

Phytase 첨가가 산란계의 생산성, 난질, 질소와 인의 배설량 및 회장 소화율에 미치는 영향

황보 종^{1a} · 안정현^{1a} · 정완태¹ · 오상집² · 이현정¹ · 김학규¹ · 이선업¹ · 홍의철^{1†}

¹농촌진흥청 축산과학원, ²강원대학교 동물자원공동연구소

Effects of Dietary Phytase on Performance, Egg Quality, Excretion of N and P, and Ileal Digestibility in Laying Hens

J. Hwangbo^{1a}, J. H. Ahn^{1a}, W. T. Chung¹, S. J. Ohh², H. J. Lee¹, H. K. Kim¹, S. U. Lee¹ and E. C. Hong^{1†}

¹National Institute of Animal Science

²Institute of Animal Science Resources, Kangwon National University

ABSTRACT The effects of microbial phytase on laying performance, egg quality, and ileal digestibility of nutrients and amino acids were examined at three levels of phytase (0, 300, 600 unit/kg) in 55-wk-old White Leghorn for 4 weeks. Egg productivity tended to increase with supplemental phytase compared to that of control. Daily feed intake of hens fed phytase also increased. Egg shell thickness was not significantly different among the treatments. Haugh unit and yolk color were not statistically different. However, egg shell breaking strength was high at phytase treatment. Excretion and absorption of nitrogen were no difference among all treatments, but those of phosphorus was higher in the phytase treatment than control. The digestibility was high at crude fiber, crude ash, calcium and phosphorus in nutrients, at lysine, methionine and phenylalanine in essential amino acids, and alanine, cystine, glutamic acid, glycine and tyrosine in non-essential amino acids. In conclusion, supplemental microbial phytase in laying hens diet may help to improve egg production and to decrease P of feces. But, further studies were needed to investigate on the digestibility.

Key words : microbial phytase, hen, Laying performance, egg quality, excretion

서 론

축산의 규모화, 분뇨에서 비소화 물질의 배설 증가로 주변의 하천, 호수 등의 부영양화로 인한 수질 오염 및 암모니아 등의 악취 물질등이 발생하여 '공기' 오염을 유발시킨다 (Correll, 1999). 단백질 성분의 질소나 인은 가축에서 필수 영양소이나 가축의 체내에서 소화되지 않은 부분은 분뇨로 배설되어 환경 오염의 원인이 되어왔다. 일반적으로 인은 호수에서 제한 영양원으로 작용하기 때문에 인의 유입량은 호수의 부영양화에 중요한 요인이 된다(허우명 등, 1992; 김범철 등, 1995; Sharpley, 1999).

가금 사료로 사용되는 식물성 사료인 곡류나 박류 등에 포함되어 있는 인은 대부분이 피틴산(phytic acid)과 염의 형

태로 존재하며, 염의 형태로 존재하는 것을 피틴산염(phytate)이라고 한다(Ravindran 등, 1995). 피틴산염은 식물성 사료 원료 중에 있는 전체 인의 약 70%를 차지하고 있으며, 돼지나 닭과 같은 단위 동물의 경우 피틴산염을 분해하는 효소를 분비하지 못하거나 활성이 미약하여 유기태 인(피틴태 인)의 이용성이 떨어진다(Lynch, 1996; Abelson, 1999; Mullaney 등, 2000). 또한, 피틴산염은 소화 기관에서 아미노 그룹과 인산염 그룹의 이온 결합으로 소화 효소 특히 단백질 분해 효소인 trypsin, pepsin과 복합물을 형성하여 단백질 소화를 저하시킨다(Camus와 Larporte, 1976; Singh과 Krikorian, 1982; Kies 등, 2001). 따라서 단위 동물에서는 소화 가능한 무기태 인(비피틴태 인)을 추가 급여해야 하며, 이로 인해 인의 배설량이 증가한다.

^a First two authors equally contributed to this work.

[†] To whom correspondence should be addressed : coldboy72@hanmail.net

피틴태 인이 소화기관에서 흡수와 이용이 가능하기 위해서는 파이타제 등에 의해 이노시톨 분자로부터 유리되어야 한다(Sandberg 등, 1993). 파이타제는 곡류나 대두와 같은 식물의 종자(Maenz와 Classen, 1998)나 미생물(Kerr 등, 2000)의 형태로 자연계에 존재하며, 이노시톨의 인산의 가수분해를 촉진시켜 orthophosphate라는 이용 가능한 형태를 분리시키는 촉매제 역할을 하는 동시에, 피틴산염에 포함되어 있는 양이온(Ca, Cu, Mg 등)도 함께 분해시켜 흡수가 가능하도록 한다(Denbow 등, 1995; 홍중욱 등, 2001). 또한, 생체내에서 피틴태 인의 이용성을 개선(Simons 등, 1990; Denbow 등, 1995; Ravindran 등, 1995)시킴으로써 사료내 혼합되는 총 인의 함량을 낮추어 인의 배설량을 감소시키는 효과가 있다.

육계와 비교하여, 산란계 사료내 파이타제 공급에 대한 연구는 비교적 적는데, 주 요인은 산란계에 대한 인 요구량이 아직 정립되어 있지 않기 때문이다(Keshavarz, 2000). 따라서 산란계의 비피틴태 인은 NRC(1994) 권장량(250 mg/kg)을 초과하기 쉽다. 파이타제 활성은 *fytase unit*(FTU)로 나타내며, van der Klis 등(1997)은 HPLC 방법으로 피틴산염을 결정하기 위한 연구에서 2.4 g/kg 피틴태 인을 함유한 옥수수-대두 사료내 500 FTU/kg 파이타제 활성은 피틴산염을 감소시키고 회장인 흡수량을 증가시켰다. Um과 Paik(1999)의 연구에서는 500 FTU/kg 파이타제를 공급하여 난 생산을 유의적으로 증가시켰다. 또한, Lim 등(2003)은 파이타제 공급이 난 생산을 개선시키고 파란과 연관 및 인 배설량의 백분율을 감소시킨다고 하였다. Snow 등(2003)은 *Aspergillus niger* 파이타제를 300 FTU/kg 첨가한 결과, 산란율이나 회장에서의 아미노산 소화율에 유의한 영향이 없었다. 반면에, Jalal 등(1999)의 연구에서는 파이타제가 옥수수-대두 산란계 사료에서 alanine, cystine, glutamic acid 및 methionine의 소화율을 향상시켰다.

따라서 본 연구는 파이타제의 수준별 사료 첨가가 산란계의 생산성, 계란 품질, 질소와 인의 흡수량과 배설량 및 산란계의 회장 소화율에 미치는 영향을 구명하고자 실시하였다.

II. 재료 및 방법

1. 시험 설계

<시험 1>

공시 동물은 산란율이 80% 이상인 55주령의 White Leghorn 산란계 162수를 선별하여 4주 동안 본 시험을 수행하였다. 처리구는 옥수수-대두박 위주의 산란계 후기 사료(한국

사양 표준(가금, 2002))를 기초 사료(Table 1)로 이용한 대조구와 파이타제를 각각 300 FTU/kg과 600 FTU/kg을 첨가한 처리구의 3개 처리구로 나누어 각각 P0, P1, P2로 표시하고, 처리구당 9반복, 반복당 6수씩을 완전 임의배치 하였다.

<시험 2>

사양 시험이 끝난 산란계는 각 처리구에서 9수씩 선별하여 소화 시험을 7일간 실시하였다. 시험 사료는 옥수수-대두박 위주의 시험 사료[한국사양표준(가금, 2002)]를 기초 사료(Table 2)로 하였으며, 파이타제 300 FTU/kg과 600 FTU/kg을 첨가하여 시험 사료로 하였다. 처리구는 파이타제에 의한 3 처리구, 처리구당 9수씩 54수를 완전 임의 배치하였다. 소화율을 측정하기 위하여 표시물로서 산화크롬(Cr_2O_3)을 사료내 0.2% 첨가하였다.

Table 1. Feed formula and chemical compositions of basal diet in experiment^{1a}

Ingredients	%
Corn	54.00
Wheat bran	9.70
Soybean meal	18.00
Corn gluten meal	5.00
Salt	0.30
Vit.-mineral premix ¹	0.50
L-lysine	0.50
DL-methionine	0.50
Limestone	7.50
Tricalcium phosphate	1.00
Chemical composition ²	
ME (kcal/kg)	2,650
Crude protein (%)	15.00
Calcium (%)	3.28
Phosphorus (%)	0.63
Non-phytate-P (%)	0.34

¹ Provided following nutrients per kg of diet : vitamin A, 12,300 IU; vitamin D₃, 2,500 IU; vitamin E, 20 IU; riboflavin, 5.6mg; pyridoxine, 1.6 mg; vitamin B₁₂, 14 mg; niacin, 30 mg; pantothenic acid, 12 mg; folic acid, 1.0 mg; biotin, 0.12 mg.

² Calculated values.

^a 한국사양표준(가금, 2002).

Table 2. Feed formula and chemical compositions of basal diet in experiment^{2a}

Ingredients	%
Corn	60.60
Soybean meal	27.50
Corn gluten meal	5.00
Soybean oil	3.30
Tricalcium phosphate	1.20
Limestone	1.50
Salt	0.25
Vitamin-mineral premix ¹	0.50
L-lysine	0.50
DL-methionine	0.25
Total	100.00
Chemical composition ²	
ME (kal/kg)	3,100
Crude protein (%)	20.00
Calcium (%)	1.00
Phosphorus (%)	0.68
Non-phytate P (%)	0.45

¹ Provided following nutrients per kg of diet : vitamin A, 12,300 IU; vitamin D₃, 2,500 IU; vitamin E, 20 IU; riboflavin, 5.6mg; pyridoxine, 1.6 mg; vitamin B₁₂, 14 mg; niacin, 30 mg; pantothenic acid, 12 mg; folic acid, 1.0 mg; biotin, 0.12 mg.

² Calculated values.

^a 한국사양표준(가금, 2002).

2. 공시 재료

본 시험에 사용된 파이타제는 *Trichoderma reesei* 유래의 역가 1 FPU/kg인 파이타제를 사용하였다. 파이타제 단위(FTU)는 37°C, pH 5.5 상태에서 나트륨 피틴테 인 0.00015 M/L로부터 무기태 인 1 μM/min을 분해하는 효소 필요량으로 정의한다(Denbow 등, 1995). *Trichoderma reesei*는 셀룰로오스 분해 가능한 곰팡이 균으로서, 식물체에서 당과 bioethanol로 이용되고 남은 폐기물을 분해하는 효소를 분비한다(Ouyang 등, 2006).

3. 사양 관리

시험 1에서 시험 사료는 자유급이를 하였으나, 시험 2에서

는 수당 100 g씩을 정량 급여하여 잔량이 없도록 하였다. 급수는 니플을 통하여 자유 음수하였으며, 점등 관리는 17L/7D 방식으로 하였다. 시험 기간 중 계사내 평균 온도는 23±1°C로 조정하였으며, 습도는 45~60%를 유지하였다. 기타 사양 관리는 농촌진흥청 축산연구소의 사양 관행에 따라서 수행하였다.

4. 조사 항목

1) 산란율과 난중

산란율은 사양 시험 기간 중 매일 14:30에 채란하여 처리구별 총 산란수를 사육두수로 나누어 백분율로 표시하였으며(hen-day egg production), 난중은 채집한 계란을 처리구별로 측정하였다.

2) 계란 품질

난각 강도는 FHK(Fujihara Co. LTD, Japan)를 이용하여 측정하였으며, 난각 두께는 분리한 난각의 중앙부를 Digital indicator(Mitutoyo Co. LTD, Japan)를 이용하여 측정하였다. 하우유니트(Haugh, 1937)와 난황색은 QCM+(Technical Services and Supplies, York England)를 이용하여 측정하였다.

3) 질소와 인의 축적량 및 배설량

시험 사료와 분뇨의 질소와 인의 함량은 원자 흡광도계(Atomic absorption spectrophotometry, SPECTRO Analytical Instruments GmbH & Co. KG, Germany)를 이용하여 분석하였다.

4) 일반 성분과 아미노산의 소화율

시험이 끝난 산란계는 처리구별로 9수씩을 선별하여 도체 분석하였다. 도체된 산란계들은 Gong 등(2003)의 방법에 따라 난황낭과 회장 말단 부위(회장-맹장 결합 부위에서 2 cm 되는 부분) 사이의 회장 소화 내용물을 도체 후 즉시, 조심스럽게 채집하여 소화율을 측정하였다. 채집한 소화 내용물은 시료용기에 담아 -20°C에서 냉동 보관하였다. 냉동된 소화 내용물은 동결 건조시킨 후 1 mm 이하로 분쇄하여 소화율 측정에 사용하였다.

4. 화학 분석과 통계 처리

사료와 분의 일반 성분과 표시물로 혼합된 Cr은 AOAC(1995)에 의해 분석하였다. 아미노산 함량은 6 N HCl로 110°C에서 16시간 동안 가수 분해시킨 후(Mason, 1984), 아미노산 분석기(HITACHI L-8500A, Japan)를 이용하여 분석하였다.

본 시험에서 얻어진 난질 평가에 대한 자료는 SAS(1999)의 분산분석(Analysis of Variance, ANOVA)을 이용하였으며, 사양시험과 질소와 인의 흡수량과 배설량에 대한 자료는 GLM (General Linear Model)을 이용하여 각 처리구간의 평균값을 Duncan's multiple range test(Duncan, 1955)로 비교하여 검정하였다.

III. 결과 및 고찰

1. 사료 섭취량, 산란율 및 난중

본 시험에 사용된 산란계 사료의 비피틴태 인 함량은 3.4 g/kg으로 한국사양표준(가금, 2002)에서 권장한 3.2 g/kg보다 높은 수준이며, NRC(1994) 권장량인 3.5 g/kg보다는 약간 낮은 수준으로, 인이 충분히 공급되어지고 있다고 사료된다. 산란계 사료내 파이타제 수준(250~300 FTU/kg)은 일반적으로 육계 사료보다 낮으며(NRC, 1994), 결과적으로 피틴산염 감소를 촉진시킨다. 따라서 본 시험에서는 파이타제를 NRC(1994) 권장량인 300 FTU/kg을 첨가한 처리구와 Um과 Paik(1999)가 연구한 500 FTU/kg 파이타제와 유사한 수준으로 600 FTU/kg을 첨가하였다. 100 FTU/kg 정도를 더 첨가하는 것은 NRC(1994) 권장량보다 비피틴태 인 함량이 낮기 때문이다.

Table 3은 파이타제를 각각 300 FTU/kg과 600 FTU/kg 첨가에 따른 산란계의 사료 섭취량을 나타낸 것이다. 시험기간 중 사료 섭취량은 1주와 2주째에서는 파이타제 처리구에서 섭취량의 증가를 보였으나, 처리구간에 유의차는 없었다($p>0.05$). 3주째부터 시험 개시시보다 P1과 P2 처리구에서 섭취량이 유의적으로 증가하여, 4주째 P1과 P2 처리구에서 각각 798 g과 814 g이었으며($p<0.05$), P1과 P2 처리구 사이에서는 유의적인 차이가 없었다($p>0.05$).

NRC(1994)는 정상적인 난 생산과 건강을 유지시키기 위해서 350 mg의 비피틴태 인을 섭취하는 것으로 충분하다고 하였다. 게다가 Gordon과 Roland(1997)은 인이 충분히 함유되어 있는 사료에 파이타제를 첨가하여 급여할 때에는 사료 섭취량이 증가한다고 하였다. 이는 피틴태 인의 분해가 이루어짐에 따라 사료 섭취량이 증가하기 때문(McDowell, 1992)이라고 사료되며, 본 시험에서도 파이타제 첨가 수준이 증가할수록 사료 섭취량이 증가한다는 것을 알 수 있었다. 이런 결과는 김상호 등(2000)의 파이타제를 첨가한 처리구에서 사료 섭취량이 증가한다는 보고와 이밖에 여러 실험들(Simons 등, 1900; Broz 등, 1994; Komegay 등, 1996; Sebastian 등, 1996)에서도 유사하였다.

Table 3. Feed intake (g/bird/7 days) in laying hens fed diets containing phytase¹

Week	P0	P1	P2	OAT	SEM ²
0	731	744 ^B	735 ^B	737 ^B	10.7
1	723	758 ^{AB}	755 ^{AB}	745 ^{AB}	10.1
2	746 ^b	771 ^{ABab}	776 ^{Aa}	771 ^{Aab}	11.8
3	721 ^b	784 ^{Aa}	807 ^{Aa}	771 ^{Aab}	12.5
4	745 ^b	798 ^{Aa}	814 ^{Aa}	786 ^{Aab}	10.2
OAW	733 ^b	771 ^{ABa}	781 ^{Aa}	762 ^{ABb}	13.1
SEM ²	12.8	13.5	11.4	13.1	

¹ P0, control (basal diet); P1, phytase 300 unit/kg; P2, phytase 600 unit/kg; OAW, Overall weeks Mean.

² Pooled standard error of the mean for 162 laying hens per treatment.

^{AB} Means with different superscripts in the same column differ significantly ($p<0.05$).

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

기초 사료에 파이타제를 각각 300과 600 FTU/kg씩 첨가하여, 처리구당 주령별 산란율을 Table 4에 나타내었다. 시험 개시후 2주까지는 산란율이 85.3~89.5%로 전 처리구에서 큰 차이가 없었으나, 3주부터 파이타제 첨가구에서 산란율이 높아졌으며, 4주째에는 P1과 P2 처리구에서 각각 90.5와 91.5%로 나타나 대조구에 비해 높게 나타났다. 그러나 전 처리구간에 유의적인 차이는 없었다($p>0.05$). 미생물유래 파이타제 첨가가 산란율을 증가시킨다는 보고들(Peter와 Jeroch, 1993; 김상호 등, 2000)과 마찬가지로 본 시험에서도 파이타제 첨가시 산란율의 증가가 나타났으나, 공식수수가 적기 때문에 유의적인 차이는 보이지 않았다. Um과 Paik(1999)의 연구에서도 산란계 사료내 3인산칼슘(TCP, Tricalcium Phosphate)을 감소시키고, 500 FTU/kg 파이타제를 공급하였을 때 산란율을 유의적으로 증가시켰다. 그러나 이들은 비피틴태 인이 NRC(1994) 권장량보다 낮은 산란계 사료에서는 파이타제 공급에도 산란율이 개선되지 않는다고 하였다. 또한, Lim 등(2003)은 파이타제 공급이 산란율을 개선시킨다고 결론지었다. 그러나 파이타제 급여시 산란율의 증가에 대해서는 많은 연구가 요구되고 있다.

파이타제 300과 600 unit/kg 첨가에 따른 난중의 변화는 Table 5와 같다. 전체 난중은 64.6~68.9 g으로 P1과 P2 처리구에서 난중이 약간 높았으나, 처리구간에 유의적인 차이는

보이지 않았다($p>0.05$). 이런 결과는 Um과 Paik(1999)이 파이타제 공급에 따라 난중에서 미묘한 차이가 있었으나, 유의적인 차이는 없었다는 보고와 유사하다. 난중이 증가하는 원인은 칼슘이 난각을 이루는 주성분이며, 파이타제가 칼슘 이

Table 4. Egg production (%) of laying hens fed diets containing phytase¹

Week	P0	P1	P2	OAT	SEM ²
0	85.3	87.0	86.7	86.3	2.27
1	85.9	87.2	88.4	87.2	3.12
2	86.3	88.6	89.5	88.1	2.58
3	85.7	89.2	90.4	88.4	2.84
4	86.6	90.5	91.5	89.5	3.01
OAW	86.0	88.5	89.3	87.9	2.27
SEM ²	2.13	1.87	1.94	2.01	

¹ P0, control (basal diet); P1, phytase 300 unit/kg; P2, phytase 600 unit/kg; OAW, Overall Weeks Mean; OAT, Overall Treatments Mean.

² Pooled standard error of the mean for 162 laying hens per treatment.

^{AB} Means with different superscripts in the same column differ significantly ($p<0.05$).

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

Table 5. Egg weight (g) of laying hens fed diets containing phytase¹

Week	P0	P1	P2	OAT	SEM ²
0	64.6	66.0	65.8	65.8	0.58
1	64.8	66.9	66.4	66.0	0.91
2	64.6	67.4	67.6	66.5	1.16
3	65.1	67.9	68.2	67.1	1.54
4	65.4	68.2	68.5	67.6	1.41
OAW	64.9	67.3	67.3	66.3	1.33
SEM ²	2.33	1.81	2.04	1.75	

¹ P0, control (basal diet); P1, phytase 300 unit/kg; P2, phytase 600 unit/kg; OAW, Overall Weeks Mean; OAT, Overall Treatments Mean.

² Pooled standard error of the mean for 162 laying hens per treatment.

용성을 향상(Sohail과 Roland, 2000)시키기 때문이다. 따라서 산란계 사료내 파이타제 공급을 평가할 때 칼슘 수준에 따른 효과를 주의하여야 할 것이다. 한편, 김상호 등(2000)이 파이타제 첨가시 난중이 유의적으로 증가한다는 보고와 차이가 있다. 이는 김상호 등(2000)이 23주령 산란계를 공시한 반면, 본 시험은 55주령 산란계를 공시하여 공시기간의 주령 차에 의한 결과일 수도 있다.

2. 계란 품질

본 시험의 난각 두께와 난각 강도에 대한 결과는 각각 Table 6과 7, 하우유니트와 난황색에 대한 결과는 각각 Table 8과 9에 나타내었다. 난각 두께는 주령에 따른 전 처리구에서 0.44~0.47 mm로 나타났으며, 파이타제 첨가구에서 미묘하게 증가하였으나, 유의적인 차이는 없었다($p>0.05$). 난각 강도는 1주까지는 3.70~3.84 kg/cm²로서 처리구간에 차이는 없었으나($p>0.05$), 2주째부터 파이타제 첨가구에서 두드러지게 개선되어 4주째에는 P1 처리구에서 3.86 kg/cm²와 P2 처리구에서 3.85 kg/cm²로 나타났었다($p<0.05$). 하우유니트와 난황색의 주령에 따른 처리구별 결과는 전체적으로 각각 82.2~86.5, 8.2~8.5로 나타나 주령별이나 전 처리구간에 유의적인 차이가 없었다($p>0.05$).

3인산칼슘은 무기태 인 원료로서 계란 품질에 악영향을 미친다. Um과 Paik(1999)는 옥수수-대두 위주의 산란계 사료에서 TCP를 감소시켰는데, 이것은 500 FTU/kg 파이타제로 대체가 가능하다. Um과 Paik(1999)는 500 FTU/kg 파이타제

Table 6. Shell thickness (mm) of eggs from laying hens fed diets containing phytase¹

Week	P0	P1	P2	OAT	SEM ²
0	0.43	0.43	0.42	0.43	0.064
1	0.43	0.43	0.43	0.43	0.072
2	0.43	0.44	0.44	0.44	0.065
3	0.44	0.44	0.44	0.44	0.081
4	0.44	0.46	0.47	0.46	0.067
OAW	0.43	0.44	0.44	0.44	0.024
SEM ²	0.022	0.019	0.024	0.018	

¹ P0, control (basal diet); P1, phytase 300 unit/kg; P2, phytase 600 unit/kg; OAW, Overall Weeks Mean; OAT, Overall Treatments Mean.

² Pooled standard error of the mean for 162 laying hens per treatment.

를 공급한 결과, 난각 강도와 하우유니트에서 차이가 없었으나, 난각 두께에서 단지 미묘한 차이가 있었다고 하였다. 또한, Lim 등(2003)의 연구에서는 파이타제 공급이 파란과 연관 발생률을 감소시켰다. 본 시험의 결과는 난각 두께에서 유

Table 7. Shell breaking strength (kg/cm²) of eggs from laying hens fed diets containing phytase¹

Week	P0	P1	P2	OAT	SEM ²
0	3.72	3.73 ^B	3.70 ^B	3.73 ^B	0.011
1	3.75	3.77 ^B	3.74 ^B	3.75 ^{AB}	0.015
2	3.74 ^b	3.79 ^{ABa}	3.78 ^{Ba}	3.78 ^{ABa}	0.012
3	3.77 ^b	3.82 ^{ABa}	3.81 ^{ABab}	3.80 ^{ABab}	0.018
4	3.74 ^b	3.86 ^{Aa}	3.85 ^{Aa}	3.81 ^{Aab}	0.021
OAW	3.74 ^b	3.80 ^{ABa}	3.80 ^{ABa}	3.77 ^{ABab}	0.014
SEM ²	0.019	0.032	0.022	0.025	

¹ P0, control (basal diet); P1, phytase 300 unit/kg; P2, phytase 600 unit/kg; OAW, Overall Weeks Mean; OAT, Overall Treatments Mean.

² Pooled standard error of the mean for 162 laying hens per treatment.

^{A,B} Means with different superscripts in the same column differ significantly ($p < 0.05$).

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

Table 8. Haugh unit of eggs from laying hens fed diets containing phytase¹

Week	P0	P1	P2	OAT	SEM ²
0	81.8	82.0	81.5	81.8	2.14
1	83.2	84.2	83.5	83.6	1.55
2	82.6	85.1	84.2	84.0	1.71
3	83.1	85.3	85.1	84.5	1.90
4	83.5	86.2	85.8	84.5	2.42
OAW	82.8	84.6	84.0	83.7	2.05
SEM ²	1.32	1.58	1.71	1.47	

¹ P0, control (basal diet); P1, phytase 300 unit/kg; P2, phytase 600 unit/kg; OAW, Overall Weeks Mean; OAT, Overall Treatments Mean.

² Pooled standard error of the mean for 162 laying hens per treatment.

의적인 차이는 보이지 않았지만 증가를 보였으며, 난각 강도에서 유의적인 증가를 보여 이들의 시험 결과와 유사하였다. 이것은 파이타제와 칼슘이 상호 작용하여 영향을 주기 때문이라 사료된다(Scott 등, 1999; Sohail과 Roland, 2000). 따라서 Um과 Paik(1999), 김상호 등(2000), 홍종욱 등(2001)의 연구 결과와 같이, 파이타제 첨가는 난각 강도를 제외한 계란 품질에 크게 영향을 미치지 않는 것으로 사료된다.

3. 질소와 인의 배설량과 흡수량

Table 9는 파이타제 공급시 질소와 인의 배설량과 흡수량을 나타내었다. 질소와 인은 전 처리구에서 같은 양을 공급하였다. 질소의 배설량은 P0에서 2.07 g/d이고, P1과 P2에서 각각 1.73과 1.69 g/d로 나타나, 파이타제 무처리구에서 파이타제 처리구보다 높게 나타났다. 질소의 흡수량은 배설량과 반대로 P0에서 0.25 g/d이고, P1과 P2에서 각각 0.59와 0.63 g/d로 파이타제 처리구에서 높게 나타났으나, 처리구 사이에서 유의적인 차이는 없었다($p > 0.05$). van der Klis와 Verteegh(1991)는 파이타제의 질소에 대한 효과는 작다고 하였는데, 본 시험의 결과도 마찬가지로 파이타제의 질소에 대한 효과가 작고 유의적인 차이도 없었다. 질소와 피틴산염은 위장에서 새롭게 결합되고, 이 결합물은 펩신 활성에 무반응이다(Selle 등, 2000). 이런 보고와 관련하여, 파이타제에 의한 질소의 반응은 파이타제 무첨가한 사료와 크게 차이가 없는 것으로 사료된다.

인의 배설량은 대조구(P0)에서 0.38 g/d, P1과 P2 처리구에

Table 9. Yolk color of eggs from laying hens fed diets containing phytase¹

Week	P0	P1	P2	OAT	SEM ²
0	8.3	8.2	8.5	8.3	0.24
1	8.2	8.4	8.3	8.3	0.17
2	8.4	8.3	8.3	8.3	0.32
3	8.3	8.5	8.4	8.4	0.18
4	8.5	8.5	8.4	8.5	0.35
OAW	8.3	8.4	8.4	8.4	0.14
SEM ²	0.21	0.28	0.17	0.20	

¹ P0, control (basal diet); P1, phytase 300 unit/kg; P2, phytase 600 unit/kg; OAW, Overall Weeks Mean; OAT, Overall Treatments Mean.

² Pooled standard error of the mean for 162 laying hens per treatment.

Table 10. Effects of phytase supplementation on nitrogen and phosphorus utilization of laying hen diet¹

	P0	P1	P2	SEM ²
----- g/d -----				
N intake	2.32	2.32	2.32	
Excretion	1.87	1.77	1.69	0.052
Absorption	0.45	0.55	0.63	0.045
P intake	0.63	0.63	0.63	
Excretion	0.38 ^a	0.18 ^b	0.14 ^b	0.022
Absorption	0.25 ^b	0.45 ^a	0.49 ^a	0.038

¹ P0, control (basal diet); P1, phytase 300 FTU/kg; P2, phytase 600 FTU/kg.

² Pooled standard error of the mean for 162 laying hens per treatment.

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

서 각각 0.18 g/d와 0.19 g/d로 대조구의 배설량이 파이타제 처리구의 배설량보다 높았으며, 이에 따른 인의 흡수량도 대조구의 0.25 g/d보다 P1과 P2 처리구에서 각각 0.22 g/d와 0.23 g/d로 높았다($p < 0.05$). 이런 결과는 파이타제 첨가 수준이 증가할수록 인 배설량이 감소한다는 연구들과 같은 결과를 나타내었다(Simons 등, 1990; 김상호 등, 2000; 홍종욱 등, 2001). 미생물유래 파이타제는 피틴산 인의 이용성을 개선시킬 뿐만 아니라, 피틴산염과 결합되어 있는 유기물의 이용성도 개선시킨다(Simons 등, 1990; Denbow 등, 1995; Ravindran 등, 1995). 따라서 본 시험에서 인의 배설량이 감소한 것은 미생물유래 파이타제가 이용성이 낮은 유기태 인을 흡수 가능한 무기태 인으로 바꾸어 흡수를 용이하게 하기 때문이라고 사료된다.

피틴산염은 단위 동물이 제한적으로 이용하기 때문에 무기태 인을 추가 급여해야 하며, 이로 인해 인의 배설량 또한 증가하게 된다. 따라서 산란계의 파이타제 공급에 대한 많은 평가가 사료내 인산칼슘의 수준보다는 무기태인 공급으로 이루어져 왔다(Gordon과 Roland, 1998; Carlos와 Edwards, 1998; Boling 등, 2000; Scott 등, 2001; Keshavarz, 2000, 2003; Sohail과 Roland, 2000; Jalal과 Scheideler, 2001; Ceylan 등, 2003; Francesch 등, 2005; Panda 등, 2005). 이런 연구들의 목적은 산란계의 생산성과 난질을 악화시키지 않고 인을 배출하는 것이다. 이것은 식물 사료내 피틴산염 함량과 관련이 있으며, 결과적으로 파이타제는 피틴산염 감소를 증가시킬 것이라 사료된다.

4. 영양소와 아미노산의 소화율

파이타제 공급에 따른 영양소와 아미노산 소화율에 관한 결과는 Table 11에 나타내었다. 영양소의 소화율을 보면 고

Table 11. Effects of phytase supplementation on the digestibility of nutrition and amino acids in laying hen diet¹

Items	P0	P1	P2	SEM ²
Dry matter	67.5	69.4	70.3	2.74
Crude protein	69.6	69.9	70.4	3.12
Crude fat	80.2	83.6	84.9	2.45
Crude fiber	32.9 ^b	38.7 ^a	40.0 ^a	2.19
Crude ash	44.5 ^b	52.4 ^a	52.9 ^a	1.84
Calcium	30.7 ^b	34.8 ^a	35.6 ^a	1.90
Phosphorus	24.9 ^b	33.0 ^a	35.3 ^a	3.04
Essential amino acid (%)				
Arginine	69.8	71.0	72.1	2.11
Histidine	70.2	73.6	75.8	2.47
Iso-leucine	72.5	75.2	75.8	2.83
Leucine	73.9	75.6	76.2	3.07
Lysine	76.9 ^b	80.9 ^{ab}	83.3 ^a	1.92
Methionine	80.3 ^b	84.6 ^a	86.3 ^a	1.58
Phenylalanine	76.1 ^b	79.6 ^{ab}	82.5 ^a	2.53
Threonine	71.2	74.0	75.4	2.12
Valine	74.0	76.3	77.5	2.89
Non-essential amino acid (%)				
Alanine	77.4 ^b	82.8 ^a	84.2 ^a	1.54
Aspartic acid	80.0	82.7	84.0	2.81
Cystine	74.2 ^b	79.2 ^a	82.1 ^a	1.97
Glutamic acid	81.2 ^b	88.1 ^a	88.7 ^a	2.68
Glycine	76.1 ^b	80.5 ^{ab}	83.3 ^a	2.11
Proline	81.9	83.2	84.1	2.18
Serine	75.7	79.3	81.2	3.01
Tyrosine	74.1 ^b	80.7 ^a	82.3 ^a	2.80

¹ P0 control (basal diet); P1, phytase 300 FTU/kg; P2, phytase 600 FTU/kg.

² Pooled standard error of the mean for 162 laying hens per treatment.

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

형물, 조단백질 및 조지방의 소화율에 대해서는 전 처리구간에 차이가 없었다($p>0.05$). 하지만, P0 처리구에서 조섬유, 조회분, 칼슘 및 인의 소화율이 각각 32.9, 44.5, 30.7 및 24.9%로 파이타제 처리구에 비해서 낮게 나타났다($p<0.05$). 조섬유의 경우, 파이타제의 작용으로 소화가 쉬어졌기 때문에 소화율이 증가하였다고 사료되며, 칼슘의 경우 파이타제가 칼슘과 상호 작용하여 칼슘 이용성을 향상시키기 때문이라 사료된다. 필수 아미노산 중 arginine, histidine, iso-leucine, threonine, valine의 소화율은 처리구간에 차이가 없었다($p>0.05$). 반면에 lysine, methionine, phenylalanine의 소화율은 P2 처리구에서 각각 83.3, 86.3과 82.5%로 가장 높게 나타났다($p<0.05$). 비필수 아미노산의 경우, aspartic acid, proline, serine의 소화율은 전 처리구에서 유의적인 차이가 없었으나($p>0.05$), alanine, cystine, glutamic acid, glycine과 tyrosine은 P2 처리구에서 각각 84.2, 82.1, 88.7, 83.3 및 82.3%로 가장 높게 나타났다($p<0.05$). 산란계에서 단백질과 아미노산의 소화율에 대한 파이타제의 효과는 현재까지 큰 관심이 없었다. 하지만, van der Klis와 Verteegh(1991)는 산란계 사료에 250~300 FTU/kg 파이타제의 첨가가 결과적으로 질소의 회장 흡수량에 작지만 유의적인 개선이 있었다고 보고하였다. 또한, 파이타제는 옥수수-대두 산란계 사료에서 alanine, cystine, glutamic acid 및 methionine의 소화율을 향상시켰다(Jalal 등, 1999). 이것은 본 시험의 결과와 유사하였다. 하지만, Snow 등(2003)의 연구에서는 3종류의 산란계용 사료에 *A. niger* 파이타제를 300 FTU/kg 첨가해서 21일간의 시험을 수행한 결과 파이타제를 첨가해도 산란율이나 사료 효율 외에 회장에서 인의 아미노산 소화율 및 총 대사 에너지(TME, Total Metabolic Energy)가에도 영향이 없었다고 하였으나, 본 시험의 결과와는 차이를 보였다. 결과의 차이에 대한 명백한 설명은 아직까지는 없으며, alanine, glycine, leucine, methionine과 같은 아미노산에 대하여 중요한 사료 형태와 파이타제 상호 작용이 관찰되어야 한다고 사료된다.

사 사

본 연구는 2006년 농촌진흥청 축산연구소의 연구비 지원에 의해 수행되었으며, 이에 감사드립니다.

적 요

산란계의 생산성, 계란 품질, 질소와 인의 흡수량과 배설

량 및 회장 소화율에 미치는 파이타제의 첨가 효과를 구명하고자 사료에 0, 300, 600 FTU/kg의 파이타제를 첨가하여 4주간 사양 시험 종료후 1주간 대사실험을 실시하였다. 공시 동물은 산란율이 유사한 55주령 White Leghorn 산란계 162수(1.6±0.3 kg)를 공시하였으며, 처리구는 첨가 수준에 따라 P0(대조구), P1(300 FTU/kg), P2(600 FTU/kg)의 3처리구로 나누고, 처리구당 6반복, 반복당 9수씩 완전임의 배치하였다. 산란율은 파이타제 첨가 수준에 따라 증가하였다. 계란 품질은 난중, 난각 두께, 하우유니트와 난황색 모두 처리구간에 차이를 보이지 않았으나($p>0.05$), 난각 강도는 파이타제 처리구에서 4주째에 각각 3.86 kg/cm²와 3.85 kg/cm²로 나타나 파이타제 첨가에 따른 차이를 보였다($p<0.05$). 질소 배설량과 흡수량은 처리구간에 차이가 없었으나($p>0.05$), 인 배설량과 흡수량은 파이타제 첨가구에서 대조구에 비해 배설량이 크게 감소하고 흡수량은 증가하였다($p<0.05$). 파이타제 첨가에 따른 영양소와 아미노산의 소화율은 조섬유, 조회분, 칼슘과 인, 필수 아미노산 중 lysine, methionine, phenylalanine, 비필수 아미노산 중 alanine, cystine, glutamic acid, glycine, tyrosine의 소화율을 유의적으로 증가시켰다($p<0.05$). 이 실험 결과 산란계에 미생물유래 파이타제 급여는 산란율을 향상시키고, 인 배설량을 낮추며, 흡수량을 증가시키지만, 계란 품질에 미치는 영향이 없었고, 소화율에 대한 영향은 추후의 연구가 필요하다고 사료된다.

참고문헌

- Abelson PH 1999 A potential phosphate crisis. Science 283, 2015.
- Association of Official Analytical Chemists 1990 Official methods of Analysis, 15th Ed. (Washington, VA, AO, AOAC).
- Boling SD, Douglas MW, Johnson ML, Xang X, Parsons CM, Koelkebeck KW, Zimmerman RA 2000 The effects of dietary available phosphorus levels and phytase on performance of young and older laying hens. Poult Sci 79, 224-230.
- 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.
- Carlos AB, Edwards HM 1998 The effects of 1,25-dihydroxycholecalciferol and phytase on the natural phytate phosphorus utilization by laying hens. Poult Sci 77:850-858.
- Ceylan N, Scheideler SE, Stilborn HL 2003 High available

- phosphorus corn and phytase in layer diets. *Poult Sci* 82: 789-795.
- Correll DL 1999 Phosphorus: a rate limiting nutrient in surface waters. *Poult Sci* 78:674-682.
- Denbow DM, Ravindran V, Kornegay ET, Yi Z, Hulet RM 1995 Improving phosphorus availability in soybean meal for broilers by supplemental phytase. *Poult Sci* 74:1831-1842.
- Duncan DB 1995 Multiple range and multiple F tests. *Biometrics* 11:1-42.
- Francesch M, Broz J, Brufau J 2005 Effects of an experimental phytase on performance, egg quality, tibia ash content and phosphorus bioavailability in laying hens fed on maize- or barley-based diets. *Br Poult Sci* 46:340-348.
- Gong LM, Li DF, Wang FL, Huang DS 2003 The effect of the ratio of threonine to lysine on performance, carcass quality, nutrient digestibility and plasma biochemistry indexes in broilers. Pages 52-63 in *Proc. 2003 Studies on Animal Nutrition and Metabolism*. Beijing Agricultural Press, Beijing, China.
- Gordon RW, Roland DA 1997 Performance of commercial laying hens fed various phosphorus levels, with and without supplemental phytase. *Poult Sci* 76:1172-1177.
- Haugh RR 1937 The Haugh unit for measuring egg quality. *US Poult Mag* 43:552-573.
- Jalal MA, Scheideler SE 2001 Effect of supplementation of two different sources of phytase on egg production parameters in laying hens and nutrient digestibility. *Poult Sci* 80:1463-1471.
- Jalal MA, Scheideler SE, Wyatt C 1999 Effects of phytase supplementation on egg production parameters and amino acid digestibilities. *Poult Sci* 78 (Suppl. 1), 74 (Abstract).
- Kerr MJ, Classen HL, Newkirk RW 2000 The effects of gastrointestinal tract micro-flora and dietary phytase on inositol hexaphosphate hydrolysis in the chicken. *Poult Sci* 79 (Suppl. 1), 11 (Abstract).
- Keshavarz K 2000 Nonphytate phosphorus requirement of laying hens with and without phytase on a phase feeding program. *Poult Sci* 79:748-763.
- Keshavarz K 2003 Effects of continuous feeding low-phosphorus diets with and without phytase during the growing and laying periods of two strains of leghorns. *Poult Sci* 82:1444-1456.
- Kies AK, van Hemert KHF, Sauer WC 2001 Effect of phytase on protein and amino acid digestibility and energy utilization. *World's Poult Sci* 57:109-126.
- Liebert F, Htoo JK, Sunder A 2005 Performance and nutrient utilization of laying hens fed low-phosphorus corn-soybean and wheat-soybean diets supplemented with microbial phytase. *Poult Sci*. 84:1576-1583.
- Lim HS, Namkung H, Paik IK 2003 Effects of phytase supplementation on the performance, egg quality, and phosphorus excretion of laying hens fed different levels of dietary calcium and nonphytate phosphorus. *Poult Sci*. 82:92-99.
- Lynch GL 1996 Phytase allows flexibility in laying hen diets. p12 *Feedstuffs* April 1.
- Maenz DD, Engele-Scham CM, Newkirk RW, Classen HL 1999 The effect of minerals and mineral chelators on the formation of phytase-resistant and phytase-susceptible forms of phytic acid in solution and in a slurry of canola meal. *Anim Feed Sci Technol* 77:177-192.
- Mason VC 1984 Metabolism of nitrogen compound in the large gut {Emphasis on recent findings in the sheep and pig}. *Proc Nutr Soc* 43:45-53.
- McDowell LR 1992 Pages 49-50 *in: Minerals in Animal and Human Nutrition*. Academic Press Inc., San Diego, CA.
- Mullaney EJ, Daly CB, Ullah AHJ 2000 Advances in phytase research. *Adv Appl Microbiol* 47:157-199.
- National Research Council 1994 *Nutrient Requirements of Poultry*, ninth revised ed. National Academy Press, Washington, DC.
- Ouyang J, Yan M, Kong D, Xu L 2006. A complete protein pattern of cellulase and hemicellulase genes in the filamentous fungus *Trichoderma reesei*. *Biotechnol J* 1(11):1266-74.
- Panda AK, Rama Rao SV, Raju MVLN, Bhanja SK 2005 Effect of microbial phytase on production performance of white leghorn layers fed on a diet low in non-phytate phosphorus. *Br Poult Sci* 46:464-469.
- 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.
- Ravindran V, Bryden WL, Lornegay ET 1995 Phytases: occurrence, bioavailability and implications in poultry nutrition. *Poult Avian Biol Rev* 6:125-143.

- Sandberg AS, Larsen T, Sandstorm B 1993 High dietary calcium levels decrease colonic phytate degradation in pigs. *J Nutr* 123:559-566.
- SAS 1999 SAS user guide. release 6.11 edition. SAS Inst Inc Cary NC USA.
- Scott TA, Kampen R, Silversides FG 1999 The effect of phosphorus, phytase enzyme, and calcium on the performance of layers fed corn-based diets. *Poult Sci* 78:1742-1749.
- Scott TA, Kampen R, Silversides FG 2001 The effect of adding exogenous phytase to nutrient-reduced corn- and wheat-based diets on performance and egg quality of two strains of laying hens. *Can J Anim Sci* 81:393-401.
- Selle PH, Ravindran V, Caldwell RA, Bryden WL 2000 Phytate and phytase: consequences for protein utilisation. *Nutr Res Rev* 13:255-278.
- Sharpley A 1999 Agricultural phosphorus, water quality and poultry production: are they compatible? *Poult Sci* 78:660-673.
- Simons PCM, Versteegh HAJ, Jongblod 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.
- Singh M, Krikorian AD 1982 Inhibition of trypsin activity in vitro by phytate. *J Agric Food Chem* 30:799-800.
- Snow JL, Baker DH, Parsons CM 2004 Phytase, citric acid, and 1 α -hydroxycholecalciferol improve phytate phosphorus utilization in chicks fed a corn-soybean meal diet. *Poult Sci* 83:1187-1192.
- Sohail SS, Roland DA 2000 Influence of phytase on calcium utilization in commercial layers. *J Appl Poult Res* 9:81-87.
- 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 1991 Ileal Absorption of Phosphorus in Lightweight laying Hens Using Microbial phytase and Various Calcium Contents in Laying Hens Feed. Spelderholt, Beekbergen, The Netherlands, Spelderholt Publication No. 562.
- van der Klis JD, Versteegh HAJ, Simons PCM, Kies AK 1997 The efficacy of phytase in corn-soybean meal-based diets for laying hens. *Poult Sci* 76:1535-1542.
- 김범철 허우명 황길순 김동섭 최광순 1995 소양호에서 인의 존재 형태별 분포에 관하여. *한국수육학회지* 28:151.
- 김상호 유동조 나재천 최철환 상병돈 이상진 이원준 류경선 2000 산란 생산성과 인 이용성에 대한 Microbial Phytase의 첨가 효과. I. 무기태인 수준이 다른 사료에 Microbial Phytase 첨가가 산란성 및 인 이용성에 미치는 영향. *한국가금학회지* 27(1):19-23.
- 한국사양표준(가금) 2002 농림부 · 농촌진흥청 축산연구소.
- 허우명 김범철 안태석 이기종 1992 소양호 유역과 가두리로 부터 인 부하량 및 인 수치(phosphorus baget), *한국수육학회지* 25:207.
- 홍종욱 김인호 김은주 권오석 이상환 2001 Phytase 첨가가 산란계의 체내 영양소 균형 및 생산성에 미치는 효과. *한국가금학회지* 28(1):1-6.