



저작자표시-비영리-변경금지 2.0 대한민국

이용자는 아래의 조건을 따르는 경우에 한하여 자유롭게

- 이 저작물을 복제, 배포, 전송, 전시, 공연 및 방송할 수 있습니다.

다음과 같은 조건을 따라야 합니다:



저작자표시. 귀하는 원저작자를 표시하여야 합니다.



비영리. 귀하는 이 저작물을 영리 목적으로 이용할 수 없습니다.



변경금지. 귀하는 이 저작물을 개작, 변형 또는 가공할 수 없습니다.

- 귀하는, 이 저작물의 재이용이나 배포의 경우, 이 저작물에 적용된 이용허락조건을 명확하게 나타내어야 합니다.
- 저작권자로부터 별도의 허가를 받으면 이러한 조건들은 적용되지 않습니다.

저작권법에 따른 이용자의 권리는 위의 내용에 의하여 영향을 받지 않습니다.

이것은 [이용허락규약\(Legal Code\)](#)을 이해하기 쉽게 요약한 것입니다.

[Disclaimer](#)

석사학위논문

양어 사료 내 돈모분의 이용

가능성 평가

제주대학교 대학원

해양생명과학과

김유정

2017년 2월

양어 사료 내 돈모분의 이용

가능성 평가

지도교수 이 경 준

김 유 정

이 논문을 이학 석사학위 논문으로 제출함

2017년 2월

김유정의 이학 석사학위 논문을 인준함

심사위원장 박 상 율 (인)

위 원 최 광 식 (인)

위 원 이 경 준 (인)

제주대학교 대학원

2017년 2월



목 차

ABSTRACT	iv
국문 초록	vi
LIST OF FIGURES	ix
LIST OF TABLES	x

1. 서 론

1.1. 어분	1
1.2. 돈모(Pig bristle)	2
1.3. 연구목적	3

실험-1

2.1. 재료 및 방법

2.1.1. 실험사료	4
2.1.2. 실험어 및 사육관리	7
2.1.3. 조사항목	9
2.1.4. 사료의 외관상소화율 측정	10

2.1.5. 통계학적 분석	13
3.1. 결과	14
실험-2	
2.2. 재료 및 방법	
2.2.1. 실험사료	18
2.2.2. 실험어 및 사육관리	21
2.2.3. 조사항목	23
2.2.4. 통계학적 분석	24
3.2. 결과	25
실험-3	
2.3. 재료 및 방법	
2.3.1. 실험사료	31
2.3.2. 실험어 및 사육관리	35
2.3.3. 조사항목	35
2.3.4. 외관상소화율 측정	36
2.3.5. 전어체 분석 및 사료성분분석	36

2.3.6. 통계학적 분석	37
3.3. 결과	38
4. 고찰	43
5. 참고문헌	47
6. 감사의 글	54

Abstract

This study was conducted to evaluate hydrolyzed pig bristle meal (PBM) as a fish meal (FM) replacer in diets for juvenile olive flounder (*Paralichthys olivaceus*) (Exp-1 & 2) and common carp (*Cyprinus carpio*) (Exp-3). In this study, growth performance, feed utilization, diet digestibility, innate immunity and intestinal morphology were examined.

In Exp-1, six diets were prepared to contain 0 (control), 3, 6, 9, 12 and 15% PBM (PBM0, PBM3, PBM6, PBM9, PBM12 and PBM15) replacing FM. Triplicate groups of olive flounder (initial mean body weight, 8.69 g) were fed the diets to apparent satiation for 8 weeks. Growth performance was significantly affected by the dietary treatments. All PBM supplemented groups except for PBM3 showed significantly lower growth performance compared to PBM0 group. Analysis of hemological and innate immunity parameters were not significantly different among all the groups. Apparent digestibility of protein was not different up to 12% PBM inclusion, but lower in higher inclusion (PBM15) compared to PBM0.

In Exp-2, seven experimental diets (PBM0, PBM3, PBM6, PBM9, PBM12, PBM15, PBM9+Taurine) were prepared to contain 0 (control), 3, 6, 9, 12 and 15% PBM and 9% PBM+Taurine replacing FM. Triplicate groups of olive flounder (initial mean body weight, 10.4 g) were fed the diets to apparent satiation for 8 weeks. At the end of the feeding trial, growth performance and feed utilization were significantly affected by the dietary treatments. All the PBM groups except for PBM15 did not differ in the growth performance compared to the control group. PBM15 was significantly lower than the control. PBM9 group was significantly higher than the control in AST and lysozyme activity. There was no significant difference in condition factor and viscera index, but PBM9 showed the highest values.

In Exp-3, six diets (PBM0, PBM4, PBM8, PBM12, PBM16 and PBM20) were prepared to contain 0 (control), 4, 8, 12, 16 and 20% PBM replacing. Triplicate groups of common carp (initial mean body weight, 3.7 g) were fed the diets to apparent satiation for 8 weeks. At

the end of the feeding trial, growth performance and feed utilization were significantly affected by the dietary treatments. Increasing levels of PBM replacing FM in diets showed decreased growth performance. Dry matter digestibility was increased significantly by the treatment. PBM4 and PBM8 groups showed significantly higher protein digestibility compared to the control group.

Results indicated that up to 7.5% FM protein can be replaced by PBM with limiting amino acids in diets for olive flounder, but up to 14% in diets for common carp without amino acid supplementation. However, in olive flounder diet FM protein can be replaced up to 15% by PBM with supplementation of lysine and methionine and mono-calcium phosphate. In conclusion, hydrolyzed PBM seems a good protein source that could partially replace FM in diets for fishes, especially olive flounder and common carp.

국문 초록

본 연구는 양어 사료의 어분대체원으로써 돼지털(돈모)을 가수분해한 돈모분(Pig Bristle Meal, PBM)의 이용가능성을 조사하기 위해 총 3 개의 사양 실험을 실시하였다.

실험-1의 실험사료는 돈모분을 각각 0, 3.0, 6.0, 9.0, 12.0, 15.0% (PBM0, PBM3, PBM6, PBM9, PBM12, PBM15)의 비율로 첨가하여 총 6 개의 실험사료를 제작하였다. 실험어는 초기평균 무게가 8.69 g 인 넙치(Olive flounder, *Paralichthys olivaceus*)를 이용하여 각각 35 마리씩 120 L 원형 PP (polypropylene) 18 개 수조에 무작위로 배치하였다. 실험사료는 1 일 3 회에 나누어 8 주동안 반복공급하였다. 사육실험 종료 후 성장지표 측정을 위하여 무게를 측정하고, 혈액을 채취하여 혈액분석 및 비특이적 면역분석을 진행하였다. 성장 및 사료효율은 PBM3 을 제외한 나머지 실험구에서 대조구와 비교하였을 때, 유의적으로 낮은 결과값을 보였다. 혈액학적 분석 및 면역분석은 모든 실험구에서는 유의적인 차이 보이지 않았다. 건물소화율과 단백질소화율 모두 돈모분 대체 함량이 증가할수록 감소하는 경향을 보였으며, 단백질소화율은 PBM15 실험구가 대조구와 비교하였을 때 유의적으로 낮은 결과를 보였다.

실험-2의 실험사료는 돈모분을 각각 0, 3.0, 6.0, 9.0, 12.0, 15.0% (PBM0, PBM3, PBM6, PBM9, PBM12, PBM15)의 비율로 첨가한 6개의 실험사료와, 돈모분 9.0% 와 Taurine 1.0% (PBM9+Taurine)를 첨가하여 총 7개의 실험사료를 제작하였다. 실험어는 초기평균 무게가 10.4 g인 넙치를 각각 30마리씩 120 L 원형 PP (polypropylene) 21개의 수조에 무작위로 배치하였다. 실험사료는 1일 3회에 나누어 8주동안 반복공급하였다. 사육실험이 종료 된 후 성장지표 측정을 위하여 무게를 측정하고, 혈액을 채취하여 혈액분석 및 비특이적 면역분석을 진행하였다.

장내 배상세포를 관찰하기 위해 어체의 장을 적출하였다. 증체율, 사료전환효율, 일일성장률, 단백질전환효율은 PBM3, 6, 9, 12, 9+Taurine 실험구에서 대조구와 비교하여 유의적인 차이가 없었지만, PBM15 실험구는 대조구와 비교하여 유의적으로 낮은 성장과 사료효율을 보였다. 혈액학적 분석 중 AST (aspartate aminotransferase, GOT)에서 PBM9 실험구가 대조구와 비교하여 유의적으로 높은 값을 보였다. 면역분석 결과, lysozyme에서 PBM9 실험구는 대조구와 비교하여 유의적으로 높은 값을 보였다. 비만도 및 간중량지수에서 유의적인 차이는 없었으나 PBM9 실험구가 가장 높은 값을 보였다. 장 중량 지수는 PBM9 실험구에서 유의적으로 높은 값을 보였다. 배상세포 수 결과 PBM9, 12, 15 실험구가 대조구와 비교하여 유의적으로 낮은 값을 보였다.

실험-3의 실험사료는 돈모분을 각각 0, 4.0, 8.0, 12.0, 16.0, 20.0% (PBM0, PBM4, PBM8, PBM12, PBM16, PBM20)의 비율로 첨가하여 총 6개의 실험구로 구성하였다. 실험어는 초기평균 무게가 3.7 g인 잉어(Common carp, *Cyprinus carpio*)를 이용하여 18개의 50 L 수조에 30마리씩 무작위로 배치하였으며 8주간 사육실험을 진행하였다. 실험사료는 1일 2회(09:00, 17:00)에 나누어 반복공급하였다. 사육실험이 종료 된 후 성장지표 측정을 위하여 무게를 측정하고, 혈액을 채취하여 혈액분석을 진행하였다. 8주간의 사양실험 결과 PBM8, 12, 16, 20 실험구는 대조구와 비교하였을 때 유의적인 성장률을 보였다. 건물 소화율과 조단백질 소화율은 PBM0, 4, 8 실험구가 PBM12, 16, 20 실험구보다 유의적으로 높은 결과를 보였다.

결론적으로 넙치 사료에서 돈모분은 제한 아미노산(lysine, methionine, histidine)을 보충하였을 경우 어분함량의 약 7.5%(PBM3)까지 대체 가능하며, 인 칼슘 제제인 mono-calcium phosphate를 보충 첨가하였을 경우 어분단백질함량의

약 15%(PBM6)까지 대체 가능할 것으로 사료된다. 잉어 사료는 첨가제 없이
어분단백질 함량의 약 14%(PBM4)까지 대체 가능하다고 사료된다.

LIST OF FIGURES

Figure 1-1. Preparation of experimental diets -----	5
Figure 1-2. Selection of fish for the feeding trial and rearing tank -----	8
Figure 1-3. Feces collection tanks (Guelph system) -----	12
Figure 2-1. Preparation of experimental diets -----	19
Figure 2-2. Steps showing for checking growth performance -----	22
Figure 2-3. Figure 2-3. Changes in number of goblet cells in the intestine of olive flounder fed the seven experiment diets for 8 weeks; Control (A), PBM3 (B), PBM6 (C), PBM9 (D), PBM 12 (E), PBM15 (F) and PBM 9+Taurine (G) -----	30

LIST OF TABLES

Table 1-1. Formulation and proximate analysis of six experimental diets for olive flounder (% , dry matter basis). -----	6
Table 1-2. Growth performance of olive flounder (Initial BW: 8.69 g) fed the experimental diets for 8 weeks. -----	15
Table 1-3. Blood parameters of olive flounder fed the six experimental diets for 8 weeks. ---- -----	16
Table 1-4. Non-specific immune response parameters of olive flounder fed the six experimental diets for 8 weeks. -----	16
Table 1-5. Apparent digestibility coefficients (% , ADC) of dry matter and crude protein in the test diets determined by fecal collection method (Guelph system) for olive flounder. ----- -----	17
Table 2-1. Formulation and proximate analysis of seven experimental diets for olive flounder (% , dry matter basis). -----	20
Table 2-2. Growth performance of olive flounder (Initial BW: 10.4 g) fed the seven experimental diets for 8 weeks. -----	26
Table 2-3. Blood parameters of olive flounder fed the seven experimental diets for 8 weeks. - -----	27
Table 2-4. Non-specific immune response parameters of olive flounder fed the seven experimental diets for 8 weeks. -----	28
Table 2-5. Visceral parameters and goblet cell of olive flounder fed the seven experimental diets for 8 weeks. ----- -----	29
Table 3-1. Proximate composition and amino acid profile of ingredients used in trial. ----- -----	32

Table 3-2. Major fatty acid composition (% of total fatty acids) of dietary lipid sources. -----	
-----	33
Table 3-3. Formulation and composition of the six experimental diets for common carp (% dry matter basis). -----	34
Table 3-4. Growth performance of common carp (Initial BW: 3.7 g) fed the experimental diets for 8 weeks. -----	39
Table 3-5. Whole body composition of common carp (IBW: 3.7 g) fed the experimental diets for 8 weeks (% dry matter basis). -----	40
Table 3-6. Blood parameters of common carp fed the six experimental diets for 8 weeks. -----	41

Table 3-7. Apparent digestibility coefficients (% ADC) of dry matter and crude protein in the test diets determined by fecal collection method (Guelph system) for common carp. -----	
-----	42

1. 서론

1.1 어분

어분(Fish meal)은 육식성 양어 사료에 있어 가장 중요한 단백질원으로 사료 내 약 40-70%로 높은 비율을 차지하고 있다. 기호성이 높은 어분은 질 좋은 단백질과 우수한 아미노산 및 지방산 조성으로 양어사료에서 중요한 사료원으로 이용되고 있으며, 양어 사료의 가격을 결정짓는 중요한 원료이기도 하다.

우리나라의 경우 대부분의 어분은 수입에 의존하고 있다. 양식산업이 발전함에 따라 수요가 급증하고 있지만, 공급에는 한계가 있어 지속적인 가격 상승을 초래하였고, 그에 따라 양식생산 비용이 증가할 것으로 예상된다(Martinez-Llorens et al., 2012).

최근 양어사료 내 과량의 어분 첨가량을 최소화하기 위한 노력으로 어분의 대체원료를 찾는 연구가 활발히 진행되고 있다. 어분 대체 단백질원은 크게 식물성 단백질원과 동물성 단백질원으로 나눌 수 있다. 식물성 단백질원 중 대두박은 가공 하기 전 상태인 생 대두에 포함되어 있는 항영양 인자가 현저히 적으며 높은 단백질 함량을 함유하고 있어 양어사료 내 어분대체원으로 가장 많은 연구가 되었다. 대두박을 이용하여 넙치 사료 내 어분단백질의 약 20-30% 대체 가능성을 확인 하였으며(Choi et al., 2004; Kim et al., 2008), 감성돔(Black sea bream, *Acanthopagrus schlegeli*)에서는 약 40% (Azarm and Lee, 2014), 조피볼락(Korean rockfish, *Sebastes schlegeli*)에서 약 20-30% (Lim et al., 2004)의 대체 가능성이 보고 되었다. 그 외 분리대두단백(soy protein isolates, SPI), 농축대두단백(soy protein concentrates, SPC) 등 과 같은 특수가공과정을 거친 원료와((Jang et al., 2013; Kim et al., 2013; Kim et al., 2014) 루핀박, 면실박,

콘글루텐밀 등 식물성 단백질원료를 이용한 어분대체 연구가 활발히 진행되고 있다(Kikuchi, 1999; Burel et al., 2000; Imsland et al., 2016).

동물성 단백질원은 축산가공물(우모분, 계육분, 혈분, 육골분 등), 수산가공물(오징어간분말, 생선부산물 등)을 이용한 연구가 이루어지고 있다(Gu et al., 2007; Wang et al., 2010; Booth et al., 2012). 잉어 사료 내 어분대체제로 혈분을 사용할 경우 어분단백질의 약 100% 대체 가능성을 보였다(Song et al., 1995). 육골분을 이용하여 그루퍼 (*Grouper, Epinephelus coioides*) 사료 내 약 80% 대체 가능성이 보고 되었다(Millamena, 2002). 넙치 사료 내 어분대체제로 오징어간분말을 대두박과 혼합하여 어분단백질의 약 10-25% 대체 가능성을 보였다(Kim et al., 2009; Kader et al., 2012; Lee et al., 2012).

1.2. 돈모(Pig bristle)

우리나라 1 인당 연간 돼지고기 소비량은 2013 년 기준으로 약 20.9 kg 이며, 닭고기가 11.5 kg, 소고기가 10.3 kg 순으로 소비되고 있다(MAFRA, 2014). 연 평균 돼지의 도축수는 약 14,040 천 마리이며, 도축과정에 생기는 부산물(내장, 혈액, 털 등)은 약 36,480 톤 이다(NIAS, 2012). 도축 부산물은 정화처리 후 매립되거나 해양투기 되었으나 2013 년부터 런던협약에 의해 해양투기가 금지됨에 따라 대부분 매립, 소각되어 환경 및 경제적으로 문제가 되고 있다.

돈모분(Pig Bristle Meal, PBM)의 조단백질 함량은 가공처리 방법에 따라 조금씩 다르지만 평균적으로 약 80~90%에 이른다. 돈모분의 가수분해 과정은 우모분의 가수분해 과정과 유사하다. 일반적으로 돈모분은 고압증기 멸균기를 이용하여 130℃의 저기압(<207kPa)에서 150분, 혹은 145℃의 고기압(>207kPa)에서 30분간 고압증기로 처리한 후, 약 60℃ 온도에서 건조하여 만들어진다. 이 과정에서

아미노산의 손실이 발생하기 때문에 돈모분을 사료 내 첨가 시 제한 아미노산을 추가해 주어야 한다. 특히, 양어사료 내 lysine, methionine 등 필수아미노산의 결핍은 어류의 성장, 소화율에 영향을 끼칠 수 있다(Hertrampf and Piedad-Pascual, 2000). 돈모는 케라틴으로 이루어진 섬유상 단백질이기 때문에 가공(가수분해)하지 않은 상태로 육상동물에 공급하게 되면 50% 이하의 낮은 소화율을 보인다고 보고되었다(Hertrampf and Piedad-Pascual, 2000).

양어사료 내 어분대체제로서 돈모분을 이용한 연구는 미비한 실정이다(Przybył et al., 1999). 돈모분과 유사한 우모분은 가금류의 깃털을 가수분해 하여 가공한 원료로 넙치(Kikuchi et al., 1994)와 인디안 잉어(Indian major carp, *Labeo rohita*) (Hasan et al., 1997)를 대상으로 연구가 진행되었다. 가금류 부산물을 이용하여 어분대체 하였을 경우 그루퍼(Humpback grouper, *Cromileptes altivelis*)에서 어분단백질의 약 50-75% (Shapawi et al., 2007), gibel carp (*Carassius auratus*)의 경우 어분단백질의 약 66% 대체 가능성을 보였다(Yang et al., 2006). 또, 터봇(Black sea turbot, *Psetta maeutica*) (Turker et al., 2005; Yigit et al., 2006), Tench (*Tinca tinca*) (González- Rodríguez et al., 2014; Panicz, 2016)에서 사료 내 어분단백질의 약 25% 대체 가능하다고 보고되었다.

1.3. 연구 목적

본 연구는 대표적 해산 양식어종인 넙치와 담수 양식어종인 잉어를 대상으로 사료 내 가수분해 돈모분의 적정 첨가함량 및 어분대체 가능성을 알아보기 위하여 성장, 사료효율, 비특이적 면역력, 외관상 소화율 및 장내 조직학적 변화를 조사하였다.

[실험-1]

2.1. 재료 및 방법

2.1.1. 실험사료

실험사료는 어분을 기초로 한 대조사료(Control, PBM0)와 어분을 돈모분으로 3.0, 6.0, 9.0, 12.0, 15.0% (PBM3, 6, 9, 12, 15) 대체한 5 개로 총 6 개의 실험사료로 구성되었다. 실험사료의 사료조성표와 일반성분분석 결과는 Table 1-1 에 나타내었다. 실험사료는 사료원들을 혼합기에 넣어 혼합 후, 어유를 첨가한 뒤 사료원 총 중량의 약 15%에 해당하는 증류수를 첨가하였다. 혼합반죽물은 펠렛성형기(SP-50, Gumgang ENG, Daegu, Korea)를 이용하여 알맞은 크기(2-3 mm)로 성형하였다(Fig. 1-1). 성형된 사료는 건조기로 24 시간 건조시킨 후 사료공급 전까지 -20°C 에 냉동 보관하여 사용하였다.



Figure 1-1. Preparation of experimental diets

Table 1-1. Formulation and proximate analysis of six experimental diets for olive flounder (% , dry matter basis).

Ingredients	Experimental diets					
	PBM0	PBM3	PBM6	PBM9	PBM12	PBM15
Morocco fish meal	48.0	44.4	40.8	37.2	33.6	30.0
Pig bristle meal	0.00	3.00	6.00	9.00	12.0	15.0
Soybean meal	8.00	8.00	8.00	8.00	8.00	8.00
Corn gluten meal	8.00	8.00	8.00	8.00	8.00	8.00
Wheat flour	27.5	27.5	27.5	27.5	27.5	27.5
Fish oil	4.00	4.40	4.80	5.20	5.60	6.00
Mineral Mix ¹	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
Vitamin Mix ²	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
Starch	2.00	2.01	2.02	2.03	2.04	2.05
Choline chloride	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50
Lysine	0.00	0.10	0.20	0.30	0.40	0.50
Methionine	0.00	0.03	0.06	0.09	0.12	0.15
Histidine	0.00	0.05	0.10	0.15	0.20	0.25
<i>Proximate composition</i>						
Moisture	4.75	4.72	5.07	4.87	4.76	4.43
Crude protein	47.2	47.3	46.9	46.9	47.7	47.5
Crude lipid	9.56	9.57	9.41	10.1	10.5	11.1
Ash	11.5	11.0	11.0	10.8	10.5	10.2

¹Mineral premix (g kg⁻¹ of mixture): MgSO₄·7H₂O, 80.0; NaH₂PO₄·2H₂O, 370.0; KCl, 130.0; Ferric citrate, 40.0; ZnSO₄·7H₂O, 20.0; Ca-lactate, 356.5; CuCl, 0.2; AlCl₃·6H₂O, 0.15; Na₂Se₂O₃, 0.01; MnSO₄·H₂O, 2.0; CoCl₂·6H₂O, 1.0.

²Vitamin premix (g kg⁻¹ of mixture): L-ascorbic acid, 121.2; DL- α tocopheryl acetate, 18.8; thiamin hydrochloride, 2.7; riboflavin, 9.1; pyridoxine hydrochloride, 1.8; niacin, 36.4; Ca-D-pantothenate, 12.7; myo-inositol, 181.8; D-biotin, 0.27; folic acid, 0.68; p-aminobenzoic acid, 18.2; menadione, 1.8; retinyl acetate, 0.73; cholecalciferol, 0.003; cyanocobalamin, 0.003.

2.1.2. 실험어 및 사육관리

실험어는 제주특별자치도 서귀포시 표선면에 위치한 연경수산에서 구입하여 제주대학교 소속 해양과학연구소로 이송하였다. 실험어류는 1 주 동안 시판 배합사료(수협사료, 해뜰자리 2S 호)를 공급하여 사양실험 환경에 적응할 수 있도록 순치하였다. 예비사육 후 넙치치어 (초기평균무게: 8.69 g)는 총 18 개의 120L 원형 PP(Polypropylene) 수조에 35 마리씩 무작위로 배치하였다(Fig. 1-2). 사육수는 모래여과해수를 사용하여 2-3 L/min 의 유수량이 되도록 조절하였고, 모든 실험수조에 용존산소 유지를 위해 에어스톤을 설치하였다. 사육수의 수온은 자연수온(19-22℃)에 의존하였으며 광주기는 형광등을 이용하여 12L:12D 로 유지하였다. 실험사료 는 1 일 3 회(08:30, 13:00, 18:00)에 걸쳐 반복공급 하였으며, 사양 실험은 총 8 주간 진행되었다.



Figure 1-2. Selection of fish for the feeding trial and rearing tank

2.1.3. 조사항목

가. 성장률 측정

성장률과 사료효율 관련 조사항목은 다음과 같다: 성장률(WG, %) = $100 \times (\text{final mean body weight} - \text{initial mean body weight}) / \text{initial mean body weight}$; 사료효율(FCR) = $\text{dry feed fed} / \text{wet weight gain}$; 단백질이용효율(PER) = $\text{wet weight gain} / \text{total protein given}$; 일간성장률(SGR, %) = $[(\log_e \text{ final body weight} - \log_e \text{ initial body weight}) / \text{days}] \times 100$.

나. 실험사료 일반성분 분석

실험사료의 일반성분 분석은 AOAC (1995) 방법에 따라 수분은 상압가열건조법(125°C, 3 hr), 조회분은 직접회화법(550°C, 12 hr), 단백질은 자동조단백질분석기(Kejltac system 2300, Sweden)로 분석하였고, 지방은 Folch et al. (1957)의 방법에 따라 Soxhlet 추출장치(Soxhlet heater system C-SH6, Korea)를 이용하여 분석하였다.

다. 혈액 분석 및 비특이적 면역분석

8 주간의 사양실험 후, 각 수조당 8 마리의 어류를 무작위로 선별하였다. 2-phenoxyethanol 용액(100 mg/L)으로 마취시켜 일회용주사기를 사용하여 미부정맥에서 혈액을 채혈하였다. 수조당 4 마리 어류의 혈액은 헤파린 처리하여 hematocrit, hemoglobin 및 nitro-blue-tetrazolium (NBT) activity 측정을 위해 사용하였다. 분석 후, 남은 혈액은 ALT (alanine aminotransferase), AST (aspartate aminotransferase) 분석을 위해 원심분리기를 이용하여 5,000 rpm 으로 10 분간 원심분리하여 혈장(plasma)을 분리하였다. 나머지 4 마리 어류의 혈액은 면역분석 항목인 lysozyme activity, immunoglobulin, MPO (Myeloperoxidase activity),

SOD(Superoxide dismutase) activity 분석을 위해 5,000 rpm 으로 10 분간 원심분리하여 혈청(serum)을 분리하였다. Hematocrit (Ht)은 micro-hematocrit technique 에 의해 측정되었으며, 혈액은 플라스틱 유두관에 넣고 micro-hematocrit (VS-12000, Korea) 원심분리기에서 10 분 동안 12,000 g 로 원심분리 하였다. Hemoglobin 은 5 ml의 헤모글로빈측정 시약에 전혈 샘플 20ul 를 분주하여 10 분 반응 후, 자동생화학분석기(SLIM, SEAC Inc, Florence, Italy)를 이용하여 측정하였다. 분리된 혈장은 동일한 자동생화학분석기를 이용하여 AST, ALT 분석에 사용하였다. Ht, hemoglobin 은 일반적으로 어류 사육실험에 있어서 건강지표로 측정되는 분석항목으로서 실험사료 급이에 따른 어류의 건강상태를 간접적으로 확인하기 위해 측정하였다. 대식세포 활성(Nitroblue tetrazolium activity, NBT)은 Kumari and Sahoo (2005)의 방법을 기초로 분석하였다. Immunoglobulin (Ig) 분석은 Siwicki and Anderson (1993)의 분석방법으로, lysozyme activity 분석은 Sankaran and Gurnani (1972)의 방법을 기초로 분석하였으며, MPO 활성 분석은 Kumari and Sahoo (2005)의 방법으로 분석하였다. 혈장 내 SOD 활성 분석은 Superoxide dismutase kit (Cayman, Ann Arbor, USA)를 이용하여 분석하였다.

2.1.4. 사료의 외관상소화율 측정

가. 실험사료 제작 및 분(feces) 수집

특수실험 사료는 각 실험사료에 지시제인 Cr₂O₃ 를 1% 첨가하여 제조하였다. 실험사료는 사료원들을 혼합기에 넣어 혼합 후, 사료원 총 중량의 약 15%에 해당하는 증류수를 첨가하였다. 혼합반죽물은 펠렛성형기(SP-50, Gumgang ENG, Daegu, Korea)를 이용하여 알맞은 크기(4-5 mm)로 성형하였다. 성형된 사료는

건조기로 24 시간 건조시킨 후 사료공급 전까지 -20°C 에 냉동 보관하여 사용하였다.

넙치 분 수집 방법으로는 가장 일반적으로 사용되는 분수집장치(Guelph system)를 이용하여 분을 수집하였다. 실험사료에 대한 넙치의 분수집을 위해 1 주 동안 분수집용 특수 실험수조에서 사육환경에 적응할 수 있도록 적응시킨 후 분수집을 진행하였다. 본 실험에 사용된 실험수조 및 외관상소화율 측정을 위한 분 수집 장치는 Fig. 1-3 에 나타내었다. 실험어(초기평균무게: 120 g)는 총 6 개의 400 L Guelph system 분 수집장치 수조에 각각 50 마리씩 무작위로 배치하였다. 사육수는 1 차 모래 여과된 해수를 다시 카트리지필터가 장착된 하우징여과기를 통과시켜 2 차 여과를 한 다음, 1 L/min 의 유수량이 되도록 유지하였다. 광주기는 형광등을 이용하여 12L:12D 조건으로 유지되었고, 전 실험기간 동안 사육수온은 $22\sim 25^{\circ}\text{C}$ 범위로 자연수온에 의존하였다.



Figure 1-3. Feces collection tanks (Guelph system)

나. 지시제 분석

실험사료와 분의 일반성분 분석은 AOAC (1995) 방법에 따라 조회분은 직접회화법(550℃, 6 hr), 단백질은 자동 조단백질분석기(Kejlttec system 2300, Sweden)로 분석했으며, 지방은 Folch et al. (1957)의 방법에 따라 분석하였다. 실험사료와 분에서의 지시제로 사용된 chromium oxide 함량은 Divakaran et al. (2002)의 방법을 토대로 분석하였다. 실험사료 및 분 샘플은 회화로(550℃)에서 3 시간 동안 회화한 후 얻어진 시료를 분석에 사용하였다. Chromium oxide 를 mono-chromate 형태로 산화시키기 위해 샘플 5-10 mg 을 측정하여 glass test tube 에 옮긴 후, perchloric reagent (HClO₄) 4 ml 를 첨가하였다. 시료와 perchloric reagent 가 첨가된 tube 를 가열판에 넣고 300℃에서 20 분간 가열한 후 유리플라스크에 옮겨 3 차 증류수를 이용하여 25 ml 가 되도록 정량하였다. 그 후 분광광도계(Beckman DU-730, USA)를 이용하여 350 nm 에서 흡광도를 측정하여 시료의 chromium oxide 함량을 계산하였다. 실험사료 내 영양소의 소화율은 다음과 같은 식에 의해 계산하였다.

$$\text{ADCs of nutrients in test diets (\%)} = 100 \times [100 - (\% \text{ marker in diet} / \% \text{ marker in feces}) \times (\text{nutrient in feces} / \text{nutrient in diet})]$$

2.1.5. 통계학적 분석

실험사료의 배치는 완전확률계획법(Completely randomized design)을 실시하였고, 성장 및 분석결과는 SPSS (Version 11.0) 프로그램을 이용하여 One-way ANOVA 로 통계 분석되었다. 데이터 값의 유의차는 Tukey's HSD test ($P < 0.05$)로 비교하였다. 데이터는 평균값±표준편차(mean±SD)로 나타내었다. 백분율 데이터는 arcsine 변형값으로 계산하여 통계 분석되었다.

3.1. 결과

8 주간 실시된 넙치의 사양실험 결과는 Table 1-2 에 나타내었다. 성장률, 사료전환효율, 일간성장률, 단백질전환효율에서 돈모분의 대체함량이 증가할수록 감소하는 경향을 보였다. 성장률은 대조구와 비교하여 PBM6, 9, 12, 15 실험구에서 유의적으로 낮은 값을 보였고, PBM3 실험구는 대조구와 비교하였을 때 유의적인 차이를 보이지 않았다.

혈액학적 분석 및 비특이적 면역분석 결과는 각각 Table 1-3 과 Table 1-4 에 나타내었다. 대조구와 실험구 간의 유의적인 차이는 보이지 않았지만, NBT 와 lysozyme 에서 PBM 의 대체함량이 증가할수록 감소하는 경향을 보였다.

사료원료함량에 따른 사료의 외관상소화율 결과는 Table 1-5 에 나타내었다. 외관상소화율 측정결과, 건물소화율과 단백질소화율은 돈모분의 대체함량이 증가할수록 낮아지는 경향을 보였다. 단백질소화율은 PBM15 실험구가 대조구와 비교하였을 때, 유의적으로 낮은 결과값을 보였다. PBM15 를 제외한 PBM3, 6, 9, 12 실험구에서는 대조구와 비교하여 유의적인 차이가 없었지만, 조금씩 낮아지는 경향을 보였다.

Table 1-2. Growth performance of olive flounder (Initial BW: 8.69 g) fed the experimental diets for 8 weeks.

	FBW ¹	WG ²	FCR ³	SGR ⁴	PER ⁵	Survival ⁶ (%)
PBM0	36.1±1.91 ^a	316±22.2 ^a	0.77±0.05 ^a	2.74±0.10 ^a	2.59±0.07 ^a	92.4±4.36
PBM3	34.9±0.86 ^a	301±8.84 ^a	0.76±0.14 ^a	2.67±0.04 ^{ab}	2.70±0.16 ^a	92.4±7.19
PBM6	30.2±1.50 ^b	248±17.3 ^b	0.93±0.03 ^{ab}	2.40±0.10 ^{bc}	2.21±0.71 ^{ab}	89.5±15.7
PBM9	27.4±1.20 ^{bc}	216±14.9 ^{bc}	1.01±0.09 ^b	2.21±0.09 ^c	1.94±0.65 ^{ab}	90.5±11.9
PBM12	27.1±1.40 ^{bc}	212±17.1 ^{bc}	1.06±0.08 ^b	2.19±0.11 ^{cd}	1.87±0.25 ^{ab}	95.2±1.65
PBM15	24.0±1.49 ^c	175±16.7 ^c	1.32±0.08 ^c	1.95±0.12 ^{cd}	1.42±0.25 ^b	89.5±5.95

Mean values of triplicate groups, values are presented as mean ± SD. Values in the same column having different superscript letters are significantly different ($P < 0.05$).

¹FBW: final body weight (g)

²Weight gain (%) = 100 x (final mean body weight – initial mean body weight)/initial mean body weight

³Feed conversion ratio = dry feed fed / wet weight gain

⁴Specific growth rate (%) = [(log_e final body weight - log_e initial body weight)/days] x 100

⁵Protein efficiency ratio = wet weight gain / total protein given

⁶Survival (%)

Table 1-3. Blood parameters of olive flounder fed the six experimental diets for 8 weeks.

	Hematocrit ¹	Hemoglobin ²	AST ³	ALT ⁴
PBM0	22.5±2.60	3.81±0.72	36.9±3.03	14.3±4.28
PBM3	26.2±3.79	4.81±2.03	41.3±1.06	13.9±0.85
PBM6	29.5±6.93	3.21±0.25	35.1±7.27	12.9±1.47
PBM9	23.8±4.07	3.61±0.70	33.5±1.97	11.4±1.42
PBM12	27.2±4.54	3.54±0.08	33.3±3.71	14.9±1.40
PBM15	25.2±3.82	3.07±0.60	30.8±6.27	14.2±3.62

Mean values of triplicate groups are presented as mean ± SD. Values in the same column having different superscript letters are significantly different ($P < 0.05$).

¹Hematocrit (%)

²Hemoglobin (g/dL)

³Aspartate aminotransferase (U/L)

⁴Alanine aminotransferase (U/L)

Table 1-4. Non-specific immune response parameters of olive flounder fed the six experimental diets for 8 weeks.

	NBT ¹	Lysozyme ²	T-Ig ³	MPO ⁴	SOD ⁵
PBM0	0.68±0.13	34.4±13.3	19.4±3.86	1.69±0.73	69.8±3.14
PBM3	0.80±0.27	31.8±14.4	21.5±5.18	1.76±0.64	70.1±26.0
PBM6	0.62±0.16	35.7±11.9	22.1±1.62	1.78±0.68	70.9±21.8
PBM9	0.59±0.06	19.4±9.35	23.8±1.67	1.71±0.64	66.2±13.8
PBM12	0.59±0.04	18.9±1.27	16.2±7.68	1.81±0.68	65.4±15.4
PBM15	0.58±0.08	12.6±8.48	13.9±4.29	1.83±0.71	58.6±18.5

Mean values of triplicate groups are presented as mean ± SD. Values in the same column having different superscript letters are significantly different ($P < 0.05$)

¹Nitro blue tetrazolium activity (absorbance)

²Lysozyme ($\mu\text{g ml}^{-1}$)

³Total immunoglobulin (mg ml^{-1} protein)

⁴Myeloperoxidase activity

⁵Superoxide dismutase (% inhibition)

Table 1-5. Apparent digestibility coefficients (% ADC) of dry matter and crude protein in the test diets determined by fecal collection method (Guelph system) for olive flounder.

	Dry matter	Crude protein
PBM0	78.4±3.53	93.1±1.13 ^a
PBM3	77.0±5.28	92.4±1.74 ^{ab}
PBM6	76.3±1.63	91.5±0.58 ^{ab}
PBM9	75.5±1.10	91.3±0.39 ^{ab}
PBM12	72.5±4.43	90.6±1.52 ^{ab}
PBM15	73.4±2.62	89.7±1.02 ^b

Mean values of triplicate groups are presented as mean ± SD. Values in the same column having different superscript letters are significantly different ($P < 0.05$).

[실험-2]

2.2. 재료 및 방법

2.2.1. 실험사료

실험사료는 어분을 기초로 한 대조사료(Control, PBM0)와 어분을 가수분해물인 돈모분으로 3.0, 6.0, 9.0, 12.0, 15.0% (PBM3, PBM6, PBM9, PBM12, PBM15)의 비율로 첨가한 6 개의 실험사료와, 돈모분 9.0% 와 Taurine 1.0% (PBM9+Taurine)를 첨가하여 총 7 개의 실험사료를 제작하였다. 실험-1 의 실험결과를 바탕으로 mono-calcium phosphate (MCP)를 모든 실험사료에 첨가하였고, taurine 실험구를 추가하여 제작하였다. 실험사료 제작에 사용된 사료조성표와 일반성분분석 결과값은 Table 2-1 에 나타내었다. 실험사료는 사료원들을 혼합기에 넣어 혼합 후, 어유를 첨가한 뒤 사료원 총 중량의 약 15%에 해당하는 증류수를 첨가하여 혼합하였다. 혼합반죽물은 펠렛성형기(SP-50, Gungang ENG, Daegu, Korea)를 이용하여 알맞은 크기(2-3 mm)로 성형하였다(Fig. 1-1). 성형된 사료는 건조기로 24 시간 건조시킨 후 사료공급 전까지 -20°C 에 냉동 보관하여 사용하였다.

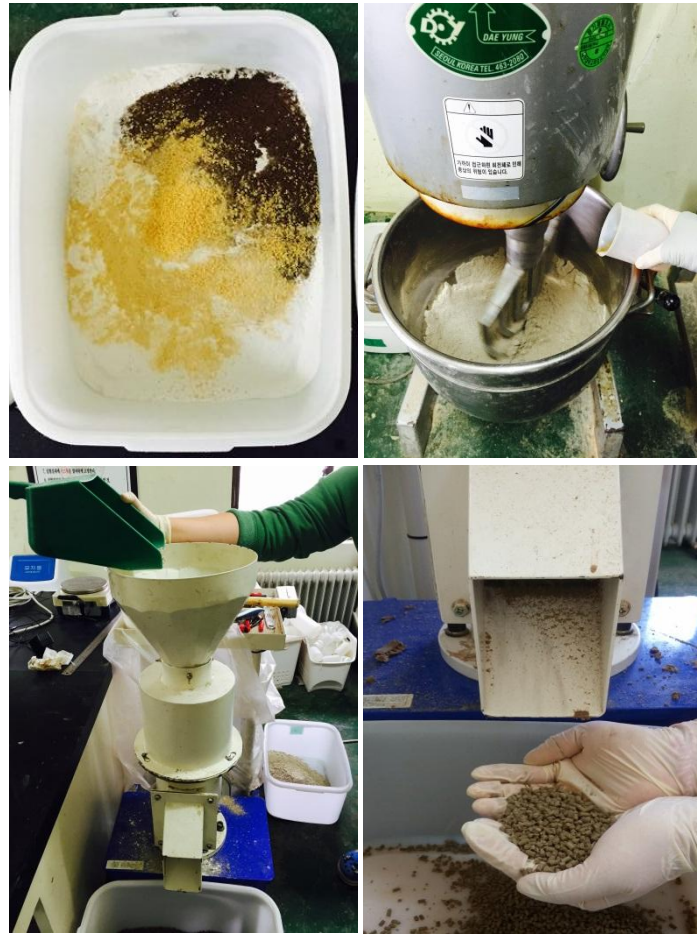


Figure 2-1. Preparation of experimental diets

Table 2-1. Formulation and proximate analysis of seven experimental diets for olive flounder (% , dry matter basis).

Ingredients	Experimental diets						
	PBM0	PBM3	PBM6	PBM9	PBM12	PBM15	PBM9+ Taurine
Chile fish meal	48.0	44.4	40.8	37.2	33.6	30.0	37.2
Pig bristle meal	0.00	3.00	6.00	9.00	12.0	15.0	9.00
Soybean meal	8.00	8.00	8.00	8.00	8.00	8.00	8.00
Corn gluten meal	8.00	8.00	8.00	8.00	8.00	8.00	8.00
Wheat flour	26.5	26.5	26.5	26.5	26.5	26.5	26.5
Fish oil	4.00	4.40	4.80	5.20	5.60	6.00	5.20
Mineral Mix ¹	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
Vitamin Mix ²	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
Starch	3.00	2.01	2.02	2.03	2.04	2.05	1.03
Choline chloride	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50
Lysine	0.00	0.10	0.20	0.30	0.40	0.50	0.30
Methionine	0.00	0.03	0.06	0.09	0.12	0.15	0.09
Histidine	0.00	0.05	0.10	0.15	0.20	0.25	0.15
MCP	0.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
Taurine	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	1.00
<i>Proximate composition</i>							
Moisture	6.84	7.00	7.16	7.53	7.15	8.03	7.82
Crude protein	49.1	49.3	49.9	50.1	49.5	49.7	50.4
Crude lipid	9.4	9.6	9.8	9.9	10.1	10.3	9.9
Ash	10.7	7.39	10.7	10.4	10.4	10.5	10.5

¹ Mineral premix (g kg⁻¹ of mixture): MgSO₄·7H₂O, 80.0; NaH₂PO₄·2H₂O, 370.0; KCl, 130.0; Ferric citrate, 40.0; ZnSO₄·7H₂O, 20.0; Ca-lactate, 356.5; CuCl, 0.2; AlCl₃·6H₂O, 0.15; Na₂Se₂O₃, 0.01; MnSO₄·H₂O, 2.0; CoCl₂·6H₂O, 1.0.

² Vitamin premix (g kg⁻¹ of mixture): L-ascorbic acid, 121.2; DL- α tocopheryl acetate, 18.8; thiamin hydrochloride, 2.7; riboflavin, 9.1; pyridoxine hydrochloride, 1.8; niacin, 36.4; Ca-D-pantothenate, 12.7; myo-inositol, 181.8; D-biotin, 0.27; folic acid, 0.68; p-aminobezoic acid, 18.2; menadione, 1.8; retinyl acetate, 0.73; cholecalciferol, 0.003; cyanocobalamin, 0.003.

2.2.2. 실험어 및 사육관리

실험에 사용된 넙치 치어는 제주특별자치도 서귀포시 성산읍에 위치한 대형수산에서 구입하여 제주대학교 소속 해양과학연구소로 이송하였다. 실험어류는 1 주 동안 시판 배합사료를 공급하면서 실험환경에 적응할 수 있도록 순치하였다. 예비사육 후 넙치치어 (초기평균무게: 10.4 g)는 총 21 개의 120L PP (Polypropylene) 수조에 30 마리씩 무작위로 배치하였다. 사육수는 모래여과해수를 사용하여 2-3 L/min 의 유수량이 되도록 조절하였고 모든 실험수조에 용존산소 유지를 위하여 에어스톤을 설치하였다. 사육수온은 겨울철 자연수온(11~14℃)에 의존하였으며 광주기는 형광등을 이용하여 12L:12D 로 유지하였다. 실험사료 공급은 1 일 3 회(08:30, 13:00, 18:00)에 걸쳐 반복공급하였다.



Figure 2-2. Steps showing for checking growth performance

2.2.3. 조사항목

가. 성장률 측정

성장률은 다음과 같은 계산식으로 측정하였다. 성장률(WG, %) = $100 \times (\text{final mean body weight} - \text{initial mean body weight}) / \text{initial mean body weight}$; 사료효율(FCR) = $\text{dry feed fed} / \text{wet weight gain}$; 단백질이용효율(PER) = $\text{wet weight gain} / \text{total protein given}$; 일간성장률(SGR, %) = $[(\log_e \text{ final body weight} - \log_e \text{ initial body weight}) / \text{days}] \times 100$.

나. 실험사료 일반성분 분석

실험사료의 일반성분 분석은 AOAC (1995) 방법에 따라 수분은 상압가열건조법(125°C, 3 hr), 조회분은 직접회화법(550°C, 12 hr), 단백질은 자동조단백질 분석기(Kejltac system 2300, Sweden)로 분석하며, 지방은 Folch et al. (1957)의 방법에 따라 Soxhlet 추출장치(Soxhlet heater system C-SH6, Korea)를 이용하여 분석하였다.

다. 혈액 분석 및 비특이적 면역분석

8 주간의 사료공급 실험 후, 각 수조당 6 마리의 어류를 무작위로 선별하였다. 2-phenoxyethanol 용액(100 mg/L)으로 마취시켜 일회용주사기를 사용하여 미부정맥에서 혈액을 채혈하였다. 수조당 3 마리 어류의 혈액은 헤파린 처리하여 ht, hemoglobin 및 NBT activity 측정을 위해 사용되었다. 분석 후, 남은 혈액은 AST 분석을 위해 원심분리기를 이용하여 5,000 rpm 으로 10 분간 원심분리하여 혈장(plasma)을 분리하였다. 나머지 3 마리 어류의 혈액은 면역분석 항목인 lysozyme activity, ig, MPO 분석을 위해 5,000 rpm 으로 10 분간 원심분리하여 혈청(serum)을 분리하였다.

분석방법은 실험-1 과 동일하게 실시하였다.

라. 조직학적 분석

조직형태학적 분석을 위해 각 수조당 실험어류 3 마리를 무작위로 선별하여 2-phenoxyethanol (200 ppm) 용액으로 마취 시킨 후, 각 어류의 전장, 체중, 간중량 및 장 중량을 측정하여 다음의 항목을 분석 계산하였다:

Condition factor (CF) = $100 \times \text{fish weight (g)} / \text{fish length}^3 \text{ (cm)}$;

Hepatosomatic index (HSI) = $100 \times (\text{liver weight} / \text{body weight})$;

Viscerasomatic index (VSI) = $100 \times (\text{viscera weight} / \text{body weight})$.

조직이 부착된 슬라이드는 일반적인 조직학적 관찰을 위해 harris hematoxylin 과 0.5% eosin 으로 염색하였고, 점액분비를 하는 goblet cells (GC)를 관찰하기 위하여 pH 2.5 인 alcian blue (AB)와 periodic acid Schiff (PAS)로 염색 염색한 후 광학 현미경(Olympus CKX41)으로 표본을 관찰하였다.

2.3.4. 통계학적 분석

실험사료의 배치는 완전확률계획법(Completely randomized design)을 실시하였고, 성장 및 분석결과는 SPSS (Version 11.0) 프로그램을 이용하여 One-way ANOVA 로 통계 분석되었다. 데이터 값의 유의차는 Tukey's HSD test ($P < 0.05$)로 비교하였다. 데이터는 평균값 \pm 표준편차(mean \pm SD)로 나타내었다. 백분율 데이터는 arcsine 변형값으로 계산하여 통계 분석하였다.

3.2. 결과

8 주간의 사양실험 결과 성장률, 사료전환효율, 일간성장률, 단백질전환효율에서 유의적인 차이를 보였다(Table 2-2). PBM3, 6, 9, 12, 9+Taurine 은 대조구와 유의적인 차이가 없었으며, PBM15 실험구의 경우 대조구와 비교하여 유의적으로 낮은 성장 및 사료효율을 보였다. PBM9 와 PBM12 의 경우, 8 주 동안 유의적인 차이가 없었지만, 장기간의 사양시험이 이루어진다면 MCP 를 첨가 하여도 실험어의 성장과 사료효율이 저하될 수 있을 것으로 사료된다. 생존율에서는 전 실험구간에 유의적인 차이는 없었다.

혈액학적 분석 및 비특이적 면역분석 결과는 각각 Table 2-3 과 Table 2-4 에 나타내었다. 혈액학적 분석 중 AST 에서 PBM9 실험구가 대조구와 비교하여 유의적으로 높은 값을 보였다. 면역분석 결과, lysozyme 에서 PBM9 가 대조구와 비교하여 유의적으로 높은 값을 보였다. 대조구와 실험구간의 유의적인 차이는 보이지 않았다. Ht 과 hemoglobin 는 대체함량이 증가할수록 감소하는 경향을 보였다.

비만도(Condition factor, CF), 간중량지수(Hepatosomatic index, HSI)에서는 유의적인 차이는 없었으나 PBM9가 가장 높은 값을 보였다. 장 중량 지수(Viscerasomatic index, VSI)는 PBM9가 유의적으로 높은 값을 보였다. 배상세포 수 결과 PBM9, 12, 15가 대조구와 비교하여 유의적으로 낮은 값을 보였다.

Table 2-2. Growth performance of olive flounder (Initial BW: 10.4 g) fed the seven experimental diets for 8 weeks.

	FBW ¹	WG ²	FCR ³	SGR ⁴	PER ⁵	Survival (%)
PBM0	22.3±2.96 ^a	114±28.5 ^a	1.54±0.34 ^a	1.51±0.26 ^a	1.37±0.33 ^a	92.2±10.7
PBM3	22.5±1.61 ^a	117±15.4 ^a	1.53±0.29 ^a	1.54±0.14 ^a	1.36±0.23 ^a	97.8±3.85
PBM6	22.0±0.82 ^a	112±7.78 ^a	1.54±0.17 ^a	1.50±0.07 ^a	1.32±0.15 ^a	96.7±5.77
PBM9	20.2±0.16 ^a	93.8±1.50 ^a	1.80±0.04 ^a	1.32±0.02 ^a	1.11±0.02 ^{ab}	83.3±20.8
PBM12	19.6±0.12 ^{ab}	89.0±1.11 ^{ab}	1.94±0.04 ^{ab}	1.27±0.01 ^{ab}	1.04±0.02 ^{ab}	100±0.00
PBM15	16.9±0.63 ^b	63.0±5.94 ^b	2.69±0.16 ^b	0.98±0.07 ^b	0.75±0.04 ^b	93.3±5.77
PBM9+ Taurine	20.8±0.51 ^a	99.5±5.09 ^a	1.65±0.11 ^a	1.38±0.05 ^a	1.21±0.08 ^{ab}	97.8±3.85

Mean values of triplicate groups, values are presented as mean ± SD. Values in the same column having different superscript letters are significantly different ($P < 0.05$).

¹FBW: final body weight (g)

²Weight gain (%) = 100 x (final mean body weight – initial mean body weight)/initial mean body weight

³Feed conversion ratio = dry feed fed / wet weight gain

⁴Specific growth rate (%) = $[(\log_e \text{ final body weight} - \log_e \text{ initial body weight})/\text{days}] \times 100$

⁵Protein efficiency ratio = wet weight gain / total protein given

⁶Survival (%)

Table 2-3. Blood parameters of olive flounder fed the seven experimental diets for 8 weeks.

	Hematocrit ¹	Hemoglobin ²	AST ³
PBM0	25.2±1.02	2.68±1.22	44.4±9.66 ^a
PBM3	25.1±3.56	2.61±0.72	56.8±6.79 ^a
PBM6	23.2±1.17	2.20±0.58	43.7±6.58 ^a
PBM9	22.9±2.04	2.62±0.38	81.5±10.1 ^b
PBM12	22.1±1.68	2.04±0.41	58.6±9.32 ^{ab}
PBM15	20.2±2.83	1.96±0.21	50.2±6.90 ^a
PBM9+ Taurine	20.2±0.96	1.91±0.50	61.7±3.00 ^{ab}

Mean values of triplicate groups are presented as mean ± SD. Values in the same column having different superscript letters are significantly different ($P < 0.05$).

¹Hematocrit (%)

²Hemoglobin (g/dL)

³Aspartate aminotransferase (U/L)

Table 2-4. Non-specific immune response parameters of olive flounder fed the seven experimental diets for 8 weeks.

	NBT ¹	Lysozyme ²	Ig ³	MPO ⁴
PBM0	0.46±0.15	65.1±9.21 ^{ab}	15.3±2.86	1.79±0.37
PBM3	0.40±0.10	62.2±7.70 ^{ab}	20.5±1.76	2.13±0.34
PBM6	0.49±0.12	70.7±2.03 ^a	17.9±1.31	1.30±0.41
PBM9	0.49±0.15	73.3±5.47 ^a	15.0±5.04	1.22±0.38
PBM12	0.44±0.10	71.4±5.97 ^a	15.5±2.21	1.47±0.41
PBM15	0.50±0.15	51.1±11.1 ^b	15.8±2.39	1.39±0.60
PBM9+ Taurine	0.45±0.10	68.2±4.21 ^a	17.8±4.51	1.59±0.45

Mean values of triplicate groups are presented as mean ± SD. Values in the same column having different superscript letters are significantly different ($P < 0.05$)

¹Nitro blue tetrazolium activity (absorbance)

²Lysozyme ($\mu\text{g ml}^{-1}$)

³Immunoglobulin (mg ml^{-1} protein)

⁴Myeloperoxidase activity

Table 2-5. Visceral parameters and goblet cell of olive flounder fed the seven experimental diets for 8 weeks.

	CF ¹	VSI ²	HSI ³	GC ⁴
PBM0	0.83±0.10	4.80±0.55 ^a	0.85±0.24	28±7.02 ^a
PBM3	0.80±0.05	5.73±0.66 ^{ab}	0.74±0.15	21±2.12 ^{ab}
PBM6	0.86±0.06	5.25±0.40 ^{ab}	0.94±0.42	27±5.59 ^a
PBM9	0.93±0.08	5.98±0.59 ^b	1.16±0.20	15±2.65 ^b
PBM12	0.85±0.06	5.59±0.47 ^{ab}	0.95±0.32	12±1.00 ^b
PBM15	0.85±0.16	5.78±0.53 ^b	1.02±0.26	10±2.65 ^b
PBM9+ Taurine	0.83±0.05	5.68±0.56 ^{ab}	0.95±0.10	20±4.88 ^{ab}

Values are mean of triplicate groups and presented as mean ± S.D. Values with different superscripts in the same row are significantly different ($P < 0.05$).

¹Conditional factor; CF= (Fish weight/ Fish length³)*100 (g cm⁻³)

²Viscera index; VSI= (Viscera weight/Fish weight)*100

³Hepatosomatic index; HSI= (Liver weight/ Fish weight)*100

⁴Goblet cell; GC

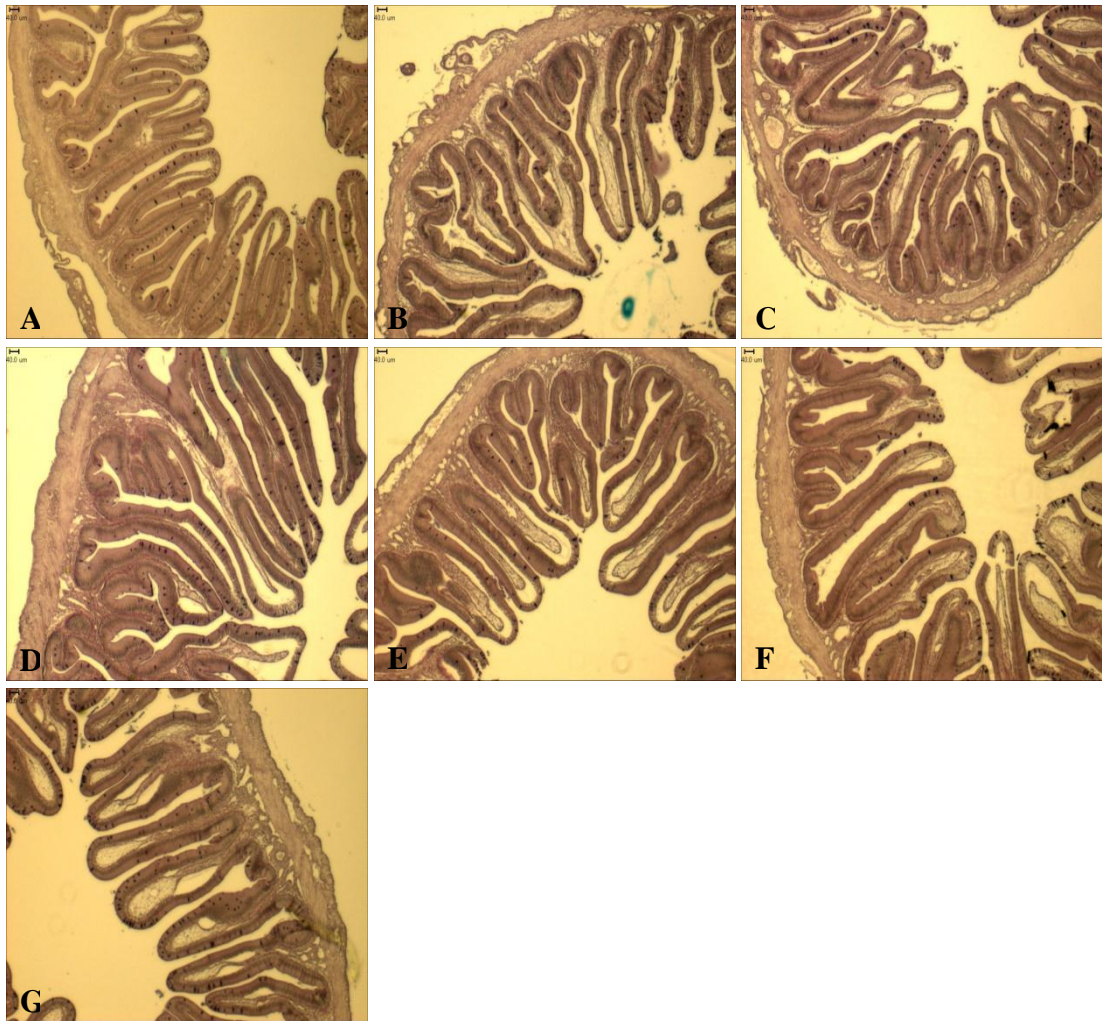


Figure 2-3. Changes in number of goblet cells in the intestine of olive flounder fed the seven experiment diets for 8 weeks; Control (A), PBM3 (B), PBM6 (C), PBM9 (D), PBM 12 (E), PBM15 (F) and PBM 9+Taurine (G)

[실험-3]

2.3. 재료 및 방법

2.3.1. 실험사료

실험사료원료의 일반 성분, 아미노산 및 지방산 조성은 Table 3-1 과 3-2 에 나타내었다.

사료조성표는 Table 3-3 에 나타내었으며, 멸치어분을 주단백원으로 한 대조사료(PBM0)와 돈모분을 각각 4.0, 8.0, 12.0, 16.0, 20.0% (PBM4, PBM8, PBM12, PBM16, PBM20)의 비율로 첨가하여 총 6 개의 실험구로 구성하였다. 실험사료는 원료들을 혼합한 후, 사료원료 총 중량의 약 30%에 해당하는 증류수를 첨가하여 제조기로 압출 성형하여 실온에서 24 시간 건조하였다. 건조된 사료는 sieve 를 이용해 실험어가 섭이 가능한 크기로 선별한 후, 냉장 보관하여 사용하였다.

Table 3-1. Proximate composition and amino acid profile of ingredients used in trial.

	Ingredients			
	Fish meal	Soybean meal	Wheat flour	Pig bristle meal
<i>Proximate analysis (% DM)</i>				
Crude protein	70.6	55.22	19.3	79.0
Crude lipid	9.5	1.58	3.9	2.7
Ash	16.4	6.82	2.2	14.2
<i>Essential amino acids (% in protein)</i>				
Arg	6.1	7.6	5.7	6.3
His	2.8	2.8	2.9	2.3
Ile	4.1	3.3	2.3	4.4
Leu	7.6	7.5	6.0	8.5
Lys	8.5	6.5	3.7	9.9
Met+Cys	4.8	2.4	2.8	3.9
Phe+Tyr	8.3	8.2	6.8	8.5
Thr	4.8	4.4	3.5	4.6
Val	5.1	3.3	3.2	4.9

Table 3-2. Major fatty acid composition (% of total fatty acids) of dietary lipid sources.

	Lipid sources		
	Squid liver oil	Soybean oil	Linseed oil
C14:0	2.6	0.1	0.1
C16:0	13.5	13.4	6.1
C16:1	4.3	-	-
C18:0	1.7	1.5	1.2
C18:1n-9	16.6	13.0	15.2
C18:2n-6	1.0	63.7	19.1
C18:3n-3	1.0	8.3	57.7
C20:1n-9	11.1	-	0.6
C20:2n-6	1.7	-	-
C20:3n-3	0.3	-	-
C20:4n-6	0.6	-	-
C20:5n-3	11.3	-	-
C22:1n-9	7.4	-	-
C22:3n-3	0.6	-	-
C22:5n-3	1.2	-	-
C22:6n-3	25.1	-	-

Table 3-3. Formulation and composition of the six experimental diets for common carp (% dry matter basis).

Ingredients	Experimental diets					
	PBM0	PBM4	PBM8	PBM12	PBM16	PBM20
Fish meal ¹	35.0	30.0	25.0	20.0	15.0	10.0
Dehulled soybean	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0
Wheat flour	40.0	41.5	43.0	44.5	46.0	47.5
Pig bristle meal	0.00	4.00	8.00	12.0	16.0	20.0
Fish oil	0.00	0.40	0.80	1.20	1.60	2.00
Soybean +linseed oil	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00
Kelp meal	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00
cellulose	5.30	4.40	3.50	2.60	1.70	0.80
Vitamin premix ²	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
Mineral premix ³	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
Stay-C (50%)	0.30	0.30	0.30	0.30	0.30	0.30
Vitamin E (25%)	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20
Choline salt(50%)	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20
Cr ₂ O ₃	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
<i>Nutrient contents (% DM)</i>						
Crude protein	38.2	38.0	38.1	37.9	37.8	37.3
Crude lipid	7.3	7.8	8.1	8.1	8.3	7.6
Ash	9.8	9.5	9.2	9.0	8.9	8.7

¹Fish meal: Anchovy, Chile

²Vitamin premix contained the following amount which were diluted in cellulose (g/kg premix): DL-tocopheryl acetate, 14.5 thiamin hydrochloride, 2.1 riboflavin, 7.0 pyridoxine hydrochloride, 1.4 niacin, 27.8 Ca-D-pantothenate, 9.7 myo-inositol, 139.1 D-biotin, 0.21 folic acid, 0.5 p-aminobenzoic acid, 13.9 menadione, 1.4 retinyl acetate, 0.6 cholecalciferol, 0.002 cyanocobalamin, 0.003.

³Mineral premix contained the following ingredients (g/kg premix): MgSO₄ ·7H₂O, 80; NaH₂PO₄ ·2H₂O, 370; KCl, 130; Ferric citrate, 40; ZnSO₄ ·7H₂O, 20; Ca-lactate, 356.5; CuCl, 0.2; AlCl₃ ·6H₂O, 0.15; KI, 0.15; Na₂Se₂O₃, 0.01; MnSO₄ ·H₂O, 2; CoCl₂ ·6H₂O, 1.

2.3.2. 실험어 및 사육관리

충청북도에 위치한 양어장에서 잉어 치어를 구입하여 50 L 사각 수조에 수용하여 시판 배합사료를 공급하면서 실험환경에 적응할 수 있도록 순치하였다. 예비사육 후 실험용으로 3.7 g 전후의 어체를 선별하여 실험수조(50 L 수조) 18 개에 각각 30 마리씩 배치하여 8 주간 사육실험을 진행 하였다. 수조 내 여과시스템은 반순환 여과방식으로 2 L/min 의 물이 순환되도록 수중펌프를 사용하여 공급하였다. 1 일 전체 사육수의 20%를 환수 하였으며, 사육수온은 24℃로 유지하였다. 각 수조마다 에어스톤으로 산소를 공급하였다. 실험사료는 1 일 2 회(09:00, 17:00) 공급하였다.

2.3.3. 조사항목

어체측정은 실험시작과 실험종료일에 실시하였고, 측정 전 24h 절식시킨 후 MS-222 100 ppm 농도의 해수를 이용해 마취시켜 전체 무게를 측정하였다. 각 실험수조에서 임의로 10 마리씩 전어체 일반성분 분석용으로 냉동보관(-30℃)하였다.

혈액생화학적 분석을 위해 각 실험구당 실험어를 15 마리씩 무작위로 선정하여 헤파린 주사액이 처리된 1 ml 주사기를 사용하여 실험어의 미부 혈관에서 채혈하였으며, 채혈한 혈액은 7,500 rpm 에서 10 분간 원심 분리하였으며, 분리된 혈장은 냉동보관(-70℃)하여 사용하였다. 혈액분석은 혈액전용분석기(DRI-CHEM NX500i, FUJIFILM)를 사용하여 총 7 가지 항목(total protein, cholesterol, glutamic oxaloacetic transaminase, glutamic pyruvic transaminase, alkaline phosphatase, triglyceride, bilirubin, albumin)에 대한 분석을 실시하였다.

2.3.4. 외관상소화율 측정

소화율 측정은 사육실험이 끝난 후 실험어를 실험구별로 분 수집장치에 옮겨, 산화크롬을 1% 첨가한 실험사료로 10 일간 예비사육 한 후 7 일간 분을 수집하였다. 오후 5 시경에 분 수집장치내의 사료 찌꺼기와 분을 완전히 제거하여, 다음날 09:00-09:30 에 분 수집통에 침전된 분을 수집하였다. 수집된 분은 동결건조하여 지시제(산화크롬) 및 일반성분에 사용하였다. 산화크롬은 Furukawa and Tsukahara (1966)의 방법에 따라 분석하였고, 수집된 분과 실험사료의 함량을 이용하여 소화율을 계산하였다.

2.3.5 전어체 분석 및 사료성분분석

실험 종료 후 24 시간 절식시킨 각 실험수조의 잉어 치어를 분석을 위해 냉동보관(-75℃)하였다. 실험 사료 및 어체의 일반 성분은 표준 방법(AOAC, 1995)에 따라 분석하였다. 조단백질(N×6.25)은 Auto Kjeldahl System (Buchi B-324/435/412, Switzerland)을 사용하여 분석하였고, 조지질은 ether 를 사용하여 추출하였으며, 수분은 105℃ dry oven 에서 6 시간 동안 건조 후 측정하였고, 회분은 600℃에서 4 시간 동안 반응시켜 정량 하였다.

아미노산분석은 시료를 6 N HCl 로 110℃ sand bath 상에서 24 시간 가수분해시켰다. 가수분해된 시료는 감압농축하여 pH 2.20 Na-citrate buffer 를 사용하였고, 아미노산 자동분석기(HITACHI Model 835-50 (HITACHI Resin # 2619 컬럼(2.6 x 150 mm))로 분석하였다. Tryptophan 은 비색법으로 분석하였다.

지방산 분석을 위한 총지질은 Folch et al. (1957)의 방법을 사용하여 추출하였다. 분리된 지질에 benzene 2 ml 와 14% BF₃-methanol 2 ml 를 가하고 80℃ water bath 에서 30 분간 가열하여 methylation 시켰다. SP-2560 capillary column (100

m×0.25 mm i.d., film thickness 0.20 μm; Supelco, Bellefonte, PA, USA)이 부착된 gas liquid chromatography (Clarus 600, GC, PerkinElmer, Shelton, CT, USA)로 분석하였다.

2.3.6. 통계학적 분석

성장 및 분석결과는 SPSS for Window (SPSS Inc., 1993) program 으로 ANOVA-test 를 실시하여 Duncan`s multiple range test (Duncan, 1955)로 평균간의 유의성($P<0.05$)을 검정하였다.

3.3. 결과

8 주간의 사육실험 결과는 Table 3-4 에 나타내었다. 성장률은 PBM8, 12, 16, 20 실험구가 대조구보다 유의적으로 낮았다. 사료효율은 PBM16, 20 실험구가 대조구보다 유의적으로 낮았고, PBM20 실험구가 PBM4, 8, 12 실험구보다 유의적으로 낮은 효율을 보였다.

실험어의 전어체 분석결과는 Table 3-5 에 나타내었다. 조단백질함량은 PBM4 실험구가 PBM12 실험구보다 유의적으로 높았다. 조지질함량은 모든 실험구간 유의적인 차이를 보이지 않았으며, 회분함량은 PBM4 실험구가 PBM0, 12, 20 실험구 보다 유의적으로 높았다.

혈액학적 분석 결과는 Table 3-6에 나타내었다. Cholesterol, triglyceride 및 albumin은 실험구간 유의적인 차이는 없었다. Total protein은 PBM16 실험구가 PBM20보다 유의적으로 높았고, ALT와 bilirubin은 PBM16실험구가 대조구와 비교하여 유의적으로 높았다.

돈모분 첨가에 따른 실험사료의 외관상소화율 결과는 Table 3-7에 나타내었다. 건물 소화율은 PBM4, 8 실험구가 PBM 12, 16, 20 실험구보다 유의적으로 높았다. 조단백질 소화율은 PBM0, 4, 8 실험구가 다른 실험구보다 유의적으로 높았다.

Table 3-4. Growth performance of common carp (Initial BW: 3.7 g) fed the experimental diets for 8 weeks.

	WG ¹	FE ²	DFI ³	DPI ⁴	PER ⁵	Survival (%)
PBM 0	165±4.27 ^a	71.0±3.87 ^a	2.1±0.1 ^a	0.81±0.04 ^a	1.9±0.10 ^a	99±1.0
PBM 4	124±6.28 ^{ab}	59.4±3.36 ^{ab}	2.1±0.05 ^a	0.82±0.02 ^a	1.6±0.09 ^{bc}	100±0.00
PBM 8	115±2.98 ^{bc}	58.8±2.17 ^{ab}	2.1±0.07 ^a	0.79±0.03 ^a	1.5±0.06 ^{bc}	100±0.00
PBM 12	116±17.0 ^{bc}	62.1±2.37 ^{ab}	1.8±0.06 ^b	0.67±0.02 ^b	1.6±0.06 ^{ab}	93±6.6
PBM 16	85.7±6.21 ^{bc}	50.4±4.27 ^{bc}	2.0±0.07 ^a	0.75±0.03 ^{ab}	1.3±0.11 ^{cd}	100±0.00
PBM 20	75.9±9.42 ^c	42.0±4.13 ^c	2.2±0.02 ^a	0.81±0.01 ^a	1.1±0.11 ^d	100±0.00

Mean values of triplicate groups, values are presented as mean ± SD. Values in the same column having different superscript letters are significantly different ($P < 0.05$).

¹Weight gain=(final fish wt.-initial fish wt.)×100/initial fish wt.

²Feed efficiency=fish wet weight gain×100/ feed intake (dry matter).

³Daily feed intake=feed intake (dry matter)×100/[(initial fish wt.+final fish wt.+dead fish wt.)/2×days fed].

⁴Daily protein intake=protein intake×100/[(initial fish wt.+final fish wt.+dead fish wt.)×days reared/2].

⁵Protein efficiency ratio = fish wet weight gain/protein intake.

⁶Survival (%)

Table 3-5. Whole body composition of common carp (IBW: 3.7 g) fed the experimental diets for 8 weeks(% , dry matter basis).

Diets	Moisture	Crude protein	Crude lipid	Ash
PBM0	74.20 ±2.4	13.10 ± 0.2 ^{ab}	7.35 ±1.0	2.40 ±0.1 ^{ab}
PBM4	73.95 ±0.5	13.95 ±0.4 ^b	7.20 ±0.2	2.65 ±0.05 ^c
PBM8	75.80 ±2.6	12.90 ±0.9 ^{ab}	7.20 ±1.7	2.45 ±0.05 ^{bc}
PBM12	77.15 ±0.6	12.15 ±0.2 ^a	8.25 ±1.2	2.20 ±0.10 ^a
PBM16	74.15 ±0.0	13.40 ±0.5 ^{ab}	9.05 ±0.1	2.50 ±0.00 ^{bc}
PBM20	75.50 ±0.3	12.50 ±0.0 ^{ab}	7.70 ±0.9	2.40 ±0.00 ^{ab}

Mean values of triplicate groups, values are presented as mean ± SD. Values in the same column having different superscript letters are significantly different ($P < 0.05$).

Table 3-6. Blood parameters of common carp fed the six experimental diets for 8 weeks.

	Total Protein ¹	Cholesterol ²	ALT ³	Triglyceride ⁴	Bilirubin ⁵	Albumin ⁶
PBM0	2.7±0.05 ^{ab}	149±0.0	9.0±0.0 ^a	164±7.0	0.6±0.00 ^a	0.5±0.00
PBM4	2.9±0.15 ^{ab}	167±12	13.5± 3.5 ^{ab}	158±9.0	1.1±0.35 ^{ab}	0.7±0.15
PBM8	2.8±0.30 ^{ab}	165±24	11.0±1.0 ^{ab}	174±9.5	1.0± 0.05 ^{ab}	0.8±0.25
PBM12	2.8±0.00 ^{ab}	144±20	14.0±3.0 ^{ab}	145±6.5	1.1±0.20 ^{ab}	0.8±0.15
PBM16	3.1±0.00 ^b	163±2.5	17.0±1.0 ^b	144±12	1.4±0.00 ^b	0.8±0.05
PBM20	2.5±0.00 ^a	132±11	8.0±2.0 ^a	149±13	0.9±0.05 ^{ab}	0.5±0.10

Mean values of triplicate groups, values are presented as mean ± SD. Values in the same column having different superscript letters are significantly different ($P < 0.05$).

¹Total protein (g/dl)

²Cholesterol (mg/dl)

³ALT (U/L)

⁴Triglyceride (mg/dl)

⁵Bilirubin (mg/dl)

⁶Albumin (g/dl)

Table 3-7. Apparent digestibility coefficients (% ADC) of dry matter and crude protein in the test diets determined by fecal collection method (Guelph system) for common carp.

Diets	Dry matter	Crude protein
PBM0	62.0±0.2 ^c	77.2±0.1 ^d
PBM4	66.4±0.4 ^d	78.1±0.5 ^e
PBM8	69.9±0.1 ^e	80.0±0.1 ^f
PBM12	54.9±0.2 ^a	68.2±0.2 ^c
PBM16	54.9±0.2 ^a	67.3±0.4 ^b
PBM20	55.9±0.2 ^b	66.4±0.4 ^a

Mean values of triplicate groups, values are presented as mean ± SD. Values in the same column having different superscript letters are significantly different ($P < 0.05$).

4. 고찰

실험-1의 성장실험 결과, 넙치 사료 내 제한아미노산(lysine, methionine, histidine)을 첨가하여 어분의 부분대체제로써 가수분해 돈모분의 이용 가능성을 보여주었다. 실험결과 돈모분은 어분단백질에 약 7.5%의 대체 가능성을 보였다. 돈모분과 유사한 우모분을 이용한 이전 연구에서는 넙치 사료 내 어분단백질에 약 26% 대체 가능성을 보였다(Kikuchi et al., 1994). 두 실험 모두 비슷한 크기의 치어기 넙치를 사용하였지만 Kikuchi et al. (1994)의 대조 사료 내 어분함량은 약 80%, 조단백질 함량은 55%로 본 연구의 실험사료보다 고단백 사료이기 때문에 더 높은 대체 함량의 결과를 얻은 것으로 사료된다. 외관상소화율 분석 결과 돈모분의 대체 함량이 증가할수록 조단백질 소화율이 유의적으로 감소하는 것으로 보아, 돈모분의 함량이 증가 함에 따라 넙치의 소화율에 부정적인 영향을 끼친 것으로 사료 된다.

실험-2의 성장실험 결과 실험-1과 비교하여 사료 내 돈모분의 첨가 함량이 2배 증가된 약 15%로 대체 가능성을 보였다. 이는 실험-1과 달리 MCP의 첨가로 인해 대체 함량이 증가했을 것으로 사료된다. 인(phosphorus)은 어류 성장에 필수적인 무기원소로 알려져 있다(Jobling, 2011). 인은 칼슘과 더불어 조직(뼈, 골격, 비늘, 이빨)의 구성 주성분이다. 칼슘은 구조적인 기능 외에도, 척추동물의 혈액응고, 근육 수축, 신경전달, 세포막 유지 및 세포막의 인지질과 결합하여 세포의 영양소 흡수를 조절한다(Lall, 2002). 인은 nucleotides, 인지질, 조효소, DNA, RNA와 같은 다양한 유기 인산염의 구성성분이다. 어류 사료 내 인의 결핍은 정상적인 대사를 저해하여 성장 및 사료 전환효율을 감소 시킨다.

Schäfer et al. (1995)은 적수온기에 잉어를 대상으로 MCP를 0.8% 첨가하였을 때, 유의적으로 높은 성장률을 보였다. 이러한 결과로 보았을 때, 적절한 MCP

첨가는 성장 결과의 영향을 주며 실험-2 또한, 적절한 MCP 첨가의 효과를 보인 것으로 판단된다.

어류의 간은 영양소 저장, 생식, 혈액순환, 질소 이화작용, 해독을 하는 중요한 기관 중 하나 이다(Brusle and Anadon, 1996). AST와 ALT는 간세포 내에 존재하는 효소로 간 손상 시 혈액으로 배출되어 혈중수치가 증가하게 된다. 실험-2의 혈액학적 분석 결과, AST에서 PBM9 실험구가 유의적으로 높은 값을 보였다.

장중량지수, 간중량지수와 같은 장기중량 지수는 어류의 영양상태 또는 에너지 상태를 나타내는 지표로 사용된다(Adams et al., 1996). 실험-2의 간중량지수 분석 결과, 모든 실험구간에 유의적인 차이는 없었으나, AST 분석결과와 유사한 경향을 보이고 있다. 이는 간 손상에 의한 간의 비대로 간중량지수가 증가한 것으로 예측할 수 있으며, 어분단백질 함량의 약 30%(PBM 9) 이상 대체 할 경우 간 손상에 의한 성장 저하가 발생할 것으로 사료된다.

배상세포는 장기뿐만 아니라 표피, 아가미, 위 등 각 기관에 분포하고 있으며, 유허제 역할 및 점액을 분비하여 소화 효소에 의한 손상으로부터 소화기관을 보호하는 역할을 한다(Allen et al., 1986; Ellis, 2001). 장 내 상피조직에 위치한 배상세포는 점액을 분비하여 원주 상피조직을 보호하며, 장내 병원균의 증식을 방어하는 역할을 한다(Ringø et al., 2003). 배상세포 수 변화를 관찰한 결과, 사료 내 PBM6 실험구까지는 유의적인 차이가 없었지만 돈모분의 대체 함량이 증가할수록 낮은 배상세포 수를 보였다.

어류는 외부 자극(사육환경의 변화, 사료영양상태, 수온변화 등)으로 인한 다양한 스트레스를 받는다. 그 지표로 자주 사용되는 혈액학적 분석 항목으로 Ht, hemoglobin, AST, ALT 등이 있다. 실험-1 과 실험-2 의 Ht 분석 결과 Sim et al.

(1995)이 발표한 결과와 유사한 값을 나타냈다. Hemoglobin은 Sim et al. (1995)이 발표한 결과보다 낮게 나타났다. 일반적인 어류의 hemoglobin 수치는 약 10g/dL 이라 보고 되었으나(Post, 1983), 현재까지 어류를 대상으로 한 건강도 측정 결과에 대한 해석은 명확하지 않다. 어류의 영양상태, 어종, 실험 환경 등 여러 가지 외적인 요인에 의해 결과가 달라질 수 있다고 보고 되었다(Jung et al., 2003; Choi et al., 2004;).

실험-3의 성장실험 결과, 잉어 사료 내 어분단백질의 약 14% 대체 가능성을 보였다. 어체의 일반성분조성은 같은 종 내에서도 계통, 성장단계뿐만 아니라 수온 및 사료의 영양상태, 공급량과 같은 외적인 요인에서도 영향을 받는다. Song et al. (1995)은 잉어를 대상으로 조단백질이 40-42% 인 사료를 공급했을 때 어체의 조단백질 함량은 14-15% 이고 조지방 함량은 5-6% 인 것을 보고하였다. Kim and Lee (2016)는 비단잉어(*Cyprinus carpio* var. *koi*)를 대상으로 조단백질이 44-46% 인 사료를 공급했을 때 어체의 조단백질 함량이 14-16%, 조지방 함량은 8-12% 인 것으로 보고하였다. 본 실험-3은 잉어의 조단백질 요구량인 31-38% (NRC, 1993)에 맞도록 사료 내 조단백질 함량을 38% 내외로 제작하였다. 어체의 일반성분 분석 결과 조단백질 함량이 12-14%, 조지방이 7-9% 로 선행논문과 유사한 경향을 보였다(Song et al., 1995; Kim and Lee, 2016). 혈액학적 분석 결과 total protein, ALT, bilirubin에서 유의적인 차이를 보였다. 특히, 간 손상수치를 나타내는 ALT와 bilirubin 분석결과 PBM16 실험구가 대조구와 비교하여 유의적으로 높은 값을 보였다. 어분 대체 함량이 증가 함에 따라 돈모분의 첨가가 간 손상에 영향을 미친 것으로 판단된다. 외관상소화율 분석 결과, 건물 소화율, 조단백질 소화율은 PBM8 실험구 즉, 어분단백질의 약 30% 이상 돈모분으로 대체 할 시, 잉어의 소화율에 부정적인 영향을 끼친 것으로 사료된다.

실험-1과 실험-2의 성장 및 사료효율 결과를 고려하여 넙치(IBW: 8.7, 10.4 g) 치어 사료 내 제한아미노산(lysine, methionine, histidine)과 MCP를 첨가하였을 때, 어분단백질 함량의 약 15% (PBM6)까지 대체 가능성을 보였고, 15% 이상 어분대체 시 성장 및 사료효율의 저하를 일으킬 것으로 사료된다. Przybył et al. (1999)은 잉어(IBW: 84 g)를 대상으로 돈모분, 대두박 및 유채박밀 혼합물을 이용하여 어분단백질의 100% 대체 가능성을 보였다. 우모분은 돈모분과 같은 단백질 구조를 가지고 있어 사료 내 단백질원으로 사용시 가공과정(가수분해과정)을 거친 후 사용해야 한다. 무지개송어(Rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*)(Bureau et al., 2000)를 대상으로 어분대체원으로써 가수분해 우모분을 단독으로 사용하였을 때, 어분단백질의 약 30% 대체 가능성을 보였다. 하지만, Lu et al. (2015)의 경우 가수분해 우모분을 단독으로 사용하지 않고, 가금부산물과 혈분을 혼합하여 사용 하였을 때, 어분단백질의 약 75% 대체 가능성을 보였다. 식물성 혹은 동물성 원료와 혼합하여 사용 하였을 경우 단독으로 사용하였을 때 보다 더 높은 어분대체 가능성을 보였다. 선행 연구결과를 참고하였을 때 돈모분 또한 식물성 혹은 동물성원료와 혼합된 형태로 사용할 시, 대체 함량을 증가시킬 수 있을 것으로 사료된다.

결론적으로 넙치 사료에서 돈모분은 제한 아미노산(lysine, methionine, histidine)을 보충하였을 경우 어분단백질함량의 약 7.5% 까지 대체 가능하며, 인 칼슘 제제인 MCP까지 추가하였을 경우, 어분단백질함량의 약 15% 까지 대체 가능할 것으로 사료된다. 잉어 사료는 첨가제 없이 어분단백질 함량의 약 14% 까지 대체 가능할 것으로 사료되며, 식물성 혹은 동물성원료와 적절히 혼합할 경우, 더 높은 대체 가능성을 기대 할 수 있을 것으로 사료된다.

5. 참고문헌

- Adams, S. M., Ham, K. D., Greeley, M. S., LeHew, R. F., Hinton, D.E., & Saylor, C. F. 1996. Downstream gradients in bioindicator responses: point source contaminant effects on fish health. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 53(10), 2177-2187.
- Allen, A., Hutton, D. A., Leonard, A. J., Pearson, J. P., & Sellers, L. A. (2009). The role of mucus in the protection of the gastroduodenal mucosa. *Scandinavian Journal of Gastroenterology*.
- AOAC (Association of Official Analytical Chemists), (1995). *Official Methods of Analysis*. 16thedn. Association of Official Analytical Chemists, Arlington, Virginia.
- Azarm, H. M., & Lee, S. M. (2014). Effects of partial substitution of dietary fish meal by fermented soybean meal on growth performance, amino acid and biochemical parameters of juvenile black sea bream *Acanthopagrus schlegeli*. *Aquaculture Research*, 45(6), 994-1003.
- Booth, M. A., Allan, G. L., & Anderson, A. J. (2012). Influence of poultry meal, meat meal or soybean meal inclusion on weight gain and production characteristics of Australian snapper *Pagrus auratus*. *Aquaculture International*, 20(1), 99-115.
- Brusle, J., & Anadon, G. G. (1996). The structure and function of fish liver. In: *Fish morphology horizon of new research*. Hiran M. Dutta and J.S. Datta-Mushi, eds. A.A Balkema Publishers, U.S.A. and Canada, 77-82.
- Bureau, D. P., Harris, A. M., Bevan, D. J., Simmons, L. A., Azevedo, P. A., & Cho, C. Y. (2000). Feather meals and meat and bone meals from different origins as protein sources in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) diets. *Aquaculture*, 181(3), 281-291.
- Burel, C., Boujard, T., Kaushik, S. J., Boeuf, G., Van Der Geyten, S., Mol, K. A., Ku'hn, E.

- R., Quinsac, A., Krouti, M., & Ribaillier, D. (2000). Potential of plant-protein sources as fish meal substitutes in diets for turbot (*Psetta maxima*): growth, nutrient utilisation and thyroid status. *Aquaculture*, 188(3), 363-382.
- Choi, S. M., Wang, X., Park, G. J., Lim, S. R., Kim, K. W., Bai, S. C., & Shin, I. S. (2004). Dietary dehulled soybean meal as a replacement for fish meal in fingerling and growing olive flounder *Paralichthys olivaceus* (Temminck et Schlegel). *Aquaculture Research*, 35(4), 410-418.
- Divakaran, S., Obaldo, L. G., & Forster, I. P. (2002). Note on the methods for determination of chromic oxide in shrimp feeds. *Journal of agricultural and food chemistry*, 50(3), 464-467.
- Ellis, A. E. (2001). Innate host defense mechanisms of fish against viruses and bacteria. *Developmental & Comparative Immunology* 25, 827-839.
- Folch, J., Lee, M., & Sloane-Stanley, G. H. (1957). A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *Journal of Biological Chemistry* 226(1), 497-509.
- Furukawa, A., & Tsukahara, H. (1966) On the acid digestion method for the determination of chromic oxide as an index substance in the study of digestibility of fish feed. *Bulletin of the Japanese Society for the Science of Fish* 32, 502-506.
- González- Rodríguez, Á., Celada, J. D., Carral, J. M., Sáez- Royuela, M., García, V., & Fuertes, J. B. (2016). Evaluation of poultry by- product meal as partial replacement of fish meal in practical diets for juvenile tench (*Tinca tinca L.*). *Aquaculture Research*, 47(5), 1612-1621
- Gu, M., Bai, N., Zhang, Y., & Krogdahl, Å. (2016). Soybean meal induces enteritis in turbot *Scophthalmus maximus* at high supplementation levels. *Aquaculture*, 464, 286-295.

- Hasan, M. R., Haq, M. S., Das, P. M., & Mowlah, G. (1997). Evaluation of poultry-feather meal as a dietary protein source for Indian major carp, *Labeo rohita* fry. *Aquaculture*, 151(1), 47-54.
- Hertrampf, J. W., & Piedad-Pascual, F. (2000). Pig britstle meal (Hydrolysed) In: Handbook on ingredients for aquaculture feeds. Kluwer academic, Dordrecht, Netherland, 322-324.
- Imsland, A. K., Helmvig, T., Kristjánsson, G. Ö., & Árnason, J. (2016) Effect of fish protein replacement in diets for juvenile turbot *Scophthalmus maximus*. *Turk J Fish Aquat Sci* 16, 267-273.
- Jang, M. S., Park, H. Y., Nam, K. H., Han, H. S., Kim, K. W., Kim, K. D., & Lee, B. J. (2013). Effect of extruded pellets containing fermented soybean meal as a partial substitute for fish meal on growth performance and muscle quality of olive flounder (*Paralichthys olivaceus*). *J Agric Life Sci*, 47, 203-215.
- Jobling, M. (2011). Minerals. In: National Research Council (NRC): Nutrient requirements of fish and shrimp. National Academy of Science, U.S.A., 168-170
- Jung, S. H., Sim, D. S., Park, M. S., Jo, Q., & Kim, Y. (2003). Effects of formalin on haematological and blood chemistry in olive flounder, *Paralichthys olivaceus* (Temminck et Schlegel). *Aquaculture research*, 34(14), 1269-1275.
- Kader, A., Koshio, S., Ishikawa, M., Yokoyama, S., Bulbul, M., Nguyen, B. T., Gao, J., & Laining, A. (2012). Can fermented soybean meal and squid by-product blend be used as fishmeal replacements for Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*)?. *Aquaculture Research*, 43(10), 1427-1438.
- Kikuchi, K. (1999). Use of defatted soybean meal as a substitute for fish meal in diets of Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*). *Aquaculture*, 179(1), 3-11.

- Kikuchi, K., Furuta, T., & Honda, H. (1994). Utilization of Feather Meal as a Protein Source in the Diet of Juvenile Japanese Flounder. *Fisheries science*, 60(2), 203-206.
- Kim, K. W., Kim, K. D., Lee, B. J., Lee, J. H., Han, H. S., Koo, J. W., Choi, Y. H., & Bai, S. C. (2013). Dietary fermented soybean meal as a replacement for fish meal in juvenile olive flounder *Paralichthys olivaceus*. *Korean Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 46(6), 769-776.
- Kim, S. S., Oh, D. H., Cho, S. J., Seo, S. H., Han, H. S., & Lee, K. J. (2014). Evaluation of Acid-concentrated Soybean Meal as a Fishmeal Replacement and its Digestibility in Diets for Juvenile Olive Flounder *Paralichthys olivaceus*. *Korean Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 47(6), 824-831.
- Kim, Y. C., Bae, S. S., Lee, J. H., Park, G. H., & Lee, J. Y. (2009). Dietary squid liver powder (SLP) with dehulled soybean meal (DHSM) as a fish meal (FM) substitute for olive flounder, *Paralichthys olivaceus*. *Korean Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 42(3), 243-249.
- Kim, Y. C., Yoo, G. Y., Wang, X., Lee, S., Shin, I. S., & Bai, S. C. (2008). Long term feeding effects of dietary dehulled soybean meal as a fish meal replacer in growing olive flounder *Paralichthys olivaceus*. *ASIAN AUSTRALASIAN JOURNAL OF ANIMAL SCIENCES*, 21(6), 868.
- Kim, Y. O., & Lee, S. M. (2016). Influences of Different Dietary Lipid Sources on the Growth, Body Composition, and Fatty Acid Profiles of Juvenile Fancy Carp *Cyprinus carpio* var. koi. *Korean Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 49(3), 317-322.
- Kumari, J., & Sahoo, P. K. (2005). Effects of cyclophosphamide on the immune system and disease resistance of Asian catfish *Clarias batrachus*. *Fish & Shellfish Immunology* 19, 307-316.

- Lall, S. P. (2002). The minerals. In: fish nutrition, Third edition, J. E. Halver and R. W. Hardy, eds. London, UK: Academic Press. 259-308.
- Lee, J., Choi, I. C., Kim, K. T., Cho, S. H., & Yoo, J. Y. (2012). Response of dietary substitution of fishmeal with various protein sources on growth, body composition and blood chemistry of olive flounder (*Paralichthys olivaceus*, Temminck & Schlegel, 1846). *Fish physiology and biochemistry*, 38(3), 735-744.
- Lim, S. R., Choi, S. M., Wang, X. J., Kim, K. W., Shin, I. S., Min, T. S., & Bai, S. C. (2004). Effects of dehulled soybean meal as a fish meal replacer in diets for fingerling and growing Korean rockfish *Sebastes schlegeli*. *Aquaculture*, 231(1), 457-468.
- Lu, F., Haga, Y., & Satoh, S. (2015). Effects of replacing fish meal with rendered animal protein and plant protein sources on growth response, biological indices, and amino acid availability for rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. *Fisheries Science*, 81(1), 95-105.
- Martínez-Llorens, S., Baeza-Ariño, R., Nogales-Mérida, S., Jover-Cerdá, M., & Tomás-Vidal, A. (2012). Carob seed germ meal as a partial substitute in gilthead sea bream (*Sparus aurata*) diets: amino acid retention, digestibility, gut and liver histology. *Aquaculture*, 338, 124-133.
- Millamena, O. M. (2002). Replacement of fish meal by animal by-product meals in a practical diet for grow-out culture of grouper *Epinephelus coioides*. *Aquaculture*, 204(1), 75-84.
- NIAS (National Institute of animal science). (2012). <http://www.nias.go.kr/front/search.do>
- NRC (National Research Council). (1993). Nutritional requirements of fish. National Academy of Science, Washington. D. C., 114.

- MAFRA (Ministry of agriculture, food and rural affairs). (2014).
<http://www.ekapepia.com/664.su>
- Panicz, R. (2016). Validation of reference genes for RT-qPCR analysis of growth hormone receptor and growth hormone expression in the tench (*Tinca tinca*) fed substituting poultry meal for fish meal. *Aquaculture*, 465, 179-188.
- Post, G. (1983). Nutrition and nutritional diseases of fish. In: Textbook of fish health. T.F.H. Publications Inc., U.S.A., 199-207.
- Przybył, A., Madziar, M., & Koligot, A. (1999). Suitability of modified pig bristles for extruded feed mixtures for carp fry. *Arch. Pol. Fish*, 7, 113-122.
- Ringø, E., Olsen, R. E., Mayhew, T. M., & Myklebust, R. (2003). Electron microscopy of the intestinal microflora of fish. *Aquaculture*, 227(1), 395-415.
- Sankaran, K., & Gurnani, S. (1972). On the variation in catalytic activity of lysozyme in fishes. *Indian Journal of Biochemistry & Biophysics* 9, 162-165.
- Schäfer, A., Koppe, W. M., Meyer-Burgdorff, K. H., & Günther, K. D. (1995). Effects of a microbial phytase on the utilization of native phosphorus by carp in a diet based on soybean meal. *Water Science and technology*, 31(10), 149-155.
- Shapawi, R., Ng, W. K., & Mustafa, S. (2007). Replacement of fish meal with poultry by-product meal in diets formulated for the humpback grouper, *Cromileptes altivelis*. *Aquaculture*, 273(1), 118-126.
- Sim, D. S., Jung, S. H., Park, H. S., & Chun, S. K. (1993). Changes in Blood Parameters of the Cultured Flounder *Paralichthys olivaceus* Artificially Infected with *Staphylococcus epidermidis*. *Journal of fish pathology*, 6(2), 123-131.
- Siwicki, A. K., & Anderson, D. P. (1993). Nonspecific defence mechanism assay in fish II;

- Potential killing activity of neutrophils and monocytes, lysozyme activity in serum and organs and total immunoglobulin (Ig) level in serum. In: Fish Disease Diagnosis and Prevention Methods. Siwicki AK, Anderson DP, Waluga J, eds. Wydawnictwo Instytutu Rybactwa Strodładowego, Olsztyn, Poland, 105-112.
- Song, M. H., Lee, K. J., & Bai, S. (1995). Effects of Dietary Blood Meal as a Protein Source in Growing Common Carp (*Cyprinus carpio*). Journal of Aquaculture, 8(4), 343-354.
- Song, M. H., Lee, K. J., & Bai, S. (1995). effects of dietary blood meal as a protein source in growing Common carp (*Cyprinus carpio*). Journal of Aquaculture, 8(4), 343-354.
- Turker, A., Yigit, M., Ergun, S., Karaali, B., & Erteken, A. (2005). Potential of poultry by-product meal as a substitute for fishmeal in diets for Black Sea turbot *Scophthalmus maeoticus*: Growth and nutrient utilization in winter. Israeli Journal of Aquaculture–Bamidgeh, 57(1), 49-61.
- Wang, Y., Kong, L., Li, C., & Bureau, D. P. (2010). The potential of land animal protein ingredients to replace fish meal in diets for cuneate drum, *Nibea miichthioides*, is affected by dietary protein level. Aquaculture Nutrition, 16(1), 37-43.
- Yang, Y., Xie, S., Cui, Y., Zhu, X., Lei, W., & Yang, Y. (2006). Partial and total replacement of fishmeal with poultry by-product meal in diets for gibel carp, *Carassius auratus gibelio* Bloch. Aquaculture Research, 37(1), 40-48.
- Yigit, M., Erdem, M., Koshio, S., Ergün, S., Türker, A., & Karaali, B. (2006). Substituting fish meal with poultry by-product meal in diets for black Sea turbot *Psetta maeotica*. Aquaculture Nutrition, 12(5), 340-347.

6. 감사의 글

2년이라는 석사학위과정을 보내며 많은 분들께 가르침을 받을 수 있어 감사의 인사를 표하고자 합니다. 먼저, 학문의 길을 들어설 수 있도록 지도해주시고, 올바른 학자의 길로 들어설 수 있도록 인도해주신 이경준 지도교수님께 감사 드립니다. 심사를 위해 시간을 내주신 최광식 교수님, 박상율 교수님, 학사뿐만 아니라, 석사과정 동안 많은 가르침을 주신 송춘복 교수님, 이제희 교수님, 허문수 교수님, 여인규 교수님, 전유진 교수님, 김기영 교수님, 정준범교수님, 정석근 교수님, 이승현 교수님께도 감사의 말씀을 전합니다.

이 연구를 마무리 할 수 있던 도움을 준 우리 양어사료 영양학연구실원에게 감사인사를 전합니다. 항상 칭찬과 격려로 힘을 실어주었던 지훈, 대한 오빠 학부기간 사수로 저에게 많은 가르침을 주었던 진우오빠, 어려운 일이 있을 때마다 도움의 손길을 아끼지 않았던 민기, 수환 오빠, Buddhi, 옆에 있는 것만으로도 힘이 되는 초롱언니, 긍정적인 에너지로 항상 힘을 주는 나의 사랑꾼 재형이, 곳곳이 자기 할 일을 해내는 영수, 지혁 모두에게 감사 드립니다. 우리 실험실원이 있었기에 제가 이 연구를 할 수 있었고, 마무리 할 수 있었습니다.

나의 든든한 지원자, 믿음으로 저를 지켜주는 우리 엄마, 아빠 사랑합니다. 항상 응원을 아끼지 않는 우리 가족들과 친구들에게 감사하며, 슬픈 일, 기쁜 일 함께 공유하며 걱정과 응원으로 힘을 실어주는 여진이에게도 감사의 인사를 전합니다.

제가 이렇게 성장할 수 있었던 건 많은 분들의 도움이 있었기 때문이라 생각합니다. 저 또한 많은 분들에게 받았던 도움을 베풀 수 있도록 노력하며, 정진해 나갈 것입니다.