

T 0029210

GOVP1200944963

최 종  
연구보고서

해삼 양식을 위한 경제적인 배합사료 개발

Development of Practical Feed for the

Sea Cucumber *Stichopus japonicus*

주관연구기관 : 강릉대학교

협동연구기관 : 강원도 수산자원연구소

농 립 수 산 식 품 부

## 제 출 문

농림수산식품부 장관 귀하

본 보고서를 “해삼 양식을 위한 경제적인 배합사료 개발”에 관한 연구 과제의 최종보고서로 제출합니다.

2008 년 9 월 일

주관연구기관명 : 강릉대학교

총괄연구책임자 : 이상민

세부연구책임자 : 박흠기, 김정호

연구 원 : 서주영, 이충열

김동규, 최 진

강용진, 김경덕

이종윤, 김재동

배승철, 고수홍

협동연구기관명 : 강원도수산자원연구소

협동연구책임자 : 김진희

연구 원 : 임영순, 한상희

김근엽, 조성수

# 요 약 문

## I. 제 목

해삼 양식을 위한 경제적인 배합사료 개발

## II. 연구개발의 목적 및 필요성

해산 어패류 양식에 있어 사료는 큰 비중을 차지하는 중요한 요소로서 양식 생산비의 절반 이상을 차지할 뿐 아니라 양식에 의한 수질오염은 급여되는 사료로부터 유래하기 때문에 대상어종을 위한 배합사료개발은 양식생산성과 환경보호 측면에서 가장 우선적으로 고려되어야 한다.

배합사료의 가격은 배합되는 원료의 단가, 영양소의 종류와 균형에 따라 달라지는데, 경제적으로 배합되어야 할 원료의 종류나 적정 첨가범위, 필수영양소의 종류 및 함량은 양식 대상종에 따라 달라지기 때문에 그 종에 맞도록 연구가 수행되어야 한다. 해삼은 우리나라, 중국, 일본 및 러시아에서 식용으로 많이 이용되고 있는 수산생물로 영양소가 풍부하고 고부가가치성으로 각광받고 있는 종이다. 우리나라의 해삼 생산량은 남획이나 환경오염 등으로 1990년대 이후부터 급격히 감소되면서 최근에는 그 수요량을 충족시키기 위해 양식에 많은 관심을 기울이고 있으며, 앞으로 그 생산량이 급격히 증가될 것으로 판단되므로, 해삼 양식 발전을 위한 대책이 필요하다. 양식 산업으로서 발전되기 위해서는 여러 가지 갖추어야 할 요인이 많지만, 그중에서도 해삼을 키우기 위한 적합한 먹이 개발은 매우 중요한 연구이다. 하지만 현재 우리나라의 해삼 양식은 초기단계에 있기 때문에 배합사료 개발에 관한 연구는 거의 수행되지 못한 실정으로, 해삼 양식시 사용되는 먹이는 대부분 중국에서 수입되는 사료에 의존하고 있다. 이러한 상업용 수입사료의 품질은 검정되지 못한 채 사용되고 있으며, 실제 수입되고 있는 사료의 영양성분을 분석하여 보면 그 함량의 변화가 심하

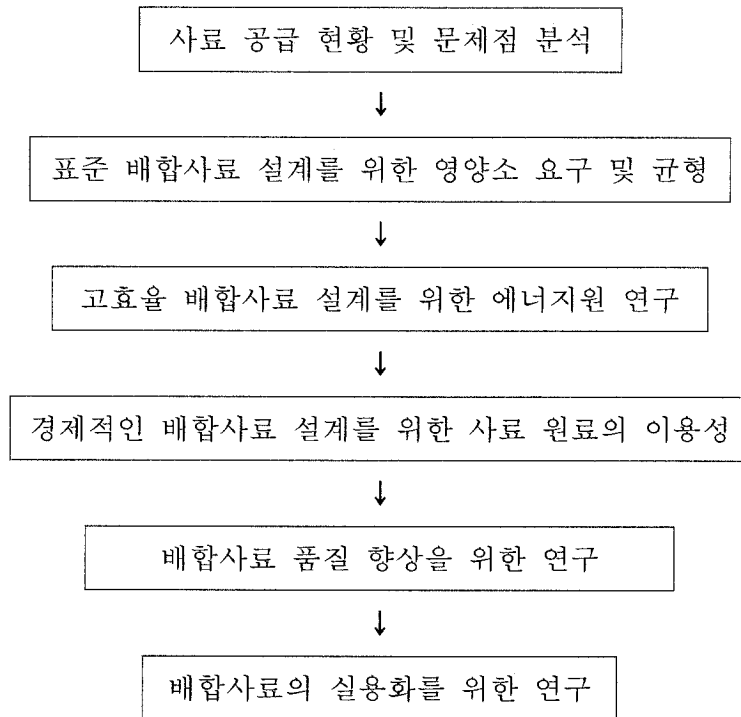
다. 이는 표준 배합비의 의해서 사료가 제조되지 못하고 있음을 의미한다. 또한, 상업용 수입사료는 수급의 불안정, 외화 낭비 등의 제반 문제점들을 가지고 있어 국가적으로도 큰 손실이 초래되고 있다. 이러한 문제점들을 해결하기 위해서는 해삼의 영양적 요구량을 충족시킬 수 있는 실용적인 배합사료를 개발 및 이용하는 것이 절실하다.

따라서 본 연구는 국내에서 신뢰할 수 있는 경제적인 해삼 양식용 배합사료를 개발하여 양어가들에게 공급함으로써 효율적인 해삼양식이 가능하게 하여 어민소득을 증대시키고, 사료 산업의 활성화를 통해 국제 경쟁력을 높이기 위하여 수행하였다.

### Ⅲ. 연구개발 내용 및 범위

해삼 양식을 위한 사료 공급에 따른 제반 문제점을 분석하고, 해삼용 배합사료 개발을 위한 연구가 거의 수행되어 있지 않기 때문에 기존에 타 어패류를 대상으로 연구된 결과들을 검색 및 분석하여 수입산 사료를 대체할 수 있는 해삼용 표준 배합사료 설계에 적용하였다. 이와 동시에 기존의 해삼을 비롯한 타 어패류의 연구 결과를 update하고, 진행 중인 연구 결과들을 참고로 필수영양소 균형을 검토하여 표준 배합사료, 고효율 배합사료 및 경제적인 배합사료 설계에 적용하였다. 본 연구는 3년간에 걸쳐 수행되었으며, 1차년도에는 어린 해삼 배합사료의 필수영양소 요구 및 균형에 대해 중점을 두어 연구를 수행하였으며, 이어서 2차와 3차년도에는 1차년도 결과를 바탕으로 배합사료에 사용될 사료 원료에 관한 이용성 연구를 반복적으로 수행하여 고효율 배합사료를 설계 및 제조한 후, 실용화 가능성을 증명하고자 하였다.

어린 해삼 배합사료 개발을 위해 3년간에 걸쳐 수행된 연구의 단계별 내용 및 결과들은 다음과 같다.



## IV. 연구개발 결과

### 1. 표준 배합사료 설계를 위한 영양소 요구 및 균형

우선, 기존의 연구결과 및 자료 조사를 기반으로 어린 해삼의 표준 배합사료를 설계하기 위하여 배합사료 제조시 가장 우선시 고려되어야 할 필수영양소 요구 및 균형을 조사하였으며, 수행된 연구는 다음과 같다.

#### 1.1. 사료 원료의 구입, 가공 및 화학성분 분석

기존의 연구결과와 사전 조사를 기반으로 해삼양식에 주로 사용되는 양어가들이 자체적으로 제조하여 공급하는 사료의 원료조성 및 수입산 사료의 영양성분을 검토하여 해삼 배합사료에 혼합될 원료를 각각 구입하였으며, 필요에 따라 가공하고, 원료별로 영양성분을 자체 또는 의뢰하여 분석하였다. 실험사료에 첨가된 원료는 멸치 어분(칠레), 대두박, 미역, 다시마, 지충이 등의 해조류 분말, 오징어 간분, 깻묵 및 비지 등의 동·식물성 부산물 등을 포함하여, 오징어 간유, 어유, 대두유 및 아마인 유 등의 각종 유지류에 대한 화학성분을 분석하였으며, 상업용 수입사료를 구입하여 함께 분석하였다. 위의 각 원료들을 가공 및 분쇄하여 수분, 단백질, 아미노산, 지질, 지방산, 회분, 인, 열량, 섬유질, 및 비타민류 등을 (각 연구 항목에 표시 함) 분석한 결과들을 토대로 표준 배합사료 및 년차별 사료설계에 이용하였다.

#### 1.2. 어린 해삼 배합사료내 적정 단백질 및 지질함량

본 연구는 어린 돌기해삼 *Stichopus japonicus* 사료의 적정 단백질과 지질함량을 조사하기 위해 단백질(10%, 20%, 30% 및 40%)과 지질(3%, 7% 및 11%)이 달리 함유된 12 종류의 실험사료를 제조하였다. 평균 체중 1.1 g의 어린 해삼을 각 수조마다 50마리씩 3반복으로 수용하여 10주간 사육실험을 수행하였다. 사육실험 종료 후, 생존율은 86% 이상으로 실험구간에 유의한 차이가 없었다( $P>0.05$ ). 증중율과 일간성장율은 동일한 지질함량에서 단백질

30%에 지질 3%를 함유한 사료 공급구가 다른 실험구에 비해 유의하게 높은 값을 보였다( $P < 0.05$ ). 어린 해삼의 수분, 지질 및 회분 함량은 사료의 단백질과 지질함량에 따른 차이를 보이지 않았으나, 단백질함량은 실험구간에 유의한 차이를 보였으며( $P < 0.05$ ), 단백질 30%에 지질 3%를 함유한 사료 공급구에서 가장 높게 나타났고, 단백질 20%에 지질 11% 사료 공급구에서 가장 낮았다. 해삼의 지방산 조성은 사료의 지방산에 영향을 받아 지질함량이 증가함에 따라 18:2n-6 함량은 증가하였고 n-3HUFA 함량은 감소하는 경향을 보였다. 이상의 결과로부터, 어린 해삼의 최대 성장에 필요한 사료의 단백질함량은 30%이고, 지질함량은 3%로 판단된다.

### 1.3. 어린 해삼의 Vitamin C (Ascorbic acid) 요구량

이 연구는 어린 해삼( $1.49 \pm 0.07$  g body weight)의 Vitamin C 요구량을 결정하기 위하여 사료 내 Vitamin C 수준을 6단계(0, 30, 60, 120, 240, 1200 mg ascorbic acid/kg diet; AA-free, AMP-24, AMP-48, AMP-100, AMP-206, AMP-1045)로 조절하여 12주간 사육실험을 실시하였다. 사육실험 종료 후 증체율(WG), 사료효율(FE) 및 일간성장율(SGR)에 있어서 AA-free, AMP-24 및 AMP-48을 공급한 실험구가 C-100, AMP-206 및 AMP-1045를 공급한 실험구보다 유의적으로 낮게 나타났다( $P < 0.05$ ). 그러나 AMP-100, AMP-206 및 AMP-1045를 공급한 실험구간에는 유의한 차이가 나타나지 않았다. 전어체 분석에 있어서 조단백질 함량은 AMP-24, AMP-48 및 AMP-100을 공급한 실험구가 AA-free를 공급한 실험구에 비해 유의적으로 높게 나타났으며( $P < 0.05$ ), 조지방 함량은 AMP-48과 AMP-100을 공급한 실험구가 AA-free, AMP-24 및 AMP-1045를 공급한 실험구에 비해 높게 나타났다( $P < 0.05$ ). 회분 함량은 AA-free와 AMP-1045를 공급한 실험구가 다른 모든 실험구에 비해 유의적으로 높게 나타났다( $P < 0.05$ ). 전어체의 ascorbic acid 함량은 실험사료 내 ascorbic acid의 첨가수준이 증가할수록 높게 나타나는 경향을 보였으나, AMP-206과 AMP-1045를 공급한 실험구간에는 유의한 차이가 나타나지 않았다( $P > 0.05$ ). 상기 결과를 토대로 broken line analysis에 의해 증체율을 지표

로 추정된 어린 해삼의 최대 성장을 위한 사료 내 Vitamin C 요구량은  $137.9 \pm 8.4$  mg ascorbic acid/kg diet로 나타났다.

#### 1.4. 어린 해삼의 Vitamin B<sub>2</sub> 요구량

이 연구는 어린 해삼( $1.49 \pm 0.07$  g body weight)의 Vitamin B<sub>2</sub> 요구량을 결정하기 위하여 사료 내 Vitamin B<sub>2</sub> 수준을 6단계(0, 5, 10, 20, 60, 600 mg riboflavin/kg diet; B<sub>2</sub>-0, B<sub>2</sub>-4, B<sub>2</sub>-9, B<sub>2</sub>-18, B<sub>2</sub>-57, B<sub>2</sub>-577)로 조절하여 12주간 사육실험을 실시하였다. 실험 종료 후, 증체율(WG)과 일간성장율(SGR)에 있어서 B<sub>2</sub>-0을 공급한 실험구가 다른 모든 실험구에 비하여 유의하게 낮게 나타났다(P<0.05), B<sub>2</sub>-18, B<sub>2</sub>-57 및 B<sub>2</sub>-577을 공급한 실험구는 B<sub>2</sub>-4를 공급한 실험구에 비하여 유의적으로 높게 나타났다(P<0.05). 그러나 B<sub>2</sub>-9, B<sub>2</sub>-18, B<sub>2</sub>-57 및 B<sub>2</sub>-577을 공급한 실험구간에는 유의한 차이가 나타나지 않았다(P>0.05). 사료효율에 있어서는 B<sub>2</sub>-0 와 B<sub>2</sub>-4를 공급한 실험구는 B<sub>2</sub>-9, B<sub>2</sub>-57 및 B<sub>2</sub>-577에 비하여 유의적으로 낮게 나타났다(P<0.05). 전어체 분석결과, riboflavin 함량에 있어서 B<sub>2</sub>-57 과 B<sub>2</sub>-577을 공급한 실험구가 B<sub>2</sub>-0을 공급한 실험구에 비해 유의적으로 높게 나타났으며(P<0.05), B<sub>2</sub>-4, B<sub>2</sub>-9, B<sub>2</sub>-18, B<sub>2</sub>-57 및 B<sub>2</sub>-57을 공급한 실험구간에는 유의한 차이가 나타나지 않았다(P>0.05). 상기 결과를 토대로 broken line analysis에 의해 증체율을 지표로 추정된 어린 해삼의 최대 성장을 위한 사료 내 Vitamin B<sub>2</sub> 요구량은  $10.7 \pm 1.22$  mg riboflavin/kg diet로 나타났다.

#### 1.5. 어린 해삼의 Vitamin E 요구량

이 연구는 어린 해삼(평균체중  $1.48 \pm 0.07$  g)의 Vitamin E 요구량을 결정하기 위하여 사료 내 Vitamin E 수준을 6단계(0, 15, 30, 60, 120 및 600 mg  $\alpha$ -tocopherol/kg diet; E4, E12, E23, E44, E77 및 E378)로 조절하여 14주간 사육실험을 실시하였다. 실험 종료 후, E23, E44, E77 및 E378을 공급한 어린 해삼의 증체율(WG), 일간성장율(SGR) 및 사료효율(FE)은 E4과 E12 공급구보다 유의하게 높게 나타났다(P<0.05). 그러나 E23, E44, E77 및 E378을 공급한



실험구간에 유의한 차이가 나타나지 않았으며, E4과 E12 공급구 사이에도 유의한 차이는 없었다( $P>0.05$ ). E44, E77 및 E378을 공급한 어린 해삼의 생존율은 E4, E12 및 E23 공급구보다 유의하게 높았으나, E44와 E77 공급구간에 유의한 차이는 없었다( $P>0.05$ ). 전어체 분석결과, 사료의 Vitamin E 함량이 증가할수록 어체의 Vitamin E 함량이 증가했다. 상기 결과를 토대로 broken line analysis에 의해 증체율을 지표로 추정한 어린 해삼의 최대 성장을 위한 사료내 Vitamin E 요구량은 39.9 mg  $\alpha$ -tocopherol/kg diet 으로 나타났다.

## 2. 고효율 배합사료 설계를 위한 에너지원 연구

### 2.1. 어린 해삼 배합사료의 단백질원 평가

본 연구는 어린 해삼사료에 적합한 단백질원을 조사하기 위해 단백질원으로 어분(WFM), 대두박(SM), 소맥분(WF), 깻묵(SR), 비지(SCR), 지충이(SP) 및 각 원료들의 혼합물(MIX)을 각각 첨가한 8 종류의 실험 사료를 제조하였다. 평균체중 0.8 g 전후의 어린 해삼을 수조당 50마리씩 3반복으로 설정하여 실험사료를 8주간 공급하였다. 사육실험 종료 후, 생존율은 모든 실험구에서 74%-87%였으며, 실험구간에 유의한 차이는 없었다. 어린 해삼의 증중율(WG)과 일간성장율은 사료 단백질원에 유의하게 영향을 받았으며( $P<0.05$ ), SP를 공급한 실험구에서 가장 높게 나타났으나, SM과 MIX 공급구와 유의한 차이를 나타내지 않았다( $P>0.05$ ). 어린 해삼의 전어체 분석결과, 수분, 조단백질, 조지질 및 회분 함량은 실험구간에 유의한 차이가 없었다( $P>0.05$ ). 이상의 결과로부터, 어린 해삼 배합사료내 적정 단백질원으로 지충이 분말, 대두박 및 혼합물을 사용하는 것이 좋을 것으로 판단된다.

### 2.2. 어린 해삼 배합사료의 지질원 평가

본 연구는 어린 해삼 배합사료의 적정 지질원을 조사하기 위해 수행하였다. 실험사료의 주요 단백질원으로 대두박을 사용하여 실험사료의 단백질 함량이 30% 전후로 조절하였으며 탄수화물원으로 소맥분을 사용하였다. 그리

고 지질원에 따른 어린 해삼의 성장율을 알아보기 위하여 지질원 무첨가 (CON)와 오징어간유(SLO), 대두유(SO) 및 아미노유(LO)를 각각 2%씩 첨가한 총 4종류의 실험 사료를 설계하였다. 평균체중 1.4 g의 어린 해삼을 각 실험수조(50 l 사각수조)에 50마리씩 3반복으로 수용하여 12주간 사육실험 하였다. 사육실험 종료 후, 어린 해삼의 생존율은 74~83%로 모든 실험구에서 유의적인 차이가 없었으나( $P>0.05$ ), 증중율은 사료의 지질원에 영향을 받아 실험구간에 유의한 차이를 보였다( $P<0.05$ ). 오징어 간유를 첨가한 실험구의 증중율이 다른 실험구에 비해 유의하게 높은 값을 보인 반면, 대두유를 첨가한 실험구에서 가장 낮은 값을 보였다. 해삼의 일반성분 분석결과, 수분, 단백질, 지질 및 회분함량은 모두 사료의 지질원에 영향을 받지 않았다 ( $P>0.05$ ). 지방산 조성은 18:1n-9, 18:2n-6 및 20:4n-6의 함량이 높게 나타났으며, 20:5n-3과 22:6n-3 같은 n3-HUFA 함량은 지질원으로 오징어 간유를 첨가한 실험구가 다른 실험구에 비해 유의하게 높게 나타났고, 18:2n-6 함량은 대두유를, 18:3n-3 함량은 아미노유 첨가구에서 각각 가장 높았다. 이상의 결과들로 보아, 어린 해삼 배합사료내 지질원으로 n-3HUFA가 다량 함유되어 있는 오징어 간유를 첨가해 주는 것이 좋을 것으로 생각된다.

### 2.3. 어린 해삼 배합사료의 탄수화물원 및 함량

본 연구는 어린 해삼 배합사료의 적정 탄수화물원 및 첨가량을 알아보기 위하여 수행하였다. 사료의 단백질원으로 대두박, 지질원으로 오징어 간유와 대두유를 각각 사용하여 단백질과 지질함량을 각각 30%와 3%가 되도록 조절하였으며, 다양한 탄수화물원 및 함량에 따른 이용성을 조사하기 위해 소맥분, 전분 및 알긴산을 각각 15% 및 30%의 다른 함량으로 첨가하여 제조된 총 6종류(WF15, WF30, ST15, ST30, AG15 및 AG30)의 실험사료와 건조 지층이를 평균체중 약 0.77 g의 어린 해삼에게 10주간 공급하였다. 사육실험 종료 후, 생존율은 실험구간에 유의한 차이가 없었다. 해삼의 증중량은 WF15 공급구에서 가장 높은 값을 보였으나( $P<0.05$ ), 지층이 및 AG15 공급구와는 유의한 차이가 없었다( $P>0.05$ ). 그리고 사료내 탄수화물원에 관계없이 탄수화

물 함량이 증가함에 따라 증중율은 감소하는 경향을 보였다. 어린 해삼의 전어체 분석결과, 수분, 조단백질 및 조지질 함량은 실험구간에 유의한 차이가 없었으나( $P>0.05$ ), 회분함량은 사료내 탄수화물원에 영향을 받아, ST30 실험구에서 가장 높은 값을 보였으나, AG15와 AG30 실험구를 제외한 다른 실험구간에 유의한 차이는 없었다. 이상의 결과로부터, 어린 해삼은 본 실험에 사용된 탄수화물원 중에서 소맥분 및 알긴산을  $\alpha$ -전분보다 잘 이용하는 것으로 보이며, 배합사료내 적정 탄수화물 함량은 25%로 판단된다.

#### 2.4. 단백질원으로 대두박을 사용한 어린 해삼 배합사료내 적정 단백질 및 지질함량

본 연구는 앞서 수행된 연구결과를 바탕으로, 사료의 주요 단백질원으로 대두박을 사용하여 어린 해삼 배합사료의 적정 단백질과 지질 함량을 조사하기 위해  $3 \times 2$  factorial 디자인으로 3종류의 단백질 함량(20%, 30% 및 40%)과 2종류의 지질함량(2% 및 10%)을 함유하고 있는 총 6 종류의 실험사료를 제조하였다. 평균 체중 1.3 g의 어린 해삼을 각 수조마다 50마리씩 3반복으로 수용하여 12주간 사육실험 하였다. 사육실험 종료 후, 생존율은 실험구간에 유의한 차이가 없었다( $P>0.05$ ). 어린 해삼의 증중율과 일간성장율은 사료의 단백질과 지질함량에 영향을 받아 지질 2% 함량에서 단백질 20%와 40% 공급구가 가장 높았으며, 동일한 단백질 함량에서, 지질 2% 공급구가 지질 10% 공급구보다 유의하게 높은 값을 보였다( $P<0.05$ ). 단백질 20%와 40% 함량에서, 지질 2% 사료를 공급한 어린 해삼의 건물, 단백질, nitrogen-free extract 및 에너지 소화율은 지질 10%를 공급한 어린 해삼보다 유의하게 높았다( $P<0.05$ ). 어린 해삼의 전어체 분석결과, 수분, 조단백질, 조지질 및 회분 함량은 사료의 단백질과 지질함량에 따른 차이를 보이지 않았다. 이상의 결과로부터, 단백질 20%와 지질 2%를 함유하고 있는 배합사료가 어린 해삼의 성장을 위해 적절할 것으로 판단된다.

### 3. 경제적인 배합사료 설계를 위한 사료 원료의 이용성

#### 3.1. 어린 해삼의 지충이 분말 이용성

본 연구는 어린 해삼의 지충이의 이용성을 확인함과 동시에 배합사료내 적정 첨가함량을 조사하기 위해 수행하였다. 평균체중 1.1 g 전후의 어린 해삼을 각 수조에 60마리씩 3반복으로 수용하여 지충이 분말이 0%, 20%, 40% 및 60% 함유된 총 4종류 실험사료(S0, S20, S40 및 S60)와 순수 지충이 분말(S100) 및 상업용 사료(CF)를 각각 12주간 공급하였다. 사육실험 종료 후, 생존율은 83% 이상으로 모든 실험구에서 유의적인 차이가 없었다( $P>0.05$ ). 증중율은 사료내 지충이 첨가 함량에 따라 영향을 받았으며( $P<0.05$ ), S20 공급구에서 가장 높았고, S100 공급구에서 가장 낮은 값을 보였다( $P<0.05$ ). 어린 해삼의 개체별 무게 차이를 고려하여, 상위 20 마리의 증중율을 조사하였다. S60을 공급한 상위 20마리 어린 해삼의 증중율이 가장 높게 나타났고, S100과 CF 공급구에서 낮은 증중율을 보였으나, S60과 S40 공급구간에 유의한 차이가 없었다( $P>0.05$ ). 어린 해삼의 건물, 단백질, nitrogen-free extract 및 에너지 소화율은 사료내 지충이 첨가량이 증가할수록 낮아졌으나, 지질 소화율은 사료의 지충이 함량에 영향을 받지 않았다. 전어체의 수분, 조단백질, 조지질 및 회분 함량은 실험구간에 유의한 차이가 없었다( $P>0.05$ ). 이상의 결과로부터, 배합사료내 지충이의 첨가는 어린 해삼의 성장을 향상시킬 수 있으며, 사료내 첨가시 20%가 적절할 것으로 판단된다.

#### 3.2. 어린 해삼 배합사료에 식물성 원료의 첨가 효과

본 연구는 배합사료내 다양한 식물성 원료의 첨가가 어린 해삼의 성장 및 체조성에 미치는 영향을 조사하기 위해 수행하였다. 평균체중 1.5 g 전후의 해삼을 각 수조에 30마리씩 3반복으로 수용하여 지충이(Sar), 미역(Und), 다시마(Lam), 양배추(Cab), 청국장(Che), 막걸리 부산물(Mak), 벚짚(Ric)을 첨가한 총 7종류의 실험사료와 상업용 사료(CF)를 각각 10주간 공급하였다. 사육실험 종료 후, 생존율은 81% 이상으로 모든 실험구에서 유의한 차이가 없었

다( $P>0.05$ ). 어린 해삼의 증중율과 일간성장율은 Che 공급구에서 가장 높은 값을 보였고, Sar 공급구에서 가장 낮았다. 그러나 Che 공급구와 Mak 공급구간에 유의한 차이는 없었다. 상위 10마리 해삼의 증중율을 조사한 결과, Che 공급구에서 가장 높았으나, Und, Mak 및 CF 공급구와 유의한 차이를 보이지 않았다. 해삼의 일반성분 분석결과, 수분, 조단백질, 조지질 및 회분 함량은 실험구간에 유의한 차이가 없었다( $P>0.05$ ). 이상의 결과로부터, 배합 사료내 청국장과 막걸리 부산물의 첨가는 어린 해삼의 성장을 향상시킬 수 있을 것으로 보인다. 특히, 막걸리 부산물은 경제적인 해삼 배합사료를 제조 하는데 있어 효율적인 원료로 사용될 수 있을 것으로 판단된다.

### 3.3. 어린 해삼의 막걸리 부산물 이용성

본 연구는 해삼 배합사료내 막걸리 부산물의 첨가가 어린 해삼의 성장 및 체조성에 미치는 영향을 조사하기 위해 수행하였다. 평균체중 1.6 g 전후의 해삼을 각 수조에 60마리씩 3반복으로 수용하여 막걸리 부산물이 0%, 10%, 20%, 30% 및 40% 함유된 4종류 실험사료(M0, M10, M20, M30 및 M40)와 상업용 사료(CF)를 각각 12주간 공급하였다. 사육실험 종료 후, 생존율은 82% 이상으로 모든 실험구에서 유의적인 차이가 없었다( $P>0.05$ ). 해삼의 증중율과 일간성장율은 사료내 지층이 첨가 함량에 따라 영향을 받아 M10 공급구에서 가장 높았으며, M40 공급구에서 가장 낮은 값을 보였다. M10을 공급한 해삼의 증중율과 일간성장율은 M20 공급구와 유의한 차이는 없었다( $P>0.05$ ). 상위 15마리의 증중율은 M40 공급구에서 가장 낮았으며, 그 외 실험구간에 유의한 차이는 없었다. 건물과 NFE 소화율은 M30과 M40 공급구가 M0, M10 및 M20 공급구에 비해 유의하게 높게 나타났다( $P<0.05$ ). 단백질, 지질 및 에너지 소화율은 사료내 막걸리 부산물 첨가에 영향을 받지 않았다( $P>0.05$ ). 전어체의 일반성분 분석결과, 해삼의 조단백질과 조지질 함량은 실험구간에 유의한 차이가 없었으나( $P>0.05$ ), 수분과 회분 함량은 CF 공급구에서 가장 높은 값을 보였다. 이상의 결과로부터, 어린 해삼 배합사료내 막걸리 부산물을 20%까지 첨가하여도 좋을 것으로 판단된다.

### 3.4. 어린 해삼 배합사료에 다양한 부산물 첨가 효과

본 연구는 배합사료내 다양한 동물성 및 식물성 부산물의 첨가가 어린 해삼의 성장 및 체조성에 미치는 영향을 조사하기 위하여 평균체중 1.6 g 전후의 해삼을 각 수조에 50마리씩 3반복으로 수용하여 대조사료(CON)의 지충이 함량 대신 오징어 간분(SLP), 불가사리 분말(SST), 성게 껍질분(SUC), 우렁쉥이 껍질분(SSQ), 갯목(SSM) 그리고 비지(SCR)를 20%씩 첨가한 총 7 종류의 실험사료와 상업용 사료(CF)를 각각 12주간 공급하였다. 사육실험 종료 후, 생존율은 모든 실험구에서 83% 이상으로 유의적인 차이가 없었다( $P>0.05$ ). 해삼의 증중율과 일간성장율은 SLP 공급구에서 가장 높은 값을 보였고, CF 공급 가장 낮았으며( $P<0.05$ ). SCR과 CF 공급구간에 유의한 차이는 없었다( $P>0.05$ ). 그리고 SLP 공급구의 일간성장율은 SSQ 공급구간과 유의한 차이를 보이지 않았다. 해삼의 일반성분 분석결과, 수분, 조단백질, 조지질 및 회분 함량은 실험구간에 유의한 차이가 없었다( $P>0.05$ ). 이상의 결과로 볼 때, 어린 해삼 배합사료에 비지를 제외한 모든 부산물을 지충이 분말의 20% 대체 원료로 사용하여도 좋을 것으로 보이며, 그중에서 오징어 간분은 어린 해삼의 성장을 향상시키는데 가장 좋은 원료가 될 수 있을 것으로 판단된다.

## 4. 어린 해삼 배합사료 품질 향상을 위한 사료 첨가제

### 4.1. 어린 해삼 배합사료에 막걸리, 불가사리, 우렁쉥이, 감초, 개펄, 크릴 및 청국장 첨가 효과

본 연구는 어린 해삼 배합사료의 첨가제로서 막걸리 부산물, 불가사리 분말, 우렁쉥이 껍질분, 감초분, 개펄, 크릴분 및 청국장 분말의 첨가효과를 조사하기 위하여 평균 체중 2.0 g의 어린 해삼을 각 수조마다 50마리씩 3반복으로 수용하여 대조사료의 소맥분 대신 이들 원료들을 각각 5%씩 첨가하여 총 8종류의 실험사료와 상업용 수입사료를 8주간 공급하였다. 사육실험 종료 후, 생존율은 84% 이상으로 모든 실험구에서 유의적인 차이가 없었다

( $P>0.05$ ). 증중율과 일간성장율은 불가사리 분말, 우렁쉥이 껍질분 및 감초분말 첨가구에서 높게 나타났고, 상업용 수입사료 공급구에서 가장 낮았으나 ( $P<0.05$ ), 상업용 수입사료 공급구를 제외한 모든 실험구간에 유의한 차이가 없었다( $P>0.05$ ). 상위 15마리 어린 해삼의 증중율은 우렁쉥이 껍질 분말 첨가구에서 가장 높았으며, 수입사료 공급구에서 가장 낮은 값을 보였다. 이상의 결과들로부터, 배합사료에 우렁쉥이 껍질 첨가는 어린 해삼의 성장을 개선시키는데 도움이 될 것으로 기대된다.

## 5. 배합사료 실용화 및 사육조건

### 5.1. 사육수조 내 셸터와 모래의 효과

어린 해삼 사육수조 내 부착기질(셸터) 및 바닥재(모래)의 존재 유무에 대한 효과를 조사하기 위해 셸터와 모래를 넣지 않거나(Con) 셸터(Shelter)와 모래(Sand)를 각각 넣어주어 사육수조의 조건을 달리하였다. 평균체중 3.6 g의 어린 해삼을 10 마리씩 3반복으로 수용하여 상업용 수입사료(CP 16.8%, CL 0.3%)를 8주간 공급하였다. 생존율은 80~83%로 실험구간에 유의한 차이가 없었다. 증중율과 일간성장율은 수조 바닥에 모래를 넣어준 실험구에서 가장 좋았고, shelter와 모래를 넣어주지 않은 대조구에서 가장 낮은 값을 보였다. 해삼의 일반성분 분석결과, 수분함량은 실험구간에 유의한 차이가 없었다. 그러나 단백질과 지질 함량은 대조구에서 가장 높게 나타났으며, 회분 함량은 모래구에서 가장 높은 값을 보였다. 이상의 결과로 보아, 어린 해삼의 육성용 수조에 shelter와 모래를 넣어주는 것이 좋을 것으로 판단된다.

### 5.2. 대형수조(1톤) 사육실험

본 연구에서는 1톤 규모의 수조에서 배합사료와 상업용 수입사료의 효능을 비교하기 위해 평균체중 3.0 g의 어린 해삼을 수용하여 자체 제조한 3종류(D1, D2 및 D3) 실험사료와 상업용 시판사료(CP 16.8%, CL 0.3%)를 9주간 공급하였다. 사육실험 종료 후, 생존율은 모든 실험구에서 65%-69%로 나타났

으며, CF (69%), D1 (68%), D3(67%), D2(65%) 순이었다. 증중율과 일간성장율은 모든 실험구에서 23.4%-63.4%로 나타났으며, D2 공급구에서 63.2%로 가장 높았고, CF 공급구에서 23.4%로 가장 낮았다. 상위 30% 해삼(120 개체)의 증중율 또한 상업용 시판사료를 공급한 실험구에 비해 실험사료를 공급한 모든 실험구에서 높은 값을 보였다. 이러한 결과는, 본 실험에 사용된 실험사료를 상업용 수입사료에 충분히 대체할 수 있다는 것을 보여준다. 실험사료 중에서도 D2의 원료조성은 어린 해삼의 최대 성장을 위해 적절할 것으로 판단된다.

## V. 연구개발 결과의 활용계획

### 가. 활용계획

최근 우리나라에서 해삼의 가치가 높아지면서 해삼을 양식하는 양어가들이 증가하고 있는 실정이나, 타 어패류처럼 공급할 수 있는 배합사료가 개발되어 있지 않을 뿐 아니라, 해삼 육성을 위한 먹이로 양어가가 자체적으로 분말 해조류와 여러 가지 원료들을 혼합하여 제조하던가, 수입 배합사료를 공급하고 있는 실정이다. 따라서 실용배합사료를 개발하기 위하여 어린 해삼 배합사료의 필수영양소 균형을 검토함으로서 기초적인 표준배합사료를 설계하였다. 이를 기초로 어린 해삼 배합사료 개발을 위한 연구들이 체계적으로 수행되었다. 연구결과들을 요약해 보면, 우선, 대상종의 영양소 요구량과 균형을 조사함으로서 배합사료를 설계하는데 기초자료를 제공하였으며, 이러한 기초적인 정보를 바탕으로 영양소의 균형을 고려하면서 어린 해삼이 최대한 이용할 수 있는 값싼 원료의 선택과 이용성을 조사하여 경제적이고 고품질의 배합사료를 설계하였으며, 이와 동시에 대상종이 섭취한 사료의 영양소 소화율이 조사됨에 따라 실용사료의 원료선정을 위한 정보제공과 환경친화적인 배합사료 설계의 가능성을 제시하였다. 또한, 양식현장에서 선호하는 해조류



분말의 이용성을 조사하고, 값비싼 원료에 대한 선정된 원료의 대체효과 및 성장효과에 관한 연구를 반복적으로 수행하여 보다 경제적인 배합사료의 원료 성분비를 조절하였으며, 여러 가지 첨가제의 이용성에 관한 연구는 사료 품질 개선에 도움이 되었다. 이처럼 영양 요구 및 균형, 원료 이용성, 소화율, 첨가제 등의 거듭된 연구 결과들을 활용하여 어린 해삼 양식을 위한 실용적인 배합사료를 설계할 수 있었다. 또한, 표준배합사를 설계한 이후부터는 해삼 양식현장에서 주로 사용되고 있는 상업용 수입사료와의 비교실험을 반복적으로 수행하여 실험 배합사료가 수입사료에 비해 결코 뒤지지 않거나 오히려 우수한 결과를 증명하여 자체 제조사료 및 수입사료를 충분히 대체할 수 있을 것으로 판단된다.

본 사업에서 수행된 주요 결과들을 효율적으로 활용하기 위하여

- 실험을 통해 증명된 배합사료의 효능을 세미나, 학회 발표, 관련 잡지 등을 통하여 지속적으로 배합사료의 우수성을 양어가에게 홍보함으로써 배합사료 사용을 적극 유도한다.
- 개발된 배합사료 조성 및 제조기술을 사료제조 관련 민간기업에 이전하고 지도하여 고품질 사료가 상품화될 수 있도록 하고, 이와 동시에 배합사료의 우수성을 양어가들에게 홍보하여 배합사료를 사용할 수 있도록 적극 유도한다.
- 그리고, 각 사료업계에서 생산되어 시판되는 사료의 품질을 특정 단체나 기관(예, 국립수산과학원 등)에서 검사하여 수시로 발표할 수 있도록 하여 차후 해삼 양식 사료에 대한 신뢰성과 안정성에 대한 제도적 장치를 마련할 수 있도록 유도한다.

## 나. 기대효과

- 양식 대상 동물의 필수 영양소의 종류 및 요구량 설정은 사료영양분야에서 가장 먼저 수행되어야 한다. 해삼의 영양소 요구에 관한 연구는 세계적으로 수행되지 못했다. 따라서 본 과제 어린 해삼의 영양소 요구에 관한 연구 결과는 어린 해삼용 배합사료 설계에 기본적인 자료로 활용될 것이다.
- 배합사료의 원료의 선정 및 사용 범위는 그 사료의 품질 및 가격 결정에 매우 중요한 요인으로, 사료원료의 이용성에 관한 결과는 경제적이고 실용적인 어린 해삼용 배합사료 설계에 중요하게 사용될 것이다.
- 본 연구에서 설계된 배합사료와 수입사료와의 효능 비교는 양어가들이 어린 해삼 양식에 사용할 고품질의 사료 선정에 중요한 자료이며, 수입대체사료의 사용을 유도할 것이다.

## SUMMARY

Development of practical feed for the sea cucumber

### 1. Nutrients requirements for reference feed

#### 1.1. Effects of dietary protein and lipid levels on growth and body composition of juvenile sea cucumber

We investigated the proper dietary protein and lipid levels for growth and body composition of juvenile sea cucumber *Stichopus japonicus*. Three replicate groups of the sea cucumber (average weight of 1.1 g) were fed the experimental diets containing different levels of protein (10, 20, 30 and 40%) and lipid (3, 7 and 11%) for 10 weeks. At the end of the feeding trial, survival of each group was over 87%, and there was no significant difference among the groups. Weight gain and specific growth rate (SGR) of sea cucumber were significantly affected by dietary protein ( $P < 0.005$ ) and lipid levels ( $P < 0.001$ ). The highest weight gain and SGR were observed when sea cucumber fed the diet containing 30% protein with 3% lipid ( $P < 0.05$ ). Weight gain and SGR of the sea cucumber fed the diet containing 3% lipid were higher than the other groups at the same protein level except for 40% protein group ( $P < 0.05$ ). Protein content of the sea cucumber fed the diet containing 30% protein with 3% lipid was significantly ( $P < 0.05$ ) higher than those fed 20% protein diets with 7% or 11% lipids and 10% protein diet with 7% lipid. Moisture, lipid and ash contents of the whole body were not significantly different among the groups. Fatty acid compositions such as linoleic acid, EPA (20:5n-3) and DHA (22:6n-3) of the whole body were affected by those of dietary lipid sources. The results of this study indicate that the diet containing 30%

protein and 3% lipid is optimal for growth of juvenile sea cucumber.

### 1.2. The optimum dietary ascorbic acid level in sea cucumber

A 14-week feeding trial was carried out to evaluate the optimum dietary ascorbic acid (AA) level in juvenile sea cucumber, *Stichopus japonicus*. Sea cucumbers averaging  $1.49 \pm 0.07$  g (mean  $\pm$  SD) were randomly distributed into 18 rectangular plastic tanks of 20 liter capacity in a recirculating system (20 animals per tank). Six semi-purified experimental diets were formulated to contain 0 (AMP0), 30 (AMP24), 60 (AMP48), 120 (AMP100), 240 (AMP206) and 1200 (AMP1045) mg AA/kg diet in the form of L-ascorbyl-2-monophosphate (AMP) by using casein as the main protein source. Sea cucumbers were fed each of the six experimental diets in triplicate groups. At the end of 14 weeks of feeding trial, weight gain (WG), specific growth rate (SGR) and feed efficiency (FE) of sea cucumbers fed AMP100, AMP206 and AMP1045 were significantly ( $P < 0.05$ ) higher than those of animals fed AMP0, AMP24 and AMP48. However, there were no significant differences in WG, SGR and FE among sea cucumbers fed AMP100, AMP206 and AMP1045, and among animals fed AMP0, AMP24 and AMP48. Whole-body vitamin C concentration increased with AA content of the diets. Broken line analysis of WG showed an optimum dietary AA level of 105.3 mg AA/kg diet in sea cucumber. These results indicated that the optimum dietary vitamin C level in sea cucumber in the form of L-ascorbyl-2-monophosphate could be greater than 100 mg AA/kg diet but less than 105.3 mg AA/kg diet.

### 1.3. Requirements of dietary vitamin B<sub>2</sub> (Riboflavin) in juvenile sea cucumber

This study was conducted to evaluate dietary vitamin B<sub>2</sub> requirements

in juvenile sea cucumber, *Stichopus japonicus* that was initial averaging  $1.49 \pm 0.07$  g (mean $\pm$ SD). A 14-week feeding trial was conducted to evaluate the dietary requirement of vitamin B<sub>2</sub> in sea cucumber. Fish were fed semi-purified diets containing equivalent of 0, 5, 10, 20, 60, and 600 mg riboflavin/kg diet for 14 weeks. However, the final riboflavin levels were 0, 4, 9, 18, 57 and 577 mg riboflavin/kg diet. Six experimental diets were designated as B<sub>2</sub>-0, B<sub>2</sub>-4, B<sub>2</sub>-9, B<sub>2</sub>-18, B<sub>2</sub>-57 and B<sub>2</sub>-577. Casein was used as the main protein sources in the semi-purified experimental diets. Fish were distributed to each aquarium as a group of 20 fish, and fish were fed one of six experimental diets in triplicate groups. Fish were fed once a day for the 14 weeks of experiment periods. The water temperature maintained at  $13 \pm 1$  °C. After 14 weeks of the feeding trial, weight gain (WG), feed efficiency (FE) and specific growth rate (SGR) of sea cucumber fed the control diet were significantly lower than those of fish fed the vitamin B<sub>2</sub> supplemented diets in either form ( $P < 0.05$ ). There was no significant difference of WG, FE, SGR among vitamin B<sub>2</sub> contained 9, 18, 57 and 577 mg riboflavin/kg ( $P < 0.05$ ). However, sea cucumber fed the vitamin B<sub>2</sub>-4 mg riboflavin/kg was significantly lower than vitamin B<sub>2</sub> contained 18, 57 and 577 mg riboflavin/kg in WG and SGR ( $P < 0.05$ ). Broken line analysis of WG indicated that the dietary vitamin B<sub>2</sub> requirement of sea cucumber is  $10.7 \pm 1.22$  mg riboflavin/kg diet.

#### 1.4. The dietary $\alpha$ -tocopherol requirement in sea cucumber

This study was conducted to evaluate the dietary  $\alpha$ -tocopherol (Vitamin E) requirement in juvenile sea cucumber, *Stichopus japonicus*. Sea cucumbers averaging  $1.48 \pm 0.07$  g (mean $\pm$ SD) were randomly distributed into 18 rectangular plastic tanks of 20 capacity in are circulating system

(20 animals per tank). Six semi-purified experimental diets with average protein and crude lipid levels (dry matter) of  $29.7 \pm 0.36\%$  and  $4.39 \pm 0.23\%$  (mean $\pm$ SD), respectively were formulated to contain 0 (E4), 15 (E12), 30 (E23), 60 (E44), 120 (E77) and 600 (E378) mg  $\alpha$ -tocopherol/kg diet, supplied as dl- $\alpha$ -tocopheryl acetate. Diets were analyzed for  $\alpha$ -tocopherol content by HPLC and the  $\alpha$ -tocopherol levels were 4.01, 12.4, 23.1, 44.3, 77.4 and 378 mg  $\alpha$ -tocopherol/kg diet for E4, E12, E23, E44, E77 and E378 diets, respectively. Casein and defatted fish meal were used as the protein sources in the diets while wheat flour was the carbohydrate source. Sea cucumbers were fed each of the experimental diets in triplicate groups. At the end of the 14-week feeding trial, weight gain (WG), specific growth rate (SGR) and feed efficiency (FE) of sea cucumbers fed E23, E44, E77 and E378 diets were significantly ( $P < 0.05$ ) higher than those of animals fed E4 and E12 diets. However, there were no significant differences in WG, SGR and FE among sea cucumbers fed E23, E44, E77 and E378 diets or among those fed E4 and E12 diets. Survival of sea cucumbers fed E44, E77 and E378 diets were significantly higher than those of animals fed E4, E12 and E23 diets. However, there were no significant differences among sea cucumbers fed E4, E12 and E23 diets or among those fed E44 and E77 diets. Whole-body vitamin E concentration increased with  $\alpha$ -tocopherol content of the diets. Broken line analysis of WG showed an optimum dietary  $\alpha$ -tocopherol requirement of 41 mg  $\alpha$ -tocopherol/kg diet in sea cucumber. These results indicated that the optimum dietary  $\alpha$ -tocopherol requirement in sea cucumber in the form of dl- $\alpha$ -tocopheryl acetate could be higher than 23.1 mg  $\alpha$ -tocopherol/kg diet but lower than 44 mg  $\alpha$ -tocopherol/kg diet.

## **2. Optimum energy source and level for high quality feed**

### **1.1. Effect of various protein source in practical diet on growth and body composition of juvenile sea cucumber**

A feeding trial was carried out to evaluate the utilization of various protein sources for growth and body composition of juvenile sea cucumber. Three replicate groups of the sea cucumber (average weight,  $0.8 \pm 0.01$  g) were fed one of seven diets containing white fish meal (WFM), soybean meal (SM), wheat flour (WF), sesame residues (SR), soybean-curd residues (SCR), *Sargassum* powder (SP) and mixture of six sources (MIX) as a dietary protein sources for 8 weeks. After the feeding trial, survival of each group was ranged from 74% to 87% and there was no significant difference among the groups. Weight gain (WG) and specific growth rate (SGR) of sea cucumber was significantly affected by dietary protein source ( $P < 0.05$ ). The highest WG and SGR was observed when sea cucumber fed the diet containing SP but there was no significant difference from that of sea cucumber fed the diets containing SM and MIX. Moisture, crude protein, crude lipid and ash contents of the whole body were not significantly different among the groups. The results of this study indicate that the SP, SM and MIX could be use to protein sources in practical diets for juvenile sea cucumber.

### **2.2. Effect of various lipid source in practical diet on growth and body composition of juvenile sea cucumber**

This study as conducted to investigate the effects of dietary lipid sources on survival, growth and body composition of juvenile sea cucumber. Three replicate groups of the sea cucumber (average weight,  $1.4 \pm 0.02$  g) were fed one of four diets containing squid liver oil (SLO),

soybean oil (SO) and linseed oil (LO) as a dietary lipid sources for 12 weeks. After the feeding trial, survival of each group was ranged from 74% to 83% and there was no significant difference among the groups. The highest Weight gain (WG) was observed in sea cucumber fed the SLO diet whereas WG of sea cucumber fed the SO diet was the lowest among the groups ( $P < 0.05$ ). No significant difference were found in moisture, crude protein, crude lipid and ash contents of the whole body of sea cucumber fed the different diets ( $P > 0.05$ ). Contents of 20:5n-3 and 22:6n-3 such as n3-HUFA of sea cucumber fed the SLO diet was significantly higher than those from sea cucumber fed the other diets. The results of this study indicate that squid liver oil could be use to protein sources in practical diets for juvenile sea cucumber.

### 2.3. Effects of dietary carbohydrate source and level on growth and body composition of juvenile sea cucumber

A feeding trial of three dietary carbohydrate sources (wheat flour, a -starch and sodium alginate) and two dietary carbohydrate levels (15% and 30%) factorial design with three replications was conducted to investigate the proper dietary carbohydrate source and its level on growth of juvenile sea cucumber. In addition, sea cucumber fed the formulated diets was compared with the sea cucumber fed the dried *Sargassum thunbergii*. Juvenile sea cucumber (average body weight of 770 mg) were fed the experimental diets once a day for 10 weeks. After feeding trial, survival rate was not significantly different among the groups. Mean weight gain was significantly affected by both dietary carbohydrate source ( $P < 0.01$ ) and level ( $P < 0.001$ ), and tended to decrease as dietary carbohydrate level increased. Mean weight gain of sea cucumber fed the diet containing 15% wheat flour was highest, but not significantly different



from those of sea cucumber fed the diet containing 15% sodium alginate and *Sargassum thunbergii* ( $P>0.05$ ). No significant difference was observed in the contents of moisture, crude protein and crude lipid of the whole body. Ash content was significantly affected by dietary carbohydrate source ( $P<0.05$ ), and ash content of sea cucumber fed the diet containing 30%  $\alpha$ -starch significantly ( $P<0.05$ ) higher than that of sea cucumber fed the diets containing 15% and 30% sodium alginate. Based on the results of this study, sea cucumber utilized wheat flour and sodium alginate more efficiently than  $\alpha$ -starch and a diet containing 25% carbohydrate is recommended for growth juvenile sea cucumber.

#### 2.4. Optimum dietary protein and lipid levels for growth of juvenile sea cucumber

A feeding trial of three protein levels (20%, 30% and 40%) and two lipid levels (2% and 10 %) factorial design was conducted to investigate the proper dietary protein and lipid levels for the growth of juvenile sea cucumber. Dietary protein content was adjusted by adding with different levels of soybean meal and lipid content was adjusted by squid liver oil and soybean oil. Three replicate groups of the sea cucumber (average weight of 1.3 g) were fed the six experimental diets for 12 weeks. At the end of the feeding trial, survival of each group was not difference among the groups ( $P>0.05$ ). Weight gain and specific growth rate of sea cucumber was significantly affected by dietary protein ( $P<0.006$ ) and lipid levels ( $P<0.001$ ). The highest weight gain and specific growth rate were observed in sea cucumber fed the P20L2 diet ( $P<0.05$ ). At the same dietary protein levels, weight gain and specific growth rate of sea cucumber fed the diet containing 2% lipid were higher those of sea cucumber fed the 10% lipid diets ( $P<0.05$ ). Apparent digestibility

coefficients (ADCs) of dry matter, crude protein, nitrogen-free extract and gross energy of sea cucumber fed the 2% lipid diets were significantly higher those of the 10% lipid diets regardless of protein levels ( $P<0.05$ ). Moisture, crude protein, crude lipid and ash contents of the whole body were not significantly different among the groups. The results of this study indicate that the diet containing 20% protein with 2% lipid is optimal for growth of juvenile sea cucumber.

### **3. The utilizations of feed ingredients for least cost feed formulation**

#### **3.1. Effect of *Sargassum thunbergii* meal in the formulated diet on growth and body composition of juvenile sea cucumber**

This study was conducted to investigate the effect and proper level of *Sargassum thunbergii* meal in formulated diet for juvenile sea cucumber. Three replicate groups of juvenile sea cucumber (averaging weight 1.1 g) were fed one of five experimental diets containing 0% (S0), 20% (S20), 40% (S40), 60% (S60) and 100% (S100) dried *S. thunbergii* meal and commercial feed (CF) for 12 weeks. After the feeding trial, survival was over 83% and was not significantly different among the groups ( $P>0.05$ ). The best weight gain was obtained from sea cucumber fed the S20 diet and weight gain of sea cucumber fed the S100 was the lowest ( $P<0.05$ ). Weight gain of the top 30% sea cucumber fed the S60 diet was significantly higher than that of sea cucumber fed the other diets ( $P<0.05$ ) but not significantly different from that of sea cucumber fed the S40 diet ( $P>0.05$ ). Apparent digestibility coefficients (ADCs) of dry matter, crude protein, nitrogen-free extract and gross energy of sea cucumber was decreased with increasing *S. thunbergii* meal in diet, whereas ADC of lipid was not significantly different among the groups. Moisture, crude protein,

crude lipid and ash contents of the whole body were not affected by levels of *S. thunbergii* meal ( $P>0.05$ ). The results of this study suggest that the growth of juvenile sea cucumber may be improved by *S. thunbergii* supplementation, and its optimum level is 40%.

### 3.2. Effect of various plant ingredients in the formulated diet on growth and body composition of juvenile sea cucumber

A 10-week feeding trial was conducted to investigate the effects of several plant ingredients in formulated diets on growth and body composition of juvenile sea cucumber. Three replicates of juvenile sea cucumber (averaging weight 1.5 g) were fed one of eight diets containing *Sargassum thunbergii* (Sar), *Undaria* (Und), *Laminaria* (Lam), Cabbage (Cab), Cheonggukjang (Che), Makgeolli dreg (Mak), rice straw (Ric) and commercial feed (CF). At the end of feeding trial, survival was over 81% and was not significantly different among the groups. Weight gain (WG) and specific growth rate (SGR) of sea cucumber fed the Che diet were significantly higher than those of sea cucumber fed the other diets but not different from those of sea cucumber fed the Mak diet. The lowest WG and SGR were observed in sea cucumber fed the Sar diet. Weight gain of the top 15 sea cucumber fed the Che diet was the highest among the groups ( $P<0.05$ ) but not significantly different from that of sea cucumber fed the Und, Mak and CF diets ( $P>0.05$ ). No significant differences were found in moisture, crude protein, crude lipid and ash contents of the whole body of sea cucumber among the groups. The results of this study suggest that dietary supplementation with Cheonggukjang and Makgeolli dreg may improve the growth of juvenile sea cucumber, especially Makgeolli dreg could be used as good ingredient for economical feed formulation.

### 3.3. Effect of Makkolli dreg in the formulated diet on growth and body composition of juvenile sea cucumber

This study was conducted to investigate the effect and proper level of Makkolli dreg in formulated diet for juvenile sea cucumber. Three replicate groups of juvenile sea cucumber (averaging weight 1.6 g) were fed one of five experimental diets containing 0% (M0), 10% (M10), 20% (M20), 30% (M30) and 40% (M40), and commercial feed (CF) for 12 weeks. After the feeding trial, survival was over 82% and was not significantly different among the groups ( $P>0.05$ ). The best weight gain (WG) and specific growth rate (SGR) were obtained from sea cucumber fed the M10 diet and WG and SGR of sea cucumber fed the M40 diet was the lowest ( $P<0.05$ ), but WG and SGR of sea cucumber fed the M10 diet did not differ from those of the sea cucumber fed the M20 diet ( $P>0.05$ ). Apparent digestibility coefficients (ADCs) of dry matter and nitrogen-free extract of sea cucumber fed the M30 and M40 diets were significantly higher than those of sea cucumber fed the M0, M10 and M20 diets, respectively ( $P<0.05$ ). The highest moisture and ash contents were observed in sea cucumber fed th CF diet ( $P<0.05$ ). The results of this study suggest that the growth of juvenile sea cucumber may be improved by Makkolli dreg supplementation, and its optimum level is 20%.

### 3.4. Effect of various animal and plant by-products in the formulated diet on growth and body composition of juvenile sea cucumber

A 12-week feeding trial was conducted to investigate the effects of several animal and plant by-products in formulated diets on growth and body composition of juvenile sea cucumber. Three replicates of juvenile sea cucumber (averaging weight 1.5 g) were fed seven experimental diets

replacing squid liver powder (SLP), Sea star (SST), Sea urchin tunic (SUC), sea squirt tunic (SSQ), sesame seed meal (SSM) and Soybean cured residue (SCR) at each 20% with substituting the *Sargassum thunbergii* powder in the control diet (CON) and commercial feed (CF). At the end of feeding trial, survival was over 83% and was not significantly different among the groups. The best weight gain (WG) and specific growth rate (SGR) were observed in sea cucumber fed the SLP diet ( $P < 0.05$ ) but not significantly different from those of sea cucumber fed the SSQ diet ( $P > 0.05$ ), whereas, the lowest WG and SGR were observed in sea cucumber fed the CF diet but not significantly different from those of sea cucumber fed the SCR diet. No significant differences were found in moisture, crude protein, crude lipid and ash contents of the whole body of sea cucumber among the groups. The results of this study suggest that the all by-products of except for soybean cured residue may be replaced with 20% of dietary *Sargassum thunbergii* powder without a reduction in sea cucumber growth, especially squid liver powder could be used as good ingredient for economical feed formulation.

#### **4. The utilizations of feed additives for improvement of feed quality**

4.1 Effects of supplemental makkolli dreg, sea star, sea squirt tunic, licorice, mud, krill meal and chenggukjang in the diets on growth and body composition of juvenile sea cucumber

A 8-week feeding trial was conducted to investigate the effects of several additives in experimental diets on the growth and body composition of juvenile sea cucumber. Three replicates of juveniles (average weight  $2.0 \pm 0.06$  g) were fed one of eight experimental diets

containing makkolli dreg, sea star, sea squirt tunic, licorice, mud, krill meal and chenggukjang and commercial diet. Survival (84~89%) was not affected by the different dietary additives ( $P>0.05$ ). Weight gain and specific growth rate of sea cucumber fed the sea star, sea squirt tunic and licorice were significantly higher than those of sea cucumber fed the commercial diet ( $P<0.05$ ) but not significantly different from those of sea cucumber fed the experimental diets except for commercial diet. The best weight gain of the top 15 sea cucumber was found in sea cucumber fed the diets containing sea squirt tunic. The results of this study suggest that growth of juvenile sea cucumber may improved by sea squirt tunic supplementation in diet.

## **5. Evaluation of formulated diets and rearing condition**

### **5.1. Effect of shelter and sand in the rearing tank on growth and body composition of juvenile sea cucumber**

Three types of bottom substances (free-substrate, shelter and sand) were prepared to find proper rearing condition for growth of the juvenile sea cucumber. Three replicates of ten juveniles (average weight 3.6 g) were fed commercial diet for 8 weeks. After feeding trial, survival was not significantly different among the groups. Weight gain and specific growth rate of sea cucumber in sand tank were significantly higher than those of sea cucumber in free-substrate and shelter tanks. No significant difference were found in contents of crude protein and lipid contents of the whole body of sea cucumber. Ash content of sea cucumber in sand tank was significantly higher than of sea cucumber in other tanks. The results of this study suggest that growth of juvenile sea cucumber may improved by set a shelter and sand in rearing tank

## 5.2. Evaluation of experimental diets for growth of juvenile sea cucumber in 1 ton tank

A 8-week feeding trial was conducted to investigate the effects of formulated diets (D1, D2 and D3) and commercial diet (CF) on the growth of juvenile sea cucumber in 1 ton tank. Four hundred juveniles (average weight  $3.0 \pm 0.08$  g) were fed for 9 weeks. After feeding trial, survival was observed from 65% to 69% all the treatments (CF- 69%, D1- 68%, D3- 67%, D2- 65%). Weight gain of sea cucumber showed ranging from 23.4 to 63.4. The highest weight gain was observed in sea cucumber fed the D2 diet, that of sea cucumber fed the CF diet was the lowest. Based on the results from this study, the dietary formulation used in the D2 can be applied in the practical diet for juvenile sea cucumber.

여 백



# CONTENTS

<b>Chapter 1 Introduction</b> .....	37
<b>Chapter 2 Present status of development of feed for juvenile sea cucumber culture in the world</b> .....	39
<b>Chapter 3 Results</b> .....	41
<b>Section 1. Nutrients requirement for reference feed</b> .....	41
1. Chemical analysis of dietary ingredients and sea cucumber .....	41
2. Effects of dietary protein and lipid levels on growth and body composition of juvenile sea cucumber .....	42
3. The optimum dietary vitamin C (ascorbic acid) level in sea cucumber .....	54
4. Requirements of dietary vitamin B <sub>2</sub> (riboflavin) in juvenile sea cucumber .....	69
5. The dietary vitamin E ( $\alpha$ -tocopherol) requirement in juvenile sea cucumber .....	80
<b>Section 2. Optimum energy source and level for high quality feed formulation</b> .....	90
1. Effect of various protein source in practical diet on growth and body composition of juvenile sea cucumber .....	90
2. Effect of various lipid source in practical diet on growth and body composition of juvenile sea cucumber .....	101
3. Effects of dietary carbohydrate source and level on growth and body composition of juvenile sea cucumber .....	111
4. Optimum dietary protein and lipid levels for growth of juvenile sea cucumber .....	121

<b>Section 3. The utilizations of feed ingredients for least cost feed formulation</b> .....	135
1. Effect of <i>sargassum thunbergii</i> meal in the formulated diet on growth and body composition of juvenile sea cucumber .....	135
2. Effect of various plant ingredients in the formulated diet on growth and body composition of juvenile sea cucumber .....	147
3. Effect of Makkolli dreg in the formulated diet on growth and body composition of juvenile sea cucumber .....	159
4. Effect of various by-products in the formulated diet on growth and body composition of juvenile sea cucumber .....	167
<b>Section 4. The utilizations of feed additives for improvement of feed quality</b> .....	177
1. Effects of supplemental makkolli dreg, sea star, sea squirt tunic, licorice, mud, krill meal and chenggukjang in the diets on growth and body composition of juvenile sea cucumber .....	177
<b>Section 5. Evaluation of formulated diets and rearing condition</b> .....	185
1. Effect of shelter and sand in the rearing tank on growth and body composition of juvenile sea cucumber .....	185
2. Evaluation of experimental diets for growth of juvenile sea cucumber in 1 ton size tank .....	190
<b>Chapter 4 Goal attainment of the present project and contribution to related fields</b> .....	199
<b>Chapter 5 Application plan of results</b> .....	201
<b>Chapter 6 References</b> .....	203

# 목 차

제 1 장	연구개발과제의 개요	37
제 2 장	국내의 기술개발 현황 및 과학기술정보	39
제 3 장	연구개발 내용 및 결과	41
제 1 절	표준 배합사료 설계를 위한 영양소 요구 및 균형	41
1.	사료 원료의 구입, 가공 및 영양화학성분 분석	41
2.	어린 해삼 배합사료내 적정 단백질 및 지질함량	42
3.	어린 해삼의 비타민 C (Ascorbic acid) 요구량	54
4.	어린 해삼의 비타민 B <sub>2</sub> (Riboflavin) 요구량	69
5.	어린 해삼의 비타민 E (α-Tocopherol) 요구량	80
제 2 절	고효율 배합사료 설계를 위한 에너지원 연구	90
1.	어린 해삼 배합사료의 단백질원 평가	90
2.	어린 해삼 배합사료의 지질원 평가	101
3.	어린 해삼 배합사료의 탄수화물원 및 함량	111
4.	단백질원으로 대두박을 사용한 어린 해삼 배합사료내 적정 단백질 및 지질함량	121
제 3 절	경제적인 배합사료 설계를 위한 사료 원료의 이용성	135
1.	어린 해삼의 지층이 분말 이용성	135
2.	어린 해삼 배합사료에 식물성 원료의 첨가 효과	147
3.	어린 해삼의 막걸리 부산물 이용성	159
4.	어린 해삼 배합사료에 다양한 부산물 첨가 효과	167
제 4 절	어린 해삼 배합사료의 품질 향상을 위한 연구	177

1. 어린 해삼 배합사료에 막걸리 부산물, 불가사리, 우렁쉥이 껍질, 감초, 개펄, 크릴 및 청국장 첨가 효과 .....	177
제 5 절 배합사료 실용화 및 사육조건 .....	185
1. 사육수조 내 셀터와 모래의 효과 .....	185
2. 대형수조 사육실험 .....	190
제 4 장 연구개발 목표달성도 및 관련분야에의 기여도 .....	199
제 5 장 연구개발결과n의 활용계획 .....	201
제 6 장 참고문헌 .....	203

## 제 1 장 연구개발과제의 개요

해산 어패류 양식에 있어 사료공급은 양식 생산비의 절반 이상을 차지할 뿐 아니라 양식에 의한 수질오염은 급여되는 사료로부터 유래하기 때문에 대상어종을 위한 배합사료개발은 양식생산성과 환경보호 측면에서 가장 우선적으로 고려되어야 한다. 배합사료의 가격은 배합원료 단가, 영양소의 종류와 균형에 따라 달라지는데, 경제적으로 배합되어야 할 원료의 종류나 적정 첨가범위, 필수영양소의 종류 및 함량은 양식 대상종에 따라 달라지기 때문에 그 종에 맞도록 연구가 수행되어야 한다. 하지만 현재 우리나라의 해삼 양식은 초기단계에 있기 때문에 배합사료 개발에 관한 연구는 거의 수행되지 못한 실정이다. 그래서 해삼 양식시 사용되는 먹이는 대부분 외국에서 수입되는 사료에 의존하고 있다.

그러나 상업용 사료의 품질은 검정되지 못한 채 사용되고 있으며, 실제 수입되고 있는 사료의 영양성분을 분석하여 보면 그 함량의 변화가 심하다. 이는 표준 배합비의 의해서 사료가 제조되지 못하고 있음을 의미한다. 때문에 해삼 양식에 적합한 배합비에 관한 연구가 체계적으로 수행되어, 국내에서도 완전 배합사료가 개발되어 보급되어야 할 것이다. 이를 위해 본 연구는 국내 해삼 양식을 위한 배합사료를 개발하여 실용화하고자 한다.

여 백

## 제 2 장 국내외 기술개발 현황 및 과학기술정보

해삼은 우리나라를 비롯한 중국, 일본 및 러시아 등에서 식용으로 수요가 높은 종이다. 중국의 경우, 이미 오래전부터 해삼의 종묘생산 및 양식기술에 관해 연구하였으며, 현재 매년 대량으로 생산하고 있다. 우리나라 해삼 생산량은 80년대에 매년 3천톤 이상을 생산하였으나, 90년대에 들어와 2천여톤 내외로 감소하면서 2000년대에 들어서에는 1천여톤 내외로 생산량이 감소하였다. 이처럼 우리나라 연안의 해삼 생산량이 감소하게 된 이유가 남획이나 환경오염 등이 주된 원인이다. 하지만, 최근 들어 해삼이 건강식품으로 대두되면서 해삼 생산량을 증가시키기 위해 양식에 대한 관심이 증가하고 있는 실정이나 아직까지 우리나라의 해삼양식 기술은 초기단계이기 때문에 중국의 기술력에 의존하고 있으며, 양식기술을 확립하기 위해 많은 연구 또한 이루어지고 있다. 우리나라 해삼에 대한 연구는 1990년대 국립수산물학원 수산종묘시험장의 종묘생산기술 개발을 시작으로 2000년에 들어와 국립수산물시험장에서 종묘를 생산, 매년 소규모이기는 하지만 일정량의 종묘를 연안에 방류하고 있는 실정이다. 그리고 최근에 종묘생산 기술이 확립되어 소량씩 양식되거나 방류되고 있어 앞으로 해삼의 양식 생산량이 지속적으로 증가될 것으로 판단된다.

### 1. 해삼 양식에 사용되고 있는 사료의 문제점 및 분석

현재 고부가가치성이 있는 해삼을 양식하는 양어가들이 늘어나고 있는 실정이며 이들은 해삼용 배합사료를 공급받기를 원하고 있다. 하지만, 우리나라의 해삼 양식은 초기단계에 있기 때문에 배합사료 개발에 있어 대상종의 영양소, 즉 단백질, 아미노산, 지질, 에너지, 지방산, 비타민 및 미네랄 등의 영양요구에 관한 기초적인 연구가 수행되어야 하는데, 국내외에서 해삼 배합사료 개발을 위한 영양연구는 거의 없는 실정이다. 그래서 해삼 양식시 사용되

는 먹이는 대부분 중국에서 수입되는 사료에 의존하고 있다. 상업용 수입사료는 조성이나 가공 형태에 대한 체계적인 연구 결과나 정보 없이 사료가 시판되고 있어 품질이 검정되지 못한 채 사용되고 있으며, 실제 수입되고 있는 사료의 영양성분을 분석하여 보면 그 함량의 변화가 심하다. 이는 표준 배합비에 의해서 사료가 제조되지 못하고 있음을 의미한다. 또한, 수입 사료는 수급의 불안정, 외화 낭비 등의 제반 문제점들을 가지고 있어 국가적으로도 큰 손실이 초래한다.

## 2. 해삼 배합사료에 관한 연구결과

한국, 중국 및 일본을 제외하고 해삼을 식용으로 양식하는 나라가 거의 없기 때문에 해삼에 관한 연구는 제한적이며, 수행된 대부분의 연구들은 해삼의 생리 및 생물학적 관점에 중점을 두어 수행되었기 때문에 앞서 언급하였듯이 해삼의 배합사료 개발을 위한 영양학적 연구가 거의 실행되지 않은 실정이다.

기존에 연구된 자료를 살펴보면, 단백질 요구량, 사료의 아미노산 조성 및 Ca/P 비율, 이매패류의 분과 해조류 분말의 이용성, 수온과 어체 크기의 영향 등이 있다.



## 제 3 장 연구개발 내용 및 결과

### 제1절 표준 배합사료 설계를 위한 영양소 요구 및 균형

#### 1. 사료 원료의 구입, 가공 및 영양화학성분 분석

기존의 연구결과와 사전 조사를 기반으로 해삼양식에 주로 사용되는 양어가들의 자체제조 사료의 원료조성 및 수입산 사료의 영양성분을 검토하여 해삼 배합사료에 혼합될 원료를 각각 구입하였으며, 필요에 따라 가공하고, 원료별로 영양성분을 자체 또는 의뢰하여 분석하였다. 배합사료 제조를 멸치어분(칠레), 대두박, 미역분말, 소맥분, 지충이, 텍스트린 등의 단백질 및 탄수화물 원료들과 squid liver oil, soybean oil, 및 linseed oil 등의 각종 유지류를 사료의 지질원으로 사용하기 위해 필요시마다 구입하여 냉장 보관하였다. 그리고 오징어 간분, 아무르 불가사리, 우렁쉥이 껍질, 성게 껍질, 막걸리 부산물, 갯목, 비지 등의 동·식물성 부산물을 구입하였으며, 배합사료의 우수성을 증명하기위해 상업용 사료를 필요시 마다 구입하여 비교실험 하였다. 위의 각 원료 및 사료들을 가공, 분쇄 또는 추출하여 수분, 단백질, 아미노산, 지질, 지방산, 회분, 인, 열량, 섬유질 및 비타민류 등을 (각 연구 항목에 표시함) 분석하여 표준 배합사료 설계시에 적용하였다.

기존에 수행된 연구결과 및 자료 분석을 바탕으로 표준 배합사료를 설계하여 배합사료 제조시 가장 우선시 되어야 할 필수영양소 요구 및 균형을 조사하였다. 수행하고 있는 연구는 다음과 같다.

## 2. 어린 해삼 배합사료내 적정 단백질 및 지질함량

### 가. 서론

해삼류는 세계적으로 1,100여종 이상 분포하고 있으며, 우리나라에는 돌기 해삼(*Stichopus japonicus*)이 주로 식용으로 이용되고 있다. 해삼은 칼로리가 낮고 필수아미노산과 미네랄 등이 풍부한 well-being 보양식품으로 오래전부터 한국, 중국, 일본 및 러시아 등에서 비교적 고가로 판매되고 있을 뿐 아니라 그 수요도 높다(Sloan, 1984). 그러나 최근에 무분별한 남획과 환경오염 등으로 인해 해삼 생산량이 감소함에 따라(Chen, 2004; Conand, 2004; Uthicke, 2004) 해삼의 인공종묘생산기술의 확립과 함께 양식에 대한 관심이 증가되고 있다. 중국과 일본에서는 1980년대부터 해삼 종묘생산이 수행되었으며(Zhang and Liu, 1998), 우리나라에서는 1990년대 종묘생산기술이 개발됨에 따라 매년 종묘를 연안에 방류하고 있다.

지금까지 해삼에 관한 연구로는 섭식과 소화(Tanaka, 1958b), 생식(Tanaka, 1958a), 유생사육(Sui et al., 1986; Sui, 1989), 대사(Kato and Hirata, 1990; Kashenko, 2000; Li et al., 2002) 및 추출물(Tian et al., 2005) 등 생물학적 특성에 초점을 두고 진행되었고, 해삼 양식에 필요한 배합사료에 관한 연구는 거의 없다. 이처럼 우리나라의 해삼 양식은 초기단계에 있고 배합사료 개발에 관한 연구가 거의 없기 때문에 해삼 양식시 사용되는 양성용 먹이는 자연산 해조류(Sui, 1988; Battaglione et al., 1999) 또는 외국에서 수입되는 사료에 대부분 의존하고 있다. 해조류의 경우, 해삼을 양성하기 위한 필요량을 항상 충족시키기 어려워 수급이 불안정하며, 수입 배합사료는 조성이나 가공 형태에 대한 체계적인 연구 결과 없이 제조되어 시판되고 있다. 실제 수입 사료의 영양성분을 분석하여 보면 그 영양소 함량 변화가 심한데, 이는 해삼 배합사료의 배합비가 일정하지 않은 상태로 사료가 제조되고 있음을 의미한다. 또한, 수입 사료는 수급의 불안정 및 외화 낭비 등의 제반 문제점들을 가지고 있어 효율적인 해삼 양식의 걸림돌이 될 수 있다. 그러므로 효율적인 해

삼 양식을 위해 경제성이 있는 적정 배합사료를 개발하는 것이 필요하다.

배합사료를 개발하기 위해서는 먼저 대상종의 필수영양소 요구에 대한 연구를 수행하여 그 중에 적합한 사료를 설계해야 한다. 사료 단백질은 성장에 직접적으로 영향을 미치는 가장 중요한 요소이며, 단백질 원료 가격이 비싸기 때문에 사료 단가에도 영향을 미칠 수 있다(Lovell, 1989). 또한, 지질은 에너지 value가 높은 영양소로서 동물의 성장이나 사료섭취에 영향을 미칠 수 있을 뿐 아니라, 사료내 적절한 지질함량은 단백질 효율을 향상시켜 단백질 절약효과를 가져올 수 있다. 따라서 사료 단백질과 지질 함량은 사료 배합시 중요하게 고려되어야 할 사항으로 경제적인 배합사료 개발을 위해 우선적으로 연구되어야 한다. 그래서 본 연구는 단백질과 지질 함량이 다르게 함유된 배합사료가 어린 돌기해삼의 성장과 체조성에 미치는 영향을 조사하였다.

## 나. 재료 및 방법

### 실험사료

실험사료의 원료조성, 일반성분 및 지방산 조성을 Table 1과 2에 나타내었다. 단백질(10%, 20%, 30% 및 40%)과 지질(3%, 7% 및 11%) 함량을 달리한 4×3 factorial design으로 총 12 종류의 실험사료를 제조하였다. 실험사료의 단백질원으로 어분과 casein을, 지질원으로는 오징어간유와 대두유를 그리고 탄수화물원으로 dextrin을 사용하였으며, 사료내 단백질과 지질 함량은 이 원료들의 비율에 따라 조절되었다. 이와 같이 설계된 실험사료의 원료들을 잘 혼합하여 펠릿으로 성형한 후, 펠릿을 분말형태로 다시 분쇄하여 냉장(-30℃) 보관하면서 공급하였다.

### 해삼 및 사육관리

전남 완도의 개인 양식장에서 종묘 생산된 어린 해삼을 구입하여 대형 콘크리트 수조에 수용 후 상품사료를 1일 1회 공급하면서 2주간 적용시켰다.

사육실험은 총 36개의 수조(50 l 사각수조)에 외형적으로 건강한 어린 해삼 (평균 체중:  $1.1 \pm 0.05$  g)을 각각 50마리씩 3반복으로 수용하였으며, 실험사료를 어린 해삼 체중의 5%씩 1일 1회(17:00 h) 공급하면서 8주간 사육실험 하였다. 사육실험 기간 동안 수온은  $9.8 \pm 2.30$  °C, 비중은  $1.025 \pm 0.0006$  이었으며, 각 수조마다 여과해수를 1 l/min로 조절하여 흘려주었다. 그리고 각 수조에 남은 사료 찌꺼기는 이틀마다 사이펀으로 제거하였다.

#### 시료채취 및 성분분석

최초 성분 분석용으로 최초 어린 해삼 100마리를 무작위로 표본 추출하였으며, 실험 종료시에는 각 실험수조에 생존한 모든 어린 해삼을 성분분석용 시료로 취하여 동결건조하여 보관하였다. AOAC (1990)의 방법에 따라 조단 백질(N $\times$ 6.25)은 Auto Kjeldahl System (Buchi B-324/435/412, Switzerland)을 사용하여 분석하였고, 조지질은 ether를 사용하여 추출하였으며, 수분은 105 °C의 dry oven에서 6시간 동안 건조 후 측정하였다. 회분은 600 °C 회화로에서 4시간 동안 태운 후 정량 하였다. 또한, 조섬유는 Automatic analyzer (Velp Fiwe6, Italia)를 이용하여 분석하였으며, 총에너지는 adiabatic bomb calorimeter (Parr, USA)를 이용하여 측정하였다. 지방산 분석을 위해 Folch et al. (1957)의 방법에 의해 총 지질을 추출하여 14% BF<sub>3</sub>-methanol로 methylation시킨 후, capillary column (OMEGWAX<sup>TM</sup> 250, 30 m  $\times$  0.25 mm  $\times$  0.25  $\mu$ m, USA)이 장착된 gas chromatography (HP-6890 PLUS GC, USA)로 지방산을 분석하였다. Carrier gas는 헬륨을 사용하였으며, oven 온도는 최초 200 °C에서 230 °C까지 5 °C/min 증가시켰고, 이어서 237 °C까지 0.5 °C/min 증가시켰다. 이때 injector 온도는 250 °C, detector (FID) 온도는 270 °C로 각각 설정하였으며, 표준 지방산으로 37개 지방산 혼합물(PUFA 37 Component FAME Mix, USA)을 사용하였다.

Table 1. Ingredient and proximate composition of the experimental diets for *Stichopus japonicus*

	Diets											
	P10 L3	P10 L7	P10 L11	P20 L3	P20 L7	P20 L11	P30 L3	P30 L7	P30 L11	P40 L3	P40 L7	P40 L11
<i>Ingredients (%)</i>												
Casein	3.0	3.0	3.0	6.0	6.0	6.0	9.0	9.0	9.0	12.0	12.0	12.0
White fish meal <sup>1</sup>	9.0	9.0	9.0	18.0	18.0	18.0	27.0	27.0	27.0	36.0	36.0	36.0
Dextrin	65.0	65.0	65.0	55.0	55.0	55.0	45.0	45.0	45.0	35.0	35.0	35.0
Squid liver oil	2.3	2.3	2.3	1.7	1.7	1.7	1.0	1.0	1.0	0.3	0.3	0.3
Soybean oil		4.0	8.0		4.0	8.0		4.0	8.0		4.0	8.0
Vitamin premix <sup>2</sup>	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0
Mineral premix <sup>3</sup>	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0
Cellulose	15.5	11.5	7.5	14.1	10.1	6.1	12.8	8.8	4.8	11.5	7.5	3.5
Choline	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
<i>Nutrient contents (% of dry matter)</i>												
Dry matter	92.3	93.3	92.0	96.3	94.3	89.6	94.9	93.7	92.5	94.8	96.8	94.8
Crude protein	10.0	11.1	10.4	19.4	19.6	20.0	27.5	27.9	26.9	36.3	36.2	37.1
Crude lipid	3.2	7.1	10.1	2.3	6.7	10.2	2.8	7.5	9.7	2.7	6.7	11.2
Crude fiber	24.6	19.9	16.0	27.5	17.4	16.6	24.5	19.7	15.4	22.2	17.6	13.9
Ash	3.0	3.0	3.1	4.3	4.3	4.5	5.5	5.7	5.8	7.6	7.1	7.1
N-free extract	59.2	58.9	60.4	46.4	52.0	48.7	39.7	39.1	42.4	31.2	32.3	30.7
Gross energy (kcal/g diet)	4.0	4.2	4.4	4.0	4.2	4.4	4.0	4.2	4.4	4.0	4.2	4.4

<sup>1</sup> Provided by Fisheries Co-op Feeds Co., Ltd. Gyeongsangnam province, Korea.

<sup>2</sup> Vitamin premix, contained the following amount which were diluted in cellulose (g/kg mix): L-ascorbic acid, 200; DL- $\alpha$ -tocopheryl acetate, 20; thiamin hydrochloride, 5; riboflavin, 8; pyridoxine hydrochloride, 2; niacin, 40; Ca-D-pantothenate, 12; myo-inositol, 200; D-biotin, 0.4; folic acid, 1.5; p-aminobenzoic acid, 20; menadione, 4, retinyl acetate, chloecalciferol, 0.003; cyanocobalamin, 0.003.

<sup>3</sup> Mineral premix, contained the following ingredients (g/kg mix): NaCl, 7; MgSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O, 105; NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> · 2H<sub>2</sub>O, 175; KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 224; CaH<sub>4</sub>(PO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> · H<sub>2</sub>O, 140; Ferric citrate, 17.5; Ca-lactate, 21.8; ZnSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O, 2.8; ; CuCl, 0.2; AlCl<sub>3</sub> · 6H<sub>2</sub>O, 0.11; KIO<sub>3</sub>, 0.02; Na<sub>2</sub>Se<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, 0.007; MnSO<sub>4</sub> · H<sub>2</sub>O, 1.4; CoCl<sub>2</sub> · 6H<sub>2</sub>O, 0.07.

Table 2. Fatty acid compositions (% of total fatty acid) of the experimental diets for *Stichopus japonicus*

	Diets											
	P10	P10	P10	P20	P20	P20	P30	P30	P30	P40	P40	P40
	L3	L7	L11	L3	L7	L11	L3	L7	11	L3	L7	L11
Fatty acids (%)												
14:0	6.0	2.3	1.5	5.1	2.4	1.7	4.1	2.2	1.7	3.9	2.4	1.5
15:0	0.6	0.2	0.2	0.7	0.3	0.2	0.7	0.4	0.3	0.7	0.4	0.3
16:0	21.5	16.1	15.4	20.8	16.9	16.1	21.6	18.2	17.9	22.5	19.5	16.2
16:1	6.9	2.8	2.6	5.6	2.5	1.8	3.7	2.1	1.5	3.1	1.8	1.2
17:0	0.5	0.2	0.2	0.5	0.3	0.2	0.6	0.4	0.3	0.6	0.4	0.3
18:0	4.9	4.4	4.0	5.4	4.8	4.5	6.4	5.6	5.6	7.1	6.2	5.2
18:1n-9	22.4	22.9	22.8	19.5	21.0	19.7	15.5	18.0	18.2	13.2	15.9	22.6
18:2n-6	7.0	36.0	40.4	6.3	32.6	39.2	7.5	29.5	36.6	6.0	26.6	33.7
18:3n-3	1.2	3.8	4.2	1.0	3.4	4.1	0.9	3.0	3.7	0.7	2.7	3.4
20:0	0.2	0.3	0.2	0.2	0.3	0.3	0.2	0.2	0.3	0.2	0.3	0.3
20:1	2.5	1.0	0.7	5.4	2.5	1.6	5.0	2.7	1.9	5.2	2.7	1.9
20:2	0.3	0.2	0.2	0.4	0.2	0.3	0.3	0.2	0.2	0.3	0.2	0.2
20:3n-3	0.2	0.1	0.1	0.2	0.1	0.0	0.2	0.1	0.0	0.2	0.0	0.0
20:4n-6	0.8	0.3	0.3	1.0	0.4	0.4	1.4	0.7	0.4	1.6	0.9	0.7
20:5n-3	9.8	3.6	2.5	8.2	3.5	2.5	6.3	3.2	2.1	5.3	3.0	1.9
22:5n-3	2.5	1.0	0.8	2.6	1.2	1.0	2.6	1.5	1.1	2.8	1.7	1.0
22:6n-3	12.8	4.9	3.9	17.1	7.7	6.5	23.0	12.0	8.3	26.5	15.1	9.8
n-3HUFA <sup>1</sup>	25.3	9.5	7.3	28.1	12.5	10.0	32.2	16.8	11.5	34.9	19.8	12.7

<sup>1</sup> Highly unsaturated fatty acid (C<sub>≥</sub>20).

## 통계처리

결과의 통계 처리는 SPSS Version 12 (SPSS, Michigan Avenue, Chicago, IL, USA) program을 사용하여 One-way ANOVA-test를 실시한 후, Duncan's multiple range test (Duncan, 1955)로 평균간의 유의성을 검정하였으며, Two-way ANOVA-test를 통해 실험 사료내 단백질과 지질의 상호관계를 조사하였다.

## 다. 결과 및 고찰

사료의 단백질과 지질 함량이 다른 실험 사료로 평균 체중 1.1 g의 해삼을 8주간 사육실험한 결과를 Table 3에 나타내었다. 생존율은 모든 실험구에서 86% 이상으로 실험사료의 단백질과 지질 함량에 영향을 받지 않았다 ( $P>0.05$ ). 증중율과 일간성장율은 사료의 단백질( $P<0.005$ )과 지질( $P<0.001$ ) 함량에 각각 영향을 받았다. 성장율은 P30L3 공급구가 다른 실험구에 비해 높은 값을 나타내었다( $P<0.05$ ). 단백질 10-30% 함유사료에서는 지질 3% 첨가구에서 유의하게 높은 증중율과 일간성장율을 보였으며( $P<0.05$ ), 단백질 10%와 20% 첨가사료에서는 지질함량이 증가할수록 오히려 성장이 감소하는 결과를 보였으나, 단백질 40% 사료에서는 지질함량에 따른 유의한 차이 없이 낮은 증중율을 보였다.

Table 3. Weight gain and survival of sea cucumber *Stichopus japonicus* fed the experimental diets for 8 weeks<sup>1</sup>

Diets	Initial mean weight (g)	Final mean weight (g)	Survival (%)	Weight gain (%) <sup>2</sup>	Specific growth rate (%) <sup>3</sup>
P10L3	1.11±0.001 <sup>ns</sup>	1.27±0.025 <sup>c</sup>	92±4.2 <sup>ns</sup>	14.3±2.24 <sup>c</sup>	0.23±0.033 <sup>e</sup>
P10L7	1.10±0.003	1.01±0.032 <sup>ab</sup>	97±1.3	-8.7±3.06 <sup>abc</sup>	-0.20±0.058 <sup>ab</sup>
P10L11	1.11±0.003	0.98±0.003 <sup>a</sup>	94±1.2	-11.6±0.27 <sup>a</sup>	-0.20±0.001 <sup>ab</sup>
P20L3	1.10±0.006	1.25±0.011 <sup>dc</sup>	93±0.7	13.6±0.64 <sup>c</sup>	0.20±0.001 <sup>dc</sup>
P20L7	1.11±0.006	1.08±0.060 <sup>abc</sup>	92±5.3	-2.7±5.85 <sup>abcd</sup>	-0.67±0.133 <sup>abc</sup>
P20L11	1.11±0.010	0.99±0.045 <sup>ab</sup>	94±1.2	-11.1±3.97 <sup>ab</sup>	-0.23±0.088 <sup>a</sup>
P30L3	1.11±0.006	1.43±0.011 <sup>f</sup>	89±4.8	28.5±1.33 <sup>f</sup>	0.47±0.033 <sup>f</sup>
P30L7	1.11±0.006	1.12±0.055 <sup>bcd</sup>	92±1.2	0.6±5.01 <sup>bcd</sup>	0.01±0.116 <sup>abcde</sup>
P30L11	1.10±0.006	1.12±0.031 <sup>bcd</sup>	93±1.3	0.8±3.00 <sup>bcd</sup>	0.01±0.058 <sup>abcde</sup>
P40L3	1.10±0.006	1.12±0.062 <sup>bcd</sup>	90±1.2	1.3±5.59 <sup>cd</sup>	0.03±0.088 <sup>bcd</sup>
P40L7	1.12±0.006	1.21±0.047 <sup>cde</sup>	87±2.4	8.9±4.22 <sup>de</sup>	0.13±0.067 <sup>cde</sup>
P40L11	1.11±0.006	1.10±0.047 <sup>abc</sup>	97±1.8	-0.3±4.08 <sup>abcd</sup>	-0.03±0.067 <sup>cde</sup>

*Two-way ANOVA*

CP level	P<0.6	P<0.005	P<0.005
CL level	P<0.2	P<0.001	P<0.001
CP×CL	P<0.4	P<0.005	P<0.005

<sup>1</sup> Values (mean±SEM of three replications) in the same column not sharing a common superscript are significantly different (P<0.05).

<sup>2</sup> Weight gain (%) = (final body weight - initial body weight)×100 / initial body weight.

<sup>3</sup> Specific growth rate (%) = [ln (final weight) - ln (initial weight)] / days × 100.

일반적으로 사료내 단백질 함량이 증가하면 어류의 성장이 향상되는 것으로 알려져 있다(NRC, 1993). 본 연구에서도 3% 지질함량에서 사료내 단백질



이 10%에서 30%로 증가함에 따라 어린 해삼의 증중율이 증가하였다. 기존 해삼 단백질 요구량 실험(Sun et al., 2004)에서 사료내 단백질 함량이 증가할 수록 어린 해삼의 성장이 향상되어 21.5% 실험구에서 가장 양호한 성장을 보였지만, 이들의 연구에서 사료에 함유된 최대 단백질 함량이 21.5%여서 요구량 구명에 한계가 있었다. 본 연구에서는 30% 단백질 함량에서 성장이 가장 양호한 것으로 나타나, Sun et al. (2004)의 연구에서 설정된 21.5% 단백질은 해삼의 요구량에 미치지 못했음을 알 수 있다. 그리고 사료내 단백질 함량이 30% 이상에서는 어린 해삼의 성장이 향상되지 않고 오히려 감소하였는데, 이는 단백질의 과잉으로 인한 부작용(Lee et al., 2002a)으로 보인다.

단백질 10% 또는 20% 실험구에서 사료 지질함량이 증가함에 따라 성장이 감소하는 경향을 보여 어린 해삼의 지질 이용성이 매우 낮음을 알 수 있다. 해삼은 해저 저질속의 유기물을 섭취하기도 하고 해조류가 무성한 지역에서 서식하면서 해조류 부산물이나 부스러기를 섭취한다. 해삼이 섭취하는 해조류의 지질함량이 매우 낮은 것으로 미루어 보아 해삼의 지질 이용성이 낮을 수 있음을 짐작 할 수 있고, 본 연구 결과도 이러한 짐작을 뒷받침하고 있다. 일반적으로, 영양소 요구량을 조사할 때, 영양소 요구량이 조사되지 않아 영양소 요구에 대한 정보가 부족한 경우, 대상생물의 체성분을 근거로 요구량을 대략적으로 추정하기도 한다. 해삼의 체조성은 건물 기준으로 단백질은 30%, 지질은 2% 전후로 나타났으며, Dong et al. (2006)의 연구에서도 이와 유사한 함량을 보여 본 연구에 추정된 단백질과 지질 요구값과 비교된다. 위의 결과들로부터, 어린 돌기해삼의 성장에 적절한 단백질함량은 30%이고 지질함량은 3%로 판단된다.

본 연구에서 해삼의 증중율은 모든 실험구에서 대체로 낮은 값을 보였으며, 단백질 10%와 20% 실험구에서는 지질함량이 증가하면서 오히려 최초에 비해 체중이 감소하였다. 이러한 현상은 여러 가지 요인들로 설명될 수 있는데, 예를 들면, 사육실험 기간 동안 낮은 수온(평균 9.8℃)으로 인하여 사료섭취가 감소하였거나 대사율이 낮아 성장에 영향을 미쳤을 것으로 판단된다. Yang et al. (2005)은 돌기해삼의 사료섭취와 성장에 대한 적정 수온이 14—

15℃라고 보고하였다. 또한 사료내 영양소간의 상호작용, 즉 단백질에 비해 과다한 지질함량으로 인해 해삼체내의 대사부작용 등이 성장을 저하 시킬 수도 있다. 이에 대해서는 차후 상세한 연구가 필요하다.

사료의 단백질과 지질 함량은 어류의 성장과 체성분에 영향을 미친다 (Garling and Wilson, 1976; Lee et al., 2002b). 그러나 단백질에 비해 에너지 함량이 높은 사료를 공급하면, 대상어류의 사료섭취량이 감소하여 필수영양소가 충분히 공급되지 못하거나, 과잉의 에너지가 체내에 축적되어 어체 품질이 저하될 수 있다. 에너지가 낮은 사료가 공급되면 단백질이 에너지로 사용되는 비율이 증가하여 단백질 낭비가 초래된다. 이처럼, 비단백질 에너지 함량은 어류의 단백질 요구량에 영향을 미칠 수 있다(Cho and Kaushik, 1990; De Silva et al., 1991). 본 연구에서 어린 해삼은 단백질 절약효과를 보이지 않았고, 다른 어종의 연구결과에서도 이와 비슷한 경향을 보였는데(Lee and Lim, 2005), 이는 지질 이용성이 낮기 때문에 나타난 결과로 판단된다.

사육실험 종료 후, 어린 해삼의 일반성분 분석 결과를 Table 4에 표시하였다. 어린 해삼의 수분, 지질 및 회분 함량은 사료의 단백질과 지질함량에 따른 차이를 보이지 않았으나, 단백질함량은 실험구간에 유의한 차이를 보였다 ( $P<0.05$ ). P30L3 공급구에서 단백질 함량이 가장 높게 나타났으며, P20L11 공급구에서 가장 낮았다. 이처럼 P30L3 사료의 공급은 성장 뿐 아니라 어린 해삼의 영양적 가치를 향상시킬 수 있을 것으로 보인다.

Table 4. Proximate composition (%) of the whole body in juvenile sea cucumber *Stichopus japonicus* fed the diets containing different protein and lipid levels for 8 weeks<sup>1</sup>

Diets	Moisture	Crude protein	Crude lipid	Ash
Initial	3.4	33.5	1.7	44.7
P10L3	4.0±0.69 <sup>ns</sup>	32.9±0.38 <sup>abcd</sup>	3.0±0.85 <sup>ns</sup>	45.0±0.69 <sup>ns</sup>
P10L7	3.2±0.65	31.6±0.62 <sup>ab</sup>	2.8±0.72	43.2±1.73
P10L11	4.4±1.67	33.4±0.33 <sup>bcd</sup>	1.7±0.97	45.5±0.49
P20L3	3.8±1.66	33.1±0.86 <sup>abcd</sup>	3.3±0.87	45.6±0.36
P20L7	4.3±1.38	32.1±0.42 <sup>abc</sup>	3.3±0.51	43.4±1.14
P20L11	4.2±0.46	31.2±0.80 <sup>a</sup>	3.3±0.46	42.4±0.50
P30L3	4.0±0.97	34.2±0.63 <sup>d</sup>	1.6±0.88	44.1±0.76
P30L7	3.8±0.94	32.4±0.40 <sup>abcd</sup>	1.4±0.80	43.8±0.74
P30L11	4.2±0.29	33.0±1.19 <sup>abcd</sup>	1.2±0.74	45.8±0.80
P40L3	3.6±0.20	33.0±0.27 <sup>abcd</sup>	2.1±0.72	46.2±0.89
P40L7	2.9±0.45	33.9±0.34 <sup>cd</sup>	3.1±0.46	45.4±1.57
P40L11	3.9±1.50	33.4±0.21 <sup>bcd</sup>	2.4±0.46	45.4±1.29
Two-way ANOVA				
CP level	P<0.9	P<0.06	P<0.03	P<0.2
CL level	P<0.7	P<0.2	P<0.7	P<0.2
CP×CL	P<1.0	P<0.2	P<1.0	P<0.3

<sup>1</sup> Values (mean±SEM of three replications) in the same column not sharing a common superscript are significantly different (P<0.05).

일반적으로 사료내 지질 종류 또는 함량은 대상 생물의 지방산 조성에 영향을 미친다고 보고되어 있다(Silver et al., 1993; Geurden et al., 1997; Lee and Lim, 2005). Table 5에 나타난 것처럼, 어린 해삼의 지방산 조성에서 16:0, 18:1n-9, 20:4n-6, 20:5n-3 및 22:6n-3의 함량이 높게 나타났다. 동일한 사료 단백질 함량에서, 사료내 지질함량이 증가함에 따라 18:2n-6과 18:3n-3의 함량은 증가한 반면, 20:5n-3과 22:6n-3과 같은 n-3HUFA의 함량은 낮아졌다. 이러한 결과는 실험사료의 지질함량을 높이기 위해 18:2n-6이 많이 함유된 대두유 첨가에 따른 결과로 보이며, Lee et al. (2000)의 연구결과와 유사한 경향이였다. 또한, 본 연구에서 사료내 총 지질함량 중 20:4n-6의 함량이 1% 전후로 낮았음에도 불구하고 어린 해삼의 20:4n-6 함량은 실험구간에 유의한 차이 없이 모든 실험구에서 15% 이상으로 높은 함량을 보였다. 이것은 어린 해삼이 20:4n-6을 합성하는 능력을 가지고 있음을 의미하며, 다슬기를 대상으로 연구된 결과와 유사하다(Lee and Lim, 2005).

Table 5. Fatty acid compositions (% of total fatty acid) of the whole body in juvenile sea cucumber *Stichopus japonicus* fed the diets containing different protein and lipid levels for 8 weeks<sup>1</sup>

	Initial	Diets												SEM <sup>3</sup>
		P10 L3	P10 L7	P10 L11	P20 L3	P20 L7	P20 L11	P30 L3	P30 L7	P30 L11	P40 L3	P40 L7	P40 L11	
<i>Fatty acids (%)</i>														
14:0	1.4	1.8	2.2	1.5	1.9	1.9	1.7	1.7	1.9	2.0	2.1	1.4	1.5	0.07
16:0	8.4	5.1	8.4	3.9	5.8	6.7	7.8	5.4	6.7	7.1	7.7	5.6	5.4	0.36
16:1	2.1	4.3 <sup>c</sup>	3.3 <sup>cd</sup>	2.6 <sup>abc</sup>	3.9 <sup>c</sup>	3.1 <sup>bcd</sup>	2.7 <sup>abc</sup>	3.2 <sup>cd</sup>	2.2 <sup>ab</sup>	2.1 <sup>ab</sup>	2.1 <sup>a</sup>	2.1 <sup>a</sup>	1.9 <sup>a</sup>	0.14
17:0	0.8	0.4	0.4	0.3	0.3	0.3	0.4	0.4	0.4	0.5	0.5	0.5	0.4	0.02
18:0	5.2	5.8 <sup>b</sup>	4.8 <sup>ab</sup>	3.9 <sup>a</sup>	5.7 <sup>b</sup>	4.2 <sup>a</sup>	4.5 <sup>ab</sup>	4.9 <sup>ab</sup>	4.7 <sup>ab</sup>	4.9 <sup>ab</sup>	5.8 <sup>b</sup>	5.5 <sup>b</sup>	5.0 <sup>ab</sup>	0.14
18:1n-9	14.3	18.6	17.6	15.8	17.1	15.3	16.7	16.8	14.6	14.2	13.6	16.2	15.3	0.41
18:2n-6	9.6	7.6 <sup>a</sup>	16.8 <sup>cd</sup>	21.5 <sup>e</sup>	6.2 <sup>a</sup>	16.6 <sup>cd</sup>	15.7 <sup>bcd</sup>	6.6 <sup>a</sup>	12.8 <sup>b</sup>	17.0 <sup>cd</sup>	4.7 <sup>a</sup>	15.1 <sup>b</sup>	18.8 <sup>de</sup>	0.93
18:3n-3	1.4	0.8 <sup>abc</sup>	1.4 <sup>ef</sup>	1.5 <sup>f</sup>	0.6 <sup>ab</sup>	1.3 <sup>def</sup>	1.1 <sup>cdef</sup>	0.6 <sup>ab</sup>	0.9 <sup>abcd</sup>	1.3 <sup>ef</sup>	0.5 <sup>a</sup>	0.8 <sup>abc</sup>	1.0 <sup>bcd</sup>	0.06
20:0	2.2	1.9 <sup>abc</sup>	1.3 <sup>a</sup>	1.4 <sup>a</sup>	1.9 <sup>abc</sup>	1.4 <sup>a</sup>	1.5 <sup>ab</sup>	1.7 <sup>abc</sup>	1.8 <sup>abc</sup>	1.9 <sup>abc</sup>	2.3 <sup>c</sup>	2.3 <sup>c</sup>	2.2 <sup>bc</sup>	0.07
20:1	1.2	3.2 <sup>d</sup>	2.1 <sup>abc</sup>	2.1 <sup>abc</sup>	2.9 <sup>cd</sup>	1.9 <sup>abc</sup>	1.6 <sup>a</sup>	2.7 <sup>bcd</sup>	1.6 <sup>a</sup>	1.7 <sup>a</sup>	1.7 <sup>ab</sup>	2.7 <sup>abcd</sup>	1.9 <sup>ab</sup>	0.12
20:2	3.6	4.6 <sup>b</sup>	5.9 <sup>c</sup>	7.2 <sup>d</sup>	3.7 <sup>ab</sup>	6.6 <sup>cd</sup>	6.4 <sup>cd</sup>	4.0 <sup>ab</sup>	6.0 <sup>c</sup>	6.7 <sup>cd</sup>	3.6 <sup>a</sup>	6.3 <sup>cd</sup>	6.7 <sup>cd</sup>	0.22
20:3n-3	2.2	1.2	1.0	1.0	1.3	1.0	1.2	1.1	1.4	1.4	1.8	1.0	1.5	0.06
20:4n-6	24.1	15.2	15.6	17.5	17.7	16.8	16.9	16.9	19.3	18.1	21.6	16.3	16.6	0.55
20:5n-3	9.3	14.1 <sup>bc</sup>	9.1 <sup>ab</sup>	10.4 <sup>abc</sup>	12.7 <sup>abc</sup>	11.2 <sup>abc</sup>	10.1 <sup>ab</sup>	16.3 <sup>c</sup>	11.7 <sup>abc</sup>	9.0 <sup>ab</sup>	12.7 <sup>abc</sup>	8.2 <sup>ab</sup>	7.1 <sup>a</sup>	0.60
22:6n-3	9.9	12.6 <sup>bcd</sup>	8.0 <sup>a</sup>	7.3 <sup>a</sup>	14.5 <sup>cd</sup>	9.5 <sup>ab</sup>	9.3 <sup>ab</sup>	15.0 <sup>cd</sup>	11.1 <sup>abc</sup>	9.8 <sup>ab</sup>	15.7 <sup>d</sup>	13.2 <sup>bcd</sup>	12.5 <sup>bcd</sup>	0.54
n-3HUFA <sup>2</sup>	21.4	27.8 <sup>cd</sup>	18.2 <sup>a</sup>	18.7 <sup>a</sup>	28.5 <sup>cd</sup>	21.7 <sup>ab</sup>	20.5 <sup>ab</sup>	32.3 <sup>d</sup>	24.2 <sup>bc</sup>	20.2 <sup>ab</sup>	30.2 <sup>d</sup>	22.4 <sup>ab</sup>	21.2 <sup>ab</sup>	0.84

<sup>1</sup> Values (mean of three replications) in the same row not sharing a common superscript are significantly different (P<0.05).

<sup>2</sup> Highly unsaturated fatty acid (C<sub>≥</sub>20).

<sup>3</sup> Standard error of the treatment mean calculated from the residual mean square in the analysis of variance.

이상의 결과로부터, 어린 돌기해삼의 성장에 적절한 사료의 단백질함량은 30%이며 지질함량은 3%가 적절할 것으로 판단된다.

### 3. 어린 해삼의 비타민 C (Ascorbic acid) 요구량

#### 가. 서론

1990년도 시작된 우리나라 기르는 어업 육성정책은 어류뿐만 아니라 전복 종묘 생산기술 확립 및 가두리 양식 활성화에도 영향을 가져와 전남 진도 및 완도 지방을 중심으로 기하급수적으로 늘어났다. 현재 우리나라의 양식은 수산물 수입개방 등으로 해를 거듭할수록 경쟁력을 잃고 있으며, 일부 양식품종은 과다생산 등으로 경영악화가 더욱 심화되고 있는 실정이다. 따라서 새로운 양식품종의 개발이 어느 때보다 절실하게 요구되는 상황이다. 2000년대에 들어와 새로운 양식품종을 모색해 오던 양식업계에서는 기존 전복양식업에서 사용되는 종묘생산 및 양성기자재를 그대로 사용하여 쉽게 전환이 가능한 해삼(*Stichopus japonicus*)양식을 시도해온 결과, 2005년부터 본격적인 해삼종묘 및 양성이 이뤄지고 있다. 해삼은 세종실록지리지와 동국여지승람에 조선 8도 가운데 경기도, 평안도를 제외한 6도가 해삼의 산지로 기록되어 있다. 경기도, 평안도에서 해삼이 전혀 나지 않는 것은 아니지만, 지금도 해삼은 주로 동해안을 중심으로 어획되고 있다. 해삼은 육지의 인삼에 버금가는 약효를 가졌다고 하여 바다의 인삼이란 뜻으로 해삼으로 불리어지게 되었다. 해삼은 오래전부터 한국, 중국, 일본, 러시아 등에서 중요한 수산자원으로 자리 잡고 있고(Sloan, 1984), 국내에서는 물론 중국, 일본에서도 비교적 고가로 유통되고 있으며, 건해삼의 경우 물량이 부족한 상황이다. 우리나라에서의 연간 해삼 생산량은 '80년대에는 매년 3천톤 이상이었으나, '90년대에 들어와 2천여톤 내외로 감소하였다. 그리고 2000년대에 들어서는 1천여톤 내외로 생산되어(수산기술지, 2004), 우리나라 연안의 해삼 자원량이 상당히 감소되었음을 보여주고 있다(fig. 1).

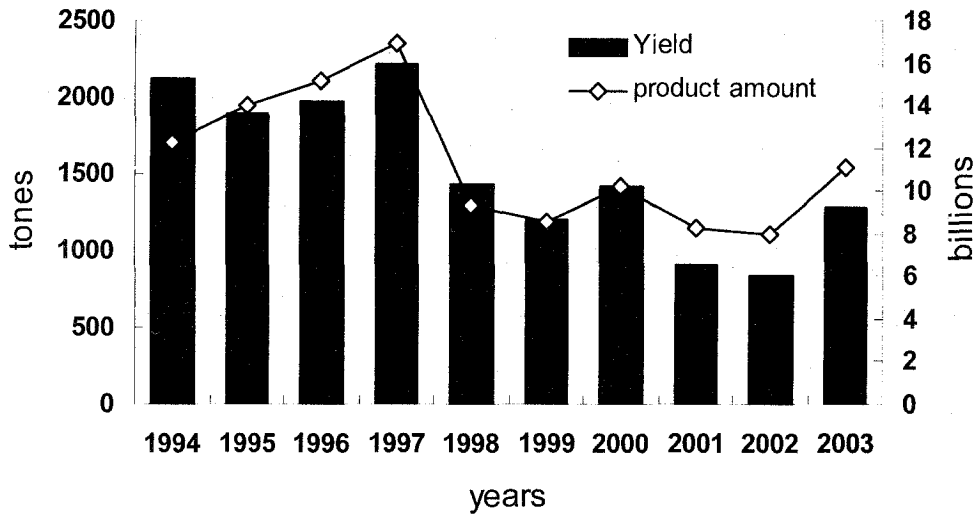


Fig. 1. Transition of sea cucumber yield and product amount by year(수산기술지, 2004).

해삼은 극피동물문 해삼강에 속하는 종으로 우리가 일반적으로 해삼 또는 참해삼이라고 부르고 있는 종은 *Stichopus japonicus*로 청해삼, 홍해삼, 흑해삼이 있으며, 우리나라에서 어획되는 해삼류의 대부분을 차지하고 있다. 해삼은 이미 중국, 한국, 일본 등지에서 종묘생산 및 양식기술이 개발되어 있어, 완전양식을 위한 원천기술을 개발 중이며(Sui et al., 1986; Sui, 1989), 특히, 인공배합사료는 일부 양식업자들의 경험에 의해 제조, 사용되고 있는 실정이다. 해삼은 박테리아, 원생생물, 규조류 및 동식물들로부터 나오는 유기퇴적물들이 침전되거나 퇴적될 때의 유기물질을 영양원으로 섭식하거나(Zhang et al., 1995), 다른 동물이 섭식한 후의 잔여분이나 배설물 등도 먹이로 사용한다(Yang et al., 2000; Yang et al., 2001).

해삼에 있어서는 섭식과 소화(Tanaka, 1958b), 생식(Sui et al., 1985; Tanaka, 1958a), 유생사육(Sui et al., 1986; Sui 1989), 어린 해삼(稚蔘)의 성장과 영양원(Sun, 1988; Sun et al, 2004), 그리고 대사(Kato and Hirata 1990;

Kashenko, 2000; Li et al., 2002)에 관한 다양한 연구가 진행되어 왔다. 우리나라에서의 해삼에 대한 연구는 1990년대 국립수산물과학원 수산종묘시험장의 종묘생산기술 개발을 시작으로 2000년에 들어와 도립수산시험장에서 종묘를 생산, 매년 소규모이기는 하지만 일정량의 종묘를 연안에 방류하고 있다(수산기술지, 2004). 그러나 지금까지 해삼의 영양소 요구량 평가에 관한 연구는 미흡한 실정으로(Shiau and Hsu, 1994; Hsu and Shiau, 1997, 1998; Zhu et al., 2002), 해삼 양성장에서도 해조류의 건조분말사료에 의존하고 있다(Yanagisawa, 1996, 1998).

Vitamin C는 수용성으로 식물과 동물에서 ascorbic acid (AA)와 dehydroascorbic acid (DHAA)의 두 가지 형태로 존재한다. Vitamin C는 생물의 정상적인 생명현상과 생산활동을 위해 반드시 필요한 필수 영양소(Tolbert, 1979)로 대부분의 동물에서는 L-gulonolacton oxidase에 의해 D-glucose로부터 체내에서 합성할 수 있지만, 무척추동물 및 대부분의 어류에서는 합성되지 않기 때문에 사료 및 첨가제를 통해서 외부로부터 공급해 주어야 한다(Wilson, 1973; Fracalossi et al., 2001; Shimeno, 1991; Poston, 1990, 1991). Vitamin C는 collagen 형성에 중요한 hydroxyproline과 hydroxylysine을 합성하는 cofactor (Sato et al., 1982)로 정상적인 치아 및 뼈의 형성, 뼈의 손상회복, 상처치료에 관련, 철의 흡수를 도와 빈혈을 예방(Sandnes et al., 1990), 스트레스 반응(Wedemeyer, 1969), tryptophan 또는 proline의 합성을 위한 여러 효소체계의 가수소화 작용에 관련, Vitamin E ( $\alpha$ -tocopherol)와 selenium 등과 함께 항산화제로 glutathione 및 peroxidase superoxide의 활력을 유지하며, 어류의 번식현상에도 중요한 작용(Sandnes et al., 1984; Dabrowski and Ciereszko, 2001)을 하는 것으로 알려져 있다. 또한, 기생충 및 세균 등에 대한 질병 저항성 증가가 channel catfish (Durve and Lovell, 1982; Li and Lovell, 1985), Atlantic salmon (Hardie et al., 1991; Waagbo et al., 1993), 그리고 rainbow trout (Navarre and Halver, 1989)에서 보고되었다.

한편, 어류에 있어서 사료 내 Vitamin C의 일반적인 결핍 증상으로는 성장



를 저하(Lim and Lovewell, 1978; Dabrowski et al., 1990)를 야기하고, 콜라겐의 비정상적인 생성에 의해 척추가 굽거나 좌우로 휘어지는 lordosis나 scoliosis 현상이 channel catfish (Wilson and Poe., 1978), Indian major carp (Agrawal and mahajan, 1980), Common carp (Dabrowski et al., 1988) 등에서 보고되었으며, Japanese eel에서 성장감소를 동반한 머리와 지느러미 출혈이 보고되었다(Arai et al., 1972). Vitamin C는 일반적으로 L-ascorbic acid와 L-dehydroascorbic acid의 두 가지 형태로 존재하는데, 일반적으로 식품에는 활성이 강한 L-ascorbic acid의 형태로 함유되어 있다. 유도체인 L-ascorbate 2-sulfate는 사료 내 과잉의 L-ascorbic acid로부터 연어류에 의해 합성되는 열에 안정한 조직 저장형 Vitamin이다. 이 저장형 Vitamin은 조직의 대사적 요구에 쉽게 Vitamin L-ascorbic acid로 전환되어 이용될 수 있다.

본 연구에서는 사료 내 Vitamin C를 수준별로 첨가하여 사육실험을 실시한 후, 성장률, 사료효율, 일간성장을 및 생존율 등의 성장평가와, 어체 내 영양소(일반성분 및 미량성분) 조성에 관한 생화학적 평가 및 소화율 평가를 통하여 현재까지 수행된 바 없는 어린 해삼의 사료 내 적정 Vitamin C 첨가 수준을 구명함에 있다.

## 나. 재료 및 방법

### 실험사료 설계

실험에 사용된 기초 사료의 원료, 일반성분 및 아미노산 조성을 Table 1과 3에 각각 나타내었다. 기초사료는 단백질원으로 defatted fish meal과 casein을 사용하였고, 탄수화물원으로는 wheat flour, 지질원으로는 어유를 첨가하여 사용하였다. 그리고 실험사료의 Vitamin C는 0 (control), 30, 60, 120, 240, 1200 mg L-Ascorbic acid/kg diet의 6가지 농도로 제조하였고, 실험사료별 vitamin C의 첨가량에 따른 함량 차이는 cellulose로 조절하였다. 사료제조 후, 실험사료별 Vitamin 함량을 분석한 결과, 각각 0, 24, 48, 100, 206 그리고 1045 mg L-Ascorbic acid/kg의 농도였으며(Table. 2), 실험구별로 사용된 사

료는 AA-free, AMP-24, AMP-48, AMP-100, AMP-206, 그리고 AMP-1045로 설계하였다. 실험사료는 pellet으로 성형한 후, 해삼의 먹이섭취 습성에 맞추기 위하여 pelleting한 사료를 잘게 분쇄한 후 crumble 상태에서 80mesh (180 $\mu$ m)의 sieve로 걸러 미세한 펠렛 형태로 만들어 실험에 사용하였다. 어분의 탈지방법은 Folch et al. (1957)의 방법에 따라 chloroform : methanol (2 : 1, v/v)혼합 용매를 시료에 3배가량 첨가하여 2회 이상 어분에 포함된 지질을 제거하였으며, 이를 건조시켜 100  $\mu$ m인 sieve로 걸러 입자를 고르게 하여 사용하였다.

Table 1. Composition and proximate analysis of the basal diet (% of dry matter basis)

Ingredient	%
Casein, vitamin free	15.0
Defatted fish meal	3.0
Wheat flour	70.0
Fish oil	3.0
Vitamin premix (Vitamin C free)	3.0
Mineral premix	3.0
Cellulose	3.0
Vitamin C	0.0
<i>Proximate analysis</i> (% of dry matter basis)	
Moisture	12.0
Crude protein	26.1
Crude lipid	4.1
Ash	2.7

Table 2. Analyzed dietary concentration of ascorbic acid (AA, mg/kg) from each source

Amino acids	Diets					
	AA-free	AMP-24	AMP-48	AMP-100	AMP-206	AMP-1045
Added AA levels	0	30	60	120	240	1200
Analyzed AA levels	0	24	48	100	206	1045

Table 3. Proximate amino acid composition of the basal diet (% of DM basis)<sup>1</sup>

Amino Acid	%
Aspartic acid	1.44
Threonine	0.73
Serine	1.02
Glutamic acid	5.48
Glycine	0.55
Alanine	0.68
Valine	1.19
Isoleucine	0.91
Leucine	1.72
Tyrosine	0.96
Phenylalanine	1.06
Histidine	0.65
Lysine	1.23
Arginine	0.80
Proline	2.09
Total AA	20.5

<sup>1</sup>Fatty acid were analyzed at Feeds & Foods Nutrition Research Center, Pukyong National University.

## 실험어 및 사육관리

실험에 이용된 해삼은 경남 거제도 있는 M 종묘 업체에서 구입하여 실험 환경에 대한 적응을 위해 2톤 원형 수조에서 유수식으로 일주일간 예비사육 하였다. 평균 무게  $1.49 \pm 0.07\text{g}$  인 어린 해삼을 선별하여 20ℓ 크기의 사각수조에 실험구 당 각각 20마리씩 3반복으로 배치하였으며, 각 실험수조는 반순환 여과식으로 분당 100ℓ의 자연해수를 첨가하는 방법으로 설치하였다. 산소 공급을 위하여 에어스톤을 설치하였으며, 냉각기와 히터를 사용하여 13℃로 수온을 조절하였다. 사료의 급여는 체중의 0.5%를 일주일 분량으로 나누어 매일 1회(오후 7시) 14주간 공급하였다.

## 시료채취 및 성분분석

실험사료와 실험해삼을 각 수조별로 5마리씩 무작위로 추출하여 분쇄한 전어체를 분석하였으며, AOAC (Association of Official Analytical Chemists, 2000)방법에 따라 수분은 강제 순환식 건조기(CeraX, Korea)를 이용하여 상압가열건조법(135℃, 2시간)으로, 조단백질은 단백질분석기(Tecator kjeltec 1030 analyzer, Sweden)를 이용하여 kjeldahl 질소정량법( $N \times 6.25$ )으로, 조회분은 회화로(Yj-8500D, Korea)를 이용하여 직접회화법으로 분석하였다. 조지방은 샘플을 12시간 동결 건조한 후, soxtec system 1046 (Tecator AB, Sweden)을 사용하여 soxhlet 추출법으로 분석하였다. 사료의 지방산은 GC (Gas Chromatography, Thermo finnigan trace GC, USA)를 이용하여 분석하였으며, 아미노산은 아미노산 전용 분석기(Sykam amino acid analyer S433, Germany)를 이용하여 Ninhydrin 방법으로 분석하였다.

Vitamin C 함량은 AOAC (1995) 방법에 따라 분석하였다. 분석시료 1 g을 정확히 측정 후,  $\text{HPO}_3$  9 ml를 넣어 20분 정도 반응시킨 후, 4℃에서 원심분리기(1000rpm)로 분리시킨 다음, 상층액을 분석용 시료로 사용하였다. 그리고, 용매로 0.1M  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , 파장은 254 nm, 시료 주입량은 20  $\mu\text{m}$ 로 하여 UV 감지기가 달린 HPLC (Syknam, German)로 분석하였다.

## 소화율 측정

분(feces) 샘플은 sput와 micro-pipette을 이용하여 수집하였다. 6가지 사료의 외견상 단백질 소화율 측정은 산화크롬( $\text{Cr}_2\text{O}_3$ ) 방법(Hanley, 1987)을 사용하였으며, Cho and Slinger (1979) 와 Sugiura et al. (1998)의 방법으로 계산하였다. 각 영양소의 소화율 측정은 간접방법으로 지표물질인 산화크롬( $\text{Cr}_2\text{O}_3$ )을 이용하여 사료와 분의 단백질을 측정된 후 사료와 분내의 산화크롬 양을 측정하여 다음 식에 의하여 소화율을 측정하였다.

$$\text{건물 소화율} = 100 - [100 \times \left( \frac{\text{사료중의 } \text{Cr}_2\text{O}_3(\%)}{\text{분중의 } \text{Cr}_2\text{O}_3(\%)} \right)]$$

## 통계처리

모든 자료의 통계처리는 Computer Program Statistix 3.1 (Analytical Software, St. Paul MN, USA)로 분산분석(ANOVA test)을 실시하여 최소 유의차검정(LSD: Least Significant Difference)으로 평균간의 유의성( $P < 0.05$ )을 검정하였다. 그리고, 적정 Vitamin C 함량은 증체량을 지표로 broken-line model (Robbins, 1986)을 이용하여 측정하였다(SAS procedure NLIN, 2002)

## 다. 결과 및 고찰

14주간의 성장결과를 Table 4에 나타내었다. 증체율(WG), 사료효율(FE) 및 일간성장율(SGR)에 있어 AA-free, AMP-24 및 AMP-48을 공급한 실험구가 AA-free, AMP-206 및 AMP-1045를 공급한 실험구보다 유의적으로 낮게 나타났다( $P < 0.05$ ). 그러나 AMP-100, AMP-206 및 AMP-1045를 공급한 실험구간에는 유의적인 차이가 나타나지 않았다( $P > 0.05$ ). 생존율에 있어서는 AMP-24 및 AMP-1045를 공급한 실험구가 AMP-100을 공급한 실험구에 비해 유의적으로 높게 나타났지만( $P < 0.05$ ), AA-free, AMP-48, AMP-100 및 AMP-206을

공급한 실험구간에서는 유의한 차이가 나타나지 않았다( $P>0.05$ ).

Table 4. Effects of the five different dietary vitamin C levels in juvenile sea cucumber, *Stichopus japonicus* for 14 weeks<sup>1</sup>

Diets	WG <sup>2</sup>	FE <sup>3</sup>	SGR <sup>4</sup>	Survival
AA-free	86.7 <sup>b</sup>	16.6 <sup>b</sup>	0.64 <sup>b</sup>	78.3 <sup>ab</sup>
AMP-24	92.5 <sup>b</sup>	16.6 <sup>b</sup>	0.67 <sup>b</sup>	83.3 <sup>a</sup>
AMP-48	101.8 <sup>b</sup>	18.6 <sup>b</sup>	0.72 <sup>b</sup>	81.7 <sup>ab</sup>
AMP-100	124.5 <sup>a</sup>	21.6 <sup>a</sup>	0.82 <sup>a</sup>	73.3 <sup>b</sup>
AMP-206	136.7 <sup>a</sup>	23.6 <sup>a</sup>	0.88 <sup>a</sup>	81.7 <sup>ab</sup>
AMP-1045	139.5 <sup>a</sup>	23.4 <sup>a</sup>	0.89 <sup>a</sup>	83.3 <sup>a</sup>
Pooled SEM <sup>5</sup>	5.60	1.54	0.02	1.37

<sup>1</sup> Values are means from triplicate groups of sea cucumber where the means in each column with a different superscript are significantly different ( $P<0.05$ ).

<sup>2</sup> Weight gain (%): (final weight - initial weight)  $\times$  100 / initial weight.

<sup>3</sup> Feed efficiency (%): wet weight gain  $\times$  100 / dry feed intake.

<sup>4</sup> Specific growth rate (%): (ln final weight - ln initial weight) / days  $\times$  100.

<sup>5</sup> Pooled standard error of mean:  $SD/\sqrt{n}$ .

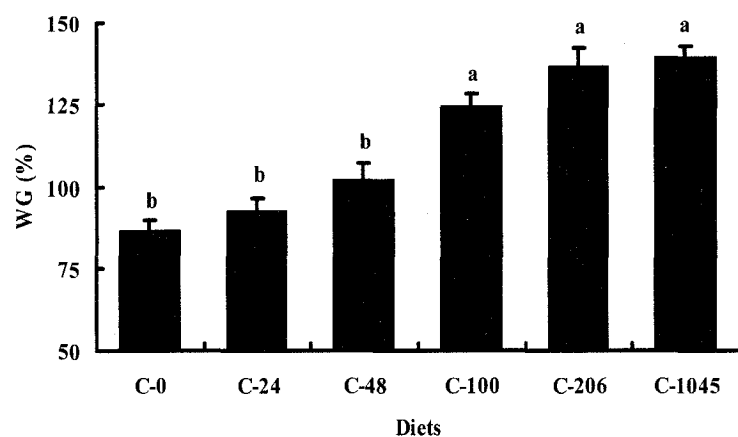


Fig. 2. Weight gain (%) of sea cucumber fed different levels of vitamin C during 14 weeks.

전어체 분석 결과는 Table 5에 나타내었다. 단백질 함량에 있어서 AMP-24, AMP-48 및 AMP-100을 공급한 실험구가 AA-free를 공급한 실험구에 비해 유의적으로 높게 나타났다( $P < 0.05$ ). 그러나, AMP-206을 공급한 실험구와 AA-free를 공급한 실험구간에는 유의한 차이가 나타나지 않았으며( $P > 0.05$ ), AMP-1045를 공급한 실험구는 AA-free를 공급한 실험구에 비해 유의적으로 낮게 나타났다( $P < 0.05$ ). 조지방 함량에 있어서는 AMP-48과 AMP-100을 공급한 실험구가 AA-free, AMP-24 및 AMP-1045를 공급한 실험구에 비해 높게 나타났다( $P < 0.05$ ). 조회분 함량에 있어서는 AA-free과 AMP-1045를 공급한 실험구가 다른 모든 실험구에 비해 유의적으로 높게 나타났으며( $P < 0.05$ ), AMP-48, AMP-100 및 AMP-206을 공급한 실험구간에는 유의한 차이가 나타나지 않았다( $P > 0.05$ ). 전어체 ascorbic acid 함량은 실험 사료내 ascorbic acid의 첨가수준이 증가할수록 높게 나타나는 경향을 보였으나, AMP-206 과 AMP-1045를 공급한 실험구간에는 유의한 차이가 나타나지 않았다( $P > 0.05$ ).

Table 5. Proximate composition (%) of the whole body of juvenile sea cucumber fed the experimental diets for 14 weeks<sup>1</sup>

Diets	Moisture	Crude protein	Crude lipid	Ash	Vitamin C
AA-free	92.6	32.3 <sup>d</sup>	2.98 <sup>c</sup>	44.2 <sup>b</sup>	0.04 <sup>d</sup>
AMP-24	92.1	37.9 <sup>a</sup>	3.35 <sup>c</sup>	38.7 <sup>d</sup>	0.48 <sup>cd</sup>
AMP-48	92.1	35.8 <sup>b</sup>	6.92 <sup>a</sup>	42.1 <sup>c</sup>	0.85 <sup>bc</sup>
AMP-100	92.4	33.6 <sup>c</sup>	4.69 <sup>b</sup>	42.1 <sup>c</sup>	1.32 <sup>b</sup>
AMP-206	92.6	33.5 <sup>cd</sup>	3.47 <sup>bc</sup>	41.6 <sup>c</sup>	2.21 <sup>a</sup>
AMP-1045	93.4	30.1 <sup>e</sup>	3.05 <sup>c</sup>	47.9 <sup>a</sup>	2.63 <sup>a</sup>
Pooled SEM <sup>2</sup>	0.58	0.15	0.09	0.17	0.05

<sup>1</sup> Values are means from triplicate groups of sea cucumber where the means in each column with a different superscript are significantly different ( $P < 0.05$ ).

<sup>2</sup> Pooled standard error of mean:  $SD/\sqrt{n}$ .

Table 6에 나타난 바와 같이, 전어체의 amino acid를 분석한 결과, AMP-24, 48, 100, 206의 실험구간 사이에서 유의적인 차이를 보이지 않았다 ( $P>0.05$ ).

Table 6. Whole body amino acid composition (mg /100 mg) of sea cucumber fed experimental diets for 14 weeks (% of dry matter basis)<sup>1</sup>

Amino Acid	Diets						Pooled SEM <sup>2</sup>
	AA-free	AMP-24	AMP-48	AMP-100	AMP-206	AMP-1045	
Aspartic acid	3.20 <sup>b</sup>	3.56 <sup>a</sup>	3.34 <sup>ab</sup>	3.31 <sup>ab</sup>	3.46 <sup>ab</sup>	2.71 <sup>c</sup>	0.01
Threonine	1.47 <sup>ab</sup>	1.58 <sup>a</sup>	1.52 <sup>a</sup>	1.52 <sup>a</sup>	1.58 <sup>a</sup>	1.36 <sup>b</sup>	0.01
Serine	1.47 <sup>b</sup>	1.64 <sup>a</sup>	1.57 <sup>a</sup>	1.55 <sup>ab</sup>	1.63	1.46 <sup>b</sup>	0.01
Glutamic acid	4.50 <sup>bc</sup>	5.12 <sup>a</sup>	4.48 <sup>ab</sup>	4.71 <sup>abc</sup>	4.92 <sup>ab</sup>	4.35 <sup>c</sup>	0.02
Glycine	3.33 <sup>ab</sup>	3.51 <sup>a</sup>	3.20 <sup>ab</sup>	3.00 <sup>bc</sup>	3.25 <sup>ab</sup>	2.78 <sup>c</sup>	0.02
Alanine	1.84 <sup>c</sup>	2.14 <sup>a</sup>	1.98 <sup>abc</sup>	1.91 <sup>bc</sup>	2.06 <sup>ab</sup>	1.88 <sup>bc</sup>	0.01
Valine	3.31 <sup>ab</sup>	3.21 <sup>ab</sup>	3.53 <sup>a</sup>	3.13 <sup>ab</sup>	2.85 <sup>b</sup>	3.45 <sup>a</sup>	0.02
Isoleucine	1.20 <sup>c</sup>	1.34 <sup>a</sup>	1.31 <sup>abc</sup>	1.31 <sup>abc</sup>	1.39 <sup>a</sup>	1.21 <sup>bc</sup>	0.01
Leucine	1.71 <sup>c</sup>	1.97 <sup>a</sup>	1.91 <sup>a</sup>	1.89 <sup>ab</sup>	1.98 <sup>a</sup>	1.72 <sup>bc</sup>	0.02
Tyrosine	0.99 <sup>c</sup>	1.14 <sup>a</sup>	1.09 <sup>ab</sup>	1.13 <sup>a</sup>	1.16 <sup>a</sup>	1.01 <sup>bc</sup>	0.01
Phenylalanine	1.12 <sup>b</sup>	1.30 <sup>a</sup>	1.22 <sup>ab</sup>	1.23 <sup>a</sup>	1.28 <sup>a</sup>	1.12 <sup>b</sup>	0.01
Histidine	0.50 <sup>c</sup>	0.58 <sup>ab</sup>	0.56 <sup>b</sup>	0.58 <sup>ab</sup>	0.62 <sup>a</sup>	0.57 <sup>ab</sup>	0.01
Lysine	1.39 <sup>b</sup>	1.63 <sup>a</sup>	1.59 <sup>b</sup>	1.63 <sup>b</sup>	2.01 <sup>a</sup>	1.64 <sup>b</sup>	0.01
Arginine	2.03 <sup>b</sup>	2.26 <sup>ab</sup>	2.14 <sup>ab</sup>	2.11 <sup>ab</sup>	2.33 <sup>a</sup>	2.26 <sup>ab</sup>	0.01
Proline	1.89 <sup>bc</sup>	2.15 <sup>a</sup>	1.84 <sup>cd</sup>	1.80 <sup>cd</sup>	2.11 <sup>ab</sup>	1.61 <sup>d</sup>	0.01
Total AA	28.0 <sup>b</sup>	31.4 <sup>a</sup>	29.6 <sup>ab</sup>	29.1 <sup>ab</sup>	31.3 <sup>a</sup>	27.8 <sup>b</sup>	

<sup>1</sup> Means of duplicated groups, values in the same row with different superscripts are significantly different ( $P < 0.05$ ).

<sup>2</sup> Pooled standard error of mean:  $SD/\sqrt{n}$ .



해삼의 외관상 건물 소화율은 최저 42.3% (AMP-24) 최고 46.3% (AMP-100)를 보였으나, 전 실험구간에서 유의적인 차이를 보이지 않았다 ( $P < 0.05$ ) (Table 7).

Table 7. Apparent dry matter digestibility (ADM) of juvenile sea cucumber fed the experimental diets

Diets	ADM (%)
AA-free	43.9
AMP-24	42.3
AMP-48	43.7
AMP-100	46.3
AMP-206	45.2
AMP-1045	42.4
Pooled SEM <sup>2</sup>	1.18

Vitamin C는 생물의 정상적인 생명현상과 생산활동을 위해 반드시 필요한 필수영양소(Tolbert, 1979)로 대부분의 동물에서는 L-gulonolacton oxidase에 의해 D-glucose로부터 체내에서 합성할 수 있지만, 무척추동물 및 대부분의 어류에서는 합성되지 않기 때문에 사료 및 첨가제를 통해서 외부로부터 공급해 주어야 한다(Wilson, 1973; Fracalossi et al., 2001; Shimeno, 1991; Poston, 1990, 1991). 그러나 해양 무척추동물의 Vitamin 요구량에 관한 연구는 아직 미흡한 실정이다(Shiau and Hsu, 1994; Hsu and Shiau, 1997, 1998; Zhu et al., 2002).

사료 내 Vitamin C의 첨가 처리별 사육실험을 실시한 결과 Vitamin C가 결핍된 사료를 해삼에게 장기간 공급하였을 때, 정상적인 성장이 이루어지지

않는 것으로 나타났다. 본 연구에서 실험기간 동안 해삼의 SGR의 범위는 0.64~0.89%/day로 나타났으나, Zhou et al. (2006)의 연구에서는 평균 0.31%/day의 SGR을 보였다. 하지만 이런 차이는 실험에 사용된 해삼의 무게 차이(1.5, 16.1 g)와 사육수온의 차이에서 발생한 것으로 판단되며, 본 연구는 13℃를 유지한 반면, Zhou et al. (2006)의 연구에서는 5~19℃의 자연수온에 의존하였기 때문에 나타난 결과로 볼 수 있다.

본 연구에서 해삼의 사료 내 Vitamin C의 요구량은 137.9±8.4 mg AA/kg으로 나타나(Fig. 5), channel catfish (Mustin and Lovell, 1992), rainbow trout (Cho and Cowey, 1993), hybrid striped bass (Sealey and Gatlin, 1999)와 hybrid tilapia (Shiau and Hsu, 1999)의 요구량(10~25 mg AA/kg) 및 NRC (1993)에서 보고한 어류의 Vitamin C 요구량 범위 20~50 mg AA/kg보다 높게 나타났고, tilapia (*Oreochromis spilurus*) (100-200 mg AA/kg)와 parrot fish (118 mg/kg diet) (Al-Amoudi et al., 1992; Wang et al., 2003)와는 비슷하였다. 이와 같이 사료 내 Vitamin C의 요구량에 차이가 나타나는 이유는 실험에 사용된 종간의 특이성뿐만이 아니라 종 내에서도 실험어의 크기와 실험환경의 차이에 기인한 것으로 사료된다. 전복, 성게 등과 같은 해양 무척추동물들은 어류에 비하여 먹이에 대한 반응이 아주 느리기 때문에 Vitamin 사료 급이 후, 그것이 수계와 반응하는 시간이 길어짐에 따라 온도, 빛, 산소 등과 반응을 하게 되고, 특히 Vitamin C는 수용성이므로, 수계로 녹아들어 가는 양을 무시할 수 없을 것이다(Hilton et al., 1977; Lovell and Lim, 1978; Soliman et al., 1987).

해삼의 소화율은 Sun et al. (2004)의 연구결과와 비슷한 40~60%의 범위로 나타났다. 본 연구에서 해삼의 생존율이 다른 연구(Kang et al., 2003; Zhou et al., 2006)와 비교하여 비교적 낮게 나타난 것은 반순환식 사육시설에서 사료 급이 후, 해삼(*S. japonicus*)의 사료 섭취를 최대화하기 위하여 3~5시간 절수시킨 것에 기인한 것으로 판단된다.

Vitamin C는 체내 면역력에 영향을 주는 영양소원으로도 알려져 있다 (Roberts et al., 1995; Anbarasu and Chandran, 2001). 여러 연구에서

Vitamin C는 박테리아 용해효소인 Lysozyme의 활력, 식세포의 작용 및 호흡폭발(Li and Lovell, 1985; Navarre and Halver, 1989; Verlhac et al., 1998; Ortuno et al., 1999, 2001; Anbarasu and Chandran, 2001), 그리고 질병과 스트레스에 대한 내성강화(Durve and Lovell, 1982; Navarre and Halver, 1989; Montero et al., 1999) 등의 면역력에 영향을 주는 요인으로서 알려져 있으나, 몇몇 연구에서는 이런 면역강화효과를 나타내지 않는다고 보고하고 있다(Bell et al., 1984; Mazik et al., 1987; Thompson et al., 1993). 본 연구에서 이런 면역성에 관한 직접적인 실험은 이루어지지 않았으나, 사료 내 Vitamin의 첨가 수준에 따른 생존율은 실험구별로 큰 차이를 나타내지 않아, 해삼에서는 면역력 강화효과가 없는 것으로 추정된다. 그러나 이에 관해 차후 체계적인 연구가 수행되어야 할 것으로 사료된다.

Vitamin C의 결핍에 관하여, channel catfish 성장률 저하(Lim and Lovewell, 1978; Dabrowski et al., 1990), Japanese eel의 성장감소를 동반한 머리와 지느러미 출혈에 관한 보고가 있으며(Arai et al., 1972), 콜라겐의 비정상적인 생성에 의해 척추가 굽거나 좌우로 휘어지는 lordosis나 scoliosis 현상이 channel catfish (Wilson and Poe, 1978), Indian major carp (Agrawal and mahajan, 1980), Common carp (Dabrowski et al., 1988)에서 보고되었다. 본 실험종인 해삼은 Vitamin C를 첨가하지 않은 대조구에서 실험구와 뚜렷한 성장의 차이를 보였다. 반면, 사료 내 Vitamin C를 과다첨가(ADP-1045) 하였을 경우, 육안적인 관찰에 있어 뚜렷한 병변이나 이상증상을 발견할 수 없었다. 차후에는 육안적인 관찰 외에 정밀 조직검사도 병행 실시되어야 할 것으로 사료된다.

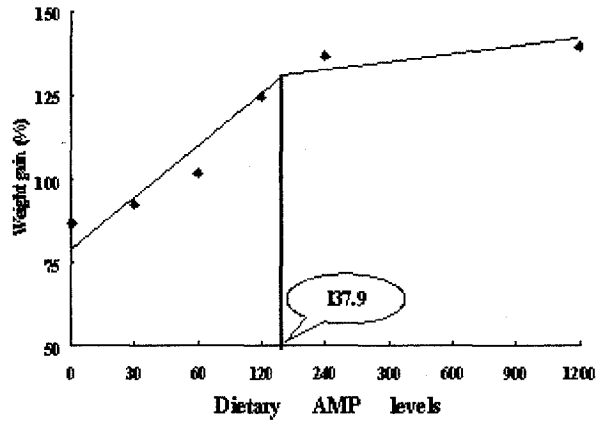


Fig. 3. Weight gain (%) and broken line analysis of sea cucumber fed different levels of vitamin C during 14 weeks.

위의 결과들을 토대로 broken line analysis에 의해 증체율을 지표로 추정  
한 해삼의 최대성장을 위한 사료 내 Vitamin C 요구량은  $137.9 \pm 8.4$  mg AA/  
kg diet로 나타났다(Fig. 3).

## 4. 어린 해삼의 비타민 B<sub>2</sub> (Riboflavin) 요구량

### 가. 서론

수용성 Vitamin인 B<sub>2</sub>는 flavin mononucleotide (FMN)와 flavin adenine dinucleotide (FAD)의 구성요소로서 대사적 산화·환원반응에 대한 coenzyme기능을 수행하여, 세포내 미토콘드리아의 전자전달계에서 flavoprotein 또는 flavin dehydrogenase로  $\alpha$ -ketonic acids, fatty acids 및 amino acids의 대사에 이용된다. 또한, tryptophan이 nicotinic acid로 전변되는 반응에 있어 pyridoxine과 함께 관련하며, 눈의 각막과 같은 혈관조직의 호흡에 매우 중요하다. 한편, 명암에 적응하는 동안 망막색소에 관련하기 때문에, 어류나 실험동물에 있어 결핍시 시력손상과 수명현상(photophobia)을 유발한다. 현재 시판되고 있는 어류사료에는 소량의 riboflavin이 함유되어 있기 때문에 정상적인 성장 및 생명현상을 위해서 dry powder 형태로 첨가해 주어야 한다(NRC, 1993).

어류 사료 내 Vitamin B<sub>2</sub> 적정요구량은, rainbow trout에서 4.0 mg riboflavin/kg (Takeuchi et al., 1980; Hughes et al., 1981; Woodward, 1985, 1994), common carp에 5 mg riboflavin/kg (Takeuchi et al., 1980), fingerling channel catfish에 6.0 mg riboflavin/kg (Zeitoun et al., 1976), fingerling channel catfish 4.3 mg riboflavin/kg (Serrini et al., 1996)에서 최대성장을 나타내었으며, Pacific salmon (Leith et al., 1990)과 yellowtail (Shimeno, 1991)은 각각 7과 11 mg riboflavin/kg으로 높은 요구량을 보였다.

한편, 어류에 있어서 riboflavin의 결핍에 대한 일반적인 증세로는 성장을 저하와 식욕부진을 들 수 있으며, 높은 폐사, 영양력 상실, photophobia (Halver, 1957), 피부착색(Hosokawa, 1989), 출혈(Arai et al., 1972) 등도 확인되고 있다(NRC, 1993). 본 연구에서는 사료 내 Vitamin B<sub>2</sub>를 수준별로 첨가하여 사육실험 후, 성장률, 사료효율, 일간성장을 및 생존율 등의 성장평가와,

어체 내 영양소(일반성분 및 미량성분) 조성에 관한 생화학적 평가 및 소화율 평가를 통하여 현재까지 수행된 바 없는 어린 청해삼의 사료 내 적정 Vitamin B<sub>2</sub> 첨가수준을 구명함에 있다.

## 나. 재료 및 방법

### 실험사료

실험에 사용된 기초 사료의 원료, 일반성분 및 아미노산 조성을 Table 1와 3에 각각 나타내었다. 기초사료는 단백질원으로 defatted fish meal과 casein을 사용하였고, 탄수화물원으로는 wheat flour, 지질원으로는 어유를 첨가하여 사용하였다. 그리고 B<sub>2</sub>의 농도를 0 (control), 5, 10, 20, 60, 600 mg riboflavin/kg diet (B<sub>2</sub>-0, B<sub>2</sub>-5, B<sub>2</sub>-10, B<sub>2</sub>-20, B<sub>2</sub>-60 및 B<sub>2</sub>-600) 달리하여 총 6종류의 실험사료를 제조하였다. 사료제조 후, 실험사료별 Vitamin을 분석한 결과, Vitamin B<sub>2</sub> 농도가 각각 0.29, 4.22, 8.93, 17.9, 56.7 그리고 577 mg riboflavin/kg 이었으며(Table 2). 따라서 실험구별 사용된 사료는 B<sub>2</sub>-0, B<sub>2</sub>-4, B<sub>2</sub>-9, B<sub>2</sub>-18, B<sub>2</sub>-57 그리고 B<sub>2</sub>-577로 명시하였다.

### 실험어 및 사육관리

실험에 이용된 해삼은 경남 거제도 있는 M 종묘 업체에서 구입하여 실험 환경에 대한 적응을 위해 2톤 원형 수조에서 유수식으로 일주일간 예비사육하였다. 평균 무게  $1.49 \pm 0.07g$  인 어린 해삼을 선별하여 20ℓ 크기의 사각수조에 실험구 당 각각 20마리씩 3반복으로 배치하였으며, 각 실험수조는 반순환 여과식으로 분당 100ℓ의 자연해수를 첨가하는 방법으로 설치하였다. 산소 공급을 위하여 에어스톤을 설치하였으며, 냉각기와 히터를 사용하여 13℃로 수온을 조절하였다. 사료의 급여는 체중의 0.5%를 일주일 분량으로 나누어 매일 1회 (오후 7시) 공급하였으며, 사육 실험기간은 14주간 이었다.

Table 1. Composition and proximate analysis of the basal diet (% of dry matter basis)

Ingredient	%
Casein, vitamin free	15.0
Defatted fish meal	3.0
Wheat flour	70.0
Fish oil	3.0
Vitamin premix (Vitamin B <sub>2</sub> free)	3.0
Mineral premix	3.0
Cellulose	3.0
Vitamin B <sub>2</sub>	0.0
<i>Proximate analysis</i>	
Moisture	12.0
Crude protein	26.1
Crude lipid	4.1
Ash	2.7

Table 2. Analyzed dietary concentration of riboflavin (mg/kg diet) from each source

Amino acids	Diets					
	B <sub>2</sub> -0	B <sub>2</sub> -4	B <sub>2</sub> -9	B <sub>2</sub> -18	B <sub>2</sub> -57	B <sub>2</sub> -577
Added riboflavin levels	0	5	10	20	60	600
Analyzed riboflavin levels	0.29	4.22	8.93	17.9	56.7	577

#### 시료채취 및 성분분석

실험사료와 실험해삼을 각 수조별로 5마리씩 무작위로 추출하여 전어체를

분석하였으며, AOAC (Association of Official Analytical Chemists, 2000)방법에 따라 수분은 강제 순환식 건조기(CeraX, Korea)를 이용하여 상압가열건조법(135℃, 2시간)으로, 조단백질은 단백질분석기(Tecator kjeltec 1030 analyzer, Sweden)를 이용하여 kjeldahl 질소정량법(N×6.25)으로, 조회분은 회화로(Yj-8500D, Korea)를 이용하여 직접회화법으로 분석하였다. 조지방은 샘플을 12시간 동결 건조한 후, soxtec system 1046 (Tecator AB, Sweden)을 사용하여 soxhlet 추출법으로 분석하였다. 사료의 지방산은 GC (Gas Chromatography, Thermo finnigan trace GC, USA)를 이용하여 분석하였으며, 아미노산은 아미노산 전용 분석기(Sykam amino acid analyer S433, Germany)를 이용하여 Ninhydrin 방법으로 분석하였다.

Vitamin B<sub>2</sub>는 AOAC (1995) 방법에 따라 성분분석 하였다. 분석할 시료 1 g을 정확히 측정된 다음, HPO<sub>3</sub> 9 ml를 넣어 20분 정도 반응시킨 후, 용액을 원심분리기 1000 rpm 4℃에서 분리시킨 다음, 상층액을 분석용 시료로 사용하였다. Vitamin B<sub>2</sub>분석은 UV 감지기가 달린 HPLC (Syknam, German)로 분석하였으며, 용매는 0.1 M KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 파장은 254 nm, 시료 주입량은 20 μl로 하였다.

#### 소화율 측정

분(feces) 샘플은 spuit와 micro-pipette을 이용하여 수집하였다. 6가지 사료의 외견상 단백질 소화율 측정은 산화크롬(Cr<sub>2</sub>O<sub>3</sub>) 방법(Hanley, 1987)을 사용하였으며, Cho & Slinger (1979) 와 Sugiura et al. (1998)의 방법으로 계산하였다. 각 영양소의 소화율 측정은 간접방법으로 지표물질인 산화크롬(Cr<sub>2</sub>O<sub>3</sub>)을 이용하여 사료와 분의 단백질을 측정된 후 사료와 분내의 산화크롬 양을 측정하여 다음 식에 의하여 소화율을 측정하였다.

$$\text{건물 소화율} = 100 - [100 \times \left( \frac{\text{사료중의 Cr}_2\text{O}_3(\%)}{\text{분중의 Cr}_2\text{O}_3(\%)} \right)]$$



## 통계처리

모든 자료의 통계처리는 Computer Program Statistix 3.1 (Analytical Software, St. Paul MN. USA)로 분산분석(ANOVA test)을 실시하여 최소 유의차검정(LSD: Least Significant Difference)으로 평균간의 유의성( $P < 0.05$ )을 검정하였다. 그리고, 적정 Vitamin B<sub>2</sub>함량은 증체량을 지표로 broken-line model (Robbins, 1986)을 이용하여 측정하였다(SAS procedure NLIN, 2002).

Table 3. Proximate amino acid composition of the basal diet (% of DM basis)<sup>1</sup>

Amino Acid	%
Aspartic acid	1.44
Threonine	0.73
Serine	1.02
Glutamic acid	5.48
Glycine	0.55
Alanine	0.68
Valine	1.19
Isoleucine	0.91
Leucine	1.72
Tyrosine	0.96
Phenylalanine	1.06
Histidine	0.65
Lysine	1.23
Arginine	0.80
Proline	2.09
Total AA	20.5

<sup>1</sup> Values of fatty acid were analyzed at Feeds & Foods Nutrition Research Center, Pukyong National University.

#### 다. 결과 및 고찰

14주간의 성장 실험결과는 Table 1에 나타내었다. 증체율(WG)과 일간성장율(SGR)에 있어서 B<sub>2</sub>-0을 공급한 실험구가 다른 모든 실험구에 비하여 유의하게 낮게 나타났으며(P<0.05), B<sub>2</sub>-18, B<sub>2</sub>-57 및 B<sub>2</sub>-577을 공급한 실험구는 B<sub>2</sub>-4를 공급한 실험구에 비하여 유의적으로 높게 나타났다(P<0.05). 그러나 B<sub>2</sub>-4와 B<sub>2</sub>-9을 공급한 실험구간에는 유의한 차이가 나타나지 않았으며(P>0.05), B<sub>2</sub>-9, B<sub>2</sub>-18, B<sub>2</sub>-57 및 B<sub>2</sub>-577을 공급한 실험구간에도 유의한 차이가 나타나지 않았다(P>0.05). 사료효율에 있어서는 B<sub>2</sub>-0를 공급한 실험구가 다른 모든 실험구에 비교하여 유의적으로 낮게 나타났으며(P<0.05), B<sub>2</sub>-4를 공급한 실험구는 B<sub>2</sub>-9, B<sub>2</sub>-57 및 B<sub>2</sub>-577에 비교하여 유의적으로 낮게 나타났다(P<0.05). 생존율에 있어서는 B<sub>2</sub>-4 및 B<sub>2</sub>-577을 공급한 실험구는 B<sub>2</sub>-18을 공급한 실험구에 비교하여 유의적으로 높게 나타났으며(P<0.05), B<sub>2</sub>-0, B<sub>2</sub>-4, B<sub>2</sub>-57 및 B<sub>2</sub>-577을 공급한 실험구간에는 유의한 차이가 나타나지 않았다(P>0.05).

Table 4. Effects of the five different dietary vitamin B<sub>2</sub> levels in juvenile sea cucumber, *Stichopus japonicus* for 14 weeks<sup>1</sup>

Diets	WG <sup>2</sup>	FE <sup>3</sup>	SGR <sup>4</sup>	Survival
B <sub>2</sub> -0	87.1 <sup>c</sup>	14.5 <sup>c</sup>	0.64 <sup>c</sup>	70.0 <sup>ab</sup>
B <sub>2</sub> -4	110.6 <sup>b</sup>	18.8 <sup>b</sup>	0.76 <sup>b</sup>	75.0 <sup>a</sup>
B <sub>2</sub> -9	127.4 <sup>ab</sup>	22.6 <sup>a</sup>	0.84 <sup>ab</sup>	58.3 <sup>bc</sup>
B <sub>2</sub> -18	132.2 <sup>a</sup>	21.2 <sup>ab</sup>	0.86 <sup>a</sup>	53.3 <sup>c</sup>
B <sub>2</sub> -57	137.4 <sup>a</sup>	22.8 <sup>a</sup>	0.88 <sup>a</sup>	70.0 <sup>ab</sup>
B <sub>2</sub> -577	140.1 <sup>a</sup>	23.0 <sup>a</sup>	0.89 <sup>a</sup>	76.7 <sup>a</sup>
Pooled SEM <sup>5</sup>	4.93	2.27	0.03	2.69

<sup>1</sup> Values are means from triplicate groups of sea cucumber where the means in each column with a different superscript are significantly different (P<0.05).

<sup>2</sup> Weight gain (%): (final weight - initial weight) × 100 / initial weight.

<sup>3</sup> Feed efficiency (%): increase in biomass of × 100 / feed intake.

<sup>4</sup> Specific growth rate (%): (ln final weight - ln initial weight) / days × 100.

<sup>5</sup> Pooled standard error of mean: SD/√n.

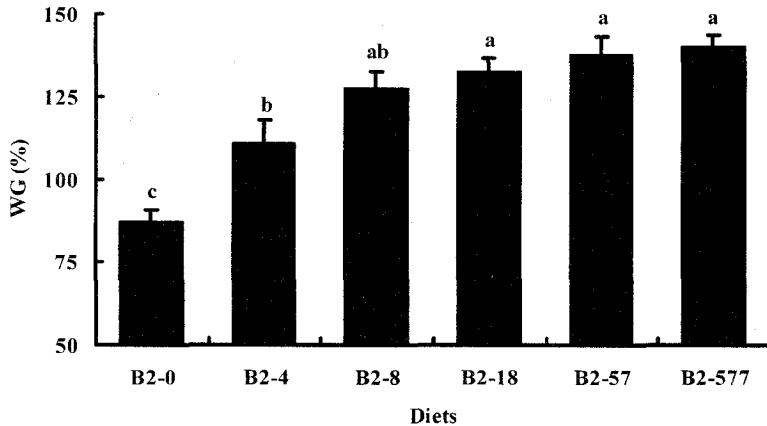


Fig. 1. Weight gain (%) of sea cucumber fed different levels of Vitamin B<sub>2</sub> during 14 weeks.

전어체 분석 결과는 Table 5에 나타내었다. 조단백질 함량에 있어서 B<sub>2</sub>-4와 B<sub>2</sub>-9를 공급한 실험구가 B<sub>2</sub>-57을 공급한 실험구에 비해 유의적으로 높게 나타났으며(P<0.05), B<sub>2</sub>-0, B<sub>2</sub>-18, B<sub>2</sub>-57 및 B<sub>2</sub>-577을 공급한 실험구간에는 유의한 차이가 나타나지 않았다(P>0.05). 조지방 함량에 있어서는 B<sub>2</sub>-4를 공급한 실험구가 B<sub>2</sub>-0, B<sub>2</sub>-18, B<sub>2</sub>-57 및 B<sub>2</sub>-577을 공급한 실험구에 비해 유의적으로 낮게 나타났으며(P<0.05), B<sub>2</sub>-0, B<sub>2</sub>-9 및 B<sub>2</sub>-18을 공급한 실험구간에는 유의한 차이가 나타나지 않았다(P>0.05). 조회분 함량에 있어서는 B<sub>2</sub>-9을 공급한 실험구가 다른 모든 실험구에 비해 유의적으로 높게 나타났으며(P<0.05), B<sub>2</sub>-9, B<sub>2</sub>-18, B<sub>2</sub>-57 및 B<sub>2</sub>-57을 공급한 실험구는 B<sub>2</sub>-0를 공급한 실험구에 비해 유의적으로 높게 나타났으며(P<0.05). 전어체 riboflavin 함량에 있어서는 B<sub>2</sub>-57 과 B<sub>2</sub>-577을 공급한 실험구가 B<sub>2</sub>-0을 공급한 실험구에 비해 유의적으로 높게 나타났으며(P<0.05), B<sub>2</sub>-4, B<sub>2</sub>-9, B<sub>2</sub>-18, B<sub>2</sub>-57 및 B<sub>2</sub>-57을 공급한 실험구간에는 유

의한 차이가 나타나지 않았다( $P>0.05$ ).

Table 5. Proximate composition (%) of the whole body of juvenile sea cucumber fed the experimental diets for 14 weeks

Diets	Moisture	Crude protein	Crude lipid	Ash	Vitamin B <sub>2</sub> <sup>1</sup>
B <sub>2</sub> -0	91.8	31.9 <sup>ab</sup>	4.94 <sup>ab</sup>	37.3 <sup>d</sup>	0.023 <sup>b</sup>
B <sub>2</sub> -4	92.4	34.6 <sup>a</sup>	3.35 <sup>c</sup>	44.0 <sup>b</sup>	0.037 <sup>ab</sup>
B <sub>2</sub> -9	93.6	34.3 <sup>a</sup>	4.55 <sup>bc</sup>	47.2 <sup>a</sup>	0.051 <sup>ab</sup>
B <sub>2</sub> -18	92.6	30.7 <sup>ab</sup>	6.36 <sup>ab</sup>	41.5 <sup>c</sup>	0.060 <sup>ab</sup>
B <sub>2</sub> -57	93.1	30.3 <sup>b</sup>	7.80 <sup>a</sup>	42.7 <sup>bc</sup>	0.073 <sup>a</sup>
B <sub>2</sub> -577	92.5	31.7 <sup>ab</sup>	7.79 <sup>a</sup>	42.5 <sup>bc</sup>	0.063 <sup>a</sup>
Pooled SEM <sup>3</sup>	0.61	0.14	0.10	0.18	0.01

<sup>1</sup> Whole body riboflavin concentration (mg riboflavin/kg body).

해삼의 건물 소화율은 모든 실험구간에 유의한 차이가 없었다 (Table 6).

Table 6. Apparent dry matter digestibility (ADM) of juvenile sea cucumber fed the experimental diets

Diets	ADM (%)
B <sub>2</sub> -0	45.0
B <sub>2</sub> -4	42.5
B <sub>2</sub> -9	43.8
B <sub>2</sub> -18	47.8
B <sub>2</sub> -57	47.7
B <sub>2</sub> -577	44.5
Pooled SEM <sup>2</sup>	1.96

Vitamin B<sub>2</sub>로 알려져 있는 riboflavin은 1879년 skim milk와 whey에서 발견되는 형광성의 녹황색 색소로 보고되었다. Riboflavin은 NAD 혹은 NADP-cytochrome reductases를 포함하여 생체내의 여러 가지 효소의 보조인자로서 작용하며 특히 산화·환원반응에 관여하는 효소의 보조인자로서 중요하다(Austic and Scott, 1991). Riboflavin은 다양한 종의 박테리아, 곰팡이, 초록식물 및 하등생물에서는 합성이 되나 고등생물은 합성하지 못하여, 물 또는 사료를 통하여 공급하여야 한다. 따라서 본 실험은 해삼사료 내 riboflavin의 수준별 첨가를 통해 해삼에 미치는 영향을 평가하여 사료 내 적정 riboflavin의 함량을 확인하기 위하여 실시하였다.

14주간의 성장실험 결과, riboflavin 결핍사료를 공급하였을 때 증체율, 사료효율 및 일간성장율이 감소하는 경향이 나타났다. 이러한 경향은 많은 연구들과 일치하였다. 산란계(産卵鷄)에 있어서, riboflavin 결핍은 산란율 및 부화율을 저하시키며(Austic and Scott, 1991), 어린 병아리에서는 말초신경병증을 유발하는 것으로 알려져 있다(Chung and Baker, 1990; White et al., 1992) 또한 잉어, 채널메기, 무지개송어 및 틸라피아에게 riboflavin이 결핍된 사료를 공급하였을 때 성장저하 및 체형의 왜소발육을 유발한다는 보고도 있다(Takeuchi et al., 1980; Amezaga and Knoz, 1990; Soliman and Wilson, 1992; Giovanni et al., 1995). channel catfish에 있어 riboflavin이 결핍된 사료를 공급하였을 때 사료의 이용성이 저하된다는 보고가 있었으며(Giovanni et al., 1995), 이 결과는 본 실험결과와 유사하였다. Giovanni et al. (1995)은 riboflavin이 결핍된 사료를 섭취한 channel catfish에서 현저히 낮은 사료효율을 나타냄으로써 사료의 이용성이 저하되어 성장율이 다른 실험구들에 비하여 낮아진다고 설명하였다. 그 외 어류에서 riboflavin 결핍증세로 높은 폐사율, 광선염기증, 백내장 및 체표면 색소 침착 등이 보고되었으나(NRC, 1993), 본 연구에서는 성장을 제외한 외관상 특이한 증상은 발견되지 않았다.

실험 종료 후 해삼의 체조성 분석결과, 사료 내 riboflavin 함량이 증가할수록 해삼의 체내에 riboflavin의 함량이 증가하는 경향이 나타났으며, 사료 내 riboflavin이 57 mg riboflavin/kg diet 이상 함유되어 있어도 체내 축적량은

더 이상 증가하지 않음을 확인할 수 있었다. 이러한 결과는 Deng and Wilson (2003)과 Giovanni et al. (1995)이 Sunshine bass 및 channel catfish를 대상으로 연구한 결과와 일치하였다. 또한 본 실험 시작 직전 해삼의 체 조성 분석결과, 체내 riboflavin 함량이 0.04 mg riboflavin/kg body였으나, 14주간 실험 후 사료 내 riboflavin을 0 및 4 mg riboflavin/kg diet를 공급한 실험구에 있어 0.023 및 0.037 mg riboflavin/kg body로 실험 시작 직전에 비해 낮게 나타났다. 이 결과는 자연산 청해삼이 체내에 0.04 mg riboflavin/kg body를 함유한다는 보고와 유사하다(수산기술지, 2004).

본 연구에서 실험사료의 이용률을 평가하기 위한 방법으로써 소화율 측정을 수행하였다. 건물 소화율 평가결과,  $45.2 \pm 2.13\%$ 로 Sun et al. (2004)이 보고한 40-60%와 유사하게 나타났다. 그러나 어류에서의 소화율 60-90% (Lim et al., 2004; Yoo et al., 2005; Choi et al., 2006)와 비교하면 매우 낮은 수치를 나타내고 있는데, 이는 사료효율 및 성장이 어류에 비해 낮기 때문에 나타난 결과로 사료된다.

Riboflavin의 요구량은 닭이 3.6~4.6 mg riboflavin/kg diet, 무지개송어 4 mg riboflavin/kg diet, 잉어 5 mg riboflavin/kg diet, channel catfish 및 틸라피아가 6 mg riboflavin/kg diet로 보고되어 있다(Kim, 2001, Takeuchi et al., 1980; Amezaga and Knoz, 1990; Soliman and Wilson, 1992, Giovanni et al., 1995). 본 실험에서는 증중율을 대상으로 broken line analysis에 의해 요구량을 추정한 결과,  $10.7 \pm 1.2$  mg riboflavin/kg diet로 해삼이 다른 어류 및 가축에 비해 높게 나타났다. 이러한 현상은 다른 어류 및 가축들이 먹이를 적극적으로 먹는 반면 해삼은 운동성이 미약하여 먹이를 먹는데 걸리는 시간이 길어져 riboflavin의 수중 용출율이 높아졌기 때문으로 판단된다.

본 실험에 있어서 사료 내 Vitamin B<sub>2</sub> 요구량에 도달하기 전까지는 사료 내 Vitamin B<sub>2</sub> 함량이 증가함에 따라 해삼의 증체율도 증가하는 추세를 보였으며, 요구량에 도달하면 일정하게 나타나는 경향을 보였고, Vitamin B<sub>2</sub>를 첨가하지 않은 대조구와 실험구간 사이의 뚜렷한 성장차이를 나타내고 있다.

따라서, 상기 결과를 토대로 broken line analysis에 의해 증체율을 지표로

추정한 해삼의 최대 성장을 위한 사료 내 Vitamin B<sub>2</sub> 요구량은 10.7±1.22 mg riboflavin/kg diet로 나타났다.

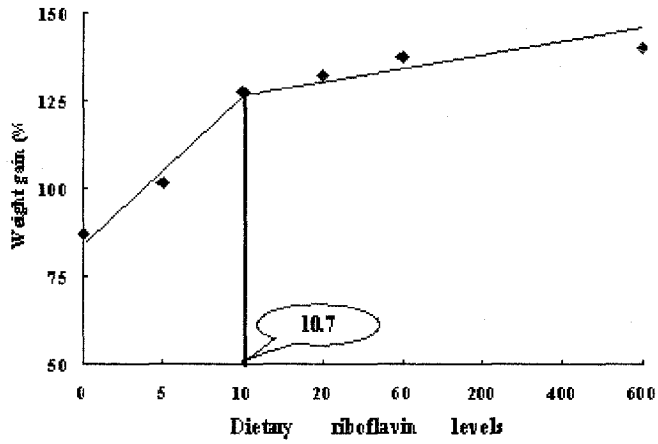


Fig. 2. Weight gain (%) and broken line analysis of weight gain of sea cucumber fed different levels of Vitamin B<sub>2</sub> during 14 weeks.

## 5. 어린 해삼의 비타민 E ( $\alpha$ -Tocopherol) 요구량

### 가. 서론

비타민 E는  $\alpha$ -tocopherol의 생물학적 활성의 복합체로 나타난다. 이것은 자연 내 4개의 tocopherols와 4개의 tocotrienols을 포함한다. 그들 중에서 d- $\alpha$ -tocopherol은 가장 높은 비타민 E 활성을 가진다(NRC 1993). 비타민 E의 free tocopherol형태는 산화되는 상태에서 불안정하다. 반면에 acetate와 succinate esters는 상당히 안정적이며 이런 ester형태는 항산화활성을 가지고 있지 않다. 그러나 그들은 소화관내에서 즉시 가수분해 되어 free tocopherol을 생물학적으로 활성화시킨다(Hung et al., 1989). 비타민 E는 지용성 항산화제이며, 생물학적으로 세포막과 리포단백질을 산화에 대항하여 보호하는 기능을 한다. 그것은 육질과 면역, 적혈구 용혈의 대항 그리고 모세관의 침투성, 심장 근육을 유지시킨다(Halver, 2002). 게다가 어류에 비타민 E의 보충증가는 어류 육질을 향상시킨다고 보고되어 있다(Gatlin et al., 1992; Chaiyeapechara et al., 2003; Ruff et al., 2003).

사료내 비타민 E 요구량은 Atlantic salmon, *Salmo salar* (Hamre and Lie, 1995a); Korean rockfish, *Sebastes schlegelii* (Bai and Lee, 1998); Argentine red shrimp, *Pleoticusmuelleri* Bate (Fernandez-Gimenez et al., 2004); soft-shelled turtle, *Pelodiscus sinensis* (Huang and Lin, 2004); grass shrimp, *Penaeus monodon* (Lee and Shiau, 2004) and grouper, *Epinephelus malabaricus* (Lin and Shiau, 2005)를 포함한 여러 양식어종에서 보고되었다. 이 요구량들은 사료내 지질(특히, polyunsaturated fatty acid - PUFA) 함량과 같은 여러 요인들에 의해 달라진다(Watanabe et al., 1981a; Schwarz et al., 1988; Hamre and Lie, 1995b; Shiau and Shiau, 2001). 그리고 비타민 E는 셀레늄, 비타민 C 및 아스타잔틴과 상호작용 하며(Kim et al., 2003), 비타민 E 요구량은 환경적인 요인이나 어류의 성장단계에 따라 달라질 수 있다.

비타민 E의 결핍증상은 Chinook salmon, *Oncorhynchus tshawytscha*



(Woodall et al., 1964); common carp, *Cyprinus carpio* (Watanabe et al., 1970, 1981a); channel catfish, *Ictalurus punctatus* (Murai and Andrews, 1974; Lovell et al., 1984; Wilson et al., 1984); rainbow trout, *Salmo gairdneri* (Cowey et al. 1981, 1983; Watanabe et al., 1981b) and yellowtail, *Seriola quinqueradiata* (Toyoda, 1985)를 포함한 여러 양식어종에서 보고되었다.

해삼은 아시아의 많은 지역에서 중요한 수산자원으로 가격이 비싸고 건강 식품으로 높은 가치를 지닌다. 해삼은 박테리아, 원생생물, 규조류 및 동식물 들로부터 나오는 유기퇴적물들이 침전되거나 퇴적될 때의 유기물질을 영양원으로 섭식하거나(Zhang et al., 1995), 다른 동물이 섭식한 후의 잔여분이나 배설물 등도 먹이로 사용한다(Yang et al., 2000; Yang et al., 2001).

이러한 해삼의 먹이 습성 때문에 다른 종들과 복합양식이 가능하며, 양식 환경의 청결하게 하고 추가적인 사료의 공급 없이도 생산이 가능하다 (Ahlgren 1998; Mou et al. 2000; Kang et al. 2003; Michio et al. 2003; Pitt et al. 2004; Zhou et al. 2006). 해조류 및 이매패류의 배설물은 해삼의 양식을 위한 먹이로 공급될 수 있다(Yuan et al. 2006). 그러나 해삼은 아직까지 영양소 요구량이 확립되어 있지 않기 때문에 배합사료가 없는 실정이다.

그러므로 본 연구는 해삼의 적정  $\alpha$ -tocopherol 요구량을 평가하기 위해 수행되었다.

## 나. 재료 및 방법

### 실험사료

실험에 사용된 기초 사료의 원료, 일반성분 및 아미노산 조성을 Table 1 나타내었다. 기초사료는 단백질원으로 defatted fish meal과 casein을 사용하였고, 탄수화물원으로는 wheat flour, 지질원으로는 어유를 첨가하여 사용하였다. 그리고 비타민 E의 농도를 0 (control), 5, 10, 20, 60, 600 mg  $\alpha$ -tocopherol/kg (E4, E12, E23, E44, E77 and E378) 달리하여 총 6종류의 실험사료를 제조하였다. 사료제조 후, 실험사료별 Vitamin을 분석한 결과,

Vitamin E 농도가 각각 4.0, 12.4, 23.1, 44.3, 77.4 and 378.1 mg  $\alpha$ -tocopherol/kg 이었으며(Table 2), 실험구별 사용된 사료는 B<sub>2</sub>-0, B<sub>2</sub>-4, B<sub>2</sub>-9, B<sub>2</sub>-18, B<sub>2</sub>-57 및 B<sub>2</sub>-577로 명시하였다.

#### 실험어 및 사육관리

실험에 이용된 해삼은 경남 거제도 있는 M 종묘 업체에서 구입하여 실험 환경에대한 적응을 위해 2톤 원형 수조에서 유수식으로 일주일간 예비사육 하였다. 평균 무게  $1.48 \pm 0.07g$  인 어린 해삼을 선별하여 20ℓ 크기의 사각수조에 실험구 당 각각 20마리씩 3반복으로 배치하였으며, 각 실험수조는 반순환 여과식으로 분당 100ℓ의 자연해수를 첨가하는 방법으로 설치하였다. 산소 공급을 위하여 에어스톤을 설치하였으며, 냉각기와 히터를 사용하여 13℃로 수온을 조절하였다. 사료의 급여는 체중의 0.5%를 일주일 분량으로 나누어 매일 1회 (오후 7시) 공급하였으며, 사육 실험기간은 14주간 이었다.

#### 시료채취 및 성분분석

실험사료와 실험해삼을 각 수조별로 5마리씩 무작위로 추출하여 분쇄한 전어체를 분석하였으며, AOAC (Association of Official Analytical Chemists, 2000)방법에 따라 수분은 강제 순환식 건조기(CeraX, Korea)를 이용하여 상압가열건조법(135℃, 2시간)으로, 조단백질은 단백질분석기(Tecator kjeltec 1030 analyzer, Sweden)를 이용하여 kjeldahl 질소정량법(N $\times$ 6.25)으로, 조회분은 회화로(Yj-8500D, Korea)를 이용하여 직접회화법으로 분석하였다. 조지방은 샘플을 12시간 동결 건조한 후, soxtec system 1046 (Tecator AB, Sweden)을 사용하여 soxhlet 추출법으로 분석하였다. 사료의 지방산은 GC (Gas Chromatography, Thermo finnigan trace GC, USA)를 이용하여 분석하였으며, 아미노산은 아미노산 전용 분석기(Sykam amino acid analyer S433, Germany)를 이용하여 Ninhydrin 방법으로 분석하였다.

샘플의  $\alpha$ -tocopherol농도는 HPLC에 의하여 측정하였다.

Table 1. Composition and proximate analysis of the basal diet

Ingredient	% of dry matter basis
Casein, vitamin free <sup>1</sup>	15.0
Defatted fish meal <sup>2</sup>	3.0
Wheat flour	70.0
Fish oil <sup>3</sup>	3.0
Vitamin premix (Vitamin E free) <sup>4</sup>	3.0
Mineral premix <sup>5</sup>	3.0
Cellulose <sup>1</sup>	3.0
Vitamin E <sup>6</sup>	0.0
<i>Proximate analysis</i>	
Moisture	12.0
Crude protein	26.1
Crude lipid	4.06
Ash	2.65

<sup>1</sup> United States Biochemical, Cleveland, Ohio 44122.

<sup>2</sup> White fish meal, Kum Sung Feed Co. Ltd., Busan, Republic of Korea.

<sup>3</sup> E-Wha Oil Co. Ltd., Busan, Republic of Korea.

<sup>4</sup> Contains (as g/100g premix): dl-calcium pantothenate, 0.5; inositol, 0.5; menadione, 0.02; niacin, 0.5; pyridoxine-HCL, 0.05; riboflavin, 0.1; thiamine mononitrate, 0.05; retinyl acetate, 0.02; biotin, 0.005; folic acid, 0.018; B12, 0.0002; cholecalciferol, 0.008; alpha-cellulose, 98.18.

<sup>5</sup> Contains (as mg/kg diet): Al, 1.2; Ca, 5000; Cl, 100; Cu, 5.1; Co, 9.9; Na, 1280; Mg, 520; P, 5000; K, 4300; Zn, 27; Fe, 40.2; I, 4.6; Se, 0.2; Mn, 9.1.

<sup>6</sup> dl- $\alpha$ -tocopheryl acetate.

Table 2. Analyzed dietary concentration of  $\alpha$ -tocopherol (mg/kg diet) from each source

Amino acids	Diets					
	E4	E12	E23	E44	E77	E378
Added $\alpha$ -tocopherol levels	0	15	30	60	120	600
Analyzed $\alpha$ -tocopherol levels	4.0	12.4	23.1	44.3	77.4	378

### 통계처리

모든 자료의 통계처리는 Computer Program Statistix 3.1 (Analytical Software, St. Paul MN, USA)로 분산분석(ANOVA test)을 실시하여 최소 유의차검정(LSD: Least Significant Difference)으로 평균간의 유의성( $P < 0.05$ )을 검정하였다. 그리고, 적정 Vitamin E 함량은 broken-line model (Robbins, 1986)을 이용하여 측정하였다(SAS procedure NLIN, 2002).

### 3. 결과 및 고찰

사료내  $\alpha$ -tocopherol의 함량을 달리 함유하여 해삼의 성장결과 Table 3에 나타내었다. 해삼의 증중율, 일간성장률 및 사료효율은 E4와 E12를 공급한 실험구보다 E23, E44, E77과 E378을 공급한 실험구에서 유의하게 높게 나타났다( $P < 0.05$ ). 그러나 E23, E44, E77 및 E378 공급구와 E4와 E12 공급구간에 유의한 차이는 없었다. broken line analysis에 의해 증체율을 지표로 추정된 해삼의 최대성장을 위한 사료 내 Vitamin E 요구량은 41 mg  $\alpha$ -tocopherol/kg 으로 나타났다. 이러한 결과는 해삼에 있어  $\alpha$ -tocopherol은 필수 영양소라는 것을 보여준다. 해삼의 증중율, 일간성장률 및 사료효율은 사료내 비타민 E 함량이 23.1 mg  $\alpha$ -tocopherol/kg까지 증가할수록 증가하였다.

Table 3. Effects of the six dietary vitamin E levels on growth performance of juvenile sea cucumbers, *Apostichopus japonicus*, fed the experimental diets

Diets	WG <sup>2</sup>	FE <sup>3</sup>	SGR <sup>4</sup>	Survival
E4	98 <sup>b</sup>	16.9 <sup>b</sup>	0.70 <sup>b</sup>	66.7 <sup>ab</sup>
E12	106 <sup>b</sup>	18.4 <sup>b</sup>	0.74 <sup>b</sup>	70.0 <sup>a</sup>
E23	126 <sup>a</sup>	21.1 <sup>a</sup>	0.83 <sup>a</sup>	70.0 <sup>bc</sup>
E44	133 <sup>a</sup>	21.0 <sup>a</sup>	0.86 <sup>a</sup>	78.3 <sup>c</sup>
E77	133 <sup>a</sup>	21.9 <sup>a</sup>	0.87 <sup>a</sup>	80.0 <sup>ab</sup>
E378	135 <sup>a</sup>	21.2 <sup>a</sup>	0.87 <sup>a</sup>	85.0 <sup>a</sup>
Pooled SEM <sup>5</sup>	3.74	0.02	0.49	1.7

<sup>1</sup> Values are means from triplicate groups of sea cucumbers, where the means in each row with different superscripts are significantly different ( $P < 0.05$ ).

<sup>2</sup> Weight gain (%) = (final weight - initial weight) × 100 / initial weight.

<sup>3</sup> Specific growth rate (%/day) = (ln final wt. - ln initial wt.)/days.

<sup>4</sup> Feed Efficiency (%) = wet weight gain (g) × 100 / dry feed intake (g).

<sup>5</sup> Pooled standard error of mean:  $SD/\sqrt{n}$

본 연구에서 ANOVA test와 증중율의 broken line 분석에 의한 해삼의 비타민 E 요구량은 다른 어류 및 무척추 동물에서 보고된 함량보다 더 적게 나타났다. He and Lawrence (1993)는 shrimp, *Penaeus vannamei*의 사료내 적정 비타민 E 요구량이 99 mg vitamin E/kg으로 보고하였고, Lee and Shiau (2004)와 Fernandez Gimenez et al. (2004)은 grass shrimp, *Penaeus monodon*와 Argentine red shrimp, *Pleoticus muelleri*의 적정 비타민 E 요구량이 각각 85-89와 1750 mg/kg로 보고하였다. 그리고 Soft-shelled turtle, *Pelodiscus sinensis*은 적정 성장을 위해 88 IU/kg의 비타민E 함량을 요구한다(Huang and Lin, 2004). 어류에 있어 비타민 E 요구량은 Atlantic salmon, *Salmo salar*이 120 mg/kg diet (Hamre and Lie, 1995a), Korean rockfish, *Sebastes*

*schlegeli*이 45 mg/kg diet (Bai and Lee, 1998), juvenile tilapia, *Oreochromis niloticus*×*O. aureus*가 40-66 mg/kg diet (Shiau and Shiau, 2001), mrigal, *Cirrhinus mrigala*이 99 mg/kg diet (Paul et al., 2004) 그리고 rohu, *Labeo rohita*이 131.91 mg/kg diet (Sau et al., 2004)으로 다양하게 보고되어 있다. 본 연구에서 해삼의 비타민 E 요구량이 낮은 이유는 이전 연구와 자연에서의 해삼의 식성을 고려하여 제조한 사료의 낮은 지질함량에 의한 결과일 수도 있다. Roem et al. (1990)은 blue tilapia, *Oreochromis aureus*의 비타민 E의 요구량이 3% and 6%의 옥수수유를 함유하고 있는 사료에 있어 각각 10과 25 mg  $\alpha$ -tocopheryl acetate/kg이라고 제안하였으나, Fernandez Gimenez et al. (2004), Paul et al. (2004) 및 Sau et al. (2004) 등은 지질함량이 각각 13.2, 8.1, 및 8.48%일 때 더 높다고 보고하였다. 게다가, Shiau and Shiau (2001)은 juvenile tilapia, *Oreochromis niloticus* × *O. aureus*의 사료내 적정 비타민 E 요구량이 사료의 지질함량이 5%와 12%에서 각각 42-44 mg/kg과 60-66 mg/kg이라고 보고하였다. 해삼의 비타민 E 요구량이 상대적으로 낮은 것이 사료내 지질함량 또는 종에 따른 차이에 의해 기인된 것인지에 대해선 정확하게 결론짓기는 어렵다. 그러므로, 해삼의 비타민 E 요구량에 영향을 미칠 수 있는 사료의 지질함량과 같은 다른 요인들의 영향을 조사하는 것이 필요하다.

사육실험 종료 후, 해삼의 생존율은  $75 \pm 7.28$ (mean $\pm$ SD)였으며, E378을 공급구의 생존율은 E4, E12, E23 및 E44 공급구에 비해 유의적으로 높았고, E77과 E378을 공급한 실험구간에 유의적인 차이는 없었다. 그리고 E44와 E77 공급한 해삼의 생존율은 E4, E12 및 E23 공급구보다 유의하게 높았다. 그러나 E4, E12 및 E23 공급구와 E44와 E77 공급구간에 유의한 차이는 없었다. Kanazawa (1985)는 사료내 비타민 E의 첨가가 kuruma prawn, *Marsupenaeus japonicus* 유생의 생존율을 향상시킬 수 있다는 것을 보여주었다. He et al. (1992)은 비타민 E 무첨가 사료를 8주간 공급한 whiteleg shrimp, *Litopenaeus vannamei*의 생존율이 유의하게 낮았다고 보고하였다. 반대로 Fernandez Gimenez et al. (2004)는 Argentine red shrimp, *Pleoticus muelleri*의 생존율과

사료내 비타민 E 함량 사이에 상호관계가 없다고 보고했다.  $\alpha$ -tocopherol이 가장 높게 함유된 E378의 공급은 해삼의 생존율을 향상시키지 않았다. 이상의 결과로부터, 해삼의 생존율을 위한 사료내 적정 비타민 E 함량은 44 mg  $\alpha$ -tocopherol/kg으로 판단된다.

해삼의 일반성분 분석결과를 Table 3에 나타내었다. 해삼의 수분, 조단백질, 조지질 및 회분 함량은 각각  $92.6 \pm 0.48$ (mean $\pm$ SD),  $32.1 \pm 3.33$ (mean  $\pm$  SD),  $4.03 \pm 1.10$ (mean $\pm$ SD) 그리고  $43.7 \pm 3.74$  (mean $\pm$ SD)으로 나타났다. 수분함량은 실험구간에 유의적인 차이가 없었으며, 회분 함량은 뚜렷한 경향을 보이지 않았다. 해삼의 단백질 함량은 E378 공급구를 제외한 모든 실험구간에 유의한 차이가 없었다. 해삼의 체내 지질함량은 E23와 E44 공급구가 E4, E12, E77 및 E378 공급구에 비해 유의하게 높았으나, E4, E12, E77 및 E378 공급구 또는 E23과 E44 공급구간에 유의한 차이는 없었다.

Table 5. Proximate composition (% , dry matter) of the whole body of juvenile sea cucumber *Apostichopus japonicus*, fed the experimental diets for 14 weeks<sup>1</sup>

Diets	Moisture	Crude protein	Crude lipid	Ash	Vitamin E <sup>2</sup>
E4	92.6	29.9 <sup>b</sup>	3.73 <sup>b</sup>	41.1 <sup>b</sup>	5.5 <sup>f</sup>
E12	92.9	29.1 <sup>b</sup>	3.76 <sup>b</sup>	46.4 <sup>a</sup>	11.2 <sup>e</sup>
E23	92.9	32.6 <sup>ab</sup>	5.16 <sup>a</sup>	47.8 <sup>a</sup>	18.2 <sup>d</sup>
E44	92.5	32.6 <sup>ab</sup>	5.34 <sup>a</sup>	43.1 <sup>ab</sup>	25.1 <sup>c</sup>
E77	92.6	32.7 <sup>ab</sup>	2.80 <sup>b</sup>	39.5 <sup>b</sup>	34.7 <sup>b</sup>
E378	92.1	32.8 <sup>a</sup>	3.41 <sup>b</sup>	43.9 <sup>ab</sup>	147.0 <sup>a</sup>
Pooled SEM <sup>3</sup>	0.11	0.79	0.26	0.88	11.8

<sup>1</sup> Values are means from triplicate groups of sea cucumbers where the means in each row with different superscripts are significantly different (P<0.05).

<sup>2</sup> Whole body vitamin E content ( $\mu$ g  $\alpha$ -tocopherol/kg body).

<sup>3</sup> Pooled standard error of mean: SD/ $\sqrt{n}$ .

이러한 현상들이 44.3  $\alpha$ -tocopherol/kg diet 이상의 함량에서는 관찰되지 않은 것으로 보아, 항산화제인  $\alpha$ -tocopherol의 보호 효과를 위해 E23과 E44를 공급한 해삼의 체내 지질함량이 증가한 것으로 보기는 어렵다. 그러나 본 연구에서 어체의 지질함량 증가가 적정  $\alpha$ -tocopherol 보충 범위내에서 발생했다는 것은 흥미있는 것으로 보인다. 그러나 Sau et al. (2004), Paul et al. (2004) 그리고 Huang and Huang (2004)은 rohu, *Labeo rohita*; mrigal, *Cirrhinus mrigala*와 hybridtilapia, *Oreochromis niloticus*  $\times$  *O.aureus* 각각에서 체내 지질함량에 있어 어떤 유의적인 차이가 없었다고 보고했다.

사료의  $\alpha$ -tocopherol 농도가 증가할수록 해삼 체내의 비타민 E 함량은 증가하였다. 본 연구의 결과와 유사하게, 어류와 무척추동물의 몇몇 종들은 비타민 E 함량이 사료의  $\alpha$ -tocopherol 함량이 증가하면서 증가하였다고 보고하였다(Bai and Gatlin, 1993; Lin and Shiau, 2005; Huang and Huang, 2004).

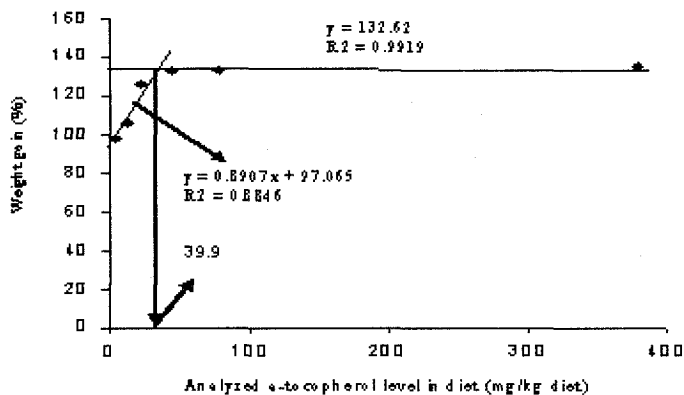


Fig. 1. Weight gain (%) and broken line analysis of weight gain of sea cucumber fed different levels of Vitamin E for 14 weeks.

결론적으로, ANOVA test를 근거로 하여 DL- $\alpha$ -tocopheryl acetate의 형태로 해삼의 적정 성장을 위한 사료내  $\alpha$ -tocopherol의 적정 첨가량은 약 23.1



mg  $\alpha$ -tocopherol/kg 이고, 해삼의 생존율을 위한 적정 첨가량은 44 mg  $\alpha$ -tocopherol/kg으로 나타났지만, 증중율의 broken line 분석 결과를 바탕으로 해삼의 적정  $\alpha$ -tocopherol 요구량은 41 mg  $\alpha$ -tocopherol/kg이라고 판단된다.

## 제2절 고효율 배합사료 설계를 위한 에너지원 연구

배합사료 개발은 그 어중에 적합한 영양소 이용효율 및 영양소 종류별 최소 요구량을 구명하는 것이 가장 먼저 선행되어야 한다. 이러한 기초적인 정보를 바탕으로 하여 영양소의 균형을 고려하면서 대상종이 최대로 이용할 수 있는 값싼 원료의 선택과 이용성을 구명한 후, 여러 가지의 원료를 적절히 혼합하여 최소한의 사료 단가를 도출하여 반복 실험하는 것이다. 이러한 취지에서 어린 해삼 배합사료에 적합한 에너지원 및 그 함량을 조사하였다.

### 1. 어린 해삼 배합사료의 단백질원 평가

#### 가. 서론

해삼류는 세계적으로 1,100여종 이상 분포하고 있으며, 우리나라에는 돌기해삼(*Stichopus japonicus*)이 주로 식용으로 이용되고 있다. 해삼은 칼로리가 낮고 필수아미노산과 미네랄 등이 풍부한 well-being 보양식품으로 오래전부터 한국, 중국, 일본 및 러시아 등에서 비교적 고가로 판매되고 있을 뿐 아니라 그 수요도 높다(Sloan, 1984). 그러나 최근에 무분별한 남획과 환경오염 등으로 인해 해삼 생산량이 감소함에 따라(Chen, 2004; Conand, 2004; Uthicke, 2004) 해삼의 인공종묘생산기술의 확립과 함께 양식에 대한 관심이 증가되고 있다.

해삼을 양식하기 위해서는 적정 먹이를 공급해야 하는데, 우리나라의 해삼 양식은 초기단계에 있고 양식에 필요한 배합사료에 관한 연구가 거의 없는 실정이라 해삼 양식시 사용되는 양성용 먹이는 자연산 해조류 분말(Sui, 1988; Battaglione et al., 1999) 또는 외국에서 수입되는 사료에 대부분 의존하고 있다. 해조류의 경우, 건조분말의 가격이 비싸고 해삼을 양식하기 위한 필요량을 항상 충족시키기 어려워 수급이 불안정하다. 수입 배합사료는 조성이

나 가공 형태에 대한 체계적인 연구 결과 없이 제조되어 시판되고 있어 영양소의 불균형 및 외화 낭비 등의 제반 문제점들을 가지고 있어 효율적인 해삼 양식의 걸림돌이 될 수 있다. 그러므로 효율적인 해삼 양식을 위해 경제성이 있는 적정 배합사료를 개발하는 것이 필요하다.

대상 생물의 성장과 사료 효율성은 주로 사료에 사용되는 원료의 함량, 종류 및 품질에 영향을 받을 수 있다. 사료내 영양소 중에서 단백질은 대상종의 성장에 직접적으로 영향을 미치는 가장 중요한 요소이고 가격이 비싸기 때문에 대상종의 성장과 사료단가 측면에서 가장 중요하게 고려되어야 한다 (Lovell, 1989). 어린 해삼 배합사료의 적정 단백질 함량은 30% 정도라고 보고되어 있다(Seo et al., 2008). 사료 단백질의 품질은 단백질원에 따라 달라지는데, 단백질원을 선정하기 위해서는 우선적으로 대상종의 식성을 고려하여야 한다. 육식성이 강한 해산어류의 경우에는 어분과 같은 동물성 단백질원의 이용성이 높으며(Bai and Kim, 1997; Jang et al., 2005), 잡식 및 초식성 동물은 소맥분, 대두박 및 해조류와 같은 식물성 단백질원의 이용성이 높다 (Lee et al., 1998; Hwang et al., 2003) 해삼은 해저에서 박테리아, 원생동물 및 규조류와 같은 유기물 뿐 아니라 식물 및 동물의 사체 또는 유기 분해물을 섭취하기 때문에(Yingst, 1976; Moriarty, 1982; Zhang et al., 1995) 식성이 초식 및 잡식성에 가깝다. Yuan et al. (2006)은 75% 이매패류 분과 25% 해조류 분말이 혼합된 사료가 해삼 양식을 위한 적정 먹이로 공급될 수 있다고 보고하였다. 하지만, 이매패류 분은 사료 원료로 필요한 양을 충족시키기 어려울 뿐 아니라 영양소의 불균형으로 사료원료로 사용되기에 부적합하기 때문에 많은 연구들에 의해 품질을 검증받고 쉽게 구할 수 있는 원료를 사용하여야 한다.

사료의 단백질원에 대한 평가는 사료의 질을 향상시키고, 사료단가를 낮추는데 기초적인 연구가 될 뿐 아니라 해삼 배합사료 개발을 위한 기초자료를 제공할 수 있다. 따라서 본 연구는 어린 해삼 사료에 적합한 단백질원을 조사하기 위해 수행하였다.

## 나. 재료 및 방법

### 실험사료

실험사료에 사용된 단백질 원료의 일반성분 및 아미노산 조성을 Table 1에 나타내었다. 실험사료는 Table 2에 나타낸 바와 같이 단백질원으로 어분, 대두박, 소맥분, 깻묵, 비지, 지충이 및 혼합물(각 원료들의 혼합)을, 지질원으로 오징어간유와 대두유를 그리고 탄수화물원으로 dextrin을 각각 사용하여 각각 사용하여 총 7종류의 실험사료를 설계하였다. 이와 같이 설계된 실험사료의 원료들을 잘 혼합하여 소형 pellet 제조기로 성형한 후, 60℃ 건조기에서 건조한 다음 어린 해삼의 먹이 습성을 고려하여 분말(180 mesh) 형태로 분쇄하였다. 제조된 실험사료는 -30℃에서 보관 하면서 필요시 공급하였다. 제조된 실험사료의 필수 아미노산 조성을 Table 3에 나타내었으며, 비지 첨가사료의 Arg 함량이 다른 실험사료보다 높았으며, 대두박 첨가사료의 Met+Cys 함량은 다른 실험사료보다 낮은 값을 보였다.

Table 1. Proximate and essential amino acid composition of the ingredients used to experimental diets

	Ingredients						
	WFM <sup>1</sup>	SM <sup>2</sup>	WF <sup>3</sup>	SSM <sup>4</sup>	SCR <sup>5</sup>	STP <sup>6</sup>	MIX <sup>7</sup>
<i>Proximate composition (% , dry matter)</i>							
Dry matter	90.9	91.5	89.6	99.9	97.5	97.1	94.5
Crude protein	78.9	54.8	16.2	49.0	21.9	12.6	37.1
Crude lipid	6.24	0.1	1.76	10.4	5.3	0.1	3.1
Ash	14.0	6.8	1.1	6.5	3.3	42.9	14.7
NFE <sup>8</sup>	0.9	38.4	80.9	34.1	69.5	44.4	45.1
<i>Essential amino acid composition (% in protein)</i>							
Arg	6.9	7.6	4.6	10.7	5.8	5.7	7.1
His	4.8	2.7	2.5	2.8	3.2	2.0	3.3
Ile	4.7	4.9	3.7	4.3	4.7	5.1	4.7
Leu	8.4	8.6	7.2	8.0	9.0	7.7	8.4
Lys	8.7	7.3	2.9	3.3	6.6	6.0	6.8
Met+Cys	3.1	0.4	1.2	1.0	0.9	1.3	1.2
Phe+Tyr	7.7	8.5	6.6	8.1	7.5	8.4	7.5
Thr	4.7	4.1	3.0	3.7	5.1	6.3	4.5
Val	5.5	5.3	4.8	5.6	6.0	6.8	5.5
Total	54.4	49.5	36.6	47.5	48.9	49.4	48.9

<sup>1</sup> White fish meal, produced by steam dry method, Chile.

<sup>2</sup> Soybean meal.

<sup>3</sup> Wheat flour.

<sup>4</sup> Sesame seed meal.

<sup>5</sup> Soybean-cure residue.

<sup>6</sup> *Sargassum thunbergii*.

<sup>7</sup> Mixture of six protein sources.

<sup>8</sup> Nitrogen-free extract 100-(crude protein+crude lipid+ash+crude fiber).

Table 2. Ingredients and nutrient contents of the experimental diets

	Diets						
	WFM	SM	WF	SSM	SCR	STP	MIX
<i>Ingredients (%)</i>							
White fish meal	41.0		29.0	10.0	25.0	32.0	16.0
Soybean meal		59.0					
Wheat flour			55.0				
Sesame seed meal				50.0			
Soybean-curd residues					55.0		
<i>Sargassum thunbergii</i>						50.0	
Mixture							50.0
Dextrin	46.0	26.0	3.0	31.0	10.0	5.0	21.0
Squid liver oil		4.0	2.0	0.3	1.0	2.0	2.0
Soybean oil	4.3	2.3	2.3		0.3	2.3	2.3
Vitamin premix <sup>1</sup>	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5
Mineral premix <sup>2</sup>	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0
Sodium alginate	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0
Choline	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
<i>Proximate analysis (% , dry matter basis)</i>							
Crude protein	30.8	31.8	32.3	32.0	31.8	30.5	32.3
Crude lipid	7.5	7.2	6.9	6.9	7.1	6.8	6.6
Ash	8.3	5.5	6.4	6.6	7.0	30.1	10.6
Crude fiber	1.0	6.1	1.4	15.7	11.5	4.7	1.6
NFE	52.4	49.4	53.1	38.7	42.6	27.9	48.9
Energy (kcal/ g diet)	4.5	4.6	4.5	4.4	4.4	3.4	4.4

<sup>1</sup> Vitamin premix contained the following amount which were diluted in cellulose (g/kg mix): L-ascorbic acid, 200.0; DL- $\alpha$ -tocopheryl acetate, 20.0; thiamin hydrochloride, 5.0; riboflavin, 8.0; pyridoxine hydrochloride, 2.0; niacin, 40.0; Ca-D-pantothenate, 12.0; myo-inositol, 200.0; D-biotin, 0.4; folic acid, 1.5; *p*-amino benzoic acid, 20.0; menadione, 4.0; retinyl acetate, 1.5; cholecalciferol, 0.003; cyanocobalamin, 0.003.

<sup>2</sup> Mineral premix contained the following ingredients (g/kg mix): NaCl, 7.0; MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O, 105.0; NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>·2H<sub>2</sub>O, 175.0; KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 224.0; CaH<sub>4</sub>(PO<sub>4</sub>)·H<sub>2</sub>O, 140.0; Ferric citrate, 17.5; ZnSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O, 2.8; Ca-lactate, 21.8; CuCl, 0.2; AlCl<sub>3</sub>·6H<sub>2</sub>O, 0.11; KIO<sub>3</sub>, 0.02; Na<sub>2</sub>Se<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, 0.007; MnSO<sub>4</sub>·H<sub>2</sub>O, 1.4; CoCl<sub>2</sub>·6H<sub>2</sub>O, 0.07.

Table 3. Essential amino acid composition of the experimental diets

	Diets						
	WFM	SM	WF	SSM	SCR	STP	MIX
<i>Essential amino acid composition (% in protein)</i>							
Arg	6.3	7.3	5.8	9.3	6.1	6.1	6.6
His	3.9	2.7	4.1	3.0	4.0	3.2	3.7
Ile	4.8	5.0	4.6	4.4	4.9	4.8	4.9
Leu	8.5	8.7	8.3	8.1	8.7	8.2	8.5
Lys	8.9	7.0	7.0	4.4	7.7	8.1	7.1
Met+Cys	2.9	0.8	2.5	1.8	2.1	2.5	2.3
Phe+Tyr	6.5	7.9	6.7	7.4	7.1	6.9	6.8
Thr	4.7	4.2	4.3	4.0	4.9	4.7	4.6
Val	5.3	5.3	5.3	5.6	5.7	5.4	5.6
Total	51.8	48.9	48.6	48.0	51.2	49.9	50.1

### 해삼 및 사육관리

전남 완도의 개인 양식장에서 종묘 생산된 어린 해삼을 구입하여 대형 콘 크리트 수조에 수용 후 상업용 수입사료를 1일 1회 공급하면서 2주간 적응시켰다. 사육실험은 총 21개의 수조(50ℓ)에 외형적으로 건강한 어린 해삼(평균 체중:  $0.8 \pm 0.05$  g)을 각각 50마리씩 3반복으로 수용하였으며, 실험사료를 어린 해삼 체중의 5%씩 1일 1회(17:00 h) 공급하면서 8주간 사육실험 하였다. 각 수조마다 aeration을 통해 산소를 공급하였으며, 고압모래여과장치로 여과된 자연해수를  $1 \ell / \text{min}$ 로 조절하여 흘려주었다. 사육실험 기간동안 수온은  $10.4 \pm 2.10^\circ\text{C}$ , 비중은  $1.026 \pm 0.0007$ 이었다. 각 수조에 남은 사료 찌꺼기는 이틀마다 사이펀으로 제거하였다. 실험 해삼은 사육실험 시작시와 종료시에 측정 전일 절식시킨 후, 각 수조에 수용된 해삼의 전체무게를 측정하였다.

### 사료채취 및 성분 분석

최초 성분 분석용으로 최초 어린 해삼 100마리를 무작위로 표본 추출하였으며, 실험 종료시에는 각 실험수조에 생존한 모든 어린 해삼을 성분분석용 시료로 취하여 동결건조하여 보관하였다. 원료, 실험사료 및 어린 해삼의 일반성분 분석은 AOAC (1990)의 방법에 따라 조단백질(N×6.25)은 Auto Kjeldahl System (Buchi B-324/435/412, Switzerland)를 사용하여 분석하였고, 조지방은 ether를 사용하여 추출하였으며, 수분은 105℃의 dry oven에서 6시간 동안 건조 후 측정하였다. 조회분은 600℃ 회화로에서 4시간 동안 태운 후 정량 하였다. 총에너지는 adiabatic bomb calorimeter (Parr, USA)를 이용하여 측정하였다. 그리고 실험 원료, 실험 사료 및 어린 해삼의 아미노산 분석은 아미노산전용분석기 (L-8800, Hitachi, Column : Ion exchange, Injection Pump : Pressure 0-19.6Mpa, Flow Rate 0.05-0.99ml/min, Column Oven : Electrothermal cooling (30-70℃), Reaction Unit : Reaction Column (135℃, 50℃), Photometer : Wavelength 570nm, 440nm)를 사용하여 정량분석 하였다.

#### 통계처리

결과의 통계처리는 ANOVA-test를 실시하여 Duncan's multiple range test (Duncan, 1955)로 평균간의 유의성을 SPSS (SPSS Inc., 1997) program을 사용하여 검정하였다.

#### 다. 결과 및 고찰

사료 단백질원의 품질은 대상종에 필요한 필수영양소 함량과 소화율에 따라 달라질 수 있으며(NRC, 1993), 사료의 단백질원을 선정하기 위해서는 그 원료의 영양성분, 기호성, 가격, 구입의 안정성 및 영양저해인자 등을 고려하여야 한다. 본 실험에서는 이러한 조건을 고려하여 이미 다른 어패류를 대상으로 효능이 증명된 다양한 동물성 및 식물성 단백질원들을 선정하여 그 효과를 평가하였다. 사육실험 종료 후, 생존율은 모든 실험구에서 74%-87%였으



며, 실험구간에 유의한 차이는 없었다( $P>0.05$ ). 어린 해삼의 증중율(WG)과 일간성장율(SGR)은 사료의 단백질원에 유의하게 영향을 받았으며( $P<0.05$ ), 지층이를 첨가한 실험구에서 가장 높게 나타났고(95.7%, 1.20%) 이어서 대두박(86.0%, 1.11%)과 혼합물(81.3%, 1.06%) 첨가구에서 지층이 첨가구와 유의한 차이 없이 양호한 성장을 보였다. 이에 반해, 깻묵을 첨가한 실험구의 WG와 SGR이 가장 낮았으며, 이 값은 어분(54.7%, 0.78%)과 소맥분(51.0%, 0.74%) 첨가구와 유의한 차이가 없었다. 이처럼 사료의 단백질원 종류에 따른 어린 해삼의 성장이 차이가 나는 것은 각 원료들이 함유한 영양소 조성에 따른 사료의 영양소 균형, 소화율 및 대상종의 식성 등에 따른 차이로 보인다. Seo et al. (2008)은 해삼의 적정 단백질 요구량이 30% 정도라고 보고하여 타 해산어류의 단백질 요구량에 비해 낮다는 것을 보여주었으며, 해저 퇴적물의 유기물 또는 해조류를 섭취하는 해삼의 식성을 고려할 때, 해삼은 초식 및 잡식성에 가깝다는 것을 짐작할 수 있다. 이러한 관점에서 볼 때, 식물성 원료인 지층이와 대두박은 어분과 같은 동물성 원료보다 어린 해삼 배합사료의 좋은 단백질원으로 사용될 수 있을 것으로 생각된다.

가장 양호한 성장결과를 보였던 지층이는 미역과 다시마 등의 해조류처럼 식용보다는 오래전부터 구충제와 퇴비로 사용되어 왔으며(Kang, 1966), 항암물질을 함유하고 있어(Khuang et al., 1995) 부가가치가 높은 해조류 중의 한 종이다. 지층이는 해삼 양식에도 많이 이용되고 있는데, 해삼 종묘생산 이후에 즙의 형태로 공급되다가 육성단계에서는 다른 원료들과 혼합하여 공급되는 원료로 해삼 양어가들의 선호도가 높다. 그러나 미역이나 다시마와 같이 식용으로 많이 이용되고 있는 해조류에 비해 구입에 있어 제한적일 뿐 아니라, 해조류의 특성상 높은 수분함량(약 90%)으로 사료 원료로 필요한 양을 충족시키기가 어려워 단가가 비싸다는 단점을 지닌다. 이에 반해, 대두박은 가격이 저렴하고 높은 단백질 및 필수아미노산을 함유하고 있어 어류 사료의 어분대체 단백질원으로 많이 이용되고 있는 원료로서 담수어류(Jackson et al., 1982; Smith, 1988; Viola et al., 1983, 1988; Wee and Shu, 1989) 뿐 아니라 해산어류(Shimeno et al., 1993; Reigh and Ellis, 1992; Cowey et al.,

1974)와 갑각류(Lochmann et al., 1992)를 대상으로도 많은 연구가 수행되어 왔다. 또한, Lee et al. (1998b)은 첨전복이 어분이나 카제인 못지 않게 대두박을 잘 이용한다고 보고하였다. 이처럼 대두박의 높은 이용성은 여러 해양 생물들에 의해 증명되어 왔으며, 배합사료 제조시에 중요한 단백질 원료로 사용되고 있다. 본 연구에서 대두박을 첨가한 실험구와 지층이를 첨가한 실험구간에 유의한 성장차이를 보이지 않은 것은 어린 해삼 배합사료의 단백질 원료로 대두박의 사용 가능성을 보여준다.

하지만, 대두박에는 trypsin inhibitor와 같은 영양저해요소(anti-nutritional factor)가 함유되어 있어 단백질의 이용성을 감소시킬 수 있을 뿐 아니라 Met이나 Lys같은 필수아미노산이 어분에 비해 낮게 함유되어 있어 부족한 아미노산으로 인해 대상종의 성장이 저해될 수 있다고 보고되어 있다 (Dabrowski and Kozak, 1979; Jackson et al., 1982). 그러나 대두박에 부족한 Met이나 인을 사료에 보충하여 성장이 개선될 수 있다는 보고(Dabrowska and Wojno, 1977; Murai et al., 1982; Shiau et al., 1988)가 있는 반면에 아미노산이나 인을 필요량만큼 사료에 보충하여도 성장개선효과가 없었다는 연구 보고도 있다(Andrew and Page, 1974; Lim and Dominy, 1989). 이처럼 대상종이나 대두박 이외에 혼합되는 원료들에 의해서 대두박의 이용성은 달라질 수 있다는 것을 보여준다. 본 실험에서도 대두박의 Met이나 Lys 함량은 다른 단백질 원료에 비해 낮았으며, 이들 부족한 아미노산을 보충해 주지 않았기 때문에 실험사료의 아미노산 함량 또한 낮았다. 하지만, 대두박 첨가 실험구의 성장율이 다른 실험구에 비해 감소되지 않은 것으로 보아 어린 해삼이 어류에 있어서 필수 아미노산으로 간주되는 Met이나 Lys 함량에 영향을 크게 받지 않는 것으로 판단된다. 향후, 어린 해삼의 아미노산 이용성에 관한 상세한 연구가 수행되어야 할 것이다.

본 연구에서 실험 시작시에 0.8 g 전후의 어린 해삼을 대상으로 사육실험을 수행하였으나, 실험 종료시 해삼의 중량은 모든 실험구에서 1.2~1.6 g으로 대체로 낮은 성장을 보였다. 이러한 현상은 여러 가지 요인들로 설명될 수 있는데, 예를 들면, 사육실험 기간 동안 낮은 수온(평균 9.8℃)으로 인하여 사

료섭취가 감소하였거나 대사율이 낮아 성장에 영향을 미쳤을 것으로 판단된다. Yang et al. (2005)은 돌기해삼의 사료섭취와 성장에 대한 적정 수온이 14~15℃라고 보고하였다. 실제 사육실험 기간동안 수온이 더 낮았던 초기보다 사육수온이 상승하면서 사료섭취가 증가하는 것을 볼 수 있었다.

Table 4. Survival, weight gain and specific growth rate of sea cucumber fed the experimental diets containing different protein sources for 8 weeks<sup>1</sup>

Diets	IMW <sup>2</sup>	FMW <sup>3</sup>	SUR <sup>4</sup>	WG <sup>5</sup>	SGR <sup>6</sup>
WFM	0.8±0.01 <sup>ns</sup>	1.3±0.05 <sup>ab</sup>	85±1.3 <sup>ns</sup>	54.7±7.51 <sup>ab</sup>	0.78±0.08 <sup>ab</sup>
SM	0.8±0.01	1.5±0.08 <sup>c</sup>	85±7.4	86.0±7.37 <sup>c</sup>	1.11±0.07 <sup>c</sup>
WF	0.8±0.01	1.2±0.03 <sup>ab</sup>	82±1.8	51.0±3.78 <sup>ab</sup>	0.74±0.05 <sup>ab</sup>
SSM	0.8±0.02	1.2±0.08 <sup>a</sup>	87±5.8	45.3±8.69 <sup>a</sup>	0.66±0.11 <sup>a</sup>
SCR	0.8±0.01	1.4±0.08 <sup>bc</sup>	75±1.8	74.0±10.60 <sup>bc</sup>	0.98±0.10 <sup>bc</sup>
STP	0.8±0.02	1.6±0.05 <sup>c</sup>	85±1.8	95.7±7.31 <sup>c</sup>	1.20±0.07 <sup>c</sup>
MIX	0.8±0.01	1.5±0.08 <sup>c</sup>	74±8.7	81.3±5.36 <sup>c</sup>	1.06±0.05 <sup>c</sup>

<sup>1</sup> Values are means from triplicate groups of fish where the means in each column with a different superscript are significantly different (P<0.05).

<sup>2</sup> Initial mean weight.

<sup>3</sup> Final mean weight.

<sup>4</sup> Survival (%).

<sup>5</sup> Weight gain (%) = (final weight - initial weight) × 100 / initial weight.

<sup>6</sup> Specific growth rate (%/day) = (ln final wt. - ln initial wt.)/days.

해삼 전어체의 일반성분 및 아미노산 함량을 Table 5에 나타내었다. 어린 해삼의 전어체 분석결과, 수분, 조단백질, 조지질 및 회분 함량은 사료 단백질원료에 영향을 받지 않았다. 아미노산 함량은 Lys 함량을 제외한 모든 실험구에서 유의한 차이가 없었으며, 지충이 첨가사료를 공급한 해삼의 Lys 함량이 가장 높았고, 깻묵을 공급한 실험구에서 가장 낮은 값을 보였다. 이러한 결과는 실험사료의 아미노산 함량에 의해 기인된 것으로 보인다.

Table 5. Proximate and essential amino acid composition of the whole body in sea cucumber fed the experimental diets containing different protein sources for 8 weeks<sup>1</sup>

	Diets						
	WFM	SM	WF	SR	SCR	SP	MIX
<i>Proximate analysis (% , dry matter basis)</i>							
Crude protein	33±0.6 <sup>ns</sup>	32±1.0	33±0.8	32±0.5	32±0.3	33±0.2	32±0.6
Crude lipid	2.0±0.80 <sup>ns</sup>	1.3±0.45	1.3±0.32	2.1±0.11	2.1±0.30	2.0±0.53	1.6±0.37
Ash	45±0.4 <sup>ns</sup>	46±0.6	46±0.3	46±0.7	45±0.5	45±1.1	46±0.5
<i>Essential amino acid composition (% in protein)</i>							
Arg	7.5±0.12	7.6±0.15	7.6±0.07	7.4±0.19	7.4±0.03	7.5±0.12	7.6±0.17
His	1.9±0.03	1.9±0.01	1.9±0.01	1.8±0.03	1.9±0.01	1.9±0.01	2.0±0.03
Ile	4.1±0.56	4.0±0.03	4.0±0.06	4.0±0.07	4.1±0.07	4.1±0.03	4.1±0.20
Leu	6.6±0.01	6.6±0.06	6.5±0.10	6.4±0.09	6.7±0.10	6.7±0.03	6.6±0.03
Lys	6.4±0.07 <sup>bc</sup>	6.4±0.06 <sup>bc</sup>	6.3±0.07 <sup>ab</sup>	6.1±0.09 <sup>a</sup>	6.5±0.07 <sup>bc</sup>	6.5±0.06 <sup>c</sup>	6.3±0.07 <sup>ab</sup>
Met+Cys	1.9±0.03	1.9±0.06	1.9±0.03	1.7±0.12	1.9±0.12	1.9±0.03	1.1±0.56
Phe+Tyr	7.4±0.10	7.5±0.09	7.4±0.09	7.1±0.10	7.5±0.15	7.5±0.06	7.4±0.07
Thr	5.6±0.03	5.5±0.01	5.6±0.03	5.4±0.09	5.7±0.03	5.6±0.03	5.6±0.09
Val	5.1±0.07	5.1±0.07	5.2±0.03	5.0±0.09	5.1±0.15	5.2±0.01	4.8±0.20
Total	46.5	46.5	46.4	44.9	46.8	46.9	45.5

<sup>1</sup> Values are means from triplicate groups of fish where the means in each column with a different superscript are significantly different ( $P<0.05$ ).

이상의 결과로부터, 본 연구에서 사용된 단백질원 중에서 지충이 분말, 대두박 및 혼합물은 어린 해삼 배합사료의 단백질원으로 사용하여도 좋을 것으로 판단되며, 그 중에서도 대두박은 지충이와 혼합물에 비해 구하기가 쉽고 가격이 저렴하여 사료 단가를 낮추는데도 효율적으로 사용될 수 있을 것으로 판단된다. 향후, 이 원료들을 바탕으로 하여 어린 해삼의 영양소 이용성에 관한 연구가 수행되어야 할 것이다.

## 2. 어린 해삼 배합사료의 지질원 평가

### 가. 서론

영양소 중에서 지질은 단백질이나 탄수화물보다 에너지가가 높아 값비싼 사료 단백질을 절약할 수 있으며, 필수지방산과 지용성 비타민의 공급원으로 양식 대상종의 성장과 체내대사에 필수적인 역할을 하는 중요한 영양소이다(NRC, 1993). 특히 성장이 활발히 진행되는 어린 시기에 정상 성장을 위해서는 대상종이 요구하는 지방산의 종류와 적정량을 사료에 첨가해 주어야 한다(Sargent et al., 1989). 어류는 그들이 요구하는 지방산의 종류와 양이 수온이나 염분도 등과 같은 서식환경에 따라 다르다(NRC, 1993). 담수어종인 무지개송어와 틸라피아는 필수지방산으로 18:3n-3과 18:2n-6을 각각 요구하며(Castell et al., 1972a,b; Kanazawa et al., 1980), 해산어류인 넙치는 DHA와 EPA와 같은 n3-HUFA가 필수지방산으로 이용된다고 보고되어 있다(Kim et al., 2002; Lee et al., 2003). 그래서 양식 대상종이 요구하는 필수지방산의 종류와 요구량을 구명하기 위한 연구들이 수행되어 왔으며, 양식 대상종이나 서식환경에 따른 지방산 요구량의 차이를 밝혀 이를 충족시킬 수 있도록 사료를 설계하는 것은 매우 중요하다.

돌기해삼(*Stichopus japonicus*)은 칼로리가 낮고 필수아미노산과 미네랄 등이 풍부한 건강 식품으로 오래전부터 한국, 중국, 일본 및 러시아 등에서는 식용으로 이용하고 있으며, 그 수요가 증가하고 있다(Sloan, 1984). 그러나 최근에 무분별한 남획과 환경오염 등으로 인해 해삼 생산량이 감소함에 따라(Chen, 2004; Conand, 2004; Uthicke, 2004) 해삼의 생산량 증가를 위해 양식에 대한 관심이 증가되고 있다. 양식을 위해서는 배합사료를 공급해 주어야 하는데, 지금까지 해삼 양식에 필요한 배합사료에 관한 연구로는 어린 해삼 사료의 적정 단백질과 지질 함량이 각각 30%와 3% 정도라고 보고된 것(Seo et al., 2008) 이외에는 거의 수행되지 않았다.

따라서 본 연구는 어린 해삼의 적정 배합사료를 개발하기 위한 영양요구에 관한 연구의 일환으로 사료의 지질원이 어린 해삼의 성장 및 체조성에 미치는 영향을 조사하였다.

## 나. 재료 및 방법

### 실험사료

실험사료에 사용된 지질원의 지방산 조성을 Table 1에 나타내었다. Table 1에 나타낸 것처럼 실험사료의 주요 단백질원은 앞서 수행된 연구결과를 바탕으로 대두박을 사용하였으며, 탄수화물원으로 소맥분을 사용하여 모든 실험사료의 단백질과 지질함량이 어린 해삼의 성장에 적합하도록 설계하였다(Seo et al., 2008). 다양한 지질원에 따른 어린 해삼의 성장율을 알아보기 위하여 지질원 무첨가사료(CON), 사료내 지질원으로 오징어 간유(SLO), 대두유(SO) 및 아마인유(LO)를 각각 2%씩 첨가한 총 4종류의 실험 사료를 설계하였다(Table 2). 이와 같이 설계된 원료들을 잘 혼합하여 초파기를 이용하여 성형하였으며 건조 후 분말 형태(180 mesh)로 분쇄하여 -30 °C에서 보관 하면서 필요시마다 공급하였다. 제조된 실험사료의 지방산 조성은 Table 3에 나타내었다.

Table 1. Fatty acid composition (% of total fatty acids) of the dietary lipid sources

Fatty acids	Dietary lipid sources		
	Squid liver oil	Soybean oil	Linseed oil
C14:0	6.4		
C15:0	0.6		
C15:1	0.2		
C16:0	22.3	11.4	5.2
C16:1	0.2		
C17:0	0.5		
C18:0	1.0		
C18:1n-9	31.6	30.3	23.0
C18:2n-6	0.3	51.4	17.6
C20:0	0.4	0.4	
C18:3n-6	0.2		0.2
C20:1	0.1	0.5	
C18:3n-3	1.8	0.8	54.1
C21:0	0.1	5.1	
C20:2	2.0		
C20:3n-6	0.2		
C22:1	0.4		
C20:3n-3	3.5		
C20:4n-6	0.3		
C23:0	0.8		
C22:2	1.1		
C20:5n-3	14.3		
C22:6n-3	11.9		
n-3 HUFA <sup>1</sup>	29.7		

<sup>1</sup> Highly unsaturated fatty acid (C $\geq$ 20).

Table 3. Ingredients and proximate composition (%) of the experimental diets

	Diets			
	CON	SLO	SO	LO
<i>Ingredients (%)</i>				
Soybean meal	40.0	40.0	40.0	40.0
Wheat flour	44.8	42.8	42.8	42.8
Squid liver oil <sup>1</sup>		2.0		
Soybean oil			2.0	
Linseed oil <sup>2</sup>				2.0
<i>Sargassum thunbergii</i>	10.0	10.0	10.0	10.0
Vitamin premix <sup>3</sup>	2.0	2.0	2.0	2.0
Mineral premix <sup>4</sup>	3.0	3.0	3.0	3.0
Choline salt	0.2	0.2	0.2	0.2
<i>Proximate analysis (% , dry matter basis)</i>				
Crude protein	31.0	30.1	29.6	30.1
Crude lipid	1.6	3.6	3.8	3.6
Ash	9.1	9.1	9.6	9.6
Crude fiber	4.0	3.4	4.2	4.1
NFE <sup>5</sup>	54.3	53.8	52.8	52.7
Gross energy (kcal/100 g diet)	4.2	4.3	4.3	4.3

<sup>1, 2</sup> Provided by E-wha Oil & Fat Ind. Co., Busan, Korea.

<sup>3</sup> Vitamin premix, contained the following amount which were diluted in cellulose (g/kg mix): L-ascorbic acid, 200; DL- $\alpha$ -tocopheryl acetate, 20; thiamin hydrochloride, 5; riboflavin, 8; pyridoxine hydrochloride, 2; niacin, 40; Ca-D-pantothenate, 12; myo-inositol, 200; D-biotin, 0.4; folic acid, 1.5; p-aminobenzoic acid, 20; menadione, 4, retinyl acetate, chloecalciferol, 0.003; cyanocobalamin, 0.003.

<sup>4</sup> Mineral premix, contained the following ingredients (g/kg mix): NaCl, 7; MgSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O, 105; NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> · 2H<sub>2</sub>O, 175; KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 224; CaH<sub>4</sub>(PO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> · H<sub>2</sub>O, 140; Ferric citrate, 17.5; Ca-lactate, 21.8; ZnSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O, 2.8; ; CuCl, 0.2; AlCl<sub>3</sub> · 6H<sub>2</sub>O, 0.11; KIO<sub>3</sub>, 0.02; Na<sub>2</sub>Se<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, 0.007; MnSO<sub>4</sub> · H<sub>2</sub>O, 1.4; CoCl<sub>2</sub> · 6H<sub>2</sub>O, 0.07.

<sup>5</sup> Nitrogen-free extract 100-(crude protein+crude lipid+ash+crude fiber).



Table 3. Fatty acid composition (% of total fatty acids) of the experimental diets

Fatty acid	Diets			
	CON	SLO	SO	LO
C14:0	0.8	5.3	0.6	0.3
C16:0	58.6	44.5	42.5	22.0
C16:1	0.4	0.4	0.1	0.1
C18:0	8.7	7.5	8.9	5.6
C18:1n-9	9.5	17.1	18.9	19.2
C18:2n-6	9.8	16.0	18.3	30.4
C18:3n-3	0.6	1.3	1.3	16.3
C20:0	1.1	0.7	0.9	0.5
C20:1	4.7	2.1	3.0	1.3
C20:2	0.7	1.4	1.4	0.7
C20:5n-3	0.0	0.3	0.0	0.2
C22:0	1.0	0.5	0.9	0.4
C22:2	1.4	1.1	1.4	1.4
C24:0	1.1	0.8	1.1	1.4
C22:6n-3	1.5	1.0	0.5	0.4
n-3 HUFA <sup>1</sup>	1.5	1.3	0.5	0.6

<sup>1</sup> Highly unsaturated fatty acid (C $\geq$ 20).

#### 실험어 및 사육관리

강원도 고성에서 종묘 생산된 어린 해삼을 구입하여 대형 콘크리트 수조에 수용하여 상업용 상품사료를 1일 1회 공급하면서 2주간 적응시켰다. 실험용으로 평균체중 1.4 g의 어린 해삼을 각 실험수조(50 ℓ 사각수조)에 50마리씩 3반복으로 수용하였으며, 실험사료를 체중의 5%씩 1일 1회(16:30 h) 공급하였다. 사육실험 기간 동안 수온은 14.7 $\pm$ 1.17 $^{\circ}$ C, 비중은 1.026 $\pm$ 0.0007 이었으며 각 수조마다 aeration과 함께 여과해수를 1 ℓ/min로 조절하여 흘려주었다.

사육기간 중 이틀에 한 번씩 사이폰으로 수조를 청소해 주었다.

#### 샘플채취 및 성분분석

최초 어체의 성분 분석용으로 100마리를 무작위로 표본 추출 하여 화학적인 분석을 위해 -75℃에 보관 하였다. 어체 측정은 실험 개시시와 종료시에 실험수조에 수용된 실험종의 전체무게를 측정하였으며, 실험 종료시 생존한 모든 어체를 화학성분 분석을 위해 냉동보관(-30℃) 하였다. AOAC (1990)의 방법에 따라 조단백질 (N×6.25)은 Auto Kjeldahl System (Buchi B-324/435/412, Switzerland)를 사용하여 분석하였고, 조지방은 ether를 사용하여 추출하였으며, 수분은 105℃의 dry oven에서 6시간 동안 건조 후 측정 하였다. 조회분은 600℃ 회화로에서 4시간 동안 태운 후 정량 하였으며, 조섬유는 Automatic analyzer (Velp Fiwe6, Italia)를 이용하여 분석되었고, 총에너지는 adiabatic bomb calorimeter (Parr, USA)를 이용하여 측정하였다. 지방산 분석을 위해 Folch et al. (1957)의 방법에 의해 총 지질을 추출하여 14% BF<sub>3</sub>-methanol로 methylation시킨 후, capillary column (OMEGWAX<sup>TM</sup> 250, 30 m × 0.25 mm × 0.25 μm, USA)이 장착된 gas chromatography (HP-6890 PLUS GC, USA)로 지방산을 분석하였다. Carrier gas는 헬륨을 사용하였으며, oven 온도는 최초 200℃에서 230℃까지 5℃/min 증가시켰고, 이어서 237℃까지 0.5℃/min 증가시켰다. 이때 injector 온도는 250℃, detector (FID) 온도는 270℃로 각각 설정하였으며, 표준 지방산으로 37개 지방산 혼합물(PUFA 37 Component FAME Mix, USA)을 사용하였다.

#### 통계처리

결과의 통계처리는 ANOVA-test를 실시하여 Duncan's multiple range test (Duncan, 1955)로 평균간의 유의성을 SPSS (SPSS Inc., 1997) program을 사용하여 검정하였다.

## 다. 결과 및 고찰

평균체중 1.4 g의 어린 해삼을 지질원이 다르게 함유된 실험사료로 12주간 사육 실험한 결과를 Table 4에 나타내었다. 어린 해삼의 생존율은 74~83%로 모든 실험구에서 유의적인 차이가 없었다( $P>0.05$ ). 증중율(WG)은 사료내 지질원에 영향을 받았으며, 오징어 간유를 첨가한 실험구의 증중율이 다른 실험구에 비해 유의하게 높은 값을 보인 반면, 대두유를 첨가한 실험구에서 가장 낮은 값을 보였다( $P<0.05$ ). 사육실험 시작시부터 사육실험 종료시까지 4주간격으로 측정된 어린 해삼의 증중율 변화를 Fig. 1에 나타내었다. 사육실험 4주까지의 증중율은 모든 실험구에서 유의적인 차이가 없었지만( $P>0.05$ ), 사료내 지질함량이 가장 낮은 지질원 무첨가구에서 다소 높은 경향을 보였다. 하지만, 4주 이후부터는 오징어간 첨가구의 성장이 급격히 증가하면서 사육실험 종료시까지 다른 실험구에 비해 높은 증중율을 보였다. 대두유와 지질원 무첨가구는 사육실험 8주까지는 성장이 증가하였지만, 그 이후에 다소 감소하는 경향을 보인 반면, 아마인유 첨가구는 8주까지는 성장변화가 없다가 그 이후에 성장이 증가하였다.

본 연구에서 어린 해삼의 성장 차이는 실험에 사용된 사료의 지질원이 함유하고 있는 지방산 조성에 의한 것으로 보이며, 성장이 가장 양호하였던 오징어 간유의 경우, 다량 함유되어 있는 20:5n-3 및 22:6n-3과 같은 n-3HUFA가 어린 해삼의 성장에 영향을 미쳤을 것으로 생각된다. 지방산 중에서 n-3 HUFA의 중요성은 이미 넙치(Kim et al., 2002)와 조피볼락(Lee, 2001)과 같은 육식성 해산어류 뿐 아니라 참전복(Lee and Park, 1998) 및 다슬기(Lee et al., 2002)에서도 보고된바 있다.

Table 4. Initial average weight, survival and weight gain of juvenile sea cucumber fed the experimental diets containing different lipid sources for 12 weeks<sup>1</sup>

Diets	CON	SLO	SO	LO
Initial mean weight (g/ sea cucumber)	1.4 ± 0.01	1.4 ± 0.01	1.4 ± 0.01	1.4 ± 0.01
Survival (%)	74 ± 5.0 <sup>ns</sup>	81 ± 2.4	77 ± 1.8	83 ± 1.8
Final mean weight (g/ sea cucumber)	1.8 ± 0.10 <sup>b</sup>	2.1 ± 0.06 <sup>c</sup>	1.5 ± 0.03 <sup>a</sup>	1.6 ± 0.02 <sup>ab</sup>
Weight gain (%)	23.6 ± 6.5 <sup>b</sup>	45.2 ± 5.0 <sup>c</sup>	3.8 ± 1.4 <sup>a</sup>	14.1 ± 1.1 <sup>ab</sup>

<sup>1</sup> Values are means from triplicate groups of fish where the means in each column with a different superscript are significantly different ( $P < 0.05$ ).

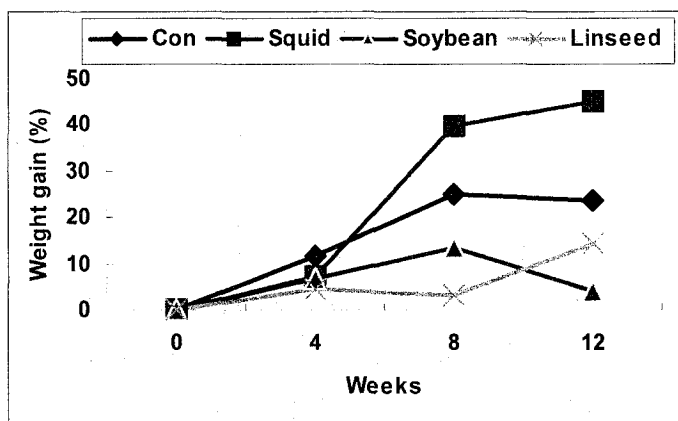


Fig. 1. Changes of weight gain (%) in juvenile sea cucumber fed the experimental diets containing different lipid sources for 12 weeks

사육실험 시작 및 종료시 어린 해삼의 일반성분 분석결과를 Table 5에 나타내었다. 어린 해삼의 수분, 단백질, 지질 및 회분함량은 모든 실험구에서 사료의 지질 종류에 영향을 받지 않았다( $P > 0.05$ ). 수분함량은 모든 실험구에서 최초에 비해 감소하였으며, 단백질 함량은 다소 증가하는 경향을 보였다.

Table 5. Proximate compositions (%) of whole body in sea cucumber fed the experimental diets containing different lipid sources for 12 weeks<sup>1</sup>

Diets	Moisture	Crude protein	Crude lipid	Ash
Initial	92.3	3.1	0.3	3.6
CON	0.7±0.28 <sup>ns</sup>	4.0±0.18 <sup>ns</sup>	0.6±0.50 <sup>ns</sup>	3.5±0.12 <sup>ns</sup>
SLO	91.1±0.14	3.7±0.06	0.2±0.10	3.4±0.04
SO	90.1±0.19	3.8±0.14	0.2±0.13	3.5±0.03
LO	91.0±0.75	3.7±0.07	0.4±0.03	3.5±0.03

<sup>1</sup> Values are means from triplicate groups of fish where the means in each column with a different superscript are significantly different ( $P<0.05$ ).

일반적으로 사료내 지질 종류 또는 함량은 대상 생물의 지방산 조성에 영향을 미친다고 보고되어 있다(Silver et al., 1993; Geurden et al., 1997; Lee and Lim, 2005). 본 연구에서도 해삼 어체의 지방산 조성은 사료지질의 지방산 조성에 영향을 받았다. Table 6에 나타낸 것처럼, 어린 해삼의 지방산 조성에서 실험사료에 관계없이 18:1n-9, 18:2n-6 및 20:4n-6의 함량이 대체로 높게 나타났으며, 20:5n-3와 22:6n-3과 같은 n3-HUFA 함량은 지질원으로 오징어 간유를 첨가한 실험구가 다른 실험구에 비해 유의하게 높게 나타났고, 18:2n-6 함량은 대두유를 첨가한 실험구에서, 18:3n-3 함량은 아마인유를 첨가한 실험구에서 각각 가장 높은 값을 보였다. 이러한 결과는 실험사료 첨가된 지질원의 지방산 조성에 따른 차이로 보이며, 이전 연구결과와 유사한 경향이 있었다(Lee et al., 2000; Seo et al., 2008).

Table 6. Fatty acid composition (% of total fatty acids) of whole body in sea cucumber fed the experimental diets containing different lipid sources for 12 weeks<sup>1</sup>

Fatty acids	Diets				
	Initial	CON	SLO	SO	LO
C14:0	0.8	1.2±0.03 <sup>b</sup>	0.9±0.05 <sup>a</sup>	0.9±0.03 <sup>a</sup>	0.9±0.02 <sup>a</sup>
C14:1	0.2	0.2±0.13 <sup>ns</sup>	0.2±0.11	0.2±0.01	0.2±0.02
C16:0	3.7	4.8±0.28 <sup>b</sup>	4.5±0.52 <sup>b</sup>	3.1±0.05 <sup>a</sup>	3.5±0.19 <sup>a</sup>
C16:1	2.5	2.8±0.20 <sup>ab</sup>	3.4±0.04 <sup>c</sup>	3.4±0.18 <sup>a</sup>	2.9±0.04 <sup>b</sup>
C18:0	6.8	3.8±0.15 <sup>b</sup>	4.1±0.07 <sup>c</sup>	3.2±0.06 <sup>a</sup>	3.3±0.04 <sup>a</sup>
C18:1n-9	4.5	13.3±0.09 <sup>a</sup>	18.8±0.37 <sup>c</sup>	14.4±0.29 <sup>b</sup>	15.3±0.30 <sup>b</sup>
C18:2n-6	13.3	26.5±1.14 <sup>c</sup>	20.7±0.15 <sup>a</sup>	27.7±0.55 <sup>c</sup>	23.5±0.58 <sup>b</sup>
C18:3n-3	6.0	1.0±0.08 <sup>a</sup>	0.7±0.32 <sup>a</sup>	1.2±0.05 <sup>a</sup>	5.5±0.61 <sup>b</sup>
C20:1n-9	9.2	9.2±0.38 <sup>ns</sup>	8.8±0.14	8.9±0.32	8.5±0.48
C20:2n-6	3.2	8.9±0.30 <sup>b</sup>	7.1±0.11 <sup>a</sup>	8.7±0.11 <sup>b</sup>	7.7±0.31 <sup>a</sup>
C20:4n-6	19.9	11.8±0.95 <sup>b</sup>	9.2±0.42 <sup>a</sup>	13.2±0.72 <sup>b</sup>	12.6±0.20 <sup>b</sup>
C20:5n-3	12.7	6.0±0.12 <sup>a</sup>	10.8±0.19 <sup>b</sup>	6.4±0.31 <sup>a</sup>	6.2±0.08 <sup>a</sup>
C22:4n-6	11.1	8.0±0.81 <sup>ns</sup>	6.8±0.55	8.2±0.30	7.8±0.13
C22:6n-3	6.1	2.5±0.86 <sup>a</sup>	4.2±0.04 <sup>b</sup>	1.6±0.19 <sup>a</sup>	1.9±0.47 <sup>a</sup>
n-3 HUFA <sup>1</sup>	18.8	12.5±3.16 <sup>ns</sup>	12.4±2.74	10.2±3.98	8.2±0.65

<sup>1</sup> Values are means from triplicate groups of fish where the means in each row with a different superscript are significantly different (P<0.05).

이상의 결과들로 보아, 비록 어린 해삼의 지질 이용성이 낮기 때문에 배합사료 조성에 있어 많은 양을 요구하지는 않지만(Seo et al., 2008), 사료 제조시 대두유와 아마인유 보다는 n3-HUFA가 다량 함유되어 있는 오징어 간유를 첨가해 주는 것이 좋을 것으로 생각되며, 본 연구 결과는 어린 해삼의 적정 배합사료를 개발하기 위한 기초적인 자료로 제공될 수 있을 것이다.

### 3. 어린 해삼 배합사료의 탄수화물원 및 함량

#### 가. 서론

극피동물문 해삼강에 속하는 해삼은 아시아 연안에 서식하는 온대성 종이다. 자연에서 해삼은 박테리아, 규조류, 원생동물 및 바닥에 침전된 물질을 섭취한다. 최근에 해삼은 한국, 중국, 일본 및 러시아에서 고가로 판매되고 있을 뿐 아니라 그 수요도 높다(Sloan, 1984) 해삼은 칼로리가 낮고 필수아미노산과 미네랄 등이 풍부한 well-being 보양식품으로 우리나라에서는 주로 식용으로 이용 되고 있다. 그러나 최근에 무분별한 남획과 환경오염 등으로 인해 해삼 생산량이 감소함에 따라(Chen, 2004; Conand, 2004; Uthicke, 2004) 해삼의 인공종묘생산기술의 확립과 함께 양식에 대한 관심이 증가되고 있으며, 우리나라에서는 1990년대 종묘생산기술이 개발됨에 따라 매년 종묘를 연안에 방류하고 있다. 하지만 새로운 양식 대상 종으로 각광받고 있는 해삼 양식에 필요한 배합사료에 관한 연구는 거의 없는 실정이다. 때문에 해삼 양식시 사용되는 양성용 먹이는 자연산 해조류(Sui, 1988; Battaglione et al., 1999) 또는 외국에서 수입되는 사료에 대부분 의존하고 있다.

탄수화물은 지구상의 동물을 위한 가장 경제적인 에너지원이이며, 어류에 있어서는 탄수화물의 이용성은 어종에 따른 많은 차이가 나타난다(NRC, 1993). 어류에 의한 탄수화물 이용성은 서로 다른 자연환경에 의하여 그들의 소화력 및 신진대사 작용의 적응성에 의하여 차이가 나타난다(Walton and Cowey, 1982). 사료의 비단백질 에너지원은 어류의 단백질 이용성과 성장에 영향을 미치는 중요한 요소이며(Lie et al., 1988), 여러 연구에서 에너지원으로서 값비싼 단백질이용을 최소화 하고 적정 비단백질 에너지원의 함량을 보고 하였다(National Research Council 1993). 지금까지 해삼에 관한 연구로는 섭식과 소화(Tanaka, 1958b), 생식(Tanaka, 1958a), 유생 사육(Sui et al., 1986; Sui, 1989), 대사(Kato and Hirata, 1990; Kashenko,

2000; Li et al., 2002) 및 추출물(Tian et al., 2005) 등 생물학적 특성에 초점을 두고 진행되었다.

배합사료를 개발하기 위해서는 먼저 대상종의 단백질, 지질 및 탄수화물 등 필수영양소 요구에 대한 연구를 수행하여 그 중에 적합한 사료를 설계해야 한다. 그러나 해삼에 관한 탄수화물에 관한 연구는 없는 실정이다. 본 연구는 서로 다른 탄수화물원과 함량이 함유된 배합사료가 해삼의 성장과 체조성에 미치는 영향을 조사하였다.

## 나. 재료 및 방법

### 실험사료

실험사료의 원료조성 및 성분분석 결과를 Table 1에 나타내었다. 사료의 단백질원으로 대두박, 지질원으로 오징어 간유와 대두유를 각각 사용되었으며, 다양한 탄수화물원 및 함량에 따른 이용성을 조사하기 위해 탄수화물원으로 소맥분, 전분 및 alginate를 각각 15% 및 30%의 다른 함량으로 첨가하여 총 6종류의 실험사료를 설계하였으며, 이와 같이 설계된 원료들을 잘 혼합하여 소형 pellet 제조기를 이용하여 성형하였으며 펠릿을 분말형태로 다시 분쇄하여 냉장(-30℃) 보관하면서 공급하였다. 그리고 해삼 양식장에서 주로 사용되고 있는 지층이 분말과 상업용 분말사료 2종류를 준비하였다.

### 실험종 및 사육관리

강원도 고성의 개인 양식장에서 종묘 생산된 어린 해삼을 구입하여 강원도 수산양식 시험장으로 수송한 후 2주간 상업용 상품사료로 예비 사육하였다. 평균체중 약 0.77 g의 실험 어린 해삼을 무작위로 선별한 후 50 L 플라스틱 사각수조에 70마리씩 3반복으로 수용하여 10주간 사육실험 하였다. 실험 사료는 1일 1회 공급하였으며 각 수조마다 약하게 폭기시켜 산소를 공급하였고 여과해수를 분당 1 ℓ로 조절 하여 주수하였다. 사육기간 동안의 수온은  $20.6 \pm 2.9^\circ\text{C}$  비중은  $1.0231 \pm 0.001$ 였다. 그리고 각 수조에서 죽은 개체는 매일



제거하여 주었으며, 이틀마다 사이펀으로 청소해 주었다.

### 시료채취 및 성분분석

최초 어체의 성분 분석용으로 100마리를 무작위로 표본 추출 하여 화학적인 분석을 위해 -75℃에 보관 하였다. 어체 측정은 실험 개시시와 종료시에 실험수조에 수용된 실험종의 전체무게를 측정하였으며, 실험 종료시 생존한 모든 어체를 일반성분 분석용으로 냉동보관(-30℃)하였다. 실험사료 및 전어체의 일반성분은 AOAC (1990)의 방법에 따라 조단백질(N×6.25)은 Auto Kjeldahl System (Buchi B-324/435/412, Switzerland; Metrohm 8-719/806, Switzerland)를 사용하여 분석하였고, 조지방은 ether를 사용하여 추출하였으며, 수분은 105℃의 dry oven에서 6시간 건조 후 측정하였다. 조회분은 600℃ 회화로에서 4시간 동안 태운 후 측정 하였으며, 조섬유는 Automatic analyzer (Velp Fiwe6, Italia) 를 이용하였으며, 총에너지는 bomb calorimeter (Parr 1356, USA)를 사용하여 측정하였다. 사료 및 어체 P의 정량은 molybden blue 비색법에 의하여 시료 분해액에 인산표준액을 첨가하여 15분간 방치한 후, 480nm에서 비색정량 하였다.

Table 1. Ingredients and nutrients contents of the experimental diets

Carbohydrate sources Carbohydrate levels	Wheat flour		α-Starch		Sodium alginate		Algae
	15	30	15	30	15	30	
	<i>Ingredients (%)</i>						
Soybean meal	48.0	43.5	52.4	52.4	52.4	52.4	
Wheat flour	25.0	40.0	10.0	10.0	10.0	10.0	
α-Starch	-	-	15.0	30.0	-	-	
Sodium alginate	-	-	-	-	15.0	30.0	
α-Cellulose	19.6	9.3	15.0	-	15.0	-	<i>Sargassum</i>
Squid liver oil	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	<i>thunbergii</i>
Soybean oil	1.2	1.0	1.4	1.4	1.4	1.4	
Vitamin premix	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	
Mineral premix	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	
Choline salt	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	
<i>Nutrient composition</i>							
Dry matter	90.8	92.9	92.9	91.3	88.5	84.5	96.6
Crude protein	32.2	31.6	31.0	31.8	30.9	32.2	13.3
Crude lipid	3.1	3.1	3.1	2.9	2.8	3.1	0.1
Ash	5.0	4.9	4.9	5.2	8.6	15.5	43.1
Crude Fiber	19.7	9.6	9.6	2.9	12.3	2.4	6.5
Phosphorous	0.90	0.90	0.90	0.88	0.90	0.95	1.12
Calcium	0.93	0.35	0.32	0.35	0.23	0.90	2.64
NFE <sup>1</sup>	40.0	50.8	46.0	57.2	42.6	46.8	37.0
Gross energy (kcal/g diet)	5.3	5.7	5.7	5.9	5.0	5.9	2.2
E/P ratio (kcal/g protein)	16.5	18.0	18.4	18.6	16.2	18.3	16.5

<sup>1</sup> Nitrogen-free extract 100-(crude protein+crude lipid+ash+crude fiber).

## 통계처리

결과의 통계 처리는 SPSS Version 12 (SPSS, Michigan Avenue, Chicago, IL, USA) program을 사용하여 One-way ANOVA test를 실시한 후, Duncan's multiple range test (Duncan, 1955)로 평균간의 유의성을 검정하였으며, Two-way ANOVA test를 통해 각 사료의 탄수화물원 및 탄수화물 함량에 대한 상호관계를 분석하였다.

## 다. 결과 및 고찰

10주간의 사육실험 결과를 사료의 단백질과 지질 함량이 다른 실험 사료로 평균 체중 1.1 g의 해삼을 8주간 사육 실험한 결과를 Table 2에 나타내었다. 어린 해삼의 생존율은 59.5 %에서 79.1%였으며 실험구간에 유의차는 없었다(Fig 1). 증중량은 탄수화물원( $P < 0.01$ )과 함량( $P < 0.001$ )에 유의적인 영향을 받았으며, 사료내 탄수화물 함량이 증가 할수록 감소하는 경향이 나타났다(Fig 2). 15%의 소맥분을 공급한 실험구에서 가장 높게 나타났지만, 15% 알긴산과 지충이를 공급한 실험구와의 유의차는 없었다( $P > 0.05$ ). 15%의 소맥분, 알긴산 및 지충이를 공급한 실험구가 30%의 소맥분, 전분 실험구보다 유의적으로 높았다( $P < 0.05$ ).

Table 2. Growth performances of juvenile sea cucumber fed the diets containing different carbohydrate sources and levels for 10 weeks<sup>1</sup>

Diets <sup>2</sup>	Initial mean weight (mg/sea cucumber)	Final mean weight (mg/sea ucumber)	Mean weight gain (mg/sea ucumber)	Survival (%)
WF 15	764±2.5	1109±55.6 <sup>c</sup>	345.1±53.1 <sup>e</sup>	75.2±5.48 <sup>ns</sup>
WF 30	758±4.4	749±61.9 <sup>a</sup>	-8.7±61.9 <sup>ab</sup>	59.5±16.53
ST 15	768±2.4	883±24.7 <sup>b</sup>	114.9±23.2 <sup>bc</sup>	67.6±3.43
ST 30	769±1.5	691±31.4 <sup>a</sup>	-77.9±32.6 <sup>a</sup>	65.7±2.48
AG 15	764±4.9	1004±49.1 <sup>bc</sup>	239.8±44.2 <sup>cde</sup>	63.8±1.27
AG 30	773±4.5	979±33.3 <sup>bc</sup>	205.8±30.5 <sup>cd</sup>	60.8±5.79
Algae	766±1.1	1069±37.4 <sup>c</sup>	303.3±36.9 <sup>de</sup>	79.1±0.47

*Two-way ANOVA*

Carbohydrate source (CS)	P<0.01	P<0.01	P<0.8
Carbohydrate level (CL)	P<0.001	P<0.001	P<0.3
CS × CL	P<0.05	P<0.05	P<0.7

<sup>1</sup> Values (means ± S.E. of three replications) in the same column not sharing a common superscript are significantly different (P<0.05).

<sup>2</sup> Wheat flour 15%, Wheat flour 30%, α-Starch 15%, α-Starch 15%, Sodium alginate 15%, Sodium alginate 15%, Algae: *Sargassum thunbergii*.

<sup>3</sup> CS : Carbohydrate source.

<sup>4</sup> CL : Carbohydrate level.

어린 해삼의 일반성분 분석결과를 Table 3에 나타내었다. 어린 해삼의 수분, 지질 및 단백질 함량은 사료의 탄수화물원 및 함량에 따른 차이를 보이지 않았으나, 회분 함량은 사료의 탄수화물원에 영향을 받았으며(P<0.05),

30% 전분 공급구의 값이 15%의 알긴산공급구와 30%의 알긴산을 공급한 실험구 보다 높게 나타났다.

Table 3. Proximate compositions of whole body in juvenile sea cucumber fed the diets containing different carbohydrate sources and levels for 10 weeks<sup>1</sup>

Diets	Moisture (%)	Crude protein (%)	Crude lipid (%)	Ash (%)
Initial	92.3	3.1	0.3	3.6
WF 15	91.4±0.09 <sup>ns</sup>	3.4±0.06 <sup>ns</sup>	0.27±0.023 <sup>ns</sup>	3.5±0.07 <sup>ab</sup>
WF 30	91.2±0.18	3.5±0.07	0.23±0.128	3.7±0.09 <sup>ab</sup>
ST 15	91.5±0.15	3.5±0.14	0.29±0.119	3.5±0.01 <sup>ab</sup>
ST 30	91.5±0.16	3.4±0.01	0.20±0.128	3.8±0.04 <sup>b</sup>
AG 15	91.2±0.05	3.3±0.21	0.20±0.068	3.4±0.07 <sup>a</sup>
AG 30	91.7±0.12	3.2±0.04	0.13±0.062	3.4±0.11 <sup>a</sup>
Algae	91.8±0.07	3.5±0.16	0.20±0.052	3.6±0.15 <sup>ab</sup>
Two-way ANOVA				
CS	P<0.3	P<0.2	P<0.7	P<0.02
CL	P<0.5	P<1.0	P<0.5	P<0.08
CS × CL	P<0.1	P<0.4	P<1.0	P<0.2

<sup>1</sup> Values (means ± S.E. of three replications) in the same column not sharing a common superscript are significantly different (P<0.05).

<sup>2</sup> Wheat flour 15%, Wheat flour 30%, α-Starch 15%, α-Starch 15%, Sodium alginate 15%, Sodium alginate 15%, Algae: *Sargassum thunbergii*.

<sup>ns</sup> Not significant (P>0.05).

어린 해삼의 인과 칼슘 함량을 Table 4에 나타냈으며, 모든 실험구간에 유의적인 차이는 나타나지 않았다(P>0.05).

Table 4. The contents of phosphorous and calcium in juvenile sea cucumber fed the diets containing different carbohydrate sources and levels for 10 weeks<sup>1</sup>

Diets <sup>2</sup>	Phosphorous (%)	Calcium (%)
Initial	0.060	0.164
WF 15	0.057±0.003 <sup>ns</sup>	0.186±0.016 <sup>ns</sup>
WF 30	0.067±0.026	0.190±0.022
ST 15	0.057±0.019	0.160±0.011
ST 30	0.067±0.019	0.195±0.014
AG 15	0.067±0.003	0.159±0.009
AG 30	0.067±0.007	0.314±0.017
Algae	0.067±0.007	0.195±0.007
Two-way ANOVA		
CS	P<1.0	P<0.7
CL	P<0.7	P<0.5
CS × CL	P<1.0	P<0.7

<sup>1</sup> Values (means ± S.E. of three replications) in the same column not sharing a common superscript are significantly different (P<0.05).

<sup>2</sup> Wheat flour 15%, wheat flour 30%, α-starch 15%, α-starch 15%, sodium alginate 15%, sodium alginate 15%, Algae: *Sargassum thunbergii*.

<sup>ns</sup> Not significant (P>0.05).

사료내 탄수화물원은 대장 종의 성장과 사료 이용성에 영향을 미치는 중요한 요소이다(Wilson, 1994). 본 연구에서 어린 해삼의 증중량은 사료내 탄수화물원의 종류에 영향을 받아 15%의 소맥분을 공급한 실험구에서 가장 높게 나타났다. 이와 유사한 연구 결과로 샤넬 메기는 전분 보다 텍스트린의 이용률이 좋았으며 단당류보다는 다당류를 공급한 실험구의 성장이 좋았다고 보고되었다(Wilson and Poe, 1987). 그러나 전복의 성장은 소맥분, 텍스트린,

전분과 같은 탄수화물원에 의해 영향을 받지 않는다고(Lee et al., 1998a) 보고 되었으며, 다슬기도 서로 다른 탄수화물원에 의해 성장률과 체구성에 영향을 받지 않는다고(Lim et al., 2003) 보고되었다. 이러한 어종간의 차이가 무엇 때문인지에 대해서는 정확히 밝혀져 있지 않기 때문에 대상어종, 사육환경, 사료조성, 소화율 등과 생화학적인 요인들의 관한 좀 더 구체적인 연구가 수행 되어야 할 것으로 판단된다. Rosenlund et al. (2004) 대구 사료에 탄수화물 함량이 증가할수록 사료효율에 부정적인 영향을 미친다고 보고 하였다. 또한 사료내 탄수화물의 증가는 다른 영양소 소화율을 감소시킨다고 보고되었다(Hillestad et al., 1994; Aksnes, 1995; Hemre et al., 1995). 본 연구에서 해삼의 성장은 사료내 탄수화물함량에 영향을 받았으며, 탄수화물 함량이 증가할수록 감소하는 경향이 나타났다. 이것은 아마도 E/P 비율과 관련되어 있는 것으로 판단된다. 15% 소맥분, 15% 알긴산 및 지충이 공급구의 E/P 비율이 (16.2-16.5 kcal/g) 30%의 소맥분, 30% 알긴산, 15% 및 30% 전분의 비율 (18.0-18.6 kcal/g)보다 낮은 값을 나타내었다. 어류에 있어 단백질에 비해 에너지 비율이 높게 함유되면 사료 섭취가 감소하여 성장에 필요한 필수영양소 결핍으로 인한 성장률이 감소한다고 보고되었다(Lovell 1989). 또한 순수한 지충이 분말 공급구에서도 증중량이 높은 값을 나타내었는데, 지충이가 해삼의 성장을 위한 적정 E/P 비율을 함유 하고 있는 것으로 판단된다. 그러므로, 해삼의 성장을 위하여 높은 에너지가 함유된 사료는 필요 하지 않을 것으로 판단된다.

일반적으로 사료내 섬유소는 어류에 의해 가수분해 되지 않으며(Hung et al., 1989), 높은 함량의 섬유소는 다른 영양소의 이용성을 감소시키며(Anderson et al., 1984), 셀룰로오스 함량이 어류의 소화력이나 성장에 부정적인 영향을 준다고 보고 되었다(Hilton et al., 1983; Fynn-Aikins et al., 1992). 그러나 해삼은 15% 소맥분(셀룰로오스 19.6%) 및 15% 알긴산(셀룰로오스 12.3%) 공급구가 다른 공급구에 비하여 증중량이 높은 값을 보였는데, 이것은 아마도 어린 해삼이 셀룰라아제 활성이나 셀룰로오스를 가수분해 할 수 있을 것으로 판단되며, 이에 대한 자세한 연구가 필요하다.

이러한 결과로 볼 때 본 연구에서는 어린 해삼의 성장에 필요한 적정 탄수화물 함량은 25%로 판단된다. Lee et al. (1998a)은 성장기 전복의 적정 탄수화물 함량이 20~25%라고 보고하였다. 일반적으로 잉어와 같은 초식성 어류의 탄수화물 적정 함량은 30~40%이다. 육식성 어류에 있어 탄수화물 이용성은 초식성이나 잡식성 어류의 이용성 보다 낮으며(NRC, 1993), 반면에 단백질 요구량은 초식성이나 잡식성 어류에 비하여 요구량이 높은 편이다(Lie et al., 1988; Ruohonen et al., 2003).

이상의 결과로부터 어린 해삼의 성장에 적절한 사료의 탄수화물원은 소맥분과 알긴산이며 함량은 25%일 것으로 판단된다.



#### 4. 단백질원으로 대두박을 사용한 어린 해삼 배합사료내 적정 단백질 및 지질함량

##### 가. 서론

해삼류는 세계적으로 1,100여종 이상 분포하고 있으며, 우리나라에는 돌기해삼(*Stichopus japonicus*)이 주로 식용으로 이용되고 있다. 해삼은 칼로리가 낮고 필수아미노산과 미네랄 등이 풍부한 well-being 보양식품으로 오래전부터 한국, 중국, 일본 및 러시아 등에서 비교적 고가로 판매되고 있을 뿐 아니라 그 수요도 높다(Sloan, 1984). 그러나 최근 무분별한 남획과 환경오염 등으로 인해 해삼 생산량이 감소함에 따라(Chen, 2004; Conand, 2004; Uthicke, 2004) 해삼의 생산량 증가를 위해 양식에 대한 관심이 증가되고 있다.

지금까지 해삼에 관한 연구로는 섭식과 소화(Tanaka, 1958a), 생식(Sui et al., 1985), 유생사육(Sui et al., 1986; Sui, 1989), 대사(Kashenko, 2000; Li et al., 2002) 및 추출물(Tian et al., 2005) 등 생물학적 특성에 초점을 두고 진행되어 왔을 뿐, 해삼의 영양소 이용성에 관한 연구가 미흡한 실정이라 해삼 양식을 위한 적정 배합사료가 개발되어 있지 않다. 이러한 이유로, 해삼 양식 시 사용되는 양성용 먹이로 자연산 해조류(Sui, 1988; Battaglene et al., 1999) 분말을 주로 사용하고 있다. 하지만, 해조류는 계절에 따른 영양소의 함량이 변화고, 생활사가 짧기 때문에 수급이 불안정하며, 수확 비용이 많이 드는 등 여러 가지 문제점을 지니고 있다(Fernandez and Pergent, 1998; George et al., 2000). 그러므로 효율적인 해삼 양식을 위해 경제성이 있는 적정 배합사료를 개발하는 것이 필요하다.

사료 단백질은 해양 생물의 성장에 직접적으로 관여할 뿐 아니라 원료의 가격이 비싸기 때문에 사료 단가에도 영향을 미칠 수 있다(Lovell, 1989). 단백질 요구량에 관한 연구들은 대상생물의 최대 성장을 위해 필요한 최소 요구량을 결정하는데 초점을 두어 연구된다. 또한, 비단백질 원료 중에서 지질

은 해양생물의 정상적인 성장과 생존에 필요한 에너지와 지방산의 공급원으로 사료내 적절한 지질함량은 단백질 효율을 향상시켜 단백질 절약효과를 가져올 수 있다. 지질 또는 탄수화물과 같은 비 단백질 에너지원에 의한 단백질 절약효과는 몇몇 어류에서 보고된 바 있다(Cho and Kaushik, 1990; De Silver et al., 1991). 따라서 사료 단백질과 지질 함량은 사료 배합시 중요하게 고려되어야 할 사항으로 경제적인 배합사료 개발을 위해 우선적으로 연구되어야 한다. 이전 연구를 통해 우리는 해삼의 지질 이용성이 낮고 배합사료의 적정 단백질 함량이 30% 정도라는 것을 알 수 있었으며(Seo et al., 2008), 이어서 사료의 단백질원 평가실험을 통해 대두박이 해삼 배합사료의 단백질 원료로 사용할 수 있을 것으로 제안되었다. 동물의 단백질 요구량과 성장은 사료의 단백질원에 따라 달라 질 수 있다(Kim et al., 2001; Tibbetts et al., 2000)

따라서, 본 연구는 단백질원으로 대두박이 사용된 해삼 배합사료의 적정 단백질 및 지질함량을 조사하기 위해 수행되었다.

## 나. 재료 및 방법

### 실험사료

Table 1에 나타낸 것처럼, 3×2 factorial 디자인으로 3 종류의 단백질 함량(20%, 30% 및 40%)과 2종류의 지질함량(2% 및 10%)을 함유하고 있는 총 6 종류의 실험사료를 제조하였다. 실험사료의 단백질원으로 대두박을, 지질원으로 오징어간유와 대두유를 그리고 탄수화물원으로 dextrin을 각각 사용하였고, 사료의 단백질과 지질함량은 이 원료들의 비율에 따라 조절되었다. 그리고 외견상 영양소 소화율 측정을 위하여 지표물질로 산화크롬을 0.5% 첨가하였다. 이와 같이 설계된 실험사료의 원료들을 잘 혼합하여 소형 pellet 제조기로 성형한 후, 분말 형태로 분쇄하여 -30℃에서 보관하면서 필요시 공급하였다.

Table 1. Ingredients and proximate composition (%) of the experimental diets

Protein levels (%)	20		30		40	
	2	10	2	10	2	10
<i>Lipid levels (%)</i>						
<i>Ingredients (%)</i>						
Soybean meal	34.0	34.0	52.0	52.0	70.0	70.0
Dextrin	45.2	38.3	29.4	22.5	13.6	6.8
Macro algae meal <sup>a</sup>	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0
Squid liver oil	1.3	2.0	1.2	2.0	1.1	2.0
Soybean oil	1.3	7.5	1.2	7.3	1.1	7.0
Vitamin premix <sup>b</sup>	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0
Mineral premix <sup>c</sup>	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0
Alpha-cellulose	4.0	4.0	2.0	2.0	-	-
Chromic oxide	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
<i>Proximate analysis (% , dry matter basis)</i>						
Crude protein	19.8	20.2	30.6	29.4	38.5	39.1
Crude lipid	1.4	8.9	2.1	8.8	1.6	9.5
Crude fiber	1.1	2.9	2.5	2.9	2.2	2.7
Nitrogen-free extract	70.0	60.8	56.9	50.2	48.4	39.2
Ash	7.7	7.1	7.9	8.6	9.4	9.6
Gross energy (kcal/g diet)	3.4	4.0	3.5	4.0	3.6	4.0

<sup>a</sup> *Sargassum thunbergii*.

<sup>b</sup> Vitamin premix contained the following amount which were diluted in cellulose (g/kg mix): L-ascorbic acid, 200.0; DL- $\alpha$ -tocopheryl acetate, 20.0; thiamin hydrochloride, 5.0; riboflavin, 8.0; pyridoxine hydrochloride, 2.0; niacin, 40.0; Ca-D-pantothenate, 12.0; myo-inositol, 200.0; D-biotin, 0.4; folic acid, 1.5; *p*-amino benzoic acid, 20.0; menadione, 4.0; retinyl acetate, 1.5; cholecalciferol, 0.003; cyanocobalamin, 0.003.

<sup>c</sup> Mineral premix contained the following ingredients (g/kg mix): NaCl, 7.0; MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O, 105.0; NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>·2H<sub>2</sub>O, 175.0; KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 224.0; CaH<sub>4</sub>(PO<sub>4</sub>)·H<sub>2</sub>O, 140.0; Ferric citrate, 17.5; ZnSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O, 2.8; Ca-lactate, 21.8; CuCl, 0.2; AlCl<sub>3</sub>·6H<sub>2</sub>O, 0.11; KIO<sub>3</sub>, 0.02; Na<sub>2</sub>Se<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, 0.007; MnSO<sub>4</sub>·H<sub>2</sub>O, 1.4; CoCl<sub>2</sub>·6H<sub>2</sub>O, 0.07.

Table 2. Major fatty acid composition (% of total fatty acid) of the experimental diets

	Protein levels (%)					
	20		30		40	
	Lipid levels (%)					
	2	10	2	10	2	10
<i>Fatty acids</i>						
16:0	13.0	12.8	14.2	13.3	16.4	13.2
16:1	2.1	1.3	2.1	1.4	2.0	1.3
18:0	3.6	4.4	3.9	4.4	4.5	4.4
18:1n-9	18.3	22.6	19.5	22.2	20.3	21.7
18:2n-6	31.1	44.7	36.3	44.0	40.5	45.6
18:3n-3	4.3	6.0	4.9	5.8	5.2	6.0
18:3n-6	0.1	0.2	0.1	0.4	0.6	0.2
20:3n-6	0.9	0.5	0.9	0.6	0.8	0.5
20:4n-6	0.5	0.2	0.4	-	0.3	0.2
20:5n-3	9.0	2.0	5.7	2.5	2.6	2.1
22:6n-3	12.6	1.7	7.4	2.6	2.2	1.9
n-3HUFA <sup>1</sup>	21.6	3.7	13.1	5.1	4.8	4.0

<sup>1</sup> Highly unsaturated fatty acid (C<sub>≥</sub>20).

#### 실험종 및 사육실험

본 실험에 사용된 해삼은 충남 태안의 개인 양식장에서 종묘 생산된 어린 해삼을 구입하여, 강원도수선자원 연구소의 대형 콘크리트 수조에 수용하여 상업용 시판사료를 1일 1회 공급하면서 2주간 적응시켰다. 사육실험은 총 18개의 50ℓ 사각 수조(수용량 40ℓ)에 외형적으로 건강한 어린 해삼(평균 체중: 1.3±0.02 g)을 각 수조에 60 마리씩 3반복으로 수용한 후 실험사료를 어린 해삼 체중의 5%씩 2일 1회 (16:30 h) 공급하며 12주간 사육하였다. 사육실험 기간 동안 수온은 12.3±2.55℃, 비중은 1.025±0.0006 이었으며 각 수조마다

aeration과 함께 여과해수를 1 l/min로 조절하여 흘려주었다. 사육기간 중 죽은 개체는 매일 제거하였으며, 이틀에 한 번씩 사이폰으로 수조를 청소해주었다. 그리고 사육실험 기간동안 시작시와 4주마다 각 수조에서 모든 어린 해삼의 무게를 측정하였다.

### 소화율 측정

소화율 측정을 위해 사육실험 종료 2주 전부터 실험사료를 공급하기 1시간 전에 모든 실험수조에서 어린 해삼의 분을 사이폰으로 수집하여 -75℃에서 동결보존 하였으며, 실험종료 후, 수집된 분은 동결건조 하여 일반성분을 분석하였다. 그리고 Furukawa and Tsukahara (1966)의 방법에 따라 실험사료 및 분의 산화크롬 함량을 측정하였으며, 건물, 영양소 및 에너지의 외관상 소화율은 다음의 공식에 의하여 계산되었다.

$$\text{건물 소화율 (\%)} = 100 - (\text{사료중의 Cr}_2\text{O}_3 / \text{분중의 Cr}_2\text{O}_3) \times 100$$

### 영양소 및 에너지 소화율 (%)

$$= \left( 1 - \frac{\text{사료중의 Cr}_2\text{O}_3}{\text{분중의 Cr}_2\text{O}_3} \times \frac{\text{분중의 영양소 또는 에너지}}{\text{사료중의 영양소 또는 에너지}} \right) \times 100$$

### 시료채취 및 성분분석

최초 성분 분석용으로 최초 어린 해삼 100마리를 무작위로 표본 추출하였으며, 실험 종료시에는 각 실험수조에 생존한 모든 어린 해삼을 성분분석용 시료로 취하여 -75℃에서 보관하였다. AOAC (1990)의 방법에 따라 조단백질 (N×6.25)은 Auto Kjeldahl System (Buchi B-324/435/412, Switzerland)을 사용하여 분석하였고, 조지방은 ether를 사용하여 추출하였으며, 수분은 105℃의 dry oven에서 6시간 동안 건조 후 측정하였다. 회분은 600℃ 회화로에서 4시간 동안 태운 후 정량 하였다. 또한, 조섬유는 Automatic analyzer (Velp

Fiwe6, Italia)를 이용하여 분석하였으며, 총에너지는 adiabatic bomb calorimeter (Parr, USA)를 이용하여 측정하였다. 지방산 분석을 위해 Folch et al. (1957)의 방법에 의해 총 지질을 추출하여 14% BF<sub>3</sub>-MeOH (Sigma, Chemical Co., USA)로 methylation시킨 후, capillary column (SP<sup>TM</sup>-2560, 100 m × 0.25 mm i.d., film thickness 0.20 μm, Hewlett-Packard, USA)이 장착된 gas chromatography (HP-6890 PLUS, Hewlett-Packard, USA)로 지방산을 분석하였다. Carrier gas는 헬륨을 사용하였으며, oven 온도는 최초 140°C에서 240°C까지 4°C/min 증가시켰다. 이때 injector 온도는 250°C, detector (FID) 온도는 260°C로 각각 설정하였으며, 표준 지방산으로 37개 지방산 혼합물(PUFA 37 Component FAME Mix, USA)을 사용하였다.

#### 통계처리

결과의 통계 처리는 SPSS Version 12.0 (SPSS, Michigan Avenue, Chicago, IL, USA) program을 사용하여 One-way ANOVA-test를 실시한 후, Duncan's multiple range test (Duncan, 1955)로 평균간의 유의성을 검정하였으며, Two-way ANOVA-test를 통해 실험 사료내 단백질과 지질의 상호관계를 조사하였다.

#### 다. 결과 및 결론

사료의 단백질과 지질 함량이 다른 실험 사료로 평균 체중 1.3 g의 해삼을 12주간 사육실험한 결과를 Table 3에 나타내었다. 생존율은 실험구에서 86% 이상으로 실험구간에 유의적인 차이는 없었다( $P>0.05$ ). 해삼의 증중율과 일간 성장율은 사료의 단백질함량( $P<0.006$ )과 지질함량( $P<0.001$ ) 모두에 영향을 받았으며( $P<0.05$ ), 2% 지질함량에서 20%와 40% 단백질을 공급한 실험구에서 가장 높은 값을 보였다( $P<0.05$ ). 동일한 단백질 함량에서 2% 지질 공급구의 증중율과 일간성장율이 10% 지질 공급구보다 유의하게 높았다( $P<0.05$ ). 그리고 사육실험 종료 후, 동일한 수조에 수용된 해삼의 크기 및 무게가 다양하

게 관찰되어 상위 20 마리의 증중율을 별도로 조사하였다(Table. 3). 상위 20 마리 해삼의 증중율은 전체 증중율의 결과와 유사한 경향을 보였다.

Table 3. Growth performance of juvenile sea cucumber fed the diets containing different protein and lipid levels for 12 weeks<sup>1</sup>

Protein levels (%)	Lipid levels (%)	Initial average weight (g)	Final average weight (g)	Survival (%)	WG (%) <sup>2</sup>	SGR (%) <sup>3</sup>	20 - WG (%) <sup>4</sup>
20	2	1.3±0.02 <sup>ns</sup>	2.0±0.01 <sup>d</sup>	92±1.5 <sup>ns</sup>	57±2.7 <sup>d</sup>	0.54±0.04 <sup>d</sup>	221±4.9 <sup>d</sup>
	10	1.3±0.01	1.4±0.01 <sup>b</sup>	95±1.2	13±0.1 <sup>b</sup>	0.15±0.01 <sup>b</sup>	99±5.0 <sup>ab</sup>
30	2	1.3±0.01	1.8±0.06 <sup>c</sup>	91±0.7	39±5.9 <sup>c</sup>	0.39±0.09 <sup>c</sup>	190±7.8 <sup>c</sup>
	10	1.3±0.01	1.4±0.03 <sup>b</sup>	86±3.0	10±2.1 <sup>b</sup>	0.11±0.04 <sup>b</sup>	104±6.8 <sup>b</sup>
40	2	1.3±0.01	2.0±0.03 <sup>d</sup>	94±1.3	55±1.3 <sup>d</sup>	0.52±0.01 <sup>d</sup>	238±6.4 <sup>d</sup>
	10	1.3±0.01	1.2±0.03 <sup>a</sup>	87±4.6	-3±1.0 <sup>a</sup>	-0.04±0.02 <sup>a</sup>	78±10.1 <sup>a</sup>
<i>Two-way ANOVA</i>							
Protein level (PL)			P<0.01	P<0.2	P<0.006	P<0.003	P<0.2
Lipid level (LL)			P<0.001	P<0.2	P<0.001	P<0.001	P<0.001
PL×LL			P<0.004	P<0.2	P<0.001	P<0.001	P<0.001

<sup>1</sup> Values are means from triplicate groups of fish where the means in each column with a different superscript are significantly different (P<0.05).

<sup>2</sup> Weight gain (%) = (final body weight - initial body weight)×100/initial body weight.

<sup>3</sup> Specific growth rate (%) = [ln (final weight)-ln (initial weight)]/days×100.

<sup>4</sup> Weight gain (%) of the top 20 sea cucumber.

<sup>ns</sup> Not significant (P>0.05).

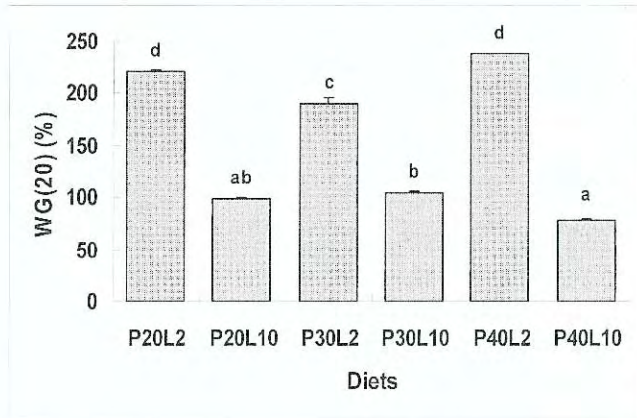


Fig. 1. Weight gain of juvenile sea cucumber fed the diets containing different protein and lipid levels for 12 weeks

실험기간 동안 4주간격으로 측정된 생존율과 증중율의 변화를 Fig 에 나타내었다. 생존율의 경우, 실험구간에 유의한 차이는 없었지만, 사육실험 4주 이후부터 40% 단백질 사료 공급구에서 폐사량이 증가하였으며, 결국 실험 종료 후, 가장 낮은 생존율을 보였다. 증중율은 사육실험 4주까지는 모든 실험구에서 다소 감소하는 경향을 보였지만, 그 이후부터 모든 실험구에서 증가하였으며, 특히, 지질 함량 2% 실험구에서 급격히 증가하였다.

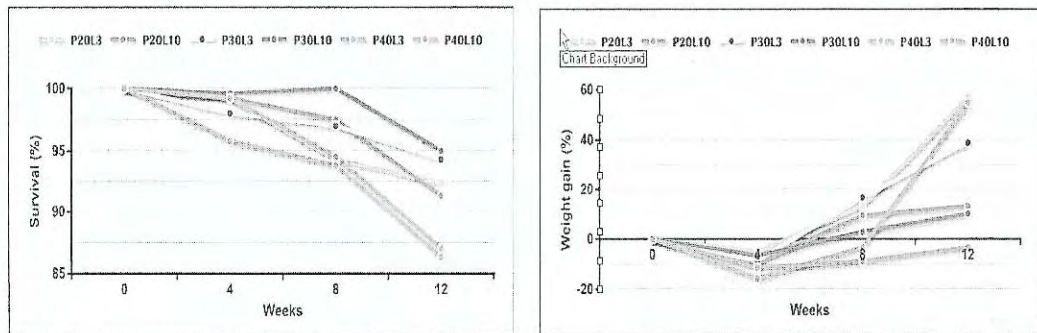


Fig. 2. Changes of survival and weight gain juvenile sea cucumber fed the diets containing different protein and lipid levels for 12 weeks



어린 해삼의 일반성분 분석결과를 Table 4에 나타내었다. 어린 해삼의 수분, 단백질, 지질 및 회분 함량 모두 실험구간에 유의한 차이가 없었다 ( $P>0.05$ ).

Table 4. Proximate composition (%) of whole body in juvenile sea cucumber fed the diets containing different protein and lipid levels for 12 weeks<sup>1</sup>

Protein levels (%)	Lipid levels (%)	Moisture	Crude protein	Crude lipid	Ash
	Initial	92.2	1.6	0.1	3.8
20	2	91.6±0.2 <sup>ns</sup>	2.2±0.2 <sup>ns</sup>	0.3±0.1 <sup>ns</sup>	3.5±0.1 <sup>ns</sup>
	10	91.4±0.2	2.3±0.1	0.3±0.2	3.5±0.1
30	2	91.4±0.2	2.4±0.1	0.3±0.1	3.4±0.1
	10	91.8±0.2	2.2±0.1	0.3±0.1	3.5±0.1
40	2	91.6±0.2	2.4±0.3	0.3±0.1	3.5±0.2
	10	91.6±0.2	2.2±0.2	0.2±0.1	3.5±0.1

Two-way ANOVA

Protein level (PL)	P<0.9	P<1.0	P<0.9	P<0.9
Lipid level (LL)	P<1.0	P<0.5	P<0.4	P<0.7
PL×LL	P<0.5	P<0.6	P<0.9	P<0.8

<sup>1</sup> Values are means from triplicate groups of fish where the means in each column with a different superscript are significantly different ( $P<0.05$ ).

Table 5에 나타난 것처럼, 어린 해삼의 지방산 조성에서 18:1n-9, 18:2n-6 및 20:5n-3의 함량이 다른 지방산 함량에 비해 높게 나타났다. 본 연구에서 사료의 지질함량은 16:1, 18:0 및 22:6n-3 이외의 지방산 조성에 영향을 미치지 않았다. 그리고 단백질 함량에 관계없이, 10% 지질 사료를 공급한 해삼의 18:0 함량은 2% 지질 사료를 공급한 해삼보다 유의하게 낮은 값을 보였다.

Table 5. Major fatty acid compositions (% of total fatty acid) of whole body in juvenile sea cucumber fed the diets containing different protein and lipid levels for 12 weeks<sup>1</sup>

Protein levels (%)	Initial	20		30		40		SEM <sup>2</sup>
Lipid levels (%)		2	10	2	10	2	10	
<i>Fatty acids</i>								
C16:0	1.9	2.8	2.4	2.9	2.3	3.2	2.3	0.11
C16:1	0.6	1.9 <sup>abc</sup>	1.4 <sup>ab</sup>	2.2 <sup>c</sup>	1.3 <sup>a</sup>	2.0 <sup>bc</sup>	1.5 <sup>ab</sup>	0.10
C17:0	8.3	4.4	5.1	4.6	4.9	4.7	5.0	0.13
C18:0	3.2	3.4 <sup>b</sup>	2.9 <sup>a</sup>	3.3 <sup>b</sup>	2.8 <sup>a</sup>	3.2 <sup>b</sup>	2.7 <sup>a</sup>	0.07
C18:1n-9	8.0	14.6	14.5	14.2	14.6	14.1	14.2	0.25
C18:2n-6	6.4	21.2	22.3	23.1	23.6	23.6	21.9	0.41
C18:3n-6	6.9	5.2	5.0	4.9	4.9	5.0	5.2	0.09
C20:2	4.9	7.3	6.9	7.0	7.0	7.3	7.2	0.15
C20:4n-6	16.7	7.0	8.5	6.5	7.5	6.4	8.2	0.25
C22:2	9.4	6.5	7.2	5.7	6.8	6.0	7.1	0.21
C20:5n-3	18.1	10.0	9.6	9.8	9.3	9.4	9.7	0.12
C22:6n-3	5.7	3.7 <sup>c</sup>	3.2 <sup>ab</sup>	3.5 <sup>bc</sup>	3.1 <sup>a</sup>	3.2 <sup>ab</sup>	3.1 <sup>a</sup>	0.06
n3-HUFA <sup>3</sup>	23.8	12.3	11.4	11.7	10.9	11.1	11.4	0.16

<sup>1</sup> Values are means from triplicate groups of fish where the means in each row with a different superscript are significantly different (P<0.05).

<sup>2</sup> Standard error of the treatment mean calculated from the residual mean square in the analysis of variance.

<sup>3</sup> Highly unsaturated fatty acid (C<sub>≥</sub>20).

건물, 단백질, 지질, NFE 및 에너지의 외관상 소화율을 Table 6에 나타내었다. 본 연구결과, 20%와 40% 단백질 함량에서 모든 영양소 소화율은 사료의 지질함량에 영향을 받았으며(P<0.02), 2% 지질 공급구의 건물, 단백질, NFE 및 에너지 소화율은 10% 지질 공급구보다 유의하게 높았다. 그리고

40% 단백질 함량에서 2% 지질 공급구의 지질 소화율은 10% 지질 공급구보다 유의하게 낮았으나( $P<0.05$ ), 20%와 30% 단백질 함량에서는 사료의 지질함량에 영향을 받지 않았다( $P>0.05$ ).

Table 6. Apparent digestibility coefficients (%) for dry matter, crude protein, lipid, NFE (nitrogen-free extract) and gross energy of diets containing different protein and lipid levels for juvenile sea cucumber<sup>1</sup>

Protein levels (%)	Lipid levels (%)	Dry matter	Crude protein	Crude lipid	NFE	Gross energy
20	2	60±1.3 <sup>e</sup>	86±3.5 <sup>c</sup>	93±2.3 <sup>ab</sup>	77±1.8 <sup>d</sup>	82±0.6 <sup>b</sup>
	10	44±1.6 <sup>b</sup>	72±1.8 <sup>a</sup>	96±0.6 <sup>abc</sup>	65±2.7 <sup>ab</sup>	74±0.7 <sup>a</sup>
30	2	53±1.2 <sup>cd</sup>	86±1.1 <sup>c</sup>	96±0.8 <sup>abc</sup>	69±1.6 <sup>c</sup>	82±0.4 <sup>b</sup>
	10	49±1.8 <sup>c</sup>	82±1.9 <sup>bc</sup>	99±0.1 <sup>c</sup>	63±1.6 <sup>b</sup>	82±2.8 <sup>b</sup>
40	2	53±0.8 <sup>d</sup>	85±0.9 <sup>c</sup>	91±2.9 <sup>a</sup>	70±0.5 <sup>c</sup>	81±0.3 <sup>b</sup>
	10	36±1.5 <sup>a</sup>	76±3.1 <sup>ab</sup>	97±1.0 <sup>bc</sup>	49±2.7 <sup>a</sup>	72±0.7 <sup>a</sup>

Two-way ANOVA

Protein level (PL)	$P<0.005$	$P<0.2$	$P<0.2$	$P<0.001$	$P<0.01$
Lipid level (LL)	$P<0.001$	$P<0.001$	$P<0.02$	$P<0.001$	$P<0.001$
PL×LL	$P<0.005$	$P<0.2$	$P<0.6$	$P<0.001$	$P<0.01$

<sup>1</sup> Values are means from triplicate groups of fish where the means in each column with a different superscript are significantly different ( $P<0.05$ ).

일반적으로, 양식종의 성장은 사료의 영양소 함량에 따라 달라질 수 있으며, 사료내 단백질 함량이 증가할수록 성장이 향상될 수 있다. 본 연구에서는 2% 지질함량에서 20%와 40% 단백질이 함유된 사료를 공급한 해삼의 성장이 가장 양호하였다. 하지만, 30% 단백질 사료 공급구의 증중율은 20%와 40%

단백질 공급구에 비해 유의하게 낮게 나타났다. 이처럼 30% 단백질을 공급한 해삼의 증중율이 감소한 이유를 정확하게 설명할 수는 없지만, 이러한 현상이 폐사한 해삼의 무게가 실험 종료시에 각 수조에서 생존한 해삼의 무게에 비해 더 높았기 때문으로 나타난 것으로 생각된다. 해삼은 폐사하게 되면 체표가 흐물흐물하게 되어 무게가 감소하기 때문에 사육실험 동안 폐사한 해삼의 무게를 정확히 측정할 수 없었다. 이러한 결과는 해삼의 성장이 사료의 단백질 함량에 영향을 받지 않으며, 20% 이상의 단백질 함량은 어린 해삼의 성장을 위해 초과일 뿐 아니라 단백질의 낭비를 야기할 수 있다. 더욱이, 해삼의 성장은 사료의 지질함량에 영향을 받았으며, 단백질 함량에 관계없이, 낮은 지질함량에서 더 좋은 성장을 보였다.

본 연구에서 결정된 해삼의 적정 단백질 요구량은 몇몇 해산어(Helland and Grisdale-Helland, 1998; Lee et al., 2000) 및 담수어(Ogino and Saito, 1970; Garling and Wilson, 1976; Takeuchi et al., 1979)보다 낮았으나, 초식성 무척추 동물인 다슬기, *Semisulcospira gottschei* (Lee and Lim, 2005)와 전복, *Haliotis discushannai* (Uki et al., 1986)에 대해 보고된 함량과 비교할 만하다. 이처럼 본 연구와 이전 연구들 사이에서 사료의 단백질 함량에 따른 성장차이가 나타나는 것은 아마도 동물종, 먹이습관 및 서식지 등에 따른 차이 때문이라 볼 수 있다. 일반적으로 초식성 또는 잡식성 동물의 단백질과 지질 이용성은 육식성 동물보다 낮은 반면, 탄수화물의 이용성이 높다(Lie et al., 1988; Ruohonen et al., 2003). 해삼은 지질함량이 거의 없거나 단백질 함량이 20% 이하의 조성을 가지는 해저 퇴적물속의 유기물과 해조류를 갉아먹는 동물에 의해 발생하는 부산물을 섭취한다. 이러한 먹이습성 때문에, 해삼이 사료의 지질을 잘 이용할 수 없으며, 어류에 비해 낮은 단백질 함량을 요구하는 초식성 동물에 가깝다는 것을 추측할 수 있다.

사료의 단백질과 에너지 함량은 대상동물의 성장과 사료섭취에 영향을 미친다(Garling and Wilson, 1976; Lee et al., 2002). 단백질에 비해 에너지 함량이 높은 사료를 공급하면, 대상어류의 사료섭취량이 감소하여 필수영양소가 충분히 공급되지 못하거나, 과잉의 에너지가 체내에 축적되어 어체 품질

이 저하될 수 있다. 에너지가 낮은 사료가 공급되면 단백질이 에너지로 사용되는 비율이 증가하여 단백질 낭비가 초래된다.

하지만, 지질과 탄수화물 같은 비단백질 에너지원의 적정 함량은 단백질이 에너지원으로 사용되는 것을 최소화 할 수 있으며(NRC, 1993), 단백질 절약 효과를 가져올 수 있다(De Silva et al. 1991; Lee et al., 2002). 그러므로, 사료의 단백질과 에너지비의 적절한 균형을 유지하는 것은 대상종의 성장과 효율적인 양식을 위해 중요하다. 그러나, 본 연구에서 사료내 지질함량이 할수록 해삼의 성장을 감소되었으며, 이러한 현상은 몇몇 어류와(Caceres-Martinez et al., 1984) 극피동물에 속하는 성게에서 보고되었다(Kennedy et al., 2007). 이러한 결과는 해삼의 지질 이용성이 매우 낮다는 것을 의미하며, 어린 해삼 배합사료 제조시 지질 첨가는 조심스럽게 고려되어야 한다.

대상종의 영양소 이용성은 소화율 측정을 통해 평가될 수 있다. 본 연구에서 해삼의 건물 소화율은(36-60%) 이전 연구결과와 유사하였으며(Sun et al., 2004), 동일한 단백질 함량에서, 지질 소화율을 제외한 다른 영양소 소화율은 2% 지질 사료를 공급한 실험구가 10% 지질 사료를 공급한 실험구에 비해 더 높았다. 이러한 결과는 사료의 지질함량을 증가시키는 것이 해삼이 영양소 이용성에 역효과를 줄 수 있다는 것을 의미한다. 동물의 소화율은 사료의 영양소 구성에 따라 달라질 수 있다(Stroebakken et al., 1998). Abimorad and Carneiro (2007)는 pacu, *Piaractus mesopotamicus*의 단백질고 에너지 소화율이 사료의 지질함량이 증가할수록 감소하였다고 보고하였으며, Seo et al. (2005)은 지질함량이 높은 사료를 공급한 넙치, *Paralichthys olivaceus*의 건물, 탄수화물 및 에너지 소화율이 고단백질 사료 공급구보다 더 낮았다고 보고하였다. 이것은 사료의 지질이 장 통과시간에 영향을 미치는 것으로 보인다(Smith, 1989).

사료의 지질함량은 어체의 일반성분 및 지방산 구성에 영향을 미친다고 보고되어 있다 (Geurden et al., 1997; Lee et al., 2002). 사육실험 종료 후, 해삼의 18:1n-9와 18:2n-6 함량은 증가하였으나 20:5n-3과 22:6n-3 함량은 감소하

였다. 이러한 현상은 실험사료의 18:1n-9와 18:2n-6 함량이 높았기 때문으로 생각되며, 다른 연구결과와 유사하였다(Lee and Lim, 2005). 그리고 20:4n-6이 0.3%(0%-0.5%) 정도로 낮게 함유된 사료를 공급했음에도 불구하고, 해삼의 20:4n-6함량이 높게(6.5%-8.5%) 관찰되었다. 이러한 결과는 어린 해삼이 다불포화 지방산으로부터 20:4n-6을 합성할 수 있는 능력을 가지고 있다는 것을 의미한다.

본 연구의 결과는 사료의 단백질 함량에 관계없이, 지질함량을 2%에서 10%로 증가시키는 것은 해삼의 성장을 저하시켰으며, 모든 지질함량에서 20% 단백질 함량 이상에 성장이 향상되지 않았다. 이러한 결과를 바탕으로 20% 단백질과 2% 지질을 함유하고 있는 사료가 어린 해삼의 성장을 위해 좋을 것으로 판단된다.

## 제 3 절 경제적인 배합사료 설계를 위한 사료 원료의 이용성

실용사료는 성장 효과가 높을 뿐 아니라 가격이 싸고 안정적인 공급이 이루어져야 한다. 이러한 조건을 만족시키기 위해서는 사료원료의 선정과 이용성 평가가 필수적이다. 사료 원료의 평가는 여러 가지 방법이 있는데, 먼저 원료중의 영양소의 종류와 양이 대상 어종의 요구에 얼마나 충족될 수 있는가를 기준으로 하여 이러한 영양소가 어떻게 이용되는가를 조사하고 부족한 영양소를 보충하거나 품질을 개선시키는 등 그 이용성을 높이는 것이다. 그래서 본 장에서는 국내에서 사용될 수 있는 각종 원료들을 구입하여, 영양화학적 성분을 분석한 후, 필요에 따라 가공 처리하여 사료원료로서 이용 가능성을 평가하였다.

### 1. 어린 해삼의 지충이 분말 이용성

#### 가. 서론

해삼류 중에서 돌기해삼(*Stichopus japonicus*)은 칼로리가 낮고 필수아미노산과 미네랄 등이 풍부한 well-being 보양식품으로 한국, 일본 및 중국에서 주로 식용으로 이용되고 있다. 해삼에 대한 수요는 지속적으로 증가하고 있으나(Sloan, 1984), 최근 무분별한 남획과 환경오염 등으로 인해 해삼 생산량이 감소함에 따라(Chen, 2004; Conand, 2004; Uthicke, 2004) 양식에 대한 관심이 증가되고 있다. 지금까지 해삼에 관한 연구로는 섭식과 소화(Tanaka, 1958b), 생식(Tanaka, 1958a), 유생사육(Sui et al., 1986; Sui, 1989), 대사(Kato and Hirata, 1990; Kashenko, 2000; Li et al., 2002) 및 추출물(Tian et al., 2005) 등 생물학적 특성에 초점을 두고 진행되었고, 해삼 양식에 필요한 배합

사료에 관한 연구는 거의 없는 실정이라 해삼 양식시 사용되는 양성용 먹이는 자연산 해조류 분말을 단독 또는 혼합하여 공급하고 있다(Sui, 1988; Battaglione et al., 1999).

자연산 해조류 중에서 지충이(*Sargassum thunbergii*)는 모자반과에 속하는 갈조류의 일종으로 우리나라 전 연안에 걸쳐 자생하는 풍부한 수산자원이며, 어린 것은 식용으로 이용되나 주로 구충제나 퇴비로 사용되어 왔다(Kim and Choi, 2004). 이러한 지충이는 칼슘 함량이 높고, 항산화 활성도가 높으며(Choi et al., 2006), 추출액에서는 암세포의 성장을 억제하는 항암물질이 함유되어 있어(Khuang et al., 1995) 부가가치가 높은 해조류 중의 한 종이다. 해삼 양식현장에서는 다른 해조류에 비해 수중에서의 부패속도가 느리다는 이유로 유생 및 어린 해삼의 먹이로 지충이를 사용하고 있으며, 종묘생산 초기에는 지충이의 즙을 짜서 공급하다가 육성단계에서는 지충이 분말을 단독으로 급여하거나 다른 원료와 임의로 혼합하여 공급하고 있다.

앞서 수행된 어린 해삼의 단백질원 이용성에 관한 연구에서 지충이 분말이 배합사료의 좋은 단백질원으로 사용될 수 있다는 결과를 보였다. 그러나, 지충이는 채취하는데 노동력이 많이 소요되며, 채취 후에도 사료 원료로 이용하기 위해서는 높은 수분함량을 제거해 주어야 하기 때문에 건조분말의 가격이 비싸고 해삼을 양성하기 위한 필요량을 충족시키기는 쉽지 않다. 이러한 지충이를 사료원료로 첨가할 경우, 첨가함량에 따라 사료 조성 및 단가가 달라질 수 있으므로 지충이의 적정 첨가량을 조사하는 연구가 필요하다.

그래서 본 연구는 앞서 수행된 연구결과들을 바탕으로 해삼 배합사료내 지충이의 첨가 효능을 조사함과 동시에 사료내 적정 첨가 함량을 조사하기 위해 수행하였다.

## 나. 재료 및 방법

### 실험사료

Table 1에 나타난 것처럼, 실험사료는 주요 단백질원으로 대두박을 사용하



였으며, 탄수화물원으로 소맥분을, 지질원으로 오징어간유와 대두유를 각각 사용하였다. 사료내 지충이의 이용성을 조사하기 위해 대두박과 소맥분의 함량을 줄이면서, 지충이를 20%, 40% 및 60%로 각각 첨가하여 단백질과 지질 함량이 각각 30%와 3% 전후가 되도록 지충이 무첨가구(대조구)를 포함한 4 종류의 실험사료와 상업용 사료를 준비하였다. 그리고 실험사료에는 외견상 영양소 소화율 측정을 위하여 지표물질로 산화크롬을 0.5% 첨가하였다. 이와 같이 설계된 실험사료의 원료들을 잘 혼합하여 소형 펠렛기로 성형한 후, 분말 형태로 분쇄하여 -30 °C에서 보관 하면서 필요시 공급하였다. 제조된 실험사료, 지충이 분말 및 상업용 수입사료의 일반성분 및 아미노산 조성을 Table 2에 나타내었다. 지충이 분말의 Arg과 His 함량은 실험사료와 상업용 사료에 비해 낮았으며, 실험사료의 지충이 첨가량이 증가할수록 Ile, Leu, Thr 및 Val 함량은 증가하였다.

Table 1. Ingredients and proximate composition of the experimental diets

	Diets					
	S0	S20	S40	S60	S100	CF <sup>1</sup>
<i>Ingredients (%)</i>						closed
White fish meal		3.0	9.0	15.0		
Soybean meal	45.0	35.0	25.0	15.0		
Wheat flour	47.0	37.0	27.0	17.0		
<i>Sargassum thunbergii</i>	-	20.0	40.0	60.0	100	
Squid liver oil	1.0	1.0	1.0	1.0		
Soybean oil	1.3	1.3	1.3	1.3		
Vitamin premix	2.0	2.0	2.0	2.0		
Mineral premix	3.0	3.0	3.0	3.0		
Choline	0.2	0.2	0.2	0.2		
Cr <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	0.5	0.5	0.5	0.5		

<sup>1</sup> Commercial feed.

Table 2. Proximate and essential amino acid composition of the experimental diets

	Diets					
	S0	S20	S40	S60	S100	CF
<i>Proximate analysis (% , dry matter basis)</i>						
Crude protein	32.6	30.5	28.5	27.8	14.1	39.2
Crude lipid	2.2	2.6	2.7	3.0	23.9	2.7
Ash	5.3	12.0	18.3	23.9	40.5	21.2
NFE <sup>1</sup>	59.9	54.9	50.5	45.3	45.3	36.9
Gross energy (kcal/100 g diet)	3.7	3.5	3.3	3.0	2.2	2.7
<i>Essential amino acid (% , dry matter basis)</i>						
Arg	6.7	6.8	6.5	6.4	5.2	6.3
His	2.4	2.5	2.6	2.6	1.3	2.8
Ile	4.6	4.8	5.0	5.0	6.9	5.4
Leu	7.8	8.1	8.3	8.2	8.5	8.6
Lys	5.4	5.9	6.5	6.8	5.4	7.2
Met+Cys	3.2	3.4	3.0	3.8	3.7	2.6
Phe+Tyr	9.1	9.4	9.0	9.2	10.6	8.4
Thr	3.7	3.9	4.2	4.3	4.9	4.6
Val	4.5	4.8	5.0	5.1	5.4	5.3
Total	47.4	49.6	50.1	51.4	51.9	51.2

<sup>1</sup> Nitrogen-free extract 100-(crude protein+crude lipid+ash+crude fiber).

#### 실험어 및 사육관리

충남 태안의 영진수산에서 종묘 생산된 어린 해삼을 구입한 후, 대형 콘크리트 수조에 수용하여 상업용 상품사료를 2일 1회 공급하면서 2주간 적응시켰다. 적응기간 동안 어린 해삼에게는 2일 1회 상업용 수입사료를 공급해 주었다. 사육실험은 총 18개의 사각 수조(50ℓ 사각수조), 외형적으로 건강한 어린 해삼(평균 체중: 1.1±0.05 g)을 각 수조에 60 마리씩 3반복으로 수용한 후 실험사료를 어린 해삼 체중의 5%씩 2일 1회 (16:30 h) 공급하며 12주간

사육하였다. 사육실험 기간 동안 수온은  $12.3 \pm 2.55^\circ\text{C}$ , 비중은  $1.025 \pm 0.0006$  이었으며 각 수조마다 aeration과 함께 여과해수를  $1\ell/\text{min}$ 로 조절하여 흘려주었다. 사육기간 중 죽은 개체는 매일 제거하였으며, 이틀에 한 번씩 사이폰으로 수조를 청소해 주었다. 그리고 소화율 측정을 위해 사육실험 종료 2주 전부터 사료 공급전 실험수조내의 분을 사이폰으로 수집하였다.

#### 샘플채취 및 성분분석

최초 성분 분석용으로 어린 해삼 100마리를 sample하였으며, 실험 종료시에는 각 실험수조에 생존한 어린 해삼 모두를 성분분석용으로 sample하여  $-75^\circ\text{C}$ 에 보관하였다. AOAC (1990)의 방법에 따라 조단백질 ( $\text{N} \times 6.25$ )은 Auto Kjeldahl System (Buchi B-324/435/412, Switzerland)를 사용하여 분석하였고, 조지방은 ether를 사용하여 추출하였으며, 수분은  $105^\circ\text{C}$ 의 dry oven에서 6시간 동안 건조 후 측정하였다. 회분은  $600^\circ\text{C}$  회화로에서 4시간 동안 태운 후 정량 하였고, 총에너지는 adiabatic bomb calorimeter (Parr, USA)를 이용하여 측정하였다. 그리고 실험 원료와 사료의 아미노산 분석은 아미노산 전용분석기 (L-8800, Hitachi, Column : Ion exchange, Injection Pump : Pressure 0-19.6Mpa, Flow Rate 0.05-0.99 ml/min, Column Oven : Electrothermal cooling ( $30-70^\circ\text{C}$ ), Reaction Unit : Reaction Column ( $135^\circ\text{C}$ ,  $50^\circ\text{C}$ ), Photometer : Wavelength 570 nm, 440 nm)를 사용하여 정량분석 하였다. Furukawa and Tsukahara (1966)의 방법에 따라 실험사료 및 분의 산화크롬을 분석하였으며, 소화율은 다음의 공식에 의하여 계산되었다.

$$\text{건물 소화율 (\%)} = 100 - (\text{사료중의 } \text{Cr}_2\text{O}_3 / \text{분중의 } \text{Cr}_2\text{O}_3) \times 100$$

영양소 및 에너지 소화율 (%)

$$= \left( 1 - \frac{\text{사료중의 } \text{Cr}_2\text{O}_3}{\text{분중의 } \text{Cr}_2\text{O}_3} \times \frac{\text{분중의 영양소 또는 에너지}}{\text{사료중의 영양소 또는 에너지}} \right) \times 100$$

## 통계처리

결과의 통계처리는 ANOVA-test를 실시하여 Duncan's multiple range test (Duncan, 1955)로 평균간의 유의성을 SPSS (SPSS Inc., 1997) program을 사용하여 검정하였다.

## 다. 결과 및 고찰

사육실험 종료 후, 모든 실험수조에서 어린 해삼의 개체별 크기와 무게 차이가 다양하게 나타났다(Fig 1). 본 연구에서는 모든 실험구에 생존한 어린 해삼의 전체무게를 측정한 후, 무게별 분포도를 조사하기 위해 모든 실험구에 생존한 어린 해삼 개체마다 무게를 측정하였다. Fig. 1에 나타낸 것처럼, 모든 실험구에서 1.0 g 이하의 어린 해삼이 50% 이상이였으며, 그 중에서 지충이(74%)와 상업용 수입사료(68%) 공급구에서 높게 분포하였다. 그리고 지충이가 첨가된 사료 공급구는 4.0 g 이상의 개체가 17~24%로 조사되었다. 이러한 현상은 실제 해삼양식 현장에서도 종묘생산 이후 육성단계에서 나타나고 있으며, 개체 무게의 차이로 인해 일정 기간마다 개체별 분리 작업을 하여 선두그룹을 우선 판매하고 있다. 이러한 현상이 발생하는 이유를 정확하게 설명할 수는 없지만, 아마도 해삼의 유전 형질에 의한 개체변이로 생각된다.

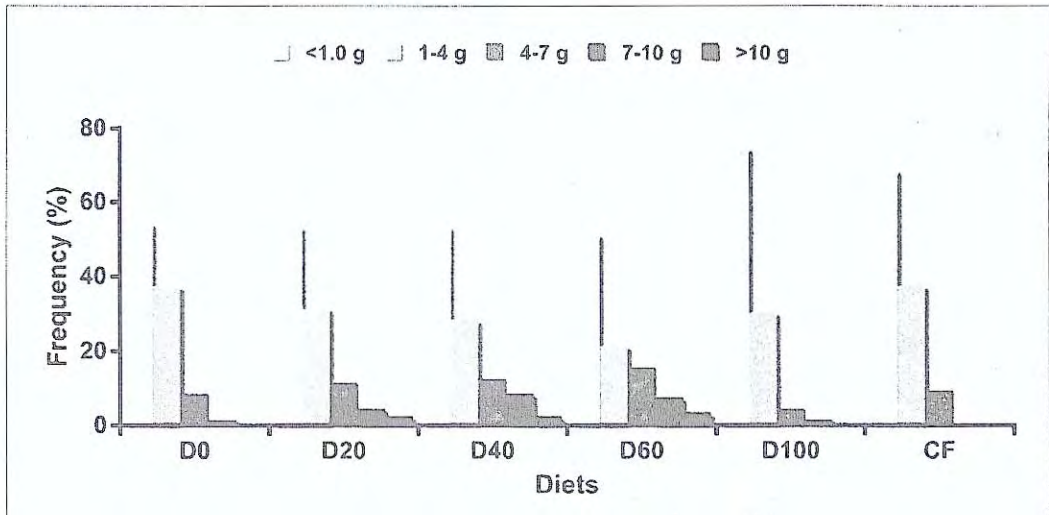


Fig. 2. Frequency of individual weight of juvenile sea cucumber fed the diets containing different *Sargassum thunbergii* levels 12 weeks

지충이를 각각 다른 함량으로 첨가한 4종류의 실험사료, 지충이 분말 및 상업용 수입사료로 12주간 사육 실험한 결과를 Table 1에 나타내었다. 생존율은 83~98%로 모든 실험구에서 유의적인 차이가 없었다( $P>0.05$ ). 증중율은 사료내 지충이 첨가 함량에 따라 영향을 받았으며( $P<0.05$ ), 지충이 20%첨가 실험구(93%)에서 가장 높았고, 지충이(7%)와 상업용 수입사료(12%) 공급구에서 가장 낮은값을 보였다. 그리고 지충이 무첨가구와 40% 및 60% 실험구의 증중율은 45~58%로 실험구간에 유의한 차이가 없었다. 이러한 결과는 배합 사료에 지충이를 첨가하는 것이 어린 해삼의 성장을 향상시킬 수 있으며, 사료제조시 적정 지충이 첨가함량이 20%라는 것을 의미한다. 그리고 어린 해삼의 개체별 무게의 차이를 고려하여, 최초 수용량(60마리)의 상위 20마리의 증중율을 조사하였다(Table 1). 상위 20마리 해삼의 증중율은 지충이 40%와 60% 첨가구에서 양호한 결과를 보였으며, 지충이와 상업용 수입사료 공급구에서 낮은 값을 보여( $P<0.05$ ) 전체 해삼의 증중율 결과와 차이를 나타내었다. 이러한 결과는 해삼의 사이즈에 따라 지충이 이용성이 달라질 수 있음을 의미하며, 해삼 성장단계에 따른 사이즈와 지충이 사이의 상호관계에 관

한 상세한 연구가 요구된다.

Table 1. Initial mean weight, survival and weight gain of juvenile sea cucumber fed the diets containing different *Sargassum thunbergii* levels 12 weeks<sup>1</sup>

Diets	S0	S20	S40	S60	S100	CF
IAW <sup>2</sup>	1.1±0.03 <sup>ns</sup>	1.1±0.04	1.1±0.03	1.1±0.02	1.1±0.02	1.1±0.02
FAW <sup>3</sup>	1.7±0.17 <sup>c</sup>	2.1±0.16 <sup>d</sup>	1.6±0.12 <sup>abc</sup>	1.6±0.13 <sup>bc</sup>	1.2±0.08 <sup>a</sup>	1.3±1.56 <sup>ab</sup>
WG <sup>3</sup>	58±19.8 <sup>bc</sup>	93±9.5 <sup>c</sup>	45±15.0 <sup>ab</sup>	47±14.6 <sup>abc</sup>	7±3.7 <sup>a</sup>	12±12.2 <sup>a</sup>
Survival (%)	86±2.3 <sup>ns</sup>	87±4.7	96±2.3	94±4.7	98±1.5	97±2.1
FAW-20 <sup>4</sup>	3.3±0.33 <sup>a</sup>	4.5±0.42 <sup>b</sup>	5.7±0.15 <sup>c</sup>	5.9±0.46 <sup>c</sup>	2.9±0.09 <sup>a</sup>	3.1±0.23 <sup>a</sup>
WG-20 (%) <sup>5</sup>	207±40.0 <sup>ab</sup>	303±32.3 <sup>b</sup>	415±30.4 <sup>c</sup>	430±53.4 <sup>c</sup>	159±4.1 <sup>a</sup>	176±18.0 <sup>a</sup>

<sup>1</sup> Values are means from triplicate groups of fish where the means in each row with a different superscript are significantly different (P<0.05).

<sup>2</sup> Initial average weight (g /sea cucumber).

<sup>3</sup> Final average weight (g /sea cucumber).

<sup>4</sup> Final average weight (g /sea cucumber) of the top 20 sea cucumber.

<sup>5</sup> Weight gain (%) of the top 20 sea cucumber.

<sup>ns</sup> Not significant (P>0.05).

실험기간 동안 4주 간격으로 측정된 증중율의 변화를 Fig 2에 나타내었다. 사육실험 4주까지는 모든 실험구에서 성장을 보이지 않았으며, 지충이와 상업용 수입사료 공급구는 실험 종료시까지 성장변화가 크지 않았다. 하지만, 그 외 실험구들은 4주 이후부터 성장이 증가하였으며, 지충이 40%와 60% 첨가구의 경우에는 8주 이후부터 성장의 변화가 없었지만, 지충이 20% 실험구는 8주 이후 성장이 급격히 증가하였다. 사육실험 4주 후 중간측정 결과에서 해삼의 성장이 향상되지 않은 것은 사육실험 6주까지 낮은 수온(평균 10.1℃)으로 인하여 사료섭취가 감소하였거나 대사율이 낮아 성장에 영향을 미쳤을

것으로 판단된다. Yang et al. (2005)은 해삼의 사료섭취와 성장에 대한 적정 수온이 14~15℃라고 보고하여 본 연구에서 적용된 사육수온이 적정 어린해삼의 성장을 위한 적정 수온보다 낮았음을 보여준다.

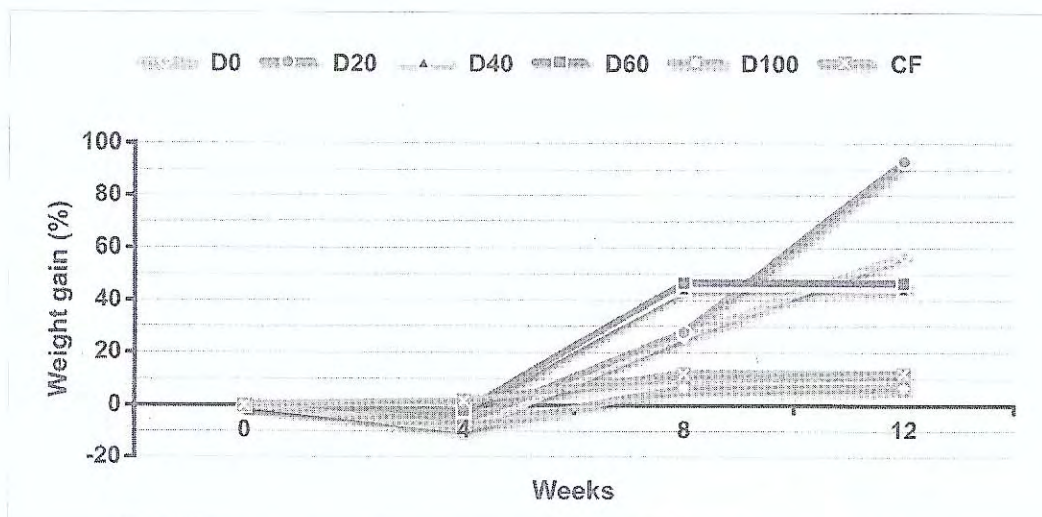


Fig. 2. Change of weight gain of juvenile sea cucumber fed the diets containing different *Sargassum thunbergii* levels 12 weeks

어린 해삼의 일반성분 분석결과를 Table 2에 나타내었다. 수분과 지질 함량은 실험구간에 유의한 차이가 없었다.( $P>0.05$ ). 단백질 함량은 지충이와 상업용 수입사료 공급구가 자체 제조한 4종류 실험사료 공급구보다 유의하게 낮은 함량을 보였다. 실험 배합사료의 공급은 성장 뿐 아니라 어린 해삼의 영양적 가치를 향상시킬 수 있을 것으로 생각된다. 그리고 지충이 공급구에서 가장 높은 회분함량을 보였는데, 이것은 본 실험에 사용된 지충이 분말의 성분 중 회분함량이 높았기(약 43%) 때문에 어린 해삼 어체의 회분함량에도 영향을 미친 것으로 보인다.

Table 2. Proximate compositions (%) of whole body in sea cucumber fed the experimental diets containing different *Sargassum thunbergii* levels for 12 weeks<sup>1</sup>.

Diets	Moisture	Crude protein	Crude lipid	Ash
Initial	92.2	1.6	0.1	3.8
S0	91±0.1 <sup>ns</sup>	2.3±0.29 <sup>b</sup>	0.29±0.08 <sup>ns</sup>	3.7±0.1 <sup>a</sup>
S20	92±0.1	2.3±0.25 <sup>b</sup>	0.22±0.06	3.7±0.1 <sup>a</sup>
S40	91±0.2	2.4±0.27 <sup>b</sup>	0.22±0.09	3.8±0.1 <sup>a</sup>
S60	92±0.3	2.6±0.19 <sup>b</sup>	0.23±0.08	3.6±0.1 <sup>a</sup>
S100	92±0.1	1.7±0.03 <sup>a</sup>	0.08±0.03	4.2±0.2 <sup>b</sup>
CF	92±0.1	1.8±0.08 <sup>a</sup>	0.16±0.02	3.9±0.1 <sup>ab</sup>

<sup>1</sup> Values are means from triplicate groups of fish where the means in each row with a different superscript are significantly different ( $P<0.05$ ).

자체 제조한 실험사료(D0-D60)의 건물, 단백질, 지질, NFE 및 에너지의 외관상 소화율을 Table 3에 나타내었다. 건물, 단백질, NFE 및 에너지의 소화율은 사료내 지층이 첨가량이 증가할수록 낮아졌으며, 지층이 무첨가 실험구에서 가장 높았고, 60% 첨가 실험구에서 가장 낮았다( $P<0.05$ ). 지질 소화율은 지층이 첨가 함량에 영향을 받지 않았다( $P>0.05$ ).

대상종의 영양소 이용성은 소화율 측정을 통해 평가될 수 있다. 본 연구에서 어린 해삼의 건물 소화율은 모든 실험구에서 34-56%의 범위로 나타나 이전 연구결과와 건물 소화율 범위와 유사하였으며(Sun et al., 2004), 어린해삼 배합사료의 적정 단백질과 지질 함량을 조사한 앞선 연구결과와도 유사한 범위를 보였다. 하지만, 건물소화율이 사료의 조성에 따라서 달라질 수는 있지만, 어류를 대상으로 60-90%(Lim et al., 2004; Yoo et al., 2005; Choi et al., 2006)의 범위로 보고된 결과와 비교하면 어린 해삼의 건물 소화율은 낮



은 수치를 나타내고 있는데, 이러한 결과는 먹이섭취 방법과 영양소의 대사 과정이 대상종에 따라 달라질 수 있다는 것을 의미하며, 어린 해삼의 사료효율 및 성장율이 어류에 비해 낮기 때문에 나타난 결과로 생각된다. 지충이 무첨가 실험구와 20% 첨가 실험구간에 유의한 차이가 없었다. 20% 지충이 사료를 공급한 어린 해삼의 전체 증중율이 가장 양호한 결과를 보인 것으로 미루어볼 때, 사료에 지충이를 첨가함으로써 영양소 소화율이 감소하는 경향을 보였지만, 20% 첨가는 어린 해삼의 성장에 큰 영향을 미치지 않는 것으로 생각된다. 또한, 상위그룹의 경우 지충이를 40% 첨가한 사료 공급구에서 성장이 가장 높았기 때문에 어린 시기에서 큰 개체로 성장하면서 지충이 이용성은 더 향상될 수 있을 것으로 생각된다.

Table 3. Apparent digestibility coefficients (%) for dry matter, crude protein, lipid, NFE and gross energy of experimental diets in juvenile sea cucumber fed the experimental diets for 12 weeks<sup>1</sup>

Diets	Dry matter	Crude protein	Crude lipid	NFE	Gross energy
S0	56±1.0 <sup>c</sup>	90±0.9 <sup>c</sup>	97±1.5 <sup>ns</sup>	70±5.0 <sup>b</sup>	76±1.5 <sup>d</sup>
S20	51±2.5 <sup>c</sup>	88±0.5 <sup>c</sup>	96±0.5	61±1.3 <sup>b</sup>	73±1.1 <sup>c</sup>
S40	41±3.7 <sup>b</sup>	81±1.1 <sup>b</sup>	96±0.5	41±2.3 <sup>a</sup>	65±1.0 <sup>b</sup>
S60	34±3.1 <sup>a</sup>	75±1.7 <sup>a</sup>	94±1.3	55±2.9 <sup>a</sup>	58±0.9 <sup>a</sup>

<sup>1</sup> Values are means from triplicate groups of fish where the means in each row with a different superscript are significantly different (P<0.05).

<sup>ns</sup> Not significant (p<0.05).

이상의 결과로부터, 배합사료내 지충이의 첨가는 어린 해삼의 성장을 향상시킬 수 있으며, 전체 어린 해삼그룹의 성장을 고려할 때, 사료에 20%를 첨가하는 것이 좋을 것으로 생각된다. 그러나, 조기 판매를 위한 선두그룹의 성

장을 고려할 때 사료에 첨가시 40%가 적절할 것으로 판단된다. 또한, 본 실험에서 상업용 수입사료에 비해 자체 제조한 실험사료 공급시 어린 해삼의 성장이 더 양호한 결과를 보여 상업용 수입사료에 대한 실험 배합사료의 대체 가능성을 증명할 수 있었으며, 본 연구결과는 차후, 본 실험에 사용된 상업용 수입사료 이외의 다른 종류의 수입사료와도 비교 및 반복실험이 수행되어야 할 것이다.

## 2. 어린 해삼 배합사료에 식물성 원료의 첨가 효과

### 가. 서론

해삼 양식에 필요한 배합사료에 관한 연구는 거의 없는 실정이라 해삼 양식시 사용되는 양성용 먹이로 자연산 해조류 분말을 단독 또는 혼합하여 공급하고 있다(Sui, 1988; Battaglione et al., 1999). 해삼은 해저 퇴적물속의 유기물을 섭취하기도 하지만 단백질과 지질 함량이 낮은 해조류를 섭취한다. 이러한 먹이습성 때문에, 해삼의 지질 이용성은 낮고, 육식성 어류에 비해 단백질 요구량이 낮아(Seo et al., 2008) 초식성에 가깝다. 앞서 수행된 단백질원 평가실험에서 어린 해삼의 지충이 이용성이 높다는 것을 보여주었다. 하지만, 순수한 해조류 분말을 해삼에게 공급하는 것은 성장 개선을 위해 좋지 않다고 보고되어 있으며(Yuan et al., 2006), 앞서 수행된 연구에서도 지충이 분말만을 공급한 실험구가 지충이가 첨가된 모든 실험사료 공급구보다 낮은 성장을 보였다. 이것은 순수한 해조류 분말은 어린 해삼의 좋은 먹이가 될 수 없으며, 다른 원료들과 혼합하여 배합사료로 공급되어야 이용성이 높아질 수 있다는 것을 의미한다. 이처럼 어린 해삼은 해산어류와는 달리 초식성이 강하고 단백질과 지질 이용성이 낮기 때문에 배합사료 원료로 어분과 같은 동물성 원료보다 식물성 원료에 대한 평가실험이 이루어져야 한다.

해조류 중에서 모자반과에 속하는 지충이(*Sargassum thunbergii*)는 우리나라 전 연안에 걸쳐 자생하는 풍부한 수산자원이나, 분말로 가공하여 판매하는 곳이 없기 때문에 미역이나 다시마 분말에 비해 필요량을 충족시키기 어려워 사료원료로 사용되는 양이 제한될 수 있다. 이에 반해, 미역과 다시마는 해산어류 배합사료의 좋은 원료로 사용될 수 있으며, 사료원료를 목적으로도 가공하여 판매되고 있기 때문에 쉽게 구할 수 있다. 사료에 다시마 및 파래와 같은 해조류의 첨가는 어류의 생리 기능과 사료효율을 향상시킨다고 보고되어 있으며(Nakagawa, 1985; Nakagawa and Kasahara, 1986; Satoh et al.,

1987), 미역분말 첨가로 해산어류의 성장과 사료효율이 개선될 수 있다는 보고도 있다(Yone et al., 1986b; Yi and Chang, 1994). 그리고 해삼 양식현장에서는 해삼의 먹이 효율을 높이기 위해 해조류 분말을 효모로 발효시킨 다음 공급하고 있는데, Yuan et al. (2006)은 발효시킨 해조류 분말이 해삼의 성장을 위해 좋은 먹이가 될 수 있다고 보고하였으며, 식물성 원료의 발효가 어류의 비특이적 면역반응과 질병 저항성을 강화할 수 있다는 보고도 있다(Ashida et al., 2002; Ashida and Okimau, 2005; Ashida et al., 2006). 이러한 관점에서 우리주변에서 쉽게 구할 수 있는 청국장은 벧짚의 *bacillus subtilis* 균에 의한 발효산물로서 독특한 향을 가지고 있으며, 항균성, 항암성 및 항산화 활성을 가지고 있어(Kim et al., 1999; Youn et al., 2001; Lee et al., 2005; Mine et al., 2005) 좋은 사료 원료가 될 수 있다(Pham and Lee, 2007). 그리고 막걸리를 제조하면서 얻을 수 있는 막걸리 부산물 또한 발효과정을 통해 얻어지는 원료로서 영양가가 높아 돼지나 닭의 사료로 이용되고 있다.

따라서 본 연구는 배합사료내 지충이 대체원료로 해조류(미역, 다시마), 양배추, 발효산물인 막걸리 부산물과 청국장 그리고 *bacillus subtilis* 균이 존재하는 벧짚 등 다양한 식물성 원료의 첨가가 어린 해삼의 성장 및 체조성에 미치는 영향을 조사하기 위해 수행하였다.

## 나. 재료 및 방법

### 실험사료

실험사료 원료의 일반성분 및 아미노산 조성을 Table 1에 나타내었다. 실험사료의 원료로 사용된 지충이, 미역 및 다시마 등의 해조류는 회분 함량이, 양배추와 벧짚은 Nitrogen-free extract 함량이, 청국장과 막걸리 부산물은 단백질과 지질함량 각각 영양성분 중에서 높게 함유되어 있었다. 그리고 Table 2에 표시한 바와 같이 대조사료는 단백질원으로 대두박을 사용하였으며, 탄수화물원으로 소맥분을, 지질원으로 오징어간유와 대두유를 각각 사용하였다.

그리고 앞서 연구된 결과를 바탕으로 대조사료에는 지층이 분말을 40% 첨가하였으며, 대조사료의 지층이 함량을 줄이면서 미역, 다시마, 양배추, 청국장, 막걸리 부산물 및 벵짚 등의 식물성 원료를 첨가하여 단백질과 지질 함량이 각각 30%와 3% 전후인 총 7 종류의 실험사료와 상업용 사료 1종류를 준비하였다. 그리고 외견상 영양소 소화율 측정을 위하여 실험사료에 지표물질인 산화크롬을 0.5%씩 첨가하였다. 이와 같이 설계된 실험사료의 원료들을 잘 혼합하여 소형 펠렛기로 성형한 후, 분말 형태(180 mesh)로 분쇄하여 -30℃에서 보관하면서 필요시마다 공급하였다. 실험사료의 아미노산 조성을 Table 3에 나타내었다.

Table 1. Proximate and amino acids composition of the ingredients used to experimental diets

	Test ingredients						
	Sar <sup>a</sup>	Und <sup>b</sup>	Lam <sup>c</sup>	Cab <sup>d</sup>	Che <sup>e</sup>	Mak <sup>f</sup>	Ric <sup>g</sup>
<i>Proximate analysis (% in dry matter)</i>							
Crude protein	12.3	23.7	9.6	8.9	45.7	44.3	4.2
Crude lipid	0.1	2.6	1.6	1.1	23.4	12.2	1.3
Ash	38.0	28.0	25.6	5.2	6.3	1.6	11.5
Crude fiber	4.7	7.1	6.5	4.8	6.5	-	24.1
NFE <sup>h</sup>	40.7	40.7	56.8	80.0	18.1	41.9	58.9
Gross energy (kcal/100 g)	2.4	3.4	3.0	3.8	5.7	5.4	3.9
<i>Essential amino acids (% in protein)</i>							
Arg	5.2	5.5	2.8	6.3	6.5	5.7	5.1
His	1.3	2.0	1.0	2.5	2.6	2.0	2.5
Ile	6.9	5.4	3.4	4.7	4.8	5.2	5.0
Leu	8.5	9.3	5.7	8.0	8.0	9.2	10.3
Lys	5.4	6.6	3.3	4.7	6.4	2.3	4.8
Met+Cys	3.7	3.1	3.3	2.7	3.0	5.8	3.9
Phe+Tyr	10.6	8.8	6.8	8.9	9.5	10.8	10.1
Threonine	4.9	5.4	3.1	4.5	4.0	4.5	4.3
Val	5.4	6.4	3.2	4.5	5.0	6.0	5.0

<sup>a</sup> *Sargassum thunbergii*.

<sup>b</sup> *Undaria*.

<sup>c</sup> *Laminaria*.

<sup>d</sup> Cabbage.

<sup>e</sup> Cheonggukjang (Fermented soybean).

<sup>f</sup> Makkolli dreg.

<sup>g</sup> Rice straw.

<sup>h</sup> Nitrogen-free extract = 100-(crude protein+crude lipid+ash+crude fiber).

Table 2. Ingredients and proximate composition (%) of the experimental diets

	Diets							
	Sar	Und	Lam	Cab	Che	Mak	Ric	CF
<i>Ingredients (%)</i>								closed
Soybean meal	43.0	38.0	44.0	44.0	34.0	35.0	46.0	
Wheat flour	8.8	14.4	8.2	8.1	19.8	18.1	6.1	
Squid liver oil	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	
Soybean oil	2.0	1.4	1.6	1.7		0.7	1.7	
Vitamin premix <sup>1</sup>	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	
Mineral premix <sup>2</sup>	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	
<i>Sargassum thunbergii</i>	40.0	20.0	20.0	20.0	30.0	30.0	20.0	
<i>Undaria</i>		20.0						
<i>Laminaria</i>			20.0					
Cabbage				20.0				
chenggukjang					10.0			
Makkolli dreg <sup>3</sup>						10.0		
Rice straw							20.0	
Choline	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	
Cr <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	
<i>Proximate analysis (% , dry matter basis)</i>								
Crude protein	31.3	29.7	29.5	29.3	30.4	29.8	28.6	16.8
Crude lipid	2.9	3.1	3.1	2.7	3.4	3.4	2.8	0.3
Ash	19.7	17.6	17.4	13.8	17.0	16.1	14.9	30.2
Crude fiber	4.5	4.3	4.7	2.7	2.0	1.3	5.7	2.9
NFE	58.5	53.7	57.3	48.8	52.9	53.4	51.9	50.3
Gross energy								
(kcal/100 g diet)	3.8	3.9	3.9	4.0	4.0	3.9	4.0	2.8

<sup>1, 2</sup> Same as Seo et al. (2008).

<sup>3</sup> Produced by Gangneung Makkolli factory, Gangneung, Korea.

Table 3. Essential amino acid composition (%) of the experimental diets

	Diets							
	Sar	Und	Lam	Cab	Che	Mak	Ric	CF
<i>Essential amino acids (% in protein)</i>								
Arg	6.8	6.6	6.7	6.1	6.7	6.6	6.7	5.1
His	2.3	2.3	2.3	2.2	2.3	2.2	2.3	2.5
Ile	4.9	5.0	4.9	5.3	5.1	5.3	5.1	5.0
Leu	8.2	8.4	8.1	9.0	8.4	8.9	8.7	10.3
Lys	5.6	5.7	5.5	3.8	5.3	4.1	4.5	4.8
Met+Cys	2.9	2.8	2.9	2.9	3.0	3.1	2.6	3.9
Phe+Tyr	9.2	9.0	9.2	9.8	9.6	9.8	9.3	10.1
Thr	4.1	4.2	4.0	4.3	4.0	4.3	4.2	4.3
Val	4.9	5.4	4.9	5.2	4.9	5.1	5.1	5.0

#### 실험어 및 사육관리

전남 완도의 해삼 종묘생산 업체(카스코)로부터 어린 해삼을 구입한 후, 대형 콘크리트 수조에 수용하여 상업용 수입사료를 2일 1회 공급하면서 2주간 적응시켰다. 사육실험은 총 24개의 사각 수조(50ℓ 사각수조), 외형적으로 건강한 어린 해삼(평균 체중:  $1.5 \pm 0.05$  g)을 각 수조에 30마리씩 3반복으로 수용한 후, 실험사료를 어린 해삼 체중의 5%씩 1일 1회(16:30 h) 공급하며 10주간 사육하였다. 사육실험 기간 동안 수온은  $16.1 \pm 2.47^\circ\text{C}$ , 비중은  $1.025 \pm 0.0006$  이었으며 각 수조마다 aeration과 함께 여과해수를 1ℓ/min로 조절하여 흘려주었다. 사육기간 중 죽은 개체는 매일 제거하였으며, 이틀에 한 번씩 사이폰으로 수조를 청소해 주었다. 그리고 소화율 측정을 위해 사육실험 종료 2주 전부터 사료 공급 1시간 전에 실험수조내의 분을 사이폰으로 수집하였다.



## 시료채취 및 성분분석

최초 성분 분석용으로 어린 해삼 100마리를 무작위로 표본 추출하였으며, 실험 종료시에는 각 실험수조에 생존한 모든 어린 해삼을 성분분석을 위해 -70℃에서 동결보관 하였다. 원료, 실험사료 및 어린 해삼의 일반성분 분석은 AOAC (1990)의 방법에 따라 조단백질(N×6.25)은 Auto Kjeldahl System (Buchi B-324/435/412, Switzerland)를 사용하여 분석하였고, 조지방은 ether를 사용하여 추출하였으며, 수분은 105℃의 dry oven에서 6시간 동안 건조 후 측정하였다. 조회분은 600℃ 회화로에서 4시간 동안 태운 후 정량 하였다. 총에너지는 adiabatic bomb calorimeter (Parr, USA)를 이용하여 측정하였다. 그리고 실험 원료, 실험 사료 및 어린 해삼의 아미노산 분석은 아미노산전용 분석기 (L-8800, Hitachi, Column : Ion exchange, Injection Pump : Pressure 0-19.6Mpa, Flow Rate 0.05-0.99 ml/min, Column Oven : Electrothermal cooling (30-70℃), Reaction Unit : Reaction Column (135℃, 50℃), Photometer : Wavelength 570 nm, 440 nm)를 사용하여 정량분석 하였다.

Furukawa and Tsukahara (1966)의 방법에 따라 실험사료 및 분의 산화크롬을 분석하였으며, 소화율은 다음의 공식에 의하여 계산되었다.

건물 소화율 (%) =  $100 - (\text{사료중의 } Cr_2O_3 / \text{분중의 } Cr_2O_3) \times 100$

영양소 및 에너지 소화율 (%)

$$= \left( 1 - \frac{\text{사료중의 } Cr_2O_3}{\text{분중의 } Cr_2O_3} \times \frac{\text{분중의 영양소 또는 에너지}}{\text{사료중의 영양소 또는 에너지}} \right) \times 100$$

## 통계처리

결과의 통계처리는 SPSS Version 12 (SPSS, Michigan Avenue, Chicago, IL, USA) program을 사용하여 One-way ANOVA-test를 실시한 후, Duncan's multiple range test (Duncan, 1955)로 평균간의 유의성을 검정하였다.

## 다. 결과 및 고찰

다양한 식물성 원료가 함유된 7종류의 실험사료와 상업용 수입사료로 어린 해삼을 10주간 사육 실험한 결과를 Table 1과 Fig. 1에 나타내었다. 생존율은 81% 이상으로 모든 실험구에서 유의적인 차이가 없었다( $P>0.05$ ). 어린 해삼의 증중율과 일간성장율은 Che 공급구에서 가장 높은 값을 보였고, Sar 공급구에서 가장 낮았다. 그러나 Che 공급구와 Mak 공급구간에 유의한 차이는 없었다.

앞서 수행된 연구에서 사료에 지충이 분말의 적정 첨가량이 해삼의 크기에 따라 20% 또는 40%라는 결과를 얻었으나, 본 연구에서는 지충이를 40% 첨가한 대조구가 20~30%를 첨가한 다른 실험구에 비해 낮은 성장을 보여 지충이 분말은 본 실험에 사용된 식물성 원료들과 혼합될 경우 어린 해삼의 성장에 더 효과적일 것으로 보이며, 40%까지 첨가하는 것은 좋지 않을 것으로 생각된다. 이에 반해 지충이 분말의 10%를 청국장과 막걸리 부산물로 대체한 실험구의 성장율이 다른 실험구보다 양호한 것으로 나타나 청국장과 막걸리 부산물과 같은 발효산물이 어린해삼의 성장을 향상시키는데 중요한 역할을 하는 것으로 보인다. 일반적으로 원료를 발효하는 동안 빛, 열, 산소 그리고 미생물 등으로 인해 영양소의 손실이 발생할 수 있으나(Jones, 1995), 그 양은 많지 않으며, 오히려 미생물에 의한 유기물의 분해와 합성 과정을 통해 원료의 영양적 가치가 향상될 수 있다고 보고되어 있다(Wee, 1991). Yuan et al. (2006)은 순수한 해조류가 해삼의 성장개선에 도움이 되지 않으나, 발효시킨 해조류 분말은 해삼의 좋은 먹이가 될 수 있다고 보고하여 본 연구의 결과를 뒷받침 해주고 있다. 이처럼 해삼의 성장이 발효산물을 첨가한 실험구에서 높게 나타난 것은 해삼의 서식환경과 섭취먹이와 연관이 있는 것으로 보인다. 해삼은 해저에서 박테리아, 원생동물 및 규조류와 같은 유기물 뿐 아니라 식물 및 동물의 사체 또는 유기 분해물을 섭취하기 때문에(Yingst, 1976; Moriarty, 1982; Zhang et al., 1995) 발효산물에 대한 이용성이 높았던

것으로 판단된다. 그리고 청국장과 막걸리 첨가 실험구는 상업용 사료보다 양호한 성장을 보여 앞서 수행된 실험결과에 이어 실험 배합사료의 수입사료 대체가능성을 반복적으로 보여주고 있다.

앞서 수행된 연구결과에서 나타난 어린 해삼의 개체차이가 본 연구에서도 나타났으며, 최초 수용량의 약 30%인 상위 10마리의 증중율을 따로 조사한 결과, 전체 증중율과 일간성장율의 결과와 유사하게 Che 공급구에서 가장 높았고, Sar 공급구에서 가장 낮았으나, Che, Und, Mak 및 CF 공급구간에 유의한 차이는 없었다( $P>0.05$ ).

Table 3. Weight gain, specific growth rate and survival of juvenile sea cucumber fed the experimental diets for 10 weeks<sup>1</sup>

Diets	Sar	Und	Lam	Cab	Che	Mak	Ric	CF	Pooled SEM <sup>7</sup>
IMW <sup>2</sup>	1.5 <sup>ns</sup>	1.5	1.5	1.5	1.6	1.5	1.5	1.5	0.01
FMW <sup>2</sup>	1.7 <sup>a</sup>	2.3 <sup>cd</sup>	2.0 <sup>bc</sup>	2.1 <sup>bc</sup>	2.5 <sup>c</sup>	2.4 <sup>c</sup>	1.9 <sup>ab</sup>	2.1 <sup>bc</sup>	0.06
WG <sup>3</sup>	10 <sup>a</sup>	46 <sup>cd</sup>	34 <sup>bc</sup>	32 <sup>bc</sup>	67 <sup>e</sup>	56 <sup>de</sup>	25 <sup>ab</sup>	38 <sup>bc</sup>	3.8
SGR <sup>4</sup>	0.14 <sup>a</sup>	0.53 <sup>cd</sup>	0.41 <sup>bc</sup>	0.39 <sup>bc</sup>	0.73 <sup>e</sup>	0.64 <sup>de</sup>	0.32 <sup>b</sup>	0.46 <sup>bc</sup>	0.04
WG-10 <sup>5</sup>	70 <sup>a</sup>	176 <sup>cd</sup>	143 <sup>bc</sup>	130 <sup>bc</sup>	212 <sup>d</sup>	164 <sup>cd</sup>	111 <sup>ab</sup>	164 <sup>cd</sup>	9.6
SUR <sup>6</sup>	83 <sup>ns</sup>	86	86	89	86	81	85	86	0.9

<sup>1</sup> Values are means from triplicate groups of fish where the means in each row with a different superscript are significantly different ( $P<0.05$ ).

<sup>2</sup> Initial (final) mean weight (g/ sea cucumber).

<sup>3</sup> Weight gain (%) = (final weight - initial weight) × 100 / initial weight.

<sup>4</sup> Specific growth rate (%): ( ln final weight - ln initial weight ) / days × 100.

<sup>5</sup> Weight gain (%) of the top 10 sea cucumber.

<sup>6</sup> Survival (%).

<sup>7</sup> Pooled standard error of mean:  $SD/\sqrt{n}$ .

<sup>ns</sup> Not significant.

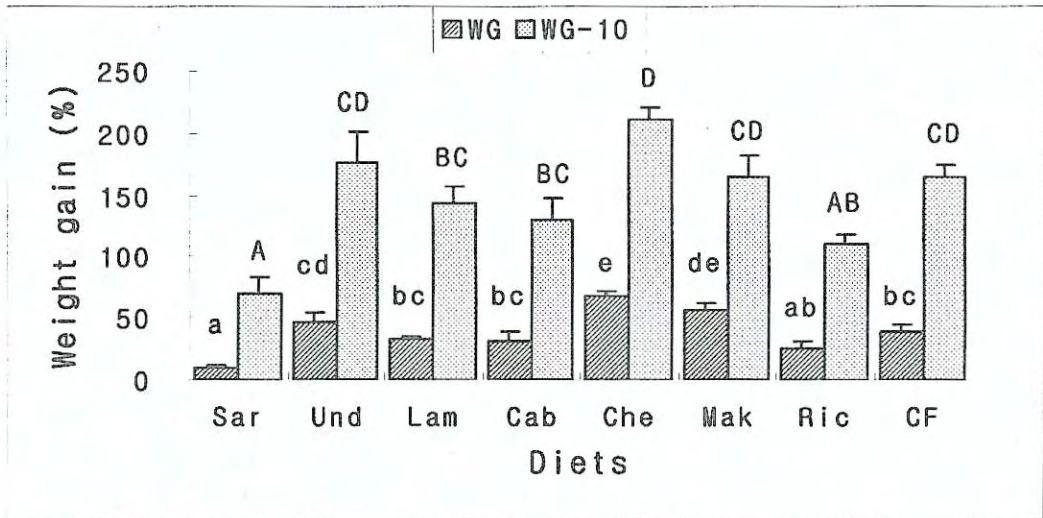


Fig. 1. Weight gain (%) and of weight gain (%) of the top 10 juvenile sea cucumber fed the diets containing different protein and lipid levels for 10 weeks

10주간의 사육실험 종료 후, 어린 해삼의 일반성분 분석결과를 Table 4에 나타내었다. 수분, 조단백질, 조지질 및 회분 함량 실험구간에 유의한 차이를 보이지 않았다( $P>0.05$ ). 모든 실험구에서 수분함량(90.4-91.4%)과 회분함량(2.7-3.1%)은 최초(92.2%, 3.8%)에 비해 감소하였으며, 단백질 함량(2.0-3.5%)은 1.6%였던 최초에 비해 증가하였다.

Table 4. Proximate compositions (%) of whole body in sea cucumber fed the experimental diets containing different *Sargassum thunbergii* levels for 10 weeks<sup>1</sup>

Diets	Moisture	Crude protein	Crude lipid	Ash
Initial	92.2	1.6	0.1	3.8
Sar	90.4±0.07 <sup>ns</sup>	3.5±0.67 <sup>ns</sup>	0.1±0.03 <sup>ns</sup>	2.7±0.39 <sup>ns</sup>
Und	91.2±0.30	2.0±0.44	0.1±0.04	2.8±0.48
Lam	91.0±0.24	2.2±0.35	0.1±0.03	2.7±0.39
Cab	90.7±0.39	3.2±0.48	0.1±0.02	2.7±0.49
Che	91.1±0.19	2.8±0.26	0.1±0.01	3.0±0.47
Mak	91.1±0.19	3.0±0.21	0.1±0.01	3.1±0.42
Ric	90.8±0.05	3.4±0.52	0.2±0.12	3.1±0.40
CF	91.4±0.07	2.9±0.33	0.1±0.02	2.9±0.34

<sup>1</sup> Values are means from triplicate groups of fish where the means in each column with a different superscript are significantly different (P<0.05).

실험사료의 건물, 단백질, 지질, NFE 및 에너지의 외관상 소화율을 Table 5에 나타내었다. 어린 해삼의 건물, 지질, NFE 및 에너지 소화율은 Lam 공급구에서 가장 높았고, Ric 공급구에서 가장 낮게 나타났었다(P<0.05). Lam 공급구의 경우, 건물 소화율은 Cab, Che 및 Mak 공급구와 지질 소화율은 Che 과 Mak 공급구와 그리고 NFE 소화율은 Und, Cab 및 Mak 공급구와 각각 유의한 차이를 보이지 않았다(P>0.05). 단백질 소화율은 Sar 공급구에서 가장 높았고, Ric 공급구에서 가장 낮은 값을 보였으며, Sar과 Lam 공급구간에 유의한 차이는 없었다.

본 연구에서 어린 해삼의 건물 소화율은 벧짚 첨가구(26%)를 제외한 모든 실험구에서 41-50%로 Sun et al. (2004)이 보고한 결과와 유사한 범위였으며, 앞서 수행된 연구결과와도 유사하였다. 해삼은 다른 해산어류들처럼 cellulase

의 활성이 거의 없기 때문에(Yingst, 1976) 다른 원료들에 비해 섬유소를 다량 함유하고 있는 볏짚을 첨가한 실험구의 건물 소화율이 낮았던 것으로 판단된다. 건물 소화율을 비롯한 다른 영양소 및 에너지 소화율에서도 볏짚 첨가구의 소화율이 가장 낮았는데, 이러한 결과 또한 볏짚의 섬유소 함량에 의해 기인된 것으로 보이며, 결국 볏짚 첨가구에서 저조했던 해삼성장에도 영향을 미쳤을 것으로 생각된다.

Table 5. Apparent digestibility coefficients (%) for dry matter, crude protein, lipid, NFE and gross energy of experimental diets in juvenile sea cucumber fed the experimental diets for 10 weeks<sup>1</sup>

Diets	Dry matter	Crude protein	Crude lipid	NFE	Gross energy (kcal/100 g)
Sar	41±1.9 <sup>b</sup>	76±0.8 <sup>d</sup>	97.9±0.09 <sup>b</sup>	49±0.9 <sup>b</sup>	61±1.3 <sup>ab</sup>
Und	42±2.1 <sup>b</sup>	69±0.7 <sup>bc</sup>	98.0±0.09 <sup>bc</sup>	55±1.6 <sup>bc</sup>	63±1.3 <sup>b</sup>
Lam	50±0.6 <sup>c</sup>	74±0.6 <sup>cd</sup>	98.3±0.03 <sup>d</sup>	60±0.8 <sup>c</sup>	70±0.4 <sup>c</sup>
Cab	46±1.5 <sup>bc</sup>	65±0.9 <sup>ab</sup>	97.9±0.10 <sup>b</sup>	56±3.6 <sup>bc</sup>	63±1.0 <sup>b</sup>
Che	44±2.6 <sup>bc</sup>	70±0.7 <sup>bc</sup>	98.3±0.17 <sup>cd</sup>	48±3.8 <sup>b</sup>	61±1.8 <sup>ab</sup>
Mak	44±3.3 <sup>bc</sup>	69±2.6 <sup>bc</sup>	98.3±0.20 <sup>cd</sup>	52±3.3 <sup>bc</sup>	63±2.2 <sup>b</sup>
Ric	26±2.3 <sup>a</sup>	60±3.6 <sup>a</sup>	97.3±0.15 <sup>a</sup>	37±2.0 <sup>a</sup>	57±1.4 <sup>a</sup>

<sup>1</sup> Values are means from triplicate groups of fish where the means in each column with a different superscript are significantly different (P<0.05).

이상의 결과로부터, 배합사료내 청국장과 막걸리 부산물을 지충이 분말대신 10% 첨가하는 것이 어린 해삼의 성장과 사료 이용성을 향상시킬 수 있을 것으로 보인다. 특히, 원료의 단가를 고려할 때, 막걸리 부산물은 경제적인 해삼 배합사료를 제조하는데 있어 효율적인 원료로 사용될 수 있을 것으로 판단된다.

### 3. 어린 해삼의 막걸리 부산물 이용성

#### 가. 서론

앞선 연구들에서 어린 해삼의 영양소(단백질, 지질, 탄수화물 및 비타민) 요구 및 다양한 원료 이용성에 관한 연구들이 수행되었다. 이러한 연구들은 어린 해삼용 배합사료 개발을 위한 경제적인 배합비를 설계하는 데 매우 중요한 자료가 된다.

지충이 분말은 이미 오래전부터 양식현장에서 어린 해삼의 좋은 먹이원료로 사용되어 왔으며, 앞선 연구를 통해서도 그 효능이 밝혀진 바 있다. 그러나, 지충이는 채취하는데 노동력이 많이 소요되며, 채취 후에도 사료 원료로 이용하기 위해서는 높은 수분함량을 제거해 주어야 하기 때문에 건조분말의 가격이 비싸고 해삼을 양성하기 위한 필요량을 충족시키기는 쉽지 않다. 따라서 사료단가를 낮추기 위해서 지충이 분말을 대체할 수 있는 사료원료의 개발이 필요하다. 앞서 수행된 연구에서 막걸리 부산물과 청국장 분말에 대한 어린 해삼의 이용성이 높았으며, 배합사료의 지충이 분말의 부분적인 대체원료로 사용될 수 있다는 결과를 보였다. 두 원료 모두 제조과정은 다르지만 발효산물이라는 공통점을 가진다. 하지만, 막걸리 부산물에 비해 청국장 분말의 경우, 가격이 비싸 다량 첨가될 경우 사료단가가 상승할 수 있으므로 사료원료로서 소량 첨가로 성장개선 효과를 보는 것은 좋지만, 다량 첨가는 적합하지 않을 것으로 보인다. 하지만, 막걸리 부산물은 막걸리 및 탁주 제조공장에서 쌀과 물의 발효과정을 통해 만들어지는 막걸리를 거르고 남겨지는 찌꺼기로서 버려지거나 닭과 돼지 등 가축의 사료로 이용되고 있으며, 단백질과 지질함량이 높고 아미노산 함량이 풍부하게 함유되어 있어 사료원료로 이용성이 높은 원료이다. 이어서 본 연구에서는 어린 해삼 배합사료의 지충이 분말 대체원료로서 막걸리 부산물의 효능을 조사하고, 배합사료에 막걸리 부산물의 적정 첨가함량을 조사하기 위해 수행하였다.

## 나. 재료 및 방법

### 막걸리 부산물

막걸리의 제조 과정은 쌀(전분)을 증기로 찐 다음(술밥) 여기에 누룩곰팡이를 접종하여 전분을 포도당으로 전환(당화)시키는 작업이 선행되며, 여기에 효모를 접종하여 알코올 발효과정을 거치게 된다. 이 때, 막걸리를 걸러내고 남아있는 찌거기는 높은 영양성분(조단백질 44.3%, 조지질 12.2%)을 함유하고 있으며, 버리거나 돼지 등의 가축사료로 이용되고 있다. 본 연구에 사용된 막걸리 부산물은 강원도 강릉 소재의 막걸리 제조공장에서 제공받아 60℃ 건조기에서 건조시킨 후, 분쇄기로 분쇄하여 사료원료로 사용하였다.

### 실험사료

실험사료의 조성은 Table 1에 나타난 것처럼 주요 단백질원으로 대두박을 사용하였으며, 탄수화물원으로 소맥분, 지질원으로 오징어간유와 대두유를 각각 사용하여 모든 실험사료의 영양소 함량이 어린 해삼의 성장에 적합하도록 설계하였다(Seo et al., 2008). 그리고 막걸리 부산물의 이용성을 조사하기 위해 대조사료(M0)의 대두박과 지층이의 함량을 줄이면서, 막걸리 부산물을 10%(M10), 20%(M20), 30%(M30) 및 40%(M40) 첨가하여 대조사료를 포함한 총 5 종류의 실험사료를 제조하였다. 그리고 외견상 영양소 소화율 측정을 위해 지표물질로 산화크롬을 각 사료마다 0.5%씩 첨가하였다. 이와 같이 설계된 실험사료의 원료들을 잘 혼합하고, 소형 펠렛기로 압출성형한 후, 60℃ 건조기에서 건조하였다. 건조된 실험사료는 분말형태(180 mesh)로 분쇄하여 -30℃에서 보관 하면서 필요시 공급하였다. 그리고 상업용 사료를 구입하여 실험사료와 비교실험 하였다.

### 해삼 및 사육관리

경남 남해의 개인 양식장에서 종묘 생산된 어린 해삼을 구입한 후, 대형



콘크리트 수조에 수용하여 상업용 상품사료를 2일 1회 공급하면서 2주간 적응시켰다. 적응기간 동안 어린 해삼에게 2일 1회 상업용 시판사료를 공급해주었다. 사육실험은 총 18개의 사각 수조(50ℓ 사각수조)에 외형적으로 건강한 어린 해삼(평균 체중:  $1.64 \pm 0.02$  g)을 각 수조에 50 마리씩 3반복으로 수용한 후 실험사료를 어린 해삼 체중의 3%씩 1일 1회(17:00 h) 공급하며 12주간 사육하였다. 사육실험 기간동안 수온은  $16.1 \pm 2.47^\circ\text{C}$ , 비중은  $1.025 \pm 0.0003$ 이었으며 각 수조마다 aeration과 함께 여과해수를 1ℓ/min로 조절하여 흘려주었다. 사육기간 중 죽은 개체는 매일 제거하였으며, 이틀에 한 번씩 사이폰으로 수조를 청소해 주었다. 그리고 소화율 측정을 위해 사육실험 종료 2주 전부터 사료 공급 1시간 전 실험수조내의 분을 사이폰으로 수집하였다.

Table 1. Ingredients and proximate composition (%) of the experimental diets

	Diets					
	M0	M10	M20	M30	M40	CF <sup>5</sup>
<i>Ingredients (%)</i>						Closed
Soybean meal	40.0	35.0	30.0	25.0	20.0	
Wheat flour	14.8	20.8	26.8	31.8	36.8	
<i>Sargassum thunbergii</i>	40.0	30.0	20.0	10.0		
Makkolli dreg <sup>1</sup>		10.0	20.0	30.0	40.0	
Squid liver oil	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	
Soybean oil	2.0	1.0				
Vitamin premix <sup>2</sup>	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	
Mineral premix <sup>3</sup>	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	
Choline	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	
Cr <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	
<i>Proximate analysis (% , dry matter basis)</i>						
Crude protein	28.1	29.6	28.6	27.8	26.9	17.2
Crude lipid	3.6	3.4	3.1	4.2	4.5	1.5
Crude fiber	4.7	4.7	2.1	2.7	3.4	6.7
Ash	20.0	15.9	11.9	8.0	3.7	30.2
NFE <sup>4</sup>	48.3	51.1	56.5	60.0	64.8	51.0
Gross energy (kcal/100 g diet)	4.2	4.0	4.2	4.4	4.6	2.8

<sup>1</sup> Produced by Gangneung Makkolli factory, Gangneung, Korea.

<sup>2, 3</sup> Same as Seo et al. (2008).

<sup>4</sup> Nitrogen-free extract 100-(crude protein+crude lipid+ash+crude fiber).

<sup>5</sup> Commercial feed.

#### 시료채취 및 성분분석

최초 성분 분석용으로 어린 해삼 100마리를 sample하였으며, 실험 종료시에는 각 실험수조에 생존한 어린 해삼 모두를 성분분석용으로 sample하여

모든 시료를 -70℃에서 동결 보관하였다. AOAC (1990)의 방법에 따라 조단 백질 (N×6.25)은 Auto Kjeldahl System (Buchi B-324/435/412, Switzerland)를 사용하여 분석하였고, 조지방은 ether를 사용하여 추출하였으며, 수분은 105℃의 dry oven에서 6시간 동안 건조 후 측정하였다. 조회분은 600℃ 회화로에서 4시간 동안 태운 후 정량 하였다. 또한, 조섬유는 Automatic analyzer (Velp Fiwe6, Italia)를 이용하여 분석되었고, 총에너지는 adiabatic bomb calorimeter (Parr, USA)를 이용하여 측정하였다.

Furukawa and Tsukahara (1966)의 방법에 따라 실험사료 및 분의 산화크롬을 분석하였으며, 소화율은 다음의 공식에 의하여 계산되었다.

$$\text{건물 소화율 (\%)} = 100 - (\text{사료중의 } Cr_2O_3 / \text{분중의 } Cr_2O_3) \times 100$$

영양소 및 에너지 소화율 (%)

$$= \left( 1 - \frac{\text{사료중의 } Cr_2O_3}{\text{분중의 } Cr_2O_3} \times \frac{\text{분중의 영양소 또는 에너지}}{\text{사료중의 영양소 또는 에너지}} \right) \times 100$$

통계처리

모든 자료의 통계 처리는 SPSS Version 12 (SPSS, Michigan Avenue, Chicago, IL, USA) program을 사용하여 One-way ANOVA-test를 실시한 후, Duncan's multiple range test (Duncan, 1955)로 평균간의 유의성을 검정하였다.

## 다. 결과 및 고찰

막걸리 부산물이 각각 다른 함량으로 첨가한 5 종류의 실험사료와 상업용 수입사료로 12주간 사육 실험한 결과를 Table 1에 나타내었다. 생존율은 82~91%로 모든 실험구에서 유의적인 차이가 없었다(P>0.05). 증중율과 일간

성장율은 사료내 막걸리 부산물 첨가 함량에 영향을 받았으며( $P<0.05$ ), 막걸리 부산물 10% 첨가구에서 가장 높았고, 40% 첨가구에서 가장 낮은 값을 보였다. 그러나, 막걸리 부산물 무첨가구와 20% 첨가 실험구간에 유의한 차이는 없었다. 사육실험 종료 후, 모든 수조내에서 어린 해삼의 상위 15마리를 대상으로 증중율을 조사한 결과, 전체 증중율과 유사한 경향을 보였으며, 10% 첨가구에서 가장 높았고, 40% 첨가구에서 가장 낮았으나, 10% 첨가구는 무첨가, 20%, 30% 및 수입사료 공급구와 유의한 차이를 보이지 않았다.

Table 2. Survival and growth of juvenile sea cucumber fed the diets containing different Makkolli dreg levels for 12 weeks<sup>1</sup>

Diets	M0	M10	M20	M30	M40	CF
IMW <sup>2</sup>	1.7±0.01 <sup>ns</sup>	1.6±0.01	1.6±0.01	1.6±0.01	1.6±0.01	1.6±0.01
FMW <sup>3</sup>	1.3±0.13 <sup>bc</sup>	1.7±0.01 <sup>c</sup>	1.6±0.19 <sup>bc</sup>	1.3±0.09 <sup>b</sup>	0.8±0.12 <sup>a</sup>	1.3±0.07 <sup>b</sup>
SUR <sup>4</sup>	88±1.12 <sup>ns</sup>	82±3.46	85±5.81	83±5.70	87±3.52	91±1.76
WG <sup>5</sup>	79.8±7.26 <sup>b</sup>	103.6±3.21 <sup>c</sup>	94.8±11.25 <sup>bc</sup>	78.4±5.03 <sup>b</sup>	48.7±6.71 <sup>a</sup>	77.3±5.27 <sup>b</sup>
SGR <sup>6</sup>	0.84±0.06 <sup>b</sup>	1.01±0.02 <sup>c</sup>	0.95±0.08 <sup>bc</sup>	0.83±0.04 <sup>b</sup>	0.56±0.06 <sup>a</sup>	0.82±0.04 <sup>b</sup>
WG-15 <sup>7</sup>	314±20.7 <sup>ab</sup>	337±18.7 <sup>b</sup>	313±12.4 <sup>ab</sup>	308±23.6 <sup>ab</sup>	263±20.9 <sup>a</sup>	297±14.5 <sup>ab</sup>

<sup>1</sup> Values are means from triplicate groups of fish where the means in each row with a different superscript are significantly different ( $P<0.05$ ).

<sup>2</sup> Initial mean weight (g/ sea cucumber).

<sup>3</sup> Final mean weight (g/ sea cucumber).

<sup>4</sup> Survival (%).

<sup>5</sup> Weight gain (%) = (final weight - initial weight) × 100 / initial weight.

<sup>6</sup> Specific growth rate (%): (ln final weight - ln initial weight) / days × 100.

<sup>7</sup> Weight gain (%) of the top 15 sea cucumber.

해삼의 일반성분 분석결과, 수분, 조단백질, 조지질 및 회분 함량은 실험구간에 유의한 차이가 없었다( $P>0.05$ ).

Table 3. Proximate compositions (%) of whole body in sea cucumber fed the experimental diets for 12 weeks<sup>1</sup>

Diets	Moisture	Crude protein	Crude lipid	Ash
Initial	92.0	3.2	0.1	3.7
M0	91.3±0.17 <sup>ns</sup>	2.6±0.03 <sup>ns</sup>	0.05±0.02 <sup>ns</sup>	3.3±0.08 <sup>ns</sup>
M10	91.4±0.06	2.7±0.08	0.02±0.01	3.3±0.11
M20	91.6±0.17	2.6±0.07	0.08±0.04	3.4±0.07
M30	91.7±0.08	2.7±0.08	0.08±0.03	3.3±0.02
M40	91.7±0.17	2.6±0.02	0.18±0.04	3.2±0.06
CF	92.1±0.12	2.4±0.14	0.09±0.07	3.7±0.05

<sup>1</sup> Values are means from triplicate groups of fish where the means in each column with a different superscript are significantly different (P<0.05).

실험사료의 건물, 단백질, 지질, NFE 및 에너지의 외관상 소화율을 Table 3에 나타내었다. 소화율 분석결과, 건물과 NFE 소화율은 사료내 막걸리 부산물의 함량이 증가할수록 증가하는 경향을 보이면서 30%와 40% 첨가구가 0, 10 및 20% 첨가구에 비해 유의하게 높게 나타났다(P<0.05). 단백질, 지질 및 에너지 소화율은 사료내 막걸리 부산물 첨가에 영향을 받지 않았다(P>0.05).

Table 5. Apparent digestibility coefficients (%) for dry matter, crude protein, lipid, NFE and gross energy of experimental diets in juvenile sea cucumber fed the experimental diets for 12 weeks

Diets	Dry matter	Crude protein	Crude lipid	NFE	Gross energy
M0	44±0.9 <sup>a</sup>	79±1.4 <sup>ns</sup>	95±1.4 <sup>ns</sup>	39±0.1 <sup>a</sup>	67±0.1 <sup>ns</sup>
M10	47±0.5 <sup>a</sup>	80±0.2	93±2.3	45±0.8 <sup>b</sup>	66±0.2
M20	46±0.6 <sup>a</sup>	78±1.9	92±3.2	45±1.6 <sup>b</sup>	64±0.8
M30	53±1.1 <sup>b</sup>	79±0.8	95±2.3	54±2.0 <sup>c</sup>	68±1.1
M40	53±1.6 <sup>b</sup>	78±0.2	96±1.4	54±2.0 <sup>c</sup>	67±1.1

<sup>1</sup> Values are means from triplicate groups of fish where the means in each row with a different superscript are significantly different ( $P < 0.05$ ).

이상의 결과로부터, 배합사료내 막걸리 부산물의 첨가는 어린 해삼의 성장을 향상시킬 수 있으며, 적정 첨가함량은 20% 정도로 판단된다.

## 4. 어린 해삼 배합사료에 다양한 부산물 첨가 효과

### 가. 서론

해삼 양식현장에서는 다른 해조류에 비해 수중에서의 부패속도가 느리다는 이유로 유생 및 어린 해삼의 먹이로 지충이를 사용하고 있는데, 종묘생산 초기에는 지충이의 즙을 짜서 공급하다가 육성단계에서는 지충이 분말을 단독으로 급여하거나 다른 원료와 임의로 혼합하여 공급하고 있다. 앞서 수행된 연구에서도 사료에 지충이 분말의 적정 첨가로 어린 해삼의 성장이 향상될 수 있다는 결과를 보였다. 하지만, 지충이 분말만을 공급한 실험구가 실험사료를 공급한 실험구보다 낮은 성장을 보였다. Yuan et al. (2006)은 순수한 지충이 분말을 공급한 실험구는 저조한 성장을 보였으며, 해조류 분말을 해삼에게 단독으로 공급하는 것은 성장 개선을 위해 좋지 않다고 보고한바 있다. 처럼 해조류 분말의 단독 공급이 어린 해삼의 좋은 먹이가 될 수 없으며, 다른 원료들과 혼합하여 배합사료로 공급되어야 그 이용성이 높아질 수 있다

사료는 양식생산 비용 중 50% 이상의 높은 비중을 차지하고 있기 때문에 사료 공급은 양식 경영에 있어 매우 중요한 요인으로서 효율적이고 성공적인 양식을 위해서는 사료비용을 최소한으로 줄이는 것이 중요하다. 해삼의 해조류 이용성이 높긴 하지만, 사료에 다량 첨가할 경우 원료의 높은 단가로 인해 사료단가 또한 상승할 수 있기 때문에 사료비용을 최소화하기 위해서는 값이 싸고 공급이 안정적인 사료원료 개발에 관한 연구가 지속적으로 수행되어야 한다.

값싼 사료 원료로는 식품의 가공 및 이용과정에서 버려지거나 폐기되는 부산물을 들 수 있다. 예를 들어 건강식품으로 선호도가 높은 해산물 중에서, 가식부위를 이용하고 버려지는 오징어 내장, 성게 껍질 및 우렁쉥이 껍질 등과 저서생물의 천적인 불가사리 등이 있다. 오징어 간분은 어류의 난질 개선(Watanabe et al., 1984a, 1984b) 및 성장향상(Lee et al., 1998; Cho et al.,

2005) 등의 효능이 여러 연구들을 통해 증명된 바 있으며, 우렁쉥이 껍질에 의한 무지개 송어의 착색 및 성장 개선(Lee et al., 1994a, 1994b, 1996), 불가사리 추출물에 의한 조피볼락의 면역 증강(Park et al., 2007) 그리고 성게 껍질에 의한 산란계의 난질개선 효과(Kim et al., 2002) 등 이러한 동물성 부산물에 관해 많은 연구들이 수행되어 왔다. 또한, 식물성 부산물로는 기름을 잔 후 얻어지는 깻묵이나 두부 제조과정에서 부산물로 얻어지는 비지 등이 있으며, 이미 어류의 배합사료 원료로 이용가능성이 증명된 바 있다 (Mukhopadhyay and Ray, 1995; Lee et al., 2003b)

따라서 본 연구에서는 배합사료에 동물성 및 식물성 부산물들의 첨가가 어린 해삼의 성장 및 체조성에 미치는 영향을 조사하여, 어린 해삼용 배합사료의 단가를 낮출 수 있는 가능성을 검토하였다.

## 나. 재료 및 방법

### 실험사료

실험사료의 원료로 사용된 다양한 부산물의 일반성분 및 필수아미노산 조성을 Table 1에 나타내었다. Table 2에 나타낸 바와 같이 실험사료는 대두박을 주 단백질원으로 사용하였으며, 탄수화물원으로 소맥분을 사용하였고, 지질원으로 오징어 간유와 대두유를 각각 사용하여 모든 실험사료의 영양소 함량이 어린 해삼의 성장에 적합하도록 총 7종류의 실험사료를 설계하였다(Seo et al., 2008). 다양한 부산물의 첨가효과를 조사하기 위하여 대조사료(CON)의 지층이 함량 대신 오징어 간분(SLP), 불가사리 분말(SST), 성게 껍질분말(SUC), 우렁쉥이 분말(SSQ), 깻묵(SSM) 그리고 비지(SCR)를 20%씩 첨가해 주었다. 그리고 외견상 영양소 소화율 측정을 위하여 실험사료에 지표물질인 산화크롬을 0.5%씩 첨가하였다. 이와 같이 설계된 실험사료의 원료들을 잘 혼합하여 소형 펠렛기로 성형한 후, 분말 형태로 분쇄하여 -30℃에서 보관하면서 필요시 공급하였다. 그리고 수입산 시판사료(CF)를 준비하여 실험사료와 비교실험 하였다.



Table 1. Proximate and amino acids composition (%) of the by-products used to experimental diets

	Test ingredients					
	SLP <sup>1</sup>	SST <sup>2</sup>	SUC <sup>3</sup>	SSQ <sup>4</sup>	SSM <sup>5</sup>	SCR <sup>6</sup>
<i>Proximate analysis (% in dry matter)</i>						
Crude protein	46.3	26.9	8.8	39.4	48.6	19.4
Crude lipid	21.3	2.2	0.1	0.02	6.2	0.4
Ash	6.3	57.0	83.0	20.6	8.0	3.5
Crude fiber	4.2	0.4	0.7	26.0	27.3	18.9
NFE <sup>7</sup>	21.9	13.6	7.4	14.0	9.8	57.8
Gross energy (kcal/100 g)	5.6	2.0	1.0	3.7	5.1	4.7
<i>Essential amino acids (% in protein)</i>						
Arg	7.8	8.7	7.8	7.4	11.2	6.8
His	2.2	1.3	1.8	2.0	2.6	3.0
Ile	5.2	3.7	4.6	5.0	4.5	5.1
Leu	8.4	5.2	7.1	5.0	7.9	9.1
Lys	6.5	5.2	6.6	7.4	2.1	5.9
Met+Cys	2.9	2.5	0.4	6.3	2.0	2.1
Phe+Tyr	8.9	5.7	6.7	10.7	9.9	8.4
Thr	4.6	4.7	5.3	5.8	3.7	5.5
Val	5.6	4.3	5.7	6.0	6.5	6.4

<sup>1</sup> Squid liver powder.

<sup>2</sup> Sea star powder.

<sup>3</sup> Sea urchin tunic powder.

<sup>4</sup> Sea squirt tunic.

<sup>5</sup> Sesame seed meal.

<sup>6</sup> Soybean curd residue.

<sup>7</sup> Nitrogen free extract = 100-(crude protein + crude lipid +crude fiber +ash).

Table 2. Ingredients composition (%) of the experimental diets

Ingredients (%)	Diets							
	CON	SLP	SST	SUC	SSQ	SSM	SCR	CF <sup>8</sup>
								Closed
Soybean meal	33.0	26.0	30.0	35.0	24.0	18.0	33.0	
Wheat flour	18.0	25.8	21.4	15.9	27.0	33.8	18.0	
Squid liver oil	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	
Soybean oil	0.8		0.4	0.9	0.8		0.8	
Vitamin premix <sup>1</sup>	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	
Mineral premix <sup>2</sup>	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	
<i>Sargassum thunbergii</i>	30.0	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0	
<i>Undaria</i>	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	
Makkolli dreg <sup>3</sup>	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0	
Squid liver powder <sup>4</sup>		20						
Sea star powder <sup>5</sup>			20					
Sea urchin tunic <sup>6</sup>				20				
Sea squirt tunic <sup>7</sup>					20			
Sesame seed meal						20		
Soybean cured residue							20	
Choline	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	
Cr <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	

<sup>1, 2</sup> Same as Seo et al. (2008).

<sup>3</sup> Produced by Gangneung Makkolli factory, Gangneung, Korea.

<sup>4</sup> Produced by Dongwoo Industrial Co. Ltd. Pohang, Korea.

<sup>5</sup> *Asterias amurens*.

<sup>6</sup> *Halocynthia roretzi*.

<sup>7</sup> *Strongylocentrotus intermedius*.

<sup>8</sup> Commercial feed.

Table 3. Proximate and essential amino acid composition (%) of the experimental diets

	Diets							
	CON	SLP	SST	SUC	SSQ	SSM	SCR	CF
<i>Proximate analysis (% in dry matter)</i>								
Crude protein	28.1	32.5	29.8	28.1	28.3	29.3	29.1	16.8
Crude lipid	3.1	6.5	3.4	3.2	3.1	4.7	5.0	0.3
Crude fiber	4.2	3.3	3.1	3.8	8.9	6.9	7.0	6.7
Ash	16.3	10.1	20.3	25.5	13.3	9.9	9.6	30.2
NFE	52.4	50.9	46.5	43.1	55.4	56.2	56.3	46.0
Gross energy (kcal/100 g)	4.2	4.8	4.0	3.8	4.3	4.6	4.6	2.8
<i>Essential amino acids (% in protein)</i>								
Arg	7.2	7.4	7.3	6.9	7.8	7.3	6.9	7.5
His	2.3	2.2	2.3	2.3	2.3	2.4	2.4	2.6
Ile	5.3	5.0	5.2	5.1	4.9	5.2	5.2	4.8
Leu	8.8	8.1	8.4	7.7	8.3	8.7	8.6	9.0
Lys	5.2	5.1	5.3	5.6	3.7	5.0	5.5	5.7
Met+Cys	3.2	3.4	3.1	3.6	3.5	3.1	3.0	2.9
Phe+Tyr	8.9	8.5	9.0	9.3	9.3	9.1	8.9	8.5
Thr	4.6	4.6	4.5	4.9	4.2	4.5	4.7	5.1
Val	5.8	5.5	5.7	5.8	5.8	5.8	5.8	6.6

### 해삼 및 사육관리

경남 남해의 개인 양식장에서 종묘 생산된 어린 해삼을 구입하여 대형 콘 크리트 수조에 수용후 상품사료를 1일 1회 공급하면서 2주간 적응시켰다. 사육실험은 총 27개의 수조(50 l 사각수조)에 외형적으로 건강한 어린 해삼 (평균 체중:  $1.6 \pm 0.03$  g)을 각각 50마리씩 3반복으로 수용하였으며, 실험사료

를 어린 해삼 체중의 5%씩 1일 1회(17:00 h) 공급하면서 12주간 사육실험 하였다. 사육실험 기간 동안 수온은  $16.1 \pm 2.47^\circ\text{C}$ , 비중은  $1.025 \pm 0.0003$  이었으며 각 수조마다 aeration과 함께 여과해수를  $1 \ell/\text{min}$ 로 조절하여 흘려주었다. 사육기간 중 죽은 개체는 매일 제거하였으며, 이들에 한 번씩 사이폰으로 수조를 청소해 주었다. 그리고 소화율 측정을 위해 사육실험 종료 2주 전부터 사료 공급전 실험수조내의 분을 사이폰으로 수집하였다.

### 시료채취 및 성분분석

최초 해삼의 성분 분석용으로 100마리를 무작위로 표본 추출하였으며, 실험 종료시에는 각 실험수조에 생존한 모든 개체를 sample하여 화학성분 분석을 위해  $-75^\circ\text{C}$ 에 보관하였다. 실험사료와 전어체의 일반성분은 AOAC (1990)의 방법에 따라 조단백질 ( $\text{N} \times 6.25$ )은 Auto Kjeldahl System (Buchi B-324/435/412, Switzerland)를 사용하여 분석하였고, 조지방은 ether를 사용하여 추출하였으며, 수분은  $105^\circ\text{C}$ 의 dry oven에서 6시간 동안 건조 후 측정하였다. 조회분은  $600^\circ\text{C}$  회화로에서 4시간 동안 태운 후 정량 하였다. 또한, 조섬유는 Automatic analyzer (Velp Fiwe6, Italia)를 이용하여 분석되었고, 조회분은  $600^\circ\text{C}$ 의 회화로에서 4 시간 동안 태운 후 정량하였다. 총에너지는 adiabatic bomb calorimeter (Parr, USA)를 이용하여 측정하였다. 그리고 실험사료와 원료의 아미노산 분석은 아미노산전용분석기(L-8800, Hitachi), Column : Ion exchange, Injection Pump : Pressure 0-19.6Mpa, Flow Rate 0.05-0.99 ml/min, Column Oven : Electrothermal cooling ( $30-70^\circ\text{C}$ ), Reaction Unit : Reaction Column( $135^\circ\text{C}$ ,  $50^\circ\text{C}$ ), Photometer : Wavelength 570 nm, 440 nm)를 사용하여 정량분석 하였다.

Furukawa and Tsukahara (1966)의 방법에 따라 실험사료 및 분의 산화크롬을 분석하였으며, 소화율은 다음의 공식에 의하여 계산되었다.

$$\text{건물 소화율 (\%)} = 100 - (\text{사료중의 } Cr_2O_3 / \text{분중의 } Cr_2O_3) \times 100$$

영양소 및 에너지 소화율 (%)

$$= \left( 1 - \frac{\text{사료중의 } Cr_2O_3}{\text{분중의 } Cr_2O_3} \times \frac{\text{분중의 영양소 또는 에너지}}{\text{사료중의 영양소 또는 에너지}} \right) \times 100$$

통계처리

결과의 통계 처리는 SPSS Version 12 (SPSS, Michigan Avenue, Chicago, IL, USA) program을 사용하여 One-way ANOVA-test를 실시한 후, Duncan's multiple range test (Duncan, 1955)로 평균간의 유의성을 검정하였다.

#### 다. 결과 및 고찰

평균체중 1.6 g의 어린 해삼을 12주 동안 사육실험 한 결과를 Table 4에 나타내었다. 사육실험 종료 후, 생존율은 83% 이상으로 모든 실험구에서 유의적인 차이가 없었다( $P>0.05$ ). 해삼의 증중율과 일간성장율은 SLP 공급구에서 가장 높은 값을 보였고, CF 공급 가장 낮았으며( $P<0.05$ ). SCR과 CF 공급구간에 유의한 차이는 없었다( $P>0.05$ ). 그리고 SLP 공급구의 일간성장율은 SSQ 공급구간과 유의한 차이를 보이지 않았다. 사육실험 종료 후, 모든 실험구내에 생존한 어린 해삼의 개체별 무게와 길이가 다양하게 나타났으며, 이러한 현상을 고려하여 상위 15마리의 증중율을 별도로 조사하였다(Table 4). 상위 15마리 해삼의 증중율은 SLP와 SSQ 공급구에서 가장 양호하게 나타났으며, 이 값은 SST 공급구와 유의한 차이가 없었다. 이 값들은 CF 공급구를 제외하고 모든 해삼을 측정된 증중율에 비해 약 2배 이상이었다.

Table 4. Initial average weight, survival and weight gain of juvenile sea cucumber fed the experimental diets 12 weeks<sup>1</sup>

Diets	Initial mean weight (g)	Final mean weight (g)	Survival (%)	Weight gain (%)	Specific growth rate (%)	WG-15 <sup>2</sup>
CON	1.6±0.02 <sup>ns</sup>	3.7±0.16 <sup>cd</sup>	88±3.1 <sup>ns</sup>	125±7.7 <sup>c</sup>	1.15±0.05 <sup>b</sup>	310±22.1 <sup>cd</sup>
SLP	1.6±0.01	5.0±0.06 <sup>f</sup>	83±3.7	203±1.2 <sup>e</sup>	1.58±0.01 <sup>d</sup>	394±4.7 <sup>e</sup>
SST	1.6±0.02	4.2±0.25 <sup>de</sup>	89±0.7	158±15.0 <sup>d</sup>	1.35±0.08 <sup>c</sup>	343±31.5 <sup>de</sup>
SUC	1.6±0.02	3.6±0.24 <sup>bc</sup>	85±0.7	120±12.5 <sup>bc</sup>	1.12±0.09 <sup>b</sup>	262±7.4 <sup>bc</sup>
SSQ	1.6±0.02	4.4±0.24 <sup>e</sup>	88±1.2	171±13.9 <sup>d</sup>	1.42±0.07 <sup>cd</sup>	387±34.0 <sup>e</sup>
SSM	1.6±0.02	3.7±0.12 <sup>cd</sup>	89±0.7	126±7.4 <sup>c</sup>	1.16±0.05 <sup>b</sup>	296±22.7 <sup>bc</sup>
SCR	1.6±0.02	3.1±0.02 <sup>ab</sup>	86±1.3	94±2.9 <sup>ab</sup>	0.95±0.02 <sup>a</sup>	233±14.0 <sup>ab</sup>
CF	1.6±0.02	2.9±0.06 <sup>a</sup>	91±1.8	77±2.8 <sup>a</sup>	0.81±0.02 <sup>a</sup>	196±9.8 <sup>a</sup>

<sup>1</sup> Values are means from triplicate groups of fish where the means in each column with a different superscript are significantly different (P<0.05).

<sup>2</sup> Weight gain (%) of the top 15 sea cucumber.

해삼의 일반성분 분석결과를 Table 5에 나타내었다. 수분, 조단백질, 조지질 및 회분 함량은 실험구간에 유의한 차이가 없었다(P>0.05).

Table 5. Proximate compositions (%) of whole body in sea cucumber fed the experimental diets for 12 weeks<sup>1</sup>

Diets	Moisture	Crude protein	Crude lipid	Ash
Initial	92.0	3.2	0.1	3.7
CON	92.0±0.22 <sup>ns</sup>	2.6±0.06 <sup>ns</sup>	0.09±0.04 <sup>ns</sup>	3.5±3.32 <sup>ns</sup>
SLP	92.4±0.19	2.4±0.03	0.13±0.07	3.4±3.19
SST	91.9±0.03	2.7±0.09	0.29±0.18	3.5±3.25
SUC	91.3±0.37	2.8±0.06	0.30±0.12	3.6±3.36
SSQ	91.9±0.15	2.5±0.05	0.36±0.13	3.4±3.05
SSM	91.5±0.24	2.6±0.03	0.17±0.08	3.4±3.19
SCR	92.4±0.41	2.7±0.12	0.12±0.09	3.5±3.25
CF	92.1±0.12	2.4±0.14	0.09±0.07	3.7±3.43

<sup>1</sup> Values are means from triplicate groups of fish where the means in each column with a different superscript are significantly different (P<0.05).

실험사료의 건물, 단백질, 지질, NFE 및 에너지의 외관상 소화율을 Table 6에 나타내었다. SCR을 공급한 어린 해삼의 건물 소화율이 가장 높은 값을 보였고, SLP을 공급한 어린 해삼의 소화율이 가장 낮게 나타났다(P<0.05). 그러나 SCR 공급구의 건물 소화율은 SST, SUC, SSQ 및 SSM 공급구와 유의한 차이를 보이지 않았다(P>0.05). 단백질 소화율은 CON, SLP, SST, SUC 및 SCR 공급구의 단백질 소화율은 SSQ와 SSM 공급구 보다 유의하게 높았다. 지질 소화율은 SLP 공급구에서 가장 높았고, SUC 공급구에서 가장 낮은 값을 보였으며, SLP와 SSQ, SSM 및 SCR 공급구간에 유의한 차이는 없었다(P>0.05). 에너지 소화율은 SUC와 SCR 공급구에서 높은 값을 보였으며, SLP와 SSM 공급구에서 낮게 나타났다.

Table 6. Apparent digestibility coefficients (%) for dry matter, crude protein, lipid, NFE and gross energy of experimental diets in juvenile sea cucumber fed the experimental for 12 weeks<sup>1</sup>

Diets	Dry matter	Crude protein	Crude lipid	Nitrogen free extract	Gross energy
CON	42±2.7 <sup>ab</sup>	80±0.8 <sup>b</sup>	89±2.5 <sup>ab</sup>	39±1.7 <sup>ab</sup>	64±1.3 <sup>ab</sup>
SLP	40±2.8 <sup>a</sup>	80±0.1 <sup>b</sup>	96±1.2 <sup>c</sup>	31±1.7 <sup>a</sup>	63±1.9 <sup>a</sup>
SST	46±3.7 <sup>abc</sup>	85±1.3 <sup>b</sup>	90±1.8 <sup>abc</sup>	38±4.6 <sup>ab</sup>	69±2.2 <sup>bc</sup>
SUC	49±2.0 <sup>bc</sup>	85±1.3 <sup>b</sup>	84±3.0 <sup>a</sup>	42±2.5 <sup>b</sup>	74±1.0 <sup>c</sup>
SSQ	47±1.4 <sup>abc</sup>	72±1.6 <sup>a</sup>	92±1.7 <sup>bc</sup>	46±2.8 <sup>bc</sup>	64±1.5 <sup>ab</sup>
SSM	47±0.9 <sup>abc</sup>	71±2.9 <sup>a</sup>	92±2.4 <sup>bc</sup>	44±2.0 <sup>bc</sup>	63±1.4 <sup>a</sup>
SCR	53±2.2 <sup>c</sup>	84±2.3 <sup>b</sup>	95±1.6 <sup>bc</sup>	52±3.5 <sup>c</sup>	73±2.4 <sup>c</sup>

<sup>1</sup> Values are means from triplicate groups of fish where the means in each column with a different superscript are significantly different ( $P<0.05$ ).

이상의 결과로 볼 때, 어린 해삼의 배합사료에 비지를 제외한 모든 부산물은 지층이 분말의 20% 대체원으로 사용하여도 좋을 것으로 보이며, 그 중에서 오징어 간분 첨가는 어린 해삼의 성장을 향상시키는 데 가장 좋은 원료가 될 수 있을 것으로 판단된다.



## 제 4 절 어린 해삼 배합사료의 품질 향상을 위한 연구

### 1. 어린 해삼 배합사료에 막걸리 부산물, 불가사리, 우렁쉥이 껍질, 감초, 개펄, 크릴 및 청국장 첨가 효과

#### 가. 서론

지금까지 어린 해삼의 영양소 요구량 및 원료의 이용성에 관한 연구들을 통해 적정 배합사료 조성비가 연구되었다. 하지만 그 조성비를 계속 개선하여 양식 대상종의 성장 및 품질을 개선시키기 위한 연구들은 양식 산업의 발전 및 경쟁력 향상을 위하여 계속 이어져야 할 것이다. 그리고 양식 대상종의 성장을 증진시키거나 어체의 품질을 개선시키는 성장 인자를 구명하는 것은 어렵지만, 먹이 식성 등을 고려하여 유인 효과가 있는 물질이나 성장개선 효과가 있을 것으로 생각되는 원료를 첨가하여 성장, 사료효율 및 어체의 품질을 개선하려는 연구들이 어류를 대상으로 꾸준히 수행되어 왔으며(Hirano and Suyama, 1983; Lee et al., 2000), 또한 어류의 생리적인 기능 강화를 위한 각종 첨가제의 효능이 조사되고 있다(Nagakawa and Kasahara 1986; Satoh et al., 1987).

사료 첨가제의 효능은 어종이나 사료조성 및 사료품질 등에 따라서 다를 수 있으므로(Lindsay et al., 1984; Kono et al., 1987; Shiao and Yu, 1999), 첨가제 사용시에는 반드시 이에 대한 고려가 있어야 한다. 즉, 품질이 우수하고 양식 대상종이 요구하는 영양소나 물질이 충분히 함유된 사료에 첨가제의 사용은 예상했던 만큼 그 효능을 발휘하지 못할 수 있다(Lee et al., 2000). 또한, 효능이 있다고 해서 첨가제의 농도를 적정 함량 이상 사용하는 것은 첨가제의 종류에 따라서 오히려 부작용이 나타날 수도 있으며(Shiao and Yu, 1999), 그에 따른 경제적인 불이익을 초래할 것이다. 따라서 양식 대상종의

성장, 품질 및 생리 상태를 향상시킬 수 있는 첨가제의 효능은 첨가제 종류 및 첨가범위에 따른 생리적인 변화 등을 고려하면서 연구되어야 할 것이다.

그래서 본 연구에서는 기존에 수행된 해삼의 영양소 이용성에 관한 연구 결과들을 토대로 배합사료를 설계하여 첨가제로서 막걸리 부산물, 불가사리 분말, 우렁쉥이 껍질분, 감초분, 갯펄, 크릴분 및 청국장 분말이 어린 해삼의 성장 및 체조성에 미치는 영향을 조사하기 위해 수행하였다.

## 나. 재료 및 방법

### 실험사료

Table 1에 나타낸 바와 같이, 실험사료의 주 단백질원으로 대두박을, 탄수화물원으로 소맥분을 사용하였으며, 지질원으로 기존에 사용하였던 오징어 간유와 대두유 대신 오징어 간분을 모든 사료에 10%씩 첨가하여 실험사료의 영양소 함량이 어린 해삼의 성장에 적합하도록 설계하였다(Seo et al., 2008). 막걸리 부산물(Mak), 불가사리 분말(Sst), 우렁쉥이 껍질분(Ssq), 감초분(Lic), 갯펄(Mud), 크릴분(Kri) 및 청국장 분말(Che)의 첨가효과를 조사하기 위하여 대조사료(Con)의 소맥분 대신 이들 원료들을 각각 5%씩 첨가하여 총 8종류의 실험사료를 설정하였다(Table 1). 그리고 외견상 영양소 소화율 측정을 위하여 실험사료에 지표물질인 산화크롬을 0.5%씩 첨가하였다. 이와 같이 설계된 실험사료의 원료들을 잘 혼합하여 소형 펠렛기로 성형한 후, 분말 형태로 분쇄하여 -30℃에서 보관하면서 필요시 공급하였다. 그리고 상업용 수입사료(CF)를 준비하여 실험사료와 비교실험 하였다.

Table 1. Ingredients and proximate composition of the experimental diets

Ingredients (%)	Diets								
	Con	Mak	Sst	Ssq	Lic	Mud	Kri	Che	CF <sup>1</sup>
Soybean meal	42.0	42.0	42.0	42.0	42.0	42.0	42.0	42.0	Closed
Wheat flour	25.5	20.5	20.5	20.5	20.5	20.5	20.5	20.5	
Vitamin premix <sup>2</sup>	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	
Mineral premix <sup>3</sup>	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	
<i>Sargassum thunbergii</i>	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0	
<i>Undaria</i>	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0	
Makkolli dreg <sup>4</sup>		5.0							
Squid liver powder <sup>5</sup>	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0	
Sea star			5.0						
Sea squirt tunic				5.0					
Licorice <sup>6</sup>					5.0				
Mud <sup>7</sup>						5.0			
Krill meal <sup>6</sup>							5.0		
Chenggukjang								5.0	
Cr <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	
<i>Nutrient contents (% , dry matter basis)</i>									
Crude protein (%)	32.4	32.6	33.0	34.0	33.1	31.4	35.8	34.7	16.8
Crude lipid (%)	3.6	3.6	3.1	2.7	2.6	3.2	3.3	3.3	0.3
Ash (%)	11.2	11.7	13.6	13.2	11.0	16.3	11.7	11.6	30.2
NFE (%) <sup>8</sup>	52.8	52.1	50.3	50.1	53.3	49.1	49.2	49.6	46.0
Gross energy (cal/100 g diet)	4.2	4.3	3.5	4.2	4.2	4.0	4.3	4.3	2.8

<sup>1</sup> Commercial feed.

<sup>2, 3</sup> Same as Seo et al. (2008).

<sup>4</sup> Produced by Gangneung Makkolli factory, Gangneung, Korea.

<sup>5</sup> Produced by Dongwoo Industrial Co. Ltd. Pohang, Korea.

<sup>6</sup> Provided by Fisheries Co-op Feeds Co., Ltd. Gyeongsangnam province, Korea.

<sup>7</sup> Namhae, Gyeongsangnam province, Korea.

<sup>8</sup> Nitrogen-free extract 100-(crude protein+crude lipid+ash).

## 해삼 및 사육관리

어린 해삼을 강원 강릉의 개인 양식장에서 구입하여 대형 콘크리트 수조에 수용 후 상업용 수입사료를 1일 1회 공급하면서 2주간 적응시켰다. 사육실험은 총 27개의 수조(50ℓ 사각수조)에 외형적으로 건강한 어린 해삼(평균 체중:  $2.0 \pm 0.06$  g)을 각각 50마리씩 3반복으로 수용하였으며, 실험사료를 어린 해삼 체중의 1.5%씩 1일 1회(17:00 h) 공급하면서 8주간 사육실험 하였다. 사육실험 기간 동안 수온은  $13.0 \pm 2.14$  °C, 비중은  $1.025 \pm 0.001$  이었으며 각 수조마다 aeration과 함께 여과해수를 1ℓ/min로 조절하여 흘려주었다. 사육기간 중 죽은 개체는 매일 제거하였으며, 이틀에 한 번씩 사이폰으로 수조를 청소해 주었다. 그리고 소화율 측정을 위해 사육실험 종료 2주 전부터 사료 공급 전 실험수조내의 분을 사이폰으로 수집하였다.

## 샘플 채취 및 성분분석

최초 해삼의 성분 분석용으로 50마리를 무작위로 표본 추출하였으며, 실험 종료시에는 각 실험수조에 생존한 모든 개체를 sample하여 화학성분 분석을 위해 -75°C에 동결 보관하였다. 실험사료와 전어체의 일반성분은 AOAC (1990)의 방법에 따라 조단백질(N $\times$ 6.25)은 Auto Kjeldahl System (Buchi B-324/435/412, Switzerland)를 사용하여 분석하였고, 조지방은 ether를 사용하여 추출하였으며, 수분은 105°C의 dry oven에서 6시간 동안 건조 후 측정하였다. 조회분은 600°C 회화로에서 4시간 동안 태운 후 정량 하였다. 또한, 조섬유는 Automatic analyzer (Velp Fiwe6, Italia)를 이용하여 분석되었고, 조회분은 600°C의 회화로에서 4 시간 동안 태운 후 정량하였다. 총에너지는 adiabatic bomb calorimeter (Parr, USA)를 이용하여 측정하였다.

## 통계처리

결과의 통계 처리는 SPSS Version 12 (SPSS, Michigan Avenue, Chicago, IL, USA) program을 사용하여 One-way ANOVA-test를 실시한 후,

Duncan's multiple range test (Duncan, 1955)로 평균간의 유의성을 검정하였다.

#### 다. 결과 및 고찰

8주간의 사육 실험 결과는 Table 2에 표시한 것과 같으며, 생존율은 모든 실험구에서 84% 이상으로 유의한 차이가 없었다( $P>0.05$ ). 증중율과 일간성장율은 모든 실험사료 공급구에서 유의한 차이가 없었으나, 불가사리 분말, 우렁쉥이 껍질분, 감초 및 크릴분 첨가구는 대조구보다 수치상으로 높게 나타났으며, 수입사료 공급구에서 가장 낮았다( $P<0.05$ ). 사육실험 종료 후, 모든 실험구내에 생존한 어린 해삼의 개체별 무게와 길이가 다양하게 나타났으며, 이러한 현상을 고려하여 최초 수용하였던 해삼 50마리의 30%인 상위 15마리의 증중율을 별도로 조사하였다(Table 1). 실험사료를 공급한 상위 15마리 해삼의 증중율은 우렁쉥이 껍질 분말 첨가구에서 가장 높았으며, 수입사료 공급구에서 가장 낮은값을 보였다. 이 값들은 모든 해삼에 대한 증중율에 비해 약 4배의 값을 보였다.

Table 2. Survival and weight gain of juvenile sea cucumber fed the experimental diets for 8 weeks<sup>1</sup>

Diets	Initial average weight (g)	Final average weight (g)	Survival (%)	Weight gain (%)	Specific growth rate (%)	15-Weight gain (%)
Con	2.0±0.01 <sup>ns</sup>	3.4±0.07 <sup>ab</sup>	89±2.4 <sup>ns</sup>	68±3.1 <sup>ab</sup>	0.74±0.03 <sup>ab</sup>	267±10.9 <sup>bcd</sup>
Mak	2.0±0.01	3.4±0.19 <sup>ab</sup>	88±1.2	66±8.4 <sup>ab</sup>	0.72±0.07 <sup>ab</sup>	250±8.2 <sup>b</sup>
Sst	2.0±0.05	3.6±0.10 <sup>b</sup>	87±2.4	78±0.8 <sup>b</sup>	0.82±0.01 <sup>b</sup>	290±14.5 <sup>cd</sup>
Ssq	2.0±0.03	3.5±0.11 <sup>b</sup>	87±1.3	80±4.3 <sup>b</sup>	0.84±0.03 <sup>b</sup>	302±7.7 <sup>d</sup>
Lic	2.0±0.01	3.6±0.06 <sup>b</sup>	87±1.8	75±2.0 <sup>b</sup>	0.80±0.02 <sup>b</sup>	286±11.5 <sup>bcd</sup>
Mud	2.0±0.04	3.4±0.09 <sup>ab</sup>	86±1.2	68±7.4 <sup>ab</sup>	0.74±0.06 <sup>ab</sup>	255±5.3 <sup>bc</sup>
Kri	2.0±0.04	3.4±0.14 <sup>ab</sup>	84±2.3	71±6.6 <sup>ab</sup>	0.76±0.06 <sup>ab</sup>	277±14.7 <sup>bcd</sup>
Che	2.0±0.05	3.4±0.19 <sup>ab</sup>	87±0.7	66±8.6 <sup>ab</sup>	0.72±0.08 <sup>ab</sup>	255±11.5 <sup>bc</sup>
CF	2.0±0.03	3.0±0.17 <sup>a</sup>	84±2.0	52±11.2 <sup>a</sup>	0.59±0.10 <sup>a</sup>	213±13.2 <sup>a</sup>

<sup>1</sup> Values are means from triplicate groups of fish where the means in each column with a different superscript are significantly different (P<0.05).

<sup>2</sup> Weight gain (%) of the top 15 sea cucumber.

해삼의 일반성분 분석결과를 Table 5에 나타내었다. 수분, 조단백질, 조지질 및 회분 함량은 실험구간에 유의한 차이가 없었다(P>0.05).

Table 3. Proximate compositions (%) of whole body in sea cucumber fed the experimental diets for 8 weeks<sup>1</sup>

Diets	Moisture	Crude protein	Crude lipid	Ash
Initial	91.9	3.1	0.1	3.8
Con	91.0±0.26 <sup>ns</sup>	2.9±0.18 <sup>ns</sup>	0.15±0.04 <sup>ns</sup>	3.4±0.10 <sup>ns</sup>
Mak	91.1±0.24	3.1±0.11	0.09±0.02	3.3±0.05
Sst	91.7±0.05	3.0±0.10	0.05±0.03	3.3±0.05
Ssq	91.4±0.47	3.3±0.19	0.14±0.09	3.4± 0.06
Lic	92.2±0.14	2.8±0.21	0.28±0.24	3.3±0.09
Mud	91.5±0.50	3.2±0.08	0.30±0.26	3.3±0.19
Kri	91.3±0.39	3.3±0.24	0.38±0.29	3.3±0.15
Che	91.0±0.34	3.3±0.20	0.07±0.02	3.3±0.10
CF	92.6±1.45	2.9±0.16	0.03±0.01	3.5±0.19

<sup>1</sup> Values are means from triplicate groups of fish where the means in each column with a different superscript are significantly different (P<0.05).

실험사료의 건물, 단백질, 지질, NFE 및 에너지의 외관상 소화율을 Table 4에 나타내었다. 어린 해삼의 건물 소화율은 막걸리, 우렁쉥이 및 개펄을 첨가한 실험구에서 유의차 없이 높은 값을 보였고, 불가사리, 감초, 크릴 및 청국장 첨가구가 낮은 값을 보였다(P<0.05). 단백질과 지질 소화율은 실험구간에 유의한 차이를 보이지 않았으나(P>0.05), NFE 소화율은 막걸리 첨가구에서 가장 높았고 청국장 첨가구에서 가장 낮았으나, 막걸리 첨가구는 대조구, 우렁쉥이, 감초 및 개펄 첨가구와 유의한 차이를 보이지 않았다. 에너지 소화율은 불가사리 첨가구에서 가장 낮은 값을 보였으며(P<0.05), 그 외 실험구간에 유의한 차이 없이 양호하였다.

Table 4. Apparent digestibility coefficients (%) for dry matter, crude protein, lipid, NFE and gross energy of experimental diets in juvenile sea cucumber fed the experimental for 8 weeks<sup>1</sup>

Diets	Dry matter	Crude protein	Crude lipid	Nitrogen free extract	Gross energy
Con	33±1.5 <sup>ab</sup>	80±0.8 <sup>ns</sup>	87±1.5 <sup>ns</sup>	41±0.8 <sup>abcd</sup>	66±0.5 <sup>b</sup>
Mak	41±4.1 <sup>c</sup>	80±2.7	90±2.6	47±1.4 <sup>d</sup>	69±2.9 <sup>b</sup>
Sst	30±1.2 <sup>a</sup>	78±1.8	87±2.6	34±0.7 <sup>ab</sup>	58±0.8 <sup>a</sup>
Ssq	42±1.6 <sup>c</sup>	80±2.4	94±2.4	44±2.1 <sup>cd</sup>	71±1.3 <sup>b</sup>
Lic	32±1.8 <sup>a</sup>	78±2.3	90±4.4	40±2.9 <sup>abcd</sup>	66±2.2 <sup>b</sup>
Mud	40±1.9 <sup>bc</sup>	81±1.2	89±4.4	42±2.0 <sup>bcd</sup>	69±0.8 <sup>b</sup>
Kri	31±3.9 <sup>a</sup>	79±2.1	89±1.3	37±4.7 <sup>abc</sup>	68±2.0 <sup>b</sup>
Che	32±2.1 <sup>a</sup>	80±1.0	95±1.8	32±4.6 <sup>a</sup>	69±1.2 <sup>b</sup>

<sup>1</sup> Values are means from triplicate groups of fish where the means in each column with a different superscript are significantly different ( $P < 0.05$ ).

이상의 결과로 보아, 배합사료에 우렁쉥이 껍질, 불가사리, 감초 첨가는 어린 해삼의 성장을 개선시키는데 도움이 될 것으로 기대된다. 그리고 영양소의 이용성을 고려한다면, 소화율 분석에서 양호한 결과를 보인 우렁쉥이 껍질이 어린 해삼 배합사료의 좋은 첨가제로 사용될 수 있을 것으로 판단된다. 또한, 본 연구에서 사용된 모든 실험 배합사료가 수입사료에 비해 성장효과가 좋았는데 이것은 수입사료를 충분히 대체 가능하다는 것을 보여주는 결과이며, 해삼 양식에 있어 어린 해삼의 배합사료로 사용되어도 손색이 없을 것으로 판단된다.



## 제 5 절 배합사료 실용화 및 사육조건

### 1. 어린 해삼 사육수조 내 쉼터와 모래의 효과

#### 가. 서론

해삼은 종묘생산 후, 10~20일 정도의 부유유생기를 거쳐 펜타쿨라 유생으로 변태하면서 처음으로 부착생활을 하게 된다(Smiley et al., 1991). 이 때, 해삼 유생은 구강의 관족을 이용하여 부착기질에 부착하게 되는데, 해삼 양어자들은 부착기질로 평판 또는 골판과 같은 채묘기를 사용하여 초기 유생을 관리한다. 초기 유생관리 이후에는 성장하면서 중간육성 단계부터 생활 은신처 또는 부착 기질의 역할을 하는 쉼터나 나일론 망사 등을 수조에 넣어준다. 그 뿐 아니라 해삼 양식 현장에서는 부착기질을 넣어줌으로써 수조내에서 해삼의 부착 표면적을 넓혀 고밀도에서 해삼을 육성할 수 있다. 그리고 자연에서 해삼은 모래나 펄을 섭취하여 그 속에 함유된 유기물을 섭취하기 때문에 육상양식에 있어 사료 공급시에 사료가 바닥에 가라앉더라도 해삼의 먹이 습성으로 비추어볼 때, 더 효율적인 사료섭취가 가능할 것이다.

본 연구는 어린 해삼의 사육수조내 부착기질(쉼터) 및 바닥재(모래)의 존재 유무가 어린 해삼의 성장 및 체조성에 미치는 영향을 조사하기 위해 수행하였다.

#### 나. 재료 및 방법

##### 해삼 및 사육관리

전남 완도의 해삼 종묘생산 업체(카스코)로부터 어린 해삼을 구입한 후, 대형 콘크리트 수조에 수용하여 상업용 시판사료를 2일 1회 공급하면서 2주간 적응시켰다. 사육수조내 부착기질(쉼터) 및 바닥재(모래)의 존재 유무에 대한

효과를 조사하기 위해 사육수조에 쉘터와 모래를 넣지 않거나(Con) 쉘터(Shelter)와 모래(Sand)를 각각 넣어주어 사육수조의 조건을 달리하였다(Fig 1). 사육실험은 총 9개의 실험 수조(50ℓ 사각수조)에 평균체중 3.6 g의 어린 해삼을 10 마리씩 3반복으로 수용하여 상업용 수입사료(CP 16.8%, CL 0.3%)를 어린 해삼 체중의 5%씩 2일 1회(16:30 h) 공급하며 8주간 사육실험 하였다. 사육실험 기간 동안 수온은  $15.8 \pm 2.38^\circ\text{C}$ , 비중은  $1.025 \pm 0.0002$  이었으며 각 수조마다 aeration과 함께 여과해수를 1ℓ/min로 조절하여 흘려주었다. 사육기간 중 죽은 개체는 매일 제거하였으며, 이들에 한 번씩 사이폰으로 수조를 청소해 주었다.

#### 시료채취 및 성분분석

최초 성분 분석용으로 최초 어린 해삼 10마리를 sample하였으며, 실험 종료시에는 각 실험수조에 생존한 어린 해삼 모두를 성분분석용으로 sample하여 모든 시료를  $-70^\circ\text{C}$ 에서 동결 보관하였다. AOAC (1990)의 방법에 따라 실험사료 및 해삼의 조단백질 (N×6.25)은 Auto Kjeldahl System (Buchi B-324/435/412, Switzerland)를 사용하여 분석하였고, 조지방은 ether를 사용하여 추출하였으며, 수분은  $105^\circ\text{C}$ 의 dry oven에서 6시간 동안 건조 후 측정하였다. 조회분은  $600^\circ\text{C}$  회화로에서 4시간 동안 태운 후 정량 하였다. 또한, 조섬유는 Automatic analyzer (Velp Fiwe6, Italia)를 이용하여 분석되었고, 총에너지는 adiabatic bomb calorimeter (Parr, USA)를 이용하여 측정하였다.

#### 통계처리

결과의 통계 처리는 SPSS Version 12 (SPSS, Michigan Avenue, Chicago, IL, USA) program을 사용하여 One-way ANOVA-test를 실시한 후, Duncan's multiple range test (Duncan, 1955)로 평균간의 유의성을 검정하였다.

#### 다. 결과 및 고찰

사육수조의 조건을 달리하여 8주간 사육실험 한 결과를 Table 1에 나타내었다. 생존율은 80~83%로 실험구간에 유의한 차이가 없었다. 증중율과 일간 성장율은 사육조건에 영향을 받아, 수조 바닥에 모래를 넣어준 실험구에서 가장 좋았고, shelter와 모래를 넣어주지 않은 대조구에서 가장 낮은 값을 보였다. 이러한 결과는 모래에 의한 해삼의 사료섭취가 더 효율적이었기 때문으로 보인다. 해삼은 모래나 썩을 섭취하면서 그 속에 존재하는 유기물을 함께 섭취하여 성장이나 에너지원으로 이용한다. 본 연구에서 결과를 나타내지 않았지만, 실제 자연산 해삼을 잡아서 장 내용물을 조사해보니 모래와 함께 해조류 찌꺼기 또는 플랑크톤이 발견되었다. 또한, shelter를 넣어준 실험구가 아무것도 넣어주지 않은 대조구에 비해 성장률이 양호하였던 것은 shelter가 해삼의 은신처 역할을 하여 빛이나 외부 환경 등에 의한 스트레스를 더 적게 받았기 때문으로 생각된다. Nelson and Vance (1979)는 대부분의 극피동물이 포식자로부터 자신을 보호하기 위해 야행성 습성을 지닌다고 보고하였으며, Mercier et al. (1999)은 어린 해삼의 일일 은신주기를 조사한 결과, 어린 해삼은 빛이 있을 때는 은신하다가 먹이섭취를 위해 야간에 활동한다고 보고하였다.

Table 1. Initial average weight, survival and weight gain of juvenile sea cucumber fed the commercial feed at different rearing condition levels for 8 weeks<sup>1</sup>

Diets	IMW <sup>2</sup>	FMW <sup>2</sup>	SUR (%) <sup>3</sup>	WG (%) <sup>4</sup>	SGR (%) <sup>5</sup>
Con	3.6±0.06 <sup>ns</sup>	3.8±0.09 <sup>a</sup>	80±0.1 <sup>ns</sup>	8.9±2.65 <sup>a</sup>	0.12±0.35 <sup>a</sup>
Sand	3.6±0.07	4.5±0.15 <sup>b</sup>	83±3.3	63.8±5.77 <sup>c</sup>	0.70±0.49 <sup>c</sup>
Shelter	3.7±0.06	4.5±0.19 <sup>b</sup>	80±5.8	41.3±2.66 <sup>b</sup>	0.49±0.27 <sup>b</sup>

<sup>1</sup> Values are means from triplicate groups of fish where the means in each column with a different superscript are significantly different (P<0.05).

<sup>2</sup> Initial (final) mean weight (g/ sea cucumber).

<sup>3</sup> Survival (%).

<sup>4</sup> Weight gain (%) = (final weight - initial weight) × 100 / initial weight.

<sup>5</sup> Specific growth rate (%): ( ln final weight - ln initial weight ) / days × 100.

Table 2에 나타낸바와 같이, 해삼의 일반성분 분석결과, 수분함량은 실험구 간에 유의한 차이가 없었다. 그러나 단백질과 지질 함량은 대조구에서 가장 높게 나타났으며, 회분 함량은 모래구에서 가장 높은 값을 보였다. 모래 실험구에서 해삼의 회분함량이 다른 실험구에 높게 나타난 것은 해삼이 사료를 섭취할 때, 모래와 함께 섭취를 하였기 때문에 해삼 내장에 배출되지 않은 여분의 모래에 영향을 받았을 수 있다.

Table 2. Proximate compositions (%) of whole body in sea cucumber fed the commercial feed at different rearing condition levels for 8 weeks<sup>1</sup>

Diets	Moisture	Crude protein	Crude lipid	Ash
Initial	92.2	1.6	0.1	3.8
Con	90.5±0.21 <sup>ns</sup>	3.1±0.2 <sup>c</sup>	0.2±0.01 <sup>b</sup>	3.8±0.11 <sup>a</sup>
Sand	88.7±0.67	2.4±0.22 <sup>a</sup>	0.1±0.03 <sup>a</sup>	6.2±0.72 <sup>b</sup>
Shelter	89.9±0.94	2.8±0.11 <sup>ab</sup>	0.1±0.03 <sup>a</sup>	3.5±0.97 <sup>a</sup>

<sup>1</sup> Values are means from triplicate groups of fish where the means in each column with a different superscript are significantly different (P<0.05).

이상의 결과로 보아, 어린 해삼의 육성용 수조에 shelter와 모래를 넣어주는 것이 좋을 것으로 판단된다. 그리고 수조에 shelter와 모래를 함께 넣어준 실험구를 설정하진 않았지만, 두 가지의 조건을 갖춘다면 더 효율적인 먹이 섭취 및 성장을 향상시킬 수 있을 것으로 생각되며, 향후 이에대한 실험이 수행되어야 하겠다.

## 2. 대형수조 사육실험

### 가. 서론

앞 실험들에서 50 L 규모의 소형수조에서의 반복 사육실험을 통해서 실험 배합사료에 대한 우수성을 보이면서 상업용 수입사료를 대체할 수 있음을 증명하였다. 하지만, 해삼을 양식하는 양어가들은 실험적 규모에서 얻어진 결과로 실제 양식현장에 적용하는데 불신감을 가질 수 있으며, 사용을 꺼리기 때문에 해삼 양식 현장규모 또는 현장규모에 가까운 조건에서의 사육실험을 통해 배합사료의 검증이 필요하다. 그래서 본 연구는 해삼 배합사료에 대한 기존 연구결과들을 토대로 사료조성을 보완하여 설계한 배합사료와 수입사료를 기존에 사용된 수조보다 큰 1톤 규모의 수조를 이용하여 비교실험 하였다.

### 나. 재료 및 방법

본 실험에 사용된 해삼은 강원도 강릉의 개인 양식장에서 구입하였으며, 사육실험 전 2주 동안 대형 콘크리트 수조에 수용하여 수입 시판사료를 2일 1회 공급하면서 적응시켰다. 앞서 수행된 연구들은 50 ℓ의 규모에서 수행하였으나, 본 연구는 실험배합사료의 실용화 가능성을 증명하기 위해 약 1톤 규모의 대형수조에서 수행하였다. 평균체중 3.0 g의 어린 해삼을 수용하여 자체 제조한 3종류의 실험사료(Table 1)와 수입 시판사료(CP 16.8%, CL 0.3%)를 어린 해삼 체중의 1.5%씩 2일 1회(17:00 h) 공급하며 8주간 사육실험 하였다. 사육실험 기간 동안 수온은  $13.3 \pm 2.11^{\circ}\text{C}$ , 비중은  $1.025 \pm 0.0002$  이었으며 각 수조마다 aeration과 함께 여과해수를 10 ℓ/min로 조절하여 흘려주었다. 사육기간 중 죽은 개체는 매일 제거하였으며, 일주일에 1회 사이폰으로 수조를 청소해 주었다.

Table 1. Ingredients and proximate composition of the experimental diets

Ingredients (%)	Diets			
	D1	D2	D3	CF <sup>1</sup>
Soybean meal	42.0	42.0	42.0	Closed
Wheat flour	26.0	21.0	21.0	
Vitamin premix <sup>2</sup>	1.0	1.0	1.0	
Mineral premix <sup>3</sup>	1.0	1.0	1.0	
<i>Sargassum thunbergii</i>	10.0	10.0	10.0	
<i>Undaria</i>	10.0	10.0	10.0	
Makkolli dreg <sup>4</sup>		5.0		
Squid liver powder <sup>5</sup>	10.0	10.0	10.0	
Sea star			5.0	
Nutrient content (% , dry matter basis)				
Crude protein (%)	32.4	32.6	33.0	16.8
Crude lipid (%)	3.6	3.6	3.1	0.3
NFE (%) <sup>6</sup>	11.2	11.7	13.6	30.2
Ash (%)	52.8	52.1	50.3	46.0
Gross energy (cal/100 g diet)	4.2	4.3	3.5	2.8

<sup>1</sup> Commercial feed.

<sup>2, 3</sup> Same as Seo et al. (2008).

<sup>4</sup> Produced by Gangneung Makkolli factory, Gangneung, Korea.

<sup>5</sup> Produced by Dongwoo Industrial Co. Ltd. Pohang, Korea.

<sup>6</sup> Nitrogen-free extract 100-(crude protein+crude lipid+ash+crude fiber).

## 다. 결과 및 고찰

1톤 규모의 사육수조에서 9주간 사육실험 한 결과를 Table 2에 나타내었다. 생존율은 모든 실험구에서 65%-69%로 나타났으며, CF (69%), D1 (68%), D3(67%), D2(65%) 순이었다. 증중율과 일간성장율은 모든 실험구에서 23.4%-63.4%로 나타났으며, D2 공급구에서 63.2%로 가장 높았고, CF 공급구에서 23.4%로 가장 낮았다. 실험사료를 공급한 실험구가 상업용 수입사료를 공급한 실험구에 비해 20% 이상 높았으며, 상위 30% 해삼(120 개체)의 증중율을 또한 상업용 시판사료를 공급한 실험구에 비해 실험사료를 공급한 모든 실험구에서 높은 값을 보였다.

Table 2. Initial average weight, survival and weight gain of juvenile sea cucumber fed the experimental diets at large tank (1 ton) for 9 weeks<sup>1</sup>

Diets	Initial average weight (g)	Final average weight (g)	Survival (%)	Weight gain (%)	Specific growth rate (%)	120-weight gain (%)
D1	3.0	4.22	68	42.9	0.51	123
D2	2.9	4.66	65	63.4	0.70	141
D3	3.1	4.48	67	46.9	0.55	120
CF	3.0	3.64	69	23.4	0.30	97

<sup>1</sup> Values are means from triplicate groups of fish where the means in each column with a different superscript are significantly different ( $P < 0.05$ ).

해삼의 일반성분 분석결과를 Table 3에 나타내었다. 수분함량은 89.9%~90.2%, 단백질함량은 3.3~4.0%, 지질함량은 0.1%~0.7% 그리고 회분함량은 3.4~3.7%의 범위를 보였다.



Table 3. Proximate compositions (%) of whole body in juvenile sea cucumber fed the experimental diets at large tank (1 ton) for 9 weeks

Diets	Moisture	Crude protein	Crude lipid	Ash
Initial	91.9	3.1	0.1	3.8
D1	90.2	3.5	0.1	3.4
D2	89.9	4.0	0.4	3.7
D3	90.9	3.3	0.7	3.4
D4	90.1	3.6	0.6	3.4

이러한 결과들은 본 실험에 사용된 실험사료들은 상업용 수입사료를 충분히 대체할 수 있다는 것을 보이며, 실험사료 중에서도 D2를 공급하는 것이 어린 해삼의 최대 성장을 위해 적절할 것으로 판단된다.

## <해삼 배합사료의 경제성 평가>

3년간에 걸쳐 거듭된 연구를 통해 제조된 실험 배합사료의 경제적 효과를 평가하기 위해 해삼을 1 kg 증육시키는데 필요한 사료비용을 조사하였다. 이때, 시판사료와 해조류 분말을 함께 설정하여 비교평가 하였다.

우선, 해삼의 먹이섭취 특성상, 먹이를 먹는 시간이 오래 걸리고 분말형태로 사료를 공급해야 하기 때문에 수중에서 유실되는 사료량을 정확히 측정하기가 어려워 사료효율을 구하기가 쉽지 않다. 이러한 이유로 본 연구에서는 사육실험 전 예비실험을 통해 적정 사료공급량을 조사하여 사료 공급 후, 수조에 사료가 남아있지 않도록 어린 해삼 체중의 3%로 공급량을 설정하였으며, 4주간의 중간 측정시마다 해삼 무게에 따라 사료 공급량을 변경해 주었다. 실험 종료 후 각 수조마다 수중 유실량을 제외한 어린 해삼의 사료섭취량을 조사하였고, 이 값을 사료효율을 구하는데 사용하였다.

사료 단가 및 사료 판매가격으로 표시된 값들은 어느 특정 시기에 구입되는 단가를 기준으로 적용하였으며, 그 중에서 실험에 사용된 다양한 부산물은 실제 분말로 가공되어 시판되지 않기 때문에 가공비용을 감안하여 100원/kg diet이라는 단가를 적용하였다. 그리고 혼합된 원료들의 단가에서 인건비, 가공비, 운송비 및 순이익 등의 기타비용을 더하여 사료의 최종 단가가 산출될 수 있다. 하지만, 원료 단가 이외에 적용되는 추가비용에 대한 산출이 어려워 이 비용을 500원으로 자체책정 한 후, 원료 단가와 더하여 실험 배합사료의 최종 사료단가가 산출된 것임을 밝혀둔다. 그리고 이러한 계산 값들은 사육시기, 생산지, 사료종류, 사료 가공 방법, 시세, 사육환경 등의 주변 요인들에 따라 다소 차이가 있을 수 있기 때문에 참고자료로 사용하되 적용시 분명히 차이가 있을 수 있음 또한 인지하고 적용하여야 한다.

Table 1은 제 3 장 4절의 4번째 연구에서 사용된 실험사료와 수입사료 사료의 효능을 보여주기 위해 해삼을 1 kg 증육시키는데 소요되는 사료비를 표시한 것이다. 수입사료는 배합된 원료의 성분조성을 정확히는 모르지만, 향

과 색깔 등으로 비추어 볼 때 해조류 분말이 다량 첨가된 것으로 추측되며, 판매가격이 3,500원/ kg으로 999~1260원/ kg 전후로 나타난 실험 배합사료 단가에 비해 매우 비싼 가격임을 알 수 있다. 그리고 해조류 분말(지층이 분말)의 경우, 현재 시판되고 있는 미역과 다시마의 단가를 기준으로 50:50의 비율로 혼합한다는 가정으로 약 1,300원/ kg 정도였으며, 실험 배합사료에 비해 다소 높거나 유사하였다. 또한, 해삼을 1 kg 증육시키는데 필요한 사료 비용에 있어 배합사료는 1334원에서 3986원으로 사료에 따라 다양하게 나타났으며, 수입사료는 10254원이었고 해조류 분말은 2430원이었다.

Table 1. 체중 1.6 g 어린 해삼 육성용으로 배합사료, 시판사료 및 해조류 분말의 경제적 효과 비교 (3개월)

Diets	Feed price <sup>a</sup> (won/kg feed, DM)	Feed efficiency (G×100 /feed intake, DM)	Production cost / kg sea cucumber	Relative cost
CON	1260	51	2452	100
SLP	1174	82	1439	59
SST	1017	76	1334	54
SUC	1021	45	2251	92
SSQ	1010	71	1424	58
SSM	1005	43	2320	95
SCR	999	25	3986	163
CF	3500	34	10254	418
Algae	1300	54 <sup>b</sup>	2430	99

<sup>a</sup> 사료원료 원가에서 기타 비용(가공비, 인건비 및 운송비 등)으로 500원/kg diet을 추가적용.

<sup>b</sup> 모든 실험사료의 사료효율 평균값.

이처럼 시판사료를 공급할 경우, 해삼 생산을 위해 소요되는 비용이 실험 배합사료의 평균단가를 기준으로 약 3배 정도의 사료비가 추가로 소비된다는 것을 알 수 있다. 따라서 어린 해삼시기에 자체 제조한 배합사료를 공급하는 것은 양식생산 비용에 있어 경제적인 효과를 기대할 수 있을 것이다.

## <종합 요약 및 결론>

최근 해삼 양식에 대한 관심이 증가하면서 종묘생산 및 양식기술에 대해서는 많은 연구를 통해 확립되어 왔으나, 양식 생산비용의 50% 이상을 차지하는 배합사료 개발에 관한 연구가 전무한 실정이라 해삼 육성용 먹이로 해조류 분말이나 상업용 수입사료를 사용하고 있다. 해조류나 상업용 수입사료의 문제점이 분석되면서 배합사료를 처음으로 공급하는 어린 해삼에 적합한 배합사료의 개발 필요성을 인지하였다. 기존의 타 어패류를 대상으로 연구된 어종별 배합사료의 필수영양소 균형을 검토함으로서 기초적인 표준배합사료를 설계하였다. 이를 기초로 하여 어린 해삼에 적합한 배합사료 개발을 위한 연구들을 3년간에 걸쳐 체계적으로 수행하였다.

연구결과들을 요약해 보면, 우선, 어린 해삼의 영양소 요구량과 균형을 조사함으로서 고효율 배합사료를 설계하는데 기초자료를 제공하였으며, 이러한 기초적인 정보를 바탕으로 영양소의 균형을 고려하면서 어린 해삼이 최대 이용할 수 있는 값싼 원료를 선택하고 그 이용성을 조사하여 경제적이고 고품질의 배합사료를 설계하였으며, 이와 동시에 어린 해삼이 섭취한 배합사료의 영양소 소화율이 조사됨에 따라 실용사료의 원료선정을 위한 정보제공과 환경친화적인 배합사료 설계의 가능성을 제시하였다. 또한, 값비싼 원료에 대한 선정된 원료의 대체효과 및 성장효과에 관한 연구를 통해 보다 경제적인 배합사료를 설계할 수 있었으며, 배합사료의 품질 개선을 위해 다양한 첨가제의 이용성을 조사하였다. 이처럼 영양 요구 및 균형, 원료 이용성, 소화율, 첨가제 등의 거듭된 연구 결과들을 활용하여 어린 해삼의 실용적인 배합사료를 설계할 수 있었으며, 제조된 배합사료의 효능을 검증하기 위해 해조류와 상업용 수입사료와 반복된 비교실험을 통해 배합사료의 우수성을 증명하였다. 소형 실험수조 및 대형수조에서 사육실험을 수행하여 개발된 배합사료의 현장적용 가능성이 있음을 보여주었다. 지금까지의 연구결과를 바탕으로 제조한 배합사료는 해조류 분말과 상업용 수입사료에 해삼의 성장이 결코 뒤지

지 않는다는 것을 반복적인 실험을 통해 증명되었으며, 배합사료로 현재 양어가들이 공급하고 있는 해조류 분말이나 상업용 수입사료를 충분히 대체할 수 있을 것으로 판단된다.

제조된 배합사료를 경제적인 측면에서 수입사료와 비교하여 보면, 수입사료의 성분조성을 정확히 알 수는 없지만, 해조류 분말이 다량 첨가된 것으로 보이며 판매가격이 3,500원/kg diet으로 개발된 배합사료에 비해 가격이 매우 비싸다는 것을 알 수 있다. 따라서 어린 해삼시기에 배합사료를 공급하는 것은 양식생산 비용에 있어서도 경제적인 효과를 기대할 수 있을 것이다.

이상의 결과들을 통해 어린 해삼 배합사료를 제조하는데 제안 또는 참고될 수 있는 배합사료의 원료조성에 대한 것을 요약하면 다음과 같다.

① 어린 해삼 배합사료의 단백질원으로 동물성 원료보다는 식물성 원료의 사용이 바람직하며, 그 중에서 저렴하고 쉽게 구할 수 있는 대두박을 사용하는 것이 좋을 것으로 생각된다.

② 해삼의 지질 이용성이 매우 낮음을 고려할 때, 지질함량이 높은 원료 첨가는 좋지 않으며, 본 실험에서 사용된 오징어 간분은 사료의 필수지방산의 최소량을 충족시켜줄 수 있어 어린 해삼의 성장 향상에도 도움이 될 수 있을 것으로 생각된다.

③ 탄수화물원으로 값싼 소맥분이 양호할 것으로 보인다. 다만, 어린 해삼의 사료섭취 특성 등을 감안하여 제조될 사료가 수조바닥에 점착되어 사료섭취가 감소되고 시간이 지나면 수중에서 사료의 부패현상이 현상이 발생할 수 있으므로, 20% 이내로 첨가하는 등의 방법으로 사료의 점착성을 감안하여야 할 것이다.

④ 어린 해삼의 효율적인 성장을 위해서는 지층이 분말과 함께 오징어 간분과 막걸리 부산물을 첨가해 주는 것이 좋으며, 사료의 단가, 원료의 구입 및 어린 해삼의 영양소 요구량(단백질 및 지질) 등을 고려하여 각각의 원료를 10% 전후로 첨가해주면 좋을 것으로 생각된다.

⑤ 불가사리, 우렁쉥이 껍질 및 성게 껍질은 어린 해삼의 성장을 향상시키

고 사료단가를 줄일 수 있는 중요한 부산물로 지층이 분말과 함께 사용될 수 있을 것으로 생각되며, 영양소의 균형을 고려하여 20% 이내로 첨가해 주는 것이 좋을 것으로 보인다.

⑥ 해삼의 사료섭취 특성 등을 고려하여 사료의 형태 및 물성의 가공 공학적인 기술과 사료 공급횟수 및 공급량의 사육환경 및 사육기법을 접목시킬 수 있는 상호적인 효과에 대한 연구가 꾸준히 수행되어야 할 것이다.

위의 제안 사항들은 해삼의 사육조건(수온, 수질 및 밀도 등), 건강상태 그리고 개체 차이 등에 따라서 달라질 수 있음을 참고하여 해삼 양식을 위한 사료제조에 응용하여야 할 것이다.

# 제 4 장 연구개발 목표달성도 및 관련분야에의 기여도

## 1. 목표달성도

구 분	목 표	당초 목표 대비 연구 내용 및 결과	달성도 (%)
1차 년도 (2005년)	해삼 배합사료의 필수영양소 요구 및 균형	- 수입 해삼사료 문제점 분석	100
		- 관련의 연구결과 검색	100
		- 해삼 배합사료의 필수영양소 요구 및 균형 : 단백질, 지질, 탄수화물 및 비타민	100
		- 원료별 이용성 : 단백질, 지질 및 탄수화물 원료	100
		- 표준 배합사료 설계	100
		- 원료 구입 및 가공	100
		- 화학성분 분석	100
2차 년도 (2006년)	경제적 배합 사료 설계 및 제조	- 고효율 배합사료 설계를 위한 연구 : 고효율 원료 선택 및 이용성 연구, 소화율 측정	100
		- 사육 시스템에 따른 사료공급	90
		- 사료 형태 및 물성*	50
		- 수입 시판사료와의 비교실험	100
		- 화학성분 분석	100
3차 년도 (2007년)	배합사료 실용화를 위한 연구	- 경제적 배합 사료 설계 및 제조	100
		- 현장 적용 사료 이용 분석	90
		- 배합사료 품질향상을 위한 연구	100
		- 수입사료 및 배합사료 비교실험	100
		- 경제성 분석	100

\* 표준 배합사료를 설계하여 pellet, crumble 및 powder의 형태로 가공하여 공급하였으나, powder 사료를 제외한 두 실험구에서의 사료 섭취가 이루어 지지 않았음.

## 2. 관련분야 기여도

### 가. 기술적 측면

- 해삼용 배합사료가 개발되어 보급되면 사료회사에서는 보다 질 좋은 실용 배합사료를 개발하기 위해 노력할 것이고, 양어가들은 경제적이고 고품질의 배합사료를 사용할 수 있어 미래 지향적이고 환경친화적인 양식산업이 형성 될 수 있을 것이다.
- 또한, 연구자들에게 배합사료개발 방향을 제시할 수 있어 연구자들의 연구 의욕이 고취될 뿐 아니라 기업에서는 적극적으로 배합사료의 품질 향상에 연구 투자하여 배합사료의 품질 향상에 관심을 가질 수 있을 것이다.

### 나. 경제 · 산업적 측면

- 경제적인 해삼용 배합사료가 개발되어 보급되면, 기존의 수입사료를 대체 함으로서 외화 낭비를 줄일 수 있어 국가경쟁력 재고된다.
- 또한 배합사료가 개발 보급되면, 배합사료 공급에 따른 안정적인 양식해삼 생산량 예측이 가능해져 수요와 공급을 조절 할 수 있다.
- 해삼의 성장에 적합한 배합사료가 개발되어 공급되면, 해삼의 성장, 사료효율, 생존율의 향상으로 양식의 생산성이 증대되고, 양식경영비의 절반 이상 되는 사료비의 절감이 가능해져 양식업계 뿐 아니라 양어용 사료산업(단미사료, 배합사료회사, 양식 system 등 관련 산업)이 활성화되어 국가 경쟁력이 향상되어 수입 개방화에 적극적인 대처에 이바지 할 수 있을 것이다.



## 제 5 장 연구개발결과의 활용계획

- 어린 해삼용 배합사료의 조성 및 제조기술을 민간기업에 이전하고, 이와 동시에 배합사료의 우수성을 양어가에게 홍보하여 배합사료를 사용할 수 있도록 적극 유도하며, 이와 동시에 개발된 배합사료의 품질을 계속 향상시킬 수 있도록 한다.
- 사료 업계에서 배합사료를 제조할 수 있도록 정보를 제공하고, 배합사료의 품질을 보증할 수 있도록 하여 양어가들의 배합사료에 대한 신뢰성을 높일 수 있도록 한다.
- 연구결과를 간담회 및 학회 발표 등을 통하여 양식업계에 제공하여 배합사료의 신뢰성을 높인다.

여 백

## 제 6 장      참고문헌

- Abimorad, E.G. and D.J. Carneiro, 2007. Digestibility and performance of pacu (*Piaractus mesopotamicus*) juveniles-fed diets containing different protein, lipid and carbohydrate levels. *Aquacult. Nutr.*, 13, 1-9.
- Agrawal, N.K. and C.L. Mahajan, 1980. Hematological changes due to vitamin C deficiency in *Channa punctatus* Bloch. *J. Nutr.*, 110, 2172-2181.
- Ahlgren, M., 1998. Consumption and assimilation of salmon net pen fouling debris by the red sea cucumber, *Parastichopus californicus*: implications for polyculture. *J. World Aquacult. Soc.*, 29, 133-139.
- Aksnes, A., 1995. Growth feed efficiency and quality of salmon (*Salmo salar*) given feeds with different ratios of carbohydrate and protein. *Aquacult. Nut.*, 1, 241-248.
- Al-Amoudi, M.M., A.M.N. El-Nakkadi and B.M. El-Nouman, 1992. Evaluation of optimum dietary requirement of vitamin C for the growth of *Oreochromis spilurus* fingerlings in water from the Red Sea. *Aquaculture*, 105, 165-173.
- Amezaga, M.R. and D. Knox, 1990. Riboflavin requirements in ongrowing rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Aquaculture*, 88, 87-98.
- Anbarasu, K. and M.R. Chandran, 2001. Effects of ascorbic acid on the immune response of the catfish, *Mystus gulio* (Hamilton), to different bacterins of *Aeromonas hydrophila*. *Fish Shellfish Immunol.*, 11, 347-355.
- Anderson, J.S., A.J. Jackson, A.K. Matty and B.S. Capper, 1984. Effects of dietary carbohydrate and fiber on the tilapia, (*Oreochromis niloticus*). *Aquaculture*, 37, 303-314.
- Andrews, J.W. and J.W. Page, 1974. Growth factors in the fishmeal

- component of catfish diets. *J. Nutr.*, 104, 1091-1096.
- AOAC., 1990. *Official Methods of Analysis*. 15th edition. Association of Official Analytical Chemists. Arlington, Virginia. 1298 pp.
- AOAC., 2000. *Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists*, 16th edition. Association of Official Analytical Chemists, Inc., Arlington, VA.
- Arai, S., T. Nose and Y. Hashimoto, 1972. Qualitative requirements of young eels, *Anguilla japonica*, for water soluble vitamins and their deficiency symptoms. *Bull. Freshwater Res. Lab. Tokyo*, 22, 69-83.
- Ashida, T. and E. Okimasu, 2005. Immunostimulatory effects of fermented vegetable product on the non-specific immunity of Japanese flounder *Paralichthys olivaceus*. *Fish. Sci.*, 71, 257-262.
- Ashida, T., E. Okimasu and A. Amemura, 2002. Effects of a fermented vegetable product on hemolysis and lipid peroxidation of Japanese flounder erythrocytes. *Fish. Sci.*, 68, 1324-1329.
- Ashida, T., Y. Takei, M. Takagaki, Y. Matsuura and E. Okimasu, 2006. The dietary effects of a fermented vegetable product on glutathione peroxidase activity and lipid peroxidation of Japanese flounder *Paralichthys olivaceus*. *Fish. Sci.*, 72, 179-184.
- Austic R.E., and M.L. Scott, 1991. Nutritional diseases, In: Calnek BW, Barries JH, Beard CW (Eds), *Diseases of poultry*, 9th ed, Iowa State University Press, pp. 45-71.
- Bai, S.C. and K.J. Lee, 1998. Different levels of dietary DL- $\alpha$ -tocopheryl acetate affect the vitamin E status of juvenile Korean rockfish, *Sebastes schlegeli*. *Aquaculture*, 161, 405-414.
- Bai, S.C. and K.W. Kim, 1997. Effects of dietary animal protein sources on growth and body composition in Korean Rockfish, *Sebastes schlegeli*. *J. Aquacult.*, 10, 77-85.

- Bai, S.C. and D.M. Gatlin III, 1993. Dietary vitamin E concentration and duration of feeding affect tissue  $\alpha$ -tocopherol concentrations of channel catfish, *Ictalurus punctatus*. *Aquaculture*, 113, 129-135.
- Battaglione, S.C., E.J. Seymour and C. Ramofafia, 1999. Survival and growth of cultured juvenile sea cucumbers *Holothuria scabra*. *Aquaculture*, 178, 293 - 322.
- Bell, G.R., D.A. Higgs and G.S. Traxler, 1984. The effect of dietary ascorbate, zinc, and manganese on the development of experimentally induced bacterial kidney disease in sockeye salmon (*Onchorhynchus nerka*). *Aquaculture*, 36, 293-311.
- Caceres-Martinez, C., M. Cadena-Roa and R. Metailler, 1984. Nutritional requirements of turbot (*scophthalmus maximus*): I.A preliminary study of protein and lipid utilization. *J. World Maric. Soc.*, 15, 191-202.
- Castell, J.D., R.O. Sinnhuber, D.J. Lee and J.H. Wales, 1972b. Essential fatty acids in the diet of rainbow trout (*Salmo gairdneri*): physiological symptoms of EFA deficiency. *J. Nutr.*, 102, 87-92.
- Castell, J.D., R.O. Sinnhuber, J.H. Wales and D.J. Lee, 1972a. Essential fatty acids in the diet of rainbow trout (*Salmo gairdneri*): growth, feed conversion and some gross deficiency symptoms. *J. Nutr.*, 102, 77-86.
- Chaiyeapechara, S., M.T. Casten, R.W. Hardy and F.M. Dong, 2003. Fish performance, fillet characteristics, and health assessment index of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, fed diets containing adequate and high concentrations of lipid and vitamin E. *Aquaculture*, 219, 715-738.
- Chen, J., 2004. Present status and prospects of sea cucumber industry in China. (in) A. Lovatelli, C. Conand, S. Purcell, S. Uthicke, J.F. Hamel and A. Mercier (eds.), *Advances in Sea Cucumber Aquaculture and Management*. FAO, Rome, Italy, pp. 25-38.

- Cho, C. Y. and S. J. Kaushik, 1990. Nutritional energetics in fish energy and protein utilization in rainbow trout (*Salmo gairdneri*). World Rev. Nutr. Diet., 61, 132-172.
- Cho, C.Y. and C.B. Cowey, 1993. Utilization of monophosphate esters of ascorbic acid by rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). In: Kaushik, S.J., Luquet, P. (Eds.), Fish Nutrition in Practice, Biarritz (France), Les Colloques, vol. 61. INRA, Paris, pp. 149-156.
- Cho, C.Y. and S.J. Slinger, 1979. Apparent digestibility measurement in feed stuffs for rainbow trout. In: Halver, J.H., Tiews, K. (Eds.), Finfish Nutrition and Fishfeed Technology, vol. 2. Heenemann, Berlin, Germany, pp. 239-247.
- Cho, S.H., S. Lee, S. Lee, B. Park, I. Park, C.Y. Choi, B.H. Min, S. Hur and J. Jo, 2005. Effect of partial replacement of fish meal with squid liver meal<sup>TM</sup> in the diet on growth and body composition of juvenile olive flounder (*Paralichthys livaceus*) during winter season. J. Fish. Sci. Technol., 8, 65-69.
- Choe, S., 1963. Study of Sea Cucumber: Morphology, Ecology and Propagation of Sea Cucumber. Kaibundo Publishing House, Tokyo, Japan, p. 219.
- Choi, S.M., X.J. Wang, G.J. Park, S.R. Lim, K.W. Kim, S.C. Bai and I.S. Shin, 2004. Dietary dehulled soybean meal as a replacement for fish meal in fingerling and growing olive flounder *Paralichthys olivaceus* (Temminck et Schlegel). Aquacult. Res. 35, 410-418.
- Choi, S.Y., S.-Y. Kim, J.-M. Hur, J.-H. Shin H.-G. Choi and N.-H. Sung, 2006. a study on the physicochemical properties of the *Sargassum thunbergii*. Korean J. Food and Nutr., 19, 8-13.
- Chung T.K. and D.H. Baker, 1990. Riboflavin requirement of chicks fed purified amino acid and conventional corn-soybean meal diets. Poult

Sci., 69, 1357-1363

- Conand, C., 2004. Present status of world sea cucumber resources and utilization: an international overview. (in) A. Lovatelli, C. Conand, S. Purcell, S. Uthicke, J.F. Hamel and A. Mercier (eds.), *Advances in Sea Cucumber Aquaculture and Management*. FAO, Rome, Italy, pp. 13-23.
- Cowey, C.B., J.W. Adron, and A. Youngson. 1983. The vitamin E requirement of rainbow trout, *Salmo gairdneri*, given diets containing polyunsaturated fatty acids derived from fishoil. *Aquaculture*, 30, 85-93.
- Cowey, C.B., J.W. Adron, M.J. Walton, J. Murray, A. Youngson, and D. Knox. 1981. Tissue distribution, uptake, and requirement for a -tocopherol of rainbow trout, *Salmo gairdneri*, fed diets with a minimal content of unsaturated fatty acids. *J. Nutr.*, 111, 1556-1567.
- Cowey, C.B., J. Adron, A. Blair and A.M. ShanksA. 1974. Studies on the nutrition of marine flatfish. Utilization of various dietary proteins by plaice (*Pleuronectes platessa*). *Br. J. Nutr.*, 31: 297-306.
- Dabrowska, H. and T. Wojno, 1977. Studies on the utilization by rainbow trout (*Salmo gairdneri* Rich.) of feed mixture containing soy bean meal and an addition of amino acid. *Aquaculture*, 10, 297-310.
- Dabrowski, K. and A. Ciereszko, 2001. Ascorbic acid and reproduction in fish: endocrine regulation and gamete quality. *Aquacult. Res.*, 32, 1-19.
- Dabrowski, K. and B. Kozak, 1979. The use of fish meal as a protein source in the diet of grass carp fry. *Aquaculture*, 18, 107-114.
- Dabrowski, K., G. Kock, M. Frigg and W. Wieser, 1990. Requirement and utilization of ascorbic acid and ascorbate sulfate in juvenile rainbow trout. *Aquaculture*, 91, 317- 337.
- Dabrowski, K., S. Hinterleitner, C. Sturmbauer, N. El-Fiky and W. Wieser,

1988. Do carp larvae require vitamin C. *Aquaculture*, 72, 295-306.
- De Silva, S.S., R.M. Gunasekera and K.F. Sim, 1991. Interactions of varying dietary protein and lipid levels in young red tilapia: evidence of protein sparing. *Aquaculture*, 95, 305-318.
- Deng, D. and R.P. Wilson. 2003. Dietary riboflavin requirement of juvenile sunshine bass (*Morone chrysops* × *Morone saxatilis*). *Aquaculture*, 218, 695-701.
- Dong, Y., S. Dong, X. Tian, F. Wang and M. Zhang, 2006. Effects of diel temperature fluctuations on growth, oxygen consumption and proximate body composition in the sea cucumber *Apostichopus japonicus* Selenka. *Aquaculture*, 255, 514-521.
- Duncan, D.B., 1995. Multiple-range and multiple F test. *Biometrics*, 11, 1-42.
- Durve, V.S. and R.T. Lovell, 1982. Vitamin C and disease resistance in channel catfish *Ictalurus punctatus*. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 39, 948-951.
- Fernandez Gimenez, A.V., J.L. Fenucci and A.M. Petriella, 2004. The effect of vitamin E on growth, survival and hepatopancreas structure of the Argentine red shrimp, *Pleoticus muelleri* Bate (Crustacea, Penaeidea). *Aquacult. Res.*, 35, 1172-1178.
- Fernandez, C. and g. Pergent, 1998. Effect of different formulated diets and rearing conditions on growth parameters in the sea urchin *Paracentrotus lividus*. *J. Shell. Res.*, 17, 1571-1581.
- Folch, J., M. Lees and C.H. Sloane-Stanley, 1957. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissue. *J. Biol. Chem.*, 226, 497-509.
- Fracalossi, D.M., M.E. Allen, L.K. Yuyama and O.T. Oftedal, 2001. Ascorbic acid biosynthesis in mazonian fishes. *Aquaculture*, 192, 321-332.



- Furukawa, A. and H. Tsukahara, 1966. On the acid digestion for the determination of chromic oxide as an index substance in the study of digestibility of fish feed. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.*, 32, 502-506.
- Fyun-Aikins, K., S.S.O. Hung, W. Liu and H. Li, 1992. Growth, lipogenesis and liver composition of juvenile white sturgeon fed different levels of D-glucose. *Aquaculture*, 105, 61-72.
- Garling, D.L. and R.P. Wilson, 1976. Optimum dietary protein to energy ratio for channel catfish fingerlings, *Ictalurus punctatus*. *J. Nutr.*, 106, 1368-1375.
- George, S.B., J.M. Lawrence, A.L. Lawrence and J. Ford, 2000. Fertilisation and development of eggs of the sea urchin *Lytechinus variegatus* maintained on an extruded feed. *J. World Aquacult. Soc.*, 31, 232-238.
- Geurden, I., P. Coutteau and P. Sorgeloos, 1997. Effect of a dietary phospholipid supplementation on growth and fatty acid composition of European sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.) and turbot (*Scophthalmus maximus* L.) juveniles from weaning onwards. *Fish Phy. Biochem.*, 16, 259-272.
- Gatlin, D.M.III, S.C. Bai, and M.C. Erickson, 1992. Effects of dietary vitamin E and synthetic antioxidants on composition and storage quality of channel catfish, *Ictalurus punctatus*. *Aquaculture*, 106, 323-332.
- Giovanni, S., Z. Zhang and R.P. Wilson, 1995. Dietary riboflavin requirement of fingerling channel catfish (*Ictalurus punctatus*). *Aquaculture*, 139, 285-290.
- Griffin, M.E., K.A. Wilson, M.R. White and P.B. Brown, 1994. Dietary choline requirement of juvenile hybrid striped bass. *J. Nutr.*, 124, 1685-1689.
- Halver, J.E. 1957. Nutrition of salmonids fishes. 4. water soluble vitamin requirements of chinook salmon. *J. Nutr.*, 62, 225-243.

- Hamre, K. and O. Lie, 1995b. Alpha-tocopherol levels in different organs of Atlantic salmon, *Salmo salar* L. - effect of smoltification, dietary levels of n-3 poly unsaturated fatty acids and vitamin E. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 111A, 547-554.
- Hanley, F., 1987. The digestibility of foodstuffs and the effects of feeding selectivity on digestibility determination in Tilapia (*Oreochromis niloticus* L.). *Aquaculture*, 66, 163-179.
- Hardie, L.J., T.C. Fletcher and C.J. Secombes, 1991. The effect of dietary vitamin C on the immune response of the Atlantic salmon *Salmo salar* L. *Aquaculture*, 95, 201-214.
- He, H. and A.L. Lawrence, 1993. Vitamin E requirement of *Penaeus vannamei*. *Aquaculture*, 118, 245-255.
- He, H., A.L. Lawrence, and R. Liu, 1992. Evaluation of dietary essentiality of fat-soluble vitamins, A, D, E and K for penaeid shrimp, *Penaeus vannamei*. *Aquaculture*, 103, 177-185.
- Helland, S.J. and B. Grisdale-Helland, 1998. Growth, feed utilization and body composition of juvenile Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*) fed diets differing in the ratio between the macronutrients. *Aquaculture*, 166, 49-56.
- Hemre, G.-I., K.Ø. Lie, O. Torrissen and R. Waagbo, 1995. Carbohydrate nutrition in Atlantic salmon, I. Growth and feed utilization. *Aquacult. Res.*, 26, 149-154.
- Hillestad, M. and F.T. Johnsen, 1994. High-energy/low-protein diets for Atlantic salmon, effects on growth nutrient retention and slaughter quality. *Aquaculture*, 124, 109-116.
- Hilton, J.W., C.Y. Cho, and S.T. Slinger, 1977. Factors affecting the stability of supplemental ascorbic acid in practical trout diets. *J. Fish Res. Board Can.*, 34, 683-687.

- Hilton, J.W., J.I. Atkinson and S.J. Slinger, 1983. Effect of increased dietary fiber on the growth of rainbow trout (*Salmo gairdneri*). Can. J. Fish. Aquat. Sci., 40, 81-85.
- Hirano, T. and M. Suyama, 1983. Fatty acid composition and its seasonal variation of lipids of wild and cultured ayu. Bull. Jap. Soc. Sci. Fish., 49, 1459-1464.
- Hosokawa, J., 1989. The vitamin requirements fingerling yellowtail, *Seriola quinqueradiata*. Ph. D. dissertation. Kochi University, Japan.
- Hsu, T.S. and S.Y. Shiau, 1997. Comparison of L-ascorbyl-2-polyphosphate with L-ascorbyl-2-sulfate in meeting vitamin C requirements of juvenile grass shrimp *Penaeus monodon*. Fish. Sci., 63, 958-962.
- Hsu, T.S. and S.Y. Shiau, 1998. Comparison of vitamin C requirement for maximum growth of grass shrimp *Penaeus monodon* with L-ascorbyl-2-monophosphate-Na and L-ascorbyl-2-monophosphate-Mg. Aquaculture, 163, 203-213.
- Huang, C.H. and S.L. Huang, 2004. Effect of dietary vitamin E on growth, tissue lipid peroxidation, and liver glutathione level of juvenile hybrid tilapia, *Oreochromis niloticus* × *O. aureus*, fed oxidized oil. Aquaculture, 237, 381-389.
- Huang, C.H. and W.Y. Lin. 2004. Effects of dietary vitamin E level on growth and tissue lipid peroxidation of soft-shelled turtle, *Pelodiscus sinensis* (Wiegmann). Aquacult. Res., 35, 948-954.
- Hughes, S.G., G.L. Rumsey and J.G. Nickum. 1981. Riboflavin requirement of fingerling rainbow trout. Prog. Fish-Cult., 44, 102-105.
- Hung, S.S.O., K.F. Ftun-Alikins, P.B. Lutes and R.P. Xu, 1989, Ability of juvenile white sturgeon (*Acipenser transmontanus*) to utilize different carbohydrate source. J. Nutr., 119, 727-733.
- Hwang, G.-D., L.-O. Kim, J.-H. Park, I.C. Bang, K.-D. Kim, H.-S. Jang and

- S.-M. Lee, 2003. Utilization of soybean meal and wheat flour in different types of diets for Juvenile Snail (*Semisulcospira gottschei*). J. Kor. Fish. Soc., 36, 454-457.
- Jang, H.-S., K.-D. Kim and S.-M. Lee, 2005. Effect of various commercial fish meals as dietary protein sources on growth and Body composition of juvenile flounder, *Paralichthys olivaceus*. J. Aquacult., 18, 267-271.
- Jackson. A.J., B.S. Capper and A.J. Matty, 1982. Evaluation of some plant proteins in complete diets for the tilapia *Sarotherodon Mossambicus*. Aquaculture, 27, 97-109.
- Jones, I.D., 1995. Effect of processing by fermentation of nutrients. In: Nutritional Evaluation of Food Processing, (Harris, R.S. and E. Karmas, eds), p. 324 Avi. Publ. Co. Inc., Westport, CN.
- Kanazawa, A., 1985. Nutrition of penaeid prawn and shrimp. Pages 123-130 in Y. Taki, L. H. Primavera and J. A. Lobrera, editors. Proceedings of the First International Conference on Culture of Penaeid Prawn/Shrimp. Aquaculture Department, SEAFDEC, Iloilo, Philippines.
- Kanazawa, A., S.I. Teshima, M. Sakamoto and Md. A. Awal, 1980. Requirements of *Tilapia zillii* for essential fatty acids. Bull. Jap. Soc. Sci. Fish., 46, 1353-1356.
- Kang, J.W., 1966. On the geographical distribution of marine algae in Korea. Bull. Pusan Fish. Coll., 7, 1-125.
- Kang, K.H., J.Y. Kwon and Y.M. Kim, 2003. A beneficial coculture: charm abalone *Haliotis discus hannai* and sea cucumber *Stichopus japonicus*. Aquaculture, 216, 87-93.
- Kang, S.-J., B.-D. Choi and K.-H. Lee, 1996. Quality improvement of rainbow trout with pigments and enzymatic hydrolysates of ascidian (*Halocynthia roretzi*) tunic 2. Effect of ascidian tunic enzymatic

- hydrolysates on pigmentation and growth of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). J. Korean Fish. Soc., 29, 357-368.
- Kashenko, S.D., 2000. Acclimation of sea cucumber *Apostichopus japonicus* to decreased salinity at the blastula and gastrula stages: its effect on the desalination resistance of larvae at subsequent stage of development. Russian J. Mar. Biol., 26, 422-426.
- Kato A. and H. Hirata, 1990. Effects of water temperature on the circadian rhythm of the sea cucumber *Stichopus japonicus* in culture. Suisanzoshoku, 38, 75-80.
- Kennedy, E.J., S.M.C. Robinson, G.J. Parsons and J.D. Castell, 2007. Effect of lipid source and concentration on somatic growth of juvenile green sea urchins, *Ttronylocentrotus droebachiensis*. J. World Aquacult. Soc., 38, 335-352.
- Khuang, C., H. Itoh, T. Mizuno and H. Ito, 1995. Antitumor active fucoidan from the brown seaweed, umitoranoo (*Sargassum thunbergii*). Biosci. Biotechnol. Biochem., 59, 563-567.
- Kim, G.Y., 2001. Riboflavin deficiency occurred in the broiler chicks. Korean. J. Vet. Res., 41, 591-596.
- Kim, K.-D., S.-M. Lee, H.G. Park, S.C. Bai and Y.-H. Lee, 2002. Essentiality of dietary n-3 Highly unsaturated fatty acids in juvenile japanese flounder *Paralichthys olivaceus*. J. World Aquacult. Soc., 33, 432-440.
- Kim, K.E., Y.-J. Jeong, O.-M. Kim, N.-Y. Park and K.-H. Lee, 2002. Effect of sea urchin shell on egg quality. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr., 31, 373-377.
- Kim, K.-W., X.J. Wang and S.C. Bai, 2001. Reevaluation of the optimum dietary protein level for the maximum growth of juvenile Korean rockfish, *Sebastes schlegeli* (Hilgendorf). Aquacult. Res., 32, 119-125.
- Kim, K.W., X.J. Wang, S.M. Choi, G.J. Park, J.W. Koo, and S.C. Bai, 2003.

- No synergistic effects by the dietary supplementation of ascorbic acid,  $\alpha$ -tocopheryl acetate and selenium on the growth performance and challenge test of *Edwardsiella tarda* in fingerling Niletilapia, *Oreochromis niloticus* L. Aquacult. Res., 34, 1053-1058.
- Kim, Y., J.Y. Cho, J.H. Kuk, J.H. Moon, J.I. Cho and Y.C. Kim, 1999. Physiological functions of Chungkuk-Jang. Food Ind. Nutr., 4, 40-46.
- Kim, Y.S. and H.G. Choi. 2004. Epiphytic algae growing on *Sargassum thunbergii* in southern and western coasts of Korea. Korean J. Ecol., 27, 173-177.
- Kono, M., T. Matsui and C. Shimizu, 1987. Effect of chitin, chitosan, and cellulose as diet supplements on the growth of cultured fish. Nippon Suisan Gakkaishi 53 : 125-129.
- Lee, K.-H., S.-J. Kang, B.-D. Choi, Y.-J. Choi and M.-G. Youm, 1994a. Utilization of ascidian (*Halocynthia roretzi*) Tunic 1. Effect of ascidian tunic extracts on pigmentation and growth of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Bull. Korean Fish. Soc., 27, 232-239.
- Lee, K.-H., S.-J. Kang, B.-D. Choi, Y.-J. Choi and M.-G. Youm, 1994a. Utilization of ascidian (*Halocynthia roretzi*) Tunic 2. Effect of ascidian tunic extracts on pigmentation and growth of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Bull. Korean Fish. Soc., 27, 24-246.
- Lee, K.-S., Y.-B. Kim, K.-Y. Park, B.-J. Yoo, J.-K. Jeon and I.-H. Jeong, 1999. Effects of diet supplemented with squid intestine on growth and body composition of the catfish (*Parasilurus asotus*). J. Korean Fish. Soc., 31, 31-36.
- Lee, M.H. and S.Y. Shiau, 2004. Vitamin E requirements of juvenile grass shrimp, *Penaeus monodon*, and effects on non-specific immune responses. Fish and Shell. Immunol., 16, 475-485.
- Lee, M.Y., S.Y. Park, K.O. Jung, K.Y. Park and S.D. Kim, 2005. Quality

- and functional characteristics of Chungkuk-Jang prepared with various *Bacillus* sp. isolated from traditional Chungkuk-Jang. *J. Food sci.*, 70, 191-196.
- Lee, S.-M., 2001. Review of the lipid and essential fatty acid requirements of rockfish (*Sebastes schegeli*). *Aquacult. Res.*, 32, 8-17.
- Lee, S.-M. and H.G. Park, 1998. Evaluation of dietary lipid sources for juvenile abalone (*Haliotis discus hannai*). *J. Aquacult.*, 11, 381-391.
- Lee, S.-M. and T.-J. Lim, 2005. Effects of dietary protein and energy levels on growth and lipid composition of juvenile snail (*Semisulcospira gottschei*). *J. Shell. Res.*, 24, 99-102.
- Lee, S.-M., C.S. Park and I.C. Bang, 2002a. Dietary protein requirement of young Japanese flounder *Paralichthys olivaceus* fed isocaloric diets. *Fish. Sci.*, 68, 158-164.
- Lee, S.-M., I.G. Jeon and J.Y. Lee, 2002b. Effects of digestible protein and lipid levels in practical diets on growth, protein utilization and body composition of juvenile rockfish (*Sebastes schlegeli*). *Aquaculture*, 211, 227-239.
- Lee, S.-M., J.H. Lee and K.-D. Kim, 2003a. Effect of dietary essential fatty acids on growth, body composition and blood chemistry of juvenile starry flounder (*Platichthys stellatus*). *Aquaculture*, 225, 269-281.
- Lee, S.-M., K.-D. Kim, and S.P. Lall., 2003c. Utilization of glucose, maltose, dextrin and cellulose by juvenile flounder (*Paralichthys olivaceus*) *Aquaculture*, 221, 427-438.
- Lee, S.-M., K.-D. Kim, H.-S. Jang, Y.-W. Lee, J.K. Lee and J.H. Lee, 2003b. Effect of Soybean-curd residues in the formulated diet on growth and body composition of juvenile flounder (*Paralichthys olivaceus*). *J. Kor. Fish. Soc.*, 36, 596-600.
- Lee, S.-M., K.-D. Kim, T.-J. Lim and I.C. Bang, 2002. Effects of dietary

- lipid sources on growth and body composition of sanil (*Semisulcospira gottschei*). J. Fish. Sci. Tech., 5, 165-171.
- Lee, S.-M., S.H. Cho and K.D. Kim, 2000. Effects of dietary protein and energy levels on growth and body composition of juvenile flounder (*Paralichthys olivaceus*). J. World Aquacult. Soc., 31, 306-315.
- Lee, S.-M., S.J. Yun and S.B. Hur, 1998b. Evaluation of dietary protein sources for Abalone (*Haliotis discus hanna*). J. Aquacult., 11, 19-29.
- Lee, S.-M., S.J. Yun, K.S. Min, and S.K. Yoo, 1998a. Evaluation of dietary carbohydrate sources for juvenile abalone (*Haliotis discus hannai*). J. Aquacult., 11, 133-140.
- Leith, D., J. Holmes and S. Kaattari, 1990. Effects of vitamin nutrition on the immune response of hatchery-reared salmonids. Final Report, Project 84-45A and 84-45B. Portland, Ore: Bonneville Power Administration.
- Li, B., H. Yang, T. Zhang, Y. Zhou and C. Zhang, 2002. Effect of temperature on respiration and excretion of sea cucumber *Apostichopus japonicus*. Oceanol. Limnol. Sin., 33, 182-187.
- Li, Y. and R.T. Lovell, 1985. Elevated levels of dietary ascorbic acid increase immune responses in channel catfish. J. Nutr., 115, 123- 131.
- Lie, O., E. Lied and G. Lambertsen, 1988. Feed optimization in Atlantic cod (*Gadus morhua*): fat versus protein content in the feed. Aquaculture, 69, 333-341
- Lim, C. and R.T. Lovell, 1978. Pathology of the vitamin C deficiency syndrome in channel catfish *Ictalurus punctatus*. J. Nutr., 108, 1137-1146.
- Lim, C. and W. Dominy, 1989. Utilization of plant proteins by warmwater fish. American soybean association, 541 Orchard Road #11-03 Liat Towers, Singapore 0923, 12pp.



- Lim, S.R., S.M. Choi, X.Y. Wang, K.W. Kim, I.S. Shin, T.S. Min and S.C. Bai, 2004. Effects of dehulled soybean meal as a fish meal replacer in diets for fingerling and growing Korean rockfish *Sebastes schlegeli*. *Aquaculture*, 231, 457-468.
- Lim, T.-J. and S.-M. Lee, 2003. Effect of different dietary carbohydrate sources on growth and body composition of juvenile snail (*Semisulcospira gottschei*). *J. Aquacult.*, 16, 187-189.
- Lin, Y.H. and S.Y. Shiau, 2005. Dietary vitamin E requirement of grouper, *Epinephelus malabaricus*, at two lipid levels, and their effects on immune responses. *Aquaculture*, 248, 235-244.
- Lindsay, G.J.H., M.J. Walton, J.W. Adron, T.C. Fletcher, C.Y. Cho and C.B. Cowey, 1984. The growth of rainbow trout (*Salmo gairdneri*) given diets containing chitin and its relationship to chitinolytic enzymes and chitin digestibility. *Aquaculture*, 37, 315–334.
- Lochmann, R., W.R. McClain and D.M. Gatlin III, 1992. Evaluation of practical feed formulations and dietary supplements for red swamp crawfish. *J. World Aquacult. Soc.*, 23, 217-227.
- Lovell, R.T. and C. Lim, 1978. Vitamin C in pond diets for channel catfish. *Trans. Am. Fish. Soc.*, 107, 321-325.
- Lovell, R.T., 1989 *Nutrition and Feeding of Fish*. Van Nostrand Reinhold, New York, USA.
- Lovell, R.T., T. Miyazaki, and S. Rabegnator, 1984. Requirements for  $\alpha$ -tocopherol by channel catfish fed diets low in polyunsaturated triglycerides. *J. Nutr.*, 114, 894-901.
- Mazik, P.M., T.M. Brandt and J.R. Tomasso, 1987. Effects of dietary vitamin C on growth, caudal fin development and tolerance of aquaculture-related stressors in channel catfish. *Prog. Fish-Cult.*, 49, 13-16.

- Mercier, A.S.C. Battaglione and J.F. Hamel, 1999. Daily burrowing cycle and feeding activity of juvenile sea cucumbers *Holothuria scabra* in response to environmental factors. *Aquaculture*, 239, 125-156.
- Michio, K., K. Kengo, K. Yasunori, M. Hitoshi, Y. Takayuki, Y. Hideaki, and S. Hiroshi, 2003. Effects of deposit feeder *Stichopus japonicus* on algal bloom and organic matter contents of bottoms ediments of the enclosed sea. *Marine Pollution Bulletin*, 47, 118-125.
- Mine, Y., A.H.K. Wong and B. Jiang, 2005. Fibrinolytic enzymes in Asian traditional fermented foods. *Food Res. Int.*, 38, 243-250.
- Montero, D., M. Marrero, M.S. Izquierdo, L. Robaina, J.M. Vergara and T. Tort, 1999. Effect of vitamin E and C dietary supplementation on some immune parameters of gilthead seabream (*Sparus aurata*) juveniles subjected to crowding stress. *Aquaculture* 171, 269-278.
- Moriarty, D.J.W., 1982. Feeding of *Holothuria atra* and *Stichopus chloronotus* on bacteria, organic carbon and organic nitrogen in sediments of the Great Barrier Reef. *Australian Journal of Marine and Freshwater Research*, 33, 255-263.
- Moriarty, D.J.W., 1982. Feeding of *Holothuria atra* and *stichopus chloronotus* on bacteria, organic carbon and organic nitrogen in sediments of the great barrier reef. *Aust. J. Mar. Freshw. Res.*, 33, 255-263.
- Mou, S.D., Y. S. Li, G. Liu, and Y. Wang, 2000. A review of hatching, rearing and propagation technologies of sea cucumber, *Apostichopus japonicus*, in Shandong Province. *Transactions of Oceanology and Limnology*, 2, 63-65 (in Chinese).
- Mukhopadhyay, N. and A.K. Ray, 1999. Improvement of quality of sesame *Seasamum indicum* seed meal protein with supplemental amino acids in feeds for rohu *Labeo rohita* (Hamilton) fingerlings. *Aquacult. Res.*, 30, 549-557.

- Murai, T. and J. W. Andrews, 1974. Interactions of dietary  $\alpha$ -tocopherol, oxidized menhaden oil and ethoxyquin on channel catfish, *Ictalurus punctatus*. J. Nutr., 104, 1416-1431.
- Murai, T., H. Ogata and T. Nose, 1982. Methionine coated with various materials supplemented to soybean meal diet for fingerling carp *Cyprinus carpio* and channel catfish *Ictalurus punctatus*. Bull. Jap. Soc. Sci. Fish., 48, 85-88.
- Mustin, W.G. and R.T. Lovell, 1992. Na-l-Ascorbyl-2-monophosphate as a source of vitamin C for channel catfish. Aquaculture, 105, 95-105.
- Nakagawa, H. and S. Kasahara, 1986. Effect of *Ulva*-meal supplement to diet on the lipid metabolism of red sea bream. Bull. Jap. Soc. Sci. Fish., 52, 1887-1893.
- Nakagawa, H., 1985. Usefulness of *Chlorella*-extract for improvement of the physiological condition of cultured ayu, *Plecoglossus altivelis* (Pisces). Tethys, 11, 328-334.
- National Research Council (NRC), 1993. Nutrient Requirements of Fish. National Academy Press, Washington, D.C.
- Navarre, O. and J.E. Halver. 1989. Disease resistance and humoral antibody production in rainbow trout fed high levels of vitamin C. Aquaculture, 79, 207-221.
- Nelson, B.V. and R.R. Vance, 1979. Diel foraging patterns of the sea urchin *Centrostephanus coronatus* as a predator avoidance strategy. Mar. biol., 51, 251-258.
- Ogino, C. and Saito, K, 1970. Protein nutrition in fish. I: The utilization of dietary protein by young carp. Bull. Jap. Soc. Sci. Fish., 36, 250-254.
- Ortuno, J., A. Cuesta, A. Esteban and J. Meseguer, 2001. Effect of oral administration of high vitamin C and E dosages on the gilthead seabream (*Sparus aurata* L.) innate immune system. Vet. Immunol.

- Immunopathol., 79, 167-180.
- Ortuno, J., A. Esteban and J. Meseguer, 1999. Effects of high dietary intake of vitamin C on non-specific immune response of gilthead seabream (*Sparus aurata* L.). *Fish Shellfish Immunol.*, 9, 429-443.
- Pham, M.A. and K.-J. Lee, 2007. Effects of dietary cheongkukjang on Liver superoxide dismutase activity of prrotfish *Oplegnathus fasciatus*. *J. Auaculture*, 20, 132-139.
- Park, H.-Y., C.-W. Lim, Y.-K. Kim, T.-J. Choi, H.-D. Yoon, K.-J. Lee, Y.K. Seo, J.Y. Kim and K.E. Park, 2007. Effects of supplemental *Asterias amurensis* extract in the experimental diets on growth, blood chemistry and superoxide production of kidney phagocytes of *Sebastes schlegeli*. *J. Korean Soc. Appl. Biol. Chem.*, 50, 326-366.
- Paul, B. N., S. Sarkar, and S.N. Mohanty. 2004. Dietary vitamin E requirement of mrigal, *Cirrhinus mrigala*, fry. *Aquaculture*, 242, 529-536.
- Pitt, R., N.D.Q. Duy, T.V. Duy, and H.T.C. Long, 2004. Sandfish, *Holothuria scabra*, with shrimp, *Penaeus monodon*, co-culture tankt rials. *Beche-de-mer*, 12-22.
- Poston, H.A., 1990. Effect of body size on growth, survival and chemical composition of Atlantic salmon fed soy lecithin and choline. *Prog. Fish-Cult.*, 52, 226-230.
- Poston, H.A., 1991. Choline requirement of swim-up rainbowtrout fry. *Prog Fish-Cult.*, 53, 220-223.
- Reigh, R.C. and S.C. Ellis, 1992. Effects of dietary soybean and fish-protein ratios on growth and body composition of red drum (*Sciaenops ocellatus*) fed isonitrogenous diets. *Aquaculture*, 104, 279-292.
- Robbins, K.R., 1986. A method, SAS program, and Example for Fitting the Broken Line to Growth Data. University of Tennessee, Knoxville, TN.
- Roberts, M.L., S.J. Davies and A.L. Pulsford, 1995. The influence of

- ascorbic acid (vitamin C) on non-specific immunity in the turbot (*Scophthalmus maximus* L.). *Fish Shellfish Immunol.*, 5, 27-38.
- Roem, A.J., C.C. Kohler, and R.R. Stickney, 1990. Vitamin E requirements of the blue tilapia, *Oreochromis aureus*, in relation to dietary lipid levels. *Aquaculture*, 87, 155-164.
- Rosenlund, G., Ø. Karlsen, K. Tveit, A. Mangor-Jensen and G.-I. Hemre, 2004. Effect of feed composition and feeding frequency on growth feed utilization and nutrient retention in juvenile Atlantic cod *Gadus morhua* L. *Aquacult. Nutr.*, 10, 371-378.
- Ruff, N., R.D. Fitzgerald, T.F. Cross, K. Hamre and J.P. Kerry, 2003. The effect of dietary vitamin E and C level on market-size turbot, *Scophthalmus maximus*, fillet quality. *Aquacult. Nutr.*, 9, 91-103.
- Ruohonen, K., J. Koskela, J. Vielma and J. Kettunen, 2003. Optimal diet composition for European whitefish (*Coregonus lavaretus*), analysis of growth and nutrient utilization in mixture model trials. *Aquaculture*, 225, 27-39.
- Sandnes, K., T. Hansen, J.-E.A. Killie and R. Waagbø, 1990. Ascorbate-2-sulfate as a dietary vitamin C source for Atlantic salmon *Salmo salar* L. growth, bioactivity, haematology and humoral immune response. *Fish Physiol. Biochem.*, 8, 419-427.
- Sandnes, K., Y. Ulgenes, O.R. Braekkan and F. Utne, 1984. The effect of ascorbic acid supplementation in broodstock feed on reproduction of rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Aquaculture* 43, 167-177.
- Sargent, J.R., R.J. Henderson and D.R. Tocher, 1989. The lipids. In: Halver, J.E. (Eds), *Fish nutrition*, 2nd edn. Academic Press, London, pp. 153–218.
- Sato, M., T. Kondo, R. Yashinaka and S. Ikeda. 1982. Effect of dietary ascorbic acid levels on collagen formation in rainbow trout. *Bull. Jpn.*

- Soc. Sci. Fish., 48, 553-556.
- Satoh, K.I, H. Nakagawa and S. Kasahara, 1987. Effect of *Ulva* meal supplementation on disease resistance of red sea bream. Nippon Susan Gakkaishi, 53, 1115–1120.
- Sau, S.K., B.N. Paul, K.N. Mohanta, and S.N. Mohanty, 2004. Dietary vitamin E requirement, fish performance and carcass composition of rohu, *Labeo rohita*, fry. Aquaculture, 240, 359-368.
- Schwarz, F. J., M. Kirchgessner, H. Steinhart, and G. Runge, 1988. Influence of different fats with varying additions of  $\alpha$ -tocopherol acetate on growth and body composition of carp, *Cyprinus carpio* L. Aquaculture. 69, 57-67.
- Sealey, W.M. and D.M. Gatlin III, 1999. Dietary vitamin C requirement of hybrid striped bass *Morone chrysops*  $\times$  *M. saxatilis*. J. World Aquac. Soc., 30, 297-301.
- Seo, J.-Y., J. Choi, G.-U. Kim, S.-S. Cho, H.G. Park and S.-M. Lee, 2008. Effects of dietary protein and lipid levels on growth and body composition of juvenile sea cucumber *Stichopus japonicus*. J. Aquacult., 21, 19-25.
- Seo, J.-Y., K.-H. Choi, J. Choi and S.-M. Lee, 2005. Effect of feeding frequency of extruded diets containing different macro-nutrient levels on apparent nutrient digestibility in grower flounder *Paralichthys olivaceus*. J. Aquacult., 18, 160-166.
- Serrini, G., Z. Zhang and R.P. Wilson. 1996. Dietary riboflavin requirement of fingerling channel catfish (*Ictalurus punctatus*). Aquaculture, 139, 285-290.
- Shiau, S.Y. and L.F. Shiau. 2001. Re-evaluation of the vitamin E requirements of juvenile tilapia, *Oreochromis niloticus*  $\times$  *O. aureus*. Animal Science, 72, 529-534.

- Shiau, S.Y. and T.S. Hsu, 1994. Vitamin C requirement of grass shrimp, *Penaeus monodon*, as determined with L-ascorbyl-2-monophosphate. *Aquaculture*, 122, 347-357.
- Shiau, S.Y. and T.S. Hsu. 1999. Quantification of vitamin C requirement for juvenile hybrid tilapia, *Oreochromis niloticus* × *Oreochromis aureus*, with 1 - ascorbyl - 2 - monophosphate - Na and 1 - ascorbyl - 2 - monophosphate - Mg. *Aquaculture*, 175, 317-326.
- Shiau, S.-Y. and Y.-P. Yu, 1999. Dietary supplementation of chitin and chitosan depress growth in tilapia, *Oreochromis niloticus* × *O. aureus*. *Aquaculture*, 179, 439–446.
- Shiau, S.Y., B.S. Pan, S. Chen, H.L. Yu and S.L. Lin, 1988. Successful use of soybean meal with a methionine supplement to replace fish meal in diets fed to milkfish *Chanos chanos* Forskal. *J. World Aquacult. Soc.*, 19, 14-19.
- Shimeno, S., 1991. Yellowtail, *Seriola quinqueradiata*. In: Wilson, R.P. (Ed.), *Handbook of Nutrient Requirements of Finfish*. CRC Press, Boca Raton, FL. pp. 181-191.
- Shimeno, S., T. Mima, T. Imanaga and K. Tomaru, 1993. Inclusion of combination of defatted soybean meal, meat meal and corn gluten meal to yellowtail diet. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 59, 1889-1895.
- Silver, G.R., D.A. Higgs, B.A. Dosanjh, B.A. McKeown, G. Deacon and D. French, 1993. Effect of dietary protein to lipid ratio on growth and chemical composition of chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*) in seawater. (in) S.J. Kaushik and P. Luquet (eds.), *Fish nutrition in practice*. Paris: Les Colloques, No. 61, INRA Edns, pp. 459-468.
- Smiley, S., F-S. McEuen, C. Chaffee and S. Krishan. 1991. Echinodermata: Holothuroidea. In: A.C. Giese, J.S. Pearse and V.B. Pearse (eds). *Reproduction of marine invertebrates*, vol VI: Echinoderms and

- Lophophorates, California: Boxwood Press, 663–750.
- Sloan, N.A., 1984. Echinoderm fisheries of the world: a review. In: Echinodermata (Proceedings of the Fifth International Echinoderm Conference) (ed. by B.F. Keegan & B.D.S.O' Connor), 109-124. A. A. Balkema Publishers, Rotterdam, the Netherlands.
- Smith, L.S., 1989. Digestive functions in teleost fishes. In: Fish Nutrition (Halver, J.E. ed.), pp. 332-411. Academic Press Inc., San Diego, CA, USA.
- Smith, R.R., 1988. Soybeans and wheat flour byproducts in trout feeds. American soybean association, 541 Orchard Road #11-03 Liat Towers, Singapore 0923, 8pp.
- Soliman, A.K. and R.P. Wilson, 1992. Water-soluble vitamin requirements of tilapia. 2. Riboflavin requirement of blue tilapia *Oreochromis aureus*. Aquaculture, 104, 309-314.
- Soliman, A.K., K. Jauncey and R.T. Roberts, 1987. Stability of ascorbic acid (vitamin C) and its forms in fish feeds during processing, storage and leaching. Aquaculture, 60, 73-83.
- SPSS Inc., 1997. SPSS Bass 12.0 for Window, SPSS Inc., 444N. Michigan Avenue, Chicago, IL, 60611.
- Storebakken, T., K.D. Shearer, S. Refstie, S. Lagocki and J. McCool. 1998. Interaction between salinity, dietary carbohydrate source and carbohydrate concentration on the digestibility of macronutrients and energy in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Aquaculture, 163, 347-359
- Suarez, P.K. and T.P. Mommsen, 1987. Gluconeogenesis in teleost fishes. Can. J. Zool., 65, 1869-1882.
- Sugiura, S.H., F.M. Dong, C.K. Rathbone and R.W. Hardy, 1998. Apparent protein digestibility and mineral availabilities in various feed



- ingredients for salmonid feeds. *Aquaculture*, 159, 177-202.
- Sui X., Y. Liu, Y. Liu, L. Shang and Q. Hu, 1985. A study on the reproductive cycle of sea cucumber. *Journal of Fisheries of China*, 9, 303-310.
- Sui, X., 1989. The main factors influencing the larval development and survival rate of the sea cucumber. *Oceanol. Limnol. Sin.*, 20, 314-321.
- Sui, X., 1988. Culture and Enhance of Sea Cucumber. Agriculture Press, Beijing, China, pp. 54 - 55.
- Sui, X., Q. Hu and Y. Chen, 1986. A study on technology for rearing of postlarvae and juvenile of sea cucumber *Apostichopus japonicus* in high density tanks. *Oceanol. Limnol. Sin.*, 17, 513-520.
- Sun, H., 1988. The effect of some external factors on survival and growth of juvenile sea cucumber. *Journal of Fisheries of China*, 12, 259-266.
- Sun, H., M. Liang, J. Yan and B. Chen, 2004. Nutrient requirements and growth of the sea cucumber, *Apostichopus japonicus*. (in) A. Lovatelli, C. Conand, S. Purcell, S. Uthicke, J. F. Hamel and A. Mercier (eds.), *Advances in Sea Cucumber Aquaculture and Management*. FAO, Rome, Italy, pp. 327-331.
- Takeuchi, L., T. Takeuchi and C. Ogino. 1980. Riboflavin requirements in carp and rainbow trout. *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish.*, 46, 733-737.
- Takeuchi, T., T. Watanabe and C. Ogino. 1979. Optimum ratio of dietary energy to protein for rainbow trout. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.*, 45, 983-987.
- Tanaka, Y., 1958a. Seasonal changes occurring in the gonad of *Stichopus japonicus*. *Bull. Fac. Fish., Hokkaido Univ.*, 9, 29-36.
- Tanaka, Y., 1958b. Feeding and digestive processes of *Stichopus japonicus*. *Bull. Fac. Fish., Hokkaido Univ.*, 9, 14-28.
- Thompson, I., A. White, T.C. Fletcher, D.F. Houlihan and C.J. Secombes,

1993. The effect of stress on the immune response of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) fed diets containing different amounts of vitamin C. *Aquaculture*, 114, 1-18.
- Tian, F., X. Zhang, Y. Tong, Y. Yi, S. Zhang, L. Li, P. Sun, L. Lin and J. Ding, 2005. PE, a new sulfated saponin from Sea Cucumber, exhibits anti-angiogenic and anti-tumor activities in vitro and in Vivo. *Can. Biol. Ther.*, 4, 874-882.
- Tibbetts, S.M, S.P. Lall and D.M. Anderson, 2000. Dietary protein requirement of juvenile American eel (*Anguilla rostrata*) fed practical diets. *Aquaculture*, 186, 145-155.
- Tolbert, B.M., 1979. Ascorbic acid metabolism and physiological function. *Int. J. Vit. Nutr. Res. Suppl.*, 19, 127-142.
- Toyoda, Y., 1985. Study on quantitative requirements of fat-soluble vitamins in yellowtail. MS Thesis, Kochi University, Nankoku, Japan.
- Uki, N., A. Kemuyama and Y. Watanabe, 1986. Optimum protein levels in diets for abalone. *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish.*, 52, 1005-1012.
- Uthicke, C., 2004. Overfishing of holothurians: lessons from the Great Barrier Reef. (in) A. Lovatelli, C. Conand, S. Purcell, S. Uthicke, J. F. Hamel and A. Mercier (eds.), *Advances in Sea Cucumber Aquaculture and Management*. FAO, Rome, Italy, pp. 163 - 171.
- Verlhac, V., A. Obach, J. Gabaudan, W. Schuep and R. Hole, 1998. Immunomodulation by dietary vitamin C and glucan in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Fish Shellfish Immunol.*, 8, 409-424.
- Viola, S., S. Mokedy and Y. Arieli. 1983. Effects of soybean processing methods on the growth of carp (*Cyprinus carpio*). *Aquaculture*, 32, 23-38.
- Viola, S., Y. Arieli and G. Zohar. 1988. Animal-protein-free feeds for

- hybrid tilapia (*O. niloticus* x *O. Aureus*) in intensive culture. *Aquaculture*, 75, 115-125.
- Waagbo, R., J. Glette, E. Raa-Nilsen and K. Sandnes, 1993. Dietary vitamin C, immunity and disease resistance in Atlantic salmon *Salmo salar*. *Fish Physiol. Biochem.*, 12, 61-73.
- Walton, M.J., Cowey, C.B., 1982. Aspects of intermediary metabolism in fish. *Comp. Biochem. Physiol.*, 73B, 59-79.
- Wang, X.J., K.W. Kim, S.C. Bai, M.D. Huh and B.Y. Cho, 2003. Effects of the different levels of dietary vitamin C on growth and tissue ascorbic acid changes in parrot fish (*Oplegnathus fasciatus*). *Aquaculture*, 215, 21-36.
- Watanabe, T., A. Itoh, A. Murakami and Y. Tsukashima, 1984b. Effect of nutritional quality of broodstock on the verge of spawning on reproduction of red sea bream. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 50, 1023-1028.
- Watanabe, T., F. Takashima, C. Ogino, and T. Hibiya, 1970. Requirements of young carp for  $\alpha$ -tocopherol. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries* 36, 972-976.
- Watanabe, T., T. Arkawa, C. Kitajima and S. Fujita, 1984a. Effect of nutritional quality of broodstock diets on reproduction of red sea bream. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 50, 495- 501.
- Watanabe, T., T. Takashima, M. Wada, and R. Uehara, 1981b. The relationship between dietary lipid levels and  $\alpha$ -tocopherol requirement of rainbow trout. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries*. 47, 1463-1471.
- Watanabe, T., T. Takeuchi, and M. Wada, 1981a. Dietary lipid levels and  $\alpha$ -tocopherol requirement of carp. *Bulletin of the Jap. Soc. Sci. Fish.*, 47, 1585-1590.

- Wedemeyer, G., 1969. Stress-induced ascorbic acid depletion and cortisol production in two salmonid fishes. *Comp. Biochem. Physiol.*, 29, 1247-1251.
- Wee, K.L. and S.W. Shu, 1989. The nutritive value of boiled full-fat soybean in pelleted feed for Nile tilapia. *Aquaculture*, 81, 303-312.
- Wee, K.L., 1991. Use of nonconventional feedstuffs of plant origin as fish feeds - is it practical and economically feasible? In: *Fish Nutrition Research in Asia*. Proc. 4th Asian Fish Nutrition Workshop. (De Silva, S.S. ed), pp. 13-32. Asian Fisheries Society, Manila, The Philippines.
- White, H.B., E.F. Nuwaysir and S.P. Komara, 1992. Effect of riboflavin-binding protein deficiency on riboflavin metabolism in the laying hen. *Arch. Biochem. Biophys.*, 295, 29-34.
- Wilson, R.P., 1973. Absence of ascorbic acid synthesis in channel catfish (*Ictalurus punctatus*) and blue catfish (*Ictalurus furcatus*). *Comp. Biochem. Physiol. B* 46, 635-638.
- Wilson, R.P. and W.E. Poe, 1988. Choline nutrition of fingerling channel catfish. *Aquaculture*, 68, 65-71.
- Wilson, R.P., 1994. Utilization of dietary carbohydrate by fish. *Aquaculture*, 124, 67-80.
- Wilson, R.P., P.R. Bowser, and W.E. Poe, 1984. Dietary vitamin E requirement of fingerling channel catfish. *J. Nutr.*, 114, 2053-2058.
- Wilson, R.P., Poe, W.E., 1987. Apparent inability of channel catfish to utilize dietary mono- and disaccharides as energy source. *J. Nutr.*, 117, 280-285.
- Woodall, A.N., L.M. Ashley, J.E. Halver, H.S. Olcott, and J.V.D. Veen, 1964. Nutrition of salmonid fishes XIII: The  $\alpha$ -tocopherol requirement of Chinook salmon. *J. Nutr.*, 84, 125-135.

- Woodward, B., 1985. Riboflavin requirement for growth, tissue saturation and maximal flavin-dependent enzyme activity in young trout (*Salmo gairdneri*) at two temperatures. *J. Nutr.*, 115, 78-84.
- Woodward, B., 1994. Dietary vitamin requirements of cultured young fish, with emphasis on quantitative estimates for salmonids. *Aquaculture*, 124, 133-168.
- Yanagisawa, T., 1998. Aspects of the biology and culture of the sea cucumber. In: De Silva, S. (Ed.), *Tropical Mariculture*. Academic Press, London, pp. 291-308.
- Yanagisawa, T., 1996. Sea-cucumber ranching in Japan and some suggestions for the South Pacific. In: Koloa, T., Udagawa, K (Eds.), *Present and Future of Aquaculture Research and Development in the Pacific Island Countries*. Proceedings of the International Workshop, 20-24 November 1995, Tonga, Japan. International Cooperation Agency, Japan, pp. 387-411.
- Yang H., J. Wang, Y. Zhou, T. Zhang, P. Wang, Y. He and F. Zhang, 2000. Comparison of efficiencies of different culture systems in shallow sea along Yantai. *Journal of Fisheries of China*, 24, 140-145.
- Yang H., Y. Zhou, J. Wang, T. Zhang, P. Wang, Y. He and F. Zhang, 2001. A modeling estimation of carrying capacities for *Chlamys farreri*, *Laminaria japonicus* and *Apostichopus japonicus* in Sishiliwan Bay, Yantai. *Journal of Fishery Sciences of China*, 7, 27-31.
- Yang, H., X. Yuan, Y. Zhou, U. Mao, T. Zhang and Y. Liu, 2005. Effects of body size and water temperature on food consumption and growth in the sea cucumber *Apostichopus japonicus* (Selenka) with special reference to aestivation, *Aquacult. Res.*, 36, 1085-1092.
- Yi, Y.-H. and Y.-J. Chang, 1994. Physiological effects of seamustard supplement diet on the growth and body composition of young

- rockfish, *Sebastes schlegeli*. Bull. Korean Fish. Soc., 27: 69–82.
- Yingst, J.Y., 1976. The utilization of organic matter in shallow marine sediments by an epibenthic deposit-feeding holothurian. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 23, 55-69.
- Yone, Y., M. A. Hossain, M. Furuichi and F. Kato, 1986a. Effect of fermented and fermented-resteamed scrap meals on growth and feed efficiency of red sea bream. Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish., 52, 549-552.
- Yone, Y., M. Furuichi and K. Urano, 1986b. Effects of dietary wakame *Undaria penatifida* and *Ascophyllum nodosum* supplements on growth, feed efficiency, and proximate compositions of liver and muscle for red sea bream. Nippon Suisan Gakkaishi, 52, 1465-1468.
- Yoo, G.Y., X.J. Wang, S.M. Choi, K.M. Han,a, J.C. Kang and S.C. Bai, 2005. Dietary microbial phytase increased the phosphorus digestibility in juvenile Korean rockfish *Sebastes schlegeli* fed diets containing soybean meal. Aquaculture, 243, 315-322.
- Youn, H.K., H.S. Choi, S.H. Hur and J.H. Hong, 2001. Antimicrobial activities of viscous substance from CheonggukJang fermented with different *Bacillus* spp., J. Food Hyg. Saf., 19, 288-293.
- Yuan, X., H. Yang, Y. Zhou, Y. Mao, T. Zhang and Y. Liu, 2006. The influence of diets containing dried bivalve feces and/or powdered algae on growth and energy distribution in sea cucumber *Apostichopus japonicus* (Selenka) (Echinodermata: Holothuroidea). Aquaculture, 256, 457-467.
- Zeitoun, I.H., D.E. Ullre and W.T. Magee, 1976. Quantifying nutrient requirements of fish. J. Fish. Res. Board Can. 33, 167-172.
- Zhang B., D. Sun and Y. Wu, 1995. Preliminary analysis on the feeding habit of *Apostichopus japonicus* in the rocky coast waters off Lingshan Island. Marine Scie., 3, 11-13.

- Zhang, Q. and Y. Liu, 1998. The culture and enhancement techniques of sea cucumbers and sea urchins. Qingdao Ocean Univ., Publishing House, Qingdao, China, p. 157.
- Zhou, Y., H. Yang, S. Liu, X.T. Yuan, Y. Mao, Y. Liu, W.L. Xu and F. Zhang, 2006. Feeding and growth on bivalve biodeposits by the deposit feeder *Stichopus japonicus* Selenka (Echinodermata: Holothuroidea) co-cultured in lantern nets. *Aquaculture*, 256, 510-520.
- Zhu, W., K. Mai and G. Wu, 2002. Thiamine requirement of juvenile abalone, *Haliotis discus hannai* Ino. *Aquaculture*, 207, 331-343.
- 수산기술지, 2004. 해양수산부.