



ANIMAL

# Effect of dietary protein levels and age on growth performance, total excreta and nitrogen balance of laying hens during the growing phase

Jeseok Lee<sup>1</sup>, Myunghwan Yu<sup>1</sup>, Elijah Ogola Oketch<sup>1</sup>, Shan Randima Nawarathne<sup>1</sup>, Yu Bin Kim<sup>1</sup>, Nuwan Chamara Chathuranga<sup>1</sup>, Venuste Maniraguha<sup>1</sup>, Bernadette Gerpacio Sta. Cruz<sup>1</sup>, Eunsoo Seo<sup>1</sup>, Haeeun Park<sup>1</sup>, Hyunji Choi<sup>1</sup>, Dong Jo Yu<sup>2</sup>, Jung-Kon Kim<sup>2</sup>, Jung Min Heo<sup>1,\*</sup>

<sup>1</sup>Department of Animal Science and Biotechnology, Chungnam National University, Daejeon 34134, Korea

<sup>2</sup>Department of Animal Environment, National Institute of Animal Science, Wanju 55365, Korea

\*Corresponding author: jmheo@cnu.ac.kr

## Abstract

This study examined the effect of a dietary protein level and age on growth performance, total excreta, and nitrogen balance in laying hen during the growing period for 18 weeks. A total of 96 Hy-Line Brown laying hens were divided into two treatments according to the experimental diets, with each group consisting of six replicates. The experimental diets included: 1) an adequate metabolizable energy and crude protein diet formulated to meet the age and breed specification for Hy-Line Brown containing 21, 18, 16, and 14% dietary CP during 0 to 6, 6 to 12, 12 to 15, 15 to 18 weeks, respectively (CON); 2) 2% CP deficiency from CON diet containing 19, 16, 14, 12% dietary CP during 0 to 6, 6 to 12, 12 to 15, 15 to 18 weeks, respectively (LP). Growth performance, total excreta, and nitrogen balance were investigated for 18 weeks every 3 weeks, and two-way ANOVA was used for statistical analysis of data. The LP group had lower total excreta and N intake than CON group in the whole period of the experiment ( $p < 0.001$ ). Moreover, birds in the LP group showed lower N excretion than the CON group ( $p < 0.05$ ). However, the CON group exhibited higher BW, ADG than the LP group ( $p < 0.001$ ). Application of low-protein diet to laying hens during the growing period reduced N excretion, which contribute to the sustainable development of the laying hen industry by minimizing environmental pollution.

## OPEN ACCESS

**Citation:** Lee J, Yu M, Oketch EO, Nawarathne SR, Kim YB, Chathuranga NC, Maniraguha V, Cruz BGS, Seo E, Park H, Choi H, Yu DJ, Kim JK, Heo JM. 2024. Effect of dietary protein levels and age on growth performance, total excreta and nitrogen balance of laying hens during the growing phase. Korean Journal of Agricultural Science 51:193-203. <https://doi.org/10.7744/kjas.510210>

**Received:** March 12, 2024

**Revised:** May 11, 2024

**Accepted:** May 16, 2024

**Copyright:** © 2024 Korean Journal of Agricultural Science



This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

**Keywords:** growth performance, laying hen, low protein diet, nitrogen balance, total excreta

## Introduction

축산업은 전 세계적인 인구 증가, 소득 증진 및 도시화에 따라 지속적으로 발전하고 있으나 동시에 온실가스 배출, 토지 황폐화, 수질 오염을 유발하여 환경 오염의 주 원인으로 지목되고 있다(Yitbarek, 2019). 특히, 가축 분변을 통한 질소(nitrogen)의 배출은 환경 오염의 대표적인

원인으로 꼽힌다(Bist et al., 2023). EPA (2004)는 축산업에서 공기 중으로 발산하는 암모니아(NH<sub>3</sub>) 가스의 배출량은 지속적으로 증가하여, 2030년까지 연간 2.67백만 톤에 도달할 것으로 추정하였다. 양계 산업에서 발생되는 암모니아 가스 또한 증가하는 추세에 있고, 이는 증가하는 인구의 수요를 충족하기 위해 많은 양의 닭고기 및 계란을 대량 생산함에서부터 기인한다(Xin et al., 2011). NAIR (2023)에 따르면, 2020년 기준 우리나라 축산업에서 발생하는 암모니아 배출량 중 15%는 가금 산업에서 발생한 것으로 나타났다.

일반적으로 가축 분뇨는 퇴·액비로 활용되어 재활용될 수 있으나(Khoshnevisan et al., 2021), 과다 발생 시 환경 오염을 유발하고 악취에 의해 주민 민원의 원인이 되어 축산업의 입지를 위축시킨다. 가축 분뇨에는 질소(nitrogen), 인(phosphorus), 그리고 탄소(carbon)가 풍부하게 존재하며(Pagliari and Laboski, 2012), 이 중 질소는 계분 중 요소(urea, 4 - 12%), 요산(uric acid, 40 - 70%), 소화되지 않은 질소(10 - 40%) 등의 안정적인 화합물 형태로 존재하나, 분변 내 미생물의 대사로 인해 결과적으로 암모니아(NH<sub>3</sub>)를 합성한다(EPA, 2004). 이는 환경 중 온실 가스(green gas)인 암모니아 가스의 방출을 유도하여 대기를 오염시키고(Méda et al., 2011), 부영양화(eutrophication)의 원인이 되어 수질 생태계를 교란시킨다. 또한 계사 내 암모니아 가스는 독성 물질로서 농도와 노출 기간에 따라 닭에 암모니아 독성(ammonia toxicity)을 유발시키고, 닭은 점막 상피세포의 수축, 섬모의 손실, 술잔 세포의 증식과 같은 병변을 나타낸다(Sheikh et al., 2018). 작업자가 현장에서 암모니아에 노출될 경우, 호흡기 기능이 악화되고 목, 눈 부위에 염증반응이 발생하는 등 건강 상태가 악화될 수 있다(Wyer et al., 2022). 이처럼 계분을 통한 질소 배출은 암모니아 가스의 생성을 유발하여 다양한 부작용을 나타내기 때문에 양계 산업에서 해결해야 주요 현안 중 하나로 꼽힌다.

이에 사육 환경조건 중 암모니아 가스가 닭의 강건성에 미치는 관련 연구(Zhao et al., 2020; Zhou et al., 2021; Wang et al., 2022)와, 계분 내 질소 배출을 저감하기 위하여 다양한 사료첨가제를 활용한 연구가 진행된 바 있다(Li et al., 2015; Chowdhury et al., 2018; Mahardhika et al., 2019). 그러나 근본적으로 계분 내 질소는 체조직 합성에 이용되지 못한 단백질(undigested protein) 또는 기초 내인성 손실(basal endogenous losses)으로부터 유래되는데 (Soomro et al., 2018), 대부분은 체조직 합성에 이용되지 않은 사료 내 조단백질에서부터 유래됨에 주목할 필요가 있다(Bregendahl et al., 2002). 분변 내 질소 수준을 낮추는 가장 효과적인 방법은 사료 내 조단백질 수준의 저감이다 (Blair et al., 1999). 특히나 산란계의 육추기 중 성장의 추이는 산란기의 산란성적에 큰 영향을 미치기에 충분한 단백질의 급여를 통해 충분한 성장을 보장하는 것은 중요하다(Saleh et al., 2018). 그러나 단백질을 과잉 급여할 경우 계사 내 암모니아의 발생으로 오히려 산란기 중 생산성이 저해되는 역효과를 나타낼 수 있기에(Deaton et al., 1984), 적절한 조단백질 함량의 사료를 급여하는 것은 중요하다.

본 연구는 산란계의 육추 기간 중 사료 내 조단백질 함량과 주령의 변화가 생산성, 총 배설량 및 질소 균형에 미치는 영향을 조사하기 위해 실시되었다. 본 연구를 통해 육추기 산란계에 저단백질 사료 급여 시 분변 중 질소배출량이 감소함을 증명하여 보다 지속 가능한 양계 산업의 발전에 도움이 되고자 하였다.

## Materials and Methods

### 공시동물과 시험설계

본 실험은 충남대학교 동물윤리위원회 심의규정(202209A-CNU-144)에 의해 검토된 후 수행되었고 동물의 관리 및 취급은 본 대학 동물실험윤리위원회의 규정을 준수하고, 승인을 받았다. 공시동물은 1일령 Hy-Line Brown (평균 무게  $38.25 \pm 0.28$  g) 96수이며, 안성에 위치한 일반 부화장에서 발생 후 충남대학교 동물자원연구센터로 운송되어 온도조절 및 환기 시스템이 완비된 배터리형 케이지( $0.76\text{ m} \times 0.60\text{ m} \times 0.40\text{ m}$ )에서 18주 동안 사육되었다. 총 96수의 Hy-Line Brown 산란계는 시험 사료를 기준으로 두 처리구로 나누었고, 각 그룹은 6반복, 반복 당 8수를 완전

임의 배치하였다. 모든 시험사료는 옥수수-대두粕(corn-soybean meal) 위주로 배합되었으며, 대조구의 시험사료는 Hy-Line International (2019)에서 제시한 대사에너지(metabolizable energy) 및 조단백질(crude protein) 수준을 충족하거나 초과하도록 배합하였다. LP구의 시험사료는 대조구의 시험사료보다 2% 더 낮은 수준의 조단백질 함량을 갖도록 배합하였다. 시험 사료 내 조단백질 수준은 산란계의 주령 기준 0 - 6, 6 - 12, 12 - 15, 15 - 18주령 순으로 21, 18, 16, 14%, LP구는 대조구에 비해 2% 더 낮은 조단백질 함량인 19, 16, 14, 12%를 포함하도록 하였고, 성장단계 별로 시험사료를 전환하여 급여하였다. 육추기 산란계에 급여한 시험 사료의 조성은 Table 1에 제시하였다. 사료 급여는 1주차까지 무제한 급여(*ad-libitum*)하였고 이후에는 Hy-Line International (2019)에서 제시한 권장량으로 제한 급여하였으며, 물은 전체 시험 기간 동안 자유롭게 음수하도록 하였다. 사육온도는 케이지 내부 온도를 기준으로 1주차에 30°C으로 설정하여, 주차별로 계사 내부 온도를 지속적으로 낮추어 6주차부터  $21 \pm 2^{\circ}\text{C}$ 을 유지하도록 하였고, 습도는 계사 내 상대습도 기준 50 - 70%를 유지하였다. 점등 관리(lighting program)는 산란계 1주령까지 4시간 점등 후 2시간 소등(4L : 2D)을 하루 4회 반복하였고 2주차부터 21시간 점등 후 3시간 소등(21L : 3D)을 진행하였으며, 이후 주차별로 점진적으로 점등 시간을 증가시켜 최종적으로 18주차에는 11시간 점등 후 13시간 소등(11L : 13D)을 실시하였다. 이를 비롯한 전반적인 사양 관리는 Hy-Line International (2019)을 기준으로 실시하였다.

**Table 1.** Feed ingredients and calculated chemical composition of experimental diets with different dietary CP levels, as-fed basis.

Items	CON <sup>y</sup>				LP <sup>z</sup>			
	wk 0 - 6	wk 6 - 12	wk 12 - 15	wk 15 - 18	wk 0 - 6	wk 6 - 12	wk 12 - 15	wk 15 - 18
<b>Ingredient composition (%)</b>								
Corn	59.76	67.21	71.29	74.42	64.70	72.23	76.24	78.61
Soybean meal (44%)	34.32	25.98	20.91	15.57	28.83	20.30	15.21	9.64
Others	5.92	6.81	7.80	10.01	6.47	7.47	8.55	11.75
<b>Chemical composition</b>								
ME (kcal/kg)	2,950	2,950	2,900	2,850	2,950	2,950	2,900	2,850
CP (%)	21.0	18.0	16.0	14.0	19.0	16.0	14.0	12.0

ME, metabolizable energy; CP, crude protein; wk, week.

<sup>y</sup> CON diet: A diet with 21, 18, 16, and 14% crude protein (CP) in weeks 0 - 6, 6 - 12, 12 - 15, and 15 - 18, respectively.

<sup>z</sup> LP diet: A diet with 19, 16, 14, and 12% crude protein (CP) in weeks 0 - 6, 6 - 12, 12 - 15, and 15 - 18, respectively.

## 조사항목

### 생산성(growth performance)

산란계의 체중(body weight)을 3주마다 조사하였고, 사료섭취량(feed intake)은 매주 측정하였다. 이를 바탕으로 일당증체량(average daily gain), 일당사료섭취량(average daily feed intake), 그리고 사료요구율(feed conversion ratio)을 계산하였다.

### 총 배설량(total excreta)

총 배설량(total excreta)은 8수(반복 당 마릿수 기준)의 전분을 3일간 채취하여 무게를 측정하였고, 이를 1일 1수 기준으로 환산하여 제시하였다. 채취한 계분 샘플은  $-80^{\circ}\text{C}$ 에 보관 후 이후 질소 균형 분석에 이용하였다.

### 질소 균형(N balance)

전체 시험기간 중 3주마다 질소섭취량(N intake), 질소배출량(N excretion), 질소보유량(N retention), 그리고 질소효율(N efficiency)을 조사하였다. 질소 균형(N balance)에 해당하는 모든 지표는 1일 1수 기준으로 제시하였다. 질소 균형(N balance)은 아래의 공식을 이용하여 조사하였다(Belloir et al., 2017; Barzegar et al., 2019).

$$\text{질소섭취량(N intake)} = \text{사료섭취량(feed intake)} \times \text{사료 내 조단백질 함량(dietary crude protein)/6.25} \quad (1)$$

$$\text{질소배출량(N excretion)} = \text{총 배설량(total excreta)} \times \text{분변 내 질소 함량} \quad (2)$$

$$\text{질소보유량(N retention)} = \text{질소섭취량(N intake)} - \text{질소배출량(N excretion)} \quad (3)$$

$$\text{질소효율(N efficiency)} = \text{질소보유량(N retention)}/\text{질소섭취량(N intake)} \quad (4)$$

### 통계처리

실험에 이용된 모든 데이터는 SPSS 26.0 (SPSS Inc., USA)의 GLM program (general linear model, two-way ANOVA procedure, SPSS Inc., USA)을 이용하여 분석하였다. 통계 분석 시 케이지를 실험 단위로 사용하였으며, 사료 내 조단백질 수준과 산란계 주령에 의한 영향 및 두 요인 간 상호작용 효과를  $2 \times 6$  factorial design을 통해 분석하였다. 각 처리구 간 표준값을 Tukey's Test를 통해 다중 검정하였고 95% 신뢰수준에서 유의성을 검정하였다.

## Results and Discussion

### 생산성(growth performance)

Table 2에 사료 내 조단백질 함량 및 산란계 주령에 따른 생산성을 제시하였다. 산란계의 체중은 육추기 18주령 기준, 대조구에서 1,434.90 g, LP구에서 1,350.64 g으로 조사되어 LP구에 비해 대조구에서 6.24% 더 높게( $p < 0.05$ ) 조사되었다. 산란계의 체중은 주령이 증가할수록 높게 나타났으며( $p < 0.05$ ), 상호작용 효과에 의해 사료 내 조단백질 함량이 많고 산란계의 주령이 증가할수록 체중은 높게 조사되었다( $p < 0.05$ ). 사료 내 조단백질 수준에 따라 산란계의 체중이 증가한 본 연구의 결과는 더 많은 양의 조단백질을 공급함으로써 닭의 체조직 합성이 비교적 원활하게 이루어졌기 때문으로 사료된다(Saleh et al., 2018; Oluwabiyi et al., 2022; Heo et al., 2023).

산란계의 일당증체량은 전체 실험기간 기준 대조구에서 11.08 g, LP구에서 10.42 g으로 조사되어 대조구에서 6.33% 더 높았고( $p < 0.001$ ), 육추기 산란계의 주령이 높을수록 증가하였다( $p < 0.001$ ). 또한 상호작용 효과에 의해 사료 내 조단백질 함량이 많고 산란계 주령이 증가할수록 일당증체량은 높게 나타났다( $p < 0.01$ ). 대조구에 비해 LP 구에서 더 낮은( $p < 0.001$ ) 일당증체량이 조사된 본 실험의 결과는 산란계의 육추기간에 저단백질 사료 급여 시 생산성이 저해될 수 있음을 시사한다. 이에 저단백질 사료에 필수 아미노산을 추가적으로 첨가 후 닭에 급여할 경우 일당증체량의 감소를 예방할 수 있다(Van Harn et al., 2019; Attia et al., 2020; Heo et al., 2023). 또한 본 연구의 시험 사료인 옥수수-대두박 위주의 저단백질 사료는 가장 일반적인 저단백질 사료로서 널리 활용되나, 비필수아미노산인 글라이신(glycine)이 부족할 가능성이 높기 때문에(Van Harn et al., 2019), 저단백질 사료에 글라이신(glycine)을 첨가하여 급여 시 닭의 생산성을 개선할 수 있는 것으로 보고된다(Ospina-Rojas et al., 2013).

산란계의 일당사료섭취량은 주령이 증가할수록 크게 조사되었다( $p < 0.001$ ). 반면 사료 내 조단백질 함량에는 영향을 받지 않았고( $p > 0.05$ ), 사료 내 조단백질 함량과 산란계의 주령 간 상호작용 효과 또한 존재하지 않았다( $p > 0.05$ ). 육추기 산란계의 사료섭취량이 사료 내 조단백질 함량에 따라 유의미하게 변화하지 않은 본 연구의 결과는

많은 선행 연구의 보고와 일치하는 데(Ji et al., 2014; Soares et al., 2019; Van Emous et al., 2019; Attia et al., 2020; Oluwabiyi et al., 2022), 특히 본 연구와 같이 동일한 에너지 함량을 가졌으나 다른 조단백질 함량을 함유한 사료를 닭에 급여 시 사료섭취량은 차이가 없는 것으로 조사되었다(Liu et al., 2015). 반면 조단백질 함량이 높은 사료를 급여할 경우 닭의 사료섭취량이 감소하기도 하는데(Latshaw and Zhao, 2011; Chrystal et al., 2021), 이는 소화 과정 중 독성물질인 암모니아가 과잉 생성되어 닭의 사료섭취 행동을 방해하기 때문으로 해석된다(Stern and Mozdziak, 2019).

산란계의 사료요구율은 전체 실험기간 기준 대조구에 비해 LP구에서 5.56% 더 높았고( $p < 0.001$ ), 산란계의 주령이 감소할수록 작게 나타났다( $p < 0.01$ ). 또한 상호작용 효과에 의해 사료 내 조단백질 함량이 많고 산란계 주령이 감소할수록 사료요구율은 낮게 조사되었다( $p < 0.01$ ). 사료 내 조단백질 함량이 적을수록 사료요구율이 더 높게 조사된 본 연구의 결과는 조단백질 함량과 닭의 사료요구율 간 연관성이 나타나지 않은 많은 선행 연구(Ji et al., 2014; Attia et al., 2020; Oluwabiyi et al., 2022)와 다른 경향을 나타낸다. 한편 본 연구의 결과와 반대로 조단백질 함량이 높은 사료를 닭에게 급여 시 사료요구율이 증가하는 경우도 존재하는 데, 이는 미소화 단백질의 체내 발효에 의해 암모니아를 비롯한 유해 물질이 생성되어 장 건강을 악화시키고 영양소 소화를 방해하기 때문으로 조사된다(Van Harn et al., 2019).

**Table 2.** Influence of dietary crude protein level and age of birds on growth performance (Continued).

Diet	Age of birds	BW (g)	ADG (g/d)	ADFI (g/d)	FCR (g/g)
CON <sup>y</sup>	Week 3	160.53a	5.82a	18.08	3.11a
	Week 6	388.19b	10.84cd	33.13	3.06a
	Week 9	638.21d	11.91cde	44.15	3.71ab
	Week 12	911.40f	13.01e	56.09	4.31bc
	Week 15	1,160.73h	11.87cde	69.19	5.83d
	Week 18	1,434.90j	13.06e	77.09	5.91d
LP <sup>z</sup>	Week 3	161.71a	5.88a	18.08	3.08a
	Week 6	349.15b	8.93b	33.87	3.79b
	Week 9	573.09c	10.66c	44.38	4.16bc
	Week 12	817.94e	11.66cde	56.17	4.82c
	Week 15	1,077.09g	12.34de	69.14	5.60d
	Week 18	1,350.64i	13.03e	77.22	5.93d
SEM		2.551	0.092	0.42	0.04
<b>Main effect</b>					
Age of birds					
	Week 3	161.12a	5.85a	18.07a	3.09a
	Week 6	368.67b	9.88b	33.50b	3.43a
	Week 9	605.65c	11.29c	44.27c	3.94b
	Week 12	864.67d	12.33cd	56.13d	4.56c
	Week 15	1,118.91e	12.11cd	69.16e	5.72d
	Week 18	1,392.77f	13.04d	77.15f	5.92d
	SEM	4.896	0.111	0.401	0.046

**Table 2.** Influence of dietary crude protein level and age of birds on growth performance.

Diet	Age of birds	BW (g)	ADG (g/d)	ADFI (g/d)	FCR (g/g)
Dietary CP					
CON		782.33	11.08	49.62	4.32
LP		721.60	10.42	49.81	4.56
SEM		50.694	0.304	2.454	0.135
p-value					
Age of birds		< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.01
Diet		< 0.001	< 0.001	0.824	< 0.001
Age of birds × Diet		< 0.001	< 0.005	0.978	< 0.01

ADFI, average daily feed intake; BW, body weight; ADG, average daily gain; FCR, feed conversion ratio; SEM, standard error of the mean; CP, crude protein.

<sup>y</sup> CON diet: A diet with 21, 18, 16, and 14% crude protein (CP) in week 0 - 6, 6 - 12, 12 - 15, and 15 - 18, respectively.

<sup>z</sup> LP diet: A diet with 19, 16, 14, and 12% crude protein (CP) in week 0 - 6, 6 - 12, 12 - 15, and 15 - 18, respectively.

a - j: Means in a column with different letters are significantly different ( $p < 0.05$ ).

### 총 배설량(total excreta)

Table 3에 사료 내 조단백질 함량 및 산란계의 주령에 따른 총 배설량을 제시하였다. 본 연구 결과 전체 실험기간 동안 1일, 1마리 기준 총 배설량은 대조구에서 83.87 g, LP구에서 73.39 g으로 조사되어 LP구보다 대조구에서 14.28% 더 크게( $p < 0.001$ ) 나타났다. 또한 산란계 주령별 총 배설량은 3주령에 32.79 g, 18주령에 90.05 g으로 조사되어 산란계 주령이 높을수록 총 배설량은 증가하는 것으로 나타났다( $p < 0.001$ ). 또한 상호작용 효과에 의해 사료 내 조단백질 함량이 적고 산란계 주령이 작을수록 총 배설량은 감소하였다( $p < 0.05$ ). 산란계 사료 내 조단백질 함량이 적을수록 총 배설량이 감소한 본 연구의 결과는 Heo 등(2023)의 선행연구와 동일한 결과이다. 일반적으로 닭은 분변 배설 시 체중의 3 - 4%에 해당하는 양을 배설하는데(Abdeshahian et al., 2016), 본 연구에서는 저단백질 사료를 급여한 산란계의 체중이 감소하였기 때문에 총 배설량이 감소한 것으로 사료된다. 주령에 따라 총 배설량이 증가한 연구결과 또한 체중의 증가에서 기인한 것으로 해석된다(Abdeshahian et al., 2016).

**Table 3.** Influence of dietary crude protein level and age of birds on total excreta (Continued).

Diet	Age of birds	Total excreta (g/bird/d)
CON <sup>y</sup>	Week 3	35.34a
	Week 6	98.07de
	Week 9	79.24bcd
	Week 12	98.41de
	Week 15	104.23de
	Week 18	87.91bcde
LP <sup>z</sup>	Week 3	30.24a
	Week 6	66.10b
	Week 9	70.83bc
	Week 12	86.49bcde
	Week 15	94.49de
	Week 18	92.19cde
SEM		1.371

**Table 3.** Influence of dietary crude protein level and age of birds on total excreta.

Diet	Age of birds	Total excreta (g/bird/d)
Main effect		
Age of birds		
Week 3		32.79a
Week 6		82.08bc
Week 9		75.03b
Week 12		92.45cd
Week 15		99.36d
Week 18		90.05bcd
SEM		1.605
Dietary CP		
CON		83.87
LP		73.39
SEM		2.981
p-value		
Age of birds		< 0.001
Diet		< 0.001
Age of birds × Diet		< 0.05

SEM, standard error of the mean; CP, crude protein.

<sup>y</sup> CON diet: A diet with 21, 18, 16, and 14% crude protein (CP) in week 0 - 6, 6 - 12, 12 - 15, and 15 - 18, respectively.

<sup>z</sup> LP diet: A diet with 19, 16, 14, and 12% crude protein (CP) in week 0 - 6, 6 - 12, 12 - 15, and 15 - 18, respectively.

a - g: Means in a column with different letters are significantly different ( $p < 0.05$ ).

### 질소균형(N balance)

Table 4에 사료 내 조단백질 함량 및 산란계의 주령에 따른 질소균형을 제시하였다. 일반적으로 질소균형 분석은 사료 내 조단백질의 영양적 효율을 조사하기 위해 실시된다(Liebert, 2006). 본 연구 결과 전체 실험기간 동안 1일, 1마리 기준 산란계의 평균 질소섭취량은 LP구에 비해 대조구에서 12.50% 더 크게 조사되었고( $p < 0.001$ ), 산란계의 주령이 높을수록 증가하였다( $p < 0.001$ ). 또한 상호작용 효과에 의하여 사료 내 조단백질 함량이 많고 산란계의 주령이 증가할수록 질소섭취량은 증가하였다( $p < 0.001$ ). 산란계의 사료섭취량은 대조구와 LP구에서 차이가 없었으나( $p > 0.05$ ), 사료 내 조단백질 함량은 대조구에서 더 높았으므로 질소섭취량은 대조구에서 더 높게 조사되었다(Latshaw and Zhao, 2011; Soares et al., 2019; Heo et al., 2023). 또한 산란계의 주령이 증가할수록 질소섭취량이 더 크게 나타났는데( $p < 0.001$ ), 이는 육추기 중 성장 단계별로 사료 내 조단백질 함량이 점차 감소하였음에도 불구하고 주령에 따라 사료섭취량이 지속적으로 증가하였기 때문이다.

전체 실험기간 동안 1일 1마리 기준 산란계의 평균 질소배출량은 대조구에서 0.71 g, LP구에서 0.63 g으로 조사되어 대조구에서 LP구에 비해 12.70% 더 높게 나타났으며( $p < 0.05$ ), 산란계의 주령이 높을수록 증가하였다( $p < 0.001$ ). 반면 사료 내 조단백질 함량과 산란계의 주령 간 상호작용 효과는 존재하지 않았다( $p > 0.05$ ). 일반적으로 계분을 통한 질소배출량은 질소섭취량과 비례하는데, 본 연구 결과 산란계 육추기간 중 저단백질 사료의 급여 시 계분 내 질소배출량이 감소함을 확인하였고( $p < 0.05$ ), 이는 사료 내 조단백질 함량에 따른 산란계의 질소 균형을 조사한 대부분의 선행 연구(Ji et al., 2014; Soares et al., 2019; Van Emous et al., 2019; Attia et al., 2020; Macelline et al., 2020; Heo et al., 2023)와 동일한 결과이다. 계분과 함께 배출되는 질소의 대부분은 체조직 합성에 이용되지 못한 단백질의 분해 과정 중 생성되는데(Heo et al., 2023), 사료 내 조단백질 함량이 감소할 경우 체조직 합성에 이용되지 못

한 단백질의 양이 자연스럽게 줄어들기 때문에 질소배출량 또한 감소된 것으로 사료된다(Latshaw and Zhao, 2011). 또한 산란계의 주령이 높을수록 질소배출량이 크게 조사된 이유는 주령에 따라 질소섭취량이 상승하였기 때문으로 해석된다.

질소보유량의 경우 전체 실험기간 동안 1일 1마리 기준 대조구에서 0.73 g, LP구에서 0.66 g으로 조사되어 LP구에 비해 대조구에서 10.61% 더 높았고( $p < 0.001$ ), 산란계의 주령이 높을수록 크게 조사되었다( $p < 0.001$ ). 반면 사료 내 단백질 함량과 산란계의 주령 간 상호작용 효과는 관찰되지 않았다( $p > 0.05$ ). 산란계에 저단백질 사료 급여 시 질소보유량이 감소한( $p < 0.001$ ) 본 연구 결과는 사료 내 조단백질 함량과 질소 균형 간 관계를 구명한 대부분의 선행 연구의 결과와(Soares et al., 2019; Chrystal et al., 2021; Heo et al., 2023) 일치하고, 이는 육추기 산란계에 조단백질을 비교적 적게 공급하여 체내 질소보유량이 감소된 것으로 해석된다.

질소효율의 경우 산란계의 주령이 높을수록 큰 값이 관찰되었다( $p < 0.001$ ). 반면 대조구와 LP구 간 유의미한 차이는 나타나지 않았으며( $p > 0.05$ ), 사료 내 조단백질 함량과 산란계 주령 간 상호작용 효과 또한 존재하지 않았다( $p > 0.05$ ). 사료 중 이상아미노산 조성(ideal amino acid ratio)을 실현하기 위해 적정 비율의 필수아미노산을 사료 중 배합하여 급여할 경우, 체내 단백질 합성의 효율을 높이고 사료비를 절감하며 질소 효율을 개선할 수 있는 것으로 조사된다(Macelline et al., 2020).

본 연구 결과 육추기 산란계에 저단백질 사료 급여 시 질소 배출을 저감시키고 환경오염을 예방할 수 있을 것으로 사료된다. 그러나 육추기 산란계의 생산성이 감소한 본 연구 결과에 따라 육추기간 중 성장에 영향을 미치지 않는 저단백질 사료의 활용에 관한 추가적인 연구가 필요한 것으로 사료된다.

**Table 4. Influence of dietary crude protein level and age of birds on nitrogen balance (Continued).**

Diet	Age of birds	N intake (g/d)	N excretion (g/d)	N retention (g/d)	N efficiency (%)
CON <sup>y</sup>	Week 3	0.97ab	0.53	0.44	0.46
	Week 6	1.40de	0.83	0.58	0.41
	Week 9	1.27cd	0.51	0.76	0.60
	Week 12	1.59f	0.52	1.07	0.67
	Week 15	1.59ef	0.69	0.91	0.57
	Week 18	1.82g	1.21	0.61	0.33
LP <sup>z</sup>	Week 3	0.86a	0.51	0.35	0.41
	Week 6	0.97ab	0.56	0.41	0.43
	Week 9	1.10bc	0.44	0.66	0.60
	Week 12	1.37d	0.56	0.81	0.59
	Week 15	1.58ef	0.50	1.08	0.68
	Week 18	1.81g	1.18	0.63	0.35
SEM		0.038	0.020	0.022	0.012
Main effect					
Age of birds					
	Week 3	0.91a	0.52ab	0.40a	0.43a
	Week 6	1.19b	0.69b	0.49ab	0.42a
	Week 9	1.18b	0.47a	0.71b	0.60b
	Week 12	1.48c	0.54ab	0.94c	0.63b
	Week 15	1.59c	0.59ab	0.10c	0.63b
	Week 18	1.82d	1.19c	0.62ab	0.34a
SEM		0.017	0.021	0.023	0.012

**Table 4.** Influence of dietary crude protein level and age of birds on nitrogen balance.

Diet	Age of birds	N intake (g/d)	N excretion (g/d)	N retention (g/d)	N efficiency (%)
Dietary CP					
CON		1.44	0.71	0.73	0.51
LP		1.28	0.63	0.66	0.51
SEM		0.039	0.035	0.034	0.018
p-value					
Age of birds		< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001
Diet		< 0.001	< 0.05	< 0.001	0.870
Age of birds × Diet		< 0.001	0.257	0.083	0.314

SEM, standard error of the mean; CP, crude protein.

<sup>y</sup> CON diet: A diet with 21, 18, 16, and 14% crude protein (CP) in week 0 - 6, 6 - 12, 12 - 15, and 15 - 18, respectively.

<sup>z</sup> LP diet: A diet with 19, 16, 14, and 12% crude protein (CP) in week 0 - 6, 6 - 12, 12 - 15, and 15 - 18, respectively.

a - g: Means in a column with different letters are significantly different ( $p < 0.05$ ).

## Conclusion

산란계 사료 내 저단백질 함량은 계분을 통한 질소의 배출과 깊은 관련이 있다. 본 연구는 육추기 산란계의 사료 내 저단백질 함량 및 연령에 따른 생산성, 총 배설량 및 질소 균형을 구명하기 위해 실시되었다. 육성기 산란계에 저 단백질 사료 급여 시 총 배설량, 질소섭취량 및 질소배출량은 감소하였다. 반면 저단백질 급여 시 체중 및 일당증체량은 감소하였다. 본 연구 결과를 바탕으로 산란계 육추기 기간 중 저단백질 사료 급여 시 질소배출량을 줄이고 환경오염을 최소화하여 지속가능한 양계산업의 발전에 기여할 수 있을 것으로 판단된다. 그러나 본 연구에서 저단백질 사료 급여로 육추기 중 생산성이 감소된 결과에 따라, 생산성에 영향을 미치지 않는 저단백질 사료 관련 연구가 추가적으로 필요한 것으로 판단된다.

## Conflict of Interests

No potential conflict of interest relevant to this article was reported.

## Acknowledgements

This work was carried out with the support of “Cooperative Research Program for Agriculture Science and Technology Development (Project No. PJ017077)” Rural Development Administration, Republic of Korea.

## References

- Abdeshahian P, Lim JS, Ho WS, Hashim H, Lee CT. 2016. Potential of biogas production from farm animal waste in Malaysia. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 60:714-723.
- Attia YA, Bovera F, Wang J, Al-Harthi MA, Kim WK. 2020. Multiple amino acid supplementations to low-protein diets: Effect on performance, carcass yield, meat quality and nitrogen excretion of finishing broilers under hot climate conditions. *Animals* 10:973.

- Barzegar S, Wu SB, Noblet J, Choct M, Swick RA. 2019. Energy efficiency and net energy prediction of feed in laying hens. *Poultry Science* 98:5746-5758.
- Belloir P, Méda B, Lambert W, Corrent E, Juin H, Lessire M, Tesseraud S. 2017. Reducing the CP content in broiler feeds: Impact on animal performance, meat quality and nitrogen utilization. *Animal* 11:1881-1889.
- Bist RB, Subedi S, Chai L, Yang X. 2023. Ammonia emissions, impacts, and mitigation strategies for poultry production: A critical review. *Journal of Environmental Management* 328:116919.
- Blair R, Jacob J, Ibrahim S, Wang P. 1999. A quantitative assessment of reduced protein diets and supplements to improve nitrogen utilization. *Journal of Applied Poultry Research* 8:25-47.
- Bregendahl K, Sell J, Zimmerman D. 2002. Effect of low-protein diets on growth performance and body composition of broiler chicks. *Poultry Science* 81:1156-1167.
- Chowdhury S, Mandal GP, Patra AK. 2018. Different essential oils in diets of chickens: 1. Growth performance, nutrient utilisation, nitrogen excretion, carcass traits and chemical composition of meat. *Animal Feed Science and Technology* 236:86-97.
- Chrystal PV, Greenhalgh S, McInerney BV, McQuade LR, Akter Y, de Paula Dorigam JC, Liu SY. 2021. Maize-based diets are more conducive to crude protein reductions than wheat-based diets for broiler chickens. *Animal Feed Science and Technology* 275:114867.
- Deaton JW, Reece FN, Lott BD. 1984. Effect of atmospheric ammonia on pullets at point of lay. *Poultry Science* 63: 384-385.
- EPA (United States Environmental Protection Agency). 2004. National emission inventory-ammonia emissions from animal husbandry operations. EPA, Washington, D.C., USA.
- Heo YJ, Park J, Kim YB, Kwon BY, Kim DH, Song JY, Lee KW. 2023. Effects of dietary protein levels on performance, nitrogen excretion, and odor emission of growing pullets and laying hens. *Poultry Science* 102:102798.
- Hy-Line International. 2019. Hy-Line Brown commercial layers management guide. Accessed in <https://www.hyline.com/filesimages/Hy-Line-Products/Hy-Line-Product-PDFs/Brown/BRN%20STD%20ENG.pdf> on 1 December 2023.
- Ji F, Fu SY, Ren B, Wu SG, Zhang HJ, Yue HY, Qi GH. 2014. Evaluation of amino-acid supplemented diets varying in protein levels for laying hens. *Journal of Applied Poultry Research* 23:384-392.
- Khoshnevisan B, Duan N, Tsapekos P, Awasthi MK, Liu Z, Mohammadi A, Liu H. 2021. A critical review on livestock manure biorefinery technologies: Sustainability, challenges, and future perspectives. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 135:110033.
- Latshaw JD, Zhao L. 2011. Dietary protein effects on hen performance and nitrogen excretion. *Poultry Science* 90:99-106.
- Li HL, Zhao PY, Lei Y, Hossain MM, Kim IH. 2015. Phytoncide, phytogenic feed additive as an alternative to conventional antibiotics, improved growth performance and decreased excreta gas emission without adverse effect on meat quality in broiler chickens. *Livestock Science* 181:1-6.
- Liebert F. 2006. Estimation of nitrogen maintenance requirements and potential for nitrogen deposition in fast-growing chickens depending on age and sex. *Poultry Science* 85:1421-1429.
- Liu SK, Niu ZY, Min YN, Wang ZP, Zhang J, He ZF, Liu FZ. 2015. Effects of dietary crude protein on the growth performance, carcass characteristics and serum biochemical indexes of Lueyang black-boned chickens from seven to twelve weeks of age. *Brazilian Journal of Poultry Science* 17:103-108.
- Macelline SP, Wickramasuriya SS, Cho HM, Kim E, Shin TK, Hong JS, Kim JC, Pluske JR, Choi HJ, Hong YG. 2020. Broilers fed a low protein diet supplemented with synthetic amino acids maintained growth performance and retained intestinal integrity while reducing nitrogen excretion when raised under poor sanitary conditions. *Poultry Science* 99:949-958.
- Mahardhika BP, Mutia R, Ridla M. 2019. Efforts to reduce ammonia gas in broiler chicken litter with the use of probiotics. In IOP Conference Series: Earth and Environmental Science 399:012012.
- Méda B, Hassouna M, Aubert C, Robin P, Dourmad JY. 2011. Influence of rearing conditions and manure management practices on ammonia and greenhouse gas emissions from poultry houses. *World's Poultry Science Journal* 67:441-456.

- NAIR (National Air Emission Inventory and Research Center). 2023. Emissions by source category. Accessed in <https://www.air.go.kr/capss/emission/sector.do?menuld=30> on 1 December 2023. [in Korean]
- Oluwabiyi CT, Zhao J, Jiao H, Wang X, Lin H. 2022. Dietary protein levels during the pullet phase (8-18 week) influence the mortality during laying stage. *Journal of Applied Poultry Research* 31:100223.
- Ospina-Rojas IC, Murakami AE, Oliveira CAL, Guerra AFQG. 2013. Supplemental glycine and threonine effects on performance, intestinal mucosa development, and nutrient utilization of growing broiler chickens. *Poultry Science* 92:2724-2731.
- Pagliari PH, Laboski CA. 2012. Investigation of the inorganic and organic phosphorus forms in animal manure. *Journal of environmental quality* 41:901-910.
- Saleh B, Doma UD, Kalla DJU, Mbap ST, Mohammed G. 2018. Influence of pre-breeder dietary energy and protein levels on subsequent laying performance of FUNAAB-alpha chickens. *Nigerian Journal of Animal Science* 20: 153-161.
- Sheikh IU, Nissa SS, Zaffer B, Bulbul KH, Akand AH, Ahmed HA, Hussain SA. 2018. Ammonia production in the poultry houses and its harmful effects. *International Journal of Veterinary Sciences and Animal Husbandry* 3:30-33.
- Soares L, Sakomura NK, de Paula Dorigam JC, Liebert F, Quintino do Nascimento M, Kochenborger Fernandes JB. 2019. Nitrogen maintenance requirements and potential for nitrogen retention of pullets in growth phase. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* 103:1168-1173.
- Soomro RN, Yao J, El-Hack A, Asif Arain M, Abbasi IHR, Saeed M, Tufarelli V. 2018. Significance of endogenous amino acid losses in the nutrition of some poultry species: A review. *Journal of Animal & Plant Sciences* 28:1547-1557.
- Stern RA, Mozdziak PE. 2019. Differential ammonia metabolism and toxicity between avian and mammalian species, and effect of ammonia on skeletal muscle: A comparative review. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* 103:774-785.
- Van Emous RA, Winkel A, Aarnink AJA. 2019. Effects of dietary crude protein levels on ammonia emission, litter and manure composition, N losses, and water intake in broiler breeders. *Poultry Science* 98:6618-6625.
- Van Harn J, Dijkstag MA, Van Krimpen MM. 2019. Effect of low protein diets supplemented with free amino acids on growth performance, slaughter yield, litter quality, and footpad lesions of male broilers. *Poultry Science* 98: 4868-4877.
- Wang C, Bing A, Wang X, Zhao J, Lin H, Jiao H. 2022. High ambient humidity aggravates ammonia-induced respiratory mucosal inflammation by eliciting Th1/Th2 imbalance and NF- $\kappa$ B pathway activation in laying hens. *Poultry Science* 101:102028.
- Wyer KE, Kelleghan DB, Blanes-Vidal V, Schauberger G, Curran TP. 2022. Ammonia emissions from agriculture and their contribution to fine particulate matter: A review of implications for human health. *Journal of Environmental Management* 323:116285.
- Xin H, Gates RS, Green AR, Mitloehner FM, Moore Jr PA, Wathes C. 2011. Environmental impacts and sustainability of egg production systems. *Poultry Science* 90:263-277.
- Yitbarek MB. 2019. Livestock and livestock product trends by 2050. *IJAR* 4:30.
- Zhao F, Qu J, Wang W, Li S, Xu S. 2020. The imbalance of Th1/Th2 triggers an inflammatory response in chicken spleens after ammonia exposure. *Poultry Science* 99:3817-3822.
- Zhou Y, Zhang M, Liu Q, Feng J. 2021. The alterations of tracheal microbiota and inflammation caused by different levels of ammonia exposure in broiler chickens. *Poultry Science* 100:685-696.