

산란계에 갯벌 미생물 유래 단백질 분해 효소제의 급여가 계란 품질, 영양소 소화율 및 혈청내 총 단백질 함량에 미치는 영향

김해진¹ · 조진호¹ · 진영걸¹ · 유종상¹ · 민병준¹ · 박병철² · 김인호^{1*}

¹단국대학교 동물자원학과, ²(주)CJ 사료

Effects of Mud Flat Bacteria Origin Protease Supplementation on Egg Quality, Nutrient Digestibility and Total Protein Concentration of Serum in Laying Hens

H. J. Kim¹, J. H. Cho¹, Y. J. Chen¹, J. S. Yoo¹, B. J. Min¹, B. C. Park² and I. H. Kim^{1*}

¹Department of Animal Resource & Science, Dankook University, ²CJ Feed Co. Ltd., Incheon, Korea

ABSTRACT This study was conducted to investigate the effects of mud flat bacteria origin protease supplementation on egg quality, nutrient digestibility and total protein concentration of serum in laying hens. A total of two hundred fifty two laying hens were randomly allocated into three treatments with seven replications for eight weeks. Dietary treatments included 1) CON (basal diet), 2) PRO1 (basal diet + 0.05% protease) and 3) PRO2 (basal diet + 0.1% protease). During the entire experimental period, hen-day egg production was not affected by treatments ($P>0.05$). Difference of yolk height was increased in PRO1 treatment compared with CON treatment ($P<0.05$). Difference of egg weight was increased in PRO2 treatment compared with CON and PRO1 treatments ($P<0.05$). Shell quality, yolk color unit, haugh unit and egg yolk index were not affected by treatments ($P>0.05$). DM digestibility was improved in CON and PRO2 treatments compared with PRO1 treatment ($P<0.05$). N digestibility was improved in PRO2 treatment compared with CON treatment ($P<0.05$). Total protein concentration in serum were not affected by treatments ($P>0.05$). In conclusion, mud flat bacteria origin protease was effective for improving egg weight, yolk height and nutrient digestibility in laying hens.

(Key words : mud flat bacteria origin protease, egg quality, nutrient digestibility, total protein)

서 론

효소는 반추 동물 및 가금과 돼지 같은 단위동물의 사료의 영양적 가치를 증대하기 위하여 사료 첨가제로서 그 이용이 증가되어왔다(Graham and Balnave, 1995). 그러나 보다 경제적이면서 효율적인 효소제 생산을 위하여 일반적인 미생물들과 다른 저온성, 빈영양성, 친압성(내압성), 호염성 등 특성을 보이는 해양 미생물을 이용한 효소의 개발은 활발하게 연구되어왔다(Herbert, 1992; Feller et al., 1996; 장 등, 2001, 2004).

가금류와 같은 단위 동물은 반추 동물과는 달리 셀룰로오스, 헤미셀룰로오스와 리그닌과 같은 복합 세포벽 탄수화물을 소화시킬 수 있는 효소를 체내에서 생산하지 못한다.

이외에도 가금 사료로 이용되는 옥수수, 밀, 보리 등의 곡류에는 불용성 식이 섬유 함량이 높기 때문에 소화율을 낮게 하여 생산성을 감소시킨다. 따라서 xylanase, phytase, amylase, protease, cellulase, β -glucanase와 같은 효소제를 첨가 급여는 영양소 이용율을 높이고 사료 효율을 향상시키며, 배설물을 감소시키는 효과를 갖는다(Campbell and Bedford, 1992). Gracia MI (2003)은 육계 사료에 효소제를 첨가하였을 때 사료 효율이 향상되었다고 보고하였다. 또한, Matti (1988)는 산란계 사료내 효소 복합제를 급여하였을 때 산란율과 사료 효율이 개선되고, 특히 산란 말기 큰 효과를 나타내었다고 보고하였다. 현재까지 가금 사료에서 phytase, β -glucanase, cellulase 및 복합 효소제에 대한 실험은 많이 이루어지고 있으나 단백질 분해 효소제에 대한 실험은 미미한 실정이다.

* To whom correspondence should be addressed : inhokim@dankook.ac.kr

따라서, 본 시험의 목적은 개별 미생물 유래 단백질 분해 효소제를 산란계 사료내 첨가하였을 때 계란 품질, 영양소 소화율 및 혈청내 총 단백질 함량에 미치는 영향을 알아보기 위해 실시하였다.

재료 및 방법

1. 시험 동물 및 시험 설계

본 시험은 29주령 ISA brown 갈색계 252수를 공시하였고, 사료에 대한 7일간의 적응 기간 후, 8주간 사양 시험을 실시하였다.

시험 설계는 Table 1과 같은 옥수수-대두박 위주의 사료인 기초 사료구(CON; basal diet), 기초 사료내 단백질 분해 효소제를 0.05% 첨가한 구(PRO1; basal diet+0.05% protease), 기초 사료내 단백질 분해 효소제를 0.1% 첨가한 구(PRO2; basal diet+0.1% protease)로 3개 처리를 하여 처리당 7반복, 반복당 12수씩 완전임의 배치하였다.

2. 시험 사료 및 사양 관리

시험 사료는 옥수수-대두박 위주의 사료로서 NRC(1994) 사양 표준을 기초로 하여 2,904 kcal ME/kg, 15.45% CP, 0.70% lysine, 3.23% Ca, 0.61% P을 함유토록 하였다(Table 1). 시험 사료는 가루 형태로 산란율과 체중을 고려하여 일정한 양을 급여하였으며, 물은 자동 급수기를 이용하여 자유로이 먹을 수 있도록 조절하였다. 총 점등 시간은 일일 17시간이 되도록 조절하였다.

본 사양 시험에 사용한 단백질 분해 효소제는 2.5×10^6 unit/mL를 함유하고 있으며, 시험 사료내 첨가 시 10배 희석하여 첨가하였다.

3. 개별 미생물 유래 단백질 분해 효소제의 추출 방법 및 첨가 형태

개별 미생물인 *Bacillus* sp.의 배양액으로부터 조추출액(crude extraction)을 조제 후, 조추출액은 흡착제를 사용하여 흡착시켜, 용출제를 사용하여 흡착된 것을 용출시키고 용출액으로 단백질 분해 효소제를 분리한 후, 용출액을 칼럼 크로마토그래피를 사용하여 정제하였다(장 등, 2001, 2004). 정제된 단백질 분해 효소제는 액상 형태로써 사료에 첨가하여 시험에 이용하였다.

4. 조사 항목

Table 1. Diet composition (as-fed basis)

Ingredients	%
Corn	50.36
Soybean meal (CP 46%)	18.70
Wheat grain	10.00
Limestone	7.50
Wheat bran	5.00
Animal fat	4.44
Corn gluten meal	2.00
Tricalcium phosphate	1.40
Salt	0.30
DL-methionine	0.10
Mineral premix ¹	0.10
Vitamin premix ²	0.10
Chemical composition ³	
ME, kcal/kg	2,904
Crude protein (%)	15.45
Lysine (%)	0.70
Methionine (%)	0.32
Calcium (%)	3.23
Phosphorus (%)	0.61
Available P (%)	0.35

¹ Provided per kg of premix: 25,000 mg Cu, 40,000 mg Fe, 60,000 mg Zn, 80,000 mg Mn, 1,500 mg I, 300 mg Co and 150 mg Se.

² Provided per kg of premix: 12,500,000 IU vitamin A, 2,500,000 IU vitamin D₃, 10,000 mg vitamin E, 2,000 mg vitamin K₃, 50 mg biotin, 500 mg folic acid, 35,000 mg niacin, 10,000 mg Ca pantothenate, 1,000 mg vitamin B₆, 5,000 mg vitamin B₂, 1,000 mg vitamin B₁ and 15 mg vitamin B₁₂.

³ Calculated values.

1) 산란율

산란율은 사양 시험 기간 중 매일 채집하여 처리구별로 총 산란수를 사육 두수로 나누어 백분율로 표시하였다. 채집한 계란의 난중은 전자 저울을 이용하여 측정하였다.

2) 계란 품질

난각 강도는 난각 강도계(Ozaki MFG. Co. Ltd., Japan)를

이용하였으며, 난각 두께는 Dialpipe gauge(Ozaki MFG. Co. Ltd., Japan)를 이용하여 측정하였다. 난황색은 Yolk colour fan(Roche, Switzerland)을 이용하여 난황의 색도를 측정하였다. 난황 계수는 Ozaki사의 캘리퍼스로 난황의 높이와 직경을 측정하여 Sauter et al.(1951)의 방법에 의하여 난황의 높이를 난황의 직경으로 나누어 계산하였다. Haugh Unit는 (HU = $100 \times \log(H - (1.701 \times W^{0.37}) + 7.57)$)의 방법(Haugh, 1937)으로 난백고(H)와 난중(W)을 공식에 대입하여 구하였다.

3) 영양소 소화율

영양소 소화율을 측정하기 위하여 표시물로 산화크롬(Cr_2O_3)을 사료내 0.2% 첨가하였으며, 사양 시험 종료 5일전에 동일한 시간동안 배설된 분을 채취한 후, 채취한 분을 60℃의 건조기에서 72시간 건조시킨 후, 분쇄하여 분석에 이용하였다. 분과 사료의 일반 성분과 화학 분석은 AOAC(1994)에 의해 분석하였다.

4) 혈액내 총 단백질 함량

혈액 채취는 사양 시험 종료시에 처리당 임의로 10수씩을 선발하여 익정맥에서 vacuum tube(Becton Dickinson Vacutainer Systems, Franklin Lakes, NJ)를 이용하여 혈액을 채취하여 4℃에서 2,000×g로 30분간 원심 분리하여 얻은 혈청은 자동 생화학 분석기(HITACHI 747, Japan)를 이용하여 혈청내 총 단백질 함량을 조사하였다.

5. 통계 처리

모든 자료는 SAS(1996)의 General Linear Model procedure를 이용하여 Duncan's multiple range test(Duncan, 1955)로 처리하여 평균간의 유의성을 검정하였고, Polynomial regression(Peterson, 1985)은 효소제의 첨가 수준에 대한 linear와 quadratic 효과를 결정하기 위하여 사용하였다.

결과 및 고찰

산란기에 있어 단백질 분해 효소제의 첨가가 산란율에 미치는 영향은 Table 2에 나타내었다. 총 8주간 사양시험 기간 동안 산란율은 처리구간에 유의적인 차이를 보이지 않았다($P>0.05$).

Yörük et al.(2006)은 30주령 산란계 사료내 복합 효소제를 첨가하였을 때 산란율에 영향을 미치지 않는다고 보고하였고, Jaroni et al.(1999)은 산란 후기 사료에 복합 효소제를

Table 2. Effect of mud flat bacteria origin protease supplementation on hey-day egg production in laying hens

Period (Weeks)	CON ¹	PRO1 ¹	PRO2 ¹	SE ²	Contrast ³	
					1	2
0-2	92.26	91.16	91.75	0.78	0.65	0.39
2-4	96.26	95.90	97.02	0.72	0.47	0.42
4-6	96.17	95.77	95.83	0.83	0.78	0.82
6-8	94.05	94.01	94.05	0.66	1.00	0.96
0-8	94.69	94.21	94.66	0.33	0.93	0.27

¹ Abbreviated CON, basal diet; PRO1, basal diet added 0.05% protease; PRO2, basal diet added 0.1% protease.

² Pooled standard error.

³ Contrast (1=Linear effect, 2=Quadratic effect).

첨가하여도 생산성에는 영향을 미치지 않는다고 보고하였다. 본 시험에서도 처리구간에 차이를 보이지 않아 유사한 결과를 나타내었다.

산란기에 있어 단백질 분해 효소제의 첨가가 계란 품질에 미치는 영향은 Table 3에 나타내었다. 변화량에 있어서 난각 강도, 난각 두께, 난황색, haugh unit 및 난황계수는 처리구간에 유의적인 차이를 보이지 않았다($P>0.05$). 난황고의 변화량은 PRO1 처리구가 CON 처리구와 비교하여 유의적으로 높게 나타났($P<0.05$, Quadratic effect <0.06). 난중의 변화량에서는 PRO2 처리구가 CON과 PRO1 처리구와 비교하여 유의적으로 높게 나타났($P<0.05$), 단백질 분해 효소제 첨가 수준이 증가할수록 유의적으로 증가하는 경향을 나타냈다(Linear effect <0.03 , Quadratic effect <0.01).

Berg(1959, 1961)은 보리 위주 사료내 효소제를 첨가하였을 때 haugh unit와 난황색에는 영향을 미치지 않는다고 보고하였고, Brenes et al.(1993)은 복합 효소제(β -glucanase, pentosanase)를 산란계 사료내 첨가하였을 때 난중과 haugh unit에 영향을 미치지 않는다고 보고하였다. 또한 Benabdelljelil와 Arbaoui(1994)은 보리를 기초로 한 산란계 사료내 효소제를 첨가하였을 때 난각 품질에는 영향을 미치지 않는다고 보고하였다. 본 시험에서도 사료내 첨가한 효소제의 종류와 함량은 다르지만 난각 품질, 난황색, haugh unit 및 난황 계수의 변화량에서 처리구간에 차이를 보이지 않아 유사한 결과를 보였으나, 난중에 있어서 단백질 분해 효소제의 첨가 수준이 증가할수록 유의적으로 증가하여 상반된 결과를 나타내었다.

산란계에 있어 단백질 분해 효소제의 첨가가 영양소 소화율에 미치는 영향은 Table 4에 나타내었다. 건물 소화율은 CON과 PRO2 처리구가 PRO1 처리구와 비교하여 유의적으로 높게 나타났고($P<0.05$), 단백질 분해 효소제의 첨가 수준이 증가할수록 유의적으로 증가하는 경향을 나타냈다(Linear effect <0.05 , Quadratic effect <0.01). 질소 소화율은 PRO2 처

리구가 CON 처리구와 비교하여 유의적으로 높게 나타났고($P<0.05$), 단백질 분해 효소제의 첨가 수준이 증가할수록 유의적으로 증가하는 경향을 나타내었다(Linear effect <0.01).

Lazaro et al.(2003)은 산란계 사료내 복합 효소제를 급여 하였을때 영양소 이용율이 증가한다고 보고하였고, 축종은 다르지만 김 등(2006)은 비육돈 사료내 갯벌 미생물 유래 단

Table 3. Effect of mud flat bacteria origin protease supplementation on egg quality in laying hens

Traits	CON ¹	PRO1 ¹	PRO2 ¹	SE ²	Contrast ³	
					1	2
Initial						
Egg shell strength (kg/cm ²)	4.49	4.19	4.64	0.16	0.50	0.06
Egg shell thickness (mm)	0.32 ^b	0.33 ^{ab}	0.34 ^a	0.01	0.03	0.61
Yolk color unit	9.19	9.30	9.19	0.11	0.98	0.42
Yolk height (cm)	1.67	1.66	1.63	0.02	0.78	0.33
Egg weight (g)	51.34	51.44	51.19	0.12	0.18	0.40
Haugh unut	90.29	87.82	89.25	1.38	0.60	0.25
Egg yolk index	0.42	0.41	0.42	0.01	0.92	0.09
Final						
Egg shell strength (kg/cm ²)	4.24	4.38	4.52	0.25	0.42	0.99
Egg shell thickness (mm)	0.37	0.36	0.37	0.01	0.60	0.32
Yolk color unit	6.93	7.12	6.90	0.16	0.88	0.30
Yolk height (cm)	1.75	1.80	1.78	0.02	0.34	0.20
Egg weight (g)	61.20 ^a	60.97 ^b	61.25 ^a	0.08	0.67	0.01
Haugh unut	80.34	83.22	83.98	1.97	0.20	0.66
Egg yolk index	0.47	0.49	0.48	0.01	0.47	0.36
Difference						
Egg shell breakin strength (kg/cm ²)	-0.25	0.20	-0.12	0.31	0.76	0.32
Egg shell thickness (mm)	0.05	0.03	0.04	0.01	0.19	0.32
Yolk color unit	-2.26	-2.18	-2.30	0.21	0.89	0.71
Yolk height (cm)	0.09 ^b	0.17 ^a	0.13 ^{ab}	0.03	0.30	0.06
Egg weight (g)	9.77 ^b	9.53 ^b	10.06 ^a	0.09	0.03	0.01
Haugh unut	-9.95	-4.60	-5.27	2.73	0.23	0.37
Egg yolk index	0.05	0.08	0.06	0.01	0.46	0.08

¹ Abbreviated CON, basal diet; PRO1, basal diet added 0.05% protease; PRO2, basal diet added 0.1% protease.

² Pooled standard error.

³ Contrast (1=Linear effect, 2=Quadratic effect).

^{ab} Means in the same row with different superscripts differ ($P<0.05$).

Table 4. Effect of mud flat bacteria origin protease supplementation on nutrient digestibility(%) in laying hens

Traits	CON ¹	PRO1 ¹	PRO2 ¹	SE ²	Contrast ³	
					1	2
Dry matter	73.27 ^a	71.72 ^b	72.67 ^a	0.20	0.05	0.01
Nitrogen	71.70 ^b	72.57 ^{ab}	73.63 ^a	0.44	0.01	0.86

¹ Abbreviated CON, basal diet; PRO1, basal diet added 0.05% protease; PRO2, basal diet added 0.1% protease.

² Pooled standard error.

³ Contrast (1=Linear effect, 2=Quadratic effect).

^{ab} Means in the same row with different superscripts differ ($P < 0.05$).

Table 5. Effect of mud flat bacteria origin protease supplementation on total protein of serum in laying hens

Items (g/dL)	CON ¹	PRO1 ¹	PRO2 ¹	SE ²	Contrast ³	
					1	2
Initial	5.52	5.59	5.42	0.11	0.53	0.38
Finish	6.05	6.24	6.35	0.19	0.29	0.87
Difference	0.53	0.65	0.93	0.23	0.23	0.78

¹ Abbreviated CON, basal diet; PRO1, basal diet added 0.05% protease; PRO2, basal diet added 0.1% protease.

² Pooled standard error.

³ Contrast (1=Linear effect, 2=Quadratic effect).

백질 분해 효소제를 첨가하였을 때 영양소 소화율이 개선되었다고 보고하였다. 본 시험에서도 단백질 분해 효소제의 첨가수준이 증가함에 따라 영양소 소화율이 개선되어 유사한 결과를 나타내었다.

산란계에서 단백질 분해 효소제의 첨가가 혈액내 총 단백질 함량에 미치는 영향은 Table 5에 나타내었다. 혈액내 총 단백질 함량은 개시시, 종료시 및 변화량 모두 처리구간에 유의적인 차이를 보이지 않았다($P > 0.05$).

Yörük et al.(2006)은 산란계 사료내 복합 효소제를 첨가하였을 때 혈액내 총 단백질 함량에는 영향을 미치지 않았다고 보고하여 본 시험의 결과와 유사하게 나타내었다.

적 요

본 연구는 산란계 사료내 갯벌 미생물 유래 단백질 분해

효소제를 첨가하였을 때 계란 품질, 영양소 소화율 및 혈액내 총 단백질 함량에 미치는 영향을 알아보기 위해 실시하였다. 사양 시험은 29주령 ISA brown 갈색계 252수를 공시하여 8주간 실시하였다. 처리구는 옥수수-대두박 위주의 사료인 기초 사료구(CON; basal diet), 기초 사료내 단백질 분해 효소제 0.05% 첨가구(PRO1; basal diet+0.05% protease), 0.1% 첨가구 (PRO2; basal diet+0.1% protease)로서 처리구당 7반복, 반복당 12수씩 완전임의 배치하였다. 전체 사양 시험 기간 동안, 산란율은 처리구간에 유의적인 차이를 보이지 않았다($P > 0.05$). 난황고의 변화량은 PRO1 처리구가 CON 처리구와 비교하여 유의적으로 높게 나타났다($P < 0.05$). 난중의 변화량은 PRO2 처리구가 CON과 PRO1 처리구와 비교하여 유의적으로 높게 나타났다($P < 0.05$). 난각 품질, 난황색, haugh unit 및 난황 계수에서는 처리구간에 유의적인 차이를 보이지 않았다($P > 0.05$). 건물 소화율에서는 CON과 PRO2 처리구가 PRO1 처리구와 비교하여 유의적으로 높게 나타났고($P < 0.05$), 질소 소화율에서는 PRO2 처리구가 CON 처리구와 비교하여 유의적으로 높게 나타났고($P < 0.05$). 혈액내 총 단백질 함량에서는 처리구간에 유의적인 차이를 보이지 않았다($P > 0.05$). 결론적으로, 산란계 사료내 갯벌 미생물 유래 단백질 분해 효소제의 첨가는 난황고, 난중 및 영양소 소화율을 개선시켰다.

(색인어 : 갯벌 미생물 유래 단백질 분해 효소제, 계란 품질, 영양소 소화율, 총 단백질)

사 사

본 논문은 2006년도 단국대학교 대학연구비 지원에 의하여 수행되었으며 이에 감사드립니다.

인용문헌

- AOAC 1994 Official Methods of Analysis(16th Ed.). Association of official Analytical Chemists. Washington DC.
- Benabdeljelil K, Arbaoui MI 1994 Effects of enzyme supplementation of barley-based diets on hen performance and egg quality. Anim Feed Sci Tec 48:325-334.
- Berg LR 1959 Enzyme supplementation of barley diets for laying hens. Poultry Sci 38:1132-1139.
- Berg LR 1961 Effect of adding enzyme to barley diets at dif-

- ferent ages of pullets on laying house performance. Poultry Sci 40:34-39.
- Brenes A, Guenter W, Marquardt RR, Rotter BA 1993 Effect of β -glucanase/pentosanase supplementation on the performance of chickens and laying hens fed wheat, barley, naked oats and rye diet. Can J Anim Sci 73:941-951.
- Campbell GL, Bedford MR 1992 Enzyme applications for monogastric feeds: a review. Can J Anim Sci 72:449-466.
- Duncan DB 1955 Mutiple range and mutiple F test. Biometrics 11:1.
- Feller G, Narinx E, Arpigny JL, Aittaleb M, Baise E, Genicot S, Gerday C 1996 Enzymes from psychrophilic organisms. FEMS Microbiol 18:189-202.
- Gracia MI 2003 alpha-Amylase supplementation of broiler diets based on corn. Poultry Science 82(3): 436-442.
- Graham H, Balnave D 1995 Dietary enzyme for increasing enzyme availability. In: Biotechnology in Animal Feeds and Animal Feeding(Eds., Wallance RJ and Chesson A). Weunheim, Germany: VCH, 295-309.
- Herbert RA 1992 The perspective on the biotechnological potential of extremophiles. Trends Biotechnol 10:395-402.
- Jaroni D, Scheideler SE, Beck M, Wyatt C 1999 The effect of dietary wheat middlings and enzyme supplementation. 1. Late egg production efficiency, egg yields and egg composition in two strains of leghorn hens. Poultry Sci 78: 841-847.
- Lazaro R, Garcia M, Aranibar MJ, Mateos GG 2003 Effect of enzyme addition to wheat-, barley- and rye-based diets on nutrient digestibility and performance of laying hens. Br Poult Sci 44:256-265.
- Matti Nasi 1988 Enzyme supplementation of laying hen diets based on barley and oat. Department of Animal Husbandary University of Helsinki. 00710 Helsinki. Finland.
- NRC 1994 Nutrient requirements of poultry. National Academy Press. Washington DC.
- Peterson RG 1985 Design and analysis of experiments. Marcel dekkor. New York.
- SAS 1996 SAS user guide. release 6.12 edition. SAS Inst Inc Cary NC. USA.
- Sauter EA, Stadelman WJ, Harns V, McLaren BA 1951 Methods for measuring yolk index. Poultry Sci 30:629-630.
- Yörük MA, Gül M, Hayirli A, Karaoglu M 2006 Multi-enzyme supplementation to peak producing hens fed corn-soybean meal based diets. International Journal Poultry Sci 5:374-380.
- 김해진 민병준 조진호 진영걸 유종상 김인호 장정순 이윤교 2006 갯벌 미생물 유래 단백질 분해 효소제의 급여가 비육돈의 생산성, 아미노산 소화율, 혈액성상, 육질 특성 및 분내 휘발성 지방산과 $\text{NH}_3\text{-N}$ 함량에 미치는 영향. 한국동물자원과학회지 48:49-58.
- 장정순 주한승 Kumar CG 2004 고효성의 알칼리성 단백질 분해효소를 대량 생산하는 바실러스 속 I-52, 특허등록번호 제 046582호.
- 장정순 주한승 백승렬 김종욱 류경희 김경미 2001 갯지렁이로부터 분리한 신규한 프로테아제. 특허 공보 제9788호.