데[12], *L. paracasei* subsp. *paracasei* 및 참고구의 유산균 역시 MRS broth 상에서 37°C에서 170 rpm으로 24시간 발효시 pH가 각각 3.76 및 3.80이었으며 이때 균수는 각각 5.1×10^9 및 1.2×10^{10} CFU/ml로서 낮은 pH 조건하에서도 높은 균수를 유지함을 알 수 있다. 따라서 내산성이 우수한 균주들을 1차적으로 screening하고자 할 때 일정시간(24시간) 배양 후 pH 3.0~4.0 범위에 도달하는 균주를 선발하는 것도 바람직

Table 2. Biochemical characteristics (carbohydrates) of *L. paracasei* subsp. *paracasei*¹.

Characteristics	LPP	Characteristics	LPP
Glycerol	-	Salicine	+
Erythritol	-	Cellobiose	+
D-Arabinose	-	Maltose	+
L-Arabinose	-	Lactose	-
Ribose	+	Melibiose	-
D-Xylose	-	Saccharose	+
L-Xylose	-	Trehalose	+
Adonitol	-	Inuline	+
Methyl-xyloside	-	Melezitose	+
Galactose	+	D-Raffinose	-
D-Glucose	+	Amidon	-
D-Fructose	+	Glycogene	-
D-Mannose	+	Xylitol	-
L-Sorbose	-	Gentiobiose	+ ^w
Rhamnose	-	D-Turanose	+
Dulcitol	+	D-Lyxose	-
Inositol	-	D-Tagatose	+
Mannitol	+	D-Fucose	-
Sorbitol	+	L-Fucose	-
Methyl-D-mannoside	-	D-Arabitol	-
Methyl-D-glucoside	-	L-Arabitol	-
N Acetyl glucosamine	+	Gluconate	-
Amygdaline	+ ^w	2 aceto-gluconate	-
Arbutine	+	5 aceto-gluconate	-
Esculine	+		

¹+, positive; +^w, weakly positive; -, negative.

Table 3. Survival of *L. paracasei* subsp. *paracasei* in artificial gastric and bile juices (Viable cell counts, log CFU/ml).

Treatment	Control	Gastric juice (pH 2.5)	Bile juice (pH 6.8)	SE ¹
LPP ²	9.70 ^a	9.66 ^a	8.80 ^b	0.20*
Reference ³	10.08 ^a	10.01 ^a	7.41 ^b	0.52***

^{a,b}Mean values within a row with unlike superscript letters were significantly different.

¹Standard error of the means (*, P<0.05; ***, P<0.001).

²*L. paracasei* subsp. *paracasei*.

³*Lactobacillus* sp. from commercial yoghurt.

Table 1. pH, growth and phytate degradation values on fermented whey medium with 1st selected microorganisms (means± STD)¹.

Bacterial strain	pH	Growth [535nm (logCFU/ml)]	Phytate (µg/ml)	Phytate degradation (%)
A-3	5.78 ± 0.02	2.72 ± 0.08(8.40)	99.56 ± 0.15	36.37
C-2	5.22 ± 0.10	2.86 ± 0.02(8.60)	84.36 ± 1.25	46.09
F-5	4.97 ± 0.01	3.04 ± 0.02(9.04)	64.84 ± 1.22	58.56
K-3	5.96 ± 0.03	2.73 ± 0.03(8.46)	105.58 ± 1.05	32.53

¹pH, growth and phytate values determined at the end of fermentation (48 h).

한 방법이라 판단되었다.

순수배양에 의한 원료사료의 phytate 분해
 평균한 대두박, 쌀겨 및 밀기울에 *L. paracasei* subsp. *paracasei*를 접종하여 24시간 동안 배양한 결과 쌀겨의 phytate 함량만을 제외하고는 원료사료별로 다소 다르지만 pH 저하와 함께 원료사료의 phytate 함량 및 상등액의 P와 수용성 단백질 함량이 유의적으로 감소하였다($P < 0.05$)(Table 4). 보고에 의하면 유산균을 이용하여 pearl millet을 발효시킨 결과 pearl millet의 phytate 함량 감소 및 무기 인 함량이 증가하였으며, 무기 인 함량의 증가는 phytate의 분해에 의한 결과라고 하였다[9]. 본 실험 결과 무기 인 함량이 유산균 발효에 의해 감소한 것은 배양 상등액 내의 무기 인 함량을 측정된 것으로 유산균에 의해 상당부분 이용되었기 때문이며, 수용성 단백질 함량의 감소도 유산균에 의해 분해·이용되었기 때문으로 판단되었다. 발효 등에 의한 phytate 함량의 감소는 처리 방법 외에 원료의 종류에 따라 다른데 평균시간에 따른 여러 곡물들의 phytate 감소율을 파악한 결과 2시간 평균처리에 의해 대두 및 밀은 각각 17% 및 77%의 phytate가 감소된 반면 쌀은 5%밖에 감소되지 않았는데, 결국 원료별 phytate 감소율이 다른 것은 원료내 단백질 및 양이온 환경의 차이 때문이라고 추정하였다[4]. 본 연구결과에서도 대두박, 쌀겨 및 밀기울의 phytate 감소율이 각각 27.07, 0 및 12.18%로 나타났는데 이는 제시된 원료사료의 단백질과 양이온 상태의 차이[4]뿐만 아니라 비수용성 섬유소 함량과 phytate의 원료사료내 분포위치 등의 차이 때문으로 판단된다. 따라서 유산균 등을 이용하여 발효사료를 제조할 때는 원료사료에 따라 phytate 분해가 다른 점을 고려하여야 한다.
 발효에 의한 여러 기질의 이용효율을 파악하기 위해서는 pH, *in vitro*에서의 단백질과 전분 소화율, *in vivo* 실험 등을 수행해야 정확한 자료를 도출할 수 있다. 그러나 phytate 분해에 따라 P extractability, 미네랄 이용성 및 단백질과 전분 소화율 등이 개선되는 점을 고려할 때 발효성을 파악함에 있어 pH 측정과 함께 간접적인 index로서 phytate 함량의 변화를 측정하는 것도 바람직한 방법으로

평가된다.

L. paracasei subsp. *paracasei* 첨가가 비육돈의 생산성에 미치는 영향

비육돈 사료에 0.4%(w/w) 수준으로 *L. paracasei* subsp. *paracasei*를 첨가하여 급여한 결과는 Table 5에 나타난 바와 같이 증체량에는 영향을 미치지 않았으나, 사료효율에 있어서는 개선효과가 나타났다. 0.4%(w/w) 제올라이트구는 유산균의 담체(carrier)로 쓰였기 때문에 참고구로 하여 비교한 것으로 증체량과 사료효율에 있어 대조구와 차이를 보이지 않아 0.4% *L. paracasei* subsp. *paracasei* 처리구의 사료효율 개선효과는 함유된 *L. paracasei* subsp. *paracasei*에 의한 것임을 알 수 있다. 실험농장의 특성상 개체관리가 용

Table 5. Effects of *L. paracasei* subsp. *paracasei* on feed conversion and average weight gain of fattening pigs.

Item	Treatment		
	Control	0.4% LPP ¹	0.4% Zeolite
< 1 - 14 days >			
Initial weight (kg)	59.44	52.08	53.50
Final weight (kg)	72.78	65.00	65.70
Average weight gain (kg)	13.34	12.92	12.20
Average feed intake (kg)	40.56	35.83	37.20
Feed/gain	3.04	2.77	3.05
< 15 - 45 days >			
Initial weight (kg)	72.78	65.00	65.70
Final weight (kg)	101.10	89.17	92.78
Average weight gain (kg)	28.32	24.17	27.08
Average feed intake (kg)	113.89	83.33	108.33
Feed/gain	4.02	3.45	4.00
< 1 - 45 days >			
Initial weight (kg)	59.44	52.08	53.50
Final weight (kg)	101.10	89.17	92.78
Average weight gain (kg)	41.66	37.09	39.28
Average feed intake (kg)	154.44	119.17	145.53
Feed/gain	3.71	3.21	3.71

¹Formulated feed 0.4% (w/w) *L. paracasei* subsp. *paracasei*.

Table 4. Effects of fermentation of soybean meal, rice bran and wheat bran with *L. paracasei* subsp. *paracasei* on phytate, released P and soluble protein content.

Feed ingredient	Time	pH	Phytate (mg/g)	P released (mg/ml)	Soluble protein (mg/ml)
Soybean meal	0 h	6.21 ^a	1.33 ^a	0.19 ^a	4.70 ^a
	24 h	4.70 ^b	0.97 ^b	0.10 ^b	1.32 ^b
Rice bran	0 h	6.17 ^a	1.43	0.27 ^a	1.53 ^a
	24 h	3.97 ^b	1.48	0.23 ^b	0.89 ^b
Wheat bran	0 h	5.85 ^a	1.97 ^a	0.29 ^a	1.54 ^a
	24 h	3.86 ^b	1.73 ^b	0.25 ^b	0.56 ^b

^{a,b}Mean values between two values in a column with unlike superscript letters were significantly different ($P < 0.05$).

이하지 않아 개체별 사료섭취량 및 분변내 인 배설량 등을 파악하기가 어려워 처리구별 생산성만을 비교하였고, 사육두수가 적어 개시체중이 처리구별로 유사하지는 않으나 사료효율 개선효과가 뚜렷하기 때문에 그 처리효과가 인정된다고 할 수 있다. 이와 같이 사료효율이 높아진 것은 phytate의 분해율 증가에 따른 인을 비롯한 미네랄, 단백질 및 전분 등의 이용효율이 높아졌기 때문이며, 이와 함께 장관내 pH 저하에 따른 소화효소 및 장내 미생물이 생산하는 효소의 활성을 높여 소화율이 높아졌기 때문이다.

산란계에게 당밀을 담체로 한 유산균 급여 실험에서 저수준(0.25%)의 인을 함유한 사료를 급여한 처리구에 있어 P 축적율이 개선되는 결과를 얻었는데 이는 당밀과 유산균의 phytase 활성 및 소낭과 소장 내용물의 pH 저하에 따라 P의 이온화가 촉진되어 흡수율이 높아졌기 때문이라고 하였다[16]. 일반적으로 유산균 첨가에 따른 증체 및 사료효율 개선효과는 장관 pH 저하에 따른 소화효소의 활성 촉진 및 정상 균총의 유지로 인한 것으로 알려져 있으며 지금까지 보고된 유산균의 phytase 활성은 매우 낮은 편으로 당밀 및 당밀과 유산균의 혼합물 모두 phytase 활성을 나타내며, 당밀과 유산균 혼합물이 phytase 활성이 더 높다고 하였다. 이는 유리된 인 함량으로 나타낸 phytase 활성이 낮을 뿐만 아니라 측정결과 당밀은 약산성(pH 5.0)이며, 유산균의 경우 균주에 따라 다르지만 배양액의 경우 pH 3.0~4.5 정도의 pH를 나타내는 점을 고려하면 phytase 활성은 상당부분 낮은 pH(3.0~5.0) 및 pH 저하에 따른 영향으로 사료된다. 다른 보고에 의하면 phytate를 함유한 whey 배지에 유산균 발효시의 pH 저하와 동일하게 유산으로 pH를 저하시킴에 의해 whey 배지내의 phytate 감소효과가 나타나는 점으로 보아 유산균의 phytate 분해효과는 상당부분 pH 저하에 따른 영향이라고 하였다[19].

이상의 결과들을 종합해 볼 때 유산균에 의한 원료사료의 phytate 분해 및 사료효율 개선 효과는 phytase와 함께 상당부분 발효에 따른 pH 저하의 영향임을 알 수 있다. 따라서 발효에 따른 pH 저하율이 높으며 내산성 및 내담즙성이 우수한 *L. paracasei* subsp. *paracasei*의 이용을 통해 생균제 및 phytase 첨가효과를 동시에 얻을 수 있음을 알 수 있다.

돼지의 경우 phytate-P의 이용성에 있어 연령 및 사료에 따라 다르지만 평균 34% 가량의 phytate-P를 이용할 수 있으며[1], 연령 증가에 따라 이용성이 높아지는 점을 보편적인 산성조건, 장관 phytase 및 사료의 내인성 phytase에 의해 상당부분의 phytate-P가 분해된다는 점을 알 수 있다. 따라서 유산균 첨가에 따른 장관내 pH 저하로 인한 phytate-P 분해 및 사료의 내인성 phytase의 활성 촉진 등으로 양돈사료에 유산균 첨가에 따른 phytate-P 이용성이 제고될 수 있음을 알 수 있다. 닭의 경우 돼지에 비해 일반적으로 phytate-P의 이용성이 낮은 것으로 알려져 있는데

이는 상대적으로 짧은 소화시간 및 장관 phytase 활성이 적기 때문인 것으로 알려져 있다. 그러나 효율적인 유산균의 첨가에 따라 소낭 내용물의 pH를 효과적으로 저하시킬 경우 phytate 분해율 및 사료의 내인성 phytase의 활성 제고로 소낭내 amylase 및 장관내 소화효소의 활성을 높여 사료효율을 높일 수 있다.

결론적으로 phytate 함유 조건하에서의 성장, phytate 분해력, 내산성·내담즙성 및 발효시 pH 저하율이 우수한 *L. paracasei* subsp. *paracasei*의 경우 생균제 및 phytase 첨가 효과를 동시에 얻을 수 있음을 알았다. 향후 *L. paracasei* subsp. *paracasei*가 생산하는 phytase에 대한 효소학적 연구 및 *in vivo* 실험을 통한 phytase 처리구와의 비교실험 등이 요구된다.

요 약

본 연구는 단위가축 사료로 이용되는 곡류 등에 존재하는 항영양인자인 phytate 함유 환경하에서의 성장 및 phytate 분해력이 우수한 유산균을 분리하고 발효사료 제조 및 가축 생균제용 균주로의 이용성을 검토하기 위하여 실시하였다. 분리 유산균은 자돈 분변으로부터 얻은 유산균들 중 phytate 함유 환경하에서의 성장 및 phytate 분해력이 가장 우수한 균으로 동정결과 *Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei*로 동정되었다. 분리 균주는 내산성, 내담즙성이 높고, 사료원료를 배지성분으로 하여 순수배양한 결과 대두박 및 밀기울의 phytate-P 분해율이 각각 27.07 및 12.18%로 나타났다. 또한, 분리 균주를 비육돈 사료에 첨가하여 급여한 결과 증체량 개선효과는 나타나지 않았으나 사료효율 개선효과를 얻을 수 있었다.

REFERENCES

1. Anon. 1984. Phosphorus bioavailability in poultry nutrition. *Nutr. Rev.* **42**: 387-389.
2. Bradford, M. M. 1976. A rapid and sensitive method for quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.* **72**: 248-254.
3. Champagne, E. T., R. M. Rao, J. A. Liuzzo, J. W. Robinson, R. J. Gale, and F. Miller. 1985. Solubility behaviours of the minerals, proteins, and phytic acid in rice bran with time, temperature and pH. *Cereal Chem.* **62**: 218-222.
4. de Boland, A., G. B. Garmer, and B. L. O'Dell. 1975. Identification and properties of phytate in cereal grains and oilseed products. *J. Agric. Food Chem.* **23**: 1186-1189.
5. Duncan, D. B. 1955. Multiple range and multiple F tests. *Biometrics.* **11**: 1-42.
6. Francis, C., D. M. Janky, A. S. Arafa, and R. H. Harms. 1978. Interrelationship of *Lactobacillus* and zinc bacitracin in the

- diets of turkey poults. *Poultry Sci.* **57**: 1687–1689.
7. Haug, W., and H. J. Lantzsch. 1983. Sensitive method for the rapid determination of phytate in cereals and cereal products. *J. Sci. Food Agric.* **34**: 1423–1426.
 8. Kandler, O., and N. Weiss. 1986. Genus *Lactobacillus*, p 1209–1234. In Kandler, O., and N. Weiss (ed.), *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, Vol. 2, Williams and Wilkins, Baltimore, MD.
 9. Khetarpaul, N., and B. M. Chauhan. 1990. Effects of germination and pure culture fermentation by yeasts and lactobacilli on phytic acid and polyphenol content of pearl millet. *J. Food Sci.* **55**: 1180–1182.
 10. Khetarpaul, N. and B. M. Chauhan. 1991. Effect of natural fermentation on phytate and polyphenolic content and in-vitro digestibility of starch and protein of pearl millet (*Pennisetum typhoideum*). *J. Sci. Food Agri.* **55**: 189–195.
 11. Lambrechts, C., H. Boze, G. Moulin, and P. Galzy. 1992. Utilization of phytate by some yeasts. *Biotechnol. Lett.* **14**: 61–66.
 12. Lee, S. H. and M. J. No. 1997. Viability in artificial gastric and bile juice and antimicrobial activity of some lactic acid bacteria isolated from *Kimchi*. *Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* **25**: 617–622.
 13. Lopez, Y., D. T. Gordon, and M. L. Fields. 1993. Release of phosphorus from phytate by natural lactic acid fermentation. *J. Food Sci.* **48**: 953–954.
 14. Maga, J. A. 1982. Phytate: its chemistry, occurrence, food interactions nutritional significance, and methods of analysis. *J. Agric. Food Chem.* **30**: 1–9.
 15. Moore, R. J. and T. L. Veum. 1983. Effect of source and level of dietary yeast product on phytate phosphorus utilization by rats fed low phosphorus diets. *Nutr. Rep. Intl.* **27**: 1267–1275.
 16. Nahashon, S. N., H. S. Nakaue, and L. W. Mirosh. 1994. Phytase activity, phosphorus and calcium retention, and performance of single comb white leghorn layers fed diets containing two levels of available phosphorus and supplemented with direct-fed microbials. *Poultry Sci.* **73**: 1552–1562.
 17. Segueilha, L., G. Moulin, and P. Galzy. 1993. Reduction of phytate content in wheat bran and glandless cotton flour by *Schwanniomyces castellii*. *J. Agric. Food Chem.* **41**: 2451–2454.
 18. Shimizu, M. 1992. Purification and characterization of phytase from *Bacillus subtilis* (natto) N-77. *Biosci. Biotech. Biochem.* **56**: 1266–1269.
 19. Shiral, K., S. Revah-Molseev, M. Garcia-Garlbay, and V. M. Marshall. 1994. Ability of some strains of lactic acid bacteria to degrade phytic acid. *Lett. Appl. Microbiol.* **19**: 366–369.
 20. Sutardi and K. A. Buckle. 1985. Phytic acid changes in soybeans fermented by traditional inoculum and six strains of *Rhizopus oligosporus*. *J. Appl. Bacteriol.* **58**: 539–543.
 21. Tortuero, F. 1973. Influence of the implantation of *Lactobacillus acidophilus* in chicks on the growth, feed conversion, malabsorption of fats syndrome and intestinal flora. *Poultry Sci.* **52**: 197–203.

(Received Aug. 14, 2001/Accepted Nov. 20, 2001)