

산란 후기 사료 내 거미(*Nephila clavata*) 유래 단백질 분해효소제(Arazyme[®])의 첨가 급여가 난 생산성에 미치는 영향

김정언¹ · 김재영¹ · 김지숙¹ · 이보근¹ · 이소연¹ · 이완섭¹ · 유선중¹ · 안병기¹ · 김은집² · 박호용³ · 손광희⁴ · 신동하⁴ · 강창원^{1,†}

¹건국대학교 동물생명과학대학, ²천안연암대학 동물복지계열, ³한국생명공학연구원, ⁴(주)인섹트바이오텍

Effects of Spider-Derived Protease (Arazyme[®]) Supplementation of Corn-Soy Diets on the Performance in Laying Hens at the Late Production

J. U. Kim¹, J. Y. Kim¹, J. S. Kim¹, B. K. Lee¹, S. Y. Lee¹, W. S. Lee¹, S. J. You¹, B. K. Ahn¹, E. J. Kim², H. Y. Park³, K. H. Son⁴, D. H. Shin⁴ and C. W. Kang^{1,†}

¹College of Animal Bioscience and Technology, Konkuk University, ²Division of Animal Care, Cheonan Yonam College,

³Korea Research Institute of Bioscience and Biotechnology, ⁴Insect Biotech Co. Ltd.

ABSTRACT This study was carried out to investigate the effects of spider-derived protease [Arazyme (AZ)] supplementation on egg production, egg quality, cecal microflora and viscosity of intestinal contents in laying hens at the late production. A total of two hundred, 59-wks-old, Hy-Line Brown layers were divided into four groups, placed into 5 replicates per group (50 birds per group) and fed one of four diets containing 0.05, 0.075 or 0.1% AZ or control for 5 wks. The results showed that egg weight in group fed the diet containing 0.05% AZ was significantly higher than those of other groups ($P<0.05$). There were no significant differences in egg interior and eggshell qualities among the groups. The serum parameters such as total cholesterol, the levels of GOT and GPT were not influenced by AZ feeding. There were no significant differences in the cecal number of total microbes, Coliforms and lactic acid bacteria among the groups. The viscosity and ammonia concentration of intestinal contents in the groups fed AZ were significantly reduced compared to those of the control ($P<0.05$). In conclusion, laying hens fed AZ supplemented diet improved egg weight as compared with that of control. In addition, the AZ supplemented diet reduced the viscosity and ammonia concentration of intestinal contents, reflecting a significant feed enzyme effect.

(Key words : Arazyme, laying performance, egg weight, ammonia concentration, laying hens)

서 론

효소제 연구는 주로 육계 실험이 중심이 되어 있지만(Roberts and Choct, 2006), 적절한 효소제를 산란계 사료에 첨가하면 인, 칼슘 및 미량 광물질과 결합된 사료 원료의 이용성을 개선시킴으로써 난 생산성과 난각질에 긍정적인 영향을 미칠 것으로 기대된다. 산란계에서 단백질 분해 효소의 첨가 급여가 난 생산성 개선에 효과가 있는 것은 이미 보고되고 있다(Short et al., 2002). Jaroni et al.(1999a,b)은 두 품종의 레그 혼 실용 산란계(42~60주령)에 있어서 소맥분이 포함된 사료에 protease 및 xylanase를 첨가했을 때 산란율은 변화가 없었

으나, 사료 효율, 난백의 높이, 난황 무게, 난중 및 일산란량에서 유의적인 효과가 있었다고 보고했고, 섬유소 함량이 높은 사료에 효소제를 첨가했을 때 난 생산을 개선할 수 있다고 제시했으며, 50주령에서는 단백질 소화율이 유의적으로 증가했고, 장내 점성에는 영향을 주지 않았다고 보고한 바 있다. Scheidler et al.(2005)은 에너지 수준을 달리하는 실험 사료에 복합 효소제를 첨가 급여한 실험에서 산란율 개선 효과가 나타났다고 하였다. 또한, Wu et al.(2005)은 산란계 2차 실용기(환우 후)에서 저에너지 사료에 β -mannanase를 첨가 급여했을 때 평균 산란율과 일산란량이 각각 5.49%와 5.16% 유의적으로 증가하였다고 보고하였다. 산란계 사료에

[†] To whom correspondence should be addressed : kkucwkang@empal.com

효소제의 추가 급여에 대한 효과를 연구한 자료는 많지 않다. 더욱이 단백질 분해효소에 대한 연구는 미미한 실정이다. 국내에서 옥수수-대두박 위주의 산란계 사료에 깃별 미생물 유래 단백질 분해효소제를 첨가했을 때 난중은 0.38% 및 영양소 소화율은 2.69%가 개선된 연구가 수행된 바 있다 (김해진 등, 2007).

아라자임[Arazyme[®] (AZ)]은 한국산 무당거미(*Nephila clavata*)의 중장(中腸)으로부터 분리된 미생물이 생산하는 단백질 분해효소이며, 기존의 사료 첨가제로 사용되고 있는 단백질 분해효소인 serine-protease와 다른 성질을 가지고 있는 metallo-protease(금속성 단백질 분해효소)이다. 세린 단백질 분해효소의 경우에는 금속성 물질이 있으면 저해를 받아서 활성이 떨어지는데 반해, AZ과 같은 금속성 단백질 분해효소는 사료에 첨가할 경우에는 금속 이온의 존재로 인해 단백질 분해효소의 활성이 2~3배 증가되어 원료내의 단백질을 보다 효과적으로 분해하여 사료 효율의 극대화를 일으킬 수 있으며 금속성 단백질 분해효소의 특징인 염증 유발성 물질에 대한 분해능이 높기 때문에 소염제의 역할도 수행한다 (이기은 등, 2004; Kwak et al., 2007). 또한, AZ은 저온 및 넓은 pH 범위에서 안정된 활성을 나타내어 다양한 사료에 첨가 시 사료에 존재하는 단백질을 안정적으로 분해할 수 있다.

따라서 본 실험에서는 식물성 단백질 원료와 동물성 단백질 원료를 포함한 산란 후기 사료에 거미 유래 단백질 분해효소제인 AZ을 첨가하여 산란 후기에서의 난 생산성, 난질 및 난각질, 혈액 성분 조성, 장내 균총 변화, 장내 점도 및 장내 암모니아 농도 등을 조사하여 AZ의 효소적 가치를 평가하기 위하여 수행하였다.

재료 및 방법

1. 공시 동물, 사양 관리 및 실험 사료

총 200수의 Hy-Line Variety Brown 59주령 산란계를 공시하여 총 4개 처리구에 5반복으로 실험을 구성하였고, 반복당 10수씩 체중이 유사하도록 임의 배치하였다. 공시계는 산란계 케이지(가로×세로×높이) 76×61×40 cm인 2수용 3단 철제 실험 케이지에서 사육하였다. 또한, 온도와 점등을 조절할 수 있는 산란계 시험용 개방 계사에서 사육하였다. 수당 급이 면적과 반복당 급수기 숫자는 동일하도록 하였고, 물과 사료는 자유 음수 및 자유 채식시켰으며, 점등은 16L:8D로 일정하게 유지하였다. 실험 사료는 옥수수·대두박을 기초로 하여 식물성 단백질 대두박과 채종박, 동물성 단백질 육

분을 포함하여 TME_n 2,800 kcal/kg와 CP 16.1% 그리고 기타 영양소의 수준은 NRC 요구량(1994)에 맞도록 기초 사료를 배합하여 대조구 사료로 사용하였다. 처리구 사료는 아라자임(AZ)을 0.05%, 0.075%, 0.1% 각기 첨가하여 실험을 실시하였다.

2. 실험 시료

시료로서 사용한 무당거미에서 유래한 단백질 분해효소제인 AZ은 (주)인섹트바이오텍에서 공급받았으며, 효소 함량이 340,000 U/kg(1U는 분당 카제인을 분해하는 효소량으로, 타이로신을 분해산물로 정량하여 측정된 값)을 함유하고 있는 AZ을 사용하여 실험을 실시하였다.

3. 조사 항목

1) 사료 섭취량 및 난 생산성

사료 섭취량은 급여량과 잔량을 1주 간격으로 조사하여 반복별로 섭취량을 산출하였다. 실험 기간 동안 매일 오후 2시에 수집한 산란 개수와 연란, 파란 등을 합한 총 산란 개수를 사육수수로 나누어 산란율을 구하였으며, 수집된 정상란 전부의 무게를 측정하여 정상란 계란 수로 나누어 평균 난중을 산출하였으며, 일산란량(egg mass)은 처리구별 산란율 × 평균 난중으로 구하였다.

2) 난질 및 난각질

실험 사료 급여 후, 주 단위로 생산된 계란을 반복구당 30개씩 수집하여 난각 강도, 난각 두께, Haugh unit 및 난황색 등 난각질과 내부 난질 관련 항목을 조사하였다. 난각색은 난각 색도계(QCM+[™], Technical Services and Supplies, England)를 이용하여 측정하였고, 난각 강도는 난각 강도계(FHK, Japan)를 이용하여 계란의 둔단부를 위로 하고 수직으로 고정 후 압력을 가하여 파각되는 순간의 압력을 측정하였다. 난각 강도 측정 후 난백의 높이를 조사하여 난중을 대비한 Haugh unit 수치를 구하였다(FHK, Japan). 난각 두께는 계란 중앙부의 난각 파편을 채취하여 난각 후도계(FHK Peacock, Japan)를 통해 측정된 두께의 평균치로 하였다.

3) 혈액 성분 조성

사양 실험 종료 시 각 처리구별로 8수씩 선발한 개체의 익하정맥에서 1회용 주사기를 이용하여 혈액을 채취한 후, 원심분리하여 혈청을 분리하였으며, 준비된 혈청 내 총 콜레스테롤 농도는 진단용 콜레스테롤 키트(콜레스테롤 E 키트, 영동제약)를 사용하여 비색 방법으로 분석하였고, GOT(glutamate oxaloacetate transaminase), GPT(glutamate pyruvate tran-

saminase)의 활성은 GOT-GPT kit(BC101-O, GOT와 BC101-P, GPT, 영동제약)를 사용하여 분광광도계(Uvicon 922A, Kontron instruments, Italy)를 통한 비색 방법으로 측정하였다.

4) 장내 균총

사양 실험 종료 후, 생체중 측정치의 평균에 해당하는 개체를 처리구별로 8수씩 선발하여 희생시킨 후 맹장을 내용물과 함께 적출하여 냉동 보관하였다. 이후 멸균된 생리식염수에 현탁하여 homogenizer로 균질화한 후, 적당한 비율로 희석하여 생균수 측정용 시료로 사용하였다. 실험 처리에 의한 맹장 내의 총 균수(total microbes), 유산균수(lactic acid bacteria) 및 대장균군수(*Coliforms* sp.)를 측정하기 위해 총 균수는 total plate count agar(Difco)를 유산균수는 MRS agar를, 대장균군수는 MacConkey agar(Difco)를 사용하였고, 37 °C에서 38시간 배양 후 균수 측정을 하였다.

5) 장 내용물 점도

실험 5주째에 생체중의 평균 범위에 해당하는 개체를 처리구 별로 8수씩 선발하여 희생시킨 후 장관의 십이지장 끝에서부터 회장-맹장 결합 부위(ileo-caecal junction)까지의 장 내용물을 채취하였다. 얻어진 장 내용물의 점도는 회전식 점도계(Haake, VT-550, Germany)를 사용하여 측정하였다.

6) 맹장 내 암모니아 농도

장내 암모니아 측정을 위해 5주간의 실험 종료 후, 생체중 측정치의 평균에 해당하는 개체를 처리구 별로 8수씩 선발하여 희생시킨 후 맹장을 내용물과 함께 적출하여 냉동 보관하였다. 이후 맹장 내용물 1 g을 취하여 탈이온수로 10배 희석하여 ammonia assay kit(AA100, Sigma, St. Louis, USA)를 이용하여 측정하였다.

7) 통계 분석

모든 얻어진 결과에 대한 통계 분석은 SAS(SAS, 2002)의 General Linear Model(GLM) program을 이용하여 실시하였고, 분산 분석상에 통계적인 유의차가 인정될 때 Duncan의 다중 검정을 이용하여 처리간의 유의성을 검정하였다(Duncan, 1955).

결과 및 고찰

1. 사료 섭취량과 난 생산성에 미치는 영향

산란 후기 사료 내 AZ의 첨가 급여가 사료 섭취량과 난생

Table 1. Formula and chemical composition of the experimental diets

Ingredients (%)	Control	Arazyme ^{® 3)} (%)		
		0.05	0.075	0.10
Corn	65.52	65.47	65.45	65.42
Lupin seed	4.00	4.00	4.00	4.00
Soybean meal	13.96	13.96	13.96	13.96
Rapeseed meal	2.00	2.00	2.00	2.00
Meat meal	3.00	3.00	3.00	3.00
Limestone	9.51	9.51	9.51	9.51
Dicalcium phosphate	0.55	0.55	0.55	0.55
Salt	0.25	0.25	0.25	0.25
Tallow	0.80	0.80	0.80	0.80
Choline-chloride (50%)	0.08	0.08	0.08	0.08
DL-Methionine	0.07	0.07	0.07	0.07
Mineral mix ¹⁾	0.10	0.10	0.10	0.10
Vitamin mix ²⁾	0.10	0.10	0.10	0.10
Phytase	0.06	0.06	0.06	0.06
Arazyme [®]	–	0.05	0.075	0.10
Total	100.00	100.00	100.00	100.00
Calculated value of basal diet				
DM (%)	88.80			
CP (%)	16.10			
EE (%)	2.95			
CF (%)	3.40			
CA (%)	11.97			
Ca (%)	3.86			
Available P (%)	0.50			
Met+Cys (%)	0.65			
TME _n (kcal/kg)	2,800			

¹⁾Mineral mixture provided following nutrients per kg of diet: Fe, 48 mg; Zn, 60 mg; Mn, 72 mg; Cu, 5 mg; I, 1 mg; Se, 0.18 mg; Co, 0.24 mg.

²⁾Vitamin mixture provided following nutrients per kg of diet: vitamin A, 12,000 IU; vitamin D₃, 3,000 IU; vitamin E, 21 IU; vitamin K₃, 2.4 mg; vitamin B₁, 1.2 mg; vitamin B₂, 4.8 mg; vitamin B₆, 2.4 mg; vitamin B₁₂, 0.02 mg; niacin, 15 mg; pantothenic acid, 10 mg; folic acid, 0.3 mg.

³⁾Arazyme[®] 0.05%, 170 U/kg; 0.075%, 255 U/kg; 0.1%, 340 U/kg.

산성에 미치는 결과를 Table 2에 나타내었다. 59주령부터 전체 실험 5주간의 평균 사료 섭취량은 약 130~136 g 정도로서 큰 차이는 없는 것으로 나타났다. 사료 섭취량에 있어서 처리구간 유의차는 보이지 않았으나 대조구 130.65 g 대비 사료 섭취량이 증가하는 경향을 보였으며, AZ의 첨가 수준이 0.05% 일 때 134.43 g으로 가장 낮은 사료 섭취량을 나타냈으며, AZ의 첨가 수준이 0.075%일 때 136.43 g으로 가장 높은 사료 섭취량이 나타났다.

산란율, 난중 및 일산란량에서 실험 5주간 산란율은 AZ 0.1% 첨가구가 78.92%로 가장 높은 것으로 관찰되었으나 유의한 차이는 아니었다. 난중은 AZ을 첨가 급여한 모든 처리구가 대조구에 비하여 유의하게 높거나($P<0.05$), 높은 경향을 나타냈다. 특히, AZ 0.05% 첨가구에서 70.45 g으로 대조구 67.65 g에 대비하여 난중이 4.14% 유의하게 높은 것으로 관찰되었다($P<0.05$). 일산란량에서는 유의한 차가 나타나지 않았으나, 대조구 52.61 g 대비하여 모든 AZ 첨가구에서 증가하는 경향이 나타났다. 본 실험 결과에서 산란 후기 사료 내 AZ의 첨가는 0.05% 첨가 수준을 사료 내 첨가하여 급여할 때 난중이 증가하는 효과가 있는 것으로 나타났으며($P<0.05$), 산란율 및 일산란량에서는 영향이 없는 것으로 나타났다. 따라서 산란 후기 사료에서 AZ 첨가 수준은 0.05%에서 난중이 유의하게 높아지는 것으로 나타났다.

효소제 공급이 산란계에서 생산성에 미치는 영향에 대해서 많은 연구들이 보고된 바 있다. Mathlouthi et al.(2003)은 산란계에서 xylanase와 β -glucanase를 첨가했을 때 사료 효율이 유의적으로 개선되었다고 보고하였고, Wu et al.(2005)은 산란계 2차 실용기(환우 후)에서 저에너지 사료에 β -mannanase를 첨가 급여했을 때 평균 산란율과 일산란량이 각각 5.49%와 5.16%로 유의적으로 증가하였다고 보고하였다. 전홍규(2006)는 산란계 사료에 phytase를 첨가 급여시 사료 섭취량, 산란율 및 난중 등에서 처리구간에 유의차는 없었다

고 하였다.

또한, Protease가 함유된 복합 효소제를 산란계에 급여한 연구에서 생산성이 개선되는 등의 긍정적인 효과가 나타났다는 보고도 다수 존재하였다. Jaroni et al.(1999a)은 두 품종의 레그혼 실용 산란계(42~60주령)에 protease 및 xylanase를 첨가했을 때 산란율은 변화가 없었으나, 사료 효율, 난중, 일산란량에서 유의적인 효과가 있었다고 보고하였고, Gonzalez et al.(2001)은 protease가 포함된 복합 효소제를 산란계에 급여한 결과, 난중에서 2.4%의 개선을 보고하였다. Short et al.(2002)은 protease와 xylanase 복합 효소제를 첨가하여 급여하였을 때 평균 산란율이 1.6% 증가하였으며, 일산란량도 유의하게 증가하였다고 보고하였고, Sohail et al.(2003)은 protease가 포함된 복합 효소제를 급여한 결과 산란율이 0.58% 증가하였으나, 난중에는 영향이 없었다고 하였으며, Bedford and Wyatt(1998)는 protease, amylase 및 xylanase가 포함되어 있는 복합 효소제를 영양 성분의 차를 두어 78주령에서 86주령 산란계 첨가 급여한 결과, 효소제 첨가구에서 산란율, 난중, 일산란량 및 사료 효율에서 개선을 보고하였다. 본 실험 결과, 산란율은 유의차가 없었으나 AZ 0.05% 첨가 수준에서 난중이 유의하게 4.14% 증가되는 결과가 나타났으며, 일산란량 또한 0.05% 첨가구에서 5.23% 증가하는 경향이 나타나 비록 이전의 실험 결과가 protease만의 효과가 아닌 복합 효소제로서의 효과를 나타낸 결과이기는 하지만 일부 일치하는 결과를 보였다. Scheidler et al.(2005)은 protease가 포함된 복합 효소제를 첨가한 옥수수-대두박 위주의 실험 사료를 배합하여 산란계에 급여하였을 때, 사료 섭취량에는 영향을 미치지 않았다고 보고하여 사료 섭취량에서 유의한 차이가 나타나지 않은 본 실험의 결과와 일치했다.

따라서 산란 후기에서 거미 유래 단백질 분해효소제 AZ 첨가는 사료 섭취량, 산란율 및 일산란량에는 영향이 없으며, 난중은 증가되는 효과가 있는 것으로 판단된다. 또한, 사

Table 2. Effects of dietary AZ on feed intake and laying performance of laying hens at the late production

Items	Control	Arazyme [®] (%)		
		0.05	0.075	0.10
Feed intake (g/day/bird)	130.65 ± 0.30	134.43 ± 2.41	136.43 ± 1.98	135.45 ± 1.80
Egg production (%)	77.78 ± 1.47	78.58 ± 1.30	78.91 ± 1.47	78.92 ± 1.44
Egg weight (g/egg)	67.65 ± 0.30 ^c	70.45 ± 0.35 ^a	69.32 ± 0.38 ^b	68.00 ± 0.30 ^c
Egg mass	52.61 ± 1.01	55.36 ± 0.96	54.65 ± 0.93	53.66 ± 0.99

^{a-c}Data (Mean ± SE) without common superscripts in the same row are significantly different ($P<0.05$).

료내 첨가 수준이 0.05%와 0.075%일 때 효과가 나타났으므로 산란 후기에서 식물성 및 동물성 단백질이 같이 혼합된 사료에서의 AZ의 첨가 수준은 0.05%에서 가장 효율적인 것으로 판단된다.

2. 난질 및 난각질에 미치는 영향

산란 후기 사료 내 AZ을 5주간 첨가 급여한 후 난질 및 난각질에 미치는 영향에 대한 결과를 Table 3에 명시하였다. 난각 강도에서는 AZ의 첨가 수준이 0.1%에서 3.14 kg/cm²으로 가장 높은 수준을 나타냈으며, 난각 두께에서는 대조구가 0.36 mm, 난각색에서는 AZ의 첨가 수준이 0.1% 일 때 26.80, 난황색에서는 AZ의 첨가 수준이 0.075%일 때 7.00으로 가장 높은 성적이 나타났다. Haugh unit의 경우에서는 AZ 첨가 수준이 0.05%일 때 88.26으로 가장 높은 성적을 나타냈다. 그러나 결과적으로 난각 강도, 난각 두께, 난각색, 난황색 및 Haugh unit는 AZ 첨가에 따른 유의적 차이는 없는 것으로 나타났다.

효소제를 산란계 사료 내 첨가 시 난질 및 난각질을 개선한다는 것은 이전의 연구에서 다수 보고되었다. Jaroni et al.(1999a,b)은 산란계(42~60주령)에 있어서 소맥분이 포함된 사료에 protease 및 xylanase를 첨가했을 때 난백 높이 및 난황에서 유의적인 효과가 있다고 보고하였고, Mourao et al.(2006)은 난황색도 개선을 위해 40주령에서 52주령까지 산란계에서 알팔파를 혼합한 시험 사료에 효소제의 첨가 효과를 파악하기 위하여 β -glucanase와 β -1,4-xylanase를 첨가하였으나 난황 색도를 개선시키는 효과는 없는 것으로 나타났다고 보고한 바 있다. 또한, 국내에서 46주령 산란계를 공시하여 탄수화물 분해 효소를 첨가하였을 때, 난황색 10.7% 및 난황 계수 13.3%로 유의적으로 증가하는 경향을 보고한 바 있다(민병준 등, 2002). 하지만 전홍규(2006)는 산란계 사료

에 phytase를 첨가 급여 시 난각 두께, Haugh unit 및 난황색 등은 통계적인 유의차가 발견되지 않았다고 하였고, Gonzalez et al.(2001)은 protease가 포함된 복합 효소제를 산란계에 급여한 결과 Haugh Unit, 난각 강도, 오란 및 난각 두께 등 난각질에 영향이 없다고 보고하는 등, 난질 및 난각질에서 유의한 차이가 나타나지 않은 본 실험의 결과와 일치하는 보고도 있었다.

본 실험 결과, 산란계에 거미 유래 단백질 분해효소제 AZ의 첨가 급여 시 난질 및 난각질이 개선되는 효과는 없는 것으로 판단된다.

3. 혈액 성분 조성에 미치는 영향

산란 후기 사료 내 AZ의 첨가 급여가 혈액 성분 조성에 미치는 영향을 Table 4에 나타내었다. 산란계의 혈중 총 콜레스테롤 수준은 AZ 0.075% 첨가구에서 29.03 mg/100 mL로 가장 낮았으나, 통계적으로 유의한 차이를 보이지는 않았다. 혈중 GOT와 GPT 수준은 AZ 첨가에 따른 유의한 차이가 없는 것으로 나타났다. 그러나 대조구 대비하여 AZ 첨가구에서 감소하는 경향이 나타났다. 혈중 GOT 및 GPT 수치는 산란계에서 간 기능의 이상 여부와 조직 손상 정도를 판단하는 지표로 이용되며(Lumeij, 1997), 혈중 GOT 및 GPT 효소의 활성에 변화가 없었던 것으로 보아 산란계 후기 사료 내 AZ을 0.05~0.1%까지 첨가 급여하여도 산란 후기의 대사 생리에 이상을 초래하지는 않는 것으로 판단된다.

Yoruk et al.(2006)은 산란계에서 복합 효소제를 첨가하였을 때 혈액내 총 콜레스테롤의 함량은 유의성이 없다고 보고하였고, 전홍규(2006)는 산란계 사료에 phytase를 첨가 급여시 혈액 내 GOT 및 GPT의 효소 활성 농도에서는 처리구 간에 유의차는 관찰되지 않았다고 보고한 바 있다.

따라서 본 연구에서는 혈액 내 총 콜레스테롤 함량과 GOT

Table 3. Effects of dietary AZ on egg interiors and eggshell qualities of laying hens at the late performance

Items	Control	Arazyme [®] (%)		
		0.05	0.075	0.10
Eggshell strength (kg/cm ²)	3.11 ± 0.10	3.03 ± 0.12	3.05 ± 0.09	3.14 ± 0.11
Eggshell thickness (mm/100)	36.20 ± 0.45	35.60 ± 0.44	35.74 ± 0.38	35.21 ± 0.50
Egg shell color	28.28 ± 0.66	28.85 ± 0.68	27.27 ± 0.71	26.80 ± 0.84
Egg yolk color, R.C.F	7.00 ± 0.05	6.98 ± 0.08	7.00 ± 0.06	6.98 ± 0.08
Haugh unit	87.64 ± 1.22	88.26 ± 1.07	86.73 ± 0.92	87.65 ± 1.15

Data are presented as mean ± SE.

Table 4. Effects of dietary AZ on biochemical parameters of blood of laying hens at the late production¹⁾

Items	Control	Arazyme [®] (%)		
		0.05	0.075	0.10
Total-C(mg/ 100 mL)	31.20 ± 2.59	34.31 ± 3.42	29.03 ± 2.20	34.28 ± 4.14
GOT (U/L)	98.13 ± 3.79	93.09 ± 4.73	88.95 ± 3.01	92.04 ± 4.47
GPT (U/L)	10.11 ± 0.62	9.51 ± 0.55	9.58 ± 0.57	11.00 ± 0.49

¹⁾Abbreviations: Total-C, total cholesterol; GOT, glutamic oxaloacetic transaminase; GPT, glutamic pyruvic transaminase. Data are presented as mean ± SE.

및 GPT 분석을 통해 거미 유래 단백질 분해효소제 AZ의 추가 급여에 의한 생리적 변화를 조사하였으나 부정적인 영향은 관찰되지 않았다.

4. 장내 균총에 미치는 영향

Table 5는 산란 후기 사료 내 AZ을 첨가 급여하고 5주후에 산란계의 장내 균총에 미치는 영향에 대한 결과를 나타내었다. AZ은 산란계 장내 총 균수, 유산균수 및 대장균수에 큰 영향을 미치지 않은 것으로 나타났다.

Sohail et al.(2003)은 protease, xylanase 및 amylase가 혼합된 복합 효소제를 포함한 실험 사료를 21주령 산란계에 급여하였을 때, 맹장에서 미생물 균총의 DNA 염기서열을 처음 조사한 결과 효소제 첨가가 장내 미생물 균총에 영향을 줄 수 있다고 제시하였으나, Gao et al.(2007)과 Owens et al.(2008)은 육계를 공시하여 소맥을 기초로 한 사료에 xylanase

를 첨가 급여한 후 맹장 내 *Lactobacillus*와 *Coliforms* sp.를 조사한 결과 유의한 차이가 없다고 하였는데, 본 연구에서도 유의한 차가 나타나지 않아 비록 이전의 연구가 protease를 이용한 연구는 아니었으나 소화, 이용에 도움을 주는 효소제의 첨가 급여 시 장내 균총의 변화에 주는 영향은 미미한 것으로 생각된다.

따라서 본 연구에서는 맹장내 총 균수, 유산균수 및 대장균수 모두 유의한 차이를 보이지 않는 것으로 보아 거미 유래 단백질 분해효소제 AZ 첨가 급여에 의한 후기 산란계의 장내 균총의 변화는 없는 것으로 생각된다.

5. 장 내용물 점도에 미치는 영향

AZ의 첨가 급여에 따른 장 내용물 점도 변화에 대한 결과를 Table 6에 나타내었다. 장 내용물의 점도는 대조구에 비해 AZ을 첨가한 모든 처리구에서 유의적으로 감소하는 결

Table 5. Effects of dietary AZ on cecal microflora of laying hens at the late production

Items	Control	Arazyme [®] (%)		
		0.05	0.075	0.10
----- log ₁₀ CFU/g -----				
Total microbes	7.89 ± 0.25	8.10 ± 0.30	7.77 ± 0.34	7.99 ± 0.37
<i>Coliforms</i> sp.	4.74 ± 0.57	4.31 ± 0.20	3.87 ± 0.07	4.82 ± 0.12
Lactic acid bacteria	7.40 ± 0.06	7.29 ± 0.14	7.52 ± 0.06	7.48 ± 0.04

Data are presented as mean ± SE.

Table 6. Effects of dietary AZ on intestinal viscosity of laying hens at the late production

Item	Control	Arazyme [®] (%)		
		0.05	0.075	0.10
Viscosity (Pas)	5.01 ± 0.35 ^a	2.42 ± 0.05 ^c	3.36 ± 0.35 ^b	2.36 ± 0.25 ^c

^{a-c}Data (Mean ± SE) without common superscripts are significantly different ($P < 0.05$).

과가 나타났다($P<0.05$). AZ 첨가 수준별 장 내용물 점도의 변화는 대조구 5.01 Pas 대비 0.05% 첨가구는 2.42 Pas, 0.075% 첨가구는 3.36 Pas, 0.1% 첨가구는 2.36 Pas로 감소하는 결과를 나타내었으며, 0.1% 첨가구에서 가장 낮은 수준이 나타났다. AZ 첨가에 의한 산란 후기에서 장내 점도는 0.1% 첨가구에서 대조구 대비 52.89%로 유의하게 감소하는 결과가 나타났다($P<0.05$).

복합 효소제를 사료 내 첨가 급여 시 장 내용물의 점도에 영향을 미치지 않았다는 연구도 일부 존재하지만(Jaroni et al., 1999b; Scheidler et al., 2005), 장 내용물 점도의 개선을 보고한 연구 결과도 다수 존재한다. Swiatkiewicz and Koreleski(2007)은 DDGS를 20% 포함한 산란계 사료에 NSP 가수분해 효소를 첨가했을 때 통계적 유의차는 없었으나 소화물의 점성이 26.05% 감소했다고 보고하였으며, Mathlouthi et al.(2003)은 산란계에서 xylanase와 β -glucanase를 첨가하여 소맥, 보리, 옥수수 그리고 대두박을 급여했을 때 점성이 감소하였다고 보고하였고, 육계에서 Nagaraj et al.(2007)은 protease가 포함되어 있는 복합 효소제를 첨가 급여했을 때 점도가 19.32% 개선되었다고 하여, 최대 52.89%의 개선 효과가 나타난 본 실험의 결과와 일치한다.

본 연구에서는 AZ 첨가구의 장 내용물 점도가 유의하게 감소하는 결과를 보였으며($P<0.05$), 이는 장 내용물 점도의 감소로 인해 소화, 흡수가 개선되어 영양소 이용률이 개선되었음을 시사하는 결과라고 판단된다. 따라서 거미 유래 단백질 분해효소제 AZ의 첨가는 식물성 및 동물성 단백질류를 포함한 산란 후기 사료에 첨가 급여했을 때 장 내용물 점도를 감소시키는데 효과적일 것으로 판단되며, 산란 후기 사료에서 효소적 가치가 있는 것으로 판단된다.

6. 맹장 내 암모니아 농도에 미치는 영향

AZ의 첨가 급여에 따른 맹장 내 암모니아 농도에 미치는 영향에 대한 결과를 Table 7에 나타내었다. 맹장 내 암모니아 농도는 대조구에 비해 AZ을 첨가한 모든 처리구에서 유의하게 감소하는 결과가 나타났다($P<0.05$). AZ 0.075% 첨가구

에서 1.19 μ g/mL로 가장 낮은 결과를 나타냈으며, 대조구에서 1.74 μ g/mL로 가장 높은 결과를 나타내었다. AZ 첨가에 의한 맹장 내 암모니아 농도는 0.075% 첨가구에서 대조구 대비 31.61% 유의하게 감소하는 결과가 나타났다($P<0.05$).

아미노산은 간에서 요산으로 분해되어 장관내로 분비되고 이는 미생물에 의해 암모니아로 분해되어 장 점막 세포 표면에 손상을 입힘으로써 가축의 성장을 저해한다. 본 실험에서는 AZ 첨가구의 맹장내 암모니아 농도가 대조구에 비해 유의하게 감소하는 것으로 나타났으며, 이는 장내 균총의 변화가 없는 것으로 보아(Table 5) AZ이 단백질 분해효소로서 상부 소화관에서의 아미노산 이용률을 개선한 것으로 생각되며, 거미 유래 단백질 분해효소제 AZ의 첨가 급여는 산란계에서 효소적 가치가 있는 것으로 판단된다.

적 요

본 실험은 산란 후기 사료 내 거미 유래 단백질 분해효소제 AZ의 첨가 급여가 산란계의 생산성, 계란의 품질, 혈액 특성, 장 내용물의 점도, 맹장 미생물 변화 및 맹장 내 암모니아 농도에 미치는 영향을 조사하기 위한 목적으로 수행하였다. 59주령의 Hy-Line Brown 실용계 200수를 공시하여 총 4개 처리에 각 처리구별 반복당 10수씩 5반복으로 완전 임의 배치하였고, 각각의 실험 사료에 AZ을 각각 0.05%, 0.075% 및 0.1% 혼합하여 총 5주간 급여하였다.

총 실험 기간 중 AZ 첨가에 따라 난중에서 유의한 차가 나타났으며, AZ 0.05%를 첨가한 처리구에서 가장 높은 증가가 나타났다($P<0.05$). AZ 첨가는 난각 두께, 난각 강도, 난각 색, 난황색 및 Haugh Unit는 처리구간 통계적 유의성은 없는 것으로 나타났다. 혈액 내 총 콜레스테롤 함량과 GOT 및 GPT 활성에 있어서는 처리구간 통계적 차이가 없는 것으로 나타났다. 맹장 내 미생물 균총을 조사해 본 결과 총 균수, 유산균수 및 대장균균수는 처리구간 차이를 보이지 않았다. 장 내용물의 점도 및 장내 암모니아 농도는 대조구에 비해

Table 7. Effects of dietary AZ on cecal ammonia concentration of laying hens at the late production

Items	Control	Arazyme® (%)		
		0.05	0.075	0.10
Ammonia concentration	1.74 ± 0.13 ^a	1.37 ± 0.08 ^b	1.19 ± 0.05 ^b	1.20 ± 0.06 ^b

^{a,b}Data (Mean ± SE) without common superscripts are significantly different ($P<0.05$).

AZ을 첨가한 처리구에서 유의하게 감소하는 것으로 나타났다($P<0.05$).

본 실험 결과, 식물성 및 동물성 단백질을 포함한 산란 후기 사료에 AZ의 첨가 급여는 난중 및 장 내 점도를 개선하고 암모니아 농도를 저감하는데 효과적이라는 것을 시사한다. 따라서 산란 후기 사료에 거미 유래 단백질 분해효소제 AZ의 첨가 급여는 산란 후기의 생산성, 장내 점도를 개선하여 사료 효소제로서 가치가 있는 것으로 판단된다. 또한 본 실험 결과 산란 후기 사료에서의 AZ의 첨가 수준은 0.05%와 0.075%에서 개선되는 결과가 나타났으나, 첨가 비용을 고려할 때, 0.05% 첨가 수준이 가장 높은 효과가 있는 것으로 판단된다.

(색인어 : 아라자임, 난 생산성, 난중, 암모니아 농도, 산란계)

인용문헌

- Bedford MR, Wyatt C 1998 Using feed enzymes to maximise nutrient utilisation in corn-soy or sorghum-soy based layer diets. *Zootecnica Int* 9:32-35.
- Duncan DB 1955 Multiple range and multiple F test. *Biomet* 11:1-42.
- Gao F, Jiang Y, Zhou GH, Han ZK 2007 The effects of xylanase supplementation on growth, digestion, circulating hormone and metabolite levels, immunity and gut microflora in cockerels fed on wheat-based diets. *Br Poult Sci* 48:480-488.
- Gonzalez NJ, Cornejo S, Jimenez F, Lorenzoni G 2001 Effect of dietary supplementation with an enzyme complex (Avizyme[®] 1500) containing amylase, xylanase and protease on performance and egg quality of commercial layer. *Poult Sci* 80:1040 (Abstr).
- Jaroni D, Scheideler SE, Beck MM, Wyatt C 1999a 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. *Poult Sci* 78:841-847.
- Jaroni D, Scheideler, Beck MM, Wyatt C 1999b The effect of dietary wheat middlings and enzyme supplementation. 2. Apparent nutrient digestibility, digestive tract size, gut viscosity, and gut morphology in two strains of Leghorn hens. *Poult Sci* 78:1664-1674.
- Kwak JY, Lee KE, Shin DH, Maeng JS, Park DS, Oh HW, Son KH, Bae KS, Park HY 2007 Biochemical and genetic characterization of Arazyme, an extracellular metalloprotease produced from *Serratia proteamaculans* HY-3. *J Microbiol Biotechnol* 17:761-768.
- Lumeij JT 1997 Avian clinical biochemistry. Pages 857-883 In: *Clinical Biochemistry of Domestic Animals* (eds. Kanebo, J. J., J. W. Harvey, and M. L. Bruss, 5th), Academic Press
- Mathlouthi N, Mohamed MA, Larbier M 2003 Effect of enzyme preparation containing xylanase and β -glucanase on performance of laying hens fed wheat/barley or maize/soybean meal based diets. *Br Poult Sci* 44:60-67.
- Mourao JL, Ponte PIP, Prates JAM, Centeno MSJ, Ferreira LMA, Soares MAC, Fontes CMGA 2006 Use of β -glucanases and β -1,4-xylanase to supplement diets containing alfalfa and rye for laying hens: Effects on bird performance and egg quality. *J Appl Poult Res* 15:256-265.
- Nagaraj M, Hess JB, Bilgili SF 2007 Evaluation of a feed-grade enzyme in broiler diets to reduce pododermatitis. *J Appl Poult Sci* 16:52-61.
- NRC 1994 Nutrient Requirements of Poultry. 9th ed. National Academy Press. Washington D.C.
- Owens B, Tucker L, Collins MA, McCracken KJ 2008 Effects of different feed additives alone or in combination on broiler performance, gut microflora and ileal histology. *Br Poult Sci* 49:202-212.
- Roberts JR, Choct M 2006 Effects of commercial enzyme preparations on egg and eggshell quality in laying hens. *Br Poult Sci* 47:501-510.
- SAS 2002 SAS User's guide. Statistics, Version 8. e., SAS Institute. Inc. Cary, N.C.
- Scheidler SE, Beck MM, Abudabos A, Wyatt CL 2005 Multiple-Enzyme(Avizyme) supplementation of corn-soy-based layer diets. *J Appl Poult Res* 14:77-86.
- Short F, Hruby M, Burrows H, Bedford M 2002 The effect of a xylanase and protease enzyme on egg production in laying birds fed wheat based diets. *Poult Sci* 81(Suppl. 1):136.
- Sohail SS, Bryant MM, Roland DA, Sr, Apajalahti JHA, Pierson EEM 2003 Influence of avizyme 1500 on performance of commercial Leghorns. *J Appl Poult Res* 12:284-290.
- Swiatkiewicz S, Koreleski J 2007 Effect of dietary level of maize-and rye distiller dried grains with solubles on nutrient utilization and digesta viscosity in laying hens. *J Anim Feed Sci* 16:668-677.

- Wu G, Bryant MM, Voitle RA, Roland DA, Sr 2005 Effects of β -mannanase in corn-soy diets on commercial Leghorns in second-cycle hen. *Poult Sci* 84:894-897.
- Yoruk MA, Gol M, Hayirli A, Karaoglu M 2006 Multi-Enzyme supplementation to peak producing hens fed corn-soybean meal based diets. *Int J Poult Sci* 5:374-380.
- 김해진 조진호 진영걸 유종상 민병준 김인호 2007 깃털 미생물 유래 단백질 분해 효소제의 급여가 산란계의 산란 생산성, 영양소 소화율 및 혈청내 총 단백질 함량에 미치는 영향. *한국가금학회지* 34:9-14.
- 민병준 김인호 홍종욱 문태현 이지훈 한영근 권오석 이상환 이원백 2002 산란계에서 탄수화물 분해효소제의 첨가가 계란의 품질 및 영양소 소화율에 미치는 영향. *한국가금학회지* 29:19-23.
- 이기은 김철희 권현정 곽장열 신동하 박두상 배경숙 박호용 2004 무당거미에서 분리한 *Serratia proteamaculans*에서 분비되는 단백질분해효소의 생화학적 특성. *한국미생물학회지* 40:269-274.
- 전홍규 2006 사료 내 미생물 Phytase 첨가가 닭과 돼지의 생산성과 영양소 이용성에 미치는 영향. *건국대학교 박사학위 청구논문*.
- (접수: 2009. 2. 27, 수정: 2009. 3. 18, 채택: 2009. 3. 21)