

발간등록번호  
11-1541370-000054-01

과학원간행물번호  
TR-2009-AQ-001

# **고효율 배합사료 개발 및 실용화 연구 - I**

**Studies on development of high quality practical feed**

**주관연구기관 : 국립수산과학원**

**협동연구기관 : 강릉대학교**

**농림수산식품부  
국립수산과학원**

# **고효율 배합사료 개발 및 실용화 연구 - I**

**Studies on development of high quality practical feed**

**주관연구기관 : 국립수산과학원**

**협동연구기관 : 강릉대학교**

**농림수산식품부**

**국립수산과학원**

# 제 출 문

농림수산식품부장관 귀하

본 보고서를 “고효율 배합사료 개발 및 실용화 연구” 과제의 1차년도 보고서로 제출합니다.

2009년 1월 일

주관연구기관명 : 국립수산과학원 양식사료연구센터

총괄연구책임자 : 강용진

참여연구원 : 김경덕, 이해영, 김강웅, 장미순,  
이종윤, 최세민, 정재훈, 배승철,  
조성환, 박홍식, 박광식, 유진형,  
허 양, 김광익, 송기천, 황부경,  
허셋별, 이성길, 정안숙, 김충일

협동연구기관명 : 강릉대학교

협동연구책임자 : 이상민

참여연구원 : 김정호, 홍수희, 변희국, 조성환,  
이경준, 서주영, 김동규, 박원경,  
김방래, 이충열, 전돈준, 김용석,  
이상태, 박성오, 안관수, 김원기,  
허덕희, 정지혜, 김성삼, 오대한

## 보고서 요약

과제관리번호		해당단계 연구기간	2008. 1. ~2008. 12.	단계 구분	1년
과 제 명	고효율 배합사료 개발 및 실용화 연구				
세 부 과 제 명					
연구책임자	강용진	해당단계 참여연구원수	총: 41명 내부: 11명 외부: 30명	해당단계 연구비	정부: 400,000천원 기업:        천원 계: 400,000천원
과제소관부서명	양식사료연구센터		참여기업명		
국제공동연구	상대국명:		상대국연구기관명:		
위 탁 연 구	연구기관명: 강릉대학교		연구책임자 : 이상민		
요 약				보고서 면 수	241면
<p>본 연구는 양식 넙치의 성장이나 어체의 품질에서 생사료를 대체할 수 있는 고효율 배합사료를 개발하고자 수행하였다.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>○ 양식사료의 주요원료에 대한 영양성분(일반성분, 미량영양소) 및 안전성분분을 분석하였으며, 원료별 소화율 및 어분 종류별 넙치의 이용성을 조사하였다.</li> <li>○ 고품질 배합사료 개발을 위한 실험사료 제조 및 사육실험을 실시하였으며, 사료종류별 육질 평가를 위하여 성분분석 및 물성측정을 실시하였다.</li> <li>○ 어체 비만도 향상을 위하여 넙치의 성장단계별로 배합사료의 지질원, 지질함량, 비타민 E 첨가 등이 넙치의 성장, 혈액성상, 근육의 지방산 조성 및 물리적 변화 등에 미치는 영향을 조사하였다.</li> <li>○ 기능성 어류 생산 및 면역력 증강 사료 개발을 위하여 다양한 기능성 원료 및 사료 첨가제의 사용하여 넙치의 성장, 면역, 유전자 발현, 병리조직학적 변화를 조사하였다.</li> </ul>					
색 인 어	한 글	고효율 배합사료, 사료원료, 육질평가, 어체 비만도, 기능성 어류, 면역력			
	영 어	High quality practical feed, feed ingredients, evaluation of fish quality, condition factor, functional fish, immune response			

# 목 차

요 약 문 .....	1
제 1 장 연구개발과제의 개요 .....	35
제 2 장 국내외 기술개발 현황 .....	36
제 3 장 연구개발 내용 및 결과 .....	37
제 1 절 사료원료 성분특성 연구 .....	37
1. 사료원료 사용현황 .....	37
2. 사료원료별 성분분석 .....	41
3. 사료원료별 소화율 측정 .....	58
4. 배합사료의 어분종류가 넙치 치어의 성장 및 체조성에 미치는 영향 .....	65
제 2 절 고품질 배합사료 개발 .....	71
1. 고품질 배합사료 제조 및 평가시험 .....	71
2. 사료종류별 육질평가 .....	81
3. 지역별 양식장 사료급이 현황 조사 .....	93
4. 사육수조 크기별 넙치 치어의 고수온기 일간성장률 조사 .....	106
제 3 절 어체품질 향상을 위한 연구 .....	109
3.1. 어체 비만도 향상 연구 .....	109
1. 배합사료의 지질원 및 함량이 넙치 치어의 성장, 혈액성상 및 근육 지방산 조성에 미치는 영향 .....	109
2. 배합사료의 지질원 및 함량이 넙치 육성어의 성장, 혈액성상 및 근육 지방 산 조성에 미치는 영향 .....	119

3. 배합사료의 지질원 및 함량이 넙치 성어의 성장, 혈액성상 및 근육 지방산 조성에 미치는 영향 .....	126
4. 배합사료의 지질원 및 함량과 비타민 E 첨가가 넙치 치어의 성장, 혈액 성 상 및 근육 지방산 조성에 미치는 영향 .....	133
5. 배합사료의 지질원 및 함량과 비타민 E 첨가가 넙치 육성어의 성장, 혈액 성상 및 근육 지방산 조성에 미치는 영향 .....	140
<b>3.2. 기능성 어류 생산을 위한 배합사료 개발 연구 .....</b>	<b>145</b>
1. 배합사료내 다양한 첨가제가 넙치 치어의 성장, 혈액 성상 및 근육 지방산 조성에 미치는 영향 .....	145
2. 배합사료내 다양한 첨가제가 넙치 육성어의 성장, 혈액 성상 및 근육 지방 산 조성에 미치는 영향 .....	153
<b>3.3. 면역증가를 위한 사료 연구 .....</b>	<b>158</b>
1. 다양한 사료첨가제 공급이 넙치의 성장, 체조성 및 면역력 향상에 미치는 영향 .....	158
2. 사료 내 스피롤리나, 아스타잔틴, 톳·감태의 첨가가 넙치의 비특이적 면역 반응과 어병세균( <i>Edwardsiella tarda</i> ) 저항성에 미치는 영향 .....	170
3. 사료 조성에 따른 넙치의 유전자 발현양상 분석 .....	188
4. 사료첨가제 투여에 따른 넙치의 병리조직학적 변화 .....	214
<b>제 4 장 연구개발 목표달성도 및 관련분야에의 기여도 .....</b>	<b>226</b>
<b>제 5 장 연구개발 결과의 활용계획 .....</b>	<b>228</b>
<b>제 6 장 참고문헌 .....</b>	<b>229</b>

# Contents

Summary .....	19
Chapter 1 Introduction .....	35
Chapter 2 Present status of technical development in domestic and overseas countries .....	36
Chapter 3 Results .....	37
Section 1. Studies on availability of feed ingredients .....	37
1. Present status of feed ingredients supply .....	37
2. Chemical composition of feed ingredients .....	41
3. Determination of apparent digestibility of feed ingredients for flounder at summer and winter seasons .....	58
4. Effects of the different fishmeal in diets on the growth and body composition of the juvenile flounder .....	65
Section 2. Development of high quality practical feed .....	71
1. Evaluation of extruded pellets as a growing diet for flounder .....	71
2. Evaluation of the muscle quality of flounder fed EP and MP .....	81
3. Investigation of the present state of feeding in flounder farms at the different area .....	93
4. Effects of rearing tank size on growth and feed intake of flounder .....	106
Section 3. Studies on improvement of fish quality .....	109
3.1 Improvement of body mass index of fish .....	109
1. Effects of dietary lipid sources and levels on growth performance, blood chemistry, and fatty acid composition of juvenile flounder .....	109
2. Effects of dietary lipid sources and levels on growth performance, blood chemistry, and fatty acid composition of growing flounder .....	119
3. Effects of dietary lipid sources and levels on growth performance, blood	

chemistry, and fatty acid composition of adult flounder .....	126
4. Growth, hematological indices and fatty acid composition of the dorsal muscle in juvenile founder fed the formulated diets containing different lipid source and level with or without vitamin E .....	133
5. Growth, hematological indices and fatty acid composition of the dorsal muscle in growing founder fed the formulated diets containing different lipid source and level with or without vitamin E .....	140
<b>3.2 Development of practical feed for production of functional fish ..</b>	<b>145</b>
1. Effects of dietary additives on growth performance, hematological parameters, fatty acid of dorsal muscle in juvenile flounder .....	145
2. Effects of dietary additives on growth performance, hematological parameters, fatty acid of dorsal muscle in growing flounder .....	153
<b>3.3 Studies on nutraceuticals as dietary additives for improvement of immune response in fish .....</b>	<b>158</b>
1. Effects of various sources of dietary additives on growth, body composition and immune response of flounder .....	158
2. Effects of dietary supplementation of <i>Spirulina pacifica</i> , astaxanthin, and alga mixture ( <i>Hizikia fusiformes</i> and <i>Ecklonia cava</i> ) on non-specific immune responses and disease resistance against <i>Edwardsiella tarda</i> in flounder .....	170
3. Gene expression analysis after feeding diets .....	188
4. Histopathological changes of flounder by administration of various feed additives .....	214
 <b>Chapter 4 Goal attainment of the present project and contribution to related field .....</b>	 <b>226</b>
 <b>Chapter 5 Application plan of results .....</b>	 <b>228</b>
 <b>Chapter 6 References .....</b>	 <b>229</b>



## 표 목 차

표 1-1. 사료원료별 가격동향 .....	38
표 1-2. 사료원료별 생산량 및 수입량 .....	39
표 1-3. 사료원료의 일반성분 .....	44
표 1-4. 사료원료의 아미노산 조성 .....	47
표 1-5. 사료원료의 지방산 조성 .....	51
표 1-6. 사료원료의 무기물 함량 .....	55
표 1-7. 사료원료 소화율 연구 기초사료 조성 .....	60
표 1-8. 사료원료 소화율 연구에 사용된 원료 영양성분 .....	62
표 1-9. 사료원료 소화율 연구에 사용된 실험사료 영양성분 .....	62
표 1-10. 어분종류별 이용성 연구 실험사료 조성 .....	67
표 1-11. 어분종류별 이용성 연구 사육실험 결과 .....	69
표 1-12. 어분종류별 이용성 연구 어체분석 결과 .....	70
표 2-1. 고품질 배합사료 개발 연구의 실험사료 .....	74
표 2-2. 고품질 배합사료 개발 연구 실험사료 아미노산 조성 .....	75
표 2-3. 고품질 배합사료 개발 연구 실험사료 지방산 .....	76
표 2-4. 고품질 배합사료 개발 연구 사육결과 .....	79
표 2-5. 고품질 배합사료 개발 연구 전어체 분석결과 .....	80
표 2-6. 사료종류별 육질평가 연구 실험사료 .....	85
표 2-7. 사료종류별 육질평가 연구 실험어 등근육 일반성분 .....	86
표 2-8. 사료종류별 육질평가 연구 실험사료 지방산 조성 .....	86
표 2-9. 사료종류별 육질평가 연구 실험어 등근육 지방산 조성 .....	88
표 2-10. 사료종류별 육질평가 연구 실험어 등근육 유리아미노산 조성 .....	90
표 2-11. 사료종류별 육질평가 연구 실험어 등근육 핵산관련물질 함량 .....	91
표 2-12. 사료종류별 육질평가 연구 실험어 등근육 물성평가 .....	92
표 2-13. 제주지역 A수산 넙치 배합사료(EP) 사육현황 .....	95
표 2-14. 제주지역 A수산 넙치 습사료(MP) 사육현황 .....	96
표 2-15. 제주지역 B수산 넙치 배합사료(EP) 사육현황 .....	99
표 2-16. 제주지역 B수산 넙치 습사료(MP) 사육현황 .....	100

표 2-17. 경북지역 A수산의 넙치 배합사료(EP) 사육현황 .....	103
표 2-18. 경북지역 A수산의 넙치 습사료(MP) 사육현황 .....	103
표 2-19. 경북지역 B수산의 넙치 배합사료(EP) 사육현황 .....	106
표 2-20. 경북지역 B수산의 넙치 습사료(MP) 사육현황 .....	106
표 2-21. 사육수조 크기별 연구 넙치 치어의 일반성분 .....	109
표 3-1. 배합사료 지질원 및 함량 연구 실험사료 조성 .....	113
표 3-2. 배합사료 지질원 및 함량 연구 실험사료 지방산 조성 .....	114
표 3-3. 배합사료 지질원 및 함량 연구 넙치 치어 성장 및 비만도 .....	115
표 3-4. 배합사료 지질원 및 함량 연구 넙치 치어 사료효율 및 사료섭취율 .....	116
표 3-5. 배합사료 지질원 및 함량 연구 넙치 치어 혈액성상 .....	117
표 3-6. 배합사료 지질원 및 함량 연구 넙치 치어 등근육 지방산 조성 .....	118
표 3-7. 배합사료 지질원 및 함량 연구 넙치 육성어 성장 및 비만도 .....	121
표 3-8. 배합사료 지질원 및 함량 연구 넙치 육성어 사료효율 및 사료섭취율 .....	122
표 3-9. 배합사료 지질원 및 함량 연구 넙치 육성어 혈액성상 .....	123
표 3-10. 배합사료 지질원 및 함량 연구 넙치 육성어 등근육 지방산 조성 .....	124
표 3-11. 배합사료 지질원 및 함량 연구 넙치 육성어 관능평가 .....	124
표 3-12. 배합사료 지질원 및 함량 연구 넙치 육성어 관능평가 .....	125
표 3-13. 배합사료 지질원 및 함량 연구 넙치 성어 성장 및 비만도 .....	128
표 3-14. 배합사료 지질원 및 함량 연구 넙치 성어 사료효율 및 사료섭취율 .....	129
표 3-15. 배합사료 지질원 및 함량 연구 넙치 성어 혈액성상 .....	130
표 3-16. 배합사료 지질원 및 함량 연구 넙치 성어 등근육 지방산 조성 .....	131
표 3-17. 배합사료 지질원 및 함량 연구 넙치 성어 등근육 물성평가 .....	132
표 3-18. 배합사료 지질원 및 비타민 E 첨가연구 실험사료 조성 .....	135
표 3-19. 배합사료 지질원 및 비타민 E 첨가연구 넙치 치어 성장 및 비만도 .....	136
표 3-20. 배합사료 지질원 및 비타민 E 첨가연구 넙치 치어 사료효율 .....	137
표 3-21. 배합사료 지질원 및 비타민 E 첨가연구 넙치 치어 혈액성상 .....	138
표 3-22. 배합사료 지질원 및 비타민 E 첨가연구 넙치 치어 등근육 지방산 .....	139
표 3-23. 배합사료 지질원 및 비타민 E 첨가연구 넙치 육성어 성장 및 비만도 .....	140
표 3-24. 배합사료 지질원 및 비타민 E 첨가연구 넙치 육성어 사료효율 .....	141
표 3-25. 배합사료 지질원 및 비타민 E 첨가연구 넙치 육성어 혈액성상 .....	141

표 3-26. 배합사료 지질원 및 비타민 E 첨가연구 넙치 육성어 등근육 지방산	144
표 3-27. 배합사료 첨가제 연구 실험사료 조성	148
표 3-28. 배합사료 첨가제 연구 넙치 치어 성장 및 비만도	149
표 3-29. 배합사료 첨가제 연구 넙치 치어 사료효율 및 섭취율	150
표 3-30. 배합사료 첨가제 연구 넙치 치어 혈액성상	151
표 3-31. 배합사료 첨가제 연구 넙치 치어 등근육 지방산	152
표 3-32. 배합사료 첨가제 연구 넙치 육성어 성장 및 비만도	155
표 3-33. 배합사료 첨가제 연구 넙치 육성어 사료효율 및 섭취율	155
표 3-34. 배합사료 첨가제 연구 넙치 육성어 혈액성상	156
표 3-35. 배합사료 첨가제 연구 넙치 육성어 등근육 지방산	157
표 3-36. 사료첨가제별 면역력 향상 연구 실험사료 조성	164
표 3-37. 사료첨가제별 면역력 향상 연구 넙치 성장	165
표 3-38. 사료첨가제별 면역력 향상 연구 넙치 사료효율 및 비만도	166
표 3-39. 사료첨가제별 면역력 향상 연구 넙치 어체성분	167
표 3-40. 사료첨가제별 비특이적 면역반응 연구 실험사료 조성	173
표 3-41. 사료첨가제별 비특이적 면역반응 연구 실험사료 영양성분	174
표 3-42. 사료조성별 유전자 발현양상 분석에 사용된 primer	188
표 3-43. 사료조성별 유전자 발현양상 분석의 sequence of PCR products	189
표 3-44. 사료 지질원 및 함량에 따른 넙치의 유전자 발현	193
표 3-45. 사료 지질원 및 함량과 비타민 E 첨가에 따른 넙치의 유전자 발현	199
표 3-46. 사료첨가제별 넙치의 유전자 발현	205

## 그림 목 차

그림 1-1. 사료원료 소화율 연구 사육수조 .....	61
그림 1-2. 넙치 육성어의 사료원료별 건물 소화율 .....	64
그림 1-3. 넙치 육성어의 사료원료별 조단백질 소화율 .....	64
그림 2-1. 사육수조 크기에 따른 넙치 치어의 성장 .....	109
그림 3-1. 사료첨가제별 면역력 향상 연구 넙치 보체활성 .....	168
그림 3-2. 사료첨가제별 면역력 향상 연구 넙치 보체활성 .....	168
그림 3-3. 사료첨가제별 면역력 향상 연구 넙치 응집항체가 .....	169
그림 3-4. 사료첨가제별 비특이적 면역반응 연구 사육수조 .....	175
그림 3-5. 사료첨가제별 비특이적 면역반응 연구 세균공격 실험수조 .....	178
그림 3-6. 스피롤리나 함량별 넙치 NBT 활성 .....	180
그림 3-7. 스피롤리나 함량별 넙치 MPO 활성 .....	180
그림 3-8. 스피롤리나 함량별 넙치 SOD 활성 .....	181
그림 3-9. 스피롤리나 함량별 넙치 세균공격 실험결과 .....	181
그림 3-10. 아스타잔틴 함량별 넙치 NBT 활성 .....	182
그림 3-11. 아스타잔틴 함량별 넙치 SOD 활성 .....	183
그림 3-12. 아스타잔틴 함량별 넙치 간의 비타민 C 함량 .....	183
그림 3-13. 아스타잔틴 함량별 넙치 세균공격 실험결과 .....	184
그림 3-14. 해조류 함량별 넙치 NBT 활성 .....	185
그림 3-15. 해조류 함량별 넙치 DPPH radical scavenging 활성 .....	185
그림 3-16. 해조류 함량별 사료 폴리페놀 함량 .....	186
그림 3-17. 해조류 함량별 넙치 세균공격 실험결과 .....	186
그림 3-18. 사료조성별 넙치 유전자 발현양상 (dissociation curve) .....	190
그림 3-19. 사료조성별 넙치 유전자 발현양상 (amplification plot) .....	190
그림 3-20. 사료조성별 넙치 신장, 장, 간의 $\Delta Ct$ gene 함량 .....	191

그림 3-21. 사료조성별 넙치 크기에 따른 신장, 장, 간의 $\Delta$ Ct gene 함량 .....	191
그림 3-22. 사료 지질원 및 함량별 넙치의 TNF- $\alpha$ gene expression .....	195
그림 3-23. 사료 지질원 및 함량별 넙치의 IL-1beta gene expression .....	195
그림 3-24. 사료 지질원 및 함량별 NK-cell enhancing factor gene expression ..	196
그림 3-25. 사료 지질원 및 함량별 넙치의 gelsolin gene expression .....	196
그림 3-26. 사료 지질원 및 함량별 NADH dehydrogenase gene expression .....	197
그림 3-27. 사료 지질원 및 함량별 cytochrome oxidase gene expression .....	197
그림 3-28. 사료 지질원 및 함량별 넙치의 myosin gene expression .....	198
그림 3-29. 사료 지질원 및 함량과 비타민 E 첨가별 TNF- $\alpha$ gene expression .....	201
그림 3-30. 사료 지질원 및 함량과 비타민 E 첨가별 IL-1beta gene expression ..	201
그림 3-31. 사료 지질원 및 함량과 비타민 E 첨가별 gelsolin gene expression ..	202
그림 3-32. 사료 지질원 및 함량과 비타민 E 첨가별 NK-cell enhancing factor gene expression .....	202
그림 3-33. 사료 지질원 및 함량과 비타민 E 첨가별 NADH dehydrogenase gene expression .....	203
그림 3-34. 사료 지질원 및 함량과 비타민 E 첨가별 cytochrome oxidase gene expression .....	203
그림 3-35. 사료 지질원 및 함량과 비타민 E 첨가별 myosin gene expression ..	204
그림 3-36. 사료첨가제별 넙치의 TNF- $\alpha$ gene expression .....	207
그림 3-37. 사료첨가제별 넙치의 IL-1beta gene expression .....	207
그림 3-38. 사료첨가제별 넙치의 NK-cell enhancing factor gene expression .....	208
그림 3-39. 사료첨가제별 넙치의 gelsolin gene expression .....	208
그림 3-40. 사료첨가제별 넙치의 NADH dehydrogenase gene expression .....	209
그림 3-41. 사료첨가제별 넙치의 cytochrome oxidase gene expression .....	209
그림 3-42. 사료조성별 넙치의 myosin gene expression .....	210
그림 3-43. 사료 지질원 및 함량별 넙치의 보체활성 .....	211

그림 3-44. 사료 지질원 및 함량과 비타민 E 첨가별 넙치의 보체활성 .....	211
그림 3-45. 사료첨가제별 넙치의 보체활성 .....	212
그림 3-46. 사료첨가제별 넙치의 라이소자임 활성 .....	213
그림 3-47. 대조구 넙치의 아가미, 장, 위, 신장, 간 조직 .....	215
그림 3-48. 해조류 분말 첨가구 넙치의 간, 위 조직 .....	216
그림 3-49. 크릴분말 첨가구 넙치의 간, 장, 위 조직 .....	217
그림 3-50. 마늘 분말 첨가구 넙치의 간, 위, 아가미 조직 .....	218
그림 3-51. 감귤분말 첨가구 넙치의 간, 장, 위 조직 .....	219
그림 3-52. 첨가제 혼합 공급구 넙치의 간, 장, 위 조직 .....	220
그림 3-53. 양파분말 첨가구 넙치의 간, 장, 위 조직 .....	221
그림 3-54. 생강분말 첨가구 넙치의 간, 위 조직 .....	222
그림 3-55. 약썩 첨가구 넙치의 간, 위, 장 조직 .....	223
그림 3-56. 감초 첨가구 넙치의 간 조직 .....	224
그림 3-57. 고추냉이 분말 첨가구 넙치의 간, 위 조직 .....	224

# 요 약 문

## I. 제 목

- 고효율 배합사료 개발 및 실용화 연구 - I

## II. 연구개발의 목적 및 필요성

해산어 양식의 발달로 양식생산량이 지속적으로 증가하고 있음에도 불구하고 양식용 사료는 주로 생사료를 공급하고 있어 연간 사료소비량이 45만 톤에 이르고 생사료 부족분은 수입에 의존하고 있는 실정이다. 그러나 생사료 위주의 양식은 어장 환경 오염, 사료자원 확보를 위한 연안자원 남획 등 여러 가지 문제점이 있으므로, 지속적인 양식을 위해서는 배합사료의 사용이 필수적이다. 따라서 양식어의 성장이나 어체품질에 있어서 생사료 보다 우수한 고품질의 배합사료를 개발하여 보급해야만 할 것이다.

지금까지 양식어류 배합사료에 관해 영양소 요구량 설정 등 기초적인 연구가 계속 수행되고 있고, 이와 함께 양식 생산 단가에 높은 비중을 차지하고 있는 사료비를 절감시키기 위한 배합사료 연구도 수행되고 있다. 하지만 대상종 배합사료가 연구되고 있다 하더라도 그 품질을 계속 개선하여 사료효율을 높이는 한편, 값비싼 영양소의 첨가 수준을 최소화하여 사료원가를 줄이는 연구와 양식어의 성장과 품질을 개선시키기 위한 노력은 계속되어야 할 것이다. 즉, 어류의 성장을 증진시키거나 품질을 개선시키는 미지의 인자를 구명하는 것은 어렵지만, 이들의 식성 등을 고려하여 사료섭취 유인 물질이나 성장이나 양식어의 육질 개선 또는 면역을 증강시키는 원료를 사료에 첨가하여 사료의 품질을 개선하려는 연구가 필요하다.

특히 생사료 공급에 비해 배합사료 공급 시 문제가 되고 있는 어체 비만도 향상에 대한 연구가 시급하며, 환경오염 및 수산용 항생제 등의 남용으로 양식생물 안전성 문제가 대두되고 있는 현재 안전한 기능성 양식어류 개발로 소비자 중심의 건강식 식품 생산 및 공급 필요하다. 따라서 배합사료로 안전성과 기능성 어류 생산을 위한 연구가 필요하다. 이를 위해 본 연구는 양식어의 성장 및 어체의 품질에 있어서 생사료 보다 우수한 고품질 배합사료를 개발하고자 한다.

### Ⅲ. 연구개발 내용 및 범위

#### 1. 사료원료 성분특성 연구

사료원료는 종류에 따라 영양소함량, 기호성 및 이용성 등이 다르기 때문에 어종의 생리적 특성에 맞는 사료원료의 선택이 매우 중요하다. 사료원료는 단백질원료, 탄수화물원료, 지질원료 및 무기질원료 등으로 분류된다. 해산어는 이 중에서 단백질 원료에 대한 의존도가 높으며, 어분이 가장 많이 사용되고 있는 사료원료이다. 본 연구에서는 양식배합사료의 원료로 많이 사용되고 있는 사료원료, 어분(원료종류별, 등급별), 오징어분, 새우분, 참치분, 육분, 크릴분, 대두박, 콘글루텐밀, 소맥분 등을 구입하여 일반성분(수분, 조단백질, 조지방, 조회분, 조섬유, 열량), 미량영양소(칼슘, 인, 셀레늄, 아미노산, 지방산) 및 안전성성분(크롭, 납, 카드뮴, 비소)을 분석하였다. 또한 시판되고 있는 어분종류별 원료, 대두박, 콘글루텐밀, 소맥분에 대한 수온별 넙치의 영양소 소화율(건물, 조단백질)을 조사하였으며, 고품질 배합사료 설계를 위한 사료원료 선택을 위하여 어분 종류를 달리한 여러 종류의 실험사료를 제조하여 넙치를 사육실험하고 성장도, 사료효율, 사료섭취율 및 체조성 변화를 조사하였다.

#### 2. 고품질 배합사료 개발

넙치와 같은 해산어 양식을 위하여 많이 사용되고 있는 습사료를 대체하여 사용할 수 있는 고품질의 실용배합사료를 개발하기 위하여 기존에 수행된 영양요구 및 사료원료 이용성 연구결과를 토대로 넙치 육성용 실험배합사료를 설계·제조하여 사육효과 실험을 실시하였다. 실험사료는 자체적으로 사료 조성한 실험사료, 사료회사에서 제조한 실험사료, 시판되고 있는 수입사료 및 습사료를 사용하였다. 사육실험 종료 후, 성장도, 사료효율, 사료섭취율 및 전어체의 성분변화를 조사하였다. 또한 실험사료별로 어체 등근육의 일반성분, 지방산(고도불포화지방산 등), 유리아미노산(타우린, 아스파라긴산 등), 핵산관련물질(IMP, AMP, ADP, ATP 등) 및 물성평가를 실시하여 사료종류별 육질평가를 실시하였다.



우리나라 지역별(경북, 제주 등) 양식장의 EP 및 MP 사료 급이현황 및 월별 넙치 성장도를 조사하여 배합사료 급이체계 설정을 위한 기초자료로 사용하고자 하였으며, 넙치 배합사료 급이체계 설정을 위하여 기존에 실험실 규모의 수조에서 수행된 사료급이율 및 급이횟수와 같은 급이조건에 관한 연구 결과들의 양식현장 적용 가능성을 조사하기 위하여 사육수조의 크기(350 ℓ, 1400 ℓ, 3000 ℓ)가 넙치 치어의 성장 및 사료섭취율에 미치는 영향을 조사하였다.

### 3. 어체품질 향상을 위한 연구

기존의 사료 원료 및 영양 연구 등 관련 연구 결과 조사하여 영양소를 조사 및 분석한 후, 비만도와 관련된 영양소가 함유된 원료를 탐색 및 구입하였다. 원료의 가공 및 분석 (moisture, protein, lipid, ash, energy, fatty acids 등)과 사료 배합비를 설계 하여 사료 주요 성분 및 함량에 따른 넙치의 비만도를 조사하였다(단백질, 지질, 에너지 함량 또는 비율에 따른 어체 비만도 향상 조사). 또한 넙치 사육 기간별로 어체 sampling 및 사육 종료 후 넙치 어체를 분석하였다.

분석 항목으로 성장효과로는 SGR, feed efficiency, PER, HSI, VSI, CF 등을 분석하였으며, 영양소 축적효율로 protein retention, energy retention, lipid retention 등을 분석하였다. 또한 Blood chemistry 및 체조성으로 moisture, protein, lipid, ash, energy, fatty acids 등을 분석하였다. 관능검사는 자연산, 생사료 공급구, 배합사료 공급구 간에 차이점을 평가하였으며, 조직 검사 및 비특이적 면역 활성을 분석하였다. 본 연구를 바탕으로 양식 넙치 비만도 향상을 위한 사료조성 구명하고 2-3차년도에서 점차적으로 생사료 공급시보다 좋은 비만도를 가진 넙치 생산을 위한 배합사료 개발을 목적으로 하고 있다.

기능성 영양소 탐색 및 기존의 연구 결과를 조사하여 기능성 영양 물질(지방산, 비타민, 미량영양소 등)을 탐색하고 기능성 관련 원료 및 영양소 함유 물질 구입한 후, 원료 가공 및 분석 (moisture, protein, lipid, ash, energy, amino acids, fatty acids, 기능성 화합물, 등) 및 사료 배합비를 설계하고 분석하였다. 넙치 사육 효과 기초 조사는 종류별 첨가에 따른 기초 조사 (효과 있는 영양소에 대한 연구는 차기년도에서 계속 조사)와 사육 기간별로 어체의 대사, 축적 및 독성을 조사하였다. 사육 종료 후 어체 분석항목으로서 성장효과는 SGR, feed efficiency, PER, HSI, VSI,

CF 등을 분석하였고, 영양소 축적효율로는 protein retention, energy retention, lipid retention 등을 분석하였다. 또한 Blood chemistry 및 근육 성분분석(moisture, lipid, fatty acids 등)을 분석하였으며, 조직 검사, 비특이적 면역 활성화 및 유전자 발현 변의를 분석하였다. 본 연구를 바탕으로 기능성 양식 넙치 생산을 위한 기초 사료를 조성하였다.

기능성 물질 탐색 및 기존의 연구 결과를 조사하여 천연물질(생약제, 한약제, 천연물 등)을 탐색하고 기능성 함유 물질 구입한 후, 원료 가공 및 분석 (moisture, protein, lipid, ash, energy, amino acids, fatty acids, 기능성 화합물 등), 사료 배합비 설계 및 분석을 실시하였다. 넙치 사육 효과 조사로써 종류별 첨가에 따른 조사(효과 있는 원료에 대한 연구는 차기년도에서 계속 조사), 사육 기간별로 어체 대사 및 축적 및 독성 조사를 실시하였다. 사육 종료 후 어체 분석항목으로 성장효과는 SGR, feed efficiency, PER, HSI, VSI, CF 등을 분석하였으며, 영양소 축적효율로는 protein retention, energy retention, lipid retention 등을 분석하였다. 또한 Blood chemistry 및 근육 성분조성(moisture, lipid, fatty acids 등)을 분석하였으며, 조직 검사, 비특이적 면역검사 및 유전자 발현 변의를 분석하였다. 본 연구를 바탕으로 면역성 물질 효과 조사 및 기능성 양식 넙치 생산을 위한 기초 사료를 조성하였다.

#### IV. 연구개발 결과 및 활용에 대한 건의

##### 1. 사료원료 성분특성 연구

###### 1.1. 사료원료 사용 현황

양어사료에서 가장 많이 사용되고 있는 사료원료인 어분의 실제 구매 가격은 원자재 및 환율상승 등의 원인으로 전년도에 비해 70%이상 상승하였으며, 그 외 식물성 단백질원인 대두박, 옥수수, 밀가루 등도 상승폭이 증가하고 있어 대부분의 사료원료를 수입에 의존하고 있는 국내양어 사료업계는 사료생산 및 단가 유지가 상당히 어려운 실정이다. 또한 국산어분 및 오징어간분도 생산비용도 20-30% 정도 상승하였으나 수입산 원료에 비해 상승폭이 낮은 경향을 보이고 있으며, 그 외 사료원료 중에서 비타민 E와 콜린의 가격이 많이 상승한 실정이다. 어분의 국내생산량 및 수입량은 06년에 비하여 07년도에 감소하였으며, 대신 어즙흡착의 생산량이 대

폭 증가하였다. 육골분의 국산생산량은 06년 및 07년 간에 별다른 차이가 없었으나, 광우병에 대한 우려로 수입은 대폭 감소한 실정이며, 수입산 대두는 소량 증가하였고, 옥수수 및 면실의 수입량은 별 다른 변화가 없었다.

## 1.2. 사료원료별 성분분석

양식용 배합사료 제조를 위하여 사용되고 있는 주요 사료원료들의 일반성분, 미량영양소 및 안전성성분을 분석한 결과, 명태류 및 대구류를 원료로 제조한 백색어분 상급제품의 조단백질은 70% 전후로 상당히 높은 함량을 보였으며, 멸치류, 연어류, 전갱이류, 정어리류 등으로 제조한 갈색어분 상급제품도 조단백질이 65-70% 정도로 높은 함량을 보였다. 국내에서 제조된 어분의 경우 조단백질이 52-56% 정도로 수입어분에 비하여 낮은 함량을 보였다. 참치어분 및 크릴분은 조단백질이 60% 전후, 새우분과 오징어간분은 조단백질이 50% 내외였으며, 육분(CP 85%), 오징어분(CP 75%)도 상당히 높은 조단백질 함량을 보였다. 식물성 사료원료들의 조단백질 함량은 대두박이 46% 전후였으며, 콘글루텐밀이 60% 전후, 소맥글루텐이 76%, 잠박 70%, 호마박 44% 전후였다. 소맥분의 경우 품질에 따라서 조단백질 함량이 12-18% 수준이었다. 아미노산 조성은 어분과 비교하여 대두박은 황함유 아미노산인 메티오닌의 함량이, 콘글루텐밀은 아르지닌 및 라이신 함량이 다소 낮았다. 지방산의 경우 어분, 새우분, 오징어분 등의 원료에서는 20:5n-3 및 22:6n-3 등이 다량 함유 되어 있었으며, 대두박, 콘글루텐밀, 소맥분과 같은 식물성 원료의 경우 18:2n-6이 높은 함량을 보였으나, n-3계 고도불포화지방산은 존재하지 않았다.

무기물 성분 중 칼슘과 인은 어분의 경우 각 시료에 따라 다소 차이는 있었으나, 2% 전후로 함유되어 있었고, 식물성 사료원료에는 1% 이하로 어분을 포함한 동물성 원료에 비하여 낮은 함량을 보였다. 셀레늄은 어분 종류에 따라 그 함량에 많은 차이를 보였으며, 대두박 및 콘글루텐밀 등의 식물성 원료에서는 0.5ppm 이하 수준이었다. 크롬 및 납은 모든 원료에서 4 ppm 이하의 수준이었고, 카드뮴은 오징어간분과 오징어분에서 높게 나타났으며, 비소는 모든 시료에서 10 ppm 이하의 수준을 보였다.

## 1.3. 사료원료별 소화율 측정

본 연구에서는 넙치용 고효율 배합사료 개발을 위하여 육성기 넙치를 대상으로

하여 일반적으로 양식 배합사료에 가장 많이 이용되고 있는 다양한 어분(7종류)과 대두박, 콘글루텐밀 및 소맥분에 대한 소화율을 측정하였다. 사육수온에 따른 넙치 육성어의 사료원료별 건물 소화율은 하절기 및 동절기 모두 어분 종류에 따른 차이는 없었다. 그러나 하절기 각 어분의 건물 소화율은 동절기에 비하여 높은 경향을 보였다. 대두박, 콘글루텐밀 및 소맥분의 건물 소화율은 실험에 사용된 모든 어분에 비하여 유의하게 낮은 값을 보였으며, 소맥분은 대두박 및 콘글루텐밀 보다 낮은 건물 소화율을 보였다. 하절기의 모든 어분 종류별 조단백질 소화율은 90% 이상으로 높은 소화율을 보였으며, 명태 및 연어류로 제조한 어분 시료에서 가장 높은 결과를 보였다. 어분 종류별 조단백질 소화율은 계절에 따른 특별한 변화 경향은 보이지 않았으며, 대두박과 콘글루텐밀의 조단백질 소화율은 모든 어분에 비하여 유의하게 낮았다.

#### 1.4. 배합사료의 어분종류가 넙치 치어의 성장 및 체조성에 미치는 영향

본 연구는 넙치 치어 사료의 어분 종류가 넙치 치어의 성장 및 체조성에 미치는 영향을 조사하기 위하여 수행되었다. 어분 종류를 달리한 실험사료로 8주간 사육 실험한 결과, 일일사료섭취량은 모든 실험구에서 유의적인 차이가 나타나지 않았으며다. 증체율 및 일간성장률에 있어서는 칠레산 정어리어분과 전갱이어분실험구가 덴마크산 대구어분, 칠레산 정어리+잡어분, 국내산 잡어분 및 국내산 명태+잡어분 실험구에 비해 유의적으로 높게 나타났으나, 페루산 잡어분과는 차이가 없었다. 사료효율과 단백질전환효율도 증체율 및 일간성장률의 결과와 유사한 경향을 보였는데, 칠레산 정어리어분과 전갱이어분 실험구가 다른 어분구들에 비해 유의적으로 높게 나타났으나, 국내산 잡어분 실험구는 가장 낮은 효율을 보였다. 전어체의 조단백질 함량은 대구어분 및 전갱이 어분 실험구에서 가장 높게 나타났으며, 국내산 잡어분 실험구에서 가장 낮은 값을 보였다.

## 2. 고품질 배합사료 개발

### 2.1. 고품질 배합사료 제조 및 평가시험

본 연구에서는 고품질 넙치 배합사료 개발을 위하여 넙치의 영양소 요구를 고려하여 설계한 3종류의 부상 배합사료(EP1, EP2, EP3), 3개의 사료회사에서 설계한

부상 배합사료 3종류(EP4, EP5, EP6), 시판 상품사료 2종류(EP7-수입, EP8)와 습사료(MP)로 총 9종류를 제조하여 평균체중 106 g의 넙치를 16주간 사육하였다. 사육기간 동안의 생존율은 실험구 간에 통계적인 차이는 없었다. 최종체중은 EP7, EP1, EP2 실험구가 가장 높은 결과를 보였으며, EP3, EP8 실험구와는 통계적인 차이는 없었지만, EP5, EP6 및 MP 실험구보다는 유의하게 높았다. 사료의 조단백질과 조지질 함량을 다르게 설계한 EP1, EP2, EP3(CP 55-51%, CL 9-15%) 실험구간에 체중체중은 모든 실험구에서 유의한 차이가 없었다. 사료효율은 MP 실험구가 85%로 EP1, EP3, EP4, EP5 및 EP6 실험구(107-116%) 보다는 낮았으며, 모든 EP 실험구간에는 유의한 차이가 없었다. 사육기간 동안의 각 수조별 일일사료섭취율은 MP 실험구가 EP 실험구들에 비해서 유의하게 높았으나, EP 실험구간에는 차이가 없었다. 사육실험 종료 후, 실험어의 전어체 일반성분 분석 결과, 전어체의 수분과 지질 함량은 실험구간에 유의한 차이를 보였다. 이상의 결과로 볼 때, 본 연구에 사용된 EP의 사료조성은 넙치 사육을 위한 MP를 대체할 수 있는 배합사료 조성으로 사용하여도 좋을 것으로 판단된다.

## 2.2. 사료종류별 육질평가

배합사료를 공급한 양식 넙치와 생사료를 공급한 양식넙치의 일반성분, 지방산, 유리아미노산, 핵산관련물질 및 물성평가를 통한 품질의 차이를 비교해 보고자 하였다. 넙치 등근육의 수분함량은 MP 공급구가 실험 배합사료 공급구 (1, 2, 3) 및 일본 배합사료 공급구(4)보다 유의적으로 높은 값을 나타내었고, 조단백질 및 조지질 함량은 유의적인 차이를 보이지 않았다. 각 사료 공급구별 넙치 등근육의 주요 지방산은 palmitic acid(16:0), oleic acid(18:1)와 docosaehexaenoic acid(22:6)이었고, linoleic acid(18:2)와 eicosapentaenoic acid(20:5)의 함량은 실험 배합사료 공급구가 MP 공급구보다 유의적으로 높은 값을 나타내었다. 또한, stearic acid(18:0)와 linoleic acid(18:2)의 비율은 일본 배합사료 공급구과 MP 공급구가 각각 2.00, 2.56을 나타내어 실험배합사료 공급구의 0.54, 0.54, 0.62 보다 높았다. 넙치 등근육의 유리아미노산은 공급한 사료에 따라서 각 성분에 약간의 차이를 보였으나 유리아미노산 조성의 분포 양상은 비슷한 경향을 나타내었다. 유리아미노산 중  $\alpha$ -aminoadipic acid, taurine, alanine이 주된 아미노산이었고, 각 사료 공급구에서  $\alpha$ -aminoadipic acid가 가장 높은 값을 나타내었다. 필수아미노산으로는 threonine, valimne,

methionine, lysine, isoleucine, leucine의 6종이 검출되었다. 핵산관련물질의 ATP, ADP, AMP, IMP, Inosine(HxR) 및 Hypoxanthine(Hx)가 검출되었고, 각 사료 공급구별로 모두 IMP 함량이 가장 높았다. IMP 함량은 유의적인 차이를 나타내어 실험 배합사료 공급구와 일본 배합사료 공급구가 MP 공급구보다 높았다. 탄력성, 씹음성, 깨짐성, 응집성, 경도, 강도 및 부착성에 대해 물성평가를 실시한 결과 탄력성은 MP 공급구가 실험 배합사료 공급구 및 일본 배합사료 공급구보다 유의적으로 높게 나타났고, 다른 항목들에서는 유의적인 차이가 없었다. 이상의 결과들로부터, 넙치를 사육하는 동안 공급하는 사료의 종류에 따라 등근육의 지방산, 아미노산 및 핵산관련물질의 함량에 유의적인 차이가 있음을 알 수 있었다. 그러나, 현재까지 양어민 및 유통업자들에게 인식되어 있는 것처럼 배합사료 공급구가 MP 공급구보다 맛, 조직감 등의 육질평가에서 결코 뒤떨어지는 실험결과는 없었다. 비슷한 성분 함량을 나타내거나 오히려 핵산관련물질 중 IMP 성분은 배합사료 공급구가 높았던 본 실험결과로부터 배합사료 공급구가 MP 공급구보다 맛 등이 뛰어난 것을 예측할 수 있었다. 본 연구결과를 소비자들에게 제공함으로써 그동안 잘못 자리 잡고 있는 배합사료 및 생사료 양식에 대한 고정관념을 탈피할 수 있는 계기가 될 것으로 보이며, 양식산 해산어류에 대한 인식제고가 이루어질 수 있을 것으로 사료된다.

### 2.3. 지역별 양식장 급이현황 조사

우리나라 지역별(경북, 제주 등) 양식장의 EP 및 MP 사료 급이현황 및 월별 넙치 성장도 및 일일사료섭취율을 조사하였다. 경북지역의 경우, 평균체중 175 g의 넙치를 EP와 MP로 사육 6개월(6-11월) 후 661-640 g에 달하였으며, 일일사료섭취율은 어체중당 건물기준 0.27-0.82%(EP)와 0.16-0.40%(MP)였다. 제주지역의 경우, 최초 100 g의 넙치를 EP와 MP로 사육 11개월(1-11월) 후 1029-1076 g에 달하였으며, 일일사료섭취율은 어체중당 건물기준 0.30-0.75%(EP)와 0.29-0.76%(MP)였다.

### 2.4. 사육수조 크기별 넙치 치어의 고수온기 일간성장률 조사

본 연구에서는 기존에 실험용 규모의 수조크기에서 수행된 사료급여율 및 급이횟수와 같은 급이조건에 관한 연구 결과들의 양식현장 적용 가능성을 조사하기 위하여 크기가 다른 사육수조가 넙치 치어의 성장 및 사료섭취율에 미치는 영향을 조사하였다. 평균체중 14 g의 넙치를 350 ℓ, 1400 ℓ 및 3000 ℓ 톤의 각기 다른 크기의 원

형수조에 72마리, 163마리 및 452 마리씩 수용하여, 각 수조별 수용밀도(답는율 50%)가 동일하도록 조절하고 사육수의 1일 환수율이 동일하도록 조절하여 주수하며 사육 실험하였다. 최종체중은 각 실험구에서 53-60 g였으며, 일일사료섭취율은 1.14-1.33%의 범위였다. 모든 실험구의 사료효율은 123-134%로 큰 차이를 보이지 않았다. 전어체의 일반성분 분석결과, 수분(73.7-74.1%), 조단백질(17.4-17.9%), 조지방(1.6-2.3%) 및 조회분(3.8-4.2%) 함량은 사육수조크기에 따라서 큰 차이를 보이지 않았다

### 3. 어체품질 향상을 위한 연구

#### 3.1 어체 비만도 향상 연구

##### 3.1.1. 배합사료의 지질원 및 함량이 넙치 치어의 성장, 혈액성상 및 근육 지방산 조성에 미치는 영향

본 연구는 사료의 지질원 및 함량이 다르게 함유된(FO, LO, SO, MIX, LL-HP, HL-FO, HL-VO, LL-HC) 총 8종류의 실험사료로 평균체중 8.8 g의 넙치 치어를 각 수조에 40마리씩 3반복으로 수용하여 15주간 사육실험을 실시하였다. 사육실험 종료 후, 증중율은 SO 공급구에서 가장 높았고 HL-VO 공급구에서 가장 낮은 값을 보였다, 그러나 SO 공급구는 HL-VO 공급구를 제외한 모든 실험구와 유의한 차이가 없었다. 일일단백질섭취율은 LL-HP 공급구에서 가장 높았고, HL-VO와 LL-HC 공급구에서 낮은 값을 보였다. 일간성장율, 사료효율, 일일사료섭취율 및 단백질 효율은 실험구간에 유의한 차이가 없었다. 어체의 간중량지수는 LO 공급구가 가장 높은 값을 보였으며, 비만도와 장 중량지수는 모든 실험구간에 유의한 차이가 없었다. 혈중 Total protein, glucose, GOT 및 GPT 함량은 실험구간에 유의한 차이가 없었으나, Cholesterol과 Triglyceride 함량은 HL-FO 공급구에서 가장 높게 나타났다. 넙치의 근육의 n3-HUFA 함량은 FO와 HL-FO 공급구에서, 18:2n-6 함량은 SO 공급구에서 그리고 18:3n-3 함량은 LO 공급구에서 각각 가장 높은 값을 보였다. 이상의 결과로부터 근육의 지방산조성은 지질원에 따라 달라 질 수 있으며, 대두유와 아마인유는 넙치의 성장을 위해 좋은 지질원이 될 수 있을 것으로 판단된다.

##### 3.1.2. 배합사료의 지질원 및 함량이 넙치 육성어의 성장, 혈액성상 및 근육 지방산 조성에 미치는 영향

본 연구는 사료의 지질원 및 함량이 다르게 함유된(FO, LO, SO, MIX, LL-HP, HL-FO, HL-VO, LL-HC) 총 8종류의 실험사료로 평균체중 122 g의 넙치 육성어를 각 수조에 20마리씩 3반복으로 수용하여 15주간 사육실험을 실시하였다. 생존율, 증중율, 일간성장율, 간 및 장 중량지수 그리고 일일사료섭취율은 실험구간에 유의한 차이가 없었다. 사료효율은 HL-VO 공급구에서 가장 높았고, MIX 공급구에서 가장 낮았으나, MIX 공급구를 제외한 모든 실험구에서 유의한 차이는 없었다. 일일단백질섭취율은 MIX 공급구에서 가장 높았고, LL-HP 공급구에서 가장 낮았으며, 단백질효율은 HL-FO와 HL-VO 공급구가 MIX와 LL-HP 공급구보다 유의하게 높았으며, LL-HP 공급구에서 가장 낮았다. 어체의 비만도는 HL-FO 공급구가 LO 공급구보다 유의하게 높았으며, 두께:폭의 비는 LO 공급구에서 가장 높았고, MIX 공급구에서 가장 낮았다. 혈중 total protein 함량은 SO 공급구에서, GOT 함량은 LL-HC 공급구에서 cholesterol HL-FO 공급구에서 triglyceride 함량은 FO와 HL-VO 공급구에서 각각 높게 나타났다. 등근육의 지방산 조성은 실험사료에 관계없이 16:0이 18:1n-9, 18:2n-6 및 22:6n-3의 함량이 각각 높게 나타났으며, n3-HUFA 함량은 FO와 HL-FO 공급구에서, 18:2n-6 함량은 SO 공급구에서, 18:3n-3 함량은 LO 공급구에서 가장 높은 값을 보였다. 근육의 지질함량은 HL-VO 공급구에서 가장 높았다. 이상의 결과로부터, 사료의 지질원 및 함량은 넙치 육성어의 성장 및 사료 이용성에 영향을 미치지 않았지만, 근육의 지방산 조성에는 영향을 미치는 것으로 판단된다.

### 3.1.3. 배합사료의 지질원 및 함량이 넙치 성어의 성장, 혈액성상 및 근육 지방산 조성에 미치는 영향

본 연구는 사료의 지질원 및 함량이 다르게 함유된(FO, LO, SO, MIX, LL-HP, HL-FO, HL-VO, LL-HC) 총 8종류의 실험사료와 생사료(MP)로 평균체중 296 g의 넙치 육성어를 각 수조에 25마리씩 2반복으로 수용하여 17주간 사육실험을 실시하였다. 증중율은 LL-HP 공급구에서, 일간성장율은 LL-HP와 LL-HC 공급구에서 각각 높은 값을 보였으나 증중율과 일간성장율 모두 HL-VO 공급구를 제외하고 실험구간에 유의한 차이가 없었다. 사료효율은 LL-HP 공급구가 가장 높았고, LO 공급구의 사료효율이 가장 낮았다. 일일사료섭취율과 일일단백질섭취율은 실험사료에 영향을 받지 않았다. 단백질효율은 LL-HC 공급구에서 가장 높았고, LO와 HO-VO



공급구에서 가장 낮은 값을 보였다. 간 중량지수는 HL-FO 실험구가 MP, MIX 및 LL-HP 실험구에 비해 유의하게 높았지만, FO와 HL-VO 실험구와는 유의한 차이가 없었으며, 비만도, 장 중량지수 및 두께:폭의 비는 실험사료에 영향을 받지 않았다. FO, LO 및 SO 공급구의 혈중 total protein 함량은 MP 공급구 보다 유의하게 높았으며, Glucose와 GOT는 LL-HC와 MP 공급구에서 각각 가장 낮은 함량을 보였으며, Cholesterol과 triglyceride 함량은 HL-FO와 HL-VO 공급구에서 각각 가장 높은 값을 보였다. 등근육의 지방산 분석결과, 함량은 사료 지방산 조성에 직접적인 영향을 받아 다양한 값을 보였다. 실험사료에 관계없이 16:0이 18:1n-9, 18:2n-6 및 22:6n-3의 함량이 각각 높게 나타났으며, 22:6n-3과 n3-HUFA 함량은 지질원으로 오징어 간유를 첨가한 FO와 HL-FO 공급구에서 높은 함량을 보였고, 이 값은 MP 공급구와 유의한 차이가 없었다. 대두유를 첨가한 SO 공급구의 18:2n-6 함량이 가장 높았으며, 아마인유를 첨가한 LO 공급구에서 18:3n-3 함량이 가장 높은 값을 보였다. 등근육의 경도(Hardness)와 강도(Gel strength)는 LO와 LL-HP 공급구에서 높은 값을 보였다. 이상의 결과로부터, LL-HP 사료는 넙치 성어의 성장과 근육의 품질을 향상시킬 수 있을 것으로 판단된다.

### 3.1.4. 배합사료내 지질원 및 함량과 비타민 E 첨가가 넙치 치어의 성장, 혈액 성분 및 근육 지방산 조성 변화에 미치는 영향

본 연구는 사료의 지질원 및 함량이 다른 실험사료에 0.4% 비타민 E를 첨가(HL-FO+VE, HL-VO+VE, LL-HC+VE) 또는 첨가하지 않은(HL-FO-VE, HL-VO-VE, LL-HC-VE) 총 6종류의 실험사료로 평균체중 8.5 g의 넙치 치어를 각 수조에 40마리씩 3반복으로 수용하여 15주간 사육실험을 실시하였다. 사육실험 종료 후, 생존율, 증중율, 일간성장률, 비만도, 간중량비 및 장 중량비는 모든 실험구간에 유의한 차이가 없었다. 사료효율과 단백질 효율은 비타민 E 첨가에 관계없이 LL-HC-VE와 LL-HC+VE 공급구가 다른 공급구들에 비해 낮은 경향을 보였다. 일일사료섭취율과 일일단백질섭취율은 LL-HC-VE 공급구에서 높은 값을 보였다. 혈중 cholesterol 함량은 HL-FO-VE와 HL-FO+VE 공급구가 다른 실험구들 보다 유의하게 높게 나타났다. 등근육의 지방산 조성은 사료의 비타민 E 첨가에 관계없이 식물성 지질을 첨가한 HL-VO 공급구에서 18:2n-6과 C18:3n-3 함량이 높게 나타났으며, C22:5n-5, C22:6n-3 및 n-3HUFA 함량은 지질원으로 오징어 간유를 첨

가한 HL-FO 공급구에서 높게 나타났다. 이상으로 결과로부터, 사료의 지질원, 지질 함량 및 비타민 E 첨가는 넙치 치어의 성장에 영향을 미치지 않는 것으로 보이며, 사료내 높은 탄수화물 함량은 넙치의 사료 이용성을 저하시킬 수 있다.

### 3.1.5. 배합사료내 지질원 및 함량과 비타민 E 첨가가 넙치 육성어의 성장, 혈액 성분 및 근육 지방산 조성 변화에 미치는 영향

본 연구는 사료의 지질원 및 함량이 다른 실험사료에 0.4% 비타민 E를 첨가(HL-FO+VE, HL-VO+VE, LL-HC+VE) 또는 첨가하지 않은(HL-FO-VE, HL-VO-VE, LL-HC-VE) 총 6종류의 실험사료로 평균체중 120 g의 넙치 치어를 각 수조에 20마리씩 3반복으로 수용하여 15주간 사육실험을 실시하였다. 사육실험 종료 후, 증중율과 일간성장율은 비타민 E 첨가에 관계없이 HL-FO+VE 공급구에서 가장 높았고 LL-HC-VE와 HL-VO+VE 공급구에서 가장 낮았으며, HL-FO+VE 공급구와 HL-FO-VE, HL-VO-VE 및 LL-HC+VE 공급구간에 유의한 차이는 없었다. 간중량비는 비타민 E 첨가에 관계없이 낮은 지질함량에서 탄수화물 함량이 높은 실험구에서 낮은 값을 보였다. 사료효율과 단백질 효율은 높은 지질함량과 비타민 E를 첨가한 HL-FO+VE와 HL-VO+VE 공급구가 LL-HC+E 공급구보다 유의하게 높게 나타났다. Total protein와 glucose 함량은 HL-FO-VE 공급구에서 가장 높게 나타났고, triglyceride와 triglyceride은 오징어 간유가 첨가구에서 높은 함량을 보였다. 등근육의 지방산 조성은 사료의 비타민 E 첨가에 관계없이 식물성 지질 첨가구가 오징어 간유 첨가구에 비해 18:1n-9, 18:2n-6 및 C18:3n-3 함량이 높게 나타났으며, C22:5n-5, C22:6n-3 및 n-3HUFA 함량은 오징어 간유를 첨가구에서 높게 나타났다. 이상으로 결과로부터, 사료의 지질원 및 지질함량은 넙치 육성어의 성장에 영향을 미치지 않는 것으로 보이나 비타민 E 첨가는 사료 이용성을 향상시킬 수 있을 것으로 판단된다. 또한, 사료내 높은 탄수화물 함량은 넙치의 사료 이용성을 저하시킬 수 있다.

## 3.2. 기능성 어류 생산을 위한 배합사료 개발 연구

### 3.2.1. 배합사료의 다양한 첨가제가 넙치 치어의 성장, 혈액 성분 및 근육 지방산 조성에 미치는 영향

다양한 첨가제의 효과를 조사하기 위하여 대조사료(Con)의 소맥분 대신 kelp

meal 5%(A1), 어분 대신 krill meal 10%(A2), 그리고 마늘, 양파, 생강, 약쑥, 감초, 와사비, 감귤분말 및 각 첨가제의 혼합물을 각각 1%씩 그리고 양파를 3% 첨가하여 (A3-A10) 총 11종류의 실험사료를 제조하였다. 평균 체중 8.8 g 의 넙치를 각 수조마다 40마리씩 3반복으로 수용하여 실험사료로 15주간 사육하였다. 사육실험 종료 후, 생존율, 증중율, 일간성장율, 비만도, 간 중량지수 및 장 중량지수는 모든 실험구간에 유의한 차이가 없었으며, 사료효율, 일일사료섭취율, 일일단백질섭취율 및 단백질효율 또한 사료 첨가제에 영향을 받지 않았다. 혈중 total protein 함량은 A1 과 A5 공급구에서 높게 나타났고, A8 공급구에서 가장 낮았다. Triglyceride 함량은 A2 공급구에서 가장 높았으나, Con, A4 및 A10 첨가구와 유의한 차이가 없었으며, A7과 A8 첨가구에서 낮은 함량을 보였다. 등근육의 지방산 분석결과, 실험사료에 관계없이 16:0, 18:1n-9, 18:2n-6 및 22:6n-3 함량이 각각 높게 나타났으며, 근육의 지방산 조성은 사료 첨가제에 영향을 받지 않았다. 이상의 결과들로 보아, 사료 첨가제의 보충은 넙치 치어의 성장 및 사료 이용성에 영향을 미치지 않는 것으로 생각된다.

### 3.2.2. 배합사료의 다양한 첨가제가 넙치 육성어의 성장, 혈액 정상 및 근육 지방산 조성에 미치는 영향

다양한 첨가제의 효과를 조사하기 위하여 첨가제를 첨가하지 않은 대조사료(Con)와 kelp meal 5%(A1), 어분 대신 krill meal 10%(A2), 그리고 마늘(A3), 감귤(A4) 및 각 첨가제의 혼합물(A5)을 각각 1%씩 첨가한 사료로 평균 체중 120 g 의 넙치를 각 수조마다 20마리씩 3반복으로 수용하여 실험사료로 15주간 사육하였다. 사육 실험 종료 후, 생존율, 증중율, 일간성장율, 간 중량지수 및 장 중량지수는 모든 실험구간에 유의한 차이가 없었다. 사료효율과 단백질효율은 A3 공급구가 가장 높은 값을 보였으며, 그 외 실험구간에 유의한 차이는 없었다. 일일사료섭취율, 일일단백질섭취율, 비만도 및 폭에 대한 두께의 비는 첨가제에 영향을 받지 않았다. cholesterol은 A2 공급구에서 가장 높은 함량을 보였으나, A4와 A5 공급구와 유의한 차이가 없었다. Triglyceride 함량은 A3 공급구가 다른 사료 공급구에 비해 유의하게 높게 나타났다. 등근육의 지방산 분석결과, 16:0, 18:1n-9, 18:2n-6 및 22:6n-3 함량이 실험구간에 유의한 차이 없이 각각 높게 나타났다. 이상의 결과들로 보아, 사료 첨가제의 보충은 넙치 육성어의 성장 및 사료 이용성에 영향을 미치지 않는

것으로 생각된다.

### 3.3. 면역력 증가를 위한 사료 연구

#### 3.3.1. 다양한 사료 첨가제 공급에 따른 넙치의 성장, 체조성 및 면역성 향상에 미치는 영향

사료내 다양한 사료첨가제가 넙치의 성장, 체조성 및 면역성 향상에 미치는 영향을 조사하였다. 총 9종류 [①대조구(control, Con)-무첨가구, ②백련초(*Opuntia ficus-indica* ver. *saboten*, OF), ③프로폴리스(*pro-polis*, PP), ④JS유산균(식물성유산균, JS), ⑤ $\gamma$ -PGA(청국장 발효물 유래,  $\gamma$ P), ⑥양파추출물(*Onion extract*, OE), ⑦유기유황(*Organic sulfur*, OS), ⑧바이오스톤(*Biostone*, BS), ⑨무화과엑기스(*Fig extract*, FE)]의 사료첨가제가 첨가된 실험사료를 준비하였으며, 각 실험구는 3반복구를 두었다. 실험사료는 어분, 탈피대두박 및 콘글루텐분을 주요 단백질원으로 이용하였고, 소맥분을 주요 탄수화물원으로 이용하였으며, 대두유를 주요 지질원으로 사용하였다. 대조구를 제외한 첨가제 공급하는 사료들에는 첨가제 원료를 1% 소맥분 대신에 첨가하였으며, 무화과엑기스는 1% 농도가 되게끔 물 대신에 첨가하였다. 사료공급은 1일 2회(07:00 및 17:00) 손으로 반복이 되게끔 공급하였다. 사육기간은 총 6주간이었으며, 1주일에 6일간 사료를 공급하였다. 사육실험 종료시 생존한 개체들 중에서 무작위로 5마리를 샘플하여 lysozyme activity와 혈청의 세균 살해능을 측정하였다. 또한 사육실험 종료시 생존한 넙치 10마리를 무작위로 샘플하여 *Edwardsiella tarda* 세균 공격 실험을 실시하였다. 6주간의 사육 실험종료시 넙치의 생존율은 실험구간에 유의적인 차이가 없었다. 그러나 어체중 증가량은 양파추출물이 첨가된 실험사료(OE)를 공급한 실험구에서 대조구(Con) 및 프로폴리스가 첨가된 실험사료(PP)를 공급한 실험구보다 유의적으로 높게 나타났으며, 다음으로 무화과엑기스(FE), 유기유황(OS), JS유산균(JS), 바이오스톤(BS), 백련초(OF) 및  $\gamma$ -PGA( $\gamma$ P)의 순으로 나타났다. 또한 일일성장율은 양파추출물(OE), 무화과엑기스(FE), 유기유황(OS), JS유산균(JS), 바이오스톤(BS) 및 백련초(OF) 첨가구가 프로폴리스(PP) 첨가구보다 높았다. 그러나 사료전환효율, 단백질전환효율 및 단백질축적율에서는 각 실험구간 유의적인 차이가 없었다. 유의적인 차이는 없었지만, 비만도는 사료첨가제가 포함되지 않은 대조구에 비하여 사료첨가제가 포함된 모든 실험구에서 다소 높았다. 넙치의 간과 간을 제외한 전어체의 일반성분 분석 결과 각 실험

험구간 유의적인 차이는 없었다. 실험 종료시 모든 실험구간 넙치의 보체 활성화에는 유의적인 차이가 없었지만, 인위적으로 세균을 투여한 2주 후에는 백련초(OF),  $\gamma$ -PGA( $\gamma$ P)와 양파추출물(OE) 첨가구의 넙치에서 보체 활성이 유의성 있게 증가하였다. 백련초 첨가구(OF)를 공급한 넙치에서 응집항체가 증가하였다.

### 3.3.2. 사료 내 스피롤리나, 아스타잔틴, 톳·감태의 첨가가 넙치의 비특이적 면역반응과 어병세균(*Edwardsiella tarda*) 저항성에 미치는 영향

이 연구는 넙치를 대상으로 사료 내 스피롤리나, 아스타잔틴, 톳·감태 혼합물을 첨가하여 비특이적 면역반응과 어병세균인 *Edwardsiella tarda*에 대한 저항력 향상에 대한 영향을 알아보기 위하여 수행되었다. 이 연구수행을 위해 총 3가지의 사료 공급 사양실험이 수행되었다. 실험 1은 사료 내 스피롤리나의 첨가에 따른 효과를 알아보기 위하여 총 4개의 실험사료를 제작하였다. 실험사료는 46%의 조단백질 함량과 17.3 MJ/kg 에너지를 함량을 같도록 동일하게 조성되었으며, 실험사료 제조 시 분말형태의 스피롤리나를 각각 0%, 3%, 6% 및 9% (SPI 0, SPI 3, SPI 6, SPI 9)가 포함되도록 디자인 되었다. 사육실험은 총 12개 (사료구 당 3반복)의 110L 수조에 각 수조당 30마리의 어류를 무작위로 배치하여 실험사료를 2주 동안 반복공급하였다. 실험 2는 사료 내 아스타잔틴의 첨가에 따른 효과를 알아보기 위하여 총 4개의 실험사료를 제작하였다. 실험사료는 44%의 조단백질 함량과 17.1 MJ/kg 에너지를 함량을 같도록 동일하게 조성되었으며, 분말형태의 아스타잔틴을 각각 0%, 1%, 2% 및 3% (AST 0, AST 1, AST 2, AST 3)가 포함되도록 디자인 하였다. 사육실험은 총 12개 (3반복)의 110L 수조에 각 수조당 30마리의 어류를 무작위로 배치하여 실험사료를 2주 동안 반복공급 하였다. 실험 3은 사료 내 톳·감태 혼합물의 첨가에 따른 효과를 알아보기 위하여 총 5개의 실험사료를 제작하였다. 실험사료는 44%의 조단백질 함량과 17.1 MJ/kg 에너지를 함량을 같도록 동일하게 조성되었으며, 분말형태의 톳·감태 혼합물을 각각 0%, 2%, 4%, 6% 및 8% (HE 0, HE 2, HE 4, HE 6, HE 8)가 포함되도록 디자인 되었다. 사육실험은 총 15개 (3반복)의 75L 수조에 각 수조당 30마리의 어류를 무작위로 배치하여 실험사료를 2주 동안 반복급이를 실시하였다. 또한, 세 가지 사료 공급실험 종료 후, *Edwardsiella tarda*를 이용한 공격실험을 수행하고자 샘플 후 남은 어류 중 수조 당 10마리(사료구 당 30마리)의 어류를 무작위로 선별하여 공격실험을 수행하였다. 2주 동안의 사료공급실험 후 비특이

적 면역반응 분석을 실시한 결과 스피롤리나, 아스타잔틴, 톳·감태가 첨가된 실험구에서 대조구보다 유의적으로 높은 면역활성을 보였다. 또한 공격실험에서도 사료 내 스피롤리나, 아스타잔틴, 톳·감태의 첨가 함량이 증가함에 따라 유의적으로 낮은 누적사망률을 보였다. 따라서 사료 내 스피롤리나, 아스타잔틴 및 톳·감태의 첨가는 넙치의 비특이적 면역반응과 주요 어병세균인 *Edwardsiella tarda*에 대한 저항성을 높일 수 있을 것으로 사료된다.

### 3.3.3. 사료 첨가제에 따른 넙치 치어의 유전자발현양상 분석

본 연구에서는 사료의 조성과 생약제 및 사료 첨가제가 넙치의 내재면역반응과 유전자 발현에 미치는 영향에 대하여 알아보았다. 10개의 사료 첨가제를 첨가하여 만든 사료와 지질원등의 사료조성을 달리한 14개의 사료를 먹인 각각의 실험구를 대상으로 보체활성, 라이소자임 활성 그리고 유전자 발현 분석을 시행 하였다. 유전자 발현 분석은 면역반응(IL-1beta and NK-cell enhancing factor), 아포토시스(TNF and gelsolin), 약물대사(NADH dehydrogenase and cytochrome oxidase) 그리고 성장(myosin)에 관련된 유전자의 발현을 분석 하였다. 14개의 조성을 다르게 한 사료와 10개의 첨가물을 첨가한 사료를 제작 하여 급이 하였으며, 보체활성은 급이 시작 후 15주가 지난 후 사료당 9마리 넙치의 혈청을 분리하여 분석에 사용하였으며, 라이소자임 또한 같은 간격으로 분리한 혈청을 EnzChek lysozyme Assay Kit (Invitrogen)을 사용하여 분석하였다. 넙치의 전신에서 유전자 발현은 0주, 5주, 15주째에 실시간 중합 효소 반응(Real Time PCR)을 이용하여 분석하였다. 지질원과 지질, 탄수화물, 단백질양의 차이에 따른 유전자의 발현은 5주째에는 모든 유전자의 발현이 대조구와 비교하여 대체로 증가하는 경향을 보였으나 15주째에는 대조구와 거의 비슷한 유전자 발현양상을 보여 실험에 사용된 사료급이가 초기에는 어체에 스트레스로 작용하지만 장기간 급이에 의해 적응이 되는 것으로 보인다. 5주째에 FO와 HL-FO그룹에서 TNF- $\alpha$  유전자 발현이 대조구와 비교하여 유의성 있게 증가하였으나 15주째에는 대조구와 비교하여 유의성있게 증가하거나 감소하는 유전자발현을 관찰할 수 없었다. 성장관련 유전자인 myosin의 경우 5주째에는 HL-FO와 HL-VO 그룹에서 증가하는 경향을 보였으나 15주째에는 SO 그룹에서 증가되고 반면에 LL-HP와 LO그룹에서는 감소되는 것으로 나타나 지질의 감소되었을 때 단백질의 증가는 성장에 도움이 되지 않을 것으로 보이며 단백질 보다는 탄수화물

의 증가시키는 것이 성장에는 도움을 줄 수 있을 것으로 보인다. 또한 Linseed oil의 장기적인 급이는 성장에 안 좋은 영향을 미칠 수도 있다. 그 외 면역관련유전자인 IL-1beta나 NK cell enhancing factor, 아포토시스관련 유전자인 gelsolin의 경우는 실험구간에 차이를 보이지 않는 것으로 나타나 지질원과 지질, 탄수화물, 단백질 양의 차이가 이들 유전자에 영향을 미치지 않는 것으로 생각된다. Vitamin E 첨가에 따른 유전자 발현은 5주째 LL-HC+VE를 제외한 전체 실험구에서 myosin을 제외한 모든 유전자의 발현이 증가하는 양상을 보여 어체가 상당한 스트레스를 받은 것으로 보이며 15주째에는 HL-FO-VE 그룹에서 TNF- $\alpha$ , NAHD dehydrogenase, gelsolin 유전자의 발현이 감소되었으나 나머지 실험구에서는 대조구와 비슷한 발현 양상을 나타내어 장기급이에 의해 어체가 실험사료에 적응을 하는 것으로 보인다. myosin유전자의 경우 5주째에는 실험구간 차이가 없으며 5주째에는 대조구와 비교하여 약간 감소하기는 하였으나 유의적인 차이는 보이지 않았다. 천연물 첨가에 따른 유전자 발현은 5주째에는 감초첨가물을 급이한 그룹에서 myosin을 제외한 모든 유전자발현이 증가되었으며 gelsolin의 경우 모든 실험구에서 증가되는 양상을 보였다. 따라서 감초의 첨가는 일시적으로 면역관련유전자의 발현을 증가시키나 동시에 약물대사효소인 NAHD dehydrogenase와 cytochrome oxidases 혹은 아포토시스와 염증반응에 동시에 관여하는 TNF- $\alpha$ 유전자의 발현도 증가시키므로 어체에 좋은 영향을 준다고는 할 수 없다. 한편 성장관련유전자인 myosin의 발현에 있어서도 감초 첨가구에서 15주째에 감소되는 것으로 나타났다. 그러나 나머지 첨가구에서는 위의 결과에서처럼 TNF- $\alpha$ 나 NADH dehydrogenase, cytochrome oxidase등이 증가하지는 않는 것으로 나타나 스트레스를 받지 않는 것으로 보인다. 15주째에는 켈프밀과 생강 첨가구에서 면역유전자인 NK cell enhancing factor의 발현이 증가하여 면역증강효과가 있는 것으로 나타나지만 약물대사효소인 NAHD dehydrogenase나 cytochrome oxidase가 동시에 증가하여 이들 물질의 장기급이가 어체의 면역능 증가에는 효과적일 수 있으나 또 한편으로는 어체에 독성으로도 작용할 수도 있다. 하지만 사료내 첨가량을 현재 1%에서 좀 더 줄일 경우, 독성효과를 감소시키는 것이 가능할 것이다. 보체활성 분석 결과 전체 실험구에서 보체의 활성화에는 유의적인 차이가 전혀 나타나지 않았다. 따라서 본 연구에서 급이된 사료들은 어체의 보체대체경로 활성화에 영향을 미치지 않는 것으로 생각된다.

### 3.3.4. 사료첨가제 투여에 따른 넙치(*Paralichthys olivaceus*)의 병리조직학적 변화

각종 사료 첨가제를 사용하여 양식 어류의 증체율 증가, 성장촉진, 항병력 등을 향상시키려는 노력은 어류 양식 분야에서도 활발하게 시도되고 있으며, 다양한 식물, 광물, 미생물 또는 이들의 추출물을 각종 어류에게 투여하여 사료 첨가제로서의 효과를 알아보려는 연구가 진행되고 있다. 이러한 사료 첨가제들은 대부분이 사람이나 가축에서 약제 혹은 식품으로서 이미 사용되고 있거나 선행 연구가 진행된 것이 대부분이어서 비교적 적용하기 쉬운 장점을 지니고 있다. 본 연구에서는 각종 사료첨가제 (켈프밀, 크릴밀, 마늘, 감귤, 양파, 생강, 약썩, 감초, 와사비, 모든 첨가제의 혼합물)를 각각 넙치에게 장기간 투여하였을 때 각 장기에 병리조직학적 이상이 발생하는지의 여부를 통상적인 병리조직 표본제작법을 통하여 조직표본을 제작, 관찰하여 대조군과 비교, 분석하였다. 각 장기의 조직표본을 관찰해 본 결과, 간장을 제외하고는 사료첨가제의 투여 유무, 사료 첨가제의 종류에 따른 병리조직학적 변화가 관찰되지 않았다. 한편, 간장에서는 미약한 간세포의 변성이 관찰되었다. 하지만 이는 사료첨가제의 종류와 관계없이 대조군을 포함한 모든 실험군에서 관찰되었다. 사료첨가제의 종류에 따라서는 장기간 투여시 간장에 병리조직학적 변화를 유발하는 경우가 있으며, 대부분의 경우 첨가량을 줄이면 사라지므로 첨가량의 조절에 의해 회복이 가능한 가역적 병리조직 변화로 알려져 있다. 한편, 본 연구에서 발견된 간세포의 변성은 대조군에서도 관찰되었으므로 사료첨가제의 투여와는 관련이 없는 것으로 보이며, 실험 종료 후, 각종 사료첨가제 투여군과 대조군 사이에도 차이가 발견되지 않았으므로 사료첨가제의 투여에 의해 개선되지는 않는 것으로 사료된다.

## 4. 연구개발 결과 활용계획

- 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.



# SUMMARY

## Studies on development of high quality practical feed

### 1. Studies on availability of feed ingredients

#### 1.1. The present status of feed ingredients supply

This chapter was conducted to investigate the present status of feed ingredients supply such as price, production in domestic, import volume of major feed ingredients for practical feed production. Several kinds of ingredients such as fish meal (fish species and grade), meat meal, meat and bone meal, squid liver powder, soybean meal, corn gluten meal, kelp meal, krill meal, wheat flour, oil etc. were investigated.

#### 1.2. Chemical composition of feed ingredients

This study was conducted to investigate proximate composition, amino acids, fatty acids, minerals, and heavy metal of various animal and plant feedstuffs in aquatic feeds. Crude protein (CP) of white fish meal (super prime) as pollack and cod was approximately 70%, and that of brown fish meal (super prime) as anchovy, salmon, mackerel and sardine was 65-70%. Domestic fish meal containing 52-56% in CP has lower than that of imported fish meal. CP of tuna meal and krill meal, shrimp meal and squid liver powder, meat meal and squid meal were approximately 60%, 50%, 85% and 75%, respectively. In plant protein feed ingredients, soybean meal, corn gluten meal, wheat gluten, silver worm meal and sesame meal were contained 46%, 60%, 76%, 70% and 44% in CP. Soybean meal and corn gluten meal showed lower methionine, arginine and lysine, respectively than those of fish meal in amino acid content. In fatty acids, animal protein sources as fish meal, shrimp meal and squid meal showed to contain much PUFA (20:5n-3 and 22:6n-3) compared to plant protein sources.

Plant protein sources as soybean meal, corn gluten meal, wheat flour was not contained PUFA, while 18:2n-6 of these sources was showed higher than that of animal sources. Calcium and phosphorus of various fish meals and plant protein sources were 2% and 1%, respectively. Selenium of fish meals was different as fish meal species, and soybean meal and corn gluten meal was contained less than 0.5%. All feedstuffs analyzed in this study have less than 4 ppm in chromium and plumbum, and 10 ppm in arsenic. Squid liver powder and squid meal was contained higher cadmium compared to other ingredients.

### 1.3. Determination of apparent digestibility of feed ingredients for flounder at summer and winter seasons

This experiment was conducted to determine apparent digestibility of 7 fish meals according to fish species and grade of fish meal, soybean meal, corn gluten meal and wheat flour for developing high quality diets in growing olive flounder under summer and winter season. There was no significant difference in apparent digestibility(AD) of dry matter(DM) among all fish meal types under summer and winter season, respectively. However, AD of DM under summer season was higher than that under winter season. AD of DM of soybean meal, corn gluten meal and wheat flour was lower than that of fish meals and wheat flour was lowest AD of DM among all feed ingredients. AD of protein of all fish meal types was more than 90% under summer season and pollack meal and salmon meal show the highest values of AD of protein. AD of protein of fish meals was not significantly different at both summer and winter season. AD of protein of soybean meal and corn gluten meal was significant lower than that of all fish meal types.

### 1.4. Effects of the different fishmeal in diets on the growth and body composition of the juvenile flounder

This experiment was conducted to determine availability of various fish meals in juvenile olive flounder based on growth performances. All diets were

formulated to be isonitrogenous and isoenergetic to contain 48% protein crude protein(CP) and 16.7KJ energy g<sup>-1</sup> diet. Seven diets were formulated to contain 40% fish meal protein with Danish cod meal, Chilean anchovy & sardine meal, Chilean brown fish meal(anchovy & others), Peruvian brown fish meal(anchovy & others), Chilean horse mackerel meal, domestic brown fish meal(mixed) and domestic pollock & others meal(D-Cod, C-Any, C-Brn, P-Brn, C-Mal, D-Brn, D-Polk respectively). The feeding trial was conducted in a flow-through system with 300 L aquaria at a rate of 10 L/min. Supplemental aeration was provided to maintain dissolved oxygen near saturation. Fish with average weight of 16.8 ± 0.09 g (mean ± SD), were randomly distributed to each aquarium as groups of 30 fish and fed the experimental diets in triplicate at satiation for 8 weeks. After 8 weeks, weight gain (WG) and specific growth rate (SGR) of fish fed C-Any and C-Mal were higher than those of fish fed D-Cod, C-Brn and D-Brn. Meanwhile, no significant difference was observed in WG and SGR with fish fed P-Brn. Feed efficiency (FE) and protein efficiency ratio (PER) of fish fed C-Any and C-Mal were higher than those of fish fed the other diets. There was no significant difference in survival(%) among fish fed the other diets without D-Cod. Based on growth performance, we concluded that Chilean anchovy & sardine meal and Chilean horse mackerel meal could be good as fish meal protein source in juvenile flounder.

## **2. Development of high quality practical feed**

### **2.1. Evaluation of extruded pellets as a growing diet for flounder**

This study was conducted to evaluate extruded pellets (EP) for growth of adult flounder by comparing with raw fish-based moist pellet (MP). Two replicate groups of 40 fish per each tank (initial mean weight 106 g) were fed one of eight EP (EP1, EP2, EP3, EP4, EP5, EP6, EP7 and EP8) and a MP for 16 weeks. Survival was not significantly different among all groups. Final mean weight of fish fed the EP1, EP2, EP7 was significantly higher than that of fish fed the EP5, EP6 and MP, but not significantly different from that of fish fed

EP3 and EP8. Feed efficiency of fish fed the MP was significantly lower than that of fish fed all EP, but no significant difference was observed among all EPs groups. Daily feed intake of fish fed the MP was significantly higher than that of fish fed all EP ( $P < 0.05$ ). The contents of moisture, crude protein, crude lipid and ash of whole body was not significantly different among the groups. It is concluded that the dietary formulation used in the EP1, EP2, EP3 can be applied in the practical extruded pellet feeds for flounder.

## 2.2. Evaluation of the muscle quality of flounder fed EP and MP

This study was conducted to evaluate taste components of dorsal muscle of flounder fed the EP and MP. Fish (initial mean weight of 106 g) were fed one of three experimental EP (EP1, EP2, EP3), one commercial EP (EP4) or MP for 16 weeks. Moisture content of fish fed MP was significantly higher than that of fish fed all EP. Significantly higher contents of 16:1n-7, 20:4n-6, 20:5n-3 and lower 18:2n-6 were observed in fish fed EP4 and MP compared with fish fed EP1, EP2, EP3. The 22:6n-3 content was not significantly different among all groups. In free amino acids, glutamic acid content was not affected by diets. Taurine content of fish fed MP was significantly higher than that of fish fed EP2 or EP3, but not significantly different from that of fish fed EP1 and EP4. Asparagine content of fish fed EP1 was significantly higher than that of fish fed EP2, EP4 and MP, but not significantly different from that of fish fed EP2. Significant difference were observed in lysine and serine contents of fish fed experimental diets. In nucleotides and their related compounds, IMP content was not affected by diets. Significant difference were observed in ATP and AMP contents of fish fed experimental diets. Textural properties of the dorsal muscle of fish fed EPs and MP were investigated.

## 2.3. Investigation of the present state of feeding in flounder farms at the different area

The growth and feed intake of flounder was investigated in commercial flounder farms at the different area (Kyungbuk and Jeju, Korea). In Kyungbuk,

mean body weight of fish fed EP or MP was 661 to 640 g after 6 months (initial body weight of 175 g), and daily feed intake of fish fed EP and MP were 0.27–0.82% and 0.16–0.40% (dry matter basis), respectively. In Jeju, mean body weight of fish fed EP or MP was 1029 to 1076 g after 11 months (initial body weight of 100 g), and daily feed intake of fish fed EP and MP were 0.30–0.75% and 0.29–0.76% (dry matter basis), respectively.

#### 2.4. Effects of rearing tank size on growth and feed intake of juvenile flounder

This study was conducted to investigate the effects of the different size of rearing tank on growth and feed intake on juvenile flounder. Seventy two fish, 163 fish and 452 fish (initial body weight of 14 g) per tank were distributed into 350, 1400, 3000 L tanks, respectively. Fish were fed the extruded pellet apparent satiation for 10 weeks. The flow rate of water were 10, 20, 60 L/min in 350, 1400 및 3000 L tanks, respectively. No considerable difference was observed in growth performance of fish reared at the different size of tank. Final mean weight of fish was ranged 53 to 60 g, and daily feed intake was range 1.14 to 1.33%. Feed efficiency was ranged 123 to 134%.

### 3. Studies on improvement of fish quality

#### 3.1. Improvement of body mass index of fish

##### 3.1.1. Effects of dietary lipid sources and levels on growth performance, blood chemistry, and fatty acid composition of juvenile flounder

Eight experimental diets (FO, LO, SO, MIX, LL-HP, HL-FO, HL-VO and LL-HC) were formulated to contain 5% squid liver oil, 5% linseed oil, 5% soybean oil, mix of 1%, 2% and 2% of each former lipid sources, without lipid supply and high crude protein level, 10% squid liver oil, mixture of 1% squid liver oil, 4.5% linseed oil and 4.5% of soybean oil, and 1% squid liver oil with 11% alpha-starch, respectively. Juvenile (average weight 8.0 g/fish) flounder were randomly distributed into 50L tanks in a seawater flow through system.

One of the experimental diets was fed triplicate groups (20 fish/group) of fish at visual satiety, once per day (09:00) for 15 weeks. At the end of feeding experiment, fish fed the SO diet exhibited the highest weight gain (WG), but did not differ from that of fish fed the FO, LO, MIX, LL-HP, HL-FO, and LL-HC diets. Fish fed the HL-VO diet had lower WG compared to that of fish fed the SO diet. Hepatosomatic index (HSI) of fish fed the LL-HP diet was significantly lower than that of fish fed the LO, SO, MIX, HL-FO diets. Survival, feed efficiency, daily feed intake, daily protein intake and protein efficiency ratio were not affected by dietary lipid source and level. Plasma cholesterol in fish fed the HL-FO diet was significantly higher than that of fish fed the other diets. Fish fed the HL-FO diet also had higher plasma triglyceride compared to that of fish fed the other diets, except for the SO diet. Fish fed the diets supplemented with vegetable oils (LO and SO diets) had higher concentration of C18:2n-6 and C18:3n-3 than those of other diets, whereas higher concentration of highly unsaturated fatty acid (n-3HUFA) was obtained in fish fed the diets containing squid liver oil. In inclusion, the present results indicate that soybean and linseed oil might be a good lipid source in the formulated diet for juvenile flounder. Growth of fish was significantly affected by the diet containing excessive level of vegetable oil. Fatty acid composition of the dorsal muscle of juvenile flounder was significantly altered by fatty acid composition of the experimental diets.

### 3.1.2. Effects of dietary lipid sources and levels on growth performance, blood chemistry, and fatty acid composition of growing flounder

Eight experimental diets (FO, LO, SO, MIX, LL-HP, HL-FO, HL-VO and LL-HC) were prepared by the same manner in the experiment I. Growing (average weight 121 g/fish) fish were randomly allocated into 300L fiberglass reinforced plastic tanks attached in a seawater flow through system. Triplicate groups (20 fish/group) were hand-fed with one of the experimental diets at visual satiety once per day (09:00) for 15 weeks. At the end of feeding experiment, weight gain, hepatosomatic index (HSI), visceralsomatic index (VSI) and daily feed intake (DFI) were not affected by dietary lipid source and its level. Fish fed the HL-VO and HL-FO diets had higher PER compared to that

of fish fed the MIX and LL-HP diets. Fish fed the LL-HP diet showed the lowest protein efficiency ratio (PER). Condition factor (CF) of fish fed the HL-FO diet was significantly higher than that of fish fed the SO diet. Body thickness/width ratio was highest in fish fed the LO diet, but did not differ from that of fish fed the LL-HP and HL-VO diets. Fish fed the SO diet showed the highest plasma total protein (TP) and the lowest value was found in fish fed the LO diet. Plasma GOT of growing flounder relatively varied with dietary lipid source and level. Fish fed the LL-HC diet had the highest GOT activity. Fish fed the squid liver oil diets (FO and HL-FO) had higher cholesterol than that of fish fed other diets. Fish fed the HL-FO diet showed higher cholesterol than that of fish fed the FO diet. At the same dietary lipid level, fish fed the diets containing vegetable oils had higher C18:2n-6 compared to that of fish fed the squid liver oil diets. Meanwhile, EPA, DHA and n-HUFA concentrations of fish fed the squid liver oil diets were significantly higher than those of fish fed the vegetable oils diets. In conclusion, different dietary lipid and level did not affect growth and feed utilization of growing flounder. It was confirmed that the dietary fatty acid composition significantly impacted on fatty acid composition of the dorsal muscle of flounder.

### 3.1.3. Effects of dietary lipid sources and levels on growth performance, blood chemistry, and fatty acid composition of adult flounder

Ten experimental diets (FO, LO, SO, MIX, LL-HP, HL-FO, HL-VO and LL-HC) were prepared by the same manner in the experiment I. Moist pellet (MP) was considered as the control diet. Adult (average weight 296 g/fish) fish were randomly allocated into 1.2 tons fiberglass reinforced plastic tanks attached in a seawater flow through system. Duplicate groups (25 fish/group) were hand-fed with one of the ten experimental diets at visual satiety once per day (09:00) for 17 weeks. At the end of feeding period, weight gain (WG) was highest in fish fed the LL-HP diet, whereas the lowest value was obtained in fish fed the HL-VO diet. There were no significant differences in WG of fish fed other experimental diets. Hepatosomatic index (HSI) in fish fed the FO, LO, HL-FO and HL-VO was higher than that of fish fed the MP. The highest feed efficiency (FE) ratio was showed in fish fed the LL-HP and the lowest value

was registered for fish fed the LO diet. Daily feed intake (DFI), condition factor (CF) and body thickness/width ratio were not affected by dietary lipid source and its level. Fish fed the FO, LO and SO diets had significant higher plasma TP compared to that of fish fed the MP. Whereas the lowest plasma glucose was obtained in fish fed the LL-HC diet. There was a relatively variation in plasma GOT activity in fish fed the all treatments. The lowest value was found in fish fed the MP. The highest plasma cholesterol and triglyceride was registered in fish fed the HL-FO and HL-VO diets, respectively. Fish fed the SO and HL-VO had higher C18:2n-6 than that of the fish fed the other diets. The highest C18:3n-3 concentration was found in flounder fed the LO diet. Concentrations of DHA and n-3HUFA in fish fed the diets containing squid liver oil were comparable to those of the MP and significantly higher than those of other diets, except for those of LL-HP and LL-HC diets. In conclusion, it was obvious that adult flounder do not require high dietary lipid level for optimum growth. Dietary lipid source and level significantly affected physical characteristics and fatty acid composition of the dorsal muscle of flounder. Regarding of growth and the dorsal muscle quality, the LL-HP diet might be suitable for adult flounder.

#### 3.1.4. Growth, hematological indices and fatty acid composition of the dorsal muscle in juvenile flounder fed the formulated diets containing different lipid source and level with or without vitamin E

Six experimental diets (HL-FO-VE, HL-VO-VE, LL-HC-VE, HL-FO+VE, HL-VO+VE and LL-HC+VE) were formulated to contain different lipid sources including 10% squid liver oil (HL-FO), 10% vegetable oil (HL-VO, a mixture of 1% FO, 4.5% linseed oil and 4.5% soybean oil), and 1% squid liver oil with high carbohydrate level (LL-HC), with (0.04%) (+E) or without vitamin E (-E) supplementation, respectively. Juvenile (average weight 8.5 g/fish) flounder were randomly distributed in 50L plastic tanks in a seawater flow through system. One of the six experimental diets was fed triplicate groups (40 fish/group) of fish to visual satiety, twice per day (09:00, 17:00). At the end of feeding experiment, feed efficiency (FE) and protein efficiency ratio (PER) in fish fed the LL-HC-VE and LL-HC+VE diets tended to be lower than that of fish fed



the other diets, regardless of vitamin E supplementation. Plasma cholesterol in fish fed the HL-FO-VE and HL-FO+VE was significantly higher than that of fish fed other diets. Fish fed the vegetable oil containing diets had higher concentrations of C18:1n-9, C18:2n-6 and C18:3n-3 compared to those of fish fed the fish oil containing diets, whereas concentrations of EPA, DHA and n-3HUFA of fish fed the diets containing squid liver oil were significantly higher than those of fish fed the diets containing vegetable oils and low lipid level diet. In conclusion, dietary lipid source, level and vitamin E addition did not affect growth of juvenile flounder. Plasma cholesterol was significantly influenced by the fish oil, irrespective of vitamin E addition. High dietary carbohydrate might not be efficiently used by flounder as alternative energy for lipid source. Dietary excessive carbohydrate could reduce feed utilization of flounder.

### 3.1.5. Growth, hematological indices and fatty acid composition of the dorsal muscle in growing founder *Paralichthys olivaceus* fed the formulated diets containing different lipid source and level with or without vitamin E

Six experimental diets (HL-FO-VE, HL-VO-VE, LL-HC-VE, HL-FO+VE, HL-VO+VE and LL-HC+VE) were formulated to contain different lipid sources including 10% squid liver oil (HL-FO), 10% vegetable oil (HL-VO, a mixture of 1% FO, 4.5% linseed oil and 4.5% soybean oil), and 1% fish oil with high carbohydrate level (LL-HC), with (0.04%) (+E) and without (-E) vitamin E addition, respectively. Growing (average weight 120.0 g/fish) flounder were randomly distributed in 300L fiberglass reinforced plastic tanks attached in a seawater flow through system. One of the six experimental diets was fed triplicate groups (20 fish/group) of fish to visual satiety, once per day (09:00). At the end of feeding experiment, fish fed the diets containing squid liver oil seemed to grow faster than fish fed vegetable oil or low lipid content, irrespective of vitamin E supplementation. Higher hepatosomatic index was obtained in fish fed the diets containing high lipid level, regardless of lipid source and vitamin E supplementation. Feed efficiency (FE) and protein efficiency ratio of fish fed the HL-FO+VE, HL-VO+VE diets was significantly higher than those of fish fed the LL-HC+E diet. Plasma total protein (TP) and

glucose was highest in fish fed the HL-FO-VE diet. Higher plasma cholesterol and triglyceride were obtained in fish fed the diets containing high level of squid liver oil. Fish fed vegetable oil containing diets had higher concentrations of C18:1n-9, C18:2n-6, C18:3n-3 compared to those of fish fed the squid liver oil containing diets. Whereas higher concentrations of EPA, DHA and n-3HUFA were observed in fish fed the squid liver oil diets compared to those of fish fed vegetable oils diets. In conclusion, dietary lipid source, level and vitamin E addition did not affect growth of growing flounder. However, dietary addition of vitamin E could improve feed utilization in growing flounder. High dietary carbohydrate might not be efficiently used by flounder as alternative energy for lipid source.

### **3.2. Development of functional feed for production of functional fish**

#### **3.2.1. Effects of dietary additives on growth performance, hematological parameters, fatty acid of dorsal muscle in juvenile flounder *Paralichthys olivaceus***

This feeding experiment was conducted to determine the effects of various dietary additives on hematological parameters, immune response and disease resistant of juvenile flounder. Ten isonitrogenous (49.0% crude protein) and isolipidic (10% crude lipid) experimental diets (A1, A2, A3, A4, A5, A6, A7, A8, A9 and A10) were formulated to supplement with 5% kelp meal, 10% krill meal, 1% garlic, 1% organ, mixture of 0.2% galic, 0.5% onion, 0.2% ginger, 0.2% mugwort, 0.2% licorice, 0.2% wasabi and 0.2% orange, 3% onion, 1% ginger, 1% mugwort, 1% licorice, and 1% wasabi, respectively. Diet without supplementation of additives was considered as the control diet (CON). Juvenile (average weight 8.5 g/fish) flounder were randomly distributed in 50L plastic tanks attached in a seawater flow through system. Seawater was continuously supplied at a flow rate of 2 L/min to each tank during feeding period. One of the experimental diets was fed triplicate groups (40 fish/group) of fish to visual satiety, twice per day (09:00, 17:00). Seawater temperature was 20.9 C during feeding experiment. Growth, feed utilization and survival of fish were not affected by dietary supplementation of the additives. No significant differences were observed in

hepatosomatic and visceral-somatic indices among fish fed the all experimental diets. These dietary additives did not affect plasma glucose, GOT, GPT, total cholesterol and triglyceride of juvenile flounder. Fish fed the A8 and A9 diets had lower plasma total protein compared to that of the control diet. Plasma triglyceride of fish fed the diet A1, A3, A5, A6, A7, A8 and A9 was significantly lower than that of fish fed the control diet. Fatty acids composition of the dorsal muscle in juvenile flounder were not affected by the dietary additives. In conclusion, here we reported as the first time the study on the effects of these additives in the formulated diet on growth, immune response and disease resistant of juvenile flounder. Dietary supplementation of the additives did not affect the growth and feed utilization of flounder. However, many previous studies have been reported that immune response and disease resistant of farmed fish was enhanced by dietary additives. Hence, immune response of juvenile flounder fed the experimental diets will be further analysed.

### 3.2.2. Effects of dietary additives on growth performance, hematological parameters, fatty acid of dorsal muscle in growing flounder *Paralichthys olivaceus*

This feeding experiment was conducted to determine the effects of dietary additives on hematological parameters, immune response and disease resistant of growing flounder. Five isonitrogenous (49.0% crude protein) and isolipidic (10% crude lipid) experimental diets (A1, A2, A3, A4 and A5) were formulated to supplement with 5% kelp meal, 10% krill meal, 1% garlic, 1% organ, mixture of 0.2% galic, 0.5% onion, 0.2% ginger, 0.2% mugwort, 0.2% licorice, 0.2% wasabi, and 0.2% orange, respectively. Diet without supplementation of the additives was considered as the control diet (CON). Fish meal, and squid liver oil, soybean oil and linseed oil were used as the main dietary protein and lipid sources, respectively. Growing (average weight 120 g/fish) fish were randomly allocated in 300L fiberglass reinforced plastic tanks in a seawater flow through system at a density of 20 fish per tank. Triplicate groups of fish was fed with one of the experimental diets at visual satiety, one a day (09:00) for 15 weeks. There were no significant differences in weight gain of fish fed the all experimental diets. Survival of fish ranged from 70.0% to 90.0%, but was not

significantly different among treatments. Feed efficiency (FE) and protein efficiency ratio (PER) of fish fed the A3 diet were significantly higher than those of fish fed other diets. Plasma total protein, glucose and GOT were not affected by dietary supplementation of the additives. Plasma total cholesterol of fish fed the A2 and A5 diets was significantly higher than that of the control diet. Concentration of C20:4n-6 of fish fed the CON diet was significantly higher than that of fish fed other experimental diets. Dietary supplementation of the additives did not affect concentrations of EPA, DHA and n-3HUFA of the dorsal muscle of growing flounder. In conclusion, supplementation of 1% garlic in the formulated diet could improve feed utilization in growing flounder. In consideration of the previous study, it suggests that the effects of those dietary additive will somehow depend on their supplementation level and developmental stages of fish. Immune response of growing flounder fed the experimental diets will be further analysed.

### **3.3. Studies on nutraceuticals as dietary additives for improvement of immune response in fish**

#### **3.3.1. Effects of various sources of dietary additives on growth, body composition and immune response of flounder**

Effects of various sources of dietary additives on growth, body composition and immune response of olive flounder were determined. Nine experimental diets with triplicates were prepared: ①control (Con) with no additive ②*Opuntia ficus-indica* ver. *saboten* (OF) ③Pro-polis (PP) ④JS lactic acid bacteria (JS) ⑤γ-Poly-glutamic acid (γP) ⑥Onion extract (OE) ⑦Organic sulfur (OS) ⑧Biostone (BS) and ⑨Fig extract (FE). Fishmeal, dehulled soybean meal and corn gluten were used as the protein source of the experimental diets. Wheat flour and soybean oil were used as the carbohydrate and lipid sources, respectively. A 1% dietary additive was included into each experimental diet at the expense of wheat flour except for fig extract, which is in the aqueous type. A 1% fig extract was included into the FE diet in stead of the same amount of water. Thirty juvenile fish averaging 26 g were stocked into each of 27, 180 L flow-through tanks. Fish were hand-fed to satiation twice a day (07:00, 17:00)

for 6 days a week for 6 weeks. After 6-week feeding trial, blood were sampled from five randomly chosen fish for serum analysis of lysozyme and bactericidal activity, and ten fish were infected with *Edwardsiella tarda* for challenging test from each tank. Survival of fish was not different among the diets. However, weight gain of fish fed the OE diet was higher than that of fish fed the Con and PP diets, followed by the FE, OS, JS, BS, OF and  $\gamma$ P diets in order. Specific growth rate of fish fed the OE, FE, OS, JS, BS and OF diets was higher than that of fish fed the PP diet. However, feed efficiency ratio, protein efficiency ratio and protein retention was not different among the diets. Although no significant difference in condition factor of fish was observed, condition factor of fish fed the experimental diets with all kinds of additives would be relatively high. Liver and the whole body of fish without liver of olive flounder was not different among the diets.

### 3.3.2. Effects of dietary supplementation of *Spirulina pacifica*, astaxanthin, and alga mixture (*Hizikia fusiformes* and *Ecklonia cava*) on non-specific immune responses and disease resistance against *Edwardsiella tarda* in flounder

Three experiments were conducted to verify the effects of dietary supplementation of alga mixtures (*Hizikia fusiformis* and *Ecklonia cava*), *spirulina pacifica* and astaxanthin on nonspecific immune responses and disease resistance against *Edwardsiella tarda* in olive flounder. In experiment 1, four experimental diets were formulated to be isonitrogenous (46% crude protein) and isocaloric (17.3 MJ/kg DM). Spirulina powder was added into the diets by 0%, 3%, 6% and 9% (designated as SPI 0, SPI 3, SPI 6 and SPI 9, respectively). Three replicates of fish groups (30 fish/tank) were fed one of the experimental diets for 2 weeks. In experiment 2, four experimental diets were formulated to be isonitrogenous (44% crude protein) and isocaloric (17.1 MJ/kg DM). Astaxanthin powder was added into the diets by 0%, 1%, 2% and 3% (designated as AST 0, AST 1, AST 2 and AST 3, respectively). Three replicates of fish groups (30 fish/tank) were fed one of the experimental diets for 2 weeks. In experiment 3, five experimental diets were formulated to be isonitrogenous (44% crude protein) and isocaloric (17.1 MJ/kg DM). Alga

mixture powder was added into the diets by 0%, 2%, 4%, 6% and 8% (designated as HE 0, HE 2, HE 4, HE 6 and HE 8, respectively). Three replicates of fish groups (30 fish/tank) were fed one of the experimental diets for 2 weeks. The end of the three feeding trials, immune parameters were determined to evaluate nonspecific immune responses. After the each 2-week feeding trial, healthy fish of similar sizes per each tank (30 fish per dietary treatment) were selected and injected with 1 ml of *Edwardsiella tarda* suspension to evaluate the disease resistance of the fish. Dietary supplementation of *Spirulina pacifica*, astaxanthin, and alga mixture fed groups resulted in significantly higher nonspecific immune responses than the control groups. The cumulative mortality was significantly lower in the fish groups fed *Spirulina pacifica*, astaxanthin or alga mixture supplemented diets than that of the fish group fed the control diet in the challenge test with *E. tarda*. Therefore, the findings in this study suggest that dietary supplementations of *Spirulina pacifica*, astaxanthin or alga mixture could enhance the nonspecific immune responses and improve the resistance of olive flounder against a disease.

### 3.3.3. Gene expression analysis after feeding trial

This study aimed to evaluate the efficacy of feed compositions and natural feed additives on the immune responses in flounder (*Paralichthys olivaceus*). Ten additives were evaluated in this study (i.e., garlic, onion, ginger, moxa, licorice root, wasabi, mandarin powder, kelp meal, krill powder, mixture of all of additives) by analyzing their effects on complement activity, serum lysozyme activity and gene expressions related to immune responses (IL-1beta and NK-cell enhancing factor), apoptosis (TNF and gelsolin), drug metabolism (NADH dehydrogenase and cytochrome oxidase) and growth (myosin). Fourteen experimental diets were prepared by different compositions and ten experimental diets were prepared by adding natural feed additives (garlic, onion, ginger, moxa, licorice root, wasabi, mandarin powder, kelp meal, krill powder) at the concentrations of 1% (except kelp meal 5%, krill power 10%, onion 3%) and fed for 15 weeks. Complement activity was analyzed from 9 fish of each diet at 15weeks using sheep red blood cells and Serum lysozyme activity was analyzed from 9 fish of each diet at 15 weeks using EnzChek lysozyme Assay Kit

(Invitrogen). Gene expression in head kidney was analyzed by Real Time PCR reactions using SYBR green systems (TaKaRa). HSC70 was used as reference gene. In this study, it was demonstrated that serum lysozyme activity was higher in the experimental groups than in control group at week 10 and 15, indicating a clear enhancing effect of experimented additives on serum lysozyme activity. NADH dehydrogenase and cytochrome oxidase gene expressions were significantly up-regulated in ginger, licorice root and wasabi group, suggesting their toxicity to flounder. It is known that the expression of these genes can be induced by several phytochemicals such as isoflavons and phytosterols contained in natural feed additives. Meanwhile, that IL-1 $\beta$  and TNF- $\alpha$  gene expression was significantly up-regulated in onion and kelp meal fed flounder, while drug metabolism gene expressions were not significantly up regulated in these groups.

#### 3.3.4. Histopathological changes of flounder (*Paralichthys olivaceus*) by administration of various feed additives

Researches for increasing daily weight gain, growth enhancement, disease resistance of aquaculture fish species, have been actively conducted by using feed additives. Various kinds of plants, minerals, microorganisms or their extracts have been administered for many fish species, to know the effects as feed additives. Most of these additives have already been used in human or other animals as food, feed additives, drugs. Or at least preliminary researches conducted. Hence, it is relatively easy to apply these materials for aquaculture industry. In this study, several feed additives (kelp meal, krill meal, garlic, onion, ginger, mugwort, licorice, wasabi, orange and mixture of all additives) were perorally administered to olive flounder (*Paralichthys olivaceus*) for a long period (15 weeks), and we investigated if there are any histopathological effects on each organs. Routine histopathological process were conducted for making slide specimens for each experimental groups and control group, and the results were compared. Except for liver, there were no pathological changes in histological specimens among each experimental groups and control group. Mild foamy degeneration of liver cells were observed in control group and each experimental groups. Generally, mild pathological effects can be seen in liver cells when feed additives administered for a long period. And this is thought to be reversible

changes because these effects can be disappeared when stop or reducing feed additives. In this experiment, however, there were no differences among each experimental groups and control group in terms of 15 weeks . Hence, the mild foamy degeneration of liver cells observed in this study is not thought to be associated with feed additives.



## 제 1 장 연구개발과제의 개요

어류양식에 있어 사료비는 어류양식 총 생산비의 50% 이상을 차지하므로 경제적으로 매우 중요하며 양식에 의한 수질오염은 급여되는 사료로부터 유래하기 때문에 대상어종을 위한 생육 단계별 사료개발은 생산성과 환경보호 양 측면에서 가장 우선적으로 고려되어야 할 사항이다. 하지만 넙치와 같은 주요 해산어류 양식용으로 정어리, 양미리와 같은 냉동 생사료를 주로 사용하고 있으므로 연안 어족자원 고갈 및 양식장 주변 수질오염이 심각하며 국내에서 시판되고 있는 배합사료의 품질이 생사료에 미치지 못하기 때문에 상업적으로 개발된 사료가 있더라도 양어가들은 비싼 외국 수입 사료나 생사료를 사용하고 있는 실정이다. 따라서 배합사료 직불제 시행에 대한 연구 자료 제공이 필요하며, 생사료 공급과 배합사료 공급의 장단점을 고려한, 배합사료 공급에 따른 장점 자료 제시가 필요하다.

특히 생사료 공급에 비해 배합사료 공급 시 문제가 되고 있는 어체의 성장 및 비만도 향상에 대한 연구가 시급하며, 환경오염 및 수산용 항생제 등의 남용으로 양식생물 안정성 문제가 대두되고 있는 현재 안전한 기능성 양식어류 개발로 소비자 중심의 건강식 식품 생산 및 공급 필요하다. 그리고 해산어류의 배합사료에 관해 영양소 요구량 설정 등 기초적인 연구가 계속 수행되어 왔고, 이와 함께 양식 생산 단가에 높은 비중을 차지하고 있는 사료비를 절감시키기 위한 배합사료 연구도 수행되고 있다. 하지만 대상종 배합사료가 연구되고 있다 하더라도 그 품질을 계속 개선하여 사료효율을 높이는 한편, 값비싼 영양소의 첨가 수준을 최소화하여 사료 원가를 줄이는 연구와 양식어의 성장과 품질을 개선시키기 위한 노력은 계속되어야 할 것이다. 예를 들면, 상품배합사료로 사육할 때 발생하는 복수증이나 질병 저항성 등의 문제도 사료의 품질에 의한 부작용일 수 있음을 감안하면, 이에 대한 해결책을 연구하는 것도 매우 중요한 일이라 할 수 있다. 즉, 어류의 성장을 증진시키거나 품질을 개선시키는 미지의 인자를 구명하는 것은 어렵지만, 이들의 식성 등을 고려하여 사료섭취 유인 물질이나 성장이나 양식어의 육질 개선 또는 면역을 증강시키는 원료를 사료에 첨가하여 사료의 품질을 개선하려는 연구가 필요하다. 따라서 본 연구는 기존의 연구자료를 바탕으로 산학연 공동으로 성장이나 어체품질에 있어서 생사료 보다 우수한 고품질의 배합사료 개발하여 이를 실용화하고자 한다.

## 제 2 장    국내외 기술개발 현황

국내 배합사료의 기술현황을 보면, 1970년대까지는 주로 수입사료 혹은 생사료에 기반을 둔 자가사료로 양식어를 사육하였으며, 1980년대부터는 국내에서도 뱀장어 및 잉어용 배합사료가 처음으로 생산 판매되기 시작하였다. 또한 잉어 가두리 양식업의 비약적인 발전과 팽창에 힘입어 양어사료 생산이 매년 200%의 증가를 나타내어 1989년에는 총 90,000톤에 달하였다. 해산어 배합사료의 경우 역시 1980년대 초반의 방어 축양사업의 일시적 호황과 퇴조에 따라 1980년대 후반에는 넙치 및 조피볼락 중심으로 해산어류 양식의 기조가 바뀌면서 담수어 사료의 정체를 해산어 사료의 증가로 전체 성장을 이끌어 가고 있다. 1990년대 이후 부터 해산어종별 기초 영양연구 및 사료개발 연구가 수행하고 있으나 고효율 배합사료의 실용화 등에 대해서는 아직도 다소 미흡한 실정이다. 현재 우리나라에서 양식종에 적합한 배합사료 개발에 관한 연구는 넙치 및 조피볼락의 영양요구에 관하여 중점적 연구 수행되고 있으며 외국에서도 수산 양식 대상 생물에 대해서는 영양사료 연구가 필수적으로 수행되고 있다.

각 나라의 배합사료 기술현황을 살펴보면, 미국의 경우, 양식산업의 기반이라고 할 수 있는 환경 친화적 고효율 배합사료 개발을 통하여 철갑상어, 홍민어, 송어, 연어, 채널메기를 전략종으로 하여 배합사료만으로 양식을 하고 있다. 채널메기의 경우 연간 40만 톤을 생산하며, 메기용 배합사료 생산량만 60~80만 톤에 이르고 있다. 일본의 경우, 참돔은 연간 10만 톤을 거의 전량 배합사료로 생산하고 있으며, 방어는 1.5 kg 전후까지는 90% 이상을 배합사료로 공급하고, 이후 2~5 kg까지는 배합사료 40%, 생사료 60%를 사용하여 연간 18만 톤을 생산하고 있다. 노르웨이의 경우, 연간 50만 톤의 연어류가 100% 배합사료로 해상가두리 양식장에서 생산되고 있다. 또한, 신품종 개발 및 대종어종에 적합한 배합사료 개발, 배합사료 공급 실용화 및 배합사료 품질 향상 연구 등 배합사료 개발을 위해 체계적인 연구들이 지속적으로 수행되고 있다.

## 제 3 장 연구개발수행 내용 및 결과

### 제 1 절 사료원료 성분특성 연구

#### 1. 사료원료 사용현황

##### 가. 사료원료 가격동향

양어사료에서 가장 많이 사용되고 있는 사료원료인 어분의 실제 구매 가격은 원자재 및 환율상승 등의 원인으로 전년도에 비해 70%이상 상승하였으며, 그 외 식물성 단백질원인 대두박, 옥수수, 밀가루 등도 상승폭이 증가하고 있어 대부분의 사료원료를 수입에 의존하고 있는 국내양어 사료업체는 사료생산 및 단가 유지가 상당히 어려운 실정이다(표 1-1). 또한 국산어분 및 오징어간분도 생산비용의 20-30% 정도 상승하였으나 수입산 원료에 비해 상승폭이 낮은 경향을 보이고 있으며, 그 외 사료원료 중에서 비타민 E와 콜린의 가격이 많이 상승한 실정이다.

##### 나. 사료원료 생산동향

어분의 국내생산량 및 수입량은 06년에 비하여 07년도에 감소하였으며, 대신 어즙흡착의 생산량이 대폭 증가하였다(표 1-2). 육골분의 국내생산량은 06년 및 07년 간에 별다른 차이가 없었으나, 광우병에 대한 우려로 수입은 대폭 감소한 실정이며, 수입산 대두는 소량 증가하였고, 옥수수 및 면실의 수입량은 별 다른 변화가 없었다.

##### 다. 사료원료의 기능 및 성분

동물성 단백질원은 어분, 혈분, 우모분, 가금부산물, 오징어간분, 육분, 육골분 등이 사용되고 있으며, 식물성 단백질원은 대두박, 옥글루텐밀, 면실박, 아파박, 밀기울, 종자박 등이 있으나 양어사료에 주로 이용되고 있는 것은 어분과 대두박 정도이다. 그 외 탄수화물원은 밀가루가 가장 많이 이용되고 있으며, 비타민과 미네랄은 영양성 결핍증을 예방하기 위해 mixture 형태로 첨가되고 있다.

표 1-1. 사료원료별 가격동향

사료원료명	원산지	가격(원/kg)	
		2007	2008
대구어분(상)	덴마크	1,300	2,100
정어리어분(상)	칠레	1,400	2,100
국내어분(하)	국산	850	1,000
오징어간분	국산	700	900
육골분	호주	900	900
탈피대두박	미국	600	1,000
대두박	미국	400	670
옥수수	미국	600	1,000
밀가루	국산	300	450
어유	국산	1,600	2,000
오징어간유	국산	1,600	2,000
대두유	미국	630	1,000
켄프밀	중국	1,400	1,500
크릴밀	동남아	2,300	2,700
비타민 E	중국	20,000	36,000
비타민 C	중국	13,000	16,000
콜린	중국	1,800	2,900
비타민 mix.	국산	3,500	4,000
미네랄 mix.	국산	700	800

※ 본 자료는 사료회사의 실제 구입가격임(2008. 11.)

표 1-2. 사료원료별 생산 및 수입량

사료원료명	원산지	생산량(톤)	
		2006	2007
어분	국산	29,266	26,754
	수입산	45,420	40,026
육분	국산	10,899	13,859
육골분	국산	21,895	18,328
	수입산	18,545	199
우모분	국산	13,917	14,863
어즙흡착	국산	19,556	33,459
가금도축부산물	국산	10,307	13,151
대두	수입산	730,795	818,792
옥수수	수입산	6,263,836	6,230,086
면실	수입산	120,815	120,097
밀(소맥)	수입산	1,200,322	1,012,303
밀기울	수입산	284,991	300,418
유지	국산	110,124	117,383
미량광물질	국산	6,876	8,201
다량광물질	국산	1,001	2,198
인산칼슘	국산	41,666	33,530
보존제	국산	760	1,368
비타민 mix.	국산	6,097	4,071
효소제	국산	2,086	3,098
생균제	국산	11,812	13,140

※ 참고문헌: 월간 피드저널

#### 동물성 단백질원

어분은 생선으로부터 어유를 짜고 남은 어박이나 생선 부스러기 등을 건조시켜 가루로 만든 것을 말하는데, 영양성분 및 기호성이 높은 원료로, 어종 및 생산방법 등에 따라 영양소 함량과 사료적 가치에 차이가 나타난다. 그러나 대체적으로 어분의 수분함량은 10% 이하, 단백질 함량은 65% 이상이며, 필수아미노산 조성이 균형적으로 되어 있으나, 지질함량은 3-12%로 어종에 따라 다소 차이가 있다. 이 중 국내산 어분은 수입산 어분에 비해 단백질 및 필수 아미노산 함량이 낮고 회분함량이 높지만, 가격은 다소 저렴한 편이다. 오징어간분은 오징어내장과 대두박을 일정비율로 혼합하여 분쇄한 것으로 단백질함량은 50% 내외이지만, 지방에 불포화지방산을 많이 분포하고 있고 가격이 저렴하여 최근에 넙치 및 조피볼락 배합사료에 많이 이용되고 있다. 크릴밀은 남빙해 등에서 어획한 크릴 새우를 건조 및 분쇄한 것을 말하는데, 단백질 함량이 50% 이상인 단백질원이나 어류의 사료섭이촉진 및 면역증강 효과가 보고되어 있어 오히려 사료내 1-2% 수준의 첨가제로 많이 사용되고 있다.

#### 식물성 단백질원

대두박과 옥글루텐밀은 각각 콩과 옥수수에서 기름을 짜고 남은 찌꺼기를 건조하여 미분한 것으로 어분과 비교하여 가격이 절반 정도로 저렴하기 때문에 전 세계적으로 가금 및 양어사료에 많이 사용되고 있는 사료원료이다. 대두박의 단백질 함량은 40% 이상이며, 콘글루텐밀의 단백질 함량은 55% 이상으로 양호하지만, 지질함량은 대두박이 2% 미만, 콘글루텐 밀이 5% 미만으로 낮은 편이며, 아미노산 조성은 어분과 비교하여 대두박은 황함유 아미노산인 메티오닌의 함량이, 콘글루텐밀은 아르지닌 및 라이신 함량이 부족하기 때문에 사료배합표 작성이 유의해야 한다. 이외 소맥분은 탄수화물원으로 사료의 가공 및 성형에 꼭 필요한 원료이다.

## 2. 사료원료별 성분분석

### 가. 서론

일반적으로 사료원료는 주성분에 따라 단백질원료, 탄수화물원료, 지질원료, 비타민원료 및 무기질원료 등으로 분류할 수 있다. 양식용 배합사료 제조를 위하여 사용되는 단백질원료로는 어분, 대두박, 콘글루텐밀, 크릴밀, 새우분 등이 있으며, 어유, 오징어간유, 대두유, 옥수수유 등의 지질원과 소맥분, 감자전분, 옥수수전분과 같은 탄수화물원 및 비타민과 미네랄 원료와 같은 수습 종류가 넘는 사료원료들이 있다. 이러한 사료원료는 종류에 따라 영양소함량, 기호성 및 이용성 등이 다르기 때문에 어종의 생리적 특성에 맞는 사료원료의 선택이 중요하다. 해산어는 담수어나 육상동물과 비교하여 탄수화물에 대한 생리적 이용성이 낮으며, 많은 양의 단백질을 요구한다. 따라서 양식 대상종에 적합한 배합사료 개발을 위해서는 그 어종이 요구하는 영양소 요구량을 충족시킬 수 있는 사료원료들을 잘 선택하여 성장 및 사료 이용성이 우수하도록 그 함량 비율을 조절하는 것이 대단히 중요하다.

그래서 본 연구는 양식용 배합사료에 많이 사용되고 있는 주요 사료원료들의 일반성분(수분, 조단백질, 조지방, 조회분, 조섬유, 열량), 미량영양소(아미노산, 지방산, 칼슘, 인, 셀레늄) 및 안전성성분(비소, 크롬, 납, 카드뮴)을 분석하여 고품질 배합사료 개발을 위한 사료설계 및 사료품질 기준 설정을 위한 기초 자료로 활용하고자 하였다.

### 나. 재료 및 방법

#### 분석시료

영양성분 및 안전성성분 분석에 사용한 시료는 배합사료에 일반적으로 많이 사용되는 원료들을 구입하여 사용하였다. 동물성 사료원료로써는 어분, 새우분, 오징어분, 오징어간분, 육분 등을 사용하였으며, 식물성 원료로는 대두박, 콘글루텐밀 소맥분, 전분, 해조분 등을 사용하였다.

## 성분분석

사료원료의 수분은 105℃에서 6시간 건조하여 측정하였으며, 조단백질(N×6.25)은 Auto Kjeldahl System (Gerhardt VAP500T/TT125, Germany)을 사용하여 분석하였다. 조지방은 조지방추출기(Velp SER148, Italy)를 사용하여 ether로 추출한 후 측정하였으며, 조회분은 회화로를 사용하여 550℃에서 4시간 동안 태운 후 정량하였다. 조섬유는 조섬유분석기(Fibertec 1020, Foss, Sweden)를 사용하여 분석하였으며, 열량은 열량분석기(Parr-6200, USA)를 사용하여 분석하였다. 사료원료의 아미노산 분석은 6N-HCl 용액으로 분해하여 전처리한 시료액을 아미노산자동분석기(Biochrom, Netherland)를 사용하여 분석하였으며, 지방산 분석은 Folch et al. (1957)의 방법에 따라 메탄올과 클로로포름 혼합액으로 지질을 추출하였으며, 14% BF<sub>3</sub>-methanol (Sigma, USA)로 지방산을 methylation 시킨 후, capillary column (HP-INNOWax, 30m × 0.32mm × 0.5μm, USA)이 장착된 gas chromatography (HP-6890)로 분석하였다. Carrier gas는 helium을 사용하였으며, oven 온도는 170℃에서 225℃까지 1℃/min 증가시켰고, injector의 온도는 250℃, detector (FID) 온도는 270℃로 설정하였다. 칼슘과 인은 시료를 600℃에서 24시간 회화한 후, 질산과 증류수(1:1) 혼합액로 가하여 분해시킨 시료액을 유도결합플라즈마분광계(Jobinyvon, USA)를 사용하여 측정하였다. 셀레늄 및 비소는 마이크로웨이브분해기(Ethos, Milestone, Italy)로 시료를 전처리한 후, 유도결합플라즈마분광계(Jobinyvon, France)를 사용하여 측정하였다. 크롬, 납, 카드뮴은 시료를 550℃에서 24시간 회화한 후, 질산과 증류수(1:1) 혼합액 가하여 분해시킨 시료액을 원자흡광분광광도계(Analyticjena, Germany)를 사용하여 측정하였다.

## 다. 결과 및 고찰

사료원료의 일반성분 분석결과, 명태류 및 대구류를 원료로 제조한 백색어분 상급제품의 조단백질은 70% 전후로 상당히 높은 함량을 보였으며, 멸치류, 연어류, 전갱이류, 정어리류 등으로 제조한 갈색어분 상급제품도 조단백질이 65-70% 정도로 높은 함량을 보였다(표 1-3). 국내에서 제조된 어분의 경우 조단백질이 52-56% 정도로 수입어분에 비하여 낮은 함량을 보였다. 어분의 품질은 단백질 함량 외에도, 생산년도, 생산지, 가공방법, 저장기간 등에 따라서 변동되기 쉬우므로 배합사료를



제조하기 위해서는 사료품질 관리를 위한 품질검사가 항상 병행되어야 할 것이다. 또한 참치어분 및 크릴분은 조단백질이 60% 전후, 새우분과 오징어간분은 조단백질이 50% 내외였으며, 육분(CP 85%), 오징어분(CP 75%)도 상당히 높은 조단백질 함량을 보였다.

식물성 사료원료들의 조단백질 함량은 대두박이 46% 전후였으며, 콘글루텐밀이 60% 전후, 소맥글루텐이 76%, 잠박 70%, 호마박 44% 전후였다. 소맥분의 경우 품질에 따라서 조단백질 함량이 12-18% 수준이었다.

사료원료별 아미노산 조성 분석결과를 표 1-4에 나타내었으며, 아미노산 조성은 어분과 비교하여 대두박은 황함유 아미노산인 메티오닌의 함량이, 콘글루텐밀은 아르지닌 및 라이신 함량이 부족하기 때문에 실용사료 배합표 작성시 이를 유의하여 사용하여야 할 것이다. 사료원료별 지방산 분석결과 (표 1-5), 어분, 새우분, 오징어분 등의 원료에서는 20:5n-3 및 22:6n-3 등이 다량함유 되어 있어서 어류의 필수지방산 공급원으로도 좋은 원료로 사용가능 할 것이다. 그러나 대두박, 콘글루텐밀, 소맥분과 같은 식물성 원료의 경우 18:2n-6이 높은 함량을 보였으나, n-3계 고도불포화지방산은 존재하지 않았다.

무기물 성분 중 칼슘과 인은 어분의 경우 각 시료에 따라 다소 차이는 있었으나, 2% 전후로 함유되어 있었고, 식물성 사료원료에는 1% 이하로 어분을 포함한 동물성 원료에 비하여 낮은 함량을 보였다(표 1-6). 셀레늄은 어분 종류에 따라 그 함량에 많은 차이를 보였으며, 대두박 및 콘글루텐밀 등의 식물성 원료에서는 0.5ppm 이하 수준이었다. 크롬 및 납은 모든 원료에서 4 ppm 이하의 수준이었고, 카드뮴은 오징어간분과 오징어분에서 높게 나타났으며, 비소는 모든 시료에서 10 ppm 이하의 수준을 보였다.

표 1-3. 사료원료의 일반성분

	시료명	수분 (%)	조단백질 (%)	조지질 (%)	조회분 (%)	조섬유 (%)	열량 (cal/g)
1	백색어분 (명태류)	8.47	69.18	6.62	15.14	1.25	4420
2	백색어분 (대구류)	7.27	70.99	10.68	11.71	1.34	4978
3	백색어분 (대구류)	7.30	70.1	11.06	11.65	0.79	4980
4	백색어분 (대구류)	8.80	68.33	8.95	12.99	1.51	4920
5	백색어분 (대구류)	6.74	70.60	11.85	10.74	1.44	5040
6	갈색어분 (멸치류)	7.21	69.11	9.65	13.34	0.9	4751
7	갈색어분 (멸치류)	9.18	66.52	7.45	13.95	0.55	4500
8	갈색어분 (멸치류)	9.19	68.78	7.17	13.54	1.63	4429
9	갈색어분 (멸치류)	8.78	65.45	8.12	14.70	1.41	4542
10	갈색어분 (멸치류)	9.76	68.26	7.32	12.70	0.73	
11	갈색어분 (연어류)	8.16	68.82	10.29	12.22	0.56	4785
12	갈색어분 (전갱이)	8.23	68.1	8.34	14.30	0.44	4621
13	갈색어분 (정어리)	8.25	65.27	8.18	15.75	0.88	4713
14	갈색어분 (전갱이류)	7.16	66.97	8.87	14.17	1.53	4656
15	갈색어분 (전갱이류)	8.62	61.37	10.1	18.23	0.53	4435
16	갈색어분 (잡어류)	5.39	71.77	9.71	12.26	1.50	4942
17	갈색어분 (잡어류)	14.05	66.45	7.63	10.41	0.32	4391
18	갈색어분 (잡어류)	8.29	69.39	9.91	12.12	0.44	4794
19	갈색어분 (잡어류)	10.01	56.09	7.02	19.10	1.47	4035
20	갈색어분 (잡어+명태)	7.53	51.74	4.94	17.44	1.64	4128

	시료명	수분 (%)	조단백질 (%)	조지방 (%)	조회분 (%)	조섬유 (%)	열량 (cal/g)
21	갈색어분 (잡어)	7.63	55.74	7.25	24.01	1.24	3925
22	갈색어분 (국산)	7.30	61.36	7.68	16.88	1.01	4732
23	참치어분	6.12	62.13	11.29	15.86	0.54	4720
24	참치어분	3.36	58.53	11.27	23.00	1.90	4482
25	참치어분	8.09	58.97	9.19	19.22	1.81	4394
26	오징어분	9.20	74.56	3.82	10.89	2.0	4533
27	새우분	7.14	51.96	11.18	14.26	11.46	4488
28	새우분	5.79	50.81	11.25	16.19	14.39	4275
29	크릴분	12.06	59.13	11.43	9.41	5.57	4799
30	크릴분	11.53	57.30	11.93	11.21	7.34	
31	오징어간분	11.14	47.35	9.52	4.32	2.77	4641
32	오징어간분	6.27	50.86	10.30	4.53	2.96	4942
33	오징어간분	11.73	42.20	15.73	7.03	3.35	5060
34	육분	2.22	84.75	10.86	3.98	1.68	5479
35	혈분	12.04	86.87	0.24	1.59	0.75	5379
36	대두박	11.72	46.84	1.60	5.79	3.52	4114
37	대두박	11.23	46.42	0.91	6.06	3.53	4213
38	대두박	11.81	45.53	1.35	5.65	5.52	4378
39	대두박	10.99	47.23	1.89	6.00	4.08	3576
40	콘글루텐밀	9.97	59.80	1.00	2.16	1.47	5202

	시료명	수분 (%)	조단백질 (%)	조지질 (%)	조회분 (%)	조섬유 (%)	열량 (cal/g)
41	콘글루텐밀	8.90	62.64	0.88	1.34	2.10	4402
42	소맥글루텐	6.77	76.41	1.07	0.75	1.07	5127
43	글루텐밀	6.38	63.24	0.55	1.60	2.95	4653
44	잡박	8.23	70.18	6.61	2.75	2.37	5045
45	호마박	2.22	43.55	9.50	11.09	6.86	5180
46	호마박	2.86	44.17	13.94	10.98	6.44	5142
47	수지박	7.86	75.01	10.24	6.86	0.90	5317
48	소맥분	11.62	12.45	1.99	0.94	1.16	3821
49	소맥분	12.06	13.68	2.16	1.09	2.07	3863
50	소맥분	11.91	16.58	3.35	1.96	9.68	3960
51	소맥분	12.19	18.22	2.35	1.53	2.14	
52	소맥분	11.20	14.01	2.05	1.17	1.34	4053
53	소맥분	11.88	18.00	3.22	1.95	2.02	4124
54	소맥분	11.91	16.01	2.13	1.26	1.60	4116
55	전분	4.92	0.46	0.15	0.24		
56	해조분	7.29	12.91	1.14	34.76	14.0	

표 1-4. 사료원료의 아미노산 조성 (% of protein)

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
	백색어분 (명태)	백색어분 (대구류)	백색어분 (대구류)	백색어분 (대구류)	갈색어분 (멸치류)	갈색어분 (멸치류)	갈색어분 (멸치류)	갈색어분 (멸치류)	갈색어분 (연어류)	갈색어분 (전갱이)
Ala	6.40	6.74	6.56	6.47	6.38	6.38	6.37	6.46	6.00	6.45
Arg	5.97	5.54	6.06	6.30	5.62	6.03	5.93	5.61	5.36	6.08
Asp	9.25	9.26	9.38	10.24	9.41	9.39	9.47	9.50	8.64	9.37
Cys	1.84	1.57	0.87	1.27	1.34	0.85	0.97	1.13	1.39	0.77
Glu	12.75	13.04	13.93	14.41	12.77	12.98	13.08	13.59	11.47	13.12
Gly	9.56	6.10	6.04	6.29	6.16	6.29	6.32	6.10	8.01	6.64
His	2.19	2.31	2.52	2.61	3.13	5.02	4.83	3.03	2.42	4.62
Ile	3.34	3.83	4.55	4.46	3.91	4.60	4.18	4.23	3.33	4.57
Leu	6.17	7.04	8.09	8.03	7.14	7.83	7.52	7.71	5.92	7.79
Lys	6.99	8.05	8.18	8.33	8.11	7.90	7.96	8.06	6.85	7.79
Met	2.55	2.77	3.05	3.24	2.75	3.23	3.22	3.44	2.52	3.20
Phe	3.37	3.89	4.24	4.26	4.24	4.08	4.18	4.46	3.72	4.02
Pro	5.04	3.90	4.29	3.95	3.93	4.44	4.33	4.09	4.51	4.63
Ser	4.86	4.52	3.94	4.00	4.11	3.91	3.93	3.93	3.89	3.92
Thr	4.05	4.55	4.42	4.65	4.29	4.37	4.44	4.50	3.94	4.35
Tyr	2.82	3.07	3.35	3.40	3.41	3.23	3.25	3.39	2.93	3.19
Val	4.78	5.51	5.45	5.82	5.37	5.44	5.73	6.07	4.80	5.32

	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
	갈색어분 (전갱이)	갈색어분 (전갱이)	갈색어분 (잡어)	갈색어분 (잡어)	갈색어분 (잡어)	갈색어분 (잡어)	갈색어분 (잡어)	갈색어분 (잡어)	참치어분	참치어분
Ala	6.48	6.52	6.18	6.49	5.77	6.45	6.15	5.98	6.80	6.66
Arg	5.84	6.27	5.95	6.13	5.14	6.11	6.03	5.49	5.94	6.10
Asp	9.60	9.57	9.61	9.52	8.13	9.43	9.46	8.07	9.45	9.61
Cys	0.95	0.83	0.98	0.80	1.27	1.60	1.91	1.62	0.85	1.22
Glu	13.71	13.32	13.42	13.35	10.64	13.07	13.99	10.86	12.61	12.99
Gly	6.22	7.12	5.95	6.85	7.37	8.82	8.28	9.46	7.21	8.06
His	3.44	3.96	4.30	4.63	2.26	2.36	2.34	2.10	3.88	2.97
Ile	4.30	4.37	4.34	4.32	3.16	3.47	3.58	2.73	4.61	3.97
Leu	7.74	7.68	7.71	7.65	5.62	6.37	6.57	5.26	8.01	7.15
Lys	8.16	7.78	8.07	8.02	6.38	6.55	6.26	5.34	7.67	7.24
Met	3.02	2.76	3.02	2.81	2.47	2.31	2.53	2.15	3.09	3.34
Phe	4.47	4.07	4.37	4.00	3.19	3.56	3.53	3.36	4.16	4.21
Pro	4.21	4.87	4.41	4.61	4.30	5.03	4.69	5.11	4.96	4.95
Ser	3.94	4.05	4.01	3.95	3.58	4.34	4.74	4.15	3.92	4.04
Thr	4.48	4.41	4.56	4.36	3.69	4.07	4.16	3.61	4.43	4.49
Tyr	3.35	3.24	3.52	3.16	2.61	2.61	2.91	2.46	2.93	3.30
Val	5.44	5.15	5.62	5.25	4.39	5.03	5.18	4.40	5.48	5.85

	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
	참치어분	오징어분	새우분	새우분	크릴분	오징어 간분	오징어 간분	육분	대두박	대두박
Ala	6.38	5.92	6.06	6.12	5.85	2.10	2.42	8.18	4.18	6.14
Arg	6.13	7.08	5.79	6.46	6.41	3.13	3.42	7.48	6.87	6.12
Asp	9.61	9.84	9.47	10.10	10.77	4.91	5.09	7.97	10.86	9.70
Cys	0.96	1.70	0.93	0.71	0.59	0.70	0.68	1.00	1.21	0.99
Glu	13.33	14.05	12.93	14.14	14.56	7.72	8.37	12.73	18.11	13.52
Gly	7.69	5.78	6.12	6.39	4.72	2.06	2.38	16.16	4.04	6.08
His	2.69	2.11	2.53	2.64	2.69	1.08	1.13	2.61	2.57	2.62
Ile	4.23	3.93	3.62	4.00	4.80	4.42	4.40	2.58	4.74	3.78
Leu	7.36	7.14	6.21	6.69	7.79	3.40	3.79	5.61	7.78	6.57
Lys	7.11	6.07	6.04	5.77	7.83	2.76	3.13	5.33	5.95	6.24
Met	2.95	2.82	1.91	2.00	3.08	0.81	0.96	1.50	1.42	2.02
Phe	4.45	3.55	4.98	5.12	4.65	2.12	2.25	3.54	4.97	5.20
Pro	5.33	4.06	4.62	5.37	3.81	2.11	2.58	10.25	5.14	4.79
Ser	4.19	4.13	4.36	4.38	4.15	2.16	2.50	3.60	4.88	4.42
Thr	4.56	4.30	4.10	4.43	4.37	1.90	2.21	3.20	3.81	4.23
Tyr	3.51	1.73	3.88	3.84	3.91	1.66	1.90	2.37	2.95	4.05
Val	5.46	4.67	4.79	5.11	4.92	2.20	2.46	4.49	5.05	4.98

	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40
	대두박	콩글루텐 밀	콩글루텐 밀	소맥 글루텐	잠박	호마박	호마박	소맥분	소맥분	소맥분
Ala	4.19	7.92	8.03	2.53	5.43	5.20	5.06	3.23	2.80	3.39
Arg	7.01	2.90	2.87	3.27	6.79	10.56	10.35	4.16	4.24	5.18
Asp	12.12	5.46	5.74	3.02	6.56	7.98	7.82	4.41	4.76	6.19
Cys	1.12	1.02	0.88	1.93	0.98	0.52	0.57	1.79	3.02	4.05
Glu	19.61	18.03	20.86	35.51	16.24	20.74	20.57	29.48	30.98	27.36
Gly	4.34	2.49	2.39	3.32	4.50	5.31	5.16	3.70	3.83	4.28
His	2.64	2.00	1.96	1.89	1.40	2.49	2.49	2.13	2.11	2.52
Ile	4.54	3.74	3.57	3.21	3.67	4.07	4.27	3.05	2.84	2.96
Leu	7.86	14.23	15.98	6.30	10.45	7.39	7.40	6.24	5.91	5.91
Lys	6.13	1.51	1.48	1.43	3.27	1.74	1.68	2.32	2.19	2.83
Met	0.86	2.12	2.10	1.34	1.31	2.50	3.11	1.18	1.30	1.16
Phe	5.21	5.77	5.67	5.05	4.29	4.87	4.79	4.44	4.27	4.42
Pro	5.01	9.04	9.00	11.83	8.21	3.58	3.94	10.04	10.79	8.34
Ser	4.98	4.65	4.48	4.27	6.37	3.66	3.60	4.19	4.20	4.36
Thr	3.98	3.09	3.08	2.49	4.60	3.36	3.28	2.67	3.28	3.88
Tyr	3.03	4.10	4.33	3.53	4.17	3.37	3.31	2.63	2.66	2.62
Val	4.68	4.47	4.13	4.07	4.98	5.47	5.72	4.63	5.93	6.24



표 1-5. 사료원료의 지방산 조성 (% of total fatty acids)

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
	백색어분 (명태)	백색어분 (대구류)	백색어분 (대구류)	백색어분 (대구류)	갈색어분 (멸치류)	갈색어분 (멸치류)	갈색어분 (멸치류)	갈색어분 (멸치류)	갈색어분 (연어류)	갈색어분 (전갱이)
C14:0	3.32	3.55	3.46	3.14	4.77	2.64	2.52	4.58	3.26	3.60
C16:0	17.28	20.43	22.09	22.67	22.17	19.44	18.47	23.77	17.05	18.83
C16:1n-7	4.91	4.56	4.48	3.91	6.11	3.59	2.99	5.53	4.08	3.16
C18:0	5.26	3.39	3.04	3.53	5.09	7.58	9.16	5.68	5.36	6.16
C18:1n-9	18.23	20.09	20.34	19.42	12.71	15.83	13.53	12.85	21.26	15.85
C18:2n-6	0.78	2.77	2.59	2.29	0.54	1.31	1.34	0.73	12.74	1.17
C18:3n-3	0.51	1.82	1.71	1.79	0.26	0.66	1.30	0.28	2.30	0.49
C20:1n-9	5.87	1.69	1.37	1.58	1.43	1.58	0.85	1.51	1.99	4.10
C20:2n-6		0.43		0.42		0.27	0.50		0.89	
C20:4n-6	1.46	1.32	0.93	0.99	0.67	2.15	2.45	0.78	1.45	1.75
C20:4n-3	0.57	0.48	0.53	0.48	0.49	0.54	0.85	0.69	0.68	1.02
C20:5n-3	14.39	7.91	8.22	7.99	14.99	6.36	6.68	17.57	7.40	7.69
C22:1n-9	3.22	1.58	1.25		0.74				1.09	
C22:2n-6	0.49	0.20			0.71	1.68			0.40	
C22:4n-3	0.19	0.77			0.31				0.50	
C22:5n-3	1.73	0.93	1.03	0.72	3.30	2.66	2.98	3.57	3.26	2.80
C22:6n-3	15.62	21.08	23.94	25.22	19.03	29.22	30.42	16.84	12.74	30.08

	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
	갈색어분 (전갱이)	갈색어분 (전갱이)	갈색어분 (잡어)	갈색어분 (잡어)	갈색어분 (잡어)	갈색어분 (잡어)	갈색어분 (잡어)	갈색어분 (잡어)	참치어분	참치어분
C14:0	4.13	2.48	3.03	2.30	3.06	5.45	2.73	3.55	3.35	4.66
C16:0	22.05	19.83	19.02	19.53	17.09	27.21	21.13	23.40	24.00	27.71
C16:1n-7	5.33	2.84	3.68	2.10	3.87	6.48	2.98	6.07	5.56	7.03
C18:0	5.87	7.29	8.45	4.20	5.49	8.00	5.97	7.40	0.24	8.88
C18:1n-9	14.30	16.44	13.49	14.85	20.89	19.22	21.77	24.02	20.64	22.01
C18:2n-6	1.21	1.32	1.46	1.09	12.37	5.21	8.56	2.26	1.99	1.85
C18:3n-3	0.34	0.59	1.00	0.41	2.23		0.70	0.54	0.62	0.49
C20:1n-9	1.30	5.28	1.05	4.49	1.89	4.02	6.13	5.99	3.62	3.03
C20:2n-6			0.45		0.93			0.24	0.33	0.22
C20:4n-6	0.93	1.64	2.12	1.86	1.66	1.84	1.22	1.78	3.05	1.53
C20:4n-3	0.63	0.93	0.77	0.96	0.70				0.49	0.39
C20:5n-3	15.27	4.98	7.64	6.20	7.43	6.42	6.67	5.20	7.82	3.96
C22:1n-9		2.09			1.01		3.12	2.58	0.10	
C22:2n-6					0.42			0.18	0.10	
C22:5n-3	3.00	2.38	3.14	2.78	3.32		0.71	0.90	1.78	0.99
C22:6n-3	20.56	28.10	29.35	34.42	13.48	14.18	13.01	8.78	18.89	10.83

	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
	참치어분	오징어분	새우분	새우분	크릴분	오징어 간분	오징어 간분	육분	대두박	대두박
C14:0	3.35	1.84	1.46	1.29	6.72	2.98	2.92	1.68		0.57
C16:0	24.00	25.23	20.22	27.50	23.83	19.12	18.67	26.83	16.92	18.70
C16:1n-7	5.56	1.46	2.87	3.14	4.89	3.46	3.24	2.46		0.86
C18:0	0.24	7.99	1.20	10.88	1.21	5.15	3.87	17.60	3.37	3.12
C18:1n-9	20.64	5.53	26.91	28.08	16.00	12.29	15.10	40.12	11.61	16.85
C18:2n-6	1.99	0.20	18.76		2.22	11.62	9.45	3.20	60.32	51.94
C18:3n-3	0.62	0.41	1.64	2.34	1.08	2.15	3.48		7.78	5.24
C20:1n-9	3.62	9.14	2.85	1.88	0.82	7.23	7.27	2.56		
C20:2n-6	0.33	0.35	1.67	2.71	0.11	0.64	0.21			
C20:4n-6	3.05	0.97	2.61	4.25	0.94	1.68	1.50	0.61		
C20:4n-3	0.49		0.24	0.31	0.62	0.51	0.62			
C20:5n-3	7.82	12.82	4.82	0.80	21.72	10.44	10.51			
C22:1n-9	0.10	1.78	1.66	0.10	0.18	2.26	1.90	0.30		
C22:2n-6	0.10	0.36	0.14	0.12	0.55	2.30	0.44	0.39		
C22:5n-3	1.78	0.82	0.80	1.17	0.58	0.88	0.80			
C22:6n-3	18.89	27.47	7.23	11.06	13.66	15.88	16.67	0.58		

	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40
	대두박	콘글루텐 밀	콘글루텐 밀	소맥 글루텐	참박	호마박	호마박	소맥분	소맥분	소맥분
C14:0				0.08	0.14					
C16:0	18.59	13.17	14.31	17.92	20.52	14.22	10.45		17.64	17.48
C16:1n-7				0.25	0.91					0.20
C18:0	4.63		1.74	1.27	4.84	4.94	5.07		1.07	1.05
C18:1n-9	12.95	23.09	18.70	14.08	29.22	36.59	38.10	11.97	15.56	17.52
C18:2n-6	56.34	60.81	58.23	61.39	19.88	43.83	46.37	82.68	60.88	58.33
C18:3n-3	6.83	2.92	3.67	2.86	24.49	0.43		5.35	4.15	4.03
C20:1n-9										
C20:2n-6										
C20:4n-6										
C20:4n-3										
C20:5n-3										
C22:1n-9										
C22:2n-6										
C22:4n-3										
C22:5n-3										
C22:6n-3										

표 1-6. 사료원료의 무기물 함량

	시료명	Ca (%)	P (%)	Cr (ppm)	Pb (ppm)	Cd (ppm)	Se (ppm)	As (ppm)
1	백색어분 (명태류)	3.58	2.36	4.56	0.17	-	1.86	5.87
2	백색어분 (대구류)	1.85	1.90	0.85	0.24	-	0.56	4.0
3	백색어분 (대구류)	1.29	1.37	0.07	0.29	-	1.42	2.85
4	백색어분 (대구류)	1.69	1.89	1.15	3.67	0.56	2.64	7.13
5	백색어분 (대구류)	1.67	1.84	0.23	2.37	0.29	2.03	6.86
6	갈색어분 (멸치류)	2.61	2.29	0.62	0.29	0.35	1.10	3.75
7	갈색어분 (멸치류)	0.20	0.25	0.75	1.81	1.18	10.15	2.18
8	갈색어분 (멸치류)	2.04	1.94	0.44	1.88	1.63	8.79	2.93
9	갈색어분 (멸치류)	1.36	1.33	1.02	2.16	0.90	1.52	3.33
10	갈색어분 (멸치류)	2.42	2.30	0.16	3.71	1.12	11.56	1.73
11	갈색어분 (연어류)	2.14	2.35	1.16	0.24	-	1.87	1.78
12	갈색어분 (전갱이)	2.30	1.32	0.83	0.20	0.57	9.62	2.49
13	갈색어분 (정어리)	2.57	2.38	0.19	3.69	0.96	5.45	3.11
14	갈색어분 (전갱이류)	2.22	2.09	0.46	2.43	0.84	1.05	2.17
15	갈색어분 (전갱이류)	4.23	2.77	1.76	0.12	0.48	11.30	2.47
16	갈색어분 (잡어류)	2.67	2.19	0.51	2.19	1.46	7.08	2.52
17	갈색어분 (잡어류)	0.95	0.85	-	0.27	0.47	12.27	0.65
18	갈색어분 (잡어류)	2.18	11.95	0.98	0.21	-	1.78	1.93
19	갈색어분 (잡어류)	4.87	3.07	2.06	0.52	0.58	2.02	5.50
20	갈색어분 (잡어+명태)	4.30	2.19	1.64	0.57	0.40	1.50	3.86

	시료명	Ca (%)	P (%)	Cr (ppm)	Pb (ppm)	Cd (ppm)	Se (ppm)	As (ppm)
21	갈색어분 (잡어)	6.53	4.04	2.02	0.35	0.27	2.83	5.20
22	갈색어분 (국산)	3.64	2.74	2.05	4.29	1.81	5.48	5.57
23	참치어분	3.87	2.52	0.79	0.45	0.19	3.40	9.38
24	참치어분	1.96	1.39	1.95	2.87	1.25	3.69	4.68
25	참치어분	0.06	0.10	1.80	2.81	3.41	4.25	5.11
26	오징어분	0.24	0.92	1.81	0.40	3.84	2.18	6.86
27	새우분	4.49	1.17	2.04	0.38	-	1.40	4.97
28	새우분	5.29	1.36	0.84	3.36	0.19	0.71	4.35
29	크릴분	1.59	1.27	-	3.11	0.29	3.67	2.81
30	크릴분	2.13	1.56	0.34	4.32	0.24	4.46	1.92
31	오징어간분	0.19	0.42	0.22	0.24	42.19	1.52	2.46
32	오징어간분	0.42	0.71	0.67	0.58	19.19	1.84	3.52
33	오징어간분	0.38	0.54	0.92	4.06	7.66	2.06	4.95
34	육분	0.33	1.36	-	3.33	0.25	0.66	0.48
35	혈분	-	0.04	-	3.49	0.13	1.62	-
36	대두박	0.34	0.70	-	0.07	-	0.21	0.74
37	대두박	0.23	0.39	-	0.34	-	-	-
38	대두박	0.08	0.50	-	4.63	0.15	0.16	-
39	대두박	-	0.07	-	2.40	0.15	0.47	0.82
40	콘글루텐밀	-	0.38	1.84	1.05	0.10	0.05	0.92

	시료명	Ca (%)	P (%)	Cr (ppm)	Pb (ppm)	Cd (ppm)	Se (ppm)	As (ppm)
41	콩글루텐밀	-	0.42	0.91	2.65	0.14	-	1.19
42	소맥글루텐	-	0.13	-	3.02	0.24	0.31	0.91
43	글루텐밀	-	0.40	0.09	3.60	0.26	0.31	-
44	잠박	0.43	0.22	3.47	0.51	-	0.01	1.27
45	호마박	1.79	1.20	0.80	1.65	0.14	1.36	1.33
46	호마박	1.82	1.27	0.77	1.58	0.11	1.19	1.38
47	수지박	0.83	0.90	-	3.65	0.28	1.00	-
48	소맥분	-	0.11	-	1.75	0.11	0.79	-
49	소맥분	-	0.20	-	2.87	0.59	-	0.63
50	소맥분	-	0.43	-	2.98	0.21	-	0.52
51	소맥분	-	0.26	-	3.17	0.17	0.91	-
52	소맥분	-	0.18	-	3.32	0.22	0.35	-
53	소맥분	-	0.31	-	3.48	0.21	0.50	-
54	소맥분	-	0.22	-	4.33	0.16	0.22	-
55	전분	-	0.008	-	3.35	0.16	0.12	-
56	해조분	2.60	0.12	1.73	4.52	0.21	0.33	41.89

### 3. 사료원료 소화율 연구

#### 가. 서론

배합사료 가격은 사료원료 비용이 50-70%를 차지하기 때문에 경제적이고 효율적인 사료를 생산하기 위해서는 사료원료의 가격에 대비한 품질평가가 필수적이다. 영양소 소화율의 측정은 사료원료의 품질평가를 위한 가장 기본적인 방법 중의 하나이다. 또한, 사육수의 수질오염은 소화되지 않은 여분의 사료와 사료 섭취 후 배출된 분에 의해 이루어지므로 결국 사료가 수질오염의 원천이라고 할 수 있으므로, 사료원료 및 사료의 영양소 소화율 측정과 이의 향상은 환경친화적인 양식을 위해 매우 중요하다(Cho et al, 1991). 어류에 있어서 영양소 소화율의 측정은 그 생태환경 및 생리적 특성으로 인하여 지시제인 산화크롬( $Cr_2O_3$ )을 사료에 혼합하여 간접적으로 소화율을 측정하는 방법이 많이 적용되고 있다(Maynard and Loosli, 1969; Cho et al, 1991; Cho et al., 1994). 또한, 사료원료들의 영양소 소화율 평가는 일반적으로 기초사료와 평가하고자 하는 사료원료를 7:3 비율로 혼합하여 제조한 사료를 어류에 공급하여 이루어지는데, 이것은 평가하고자 하는 사료원료가 그 외의 사료원료에 의한 영향을 최대한 줄이기 위한 것이다. 그래서, 본 연구에서는 넙치용 고효율 배합사료 개발을 위하여 육성기 넙치를 대상으로하여 일반적으로 양식 배합사료에 가장 많이 이용되고 있는 다양한 어분과 대두박, 콘글루텐밀 및 소맥분에 대한 소화율을 측정하였다.

#### 나. 재료 및 방법

##### 실험사료

실험에 사용한 기초사료(reference diet)는 단백질원으로 백색어분을 사용하였으며, 지질원으로 오징어간유를, 탄수화물원으로는  $\alpha$ -전분과 소맥분을 각각 사용하였다(Table 1-7). 또한 소화율 측정을 위하여 산화크롬( $Cr_2O_3$ )을 0.5% 첨가하여 소화율 지시제로 사용하였다. 소화율 측정에 사용된 사료원료는 백색어분 2종(명태, 대구류), 갈색어분 5종(멸치류, 연어류, 잡어류, 전갱이류, 정어리류), 대두박, 콘글루텐밀 및 소맥분으로 총 10종류이며(Table 1-8), 기초사료와 각 사료원료를 70:30의 비율로 혼합하여 10종류의 실험사료를 제조하였다(Table 1-9). 모든 실험사료는 설계



된 원료들을 잘 혼합한 후 원료 100g 당 물 40g 내외를 첨가하여 펠렛 제조기로 사료를 성형한 후 실온에서 24시간 건조하였다. 제조된 사료는  $-20^{\circ}\text{C}$ 에 보관하면서 사용하였다.

#### 실험어 관리 및 분 수집 방법

##### 하절기

자체적으로 제조한 분 수집 장치가 연결된 500 L 실험수조 (Fig. 1-1)에 평균체중 220 g 의 넙치 육성어를 20마리씩 각 사료별 3반복으로 수용하여 4주간 예비 사육한 후, 실험사료를 오후 2시에 만복에 가깝도록 공급하고, 오후 5시에 수조 및 분 수집 통을 깨끗이 청소한 후 다음날 아침 10시에 수집통에 모인 분을 여과하고 수집하였다. 분수집 기간 동안의 평균수온은  $21.0\pm 2.8^{\circ}\text{C}$  였다. 수집된 분은 동결 건조하여  $-20^{\circ}\text{C}$ 에 보관하며 성분분석에 사용하였다.

##### 동절기

평균체중 200 g 의 넙치 육성어를 25마리씩 수용하여 4주간 예비 사육한 후, 실험사료를 오후 2시에 만복에 가깝도록 공급하고, 오후 5시에 수조 및 분 수집 통을 깨끗이 청소한 후 다음날 아침 10시에 수집통에 모인 분을 여과하고 수집하였다. 분수집 기간 동안의 평균수온은  $14.6\pm 0.5^{\circ}\text{C}$  였다. 수집된 분은 동결 건조하여  $-20^{\circ}\text{C}$ 에 보관하며 성분분석에 사용하였다.

##### 성분분석

사료원료, 실험사료 및 분의 수분은  $105^{\circ}\text{C}$ 에서 6시간 건조하여 측정하였으며, 조단백질(N $\times$ 6.25)은 Auto Kjeldahl System (Gerhardt VAP500T/TT125, Germany)을 사용하여 분석하였다. 조지방은 조지방추출기(Velp SER148, Italy)를 사용하여 ether로 추출한 후 측정하였으며, 조회분은 회화로를 사용하여  $550^{\circ}\text{C}$ 에서 4시간 동안 태운 후 정량하였다. 실험사료와 분의 산화크롬 함량은 시료의 크롬 함량을 원자흡광분광도계(Analyticjena, Germany)를 사용하여 분석한 후, 분자량 값으로 환산하여 측정하였다.

##### 소화율측정

실험사료의 소화율은 Maynard & Loosli (1969)의 공식으로 구하였으며, 사료원료의 소화율은 Sugiura et al. (1998)이 사용한 공식으로 다음과 같이 계산하였다.

실험사료의 소화율

$$\text{건물 소화율} = 100 - (\text{사료의 산화크롬} \times 100 / \text{분의 산화크롬})$$

$$\text{영양소 소화율} = 100 - [(\text{분의 영양소} \times \text{사료의 산화크롬}) / (\text{사료의 영양소} \times \text{분의 산화크롬})] \times 100$$

사료원료의 소화율

$$\text{영양소 소화율} = (\text{실험사료의 영양소 소화율} - 0.7 \times \text{표준사료의 영양소 소화율}) / 0.3$$

통계처리

결과의 통계 처리는 SPSS program을 사용하여 ANOVA-test를 실시한 후, Duncan's multiple range test (Duncan, 1955)로 평균간의 유의성(P<0.05)을 검정하였다.

Table 1-7. Ingredients and nutrient contents of the reference diet

Ingredients	%
White fishmeal	67
Alpha starch	5
Wheat flour	18
Squid liver oil	5
Vitamin premix	2
Mineral premix	2
Chromic oxide	0.5
Choline chloride	0.5
Nutrient contents (dry matter basis)	
Crude protein (%)	50.3
Crude lipid (%)	10.1
Ash (%)	25.4

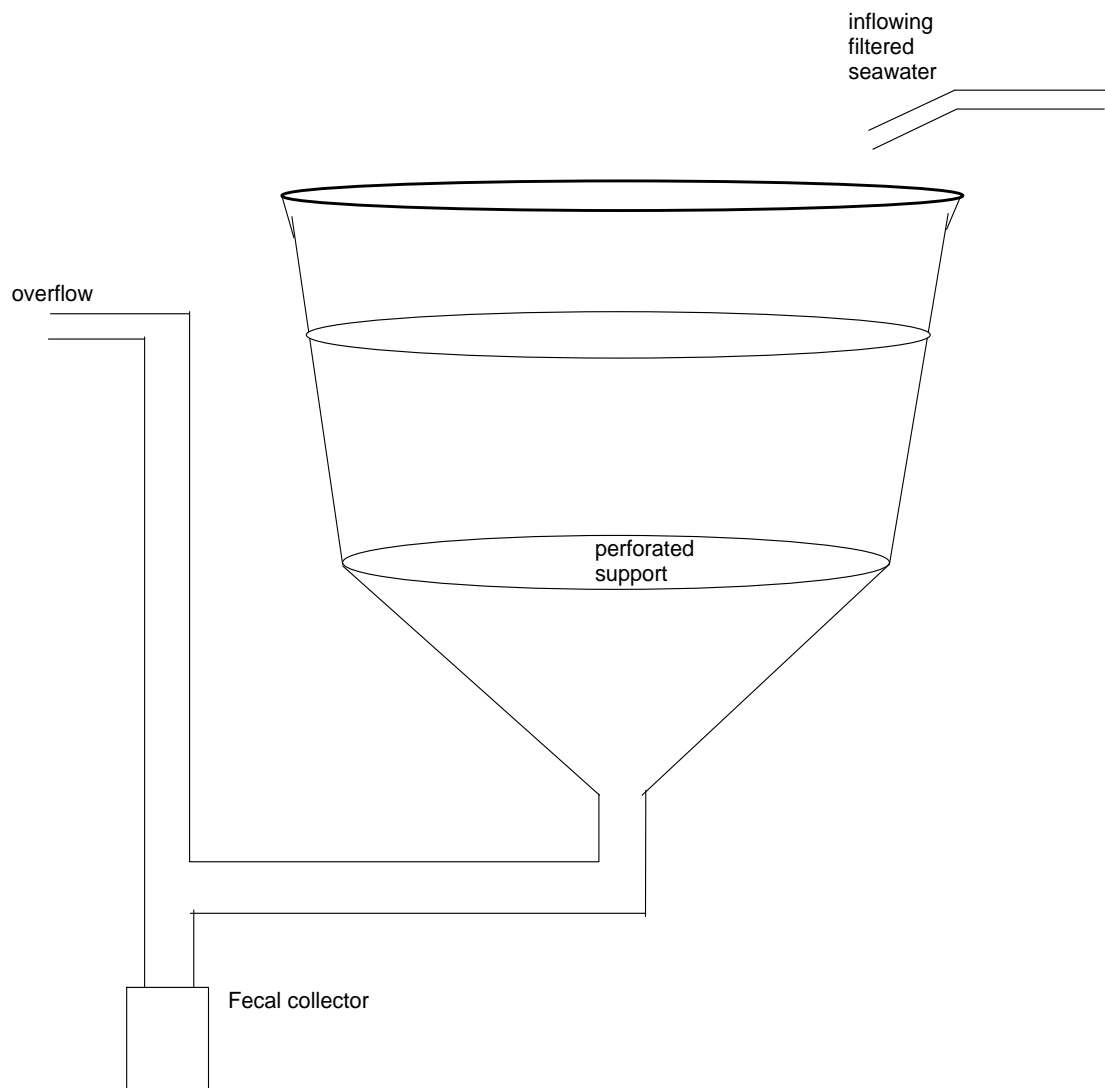


Fig. 1-1. Digestibility tank system.

Table 1-8. Nutrient contents of the ingredients used to test diets

Ingredients	Moisture (%)	Crude protein (%)	Crude lipid (%)	Ash (%)
White fish meal(명태)	8.47	69.18	6.62	15.14
White fish meal(대구)	7.27	70.99	10.68	11.71
Brown fish meal(멸치)	7.21	69.11	9.65	13.34
Brown fish meal(연어)	8.16	68.82	10.29	12.22
Brown fish meal(잡어)	7.53	51.74	4.94	17.44
Brown fish meal(전갱이)	8.23	68.1	8.34	14.30
Brown fish meal(정어리)	8.62	61.37	10.1	18.23
Soybean meal	11.72	46.84	1.60	5.79
Corn gluten meal	9.97	59.80	1.00	2.16
Wheat flour	11.62	12.45	1.99	0.94

Table 1-9. Nutrient contents of the test diets fed to flounder

Diets	Crude protein (%)	Crude lipid (%)	Ash (%)
White fish meal(명태)	58.86	10.76	14.05
White fish meal(대구)	59.36	12.11	12.78
Brown fish meal(멸치)	58.59	11.47	13.02
Brown fish meal(연어)	59.11	11.39	12.87
Brown fish meal(잡어)	53.82	9.96	14.51
Brown fish meal(전갱이)	59.57	11.01	13.56
Brown fish meal(정어리)	56.13	11.30	14.78
Soybean meal	53.19	8.58	11.46
Corn gluten meal	57.17	8.70	9.64
Wheat flour	43.69	8.62	9.51

#### 다. 결과 및 고찰

사육수온에 따른 넙치 육성어의 어분 7종, 대두박, 콘글루텐밀 및 소맥분의 건물 및 조단백질 소화율 측정결과를 그림 1-2 및 그림 1-3에 각각 나타내었다. 건물 소화율은 하절기 및 동절기 모두 어분 종류에 따른 차이는 없었다. 그러나 하절기 각 어분의 건물 소화율은 동절기에 비하여 높은 경향을 보였다. 대두박, 콘글루텐밀 및 소맥분의 건물 소화율은 실험에 사용된 모든 어분에 비하여 유의하게( $P<0.05$ ) 낮은 값을 보였으며, 소맥분은 대두박 및 콘글루텐밀 보다 낮은 건물 소화율을 보였다( $P<0.05$ ). 이러한 결과로 볼 때, 하절기에 비하여 동절기에 넙치의 성장이 감소하는 것은 동절기의 수온저하에 따른 넙치의 사료섭취율 감소에 의한 것 뿐 만 아니라, 섭취한 사료에 대한 소화율 감소에도 영향을 받는 것으로 판단된다. 따라서 넙치의 사료섭취율이 감소하는 동절기에는 하절기에 비하여 품질이 더 우수한 사료를 공급하는 것이 동절기 넙치의 성장도 향상에 도움이 될 것으로 생각된다. 하절기의 모든 어분 종류별 조단백질 소화율은 90% 이상으로 높은 소화율을 보였으며, 명태 및 연어류로 제조한 어분 시료에서 가장 높은 결과를 보였다. 어분 종류별 조단백질 소화율은 계절에 따른 특별한 변화 경향은 보이지 않았으며, 대두박과 콘글루텐밀의 조단백질 소화율은 모든 어분에 비하여 유의하게( $P<0.05$ ) 낮았다. 따라서 넙치 배합사료의 단백질원으로 대두박이나 콘글루텐밀과 같은 식물성 원료를 사용할 때는 이러한 소화율을 감안하여 사료조성 하여야 할 것이다.

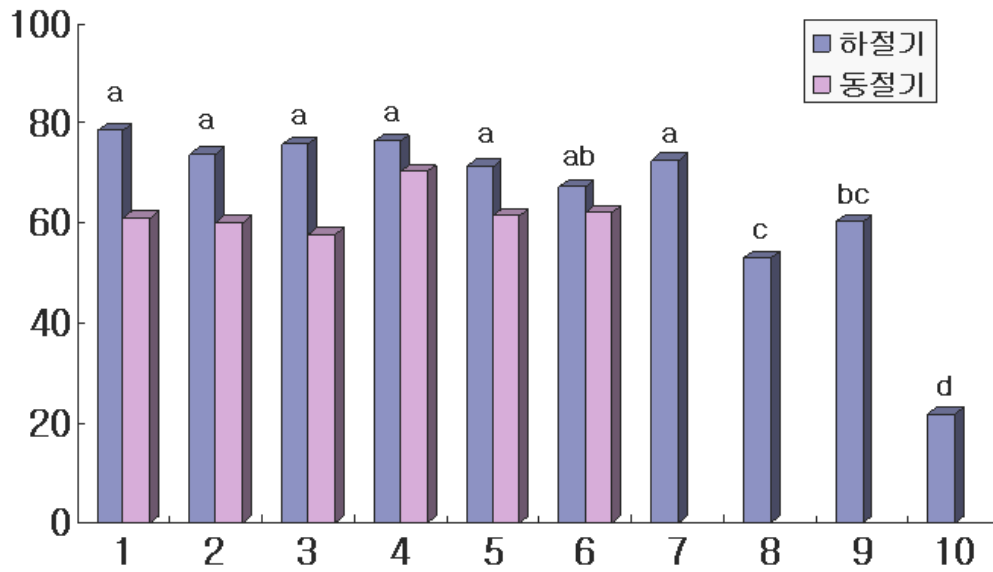


그림. 1-2. 넙치 육성어의 사료원료별 건물소화율

(1. 백색어분-명태류, 2. 백색어분-대구류 3. 갈색어분-멸치류 4. 갈색어분-연어류 5. 갈색어분-잡어 6. 갈색어분-전갱이 7. 갈색어분-정어리 8. 대두박 9. 콘글루텐밀 10. 소맥분)

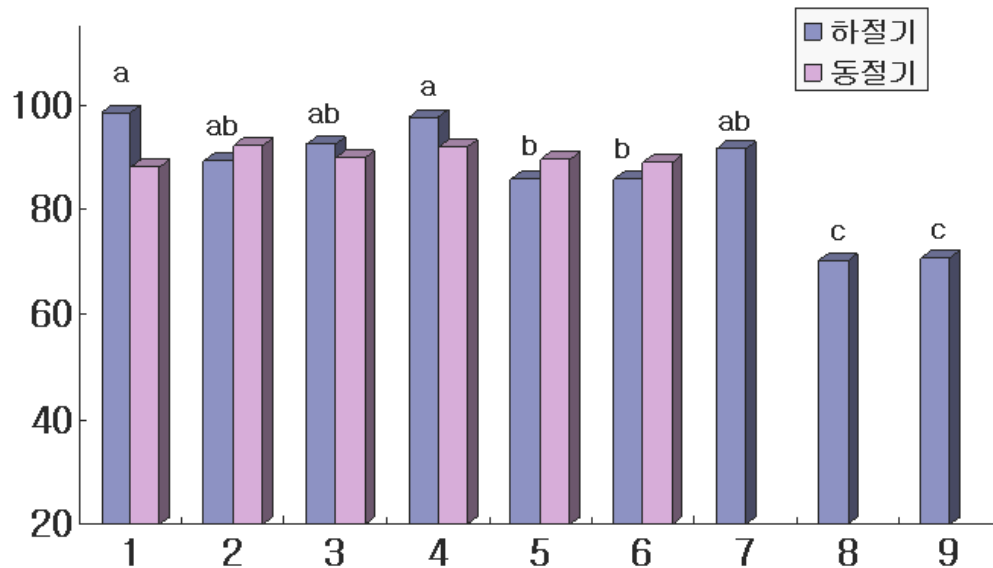


그림. 1-3. 넙치 육성어의 사료원료별 조단백질 소화율

(1. 백색어분-명태류, 2. 백색어분-대구류 3. 갈색어분-멸치류 4. 갈색어분-연어류 5. 갈색어분-잡어 6. 갈색어분-전갱이 7. 갈색어분-정어리 8. 대두박 9. 콘글루텐밀)

#### 4. 배합사료의 어분종류가 넙치 치어의 성장 및 체조성에 미치는 영향

##### 가. 서론

일반적으로 어류는 탄수화물에 대한 이용성이 낮아 다른 육상동물에 비해 사료내 단백질이 차지하는 비율이 높기 때문에 양어사료에서 양질의 단백질 원료의 선택은 매우 중요하다. 양어사료에서 어분은 영양소 함량이 높고, 어류의 기호성이 좋아 오랫동안 가장 많이 사용되고 있는 양식사료 원료이다. 특히, 어분은 필수아미노산 및 필수지방산의 조성이 좋고, 영양소 이용률이 높아 고품질의 사료를 제조하는데 필수적이다. 하지만, 최근에 어획량의 감소, 중국의 대량매입, 환율상승 등으로 인한 가격상승 및 수급불균형은 대부분 수입에 의존하고 있는 우리나라로서는 큰 위기를 맞고 있다. 어분은 어획되는 어종, 어획시기, 어획장소 및 가공설비 등에 따라 다양하게 생산되고 있으며, 일반적으로 단백질, 지방, 회분, 히스타민 등의 함량에 따라 슈퍼프라임, 프라임, 스탠다드 등으로 구분되고 있다. 따라서 어분에 대한 사료영양학적 평가를 통한 값싸고 양질인 어분의 선택은 사료의 품질 및 생산단가에 직접적으로 영향을 미친다고 할 수 있다. 현재, 넙치용 사료에는 어분이 사료내 30~60% 정도 사용되고 있으며, 대부분 덴마크, 칠레, 페루 등에서 수입된 대구, 정어리, 멸치, 잡어 등이다. 그래서 본 연구는 넙치 치어에 있어 외국에서 수입되고 있는 어분과 국내 어분의 이용성을 비교 평가하고자 수행하였다.

##### 나. 재료 및 방법

###### 실험사료

실험사료는 어분의 종류 및 등급에 관계없이 사료내 어분단백질함량이 40%로 동일하게 되도록 하면서, 사료내 단백질함량은 48%, 지질함량은 10%이 되도록 설계하였다(Table 1-10). 사용된 어분의 종류로는 덴마크산 대구어분(D-Cod), 칠레산 정어리어분(C-Any), 칠레산 정어리+잡어분(C-Brn), 페루산 잡어분(P-Brn), 칠레산 전갱이어분(C-Mal), 국내산 명태+잡어분(D-Polk) 및 국내산 잡어분(D-Brn)이 사용되었다.

### 실험어 및 사육관리

사육평가는 평균체중 16.8g의 넙치 치어를 300ℓ 수조에 30마리씩 수용하여 실험 구당 3반복으로 실시하였다. 실험기간 동안 수온은 21~25℃로 자연수온에 의존하였다. 사료는 1일 2회 반복으로 급이 하였으며, 사육기간은 8주 동안 실시하였다. 영양성분분석은 일반성분, 에너지, 아미노산, 지방산등을 실시하였다. 실험종료 후, 증중율(percent weight gain, WG), 일간성장률(specific growth rate, SGR), 사료효율(feed efficiency, FE), 단백질전환효율(protein efficiency ratio, PER) 및 생존율(survival rate, %)을 조사하였다. 상기 측정 항목들의 계산식은 다음과 같다.

$$\text{Daily feed intake (\%)} = \text{feed intake (dry matter)} \times 100 / (\text{initial fish wt.} + \text{final fish wt.} + \text{dead fish wt.}) / 2 \times \text{days fed}]$$
$$\text{Weight gain (\%)} = (\text{final weight} - \text{initial weight}) \times 100 / \text{initial weight}$$
$$\text{Specific growth rate (\%/day)} = (\log_e \text{ final weight} - \log_e \text{ initial weight}) / \text{days}$$
$$\text{Feed efficiency (\%)} = (\text{wet weight gain} / \text{dry feed intake}) \times 100$$
$$\text{Protein efficiency ratio} = (\text{wet weight gain} / \text{protein intake})$$

### 성분분석

실험사료 및 실험어의 수분은 105℃에서 6시간 건조하여 측정하였으며, 조단백질(N×6.25)은 Auto Kjeldahl System (Gerhardt VAP500T/TT125, Germany)을 사용하여 분석하였다. 조지방은 조지방추출기(Velp SER148, Italy)를 사용하여 ether로 추출한 후 측정하였으며, 조회분은 회화로를 사용하여 550℃에서 4시간 동안 태운 후 정량하였다.

### 통계처리

결과자료의 통계처리는 SPSS Program을 사용하여 분산분석(ANOVA test)을 실시한 후, Duncan's multiple range test (Duncan, 1955)로 평균간의 유의성을 검정하였다.



Table 1-10. Ingredients and proximate analysis the experimental diets

	Diets (%)						
	D-Cod	C-Any	C-Brn	P-Brn	C-Mal	D-Brn	D-Polk
Ingredients (%)							
Danish Cod meal	52.25						
Chilean Anchovy meal		53.71					
Chilean brown fish meal			52.87				
Peruvian brown fish meal				64.18			
Chilean Horse mackerel meal					59.56		
Domestic Pollack meal						71.49	
Domestic brown fish meal							66.29
Corn gluten meal	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00
Soybean meal	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00
Fish oil	3.50	3.50	3.50	3.50	3.50	3.50	3.50
Soybean oil	-	-	-	0.50	-	2.00	1.00
Wheat flour	21.75	21.59	20.93	15.02	17.64	8.01	14.21
Cellulose	7.50	6.20	7.70	1.80	4.30	-	-
Carboxymethylcellulose	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00
Mineral premix	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
Vitamin premix	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
Proximate analysis (% , dry matter basis)							
Crude protein	47.9	48.3	47.8	47.5	48.3	46.5	47.4
Crude fat	10.1	9.3	9.8	8.7	10.2	9.8	9.7
Crude ash	8.2	9.6	8.6	14.7	13.4	15.2	19.0

#### 다. 결과 및 고찰

어분 종류를 달리한 실험사료로 8주간 사육 실험한 결과를 Table 1-11에 나타냈다. 일일사료섭취량은 모든 실험구에서 유의적인 차이가 나타나지 않았으며, 이는 어분 종류별 섭취촉진 효과는 없는 것으로 생각된다. 증체율 및 일간성장률에 있어서는 칠레산 정어리어분(C-Any)과 칠레산 전갱이어분(C-Mal) 실험구가 덴마크산 대구어분(D-Cod), 칠레산 정어리+잡어분(C-Brn), 국내산 잡어분(D-Brn) 및 국내산 명태+잡어분(D-Polk) 실험구에 비해 유의적으로 높게 나타났으나, 페루산 잡어분(P-Brn)과의 유의적인 차이가 없었다. 사료효율과 단백질전환효율도 증체율 및 일간성장률의 결과와 유사한 경향을 보였는데, 칠레산 정어리어분(C-Any)과 칠레산 전갱이어분(C-Mal) 실험구가 다른 어분구들에 비해 유의적으로 높게 나타났다. 반면에, 국내산 잡어분(D-Brn) 실험구는 가장 낮은 효율을 보였다. 생존율에 서는 칠레산 정어리어분(C-Any) 실험구가 덴마크산 대구어분(D-Cod) 실험구보다 유의적으로 높았지만, 다른 실험구와는 유의적인 차이가 나타나지 않았다.

사육실험 종료 후, 전어체의 일반성분 분석 결과, 수분, 조단백질 및 조회분 함량은 실험사료의 어분 종류에 따라 유의한 차이를 보였다(Table 1-12). 전어체의 조단백질 함량은 대구어분 및 전갱이 어분 실험구에서 가장 높게 나타났으며, 국내산 잡어분 실험구에서 가장 낮은 값을 보였다. 이상의 결과로 볼 때, 칠레산 정어리어분(C-Any)과 칠레산 전갱이어분(C-Mal)이 넙치 치어의 성장 및 사료효율 향상을 위해 우수한 어분으로 판단된다.

Table 1-11. Growth performance of juvenile olive flounder fed the diets containing the different fish meal<sup>1</sup>

	Diets <sup>2</sup>							Pooled SEM <sup>3</sup>
	D-Cod	C-Any	C-Brn	P-Brn	C-Mal	D-Brn	D-Polk	
Initial weight (g)	16.7	16.7	16.7	16.8	16.8	16.9	16.7	0.03
Final weight (g)	51.7 <sup>bc</sup>	55.7 <sup>a</sup>	50.7 <sup>c</sup>	54.0 <sup>ab</sup>	55.8 <sup>a</sup>	42.4 <sup>d</sup>	51.8 <sup>bc</sup>	1.00
DFI (%) <sup>4</sup>	1.91	1.92	1.96	2.02	1.89	1.94	2.06	0.02
WG (%) <sup>5</sup>	210 <sup>bc</sup>	233 <sup>a</sup>	203 <sup>c</sup>	221 <sup>ab</sup>	231 <sup>a</sup>	151 <sup>d</sup>	210 <sup>bc</sup>	5.98
SGR (%) <sup>6</sup>	2.02 <sup>bc</sup>	2.15 <sup>a</sup>	1.98 <sup>c</sup>	2.08 <sup>ab</sup>	2.14 <sup>a</sup>	1.64 <sup>d</sup>	2.02 <sup>bc</sup>	0.04
FE (%) <sup>7</sup>	86 <sup>b</sup>	100 <sup>a</sup>	87 <sup>b</sup>	91 <sup>b</sup>	100 <sup>a</sup>	76 <sup>c</sup>	87 <sup>b</sup>	1.90
PER <sup>8</sup>	1.80 <sup>b</sup>	2.07 <sup>a</sup>	1.81 <sup>b</sup>	1.92 <sup>b</sup>	2.07 <sup>a</sup>	1.63 <sup>c</sup>	1.83 <sup>b</sup>	0.04
Survival rate (%)	77 <sup>b</sup>	99 <sup>a</sup>	89 <sup>ab</sup>	96 <sup>ab</sup>	97 <sup>ab</sup>	88 <sup>ab</sup>	96 <sup>ab</sup>	2.56

<sup>1</sup> Values are means of triplicate groups values in the same row with different superscripts are significantly different (P<0.05) as determined by Duncan method.

<sup>2</sup> Refer to table 1-10.

<sup>3</sup> Pooled standard error of mean:  $SD/\sqrt{n}$ , n = 3 replicated tanks of fish per

<sup>4</sup> Daily feed intake : Feed intake (dry matter)  $\times$  100/(initial fish wt. + final fish wt. + dead fish wt.)/ 2 $\times$  days fed]

<sup>5</sup> Weight gain (%) : [final wt.(g) - initial wt.(g) / initial wt.(g)]  $\times$  100.

<sup>6</sup> Specific growth rate : [ $\log_e$  final wt.(g) -  $\log_e$  initial wt.(g)/days]  $\times$  100.

<sup>7</sup> Feed efficiency (%) : (wet weight gain / dry feed intake)  $\times$  100.

<sup>8</sup> Protein efficiency ratio : wet weight gain / protein intake.

Table 1-12. Proximate composition (%) of whole body of juvenile olive flounder

	Diets <sup>1</sup>							Pooled SEM <sup>2</sup>
	D-Cod	C-Any	C-Brn	P-Brn	C-Mal	D-Polk	D-Brn	
Moisture	77.3 <sup>a</sup>	79.3 <sup>b</sup>	78.2 <sup>ab</sup>	78.8 <sup>b</sup>	78.0 <sup>ab</sup>	78.9 <sup>b</sup>	78.9 <sup>b</sup>	0.19
Crude protein	16.7 <sup>c</sup>	15.3 <sup>ab</sup>	16.1 <sup>abc</sup>	16.4 <sup>bc</sup>	17.0 <sup>c</sup>	15.4 <sup>ab</sup>	15.1 <sup>a</sup>	0.19
Crude fat	0.7	0.3	0.4	0.4	0.4	0.3	0.7	0.05
Crude ash	4.3 <sup>a</sup>	5.0 <sup>b</sup>	4.5 <sup>ab</sup>	4.8 <sup>ab</sup>	4.3 <sup>a</sup>	4.5 <sup>ab</sup>	4.7 <sup>ab</sup>	0.08

<sup>1</sup> Refer table 1-10.

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

## 제 2 절 고품질 배합사료 개발

### 1. 고품질 배합사료 제조 및 평가시험

#### 가. 서론

배합사료는 생사료와 비교하여 영양학적으로 균형있는 사료로 만들 수 있고, 보관 및 취급이 용이하며, 사료 급이량 조절이 쉬워 양식어를 건강하게 키울 수 있다. 또한 생산량을 쉽게 조정하여 기간별 계획생산이 가능하므로 공급과 가격이 안정적이다. 반면, 양어가들이 주로 사용하고 있는 전갱이, 청어 및 양미리 등의 생사료는 어획되는 어종이나 어획 시기에 따라 다르긴 하지만, 수급의 불안정에 따른 가격변동, 냉동보관에 따른 경비의 과다 소요, 부적절한 냉동 보관에 따른 생사료의 산패 및 사료 제조시 해동에 따른 수질 오염 등 여러 가지 문제점들을 가지고 있다. 이와 같이 생사료에 비해 배합사료의 장점이 많음에도 불구하고 넙치를 양식하는 우리나라 양어가들의 대부분이 치어기를 제외한 육성기 및 미성어기 육성용 먹이로 생사료를 계속 사용하는 이유는 성어기의 성장둔화로 배합사료가 생사료에 비해 1~2개월 출하시기가 늦어지거나, 생사료로 사육한 넙치에 비하여 상품성이 떨어지고, 생사료에 비해 생산원가가 높기 때문이다. 이러한 문제점들을 해결하기 위해서는 양식 현장에서 신뢰할 수 있는 고품질 실용배합사료를 개발하여 양식 생산성을 높이는 것이 필수적이다.

그래서 본 연구는 기존에 수행된 넙치의 영양요구에 관한 연구 결과들(Lee et al., 2000; Lee et al., 2003; Kim and Lee, 2004; Lee and Kim 2005; Kim et al., 2006)을 토대로 하여, 넙치 사육용으로 부상배합사료를 제조하여 습사료와 사육효과를 비교함으로써 고품질 넙치 배합사료 개발을 위한 자료를 제공하고자 수행되었다.

#### 나. 재료 및 방법

##### 실험사료 설계 및 제조

실험사료는 넙치의 영양소 요구를 고려하여 설계한 3종류의 부상 배합사료(EP1,

EP2, EP3), 3개의 사료회사에서 설계한 부상 배합사료 3종류(EP4, EP5, EP6), 시판 상품사료 2종류(EP7-수입, EP8)와 습사료(MP)로 총 9종류를 설정하였으며, 사료조성 및 영양성분 분석 결과를 Table 2-1에 나타내었다. 실험사료의 원료들은 시판사료에 주로 사용되고 있는 원료들로 선정하였다. 단백질원으로 상급제품의 백색어분, 대두박, 크릴밀을 사용하였으며, 지질원과 탄수화물원으로는 오징어간유 및 소맥분을 각각 사용하였다. EP1은 조단백질과 조지질 함량이 55% 및 9%가 되도록 하였으며, EP2, EP3은 어분 함량을 감소하는 대신 어유 함량을 증가시켜, 조단백질을 53% 및 51%로 감소시키며, 조지질이 12%와 15%가 되도록 설계하였다. 부상배합사료의 형태로 실험사료를 제조하기 위하여 사료회사에 의뢰하여 크기로 제조하였다. 습사료(MP)는 양식현장에서 사용하는 냉동 잡어와 분말사료를 95:5의 무게비율로 혼합하여 성형, 제조한 후  $-30^{\circ}\text{C}$ 에 보관하면서 사용하였다. 제조된 실험사료의 아미노산 및 지방산 분석결과를 Table 2-2와 2-3에 각각 나타내었다.

#### 실험어 및 사육관리

사육실험은 평균체중 106 g의 넙치를 1.8톤 원형수조에 40마리씩 실험구별 2반복으로 수용하였다. 사육실험은 실험사료를 1주일에 6일 동안 매일 2회 (09:00, 17:00)만복 공급하며 16주간 실시하였다. 어체측정을 위해 실험 개시시와 종료시 측정 전일 실험어를 절식시킨 후, 각 실험수조에 수용된 실험어의 전체체중을 계측하였다. 사육수는 수조의 환수율이 1일 24회전 정도가 되도록 조절하여 주수하였고, 사육기간 동안의 평균수온은  $22\pm 2.4^{\circ}\text{C}$ 였다.

#### 성분분석

어체 성분분석을 위하여 실험종료시 각 실험수조에서 10마리를 시료로 취하여 냉동보관( $-25^{\circ}\text{C}$ )하였다. 실험사료 및 등근육의 수분은  $105^{\circ}\text{C}$ 에서 6시간 건조하여 측정하였으며, 조단백질(N $\times 6.25$ )은 Auto Kjeldahl System (Gerhardt VAP500T/TT125, Germany)을 사용하여 분석하였다. 조지방은 조지방추출기(Velp SER148, Italy)를 사용하여 ether로 추출한 후 측정하였으며, 조회분은  $550^{\circ}\text{C}$ 에서 4시간 동안 회화 후 측정하였다. 사료의 총에너지량은 열량분석기(Parr-6200, USA)를 사용하여 분석하였다. 사료원료의 아미노산 분석은 6N-HCl 용액으로 분해하여 전처리한 시료액을 아미노산자동분석기(Biochrom, Netherland)를 사용하여 분석하였으며, 지방

산 분석은 Folch et al. (1957)의 방법에 따라 메탄올과 클로로포름 혼합액으로 지질을 추출하였으며, 14% BF<sub>3</sub>-methanol (Sigma, USA)로 지방산을 methylation 시킨 후, capillary column (HP-INNOWax, 30m × 0.32mm × 0.5 $\mu$ m, USA)이 장착된 gas chromatography (HP-6890)로 분석하였다. Carrier gas는 helium을 사용하였으며, oven 온도는 170 $^{\circ}$ C에서 225 $^{\circ}$ C까지 1 $^{\circ}$ C/min 증가시켰고, injector의 온도는 250 $^{\circ}$ C, detector (FID) 온도는 270 $^{\circ}$ C로 설정하였다.

#### 통계처리

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

Table 2-1. Ingredients and nutrient contents of the experimental diets

	Diets								
	EP1	EP2	EP3	EP4	EP5	EP6	EP7	EP8	MP
Ingredients (%)									
White fishmeal	60.6	56.6	51.4	closed	closed	closed	closed	closed	
Krill meal	3.0	3.0	3.0						
Soybean meal	4.0	4.0	4.0						
Wheat gluten	3.0	3.0	3.0						
Wheat flour	26.68	27.78	28.68						
Squid liver oil	0.5	3.2	7.5						
Others	2.42	2.42	2.42						
Raw fish									95
Binder meal									5
Nutrient contents (dry matter basis)									
Moisture (%)	2.7	6.2	7.8	5.7	6.0	4.3	6.7	21.0	78.0
Crude protein (%)	55.1	53.0	50.5	51.0	51.9	53.8	55.4	51.6	64.5
Crude lipid (%)	8.8	11.7	15.2	9.2	14.2	9.7	8.5	13.3	11.7
Ash (%)	9.0	8.4	7.5	11.0	10.1	10.7	15.3	11.4	10.2
Crude fiber (%)	1.7	1.6	1.8	2.4	1.9	2.3	3.7	1.3	
Gross energy (cal/g)	5095	5201	5405	4951	5233	5054	4637	4916	



Table 2-2. Amino acids composition of the experimental diets (% protein)

	Diets								
	EP1	EP2	EP3	EP4	EP5	EP6	EP7	EP8	MP
Ala	6.42	5.73	5.59	6.23	6.66	6.80	6.79	6.63	6.55
Arg	6.10	6.69	10.32	6.41	5.82	5.67	5.93	6.42	7.06
Asp	8.97	8.18	7.78	9.26	8.97	8.96	9.31	8.83	9.59
Cys	0.89	0.91	0.82	0.80	0.76	0.81	0.69	0.70	0.94
Glu	13.34	14.90	12.36	12.89	12.74	12.73	12.42	12.90	10.43
Gly	5.79	5.26	5.01	5.89	6.59	6.71	6.55	6.22	6.06
His	3.04	4.49	4.46	3.74	3.64	3.53	4.33	4.24	4.08
Ile	5.12	4.49	4.56	5.25	4.63	4.38	4.94	4.59	5.24
Leu	8.56	7.98	7.84	8.40	8.64	9.09	8.43	8.85	7.16
Lys	5.73	7.58	6.83	5.49	6.99	6.20	6.84	6.82	4.73
Met	3.28	3.12	2.98	2.95	3.45	3.04	3.58	3.27	4.10
Phe	4.89	4.38	4.67	4.92	4.50	4.75	4.37	4.52	5.62
Pro	6.20	5.47	5.38	6.32	5.75	6.31	4.93	5.63	7.19
Ser	4.38	4.02	3.78	4.47	4.16	4.32	4.05	4.05	4.59
Thr	4.37	3.87	3.78	4.35	4.13	4.05	4.36	4.09	5.04
Tyr	3.47	3.62	3.69	3.57	3.19	3.47	3.79	3.57	4.06
Val	4.91	4.88	4.45	4.79	5.09	5.04	5.05	5.01	3.86

Table 2-3. Fatty acids composition of diets (% of total fatty acids)

	Diets								
	EP1	EP2	EP3	EP4	EP5	EP6	EP7	EP8	MP
C14:0	2.58	3.03	3.86	3.58	4.10	2.88	3.96	3.03	4.78
C14:1n	0.36	0.38	0.43	0.46	0.40	0.37	0.46	0.58	0.62
C16:0	21.87	21.56	21.43	21.62	20.78	18.72	21.12	20.31	21.37
C16:1n	3.84	4.06	4.93	4.52	3.79	3.80	4.54	4.09	6.74
C17:0	0.37	0.36	0.36	0.54	0.47	0.36	0.62	0.86	0.74
C18:0	3.49	3.32	3.51	5.46	4.79	4.46	5.18	5.97	3.79
C18:1n-9	18.76	17.54	18.45	16.96	15.30	19.45	13.90	14.08	12.43
C18:2n-6	11.55	11.19	10.45	13.52	20.44	21.29	1.99	7.30	2.06
C18:3n-3	1.97	1.78	1.80	1.65	2.57	2.62	0.77	1.03	1.38
C18:4n-3	1.10	1.14	1.36	1.06	1.05	0.75	1.02	0.82	2.89
C20:1n-9	0.71	0.89	1.38	1.50	2.14	1.78	1.66	2.57	1.62
C20:2n-6	0.26	0.24	0.26	0.23	0.16	0.60	0.17	0.29	0.00
C20:4n-6	1.04	1.00	0.98	1.32	1.04	1.11	1.88	2.16	0.79
C20:4n-3	0.40	0.41	0.46	0.44	0.39	0.62	0.59	0.52	0.80
C20:5n-3	8.44	9.01	9.17	8.32	7.56	6.96	13.10	8.61	15.03
C22:2n-6	0.15	0.19	0.22	0.28	0.27	0.28	0.43	0.26	0.35
C22:3n-3	0.26	0.23	0.21	0.40	0.38	0.15	0.59	1.03	0.15
C22:5n-3	0.80	0.88	1.05	1.80	1.31	2.57	2.47	1.83	0.99
C22:6n-3	21.77	22.59	19.19	15.83	13.07	11.14	25.54	24.58	22.20

#### 다. 결과 및 고찰

부상배합사료 및 습사료로 최초 평균체중 106 g의 넙치를 16주 동안 사육한 결과를 Table 2-4에 나타내었다. 사육기간 동안의 생존율은 실험구 간에 통계적인 차이는 없었다. 최종체중은 EP7, EP1, EP2 실험구가 가장 높은 결과를 보였으며, EP3, EP8 실험구와는 통계적인 차이는 없었지만, EP5, EP6 및 MP 실험구보다는 유의하게 높았다( $P<0.05$ ). 우리 나라의 주요 해수 양식어종인 넙치 사육에 적합한 배합사료 개발을 위하여 영양소 요구량(Lee et al., 2000; Lee et al., 2003; Kim and Lee, 2004; Kim et al., 2006) 및 사료원료 이용성(Kim et al., 2000; Park et al., 2003; Jang et al., 2005)에 관한 연구들이 꾸준히 수행되어왔다. Cho et al. (2005) 및 Kim et al. (2006a)의 연구에서 넙치를 대형수조에서 EP와 MP로 10개월 및 8개월간 사육 실험한 결과, EP와 MP간에 성장차이를 보이지 않았으며, Kim et al. (2006b)은 양식장 현장에서 EP와 MP의 사육효능을 비교 평가한 결과, 600g 내외의 크기까지 성장에서 차이가 없는 것으로 나타나서 넙치 사육을 위한 EP의 MP 대체 가능성을 보고한 바 있다. 그리고 최초 체중 600g 전후의 미성어기 넙치를 상품크기인 1kg 이상까지 사육한 Kim et al. (2008) 연구에서도 EP는 습사료와 비교하여 성장 및 생존율에서 유의한 차이를 보이지 않았으며, 이러한 결과들은 현재 EP의 장기간 사육시, 혹은 치어기 이후 육성기 및 미성어기의 성장효과가 MP에 비하여 떨어진다는 양어가들의 기존의 생각을 바꾸는데 많은 도움이 될 것으로 판단된다.

사료의 조단백질과 조지질 함량을 다르게 설계한 EP1, EP2, EP3(CP 55-51%, CL 9-15%) 실험구간에 체중체중은 모든 실험구에서 유의한 차이가 없었다. 그러나 기존의 연구에서 사료에 다량의 지질 첨가는 오히려 여름철에 사육된 넙치 치어의 성장을 감소시키는 것으로 보고되어 본 연구 결과와 차이를 보였다(Lee et al., 2000). 하지만, Kim et al.(2006)은 저수온(12 및 17°C)에서 고지질(14%) 및 저지질(7%) 사료로 넙치 치어를 사육한 결과, 증체량에는 차이가 없었으나 고지질 실험구에서 사료효율이 증가하였다고 보고한 바 있어, 사육수온, 사료형태 및 어체크기에 따른 사료 지질 이용성에 관한 연구가 좀 더 상세히 검토되어야 할 것이다.

사료효율은 MP 실험구가 85%로 EP1, EP3, EP4, EP5 및 EP6 실험구(107-116%) 보다는 낮았으며( $P<0.05$ ), 모든 EP 실험구간에는 유의한 차이가 없었다. 사육기간 동안의 각 수조별 일일사료섭취율은 MP 실험구가 EP 실험구들에 비해서 유의하게

높았으나( $P < 0.05$ ), EP 실험구간에는 차이가 없었다. 이미 기존의 연구들에서도 본 연구와 유사하게 MP 공급구가 EP 공급구에 비해 사료효율이 낮았으며, 사료섭취율이 증가하는 결과들이 보고되었는데, 이는 점결력이 낮고 수분함량이 높은 MP가 넙치에게 공급될 때 수중으로 유실되는 양이 EP에 비해서 많았거나, 섭취된 MP 사료의 영양소 소화율이 낮았을 가능성 때문으로 추측된다(Cho et al., 2005; Lee et al., 2005). 이와 같이 MP 사료의 급여시 유실로 인한 수질오염 문제뿐만 아니라, 생사료원으로 사용되고 있는 연안자원들의 보호를 위해서도 양식장에서 사용되고 있는 생사료를 배합사료로 전환하는 것이 시급하다.

사육실험 종료 후, 실험어의 전어체 일반성분 분석 결과를 Table 2-5에 나타내었으며, 전어체의 수분과 지질 함량은 실험구간에 유의한 차이를 보였다. Lee and Kim (2005)은 치어기 넙치의 어체 조성이 사료의 영양소 함량에 따라서 차이를 나타내었다고 보고하였으며, 사료내 지질함량 증가는 어체의 지질 함량을 증가시켰다.

이상의 결과로 볼 때, 본 연구에 사용된 EP의 사료조성은 넙치 사육을 위한 MP를 대체할 수 있는 배합사료 조성으로 사용하여도 좋을 것으로 판단된다.

Table 2-4. Growth performance of flounder fed the experimental diets

Diet	Initial weight (g)	Final weight (g)	Feed efficiency (%) <sup>1</sup>	Protein efficiency ratio <sup>2</sup>	Daily feed intake <sup>3</sup>	Survival (%)
EP1	107	388 <sup>ab</sup>	115 <sup>a</sup>	2.08 <sup>abc</sup>	0.89 <sup>ab</sup>	98
EP2	105	385 <sup>ab</sup>	114 <sup>a</sup>	2.17 <sup>ab</sup>	0.80 <sup>b</sup>	71
EP3	106	371 <sup>abc</sup>	115 <sup>a</sup>	2.29 <sup>a</sup>	0.81 <sup>b</sup>	74
EP4	106	351 <sup>bc</sup>	110 <sup>a</sup>	2.17 <sup>ab</sup>	0.75 <sup>b</sup>	68
EP5	105	327 <sup>c</sup>	107 <sup>a</sup>	2.07 <sup>abc</sup>	0.76 <sup>b</sup>	94
EP6	105	318 <sup>c</sup>	108 <sup>a</sup>	1.91 <sup>c</sup>	0.78 <sup>b</sup>	81
EP7	104	414 <sup>a</sup>	114 <sup>a</sup>	2.06 <sup>bc</sup>	0.92 <sup>ab</sup>	95
EP8	108	368 <sup>abc</sup>	116 <sup>a</sup>	2.26 <sup>ab</sup>	0.86 <sup>ab</sup>	98
MP	106	318 <sup>c</sup>	85 <sup>b</sup>	1.31 <sup>d</sup>	1.03 <sup>a</sup>	92
Pooled SEM	1.05	8.76	2.38	0.07	0.03	4.72

Values (mean  $\pm$  S.E. of two replications) in the same column not sharing a common superscript letter are significantly different ( $P < 0.05$ ).

<sup>1</sup> Fish wet weight gain  $\times$  100 / feed intake.

<sup>2</sup> (Fish wet weight gain / protein intake)  $\times$  100.

<sup>3</sup> Daily feed intake = feed intake  $\times$  100 / [(initial fish wt + final fish wt + dead fish wt)  $\times$  days reared/2].

Table 2-5. Proximate composition of whole body of flounder fed the experimental diets

Diet	Moisture (%)	Crude protein (%)	Crude lipid (%)	Crude ash (%)
EP1	72.9 <sup>ab</sup>	19.1	3.4 <sup>ab</sup>	3.6
EP2	72.3 <sup>ab</sup>	19.4	3.9 <sup>ab</sup>	3.2
EP3	70.6 <sup>a</sup>	18.6	5.8 <sup>b</sup>	3.6
EP4	73.3 <sup>ab</sup>	18.9	2.7 <sup>ab</sup>	3.5
EP5	73.2 <sup>ab</sup>	18.4	4.2 <sup>ab</sup>	3.3
EP6	72.8 <sup>ab</sup>	19.4	3.8 <sup>ab</sup>	3.3
EP7	71.9 <sup>ab</sup>	19.3	4.6 <sup>ab</sup>	3.5
EP8	71.7 <sup>ab</sup>	19.0	4.9 <sup>ab</sup>	3.5
MP	73.8 <sup>b</sup>	18.3	2.3 <sup>a</sup>	3.6
Pooled SEM	0.30	0.15	0.33	0.07

Values (mean  $\pm$  S.E. of two replications) in the same column not sharing a common superscript letter are significantly different ( $P < 0.05$ ).

## 2. 사료종류별 육질평가

### 가. 서론

넙치는 우리나라, 일본 및 중국해 연안에서 서식하고 있는 어종으로 육질이 단단하고 맛이 담백해 횡감용 생선으로 많이 이용되고 있다. 또한, 넙치는 어린이의 발육에 필요한 라이신이 많아 성장기 어린이에게 좋고 지방질이 적어 소화가 잘되므로 노인과 당뇨병환자, 병의 회복기에 있는 사람에게도 도움이 되는 식품이다. 우리나라 국민들의 수산물에 대한 일반적인 인식은 천연어가 양식어에 비해 영양적으로 풍부하며, 질감 및 기호도가 우수하다고 생각해 횡집에서 천연어가 양식어보다 몇 배 더 비싼 가격에 판매되고 있을 뿐만 아니라 같은 양식어라도 배합사료를 공급한 어류보다 생사료를 공급한 어류가 좋다는 인식이 팽배해 있는 실정이다. 이와 같은 인식 때문에 생사료를 공급한 넙치의 유통이 횡집 등으로 먼저 이루어진 다음 마지막으로 배합사료를 공급한 넙치의 유통이 이루어진다고 양어가들은 하소연하기도 한다.

예전부터 천연어와 양식어의 차이에 관한 연구는 많이 이루어져 왔다. 특히 참돔(Ohshima et al. 1983; Morishita et al. 1989), 방어(Nakagawa et al. 1985) 및 은어(Suyama et al. 1977; Ohshima et al. 1982)에 관한 연구보고가 많으며, 그 외에 뱀장어, 미꾸라지 및 잉어의 정미성분(Yang et al. 1982; Yang et al. 1984; Kim et al. 1999)에 관한 연구 보고도 있다. 한편 넙치에 관해서는 자연산 및 양식산 넙치의 관능적 특성(Park et al. 2003)을 비롯해 영양성분(Sato et al, 1977) 및 육질에 관한 연구(Lee & Lee, 1997; Lee & Lee, 2000; Lee & Lee, 2001)와 정미성분에 관한 연구(Kim et al. 2000)등이 보고되어 있다. 이처럼 많은 연구들이 수행되어 왔음에도 불구하고, 배합사료를 공급한 양식넙치의 품질에 관한 연구로는 Ioka et al.(1997)와 Kim et al.(2007)의 연구 외에 찾아보기 힘들다. Ioka et al.(1997)에 의하면 넙치는 저지방의 백색어류로 담백한 풍미를 가지는 육질이기 때문에 아주 미량의 체성분 등의 변화에 의해 음식맛이 변하기 쉬운 것으로 예상된다고 하였다. 또한 사료의 차이에 의해 어육의 생화학적 성분, 물성, 관능평가 등에 있어서 그 차이 유무를 명확하게 하는 것은 맛있는 양식어를 육성하기 위한 기술개발로서 중요한 과제의 하나라고 생각한다고 하였다.

본 연구에서는 사료의 단백질과 지질 함량을 다르게 제조한 3종의 실험 배합사료, 시판 수입사료 및 생사료를 공급하여 사육한 실험어 등근육의 일반성분, 지방산, 유리아미노산 및 핵산관련물질의 성분 함량 차이를 비교하였고, 또한 물성평가를 실시하여 조직감을 비교 하였다.

#### 나. 재료 및 방법

##### 실험어 및 샘플채취

사료종류별 육질평가를 위하여 고품질 배합사료 평가 사육실험에 사용한 3종류의 실험 배합사료(EP1, EP2, EP3), 수입배합사료(EP4, 일제) 및 생사료(MP) 공급구의 평균체중 503g 전후 실험어 등근육을 채취하여 사용하였다.

##### 성분분석

일반성분은 AOAC (Association of Official Analytical Chemists, 1990)의 방법에 따라 수분은 상압가열건조법(135℃, 2시간), 조단백질은 kjeldahl 질소정량법(N×6.25), 조회분은 직접회화법으로 분석하였다. 조지방은 샘플을 12시간 동결 건조한 후, solvent extractor(Velp ser 148, USA)를 사용하여 soxhlet 추출법으로 분석하였다.

##### 지방산분석

지방산 분석은 Folch et al.(1957)의 방법에 따라 메탄올과 클로로포름 혼합액(2 : 1, v/v)으로 지질을 추출하였고, 여과하여 얻은 여액을 플라스크에 넣고 evaporator로 용매를 제거하여 지질을 추출하였다. 추출한 지질은 14% BF<sub>3</sub>-methanol (Sigma Chemical Co., USA) 2 mL를 가하고 30분간 85℃에서 가열시킨 다음, 석유 ether로 추출하여 지방산 분석용 시료로 사용하였다. GC 분석조건은 HP-INNOWax capillary column (30 m × 0.32 mm i.d., film thickness 0.5 μm, Hewlett-Packard, USA)이 정착된 gas chromatography (HP6890, USA)로 carrier gas는 helium을 사용하였다. Injector와 detector(FID) 온도는 각각 250℃, 270℃로 설정하였고, oven 온도는 170℃에서 225℃까지 1℃/min 증가시켰다. 각 지방산은 동일조건에서 표준지방산 methyl ester mixture (Sigma Chemical Co., USA)와 retention time을 비교하여 동정하였으며 함량은 각 peak의 면적을



상대적인 백분율로 나타내었다.

### 유리아미노산 분석

유리아미노산은 마쇄한 시료 2 g에 ethanol 30 mL를 넣고 잘 섞은 다음 4°C에서 1시간 방치 후 30분간 균질화하였다. 시료액을 4°C에서 10,000 rpm으로 20분간 원심분리하여 얻은 상등액을 40°C에서 감압농축 시킨 후 증류수를 넣어 행구어 여두기로 옮기고, ether로 행구어 여두기로 옮기는 과정을 2회 반복하였다. 여두기의 하층액을 수기로 옮겨 55°C 이하에서 감압농축한 다음 증류수를 이용하여 감압농축을 3회 이상 반복하였다. 농축된 시료는 lithium citrate buffer(pH 2.20)로 25 mL 정용플라스크에 정용하고 sulfosalicylic acid(Sigma-Aldrich, Inc., USA) 1 g을 첨가하여 암실에서 1시간 방치시킨 후 원심분리(10,000 rpm, 20분)하여 0.45  $\mu$ m membrane filter로 여과 한 시료액을 Biochrom 30 아미노산 자동 분석기를 사용하여 다음과 같은 조건으로 분석하였다. Cation separation column(lithium column, 4.6 mm  $\times$  200 mm)을 사용하였고 이동상의 유속은 0.33 mL/min, ninhydrin 용액의 유속은 0.33 mL/min, column 온도는 31~76°C, 반응온도는 135°C로 하였다.

### 핵산관련물질 분석

동결건조하여 분쇄한 시료 0.5 g에 10% 과염소산(perchloric acid, PCA) 용액 10 mL를 가해 균질화 한 후, 4,000 rpm에서 10분간 원심분리하여 상층을 분리하였다. 침전물에 대하여 10% PCA 용액 10 mL로 위와 같은 조작을 2회 반복하여 상층액을 합하였다. 상층액을 여과하고 5N KOH로 pH를 6.5로 조정 한 후, 10% PCA용액을 첨가하여 100 mL로 정용하였다. 0°C에서 30분간 정치한 후 0.45  $\mu$ m membrane filter로 여과한 시료액을 HPLC UV/Vis 200 Series(PerkinElmer, USA)를 사용하여 다음과 같은 조건으로 분석하였다. Column은 brownlee validated aqueous C<sub>18</sub>(4.6  $\times$  250 mm, 5  $\mu$ m), 칼럼온도는 40°C, 이동상은 50mM KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>(pH 7.5), 유속은 0.8 mL/min, UV detector 254 nm에서 10  $\mu$ l를 주입하여 검출하였고, 표준용액의 retention time을 비교하여 핵산관련성분을 확인하였다. 핵산관련성분은 표준 검량선을 이용하여 각 시료용액의 peak 면적으로 환산하여 정량하였다. ATP, ADP, AMP, IMP, inosine, hypoxanthine 표준품은 Sigma사 제품을 사용하였고,

0.001~1.0 M 농도로 조제한 후, 위의 조건으로 분석하여 작성하였다.

### 물성평가

각 사료구별 넙치의 등근육을 가로로 폭이 0.5 mm되게 절편으로 만들어 호일에 싼 뒤 얼음위에 1시간정도 올려 둔 것으로 물성측정을 하였다. 등근육 절편은 Rheometer(COMPAC-100, Sun Scientific. co., Japan)를 이용하여 탄력성, 응집성, 씹힘성, 깨짐성, 경도, 강도, 부착성 및 강도를 측정하였다. 측정조건은 plunger diameter 10 mm, load cell 2 kg(No 25, ø15), table speed 120 mm/min으로 하였고, 모든 측정은 5회 반복 측정하여 평균값으로 나타내었다.

### 통계처리

모든 분석결과는 3회 반복하여 측정한 평균치와 표준편차(SD)로 나타내었으며, 결과의 통계처리는 SPSS program을 사용하여 One-way ANOVA-test를 실시하여 Duncan's multiple range test(1955)로 평균간의 유의성을 검정하였다.

## 다. 결과 및 고찰

### 일반성분

각 사료의 일반성분 분석 결과는 Table 2-6에 나타내었고, 각 사료 공급구별 넙치 등근육의 분석 결과는 Table 2-7에 나타내었다. 실험 배합사료 EP1, EP2 및 EP3의 조단백질 함량은 건물기준으로 각각 55.1%, 53% 및 50.5%이었고, EP4 및 MP의 조단백질 함량은 각각 55.4% 및 64.5%였다. 또한 실험 배합사료 1, 2 및 3의 조지방 함량은 건물기준으로 각각 8.8%, 11.7% 및 15.2%이었고, EP4 및 생사료의 조지방 함량은 각각 8.5% 및 11.7%였다. 넙치 등근육의 수분은 MP 공급구가 75.4%로 각 배합사료 공급구 EP1, EP2, EP3 및 EP4 보다 다소 높은 값을 나타내어 유의적인 차이를 나타내었다. 한편, 넙치 등근육의 조단백질과 조지방 함량은 각 실험구별로 유의적인 차이는 없었으나, EP1과 EP4의 조단백질 함량이 다소 높았고, EP3과 MP 공급구가 조지방 함량이 다소 높았다. 이는 사료성분 중 조단백질과 조지방 함량이 높은 사료 공급에 기인된 것으로 사료된다.

Table 2-6. Ingredients and nutrient contents of the experimental diets

	Diets				
	EP1	EP2	EP3	EP4	MP
Ingredients (%)					
White fishmeal	60.6	56.6	51.4	closed	
Krill meal	3.0	3.0	3.0		
Soybean meal	4.0	4.0	4.0		
Wheat gluten	3.0	3.0	3.0		
Wheat flour	26.68	27.78	28.68		
Squid liver oil	0.5	3.2	7.5		
Others	2.42	2.42	2.42		
Raw fish					95
Binder meal					5
Nutrient contents (dry matter basis)					
Moisture (%)	2.7	6.2	7.8	6.7	78.0
Crude protein (%)	55.1	53.0	50.5	55.4	64.5
Crude lipid (%)	8.8	11.7	15.2	8.5	11.7
Ash (%)	9.0	8.4	7.5	15.3	10.2
Crude fiber (%)	1.7	1.6	1.8	3.7	
Gross energy (cal/g)	5095	5201	5405	4637	

Table 2-7. Proximate composition (%) of the dorsal muscle for flounder

	EP1	EP2	EP3	EP4	MP
Moisture	74.7±0.05 <sup>b</sup>	75.0±0.03 <sup>c</sup>	74.7±0.06 <sup>b</sup>	74.3±0.01 <sup>a</sup>	75.4±0.05 <sup>d</sup>
Crude protein	23.6±0.17	23.5±0.27	22.5±0.46	24.1±0.55	23.5±0.69
Crude lipid	0.49±0.015	0.44±0.025	0.56±0.035	0.45±0.085	0.53±0.140

Values (mean±SD of three replications) in each row with a different superscript are significantly different ( $P<0.05$ ).

Table 2-8. Fatty acids composition of diets (% of total fatty acids)

	Diets				
	EP1	EP2	EP3	EP4	MP
C14:0	2.58	3.03	3.86	3.96	4.78
C14:1n	0.36	0.38	0.43	0.46	0.62
C16:0	21.87	21.56	21.43	21.12	21.37
C16:1n	3.84	4.06	4.93	4.54	6.74
C17:0	0.37	0.36	0.36	0.62	0.74
C18:0	3.49	3.32	3.51	5.18	3.79
C18:1n-9	18.76	17.54	18.45	13.90	12.43
C18:2n-6	11.55	11.19	10.45	1.99	2.06
C18:3n-3	1.97	1.78	1.80	0.77	1.38
C18:4n-3	1.10	1.14	1.36	1.02	2.89
C20:1n-9	0.71	0.89	1.38	1.66	1.62
C20:2n-6	0.26	0.24	0.26	0.17	0.00
C20:4n-6	1.04	1.00	0.98	1.88	0.79
C20:4n-3	0.40	0.41	0.46	0.59	0.80
C20:5n-3	8.44	9.01	9.17	13.10	15.03
C22:2n-6	0.15	0.19	0.22	0.43	0.35
C22:3n-3	0.26	0.23	0.21	0.59	0.15
C22:5n-3	0.80	0.88	1.05	2.47	0.99
C22:6n-3	21.77	22.59	19.19	25.54	22.20

## 지방산 조성

각 사료구별 넙치 등근육의 지방산 조성을 분석하고 그 결과를 Table 2-9에 나타내었다. 넙치 등근육의 포화지방산(saturated fatty acid, SFA)으로서는 palmitic acid(16:0)의 함량이 가장 많았고, 불포화지방산(unsaturated fatty acid)으로는 oleic acid(18:1)와 docosahexaenoic acid(22:6)가 모든 실험사료 공급구에서 공통적으로 가장 많이 함유되어 있었다. Oleic acid는 단일불포화지방산으로서 다량 섭취시 혈중 중성지방이나 콜레스테롤을 낮춤으로서 동맥경화증과 같은 성인병에 유익한 효과가 있는 것으로 보고되고 있으며(Grundy, 1986), 식육의 맛과 관련해서는 oleic acid의 함량이 높으면 식육의 맛을 좋게 하고(Lunt & Smith, 1991), 관능평가에서 높은 점수를 얻는다는 보고가 있다(Dryden & Marchello, 1970). 본 실험결과에서 등근육의 oleic acid 함량이 각 사료구별로 유의적인 차이를 나타낸 것으로 볼 때, oleic acid의 함량은 맛과 관련한 지표로 활용 될 수 있을 것으로 예상되었다. 한편, 각 사료구별로 넙치 등근육의 linoleic acid(18:2)의 함량이 유의적인 차이를 나타내어, EP4 및 MP 공급구가 1.6%인데 반해 EP 1, 2 및 3 공급구는 각각 6.3%, 6.2% 및 5.8%로 높은 값을 나타내었다. 또한, Eicosapentaenoic acid(20:5)의 함량도 각 사료구별 넙치 등근육에서 유의적인 차이를 보여 EP4 및 MP 공급구가 각각 9.1% 및 9.6%인데 반해 실험 배합사료 EP1, EP2 및 EP3 공급구는 각각 5.9%, 5.8% 및 6.4%로 낮은 값을 나타내었다. 이것은 Table 2-8에 사료의 지방산 조성에 나타내었듯이 사료의 지방산 조성의 영향으로 어육에 지방산 축적 정도가 다른 함량을 나타낸 것으로 보인다. Morishita et al.(1989)이 사료의 지방산 조성에 따라 어육의 지방산 조성에 변화가 있다고 보고한 연구결과와도 일치하는 것으로 보였다. 반면에 각 사료구별로 Docosahexaenoic acid(22:6)의 함량은 차이가 있었으나, 넙치의 등근육의 지방산 조성은 별 영향을 받지 않아 33%~34%로 일정한 값을 나타내었다. 이상의 결과로부터 넙치는 지방함량이 낮은 백색어류로, 사육 기간동안 공급된 사료에 의해 넙치육의 지방산 조성에 미치는 영향이 클 것으로 판단되었다.

한편, stearic acid(18:0)와 linoleic acid(18:2)의 비율(Whittington et al. 1986)은 지방조직의 경도(firmness) 및 지방의 두께(thickness)를 나타내는 지표로 자주 활용되고 있다. 18:0/18:2의 비율 값이 클수록 지방의 경도가 크고, 두께 또한 두껍다는 것을 나타낸다고 하였다(Busboom et al. 1981). Table 3에 나타내었듯이, EP4와 MP 공급구가 각각 2.00 및 2.56을 나타내어 실험 배합사료 EP1, EP2 및 EP3 공급

구의 0.54, 0.54 및 0.62보다 높은 값을 나타내었다. 이 결과로부터 EP4 및 MP를 공급한 넙치의 등근육 내 지방 조직이 실험 배합사료 EP1, EP2 및 EP3 공급구보다 더 두껍고 단단함을 예측할 수 있었다.

Table 2-9. Fatty acid composition (% of total fatty acids) of the dorsal muscle for flounder

	EP1	EP2	EP3	EP4	MP
C14:0	0.0±0.01	0.0±0.02	0.0±0.00	0.0±0.01	0.1±0.01
C16:0	25.2±0.08	24.7±0.14	25.4±0.48	25.2±0.14	25.1±0.09
C16:1n-7	2.6±0.06 <sup>a</sup>	2.7±0.08 <sup>a</sup>	2.7±0.22 <sup>a</sup>	3.5±0.00 <sup>b</sup>	4.3±0.27 <sup>c</sup>
C18:0	3.4±0.16 <sup>ab</sup>	3.4±0.10 <sup>ab</sup>	3.6±0.15 <sup>ab</sup>	3.2±0.23 <sup>a</sup>	4.1±0.28 <sup>b</sup>
C18:1n-9	15.0±0.43 <sup>ab</sup>	15.7±0.06 <sup>b</sup>	14.6±0.75 <sup>ab</sup>	13.3±0.15 <sup>a</sup>	14.4±0.92 <sup>ab</sup>
C18:2n-6	6.3±0.08 <sup>b</sup>	6.2±0.01 <sup>b</sup>	5.8±0.32 <sup>b</sup>	1.6±0.00 <sup>a</sup>	1.6±0.01 <sup>a</sup>
C18:3n-3	0.9±0.03 <sup>b</sup>	0.9±0.00 <sup>b</sup>	0.8±0.07 <sup>b</sup>	0.4±0.00 <sup>a</sup>	0.5±0.02 <sup>a</sup>
C18:4n-3	0.4±0.03 <sup>a</sup>	0.4±0.00 <sup>ab</sup>	0.4±0.04 <sup>a</sup>	0.4±0.01 <sup>ab</sup>	0.5±0.02 <sup>b</sup>
C20:1n-9	0.6±0.04 <sup>a</sup>	1.1±0.10 <sup>b</sup>	1.3±0.12 <sup>bc</sup>	1.6±0.06 <sup>c</sup>	1.0±0.13 <sup>b</sup>
C20:4n-6	1.3±0.02 <sup>a</sup>	1.4±0.00 <sup>a</sup>	1.4±0.01 <sup>a</sup>	2.0±0.01 <sup>b</sup>	2.4±0.16 <sup>c</sup>
C20:4n-3	0.3±0.00 <sup>a</sup>	0.3±0.05 <sup>ab</sup>	0.3±0.03 <sup>ab</sup>	0.4±0.01 <sup>b</sup>	0.3±0.02 <sup>a</sup>
C20:5n-3	5.9±0.23 <sup>a</sup>	5.8±0.07 <sup>a</sup>	6.4±0.25 <sup>a</sup>	9.6±0.06 <sup>b</sup>	9.1±0.42 <sup>b</sup>
C22:3n-3	1.4±0.02	1.3±0.29	1.3±0.09	1.8±0.12	1.4±0.13
C22:5n-3	2.0±0.09 <sup>a</sup>	2.3±0.09 <sup>ab</sup>	2.5±0.05 <sup>b</sup>	3.5±0.11 <sup>c</sup>	2.4±0.11 <sup>b</sup>
C22:6n-3	34.4±0.57	33.7±0.04	33.4±1.30	33.4±0.52	32.9±1.14
C18:0/C18:2	0.54	0.54	0.62	2.00	2.56

Values (mean±SD of three replications) in each row with a different superscript are significantly different ( $P<0.05$ ).

## 유리아미노산 함량

각 사료구별 넙치 등근육의 유리아미노산 함량을 Table 2-10에 나타내었다. 넙치 등근육의 유리아미노산은 공급한 사료에 따라서 어체 성분에 약간의 차이를 보였으나 유리아미노산 조성의 분포양상은 비슷한 경향을 나타내었다. 유리아미노산 중  $\alpha$ -aminoadipic acid, taurine, alanine이 주된 아미노산이었고, 필수아미노산으로는 threonine, valine, methionine, lysine, isoleucine, leucine의 6종이 검출되었다. 모든 실험사료구에서 공통적으로  $\alpha$ -aminoadipic acid 함량이 가장 높았으며, MP 공급구의  $\alpha$ -aminoadipic acid 함량은 53.70%로, 실험배합사료 공급구인 EP1, EP2, EP3의 43.58%, 32.33%, 47.55% 및 EP4 공급구 47.29% 보다 높았다. 이  $\alpha$ -aminoadipic acid는 고등식물계에서 lysine 생합성의 전구체이며(Kubicek et al. 1990), pyridine 유도체인 1-methyl-4-phenyl 1, 2, 3, 6-tetrahydropyridine에 의하여 유도되는 신경성 질환을 막는 효과가 있다(Takada et al. 1990)고 보고되어 있다. 또한, taurine 성분은 MP 공급구가 EP 공급구보다 다소 높은 함량을 나타내었는데, 이 성분은 고혈압 및 고지혈증의 예방 및 콜레스테롤과 담석 억제작용이 있다고 하였다. 한편, 면역 글로블린과 항체 생산 보조 역할을 하는 serine 성분 및 신경세포에 에너지를 공급하고 다른 아미노산의 대사를 촉진하는 등 신진대사에 중요한 역할을 하는 asparagine 성분은, MP 공급구에서 실험 및 일본 배합사료 공급구보다 아주 낮은 함량이거나 검출되지 않았다. Sarcosine 성분은 EP4 공급구에서 가장 높게 나타났는데, 사료의 유리아미노산 함량 중에도 sarcosine 성분이 많이 함유되어 있을 것으로 추측되었다.

넙치 등근육 중 단맛을 내는 아미노산인 threonine, serine, glycine 및 alanine의 함량은 MP 공급구보다 실험 및 EP4 공급구에서 다소 높게 나타났으며, 쓴맛을 내는 아미노산인 valine, methionine, isoleucine, leucine과 lysine의 함량은 실험 및 일본 배합사료 공급구보다 MP 공급구에서 높은 경향을 보였다(Table 4).

이상의 결과들로부터 넙치를 사육하는 동안 공급하는 사료의 종류에 따라 등근육의 특정 아미노산 함량에는 차이가 나타남을 알 수 있었다. 넙치 어육중의 유리아미노산 함량은 무미(無味)의  $\alpha$ -aminoadipic acid 및 taurine을 제외하면 다른 아미노산은 비교적 적은 양을 함유하고 있으므로, 특정한 아미노산을 많이 함유하는 정도에 따라 어육의 정미성에 영향을 미칠 것으로 예상되었다.

Table 2-10. Free amino acids content (% to total amino acids) of the dorsal muscle for flounder

	EP1	EP2	EP3	EP4	MP
Phosphoserine	0	0	0	0	0
Taurine	9.68±0.30 <sup>ab</sup>	5.54±4.25 <sup>a</sup>	8.80±1.78 <sup>a</sup>	11.16±0.85 <sup>ab</sup>	15.23±0.19 <sup>b</sup>
Phenylalanine	0	0	0	0	0
Urea	0 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>	0.55±0.77 <sup>ab</sup>	0.89±0.20 <sup>ab</sup>	1.05±0.14 <sup>b</sup>
Aspartic acid	0	0	0	0	0
Hydroxyproline	2.97±0.35 <sup>c</sup>	0.49±0.69 <sup>ab</sup>	1.83±1.16 <sup>bc</sup>	0 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>
Threonine	2.90±0.35	1.94±1.90	2.62±0.09	2.80±0.32	2.33±1.27
Serine	7.46±0.38 <sup>b</sup>	5.06±4.41 <sup>ab</sup>	8.56±0.70 <sup>b</sup>	5.89±1.05 <sup>ab</sup>	1.50±0.44 <sup>a</sup>
Asparagine	2.72±0.47 <sup>c</sup>	1.12±0.81 <sup>ab</sup>	2.17±0.34 <sup>bc</sup>	0.63±0.71 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>
Glutamic acid	1.70±0.41	1.38±0.95	1.65±0.18	1.16±0.07	2.30±0.66
Sarcosine	0.51±0.03 <sup>a</sup>	0.17±0.15 <sup>a</sup>	1.16±0.17 <sup>b</sup>	4.74±0.39 <sup>c</sup>	0.17±0.00 <sup>a</sup>
α-aminoadipic acid	43.58±1.04	32.33±23.20	47.55±5.99	47.29±5.57	53.70±3.45
Proline	0	0	0	0	0
Glycine	3.20±0.02	1.90±1.68	2.70±0.66	2.01±0.39	2.55±0.37
Alanine	8.58±0.12	5.49±4.33	7.84±1.43	7.76±0.65	6.40±0.78
Citrulline	0.05±0.07 <sup>a</sup>	0.04±0.03 <sup>a</sup>	0.07±0.01 <sup>a</sup>	0.09±0.01 <sup>a</sup>	0.24±0.02 <sup>b</sup>
α-amino-n-butyric acid	0.14±0.00	0.16±0.13	0.18±0.01	0.13±0.01	0.13±0.04
Valine	0.49±0.03 <sup>a</sup>	0.24±0.19 <sup>a</sup>	0.41±0.05 <sup>a</sup>	0.39±0.00 <sup>a</sup>	0.79±0.16 <sup>b</sup>
Cystine	0	0.01±0.01	0.01±0.01	0.01±0.01	0
Methionine	0.40±0.02 <sup>b</sup>	0.17±0.12 <sup>a</sup>	0.27±0.02 <sup>ab</sup>	0.32±0.01 <sup>ab</sup>	0.68±0.15 <sup>c</sup>
Cystathionine	1.89±0.07	2.27±2.02	1.91±0.13	1.08±0.58	0.45±0.27
Isoleucine	0.32±0.04	0.27±0.26	0.26±0.04	0.23±0.00	0.48±0.06
Leucine	0.66±0.06 <sup>a</sup>	0.29±0.21 <sup>a</sup>	0.50±0.07 <sup>a</sup>	0.44±0.00 <sup>a</sup>	1.11±0.25 <sup>b</sup>
Tyrosine	0.33±0.04 <sup>ab</sup>	0.15±0.11 <sup>a</sup>	0.32±0.14 <sup>ab</sup>	0.22±0.00 <sup>a</sup>	0.52±0.12 <sup>b</sup>
β-alanine	0.34±0.00	0.21±0.18	0.25±0.08	0.24±0.02	0.42±0.02
Phosphoethanolamine	0.30±0.00 <sup>a</sup>	0.12±0.09 <sup>a</sup>	0.20±0.04 <sup>a</sup>	0.19±0.01 <sup>a</sup>	0.67±0.18 <sup>b</sup>
β-aminoisobutyric acid	0.17±0.00 <sup>ab</sup>	0.09±0.06 <sup>a</sup>	0.17±0.04 <sup>ab</sup>	0.20±0.02 <sup>b</sup>	0.17±0.01 <sup>ab</sup>
Homocystine	0 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>	0.04±0.01 <sup>b</sup>	0.01±0.02 <sup>a</sup>
γ-amino-n-butyric acid	0.03±0.00	0.02±0.01	0.02±0.00	0.02±0.00	0.03±0.00
Ethanolamine	0.07±0.00 <sup>b</sup>	0.04±0.03 <sup>b</sup>	0.06±0.01 <sup>b</sup>	0 <sup>a</sup>	0.13±0.00 <sup>c</sup>
Ammonium chloride	7.03±0.27 <sup>ab</sup>	3.68±2.83 <sup>ab</sup>	6.58±1.31 <sup>ab</sup>	7.61±1.01 <sup>b</sup>	3.23±1.44 <sup>a</sup>
δ-hydroxylysine	0.25±0.03 <sup>b</sup>	0.14±0.12 <sup>ab</sup>	0.16±0.02 <sup>ab</sup>	0 <sup>a</sup>	0.08±0.02 <sup>a</sup>
Ornithine	0.59±0.03 <sup>b</sup>	0.22±0.23 <sup>a</sup>	0.40±0.10 <sup>ab</sup>	0.64±0.10 <sup>b</sup>	0.60±0.10 <sup>b</sup>
Lysine	1.92±0.00 <sup>ab</sup>	0.91±0.82 <sup>a</sup>	1.43±0.39 <sup>a</sup>	2.23±0.63 <sup>ab</sup>	2.90±0.43 <sup>b</sup>
1-methylhistidine	0.03±0.01 <sup>ab</sup>	0.01±0.02 <sup>a</sup>	0.02±0.01 <sup>a</sup>	0.05±0.01 <sup>b</sup>	0.06±0.00 <sup>b</sup>
Histidine	0.46±0.04	0.28±0.20	0.37±0.04	0.28±0.02	0.48±0.14
Tryptophan	0	0	0	0	0
Anserine	0.81±0.02 <sup>b</sup>	0.32±0.31 <sup>a</sup>	0.67±0.15 <sup>ab</sup>	0.91±0.07 <sup>b</sup>	0.53±0.16 <sup>ab</sup>
Carnosine	0	0	0	0	0
Arginine	0.41±0.01 <sup>a</sup>	0.16±0.15 <sup>a</sup>	0.30±0.04 <sup>a</sup>	0.36±0.09 <sup>a</sup>	0.90±0.14 <sup>b</sup>



### 핵산관련물질의 함량

각 사료구별 넙치 등근육의 핵산관련물질 함량을 Table 2-11에 나타내었다. Hong et al. (2004)에 의하면 횡감 생선의 맛은 핵산관련성분 등의 정미성분의 영향을 받으며, 특히 핵산관련성분은 횡감 생선의 신선도 판정 및 정미성분의 indicator로서 이용되기도 하고(Hasimoto, 1972), 그 자체가 고기 맛을 지니고 있어 식품내의 특정 풍미를 변화시키며 MSG와의 상승작용으로 인해 풍미증진 효과를 나타내는 것으로 알려져 있다(Yamaguchi, 1967).

넙치 등근육의 ATP(adenosine triphosphate), ADP(adenosine diphosphate), AMP(adenosine monophosphate), IMP(inosine monophosphate), HxR(inosine), Hx(hypoxanthine)의 총함량은 9~12  $\mu\text{mole/g}$  이었고, 모든 사료공급구에서 IMP가 높은 함량을 차지하였다. IMP 함량은 각 사료공급구별로 유의적인 차이를 나타내었는데, MP 공급구에서 7.8  $\mu\text{mole/g}$ 로 실험 및 EP4 공급구인 8.01, 8.24, 7.97 및 8.63  $\mu\text{mole/g}$ 보다 다소 낮은 함량을 나타내었다. ATP 분해산물 중, IMP는 향 강화제이므로 횡감생선에 바람직한 역할을 하며, IMP의 높은 함량은 횡감의 신선도 및 품질의 좋은 지수로 작용한다고(Fletcher & Statham, 1988) 하였다. 또한 HxR과 Hx는 불쾌취를 야기시키는 핵산관련성분으로서, 특히 Hx의 함량은 여러 종류의 생선에서 신선도 지수로 활용되고 있다(Huss, 1988). 본 실험 결과에서처럼 HxR과 Hx의 성분 함량이 미량 함유되어 있어 맛에는 크게 영향을 미치지 않았을 것으로 판단되었다.

Table 2-11. Contents of nucleotides-related compounds in dorsal muscle for flounder ( $\mu\text{mole/g}$ )

	EP1	EP2	EP3	EP4	MP
IMP	8.01±0.07 <sup>ab</sup>	8.24±0.22 <sup>b</sup>	7.97±0.03 <sup>ab</sup>	8.63±0.11 <sup>c</sup>	7.80±0.18 <sup>a</sup>
ATP	0.19±0.13	0.25±0.01	0.23±0.03	0.24±0.01	0.19±0.14
ADP	0.36±0.02 <sup>a</sup>	0.31±0.01 <sup>a</sup>	0.32±0.01 <sup>a</sup>	0.35±0.02 <sup>a</sup>	0.53±0.11 <sup>b</sup>
AMP	0.23±0.01	0.20±0.00	0.19±0.04	0.22±0.00	0.18±0.01
HxR	0.15±0.01 <sup>b</sup>	0.14±0.00 <sup>a</sup>	0.13±0.00 <sup>a</sup>	0.15±0.00 <sup>b</sup>	0.17±0.01 <sup>c</sup>
HX	0.97±0.01	0.93±0.03	0.91±0.03	0.93±0.02	1.92±1.44

## 물성평가

각 사료구별 넙치 등근육의 물성평가 결과를 Table 2-12에 나타내었다. 배합사료 공급구 1, 2, 3 및 4는 MP 공급구보다 탄력성이 유의적으로 낮았으나, 응집성, 씹음성, 깨짐성, 경도, 강도 및 부착성은 유의적인 차이를 보이지 않았다. 이 등 (Lee & Lee, 1997)에 의하면, 양식산 넙치가 천연산 넙치보다 경도와 탄력성이 유의적으로 낮다고 하였고, 양식산 도미의 생육과 가열육이 자연산 도미보다 유의적인 차이는 없으나 탄력성이 낮고 응집성이 높다고 한 연구결과(Lee & Lee, 1999)도 있다. 이처럼 양식어에 대한 기호성에는 조직감(texture)의 영향이 크게 미치는 사료되며, 공급된 사료에 의해 조직감이 약간씩 차이가 나타남을 알 수 있었다.

Table 2-12. Textural properties of the dorsal muscle in flounder

	EP1	EP2	EP3	EP4	MP
탄력성(%)	70.70±2.03 <sup>ab</sup>	70.13±0.09 <sup>a</sup>	72.82±2.28 <sup>ab</sup>	75.50±1.96 <sup>ab</sup>	77.91±5.23 <sup>b</sup>
응집성(%)	33.94±1.63	33.82±3.11	34.51±4.72	38.67±0.38	40.56±7.68
씹음성(g)	464.4±77.7	488.0±1.0	464.1±47.0	511.5±22.7	470.4±44.9
깨짐성(g)	34131±5482	34336±78	33879±4436	36740±6115	35588±3863
경도(g/cm <sup>2</sup> )	2334±385.3	2607±111.9	2429±112.1	2318±20.4	2068±198.7
강도(g/cm <sup>2</sup> )	1789±288.2	1961±151.6	1853±83.7	1790±16.8	1593±148.7
부착성(g)	36.62±5.77	34.91±21.34	33.60±7.52	40.38±22.21	26.05±12.46

Values (mean±SD of three replications) in each row with a different superscript are significantly different ( $P<0.05$ ).

### 3. 지역별 양식장 급이현황 조사

우리나라 지역별(경북, 제주) 양식장의 EP 및 MP 사료 급이현황 및 월별 넙치 성장도 및 사료섭취율 자료를 조사하여 배합사료 급이체계 설정을 위한 기초 자료로 활용하고자 하였다.

#### 가. 제주지역 양어장 사육현황

##### 1) A수산

###### ○ 시설 및 인력

- 수면적 : 4,761m<sup>2</sup>(1,442평)
- 수조 : 8개(6.5m×6.5m), 21개(8m×8m), 8개(12m×13m)

###### ○ 양식개요(2008)

###### - 입식

- 배합사료(EP) : 평균체중 94g 내외 (52,000 미)
- 습사료(MP) : 평균체중 101g 내외 (50,300 미)

###### - 사육수조

- 배합사료(EP) : 입식(512m<sup>2</sup>, 8m×8m 수조 8개), 출하(1,677m<sup>2</sup>, 수조 12개)
- 습사료(MP) : 입식(512m<sup>2</sup>, 8m×8m 수조 8개), 출하(1,677m<sup>2</sup>, 수조 12개)

###### - 사육기간 : 2007년 12월 18일 ~ 2008년 11월 3일

###### - 사료 : 배합사료는 수침 및 첨가제 혼합하여 사용(수분 24%)

습사료는 고등어, 청어 등에 첨가제를 혼합하여 사용(수분 72%)

###### - 생산량

- 배합사료(EP) : 39 톤 (23kg/m<sup>2</sup>, 780kg/평)
- 습사료(MP) : 42 톤 (25kg/m<sup>2</sup>, 828kg/평)

###### - 최종평균체중

- 배합사료(EP) : 1,029g
- 습사료(MP) : 1,076g

○ 급이체계 개요

- 배합사료(EP)

- 수온 19℃, 100 ~ 150g 까지는 어체중 당 0.98% 내외
- 수온 15℃, 150 ~ 250g 까지는 어체중 당 0.50 ~ 0.62% 내외  
→ 수온 하락으로 전월에 비해 급이량 감소
- 수온 16-20℃, 250 - 500g 까지는 어체중 당 0.42 - 0.52% 내외
- 수온 21-23℃, 500 - 800g 까지는 어체중 당 0.48 - 0.53% 내외
- 수온 20-21℃, 800g - 1,030g 까지는 어체중 당 0.40% 내외  
→ 어류크기의 증대로 급이량 감소
- 급이횟수는 수온이 낮은 12-3월에는 2회 공급하였고, 그 이후는 3회 공급  
→ 제주도는 수온이 항상 15℃ 이상이였으며, 어류크기에 의한 급이횟수의 차이는 보이지 않음

- 습사료(MP)

- 수온 19℃, 100 - 150g 까지는 어체중 당 2.62% 내외
- 수온 15℃, 150 - 250g 까지는 어체중 당 1.67 - 1.48% 내외  
→ 수온 하락으로 전월에 비해 급이량 감소
- 수온 16-20℃, 250 - 550g 까지는 어체중 당 1.04 - 1.36% 내외
- 수온 21-23℃, 550 - 850g 까지는 어체중 당 1.11 - 1.27% 내외
- 수온 20-21℃, 850g - 1,070g 까지는 어체중 당 1.02% 내외  
→ 어류크기의 증대로 급이량 감소
- 급이횟수는 수온 및 어체크기에 관계없이 2회 공급하였음

○ 배합사료와 습사료 비교

- 성장면에서 배합사료가 습사료에 비해 뒤쳐지지 않았음
- 생존율에서 배합사료가 습사료에 비해 낮았으며, 저수온 및 고수온 시기와 질병감염시에 특히 주의해서 관리해야 될 것으로 사료됨
- 사료관리면에서는 배합사료가 습사료에 비해 효율적이었음

표 2-13. 제주지역 A수산의 넙치 배합사료(EP) 사육현황

구분	측정일	마리수	총중량 (kg)	사료급여량 (kg)	평균중량 (g)	생존율 (%)	어체중당 급여량(%)	급이횟수
입식	07.12.18	52,000	4,878		94			
1개월 후	08.01.14	50,860	7,576	3,306	149	98	0.98	2
2개월 후	08.02.13	49,044	9,431	3,063	192	96	0.62	2
3개월 후	08.03.14	46,369	10,946	3,021	236	95	0.50	2
4개월 후	08.04.11	45,188	13,059	3,045	289	97	0.47	3
5개월 후	08.05.14	44,619	15,941	4,831	357	99	0.52	3
6개월 후	08.06.15	43,942	18,409	4,834	419	98	0.45	3
7개월 후	08.07.14	43,170	22,269	4,967	516	98	0.42	3
8개월 후	08.08.10	42,424	25,478	6,321	601	98	0.53	3
9개월 후	08.08.31	39,960	27,739	5,638	694	94	0.52	3
10개월 후	08.10.09	39,566	32,774	11,072	828	99	0.48	3
11개월 후	08.11.03	37,980	39,065	7,301	1,029	96	0.40	3
누계	08.11.03	37,980	39,065	57,399	1,029	73	0.42	

※ 사료급여량은 배합사료에 수침하여 수분함량이 24%임

표 2-14. 제주지역 A수산의 넙치 습사료(MP) 사육현황

구분	측정일	마리수	총중량 (kg)	사료급여량 (kg)	평균중량 (g)	생존율 (%)	어체중당 급여량(%)	급이횟수
입식	07.12.18	50,300	5,056		101			
1개월 후	08.01.14	49,455	8,089	9,322	164	98	2.62	2
2개월 후	08.02.13	47,752	10,324	8,975	216	96	1.67	2
3개월 후	08.03.14	46,335	12,515	9,864	270	97	1.48	2
4개월 후	08.04.11	45,521	14,476	9,507	318	98	1.30	2
5개월 후	08.05.14	44,876	17,080	13,748	381	99	1.36	2
6개월 후	08.06.15	44,249	20,290	13,584	459	99	1.17	2
7개월 후	08.07.14	43,330	24,652	13,664	569	98	1.04	2
8개월 후	08.08.10	42,714	27,388	14,475	641	99	1.11	2
9개월 후	08.08.31	41,975	30,731	14,810	732	98	1.27	2
10개월 후	08.10.09	40,454	35,096	29,048	868	96	1.15	2
11개월 후	08.11.03	39,418	42,420	19,904	1,076	97	1.02	2
누계	08.11.03	39,418	42,420	156,901	1,076	78	1.06	

※ 사료종류는 MP이며 수분함량은 72%임

## 2) B수산

### ○ 시설 및 인력

- 수면적 :  $4,954\text{m}^2$ (1,499평)
- 수조 : 25개(13m×13m), 2개(13m×11m), 1개(13m×17m), 1개(13m×20m)

### ○ 양식개요(2008)

#### - 입식

- 배합사료(EP) : 평균체중 35g 내외 (71,000 미)
- 습사료(MP) : 평균체중 35g 내외 (71,300 미)

#### - 사육수조

- 배합사료(EP) : 입식( $845\text{m}^2$ , 13m×13m 수조 5개), 출하( $1,183\text{m}^2$ , 수조 7개)
- 습사료(MP) : 입식( $845\text{m}^2$ , 13m×13m 수조 5개), 출하( $1,183\text{m}^2$ , 수조 7개)

#### - 사육기간 : 2007년 12월 18일 - 2008년 11월 3일

- 사료 : 배합사료는 수침 및 첨가제 혼합하여 사용(수분 28%)하였으며,  
습사료는 고등어, 청어, 전갱이, 밀치 등에 첨가제를 혼합사용(수분 71%)

#### - 생산량

- 배합사료(EP) : 23 톤 ( $19\text{kg}/\text{m}^2$ ,  $642\text{kg}/\text{평}$ )
- 습사료(MP) : 30 톤 ( $25\text{kg}/\text{m}^2$ ,  $838\text{kg}/\text{평}$ )

#### - 중간판매체중(숙음무게)

- 배합사료(EP) : 3,385미, 2,576kg
- 습사료(MP) : 11,876미, 7,704kg

#### - 최종평균체중

- 배합사료(EP) : 914g
- 습사료(MP) : 894g

○ 급이체계 개요

- 배합사료(EP)

- 수온 16.5℃, 35 - 100g 까지는 어체중 당 1.69% 내외  
→ 질병발생으로 폐사율 증대
- 수온 15℃, 100 - 250g 까지는 어체중 당 0.56 - 0.59% 내외  
→ 수온 하락 및 폐사율 증대로 전월에 비해 급이량 감소
- 수온 16-21℃, 250 - 500g 까지는 어체중 당 0.29 - 0.38% 내외
- 수온 20-22℃, 500 - 900g 까지는 어체중 당 0.27 - 0.34% 내외
- 급이횟수는 수온, 어류크기 등에 상관없이 연중 2회 공급함

- 습사료(MP)

- 수온 16.5℃, 33 - 100g 까지는 어체중 당 5.52% 내외  
→ 질병발생으로 폐사율 증대
- 수온 15℃, 100 - 250g 까지는 어체중 당 2.21 - 2.61% 내외  
→ 수온 하락 및 폐사율 증대로 전월에 비해 급이량 감소
- 수온 16-16.5℃, 250 - 400g 까지는 어체중 당 1.15 - 1.43% 내외
- 수온 21℃, 400 - 500g 까지는 어체중 당 0.98% 내외
- 수온 20-22℃, 500 - 900g 까지는 어체중 당 0.54 - 0.59% 내외
- 급이횟수는 수온, 어류크기 등에 상관없이 연중 2회 공급함

○ 배합사료와 습사료 비교

- 성장면에서 배합사료가 습사료에 비해 뒤쳐지지 않았지만, 습사료의 경우 중간 속음무게가 배합사료에 비해 많아 성장이 낮게 나타남
- 생존율에서 배합사료가 습사료에 비해 낮았으며, 저수온 및 고수온 시기와 질병감염시에 특히 주의해서 관리해야 될 것으로 사료됨



표 2-15. 제주지역 B수산의 넙치 배합사료(EP) 사육현황

구분	측정일	마리수	총중량 (kg)	사료급여량 (kg)	평균중량 (g)	생존율 (%)	어체중당 급여량(%)	급이횟수
입식	07.12.18	71,000	2,490		35			
1개월 후	08.01.14	49,894	4,540	3,426	91	90	1.69	2
2개월 후	08.02.13	33,570	4,563	1,572	136	67	0.56	2
3개월 후	08.03.14	33,164	5,959	1,819	180	99	0.59	2
4개월 후	08.04.11	32,791	7,825	2,210	239	99	0.59	2
5개월 후	08.05.14	32,541	10,089	2,171	310	99	0.38	2
6개월 후	08.06.15	32,391	11,829	2,431	365	100	0.36	2
7개월 후	08.07.14	31,222	12,520	2,283	401	96	0.32	2
8개월 후	08.08.10	30,694	15,911	2,047	518	98	0.29	2
9개월 후	08.08.31	28,352	16,328	1,693	576	92	0.26	2
10개월 후	08.10.09	27,026	18,295	4,500	677	95	0.34	2
11개월 후	08.11.03	22,854	20,887	2,720	914	97	0.27	2
누계	08.11.03	22,854	20,887	2,720	914	42	0.37	

※ 사료급여량은 수협 배합사료에 수침하여 수분함량이 28%임

표 2-16. 제주지역 B수산의 넙치 습사료(MP) 사육현황

구분	측정일	마리수	총중량 (kg)	사료급여량 (kg)	평균중량 (g)	생존율 (%)	어체중당 급여량(%)	급이횟수
입식	07.12.18	71,000	2,356		33			
1개월 후	08.01.14	49,351	4,260	10,753	86	70	5.52	2
2개월 후	08.02.13	37,574	4,856	6,221	129	76	2.21	2
3개월 후	08.03.14	37,154	6,661	7,482	179	99	2.23	2
4개월 후	08.04.11	36,723	9,380	11,358	255	99	2.61	2
5개월 후	08.05.14	36,470	11,612	9,636	318	99	1.43	2
6개월 후	08.06.15	36,305	13,799	10,745	380	100	1.36	2
7개월 후	08.07.14	34,700	14,652	9,615	422	96	1.15	2
8개월 후	08.08.10	33,984	17,325	7,885	510	98	0.98	2
9개월 후	08.08.31	31,676	19,147	4,305	604	93	0.58	2
10개월 후	08.10.09	30,828	22,046	10,945	715	97	0.69	2
11개월 후	08.11.03	18,239	16,301	19,904	894	97	2.11	2
누계	08.11.03	18,239	16,301	108,849	894	42	1.61	

※ 사료종류는 MP이며 수분함량은 71%임

## 나. 경북지역 양어장 사육현황

### 1) A수산

#### ○ 시설 및 인력

##### - 수면적 :

- 수조 : 14개(6m×6m), 12개(7m×7m), 4개(12.5m×13m), 6개(10m×12m),  
10개(10m×10m)

#### ○ 양식개요(2008)

##### - 입식

- 배합사료(EP) : 평균체중 170g 내외 (35,500 미)
- 습사료(MP) : 평균체중 170g내외 (34,000 미)

##### - 사육수조

- 배합사료(EP) : 5개(6m×6m), 5개(10m×10m), 3개(10m×12m)
- 습사료(MP) : 5개(6m×6m), 5개(10m×10m), 3개(10m×12m)

##### - 사육기간 : 2008년 6월 4일 - 2008년 12월 2일 (5월 예비사육)

- 사료 : 배합사료(수협)는 수침 및 첨가제 혼합하여 사용(수분 11%)하였으며,  
습사료는 전갱이, 청어 등에 첨가제를 혼합하여 사용함(수분 77%)

##### - 생산량

- 배합사료(EP) : 12.951 톤
- 습사료(MP) : 17.700 톤

##### - 최종평균체중

- 배합사료(EP) : 616g
- 습사료(MP) : 636g

○ 급이체계 개요

- 습사료(MP)

- 수온 20℃, 170 - 250g 까지는 어체중 당 0.56% 내외
- 수온 23-26℃, 250 - 450g 까지는 어체중 당 0.36 - 0.40% 내외  
→ 수온상승으로 전월에 비해 급이량 증가
- 수온 15-19℃, 450 - 650g 까지는 어체중 당 0.28 - 0.33% 내외  
→ 수온 하강으로 점차적으로 급이량 감소

- 배합사료(EP)

- 수온 20℃, 170 - 260g 까지는 어체중 당 0.99% 내외
- 수온 23-26℃, 260 - 400g 까지는 어체중 당 1.07 - 1.17% 내외  
→ 고수온 및 질병발생으로 급이량 조절(제한급이), 폐사량 증가
- 수온 15-19℃, 450 - 620g 까지는 어체중 당 0.92 - 1% 내외  
→ 수온 하강으로 점차적으로 급이량 감소
- 급이횟수는 수온 및 어체 크기에 관계없이 2회 공급하였음

○ 배합사료와 습사료 비교

- 성장면에서 배합사료가 습사료에 비해 뒤쳐지지 않았음
- 생존율에서 배합사료가 습사료에 비해 낮았으며, 고수온 질병발생시기에 특히 주의해서 관리해야 될 것으로 사료됨
- 사료 관리면에서는 배합사료가 습사료에 비해 효율적이었음

표 2-17. 경북지역 A수산의 넙치 습사료(MP) 사육현황

구분	측정일	마리수	총중량 (kg)	사료급여량 (kg)	평균중량 (g)	생존율 (%)	어체중당 급여량(%)	급여횟수
입식	08.06.04	34,000	5,748		169			
1개월 후	08.07.07	33,496	7,835	4,447	234	99	0.56	2
2개월 후	08.08.05	32,818	9,582	5,955	292	98	0.36	2
3개월 후	08.09.03	31,344	11,440	6,117	365	96	0.40	2
4개월 후	08.10.08	29,362	13,330	7,735	454	94	0.33	2
5개월 후	08.11.05	28,220	16,331	8,448	579	96	0.29	2
6개월 후	08.12.02	27,831	17,700	8,464	636	99	0.28	2

※ 사료급여량은 수협 배합사료에 수침하여 수분함량이 20%임.

표 2-18. 경북지역 A수산의 넙치 배합사료(EP) 사육현황

구분	측정일	마리수	총중량 (kg)	사료급여량 (kg)	평균중량 (g)	생존율 (%)	어체중당 급여량(%)	급여횟수
입식	08.06.04	35,000	6,098		172			
1개월 후	08.07.07	34,790	9,014	2,830	259	98	0.99	2
2개월 후	08.08.05	33,427	11,438	2,166	342	96	1.17	2
3개월 후	08.09.03	32,041	12,431	2,585	388	96	1.07	2
4개월 후	08.10.08	27,671	12,285	2,937	444	86	0.88	2
5개월 후	08.11.05	22,740	12,575	2,137	553	82	1.00	2
6개월 후	08.12.02	21,025	12,951	1,967	616	88	0.92	2

※ 사료종류는 MP이며 수분함량은 77%임

## 2) B수산

### ○ 시설 및 인력

- 수면적 :
- 수조 : 10개(6m×7m), 8개(7m×8m), 6개(8m×9m), 8개(10m×15m),  
1개(7m×25m), 1개(12m×34m), 3개(13m×14m)
- 연간생산량 : 약 50톤

### ○ 양식개요(2008)

- 입식
  - 배합사료(EP) : 평균체중 170g 내외 (51,400 미)
  - 습사료(MP) : 평균체중 170g 내외 (49,000 미)
- 사육수조
  - 배합사료(EP) : 입식5개(6m×7m), 3개(8m×9m), 2개(10m×15m),
  - 습사료(MP) : 입식5개(6m×7m),3개(8m×9m),5개(10m×15m),  
1개(12m×34m)
- 사육기간 : 2007년 6월 5일 - 2008년 12월 2일
- 사료 : 배합사료(수협)는 수침 및 첨가제 혼합하여 사용(수분 25%)하였으며,  
습사료는 고등어, 청어, 전갱이 등에 첨가제를 혼합하여 사용함(수분 77%)
- 생산량
  - 배합사료(EP) : 24.182 톤
  - 습사료(MP) : 14.147 톤
- 평균체중
  - 배합사료(EP) : 661g
  - 습사료(MP) : 640g

○ 급이체계 개요

- 배합사료(EP)

- 수온 20℃, 170 - 250g 까지는 어체중 당 1.03% 내외
- 수온 24-26℃, 250 - 350g 까지는 어체중 당 0.67 - 1.09% 내외  
→ 고수온으로 급이량 조절(제한급이)
- 수온 15 - 19℃, 350 - 660g 까지는 어체중 당 0.34- 0.47% 내외  
→ 질병발생으로 폐사율 증대
- 급이횟수는 수온, 어류크기 등에 상관없이 연중 2회 공급함

- 습사료(MP)

- 수온 20 - 26℃, 170 - 270g 까지는 어체중 당 1.74 - 1.76% 내외  
→ 수온 상승 및 질병발생으로 폐사율 증대  
고수온으로 급이량 조절
- 수온 23℃, 270 - 320g 까지는 어체중 당 1.52% 내외
- 수온 17 - 20℃, 320 - 370g 까지는 어체중 당 0.68% 내외  
→ 질병발생으로 폐사율 증대로 전월대비 급이량 감소
- 수온 15 - 17℃, 370 - 640g 까지는 어체중 당 0.92 - 1.38% 내외
- 급이횟수는 수온, 어류크기 등에 상관없이 연중 2회 공급함

○ 배합사료와 습사료 비교

- 성장면에서 배합사료가 습사료에 비해 더 높았음.
- 생존율에서 배합사료가 습사료에 비해 높았으며, 고수온 시기와 질병감염시 주의해서 관리해야 될 것으로 사료됨

표 2-19. 경북지역 B수산의 넙치 배합사료(EP) 사육현황

구분	측정일	마리수	총중량 (kg)	사료급여량 (kg)	평균중량 (g)	생존율 (%)	어체중당 급여량(%)	급여횟수
입식	08.06.05	51,400	8,943		174			
1개월 후	08.07.08	48,432	10,364	6,680	214	94	1.03	2
2개월 후	08.08.04	45,932	12,631	7,356	236	95	1.09	2
3개월 후	08.09.05	43,242	14,702	5,046	340	94	0.67	2
4개월 후	08.10.07	39,053	17,612	4,034	451	88	0.34	2
5개월 후	08.11.06	37,279	23,001	5,441	617	95	0.47	2
6개월 후	08.12.01	36,583	24,182	4,573	661	98	0.36	2

※ 사료급여량은 수협 배합사료에 수침하여 수분함량이 25%임

표 2-20. 경북지역 B수산의 넙치 습사료(MP) 사육현황

구분	측정일	마리수	총중량 (kg)	사료급여량 (kg)	평균중량 (g)	생존율 (%)	어체중당 급여량(%)	급여횟수
입식	08.06.05	49,000	8,661		177			
1개월 후	08.07.08	47,676	10,636	11,142	223	97	1.74	2
2개월 후	08.08.04	43,522	11,804	11,565	271	91	1.76	2
3개월 후	08.09.05	41,602	13,193	10,296	317	96	1.52	2
4개월 후	08.10.07	22,544	8,341	5,115	370	69	0.68	2
5개월 후	08.11.06	22,280	12,231	8,007	549	99	1.38	2
6개월 후	08.12.01	22,106	14,147	6,610	640	99	0.92	2

※ 사료종류는 MP이며 수분함량은 77%임



#### 4. 사육수조 크기별 넙치 치어의 고수온기 일간성장률 조사

##### 가. 서론

어류양식에 소요되는 비용 중 사료비는 다른 요소들에 비해 상대적으로 높은 비율을 차지하며, 사료 공급은 양식현장에서 양어가에 의해 조절되므로 양식 성공을 위한 가장 주요한 요소 중에 하나이다. 양식이 성립되기 위해서는 우선 대상어종에 적합한 질 좋은 배합사료를 개발하는 것이 일차적으로 중요하지만, 배합사료가 있더라도 이를 효율적으로 사용하지 않으면 양식생산성을 높일 수 없다. 즉 어류의 성장단계 및 사육조건에 적합하게 적정량의 사료를 적절한 시간에 급이하여야 최대의 성장과 사료효율을 유도할 수가 있게 된다. 만약 양식 대상종에 적합한 사료급이 체계가 확립되어 있지 않을 경우에는 사료가 부족 또는 과잉으로 급이 되기 쉽다. 사료의 과잉 급이는 사료의 유실과 어체내 사료의 비효율적인 이용으로 사료허실을 초래하여 경제적인 손실과 수질오염원을 증가시킬 수 있다. 반대로 사료를 부족하게 급이하면 어류의 최대 성장에 필요한 영양소 요구를 만족 시키지 못하여 성장 저하를 초래할 수 있다(Tsevis et al., 1992; Azzaydi et al., 2000). 그러므로 어류의 최대 성장과 사료효율을 얻을 수 있는 적정 사료급이량과 급이횟수를 결정하는 것은 양식 생산성의 향상과 수질오염 감소를 위해 매우 중요하다(Ng et al., 2000; Mihelakakis et al., 2002).

넙치 배합사료 급이체계 설정을 위한 적정 사료급이율 및 급이횟수와 같은 급이 조건에 관한 연구들이 활발하게 수행되어지고 있지만(Cho et al., 2006; 2007; Kim et al., 2007), 이러한 연구들은 대부분 실험용 규모의 수조크기에서 수행되었다. 그래서 본 연구는 크기가 다른 사육수조가 넙치 치어의 성장 및 사료섭취율에 미치는 영향을 조사하여 넙치 사육에 적합한 사료급이 체계를 설정하는데 필요한 자료를 제공하고자 수행되었다.

##### 나. 재료 및 방법

###### 실험어 및 사육관리

사육실험을 위하여 평균체중 14 g의 넙치를 350 ℓ, 1400 ℓ 및 3000 ℓ의 각기 다

큰 크기의 원형수조에 72마리, 163마리 및 452 마리씩 수용하여, 각 수조별 수용밀도(넙는율 50%)가 동일하도록 조절하였다. 사육실험은 시판 상품사료(조단백질 49%, 조지질 16%)를 1주일에 6일 동안 매일 2회 (09:00, 17:00) 반복 공급하며 10주간 실시하였다. 어체측정을 위해 실험 개시시와 종료시 측정 전일 실험어를 절식시킨 후, 각 실험수조에 수용된 실험어의 전체체중을 계측하였다. 사육수는 모든 수조의 1일 환수율이 동일하도록 수조크기에 따라 10ℓ (350L), 20ℓ (1400L), 60ℓ (3000L)로 조절하여 주수하였고, 사육기간 동안의 평균수온은 22±2.6℃였다.

#### 성분분석

어체 성분분석을 위하여 실험종료시 각 실험수조에서 10마리를 시료로 취하여 냉동보관(-25℃)하였다. 실험사료 및 어체의 수분은 105℃에서 6시간 건조하여 측정하였으며, 조단백질(N×6.25)은 Auto Kjeldahl System (Gerhardt VAP500T/ TT125, Germany)을 사용하여 분석하였다. 조지방은 조지방추출기(Velp SER148, Italy)를 사용하여 ether로 추출한 후 측정하였으며, 조회분은 550℃에서 4시간 동안 회화 후 측정하였다.

#### 다. 결과 및 고찰

각기 다른 크기의 수조에서 넙치 치어를 사육한 결과, 최종체중은 각 실험구에서 53-60 g였으며, 일일사료섭취율은 1.14-1.33%의 범위였다(그림 2-1). 모든 실험구의 사료효율은 123-134%로 큰 차이를 보이지 않았다. 사육실험 종료 후, 전어체의 일반성분 분석결과, 수분(73.7-74.1%), 조단백질(17.4-17.9%), 조지방(1.6-2.3%) 및 조회분(3.8-4.2%) 함량은 사육수조크기에 따라서 큰 차이를 보이지 않았다(표 2-21). 이상의 결과로 볼 때, 넙치 치어의 성장 및 사료섭취율은 수조크기(350-3000L)에 큰 영향을 받지 않는 것으로 판단된다.

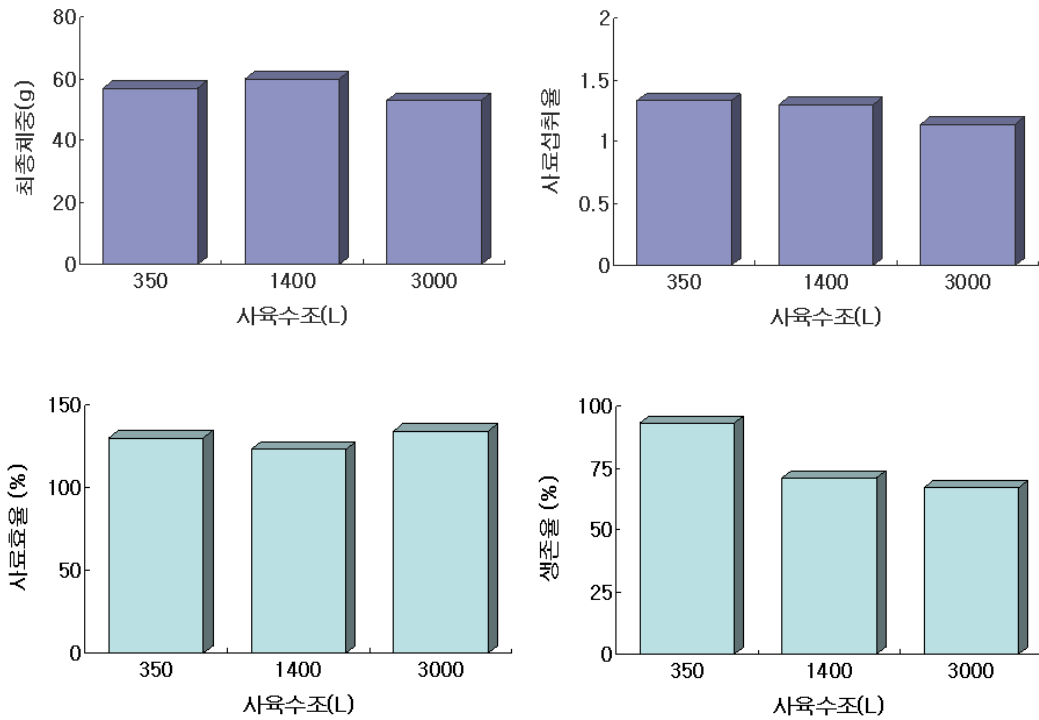


그림 2-1. 사육수조의 크기에 따른 넙치 치어의 성장결과

표 2-21. 크기가 다른 수조에서 사육된 넙치 치어 전어체의 일반성분

수조크기	수분(%)	조단백질(%)	조지방(%)	조회분(%)
300 ℓ	73.7	17.4	2.0	3.8
1400 ℓ	74.1	17.5	1.6	4.1
3000 ℓ	73.9	17.9	2.3	4.2

## 제 3 절 어체 품질 향상을 위한 연구

### 3.1. 어체 비만도 향상 연구

#### 1. 배합사료의 지질원 및 함량이 넙치 치어의 성장, 혈액성상 및 근육 지방산 조성에 미치는 영향

##### 가. 서론

배합사료 개발은 그 어종에 적합한 영양소 이용효율 및 영양소 종류별 최소 요구량을 규명하는 것이 가장 먼저 선행되어야 한다. 이러한 기초적인 정보를 바탕으로 영양소의 균형을 고려하면서 그 어종이 최대로 이용할 수 있는 값싼 원료의 선택과 이용성을 규명한 후, 여러 가지 원료를 적절히 혼합하여 최소한의 사료단가를 도출하여 반복 실험하는 것이다.

사료내 단백질은 어류의 성장과 사료비용에 영향을 미치는 가장 중요한 요소이며 일반적으로 사료내 단백질 함량의 증가는 어류 생산을 향상시킨다. 어류의 성장을 위한 단백질의 이용은 지질 또는 탄수화물로 사료내 단백질을 부분적으로 대체함으로써 향상될 수 있다. 적당하지 않은 사료내 단백질과 에너지 함량은 성장저하, 생산단가의 증가 및 사료손실을 초래한다. 사료의 단백질과 함께 탄수화물과 지질의 함량도 매우 중요하다. 사료내 과잉의 에너지는 사료 섭취의 감소로 성장을 위한 필수영양소 섭취가 부족하기 때문에 성장을 감소시킬 수 있다. 이와 반대로, 사료내 비단백질 에너지가 불충분하면 단백질이 에너지로 사용되는 비율이 크게 증가하기 때문에 단백질 낭비를 초래하며 단백질이 에너지로 전환될 때 발생하는 암모니아는 수질을 악화시킨다. 따라서 체내 단백질합성을 위해 사료내 단백질 이용성을 향상시키는 것은 중요하며 단백질 절약효과를 위한 사료의 지질이나 탄수화물과 같은 에너지 함량의 증가에 대한 연구는 여러 어종에서 보고되었다.

사료의 지질 함량이나 지질원은 어류의 성장 및 체조성에 영향을 미치는 것으로 알려져 있는데, 동일한 사료 단백질 수준에서 지질함량을 조절함으로써 무지개송어 (Takeuchi, 1982), 은연어 (Clarke et al., 1982) 등 여러 어종에서 성장 및 사료효율이 개선되었다고 보고되었으며, 잉어 (Murai et al., 1985)와 European sea bass (Peres and Oliva, 1999)와 같은 어종에서는 지질 첨가에 따른 성장 개선이 없거나 아주 적다고 보고되었다. 그러므로 사료내 적절한 지질 함량은 양식어의 성장 및 어체의 품질 개선을 위해 중요하다.

탄수화물은 사료의 성형을 도와주는 역할을 할 뿐 아니라 체내의 중요한 에너지원으로 작용하기 때문에 사료 단백질을 절약할 수 있는 영양소이며, 탄수화물의 원가가 다른 영양소원에 비해 싸기 때문에 대상종에 그 이용성이 연구되면 사료단가를 절감할 수 있는 영양소이다.

본 연구에서는 사료의 지질원 및 영양소 함량을 달리하여 넙치 치어의 성장 및 체조성에 미치는 영향에 관하여 조사하였다.

## 나. 재료 및 방법

### 실험사료

실험사료의 원료조성 및 성분분석 결과를 Table 3-1에 나타내었다. 주요 단백질원과 탄수화물원으로 어분과 소맥분을 각각 사용하였으며, 다양한 지질원과 영양소 함량에 따른 넙치의 이용성을 조사하기 위하여 지질원으로 동물성 오일인 오징어 간유 (FO), 식물성 오일인 아마인유(LO) 및 대두유(SO) 그리고 세 종류 지질원의 혼합유(MIX)를 첨가한 사료, 지질함량을 낮추고 단백질(LL-HP)과 탄수화물(LL-HC) 함량을 높인 사료 그리고 동물성 오일(HL-FO)과 식물성 오일(HL-VO)로 각각 지질함량을 높인 사료로 총 8종류의 실험사료를 설계하였다. 이와 같이 설계된 원료들을 혼합기로 잘 혼합한 후, 원료 100 g 당 물 40 g을 첨가하여 펠렛 제조기로 성형하였으며, 성형된 사료는 실온에서 24시간 건조한 후  $-30^{\circ}\text{C}$ 에서 보관하면서 필요시 공급하였다. 실험사료의 지방산 분석결과를 Table 3-2에 나타내었다.

### 실험어 및 사육관리

전북 고창의 개인 양식장에서 종묘생산된 넙치 치어를 구입하여 강릉대학교 해양생물연구교육센터로 수송한 후 상품사료로 2주간 예비 사육하였다. 평균체중 8.8 g 전후의 실험어를 무작위로 선별하여 총 24개의 수조(50L 사각수조)에 40마리씩 3반복으로 수용하여 15주간 사육실험 하였다. 실험사료는 1일 2회(09:00와 17:00, 주 6일 공급) 실험어가 먹을 때 까지 만복으로 공급하였다. 각 수조마다 약하게 폭기시켜 산소를 공급하였고, 여과된 자연해수를 각 실험수조마다 분당 2L로 조절하여 흘러주었으며, 사육기간 동안의 수온은  $20.9 \pm 1.2^{\circ}\text{C}$  (평균 $\pm$ 표준편차)였다. 그리고 사료공급 1시간 후, 사육수를 환수시켜 배설물 및 사료찌꺼기를 제거해 주었으며, 각 수조에서 죽은 개체는 매일 제거해 주었다.

## 시료채취 및 성분분석

사육실험 시작시와 종료시에는 측정 전일 절식시킨 후 MS222 100ppm 수용액에 마취시켜 수조에 수용된 모든 실험어의 전체무게를 측정하였다. 실험사료 및 근육의 일반성분은 AOAC (1995)의 방법에 따라 조단백질(N× 6.25)은 Auto Kjeldahl system을 사용하여 분석하였고, 조지방은 ether 추출법을 사용하였으며, 수분은 105℃ dry oven에서 6시간 동안 건조 후 측정하였고 조회분은 600℃ 회화로에서 4시간 동안 태운 후 측정하였다. 지방산 분석은 Folch et al. (1957)의 방법에 따라 클로로포름과 메탄올 혼합액(2:1)으로 총 지질을 추출하여 14% BF<sub>3</sub>-methanol (Sigma, USA) 용액으로 지방산을 methylation 시킨 후, capillary column (SP<sup>TM</sup>-2560, 100 m× 0.25 mm i. d., film thickness 0.20 um, USA)이 장착된 gas chromatography (HP-6890 PLUS, Hewlett-Packard, USA)로 지방산을 분석하였다. Carrier gas는 헬륨을 사용하였으며, Oven 온도는 최초 140℃에서 240℃까지 4℃/min 증가시켰다. 이때, injector 온도는 250℃, detector (FID) 온도는 260℃로 각각 설정하였으며, 표준 지방산으로 37개 지방산 혼합물(PUFA 37 Component FAME Mix, USA)을 사용하였다. 혈장성분의 변화를 조사하기 위해 각 실험구당 5마리씩 무작위로 추출하여 헤파린 주사액이 처리된 1 ml 주사기를 사용하여 실험어의 미부 혈관에서 채혈하였으며, 원심분리기 (3,500 rpm for 10 min)를 사용하여 얻은 혈장을 분석을 위해 동결보존(-70℃)하였다. 혈장의 total protein은 biuret법으로 glucose는 효소법으로, GOT와 GPT는 kinetic UV법으로, cholesterol은 COD-POD 법으로 triglyceride는 유리 Glycerol 소거법을 사용하여 각각 분석하였다.

Table 3-1. Composition and proximate analysis of the experiment diets

Ingredient	Diets							
	FO	LO	SO	MIX	LL-HP	HL-FO	HL-VO	LL-HC
Fish meal	50.0	50.0	50.0	50.0	63.0	50.0	50.0	52.0
Wheat flour	22.7	22.7	22.7	22.7	14.7	17.7	17.7	13.7
Dehulled soya	7.0	7.0	7.0	7.0	7.0	7.0	7.0	7.0
Alpha-starch								11.0
Wheat gluten	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0
Beer yeast	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0
Squid liver oil	5.0			1.0		10.0	1.0	1.0
Linseed oil		5.0		2.0			4.5	
soybean oil			5.0	2.0			4.5	
Vitamin premix	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5
Mineral premix	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5
Chorine	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
Vitamin E	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04
Vitamin C	0.15	0.15	0.15	0.15	0.15	0.15	0.15	0.15
<i>Nutrient contents (% of dry matter basis)</i>								
Dry matter	84.9	83.7	85.0	84.0	83.8	86.3	86.0	84.4
Crude protein	50.1	50.2	50.6	49.2	58.1	48.6	49.2	49.3
Crude lipid	10.2	10.3	9.7	10.0	5.5	15.2	15.4	5.5
Ash	9.2	9.2	9.3	9.4	11.1	9.1	9.2	9.3

<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>4</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,

Table 3-2. Fatty acids composition (% of total fatty acids) of the diets

Fatty acids	Diets							
	FO	LO	SO	MIX	LL-HP	HL-FO	HL-VO	LL-HC
C14:0	3.1	2.5	2.6	2.6	3.7	2.9	2.2	3.7
C14:1	0.2	0.2	0.2	0.2	0.3	0.3	0.2	0.3
C16:0	21.0	18.1	19.9	19.8	22.4	20.8	18.8	21.5
C16:1	4.7	3.7	3.9	3.9	5.2	4.5	3.6	5.2
C17:0	0.4	0.5	0.5	0.5	0.7	0.6	0.5	0.7
C18:0	3.7	3.7	3.8	4.0	4.2	3.9	2.2	4.0
C18:1n-9	13.2	14.2	14.4	14.5	12.5	13.9	14.8	12.8
C18:2n-6	12.1	14.6	21.9	17.0	9.9	9.7	17.9	10.2
C18:3n-3	1.1	13.6	2.4	6.5	1.0	1.0	9.0	1.0
C18:4n-3	1.3	1.0	1.0	1.0	1.5	1.1	0.9	1.5
C20:1n-9	2.3	0.8	0.9	1.2	1.2	3.4	1.0	1.7
C20:3n-3	0.8	0.5	0.5	0.5	0.7	0.9	0.5	0.7
C20:4n-3	0.4	0.4	0.4	0.4	0.5	0.5	0.4	0.6
C20:5n-3	14.9	11.6	12.0	11.9	16.3	14.1	11.7	15.8
C22:2n-6	0.7	0.6	0.6	0.7	0.9	0.7	0.6	0.8
C22:3n-3	0.3	0.2	0.2	0.2	0.3	0.4	0.3	0.3
C22:5n-3	3.0	2.5	2.7	2.6	3.4	3.0	2.7	3.4
C22:6n-3	16.7	11.3	12.0	12.5	15.5	18.3	12.9	15.8
n-3HUFA <sup>1</sup>	36.1	26.5	27.8	28.2	36.7	37.3	28.5	36.7

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

#### 통계처리

결과의 통계 처리는 SPSS Version 14 (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

평균 체중 8.8 g의 넙치를 15주간 사육 실험한 후, 성장, 비만도, 간 및 장 중량지수 그리고 사료 이용효율을 Table 3-3과 3-4에 각각 나타내었다. 생존율, 증중율은 모든 실험구간에 유의한 차이가 없었다(P>0.05). 증중율은 대두유를 지질원으로 사용한 SO 공급구에서 가장 높았고 HL-VO 공급구에서 가장 낮은 값을 보였다



( $P < 0.05$ ), 그러나 SO 공급구는 HL-VO 공급구를 제외한 모든 실험구와 유의한 차이가 없었다( $P > 0.05$ ). 일일단백질섭취율은 LL-HP 공급구에서 가장 높았고, HL-VO와 LL-HC 공급구에서 낮은 값을 보였다( $P < 0.05$ ). 일간성장율, 사료효율, 일일사료섭취율 및 단백질 효율은 실험구간에 유의한 차이가 없었다( $P > 0.05$ ). 어체의 간 중량지수는 LO 공급구가 가장 높은 값을 보였고, LL-HP 공급구에서 가장 낮은 값을 보였으나( $P < 0.05$ ), 비만도와 장 중량지수는 모든 실험구간에 유의한 차이가 없었다( $P > 0.05$ ).

Table 3-3. Growth performance of juvenile flounder fed the experimental diets for 15 weeks<sup>1</sup>

Diets	IMW	SUR (%)	WG <sup>2</sup> (%)	SGR (%) <sup>3</sup>	CF <sup>4</sup>	HSI <sup>5</sup>	VSI <sup>6</sup>
FO	8.5±0.1 <sup>ns</sup>	85±0.0 <sup>ns</sup>	1002±42.5 <sup>ab</sup>	2.27±0.07 <sup>ns</sup>	1.02±0.04 <sup>ns</sup>	1.62±0.05 <sup>abc</sup>	2.01±0.13 <sup>ns</sup>
LO	8.9±0.1	83±6.2	924±19.7 <sup>ab</sup>	2.23±0.03	1.00±0.02	1.94±0.04 <sup>c</sup>	2.17±0.19
SO	8.6±0.3	88±1.7	1034±125.3 <sup>b</sup>	2.30±0.10	0.98±0.03	1.77±0.01 <sup>bc</sup>	2.00±0.32
MIX	8.7±0.1	86±1.7	968±72.8 <sup>ab</sup>	2.23±0.07	1.04±0.06	1.82±0.17 <sup>bc</sup>	1.95±0.11
LL-HP	8.7±0.1	89±2.3	991±29.3 <sup>ab</sup>	2.27±0.03	1.03±0.05	1.27±0.03 <sup>a</sup>	2.06±0.29
HL-FO	8.9±0.1	95±3.7	924±48.2 <sup>ab</sup>	2.20±0.06	1.01±0.08	1.84±0.13 <sup>bc</sup>	2.38±0.21
HL-VO	8.9±0.1	84±3.0	821±46.4 <sup>a</sup>	2.10±0.06	1.00±0.04	1.70±0.34 <sup>abc</sup>	2.02±0.14
LL-HC	8.9±0.2	90±1.5	907±26.2 <sup>ab</sup>	2.20±0.00	1.02±0.03	1.43±0.05 <sup>ab</sup>	2.18±0.23

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

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

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

<sup>4</sup> Condition factor = [fish wt. (g) / fish length (cm)<sup>3</sup>] × 100.

<sup>5</sup> Hepatosomatic index = (liver weight / body weight) × 100.

<sup>6</sup> Visceralsomatic index = (viscera weight / body weight) × 100.

Table 3-4. Feed utilization of juvenile flounder fed the experimental diets for 15 weeks<sup>1</sup>

Diets	FE <sup>7</sup> (%)	DFI <sup>8</sup> (%)	DPI <sup>9</sup> (%)	PER <sup>10</sup> (%)
FO	99±5.2 <sup>ns</sup>	1.4±0.07 <sup>ns</sup>	0.71±0.03 <sup>ab</sup>	2.00±0.10 <sup>ns</sup>
LO	104±0.4	1.3±0.04	0.67±0.02 <sup>ab</sup>	2.10±0.00
SO	121±21.3	1.2±0.16	0.63±0.08 <sup>ab</sup>	2.37±0.41
MIX	104±9.7	1.4±0.09	0.66±0.04 <sup>ab</sup>	2.10±0.21
LL-HP	110±5.9	1.3±0.06	0.77±0.03 <sup>b</sup>	1.90±0.10
HL-FO	121±5.8	1.2±0.06	0.58±0.03 <sup>a</sup>	2.47±0.13
HL-VO	113±8.5	1.2±0.08	0.59±0.04 <sup>a</sup>	2.27±0.17
LL-HC	104±4.8	1.4±0.05	0.69±0.02 <sup>ab</sup>	2.10±0.10

<sup>7</sup> Feed efficiency ratio = fish wet weight gain × 100 / feed intake.

<sup>8</sup> Daily feed intake = feed intake × 100 / [(initial fish wt + final fish wt + dead fish wt) × days reared/2].

<sup>9</sup> Daily protein intake = protein intake × 100 / [(initial fish wt + final fish wt + dead fish wt) × days reared/2].

<sup>10</sup> Protein efficiency ratio = (wet weight gain / protein intake) × 100.

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

어체의 미부동맥에서 추출한 혈액의 정상변화를 Table 3-5에 나타내었다. Total protein, glucose, GOT 및 GPT 함량은 실험구간에 유의한 차이가 없었다(P>0.05). Cholesterol과 Triglyceride 함량은 HL-FO 공급구에서 가장 높은 값을 나타내었다 (P<0.05).

Table 3-5. Hematological change of the plasma in flounder fed the experimental diets for 15 weeks<sup>1</sup>

Diets	Total protein (g/dl)	Glucose (mg/dl)	GOT (IU/L)	GPT (IU/L)	Cholesterol (mg/dl)	Triglyceride (mg/dl)
FO	3.5±0.21 <sup>ns</sup>	25.3±0.25 <sup>ns</sup>	11.8±1.65 <sup>ns</sup>	1.0±0.00 <sup>ns</sup>	253±15.1 <sup>bc</sup>	102±17.4 <sup>ab</sup>
LO	3.5±0.08	25.8±1.38	11.5±0.87	1.3±0.25	228±11.5 <sup>b</sup>	59±4.8 <sup>a</sup>
SO	3.4±0.10	23.0±0.71	13.0±1.29	1.0±0.00	221±5.5 <sup>b</sup>	189±37.1 <sup>c</sup>
MIX	3.6±0.03	27.3±1.18	10.3±0.75	1.0±0.00	243±11.6 <sup>bc</sup>	146±27.4 <sup>bc</sup>
LL-HP	3.3±0.03	26.3±2.78	13.0±0.41	1.3±0.25	185±4.7 <sup>a</sup>	98±16.7 <sup>ab</sup>
HL-FO	3.8±0.08	25.5±1.56	14.0±1.58	1.0±0.00	390±16.6 <sup>d</sup>	193±39.4 <sup>c</sup>
HL-VO	3.6±0.09	22.3±0.63	11.8±0.48	1.0±0.00	263±11.8 <sup>c</sup>	96±21.6 <sup>ab</sup>
LL-HC	3.5±0.03	27.5±0.96	12.5±0.96	1.3±0.25	228±1.6 <sup>b</sup>	94±14.3 <sup>ab</sup>

<sup>1</sup> Values (mean ± S.E. of four replications) in the same column not sharing a common superscript letter 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 넙치의 근육 지방산 조성은 사료지질의 지방산 조성에 영향을 받았다. Table 3-6에 나타난 것처럼, 실험사료에 관계없이 16:0, 18:1n-9, 18:2n-6 및 22:6n-3의 함량이 각각 높게 나타났으며, 20:5n-3와 22:6n-3과 같은 n3-HUFA 함량은 지질원으로 오징어 간유를 첨가한 FO와 HL-FO 공급구가 다른 실험구에 비해 유의하게 높게 나타났고, 18:2n-6 함량은 대두유를 첨가한 SO 공급구에서, 18:3n-3 함량은 아미인유를 첨가한 LO 공급구에서 각각 가장 높은 값을 보였다 (P<0.05).

높은 지질함량에서 근육은 주로 횡감으로 이용되므로, 이 부분의 영양성분은 매우 중요하다. 이러한 영양 성분 중 지방산 조성비의 차이는 중요한 의미를 가지는데, 이 중 EPA와 DHA같은 n-3HUFA는 건강식품으로 이용되고 있다. n-3HUFA는 생체막의 유동성 및 효소 활성화에 영향을 미칠 뿐 아니라, prostaglandin의 전구 물질(Stubbs and Smith, 1984 ; Maroussem et al., 1985 ; Thomson et al., 1986 ; Swanson et al., 1989 ; Broughton et al., 1991)등으로도 그 역할이 매우 중요시 되고 있으며, n-3HUFA 부족에 의한 여러 가지 질병 유발 가능성이 제시(Herold and Kinsella, 1986 ; Kinsella, 1987)된 바 있다. 근육의 지질함량(Table 3-6)은 LO와 HL-FO 공급구에서 높게 나타났으며 HL-VO 공급구와 유의한 차이는 없었다.

Table 3-6. Fatty acids (% of total fatty acids) and crude lipid composition of dorsal muscle in juvenile flounder fed experimental diet for 15 weeks

Fatty acids	Diets							
	FO	LO	SO	MIX	LL-HP	HL-FO	HL-VO	LL-HC
C14:0	2.2±0.34 <sup>c</sup>	1.4±0.15 <sup>ab</sup>	1.3±0.06 <sup>ab</sup>	1.4±0.07 <sup>ab</sup>	2.1±0.13 <sup>c</sup>	1.6±0.02 <sup>b</sup>	1.1±0.20 <sup>a</sup>	2.3±0.08 <sup>c</sup>
C16:0	17.1±9.12	19.8±1.16	20.1±1.18	21.7±0.42	25.8±0.50	25.4±0.36	20.5±2.20	24.9±1.55
C16:1	0.4±0.05	0.3±0.02	0.3±0.01	0.2±0.01	0.4±0.02	0.3±0.00	0.25±0.03	0.4±0.01
C18:0	6.9±0.78	6.5±0.35	6.2±0.19	6.4±0.25	7.1±0.27	5.7±0.10	6.6±0.67	6.8±0.33
C18:1n-9	13.8±1.6	15.4±1.1	15.1±0.3	13.9±0.4	13.7±0.9	9.7±0.2	14.2±6.0	13.7±0.7
C18:2n-6	9.2±0.02 <sup>ab</sup>	15.3±3.41 <sup>c</sup>	29.1±2.93 <sup>f</sup>	20.1±0.93 <sup>d</sup>	12.6±0.78 <sup>bc</sup>	6.4±0.30 <sup>ab</sup>	24.8±8.05 <sup>e</sup>	11.6±4.41 <sup>bc</sup>
C18:3n-3	1.4±0.67 <sup>a</sup>	14.9±1.31 <sup>c</sup>	4.5±1.26 <sup>ab</sup>	6.8±0.36 <sup>b</sup>	0.9±0.35 <sup>a</sup>	1.9±0.07 <sup>a</sup>	6.1±2.53 <sup>b</sup>	1.1±0.48 <sup>a</sup>
C18:3n-6	0.3±0.18	0.3±0.04	0.2±0.03	0.2±0.09	0.1±0.01	0.4±0.19	0.3±0.09	0.1±0.01
C20:4n-6	0.2±0.08 <sup>a</sup>	1.2±0.11 <sup>c</sup>	0.5±0.11 <sup>ab</sup>	0.6±0.02 <sup>b</sup>	0.2±0.06 <sup>a</sup>	0.2±0.01 <sup>a</sup>	0.3±0.30 <sup>ab</sup>	0.2±0.00 <sup>a</sup>
C20:5n-3	9.1±0.89 <sup>d</sup>	5.0±0.12 <sup>ab</sup>	4.4±0.24 <sup>ab</sup>	5.4±0.06 <sup>b</sup>	8.5±0.21 <sup>d</sup>	7.1±0.24 <sup>c</sup>	4.0±0.28 <sup>a</sup>	8.5±0.44 <sup>d</sup>
C22:6n-3	39.7±3.93 <sup>c</sup>	19.9±1.78 <sup>a</sup>	18.3±0.71 <sup>a</sup>	23.1±0.27 <sup>a</sup>	28.6±0.68 <sup>b</sup>	41.4±0.03 <sup>c</sup>	22.0±1.47 <sup>a</sup>	30.3±0.82 <sup>b</sup>
n-3HUFA <sup>1</sup>	47.7±5.76 <sup>c</sup>	24.9±2.25 <sup>a</sup>	22.7±1.84 <sup>a</sup>	28.4±0.35 <sup>a</sup>	37.1±0.92 <sup>b</sup>	48.5±0.27 <sup>c</sup>	26.0±2.48 <sup>a</sup>	38.8±2.38 <sup>b</sup>
Crude lipid	3.2±0.64 <sup>a</sup>	4.5±0.24 <sup>b</sup>	2.8±0.30 <sup>a</sup>	3.0±0.39 <sup>a</sup>	2.9±0.19 <sup>a</sup>	4.5±0.06 <sup>b</sup>	3.9±0.47 <sup>ab</sup>	3.2±0.39 <sup>a</sup>

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

이상의 결과로부터 근육의 지방산 조성은 지질원에 따라 달라 질 수 있으며, 대두유와 아미인유는 넙치의 성장을 위해 좋은 지질원이 될 수 있을 것으로 판단된다.

## 2. 배합사료의 지질원 및 함량이 넙치 육성어의 성장, 혈액성상 및 근육 지방산 조성에 미치는 영향

### 가. 재료 및 방법

#### 실험사료

실험사료의 원료조성 및 성분분석 결과를 Table 3-1에 나타내었다. 주요 단백질원과 탄수화물원으로 어분과 소맥분을 각각 사용하였으며, 다양한 지질원과 영양소 함량에 따른 넙치의 이용성을 조사하기 위하여 지질원으로 동물성 오일인 오징어 간유 (FO), 식물성 오일인 아미인유(LO) 및 대두유(SO) 그리고 세 종류 지질원의 혼합유(MIX)를 첨가한 사료, 지질함량을 낮추고 단백질(LL-HP)과 탄수화물(LL-HC) 함량을 높인 사료 그리고 동물성 오일(HL-FO)과 식물성 오일(HL-VO)로 각각 지질함량을 높인 사료로 총 8종류의 실험사료를 설계하였다. 이와 같이 설계된 원료들을 혼합기로 잘 혼합한 후, 원료 100 g 당 물 40 g을 첨가하여 펠렛 제조기로 성형하였으며, 성형된 사료는 실온에서 24시간 건조한 후  $-30^{\circ}\text{C}$ 에서 보관하면서 필요시 공급하였다. 실험사료의 지방산 분석결과를 Table 3-2에 나타내었다.

#### 실험어 및 사육관리

경북 포항의 개인 양식장에서 종묘생산된 넙치 치어를 구입하여 강릉대학교 해양생물연구교육센터로 수송한 후 상품사료로 2주간 예비 사육하였다. 평균체중 121 g 전후의 실험어를 무작위로 선별하여 총 24개의 300L FRP 수조에 각각 20마리씩 3반복으로 수용하여 15주간 사육실험 하였다. 실험사료는 1일 1회(09:00, 주 6일 공급) 실험어가 먹을 때 까지 반복으로 공급하였다. 각 수조마다 약하게 폭기시켜 산소를 공급하였고, 여과된 자연해수를 각 실험수조마다 분당 5L로 조절하여 흘려주었으며, 사육기간 동안의 수온은  $20.9\pm 1.2^{\circ}\text{C}$ (평균 $\pm$ 표준편차)였다. 그리고 사료공급 1시간 후, 사육수를 환수시켜 배설물 및 사료찌꺼기를 제거해 주었으며, 각 수조에서 죽은 개체는 매일 제거해 주었다.

#### 시료채취 및 성분분석

사육실험 시작시와 종료시에는 측정 전일 절식시킨 후 MS222 100ppm 수용액에 마취시켜 수조에 수용된 모든 실험어의 전체무게를 측정하였다. 실험사료 및 근육의 일반성분은 AOAC (1995)의 방법에 따라 조단백질(N $\times$  6.25)은 Auto Kjeldahl system을 사용하여 분석하였고, 조지방은 ether 추출법을 사용하였으며, 수분은 10

5°C dry oven에서 6시간 동안 건조 후 측정하였고 조회분은 600°C 회화로에서 4시간 동안 태운 후 측정하였다. 지방산 분석은 Folch et al. (1957)의 방법에 따라 클로로포름과 메탄올 혼합액(2:1)으로 총 지질을 추출하여 14% BF<sub>3</sub>-methanol (Sigma, USA) 용액으로 지방산을 methylation 시킨 후, capillary column (SP<sup>TM</sup>-2560, 100 m× 0.25 mm i. d., film thickness 0.20 um, 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. 혈장성분의 변화를 조사하기 위해 각 실험구당 3마리씩 무작위로 추출하여 헤파린 주사액이 처리된 3 ml 주사기를 사용하여 실험어의 미부 혈관에서 채혈하였으며, 원심분리기 (3,500 rpm for 10 min)를 사용하여 얻은 혈장을 분석을 위해 동결보존(-70°C)하였다. 혈장의 total protein은 biuret법으로 glucose는 효소법으로, GOT는 kinetic UV법으로, cholesterol은 COD-POD법으로 triglyceride는 유리 Glycerol 소거법을 사용하여 각각 분석하였다.

#### 육질의 품질평가

실험 종료시 분석용으로 표본추출하고 남은 어체를 청송횃집(강원 강릉)으로 운반하여 회로 손질한 후, 실험과 무관한 33명을 대상으로 관능평가를 실시하였다. 관능평가는 회(근육)의 색, 냄새, 맛 및 탄력성의 4가지 항목을 설정하였으며, 평가시 점수는 5점 만점으로 3점에 기준을 두어 상대평가 하였다. 그리고 근육의 물리적 평가를 위해, 각 수조에서 3마리씩 무작위로 넙치를 샘플링하여, Rheo meter를 이용하여 등근육의 최대 응력(MAX weight), 경도(Hardness) 그리고 강도(Gel strength)를 측정하였다.

#### 통계처리

결과의 통계 처리는 SPSS Version 14 (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

## 나. 결과

평균 체중 122 g 전후의 넙치를 15주간 사육 실험한 결과를 Table 3-7과 3-8에 각각 나타내었다. 생존율, 증중율, 일간성장율, 간 및 장 중량지수 그리고 일일사료 섭취율은 모든 실험구간에 유의한 차이가 없었다( $P>0.05$ ). 사료효율은 지질함량이 높은 HL-FO와 HL-VO 공급구에서 높게 나타났으며, LL-HP 공급구에서 가장 낮은 값을 보였다( $P<0.05$ ). 일일단백질섭취율은 MIX 공급구에서 가장 높았고, LL-HP 공급구에서 가장 낮았다( $P<0.05$ ). HL-VO 공급구의 단백질효율은 지질함량이 높은 HL-FO와 HL-VO 공급구에서 높게 나타났으며, MIX와 LL-HP 공급구에서 가장 낮은 값을 보였다( $P<0.05$ ). 어체의 비만도는 HL-FO 공급구가 가장 높았던 값을 보였다. 넙치의 폭에 대한 두께의 비는 LO 공급구가 가장 높았고, MIX 공급구가 가장 낮았다( $P<0.05$ ).

Table 3-7. Growth performance of growing flounder fed the experimental diets for 15 weeks

Diets	Initial mean weight (g/fish)	Survival (%)	Weight gain (%)	Specific growth rate (%)	Hepatosomatic index	Visceralsomatic index
FO	121±1.1 <sup>ns</sup>	73±4.4 <sup>ns</sup>	208±7.0 <sup>ns</sup>	1.07±0.02 <sup>ns</sup>	1.60±0.12 <sup>ns</sup>	1.96±0.059 <sup>ns</sup>
LO	120±2.8	75±14.4	222±48.1	1.09±0.14	1.56±0.08	1.92±0.212
SO	121±1.6	87±6.7	209±12.7	1.07±0.04	1.72±0.13	1.97±0.063
MIX	122±2.5	72±9.3	207±6.6	1.07±0.02	1.97±0.07	2.18±0.143
LL-HP	123±3.4	72±6.7	207±17.2	1.07±0.05	1.31±0.09	1.91±0.057
HL-FO	122±2.6	83±7.3	211±14.4	1.08±0.04	1.67±0.26	1.84±0.021
HL-VO	121±2.8	80±10.0	211±12.5	1.08±0.04	2.06±0.29	2.15±0.082
LL-HC	122±4.5	78±9.3	212±7.1	1.08±0.02	1.33±0.14	1.94±0.130

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

Table 3-8. Feed utilization of growing flounder fed the experimental diets for 15 weeks<sup>1</sup>

Diets	Feed efficiency (%)	Daily feed intake (%)	Daily protein intake (%)	Protein efficiency ratio	Condition factor	Thickness (cm) /Width(cm)
FO	108±9.1 <sup>ab</sup>	0.67±0.03 <sup>ns</sup>	0.33±0.012 <sup>ab</sup>	2.67±0.18 <sup>ab</sup>	1.11±0.04 <sup>a</sup>	0.22±0.01 <sup>ab</sup>
LO	107±5.8 <sup>ab</sup>	0.67±0.04	0.33±0.021 <sup>ab</sup>	2.67±0.12 <sup>ab</sup>	1.15±0.02 <sup>ab</sup>	0.25±0.01 <sup>c</sup>
SO	117±1.1 <sup>ab</sup>	0.71±0.02	0.36±0.009 <sup>b</sup>	2.79±0.02 <sup>ab</sup>	1.12±0.03 <sup>a</sup>	0.22±0.01 <sup>ab</sup>
MIX	103±5.8 <sup>a</sup>	0.69±0.03	0.41±0.019 <sup>c</sup>	2.49±0.12 <sup>a</sup>	1.21±0.04 <sup>ab</sup>	0.21±0.01 <sup>a</sup>
LL-HP	118±0.8 <sup>ab</sup>	0.60±0.02	0.29±0.010 <sup>a</sup>	2.45±0.01 <sup>a</sup>	1.17±0.05 <sup>ab</sup>	0.24±0.01 <sup>bc</sup>
HL-FO	119±2.1 <sup>b</sup>	0.67±0.03	0.32±0.012 <sup>ab</sup>	2.92±0.04 <sup>b</sup>	1.47±0.27 <sup>b</sup>	0.22±0.01 <sup>ab</sup>
HL-VO	121±2.0 <sup>b</sup>	0.63±0.04	0.31±0.019 <sup>ab</sup>	2.98±0.04 <sup>b</sup>	1.24±0.02 <sup>ab</sup>	0.23±0.01 <sup>abc</sup>
LL-HC	106±3.8 <sup>ab</sup>	0.72±0.03	0.35±0.013 <sup>b</sup>	2.71±0.08 <sup>ab</sup>	1.17±0.03 <sup>ab</sup>	0.22±0.01 <sup>ab</sup>

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

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

사육실험 15주 후, 어체의 미부동맥에서 추출한 혈액의 정상변화를 Table 3-9에 나타내었다. Total protein 함량은 SO 공급구에서 가장 높았고, LO 공급구에서 가장 낮았으며, SO 공급구는 LL-HP, LL-HP 및 HL-FO 공급구와 유의한 차이는 없었다. MIX 실험구가 높았으나, 타 실험구간에 유의한 차이는 없었다(P>0.05). GOT 함량은 LL-HC 공급구가 가장 높았고, HL-VO 공급구가 가장 낮았다(P<0.05). 총 콜레스테롤 함량은 HL-FO 공급구가 가장 높았고, Triglyceride 함량은 FO와 HL-VO 공급구에서 높은 값을 나타내었다. Glucose 함량은 실험구간에 유의한 차이가 없었다(P<0.05).



Table 3-9. Hematological change of the plasma in flounder fed the experimental diets for 15 weeks<sup>1</sup>

Diets	Total protein (g/dl)	Glucose (mg/dl)	GOT (IU/L)	Cholesterol (mg/dl)	Triglyceride (mg/dl)
FO	4.4±0.10 <sup>b</sup>	29.3±1.93 <sup>ns</sup>	5.0±0.4 <sup>ab</sup>	312±11.7 <sup>c</sup>	81±7.7 <sup>c</sup>
LO	4.0±0.1 <sup>a</sup>	25.3±1.60	5.3±0.3 <sup>abc</sup>	207±3.7 <sup>a</sup>	78±25.2 <sup>bc</sup>
SO	4.8±0.18 <sup>c</sup>	28.3±1.38	5.3±0.3 <sup>abc</sup>	224±3.5 <sup>a</sup>	40±6.6 <sup>a</sup>
MIX	4.2±0.14 <sup>ab</sup>	35.5±6.04	6.0±0.4 <sup>bc</sup>	208±3.4 <sup>a</sup>	42±8.7 <sup>ab</sup>
LL-HP	4.5±0.06 <sup>bc</sup>	33.0±3.03	5.8±0.8 <sup>bc</sup>	220±7.2 <sup>a</sup>	55±11.5 <sup>abc</sup>
HL-FO	4.5±0.15 <sup>bc</sup>	26.3±2.02	5.3±0.5 <sup>abc</sup>	396±16.5 <sup>d</sup>	47±5.7 <sup>abc</sup>
HL-VO	4.2±0.03 <sup>ab</sup>	27.0±0.71	4.3±0.3 <sup>a</sup>	268±3.2 <sup>b</sup>	81±7.8 <sup>c</sup>
LL-HC	4.4±0.1 <sup>b</sup>	28.8±0.75	6.5±0.3 <sup>c</sup>	230±5.9 <sup>a</sup>	67±5.1 <sup>abc</sup>

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

<sup>ns</sup> Not significant (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 넙치의 근육 지방산 조성은 사료지질의 지방산 조성에 영향을 받았다. 사육실험 15 주 후, 등근육 지방산 조성을 Table 3-10에 나타내었다. 등근육의 지방산 함량은 사료 지방산 조성에 직접적인 영향을 받아 다양한 값을 보였다(Table 3-10). 실험사료에 관계없이 16:0이 18:1n-9, 18:2n-6 및 22:6n-3의 함량이 각각 높게 나타났으며, 22:6n-3과 n3-HUFA 함량은 지질원으로 오징어 간유를 첨가한 FO와 HL-FO 공급구에서 높은 함량을 보였고, 대두유를 첨가한 SO 공급구의 18:2n-6 함량이 가장 높았으며, 아미노유를 첨가한 LO 공급구에서 18:3n-3 함량이 가장 높은 값을 보였다(P<0.05). 근육의 지질함량(Table 10)은 HL-VO 공급구에서 가장 높았고, LO 공급구에서 가장 낮은 함량이 나타났으나(P<0.05), HL-VO와 SO 공급구간에 유의한 차이는 없었다(P>0.05).

실제횡감으로 사용되는 근육의 품질을 평가하기 위해 실시한 관능검사 결과를 Table 3-11에 나타냈다. 관능검사 결과, 색깔은 SO 공급구에서 가장 높았고, 향, 맛 및 탄력성은 LL-HC 공급구에서 가장 높은 값을 보였다. 등근육의 경도측정 결과(Table 3-12), 최대 응력(MAX weight), 경도(Hardness) 그리고 강도(Gel strength) 모두 LO 공급구에서 가장 높은값을 보였고, HL-VO 공급구가 가장 낮았다.

Table 3-10. Fatty acids (% of total fatty acids) and crude lipid composition of dorsal muscle in growing flounder fed experimental diet for 15 weeks<sup>1</sup>

Fatty acids	Diets							
	FO	LO	SO	MIX	LL-HP	HL-FO	HL-VO	LL-HC
C14:0	1.8±0.08 <sup>cd</sup>	1.1±0.03 <sup>a</sup>	1.3±0.13 <sup>ab</sup>	1.5±0.07 <sup>bc</sup>	2.3±0.21 <sup>d</sup>	1.5±0.05 <sup>abc</sup>	1.0±0.09 <sup>a</sup>	2.2±0.27 <sup>d</sup>
C16:0	18.8±8.1	23.1±1.9	24.3±3.1	25.1±1.5	27.0±1.5	25.3±1.4	21.8±2.1	26.8±1.1
C16:1	1.1±0.6	0.3±0.1	1.0±0.5	0.9±0.5	0.8±0.1	1.0±0.2	0.5±0.1	0.8±0.2
C18:0	2.7±2.3	3.7±1.9	6.4±5.9	0.5±0.1	2.5±2.0	3.1±1.8	2.4±1.8	0.6±0.1
C18:1n-9	8.7±1.9	10.7±1.7	8.7±0.9	9.6±2.2	9.3±1.6	7.3±0.9	9.2±1.5	6.9±0.3
C18:2n-6	7.0±2.2 <sup>a</sup>	12.5±0.4 <sup>ab</sup>	21.1±3.4 <sup>c</sup>	16.5±0.6 <sup>bc</sup>	9.8±1.9 <sup>a</sup>	7.0±1.9 <sup>a</sup>	16.9±0.9 <sup>bc</sup>	11.4±2.7 <sup>ab</sup>
C18:3n-3	3.2±1.5 <sup>a</sup>	13.5±0.1 <sup>b</sup>	2.4±0.2 <sup>a</sup>	7.5±0.4 <sup>a</sup>	3.6±1.8 <sup>a</sup>	2.7±0.7 <sup>a</sup>	17.7±3.3 <sup>b</sup>	3.6±1.7 <sup>a</sup>
C20:4n-6	2.3±0.8	1.7±0.1	2.2±1.3	2.0±0.2	1.6±0.7	2.3±0.8	1.3±0.3	2.8±0.1
C20:5n-3	6.9±0.6 <sup>d</sup>	4.3±0.4 <sup>ab</sup>	4.0±0.4 <sup>ab</sup>	5.1±0.2 <sup>bc</sup>	7.3±0.5 <sup>d</sup>	5.6±0.2 <sup>c</sup>	3.8±0.4 <sup>a</sup>	7.1±0.3 <sup>d</sup>
C22:6n-3	47.4±3.3 <sup>e</sup>	29.2±1.3 <sup>abc</sup>	28.6±4.4 <sup>ab</sup>	31.3±2.3 <sup>abc</sup>	35.9±2.2 <sup>bcd</sup>	44.1±1.1 <sup>de</sup>	26.1±2.9 <sup>a</sup>	37.8±2.4 <sup>cd</sup>
n-3HUFA	54.3±3.6 <sup>d</sup>	33.5±1.6 <sup>a</sup>	32.6±4.8 <sup>a</sup>	36.4±2.2 <sup>ab</sup>	43.1±2.5 <sup>bc</sup>	49.7±0.9 <sup>cd</sup>	29.3±3.2 <sup>a</sup>	45.0±2.5 <sup>bc</sup>
Crude lipid	2.6±0.45 <sup>ab</sup>	1.9±0.31 <sup>a</sup>	3.8±0.33 <sup>bc</sup>	2.7±0.67 <sup>ab</sup>	2.6±0.47 <sup>ab</sup>	2.8±0.54 <sup>ab</sup>	4.7±0.26 <sup>c</sup>	2.1±0.43 <sup>a</sup>

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

Table 3-11. Sensory test of the dorsal muscle in growing flounder fed experimental diet for 15 weeks<sup>1</sup>

Diets	Colour	Smell	Taste	Texture
FO	3.65 <sup>abc</sup>	3.45 <sup>ab</sup>	3.42 <sup>ab</sup>	3.45 <sup>ab</sup>
LO	3.32 <sup>ab</sup>	3.16 <sup>a</sup>	3.32 <sup>a</sup>	3.26 <sup>a</sup>
SO	3.45 <sup>abc</sup>	3.45 <sup>ab</sup>	3.58 <sup>ab</sup>	3.48 <sup>ab</sup>
MIX	3.81 <sup>c</sup>	3.55 <sup>ab</sup>	3.45 <sup>ab</sup>	3.32 <sup>a</sup>
LL-HP	3.65 <sup>abc</sup>	3.55 <sup>ab</sup>	3.45 <sup>ab</sup>	3.55 <sup>ab</sup>
HL-FO	3.35 <sup>abc</sup>	3.61 <sup>b</sup>	3.55 <sup>ab</sup>	3.48 <sup>ab</sup>
HL-VO	3.61 <sup>abc</sup>	3.42 <sup>ab</sup>	3.48 <sup>ab</sup>	3.58 <sup>ab</sup>
LL-HC	3.74 <sup>bc</sup>	3.71 <sup>b</sup>	3.90 <sup>b</sup>	3.94 <sup>b</sup>
Wild fish	3.19 <sup>a</sup>	3.48 <sup>ab</sup>	3.55 <sup>ab</sup>	3.48 <sup>ab</sup>
Pooled SEM	0.05	0.04	0.05	0.05

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

Table 3-12. Characteristic analysis of the dorsal muscle in growing flounder fed the experimental diet for 15 weeks<sup>1</sup>

Diets	MAX weight (g)	Hardness (g/cm <sup>2</sup> )	Gel strength (kg/cm <sup>2</sup> )
FO	232±39.9 <sup>ab</sup>	2213±379.7 <sup>ab</sup>	20651±3544.1 <sup>ab</sup>
LO	385±82.7 <sup>b</sup>	3597±773.3 <sup>b</sup>	33580±7210.2 <sup>b</sup>
SO	225±37.9 <sup>ab</sup>	2134±366.3 <sup>ab</sup>	19952±3402.2 <sup>ab</sup>
MIX	325±60.3 <sup>ab</sup>	3058±586.4 <sup>ab</sup>	28542±5473.8 <sup>ab</sup>
LL-HP	226±19.1 <sup>ab</sup>	2125±168.8 <sup>ab</sup>	23170±2290.3 <sup>ab</sup>
HL-FO	307±37.0 <sup>ab</sup>	2909±367.3 <sup>ab</sup>	27153±3427.7 <sup>ab</sup>
HL-VO	169±36.2 <sup>ab</sup>	1697±431.8 <sup>ab</sup>	15840±4030.3 <sup>a</sup>
LL-HC	294±72.8 <sup>ab</sup>	2841±591.4 <sup>ab</sup>	26512±5519.8 <sup>ab</sup>

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

이상의 결과로부터, 사료의 지질원 및 함량은 넙치 육성어의 성장 및 사료 이용성에 영향을 미치지 않았지만, 근육의 지방산 조성에는 영향을 미치는 것으로 판단된다.

### 3. 배합사료의 지질원 및 함량이 넙치 성어의 성장, 혈액성상 및 근육 지방산 조성에 미치는 영향

#### 가. 재료 및 방법

##### 실험사료

실험사료의 원료조성 및 성분분석 결과를 Table 3-1에 나타내었다. 주요 단백질원과 탄수화물원으로 어분과 소맥분을 각각 사용하였으며, 다양한 지질원과 영양소 함량에 따른 넙치의 이용성을 조사하기 위하여 지질원으로 동물성 오일인 오징어 간유 (FO), 식물성 오일인 아미인유(LO) 및 대두유(SO) 그리고 세 종류 지질원의 혼합유(MIX)를 첨가한 사료, 지질함량을 낮추고 단백질(LL-HP)과 탄수화물(LL-HC) 함량을 높인 사료 그리고 동물성 오일(HL-FO)과 식물성 오일(HL-VO)로 각각 지질함량을 높인 사료로 총 8종류의 실험사료를 설계하였다. 이와 같이 설계된 원료들을 혼합기로 잘 혼합한 후, 원료 100 g 당 물 40 g을 첨가하여 펠렛 제조기로 성형하였으며, 성형된 사료는 실온에서 24시간 건조한 후 -30℃에서 보관하면서 필요시 공급하였다. 실험사료의 지방산 분석결과를 Table 3-2에 나타내었으며, 실험사료는 생사료 (MP; 단백질 53%, 지질, 29%)와 비교평가 하였다.

##### 실험어 및 사육관리

실험어는 경북 울진의 개인 양식장에서 구입하여 경북 포항의 양식사료 연구센터로 수송한 후 상품사료로 2주간 예비 사육하였다. 평균체중 296 g 전후의 실험어를 무작위로 선별하여 총 18개의 1.2 ton FRP 수조에 각각 25마리씩 2반복으로 수용하여 17주간 사육실험 하였다. 실험사료는 1일 1회(09:00, 주 6일 공급) 실험어가 먹을 때 까지 반복으로 공급하였다. 각 수조마다 약하게 폭기시켜 산소를 공급하였고, 여과된 자연해수를 각 실험수조마다 분당 20L로 조절하여 흘려주었으며, 사육기간 동안 수온은 21.0±5.5℃(평균±표준편차)였다. 그리고 사료공급 1시간 후, 사육수를 환수시켜 배설물 및 사료찌꺼기를 제거해 주었으며, 각 수조에서 죽은 개체는 매일 제거해 주었다.

##### 사료채취 및 성분분석

사육실험 시작시와 종료시에는 측정 전일 절식시킨 후 MS222 100ppm 수용액에 마취시켜 수조에 수용된 모든 실험어의 전체무게를 측정하였다. 실험사료 및 근육의 일반성분은 AOAC (1995)의 방법에 따라 조단백질(N× 6.25)은 Auto Kjeldahl

system을 사용하여 분석하였고, 조지방은 ether 추출법을 사용하였으며, 수분은 105°C dry oven에서 6시간 동안 건조 후 측정하였고 조회분은 600°C 회화로에서 4시간 동안 태운 후 측정하였다. 지방산 분석은 Folch et al. (1957)의 방법에 따라 클로로포름과 메탄올 혼합액(2:1)으로 총 지질을 추출하여 14% BF<sub>3</sub>-methanol (Sigma, USA) 용액으로 지방산을 methylation 시킨 후, capillary column (SP<sup>TM</sup>-2560, 100 m× 0.25 mm i. d., film thickness 0.20 um, 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. 혈장성분의 변화를 조사하기 위해 각 실험구당 3마리씩 무작위로 추출하여 헤파린 주사액이 처리된 3 ml 주사기를 사용하여 실험어의 미부 혈관에서 채혈하였으며, 원심분리기 (3,500 rpm for 10 min)를 사용하여 얻은 혈장을 분석을 위해 동결보존(-70°C)하였다. 혈장의 total protein은 biuret법으로 glucose는 효소법으로, GOT는 kinetic UV법으로, cholesterol은 COD-POD법으로 triglyceride는 유리 Glycerol 소거법을 사용하여 각각 분석하였다.

#### 육질의 품질평가

실험 종료 후, 근육의 물리적 품질평가를 위해, 각 수조에서 3마리씩 무작위로 넙치를 샘플링하여, Rheo meter를 이용하여 등근육의 최대 응력(MAX weight), 경도(Hardness) 그리고 강도(Gel strength)를 측정하였다.

#### 통계처리

결과의 통계 처리는 SPSS Version 14 (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.

#### 나. 결과

평균 체중 296 g 전후의 넙치를 17주간 사육 실험한 결과를 Table 3-13과 3-14에 나타내었다. 생존율은 모든 실험구간에 유의한 차이가 없었다( $P>0.05$ ). 증중율은 사료의 지질함량이 낮고 단백질 함량이 높은 LL-HP 공급구에서 가장 높았으며, 일간성장율은 LL-HP와 LL-HC 공급구에서 높았으나 증중율과 일간성장율 모두 HL-VO 공급구를 제외한 타 공급구와는 유의한 차이가 없었다( $P>0.05$ ). 사료효율은

LL-HP 공급구가 가장 높았고( $P<0.05$ ), LO 공급구의 사료효율이 가장 낮았다( $P>0.05$ ). 일일사료섭취율과 일일단백질섭취율은 실험구간에 유의한 차이점이 없었다( $P>0.05$ ). 단백질효율은 LL-HC 공급구에서 가장 높았고, LO와 HO-VO 공급구에서 가장 낮은 값을 보였다( $P<0.05$ ). 어체의 비만도, 간 중량지수 및 장 중량지수를 측정된 결과, 간 중량지수는 HL-FO 실험구가 MP, MIX 및 LL-HP 실험구에 비해 유의하게 높았지만( $P<0.05$ ), FO와 HL-VO 실험구와는 유의한 차이가 없었으며( $P>0.05$ ), 비만도와 장 중량지수는 모든 실험구간에 유의한 차이가 없었다( $P>0.05$ ). 넙치의 폭과 두께를 측정된 결과, 모든 실험구간에 유의한 차이가 없었다( $P>0.05$ ).

Table 3-13. Growth performance of adult flounder fed the experimental diets for 17 weeks<sup>1</sup>

Diets	Initial mean weight (g/fish)	Survival (%)	Weight gain (%)	Specific growth rate (%)	Hepatosomatic index	Visceralsomatic index
FO	297±3.0 <sup>ns</sup>	92±4.0 <sup>ns</sup>	75±4.9 <sup>ab</sup>	0.6±0.1 <sup>ab</sup>	2.8±0.15 <sup>cd</sup>	2.2±0.22 <sup>ns</sup>
LO	296±1.6	82±6.0	71±3.6 <sup>ab</sup>	0.5±0.0 <sup>ab</sup>	2.3±0.29 <sup>bc</sup>	2.5±0.31
SO	290±1.8	96±4.0	80±5.6 <sup>ab</sup>	0.6±0.1 <sup>ab</sup>	2.6±0.35 <sup>bcd</sup>	2.0±0.11
MIX	295.4±5.4	76±8.0	93±23.6 <sup>ab</sup>	0.6±0.1 <sup>ab</sup>	2.0±0.17 <sup>ab</sup>	2.1±0.06
LL-HP	296.2±4.6	92±4.0	111±18.3 <sup>b</sup>	0.7±0.1 <sup>b</sup>	2.1±0.07 <sup>ab</sup>	2.4±0.16
HL-FO	299±6.8	74±14.0	91±15.3 <sup>ab</sup>	0.6±0.1 <sup>ab</sup>	3.1±0.14 <sup>d</sup>	2.2±0.27
HL-VO	303±0.0	86±2.0	50±0.2 <sup>a</sup>	0.4±0.0 <sup>a</sup>	2.7±0.13 <sup>cd</sup>	2.2±0.04
LL-HC	292±0.0	88±8.0	90±9.9 <sup>ab</sup>	0.7±0.1 <sup>b</sup>	1.9±0.06 <sup>ab</sup>	2.1±0.03
MP	302±1.6	90±6.0	76±4.7 <sup>ab</sup>	0.6±0.1 <sup>ab</sup>	1.6±0.26 <sup>a</sup>	2.1±0.12

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

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

Table 3-14. Feed utilization of adult flounder fed the experimental diets for 17 weeks<sup>1</sup>

Diets	Feed efficiency (%)	Daily feed intake (%)	Daily protein intake (%)	Protein efficiency ratio	Condition factor	Thickness (cm) /Width(cm)
FO	71.1±0.9 <sup>abcd</sup>	0.6±0.0 <sup>ns</sup>	0.3±0.0 <sup>ns</sup>	1.4±0.02 <sup>ab</sup>	1.2±0.07 <sup>ns</sup>	0.2±0.01 <sup>ns</sup>
LO	50.9±8.6 <sup>a</sup>	0.8±0.2	0.4±0.1	1.1±0.18 <sup>a</sup>	1.1±0.04	0.2±0.01
SO	80.1±13.3 <sup>abcd</sup>	0.6±0.1	0.4±0.1	1.7±0.28 <sup>ab</sup>	1.2±0.00	0.2±0.01
MIX	67.4±0.8 <sup>abc</sup>	0.7±0.1	0.4±0.1	1.4±0.02 <sup>ab</sup>	1.1±0.04	0.2±0.01
LL-HP	97.9±0.9 <sup>d</sup>	0.6±0.1	0.4±0.1	1.6±0.02 <sup>ab</sup>	1.2±0.03	0.2±0.01
HL-FO	58.6±3.9 <sup>ab</sup>	0.7±0.0	0.3±0.0	1.3±0.09 <sup>ab</sup>	1.2±0.04	0.2±0.01
HL-VO	52.6±1.3 <sup>ab</sup>	0.7±0.1	0.3±0.0	1.1±0.03 <sup>a</sup>	1.2±0.09	0.2±0.01
LL-HC	92.5±20.3 <sup>cd</sup>	0.6±0.1	0.3±0.1	1.9±0.42 <sup>b</sup>	1.2±0.01	0.2±0.01
MP	82.1±0.7 <sup>bcd</sup>	0.6±0.1	0.3±0.0	1.5±0.02 <sup>ab</sup>	1.1±0.03	0.2±0.01

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

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

어체의 미부동맥에서 추출한 혈액의 분석결과를 Table 3-15에 나타내었다. 사육 실험 17주 후 혈액의 total protein 함량은 FO 공급구에서 가장 높았고, MIX 공급구에서 가장 낮았으며(P<0.05), FO 공급구는 LO, SO 및 HL-FO 공급구들과 유의한 차이는 없었다(P>0.05). Glucose 함량은 MIX와 MP 공급구에서 높았으며, LL-HC 공급구에서 가장 낮게 나타났다. GOT 함량은 HL-VO 공급구에서 가장 높았고 MP 공급구에서 가장 낮았으며, Cholesterol과 triglyceride 함량은 HL-FO와 HL-VO 공급구에서 각각 가장 높은 값을 보였다.

Table 3-15. Hematological change of the plasma in flounder fed the experimental diets for 17 weeks<sup>1</sup>

Diets	Total protein (g/dl)	Glucose (mg/dl)	GOT (IU/L)	Cholesterol (mg/dl)	Triglyceride (mg/dl)
FO	4.3±0.1 <sup>e</sup>	17.0±1.0 <sup>abc</sup>	5.0±0.0 <sup>cd</sup>	300.3±30.1 <sup>b</sup>	51.3±5.5 <sup>ab</sup>
LO	4.1±0.3 <sup>de</sup>	17.0±0.6 <sup>abc</sup>	4.0±0.6 <sup>bcd</sup>	230.0±9.3 <sup>a</sup>	77.7±11.0 <sup>bc</sup>
SO	4.0±0.2 <sup>cde</sup>	17.0±0.6 <sup>abc</sup>	3.3±0.3 <sup>ab</sup>	233.0±11.7 <sup>a</sup>	49.0±8.0 <sup>ab</sup>
MIX	3.3±0.2 <sup>a</sup>	21.0±2.1 <sup>d</sup>	4.0±0.1 <sup>bcd</sup>	219.0±16.5 <sup>a</sup>	98.3±23.8 <sup>cd</sup>
LL-HP	3.7±0.1 <sup>abcd</sup>	20.0±0.1 <sup>cd</sup>	3.7±0.7 <sup>bc</sup>	250.0±7.2 <sup>a</sup>	76.7±6.1 <sup>bc</sup>
HL-FO	3.9±0.1 <sup>bcde</sup>	20.0±1.2 <sup>bcd</sup>	4.3±0.3 <sup>bcd</sup>	471.7±16.8 <sup>c</sup>	62.3±4.9 <sup>ab</sup>
HL-VO	3.7±0.1 <sup>abcd</sup>	16.7±0.3 <sup>ab</sup>	5.3±0.3 <sup>d</sup>	248.0±1.7 <sup>a</sup>	126.7±2.4 <sup>d</sup>
LL-HC	3.6±0.1 <sup>abc</sup>	16.3±0.9 <sup>a</sup>	4.0±0.6 <sup>bcd</sup>	206.3±4.8 <sup>a</sup>	31.0±11.0 <sup>a</sup>
MP	3.4±0.1 <sup>ab</sup>	20.3±0.3 <sup>d</sup>	2.3±0.3 <sup>a</sup>	296.3±12.8 <sup>b</sup>	58.3±4.3 <sup>ab</sup>

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

<sup>ns</sup> Not significant (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 넙치의 근육 지방산 조성은 사료지질의 지방산 조성에 영향을 받았다. 사육실험 15 주 후, 등근육 지방산 조성을 Table 3-16에 나타내었다. 등근육의 지방산 함량은 사료 지방산 조성에 직접적인 영향을 받아 다양한 값을 보였다. 실험사료에 관계없이 16:0이 18:1n-9, 18:2n-6 및 22:6n-3의 함량이 각각 높게 나타났으며, 22:6n-3과 n3-HUFA 함량은 지질원으로 오징어 간유를 첨가한 FO와 HL-FO 공급구에서 높은 함량을 보였고, 대두유를 첨가한 SO 공급구의 18:2n-6 함량이 가장 높았으며, 아마인유를 첨가한 LO 공급구에서 18:3n-3 함량이 가장 높은 값을 보였다(P<0.05). 이처럼 근육의 지방산 조성은 앞서 보고한 치어와 육성어의 결과와 유사하였다. 근육의 지질함량은 실험구간에 유의한 차이가 없었다(P>0.05).



Table 3-16. Fatty acids (% of total fatty acids) and crude lipid composition of dorsal muscle in adult flounder fed experimental diet for 17 weeks

Fatty acids	Diets								
	FO	LO	SO	MIX	LL-HP	HL-FO	HL-VO	LL-HC	MP
C14:0	2.0±0.2	1.6±0.2	1.3±0.1	1.7±0.1	2.3±0.1	2.6±0.8	1.1±0.1	2.5±0.6	2.4±0.4
C16:0	26.1±0.1	25.8±1.9	25.5±0.6	24.6±0.3	27.7±0.1	24.6±1.1	22.9±0.8	25.9±1.5	25.2±0.3
C16:1	2.5±0.3 <sup>abcd</sup>	1.7±0.1 <sup>ab</sup>	1.8±0.1 <sup>abc</sup>	2.1±0.1 <sup>abc</sup>	2.9±0.1 <sup>abcd</sup>	3.3±0.9 <sup>cd</sup>	1.5±0.1 <sup>a</sup>	3.1±0.8 <sup>bcd</sup>	4.0±0.6 <sup>d</sup>
C18:0	5.1±0.16 <sup>ab</sup>	6.0±0.46 <sup>c</sup>	5.1±0.01 <sup>ab</sup>	5.1±0.02 <sup>ab</sup>	5.3±0.10 <sup>abc</sup>	4.7±0.01 <sup>a</sup>	5.4±0.01 <sup>bc</sup>	5.0±0.03 <sup>ab</sup>	5.9±0.30 <sup>c</sup>
C18:1n-9	10.0±0.18	12.0±0.02	10.9±0.09	12.0±0.57	11.1±0.60	11.1±2.34	11.4±0.48	11.6±1.35	12.1±0.52
C18:2n-6	7.5±0.4 <sup>bc</sup>	11.5±0.4 <sup>d</sup>	22.3±1.1 <sup>g</sup>	15.6±0.9 <sup>e</sup>	7.2±0.2 <sup>bc</sup>	5.3±1.3 <sup>ab</sup>	19.4±0.1 <sup>f</sup>	8.2±0.7 <sup>c</sup>	3.5±0.4 <sup>a</sup>
C18:3n-3	2.6±1.2 <sup>a</sup>	10.2±1.0 <sup>d</sup>	1.8±0.1 <sup>a</sup>	5.7±0.4 <sup>b</sup>	1.3±0.1 <sup>a</sup>	2.2±0.5 <sup>a</sup>	8.1±0.2 <sup>c</sup>	1.5±0.3 <sup>a</sup>	1.0±0.1 <sup>a</sup>
C20:4n-6	1.6±0.15 <sup>d</sup>	1.1±0.14 <sup>ab</sup>	0.9±0.02 <sup>a</sup>	1.2±0.05 <sup>abc</sup>	1.3±0.07 <sup>bcd</sup>	2.0±0.15 <sup>e</sup>	1.0±0.03 <sup>a</sup>	1.5±0.02 <sup>cd</sup>	2.6±0.10 <sup>f</sup>
C20:5n-3	9.6±0.1 <sup>cd</sup>	7.6±0.3 <sup>abc</sup>	7.1±0.1 <sup>ab</sup>	7.8±0.1 <sup>abc</sup>	12.1±0.6 <sup>e</sup>	10.1±1.8 <sup>de</sup>	5.9±0.3 <sup>a</sup>	10.4±0.5 <sup>de</sup>	9.0±0.3 <sup>bcd</sup>
C22:6n-3	33.1±0.9 <sup>b</sup>	22.6±0.9 <sup>a</sup>	23.2±0.9 <sup>a</sup>	24.1±1.6 <sup>a</sup>	28.7±0.2 <sup>ab</sup>	34.1±6.7 <sup>b</sup>	23.4±0.2 <sup>a</sup>	30.2±2.6 <sup>ab</sup>	34.4±1.6 <sup>b</sup>
n-3HUFA	42.8±1.0 <sup>b</sup>	30.2±1.2 <sup>a</sup>	30.3±0.8 <sup>a</sup>	31.9±1.7 <sup>a</sup>	40.8±0.8 <sup>b</sup>	44.2±4.9 <sup>b</sup>	29.3±0.5 <sup>a</sup>	40.6±2.2 <sup>b</sup>	43.4±1.3 <sup>b</sup>
Crude lipid	3.7±0.95	4.5±0.30	4.6±0.29	3.0±1.66	2.5±0.96	3.9±0.74	3.5±0.61	2.5±0.46	3.7±1.00

등근육의 물리적 품질측정 결과(Table 3-17), 경도(Hardness)와 강도(Gel strength)는 LO와 LL-HP 공급구에서 높은 값을 보였고, LL-HC와 MP 공급구에서 낮은 값을 보였다(P<0.05). 탄력성(Texture)은 HL-VO 공급구에서 가장 높았고 LO 공급구에서 가장 낮았다. 응집성(Cohesiveness), 씹음성(Chewness) 및 파괴강도(Breaking strength)는 HL-FO 공급구에서 높았으며 SO 공급구에서 가장 낮은 값을 보였다(P<0.05).

Table 3-17. Characteristic analysis of the dorsal muscle in adult flounder fed the experimental diet for 17 weeks<sup>1</sup>

Diets	Hardness (g/cm <sup>2</sup> )	Gel strength (g/cm <sup>2</sup> )	Texture (%)	Cohesiveness (%)	Chewness (g)	Breaking strength (g)
FO	2157±252.2 <sup>bc</sup>	1654±189.1 <sup>bc</sup>	72.2±0.0 <sup>ab</sup>	40.9±3.7 <sup>bc</sup>	498±11.2 <sup>ab</sup>	36149±904.0 <sup>ab</sup>
LO	2684±147.5 <sup>d</sup>	2120±108.4 <sup>d</sup>	71.6±0.9 <sup>a</sup>	37.9±1.7 <sup>ab</sup>	596±6.8 <sup>cd</sup>	42801±925.0 <sup>bc</sup>
SO	2568±70.9 <sup>cd</sup>	2020±77.8 <sup>cd</sup>	74.7±2.1 <sup>abc</sup>	29.0±2.6 <sup>a</sup>	439±19.7 <sup>a</sup>	32895±458.9 <sup>a</sup>
MIX	2349±207.4 <sup>bcd</sup>	1845±205.8 <sup>bcd</sup>	76.6±3.8 <sup>abcd</sup>	35.0±5.7 <sup>ab</sup>	475±24.2 <sup>ab</sup>	36422±101.1 <sup>ab</sup>
LL-HP	2750±158.1 <sup>d</sup>	2104±85.3 <sup>d</sup>	77.6±1.2 <sup>bcd</sup>	39.0±0.8 <sup>ab</sup>	610±39.2 <sup>cd</sup>	47499±3801.3 <sup>c</sup>
HL-FO	2109±104.0 <sup>bc</sup>	1624±106.0 <sup>bc</sup>	80.7±0.9 <sup>d</sup>	50.8±2.5 <sup>cd</sup>	618±9.9 <sup>d</sup>	49845±125.7 <sup>c</sup>
HL-VO	1879±131.1 <sup>ab</sup>	1459±97.6 <sup>b</sup>	80.5±1.0 <sup>cd</sup>	51.6±0.4 <sup>d</sup>	550±30.5 <sup>bcd</sup>	44467±3198.6 <sup>c</sup>
LL-HC	1439±38.2 <sup>a</sup>	547±4.1 <sup>a</sup>	90.6±1.6 <sup>e</sup>	41.5±1.9 <sup>bcd</sup>	468±18.6 <sup>ab</sup>	42609±1112.0 <sup>bc</sup>
MP	1599±71.4 <sup>a</sup>	611±44.4 <sup>a</sup>	86.8±0.8 <sup>e</sup>	39.0±4.5 <sup>ab</sup>	522±51.1 <sup>abc</sup>	45193±3944.8 <sup>c</sup>

본 연구결과, 넙치의 성장, 사료효율 및 근육의 품질을 고려하여 LL-HP 사료를 사용하는 것이 좋을 것으로 판단된다.

#### 4. 배합사료의 지질원 및 함량과 비타민 E 첨가가 넙치 치어의 성장, 혈액성상 및 근육 지방산 조성에 미치는 영향

##### 가. 서론

비타민 E는 자연에서 다양한 형태로 존재하는데 이중,  $\alpha$ -tocopherol의 형태가 가장 활성이 좋다(NRC, 1993). 비타민 E는 생체막, 지단백질 그리고 지방에 존재하여 모든 동물의 세포막 보전에 중요한 역할로 고도불포화지방산의 과산화작용으로부터 세포를 보호하는 항산화작용을 한다. 비타민 E의 결핍 시 일반적으로 근육의 발육 이상, 번식기관의 기능저하 및 적혈구의 능력감소 등이 유발된다. 반면 비타민 E가 과잉 공급되면 중독 증상이 유발 될 수 있다. 그러므로 사료내 비타민 E의 함량과 고도불포화 지질의 상태는 어류에서 다른 항산화제와 셀레늄의 존재뿐만 아니라 사료내 비타민 E의 요구량에도 영향을 미친다(Murai and Andrews, 1974; Poston et al., 1976; Watanabe et al., 1977, 1981; Hung et al., 1980, 1981; Cowey et al., 1981, 1983; Lovell et al., 1984). 어류의 비타민 E 요구량( $\alpha$ -tocopherol/kg diet)은 사료내 차넬메기 *Ictalurus punctatus*의 경우 사료내 30-50 mg/kg (Murai and Andrews, 1974; Wilson et al., 1984), 잉어 *Cyprinus carpio*는 사료내 200-300 mg/kg (Watanabe et al., 1977) 그리고 조피볼락 *Sebastes schlegeli*의 경우는 사료내 45 mg/kg (Bai and Lee, 1998)으로 보고되었다.

따라서, 본 연구는 지질원 및 함량이 다르게 함유된 사료에 비타민 E의 첨가 유무가 넙치 치어 및 육성의 성장, 근육의 지방산 조성 및 혈액성상 변화에 미치는 영향을 조사하기 위해 수행하였다.

##### 나. 재료 및 방법

###### 실험사료

실험사료는 Table 3-18에 나타낸 바와 같이 사료의 주요 단백질원으로 어분을 탄수화물원으로 소맥분을 사용하였다. 사료의 지질원, 지질 함량 및 비타민 E의 첨가 효과를 조사하기 위해 동물성 및 식물성 지질 첨가로 사료의 지질함량을 높여주거나 지질함량을 낮추고 전분첨가로 탄수화물 함량을 높인 사료에 비타민 E를 무첨가(HL-FO-VE, HL-VO-VE, LL-HC-VE) 및 0.4% 첨가(HL-FO+VE, HL-VO+VE, LL-HC+VE)하여 총 6종류의 실험사료를 설계하였다. 실험사료는 원료를 혼합한 후 원료 100g 당 물 40 g 을 첨가하여 펠렛 제조기로 성형한 후 실온에서 24시간 건조하였다. 제조된 실험사료는  $-30^{\circ}\text{C}$ 에 보관하면서 필요시 공급하였다.

## 실험어 및 사육관리

전북 고창의 개인 양식장에서 종묘생산된 넙치 치어를 구입하여 강릉대학교 해양생물연구교육센터로 수송한 후 상품사료로 2주간 예비 사육하였다. 평균체중 8.8 g 전후의 실험어를 무작위로 선별하여 총 18개의 수조(50L 사각수조)에 40마리씩 3반복으로 수용하여 15주간 사육실험 하였다. 실험사료는 1일 2회(09:00와 17:00, 주 6일 공급) 실험어가 먹을 때 까지 만복으로 공급하였다. 각 수조마다 약하게 폭기시켜 산소를 공급하였고, 여과된 자연해수를 각 실험수조마다 분당 2L로 조절하여 흘러주었으며, 사육기간 동안의 수온은  $20.9 \pm 1.2^{\circ}\text{C}$  (평균 $\pm$ 표준편차)였다. 그리고 사료공급 1시간 후, 사육수를 환수시켜 배설물 및 사료찌꺼기를 제거해 주었으며, 각 수조에서 죽은 개체는 매일 제거해 주었다.

## 시료 채취 및 성분분석

사육실험 시작시와 종료시에는 측정 전일 절식시킨 후 MS222 100ppm 수용액에 마취시켜 수조에 수용된 모든 실험어의 전체무게를 측정하였다. 실험사료 및 근육의 일반성분은 AOAC (1995)의 방법에 따라 조단백질(N $\times$  6.25)은 Auto Kjeldahl system을 사용하여 분석하였고, 조지방은 ether 추출법을 사용하였으며, 수분은 105 $^{\circ}\text{C}$  dry oven에서 6시간 동안 건조 후 측정하였고 조회분은 600 $^{\circ}\text{C}$  회화로에서 4시간 동안 태운 후 측정하였다. 지방산 분석은 Folch et al. (1957)의 방법에 따라 클로로포름과 메탄올 혼합액(2:1)으로 총 지질을 추출하여 14% BF<sub>3</sub>-methanol (Sigma, USA) 용액으로 지방산을 methylation 시킨 후, capillary column (SP<sup>TM</sup>-2560, 100 m $\times$  0.25 mm i. d., film thickness 0.20  $\mu\text{m}$ , USA)이 장착된 gas chromatography (HP-6890 PLUS, Hewlett-Packard, USA)로 지방산을 분석하였다. Carrier gas는 헬륨을 사용하였으며, Oven 온도는 최초 140 $^{\circ}\text{C}$ 에서 240 $^{\circ}\text{C}$ 까지 4 $^{\circ}\text{C}$ /min 증가시켰다. 이때, injector 온도는 250 $^{\circ}\text{C}$ , detector (FID) 온도는 260 $^{\circ}\text{C}$ 로 각각 설정하였으며, 표준 지방산으로 37개 지방산 혼합물(PUFA 37 Component FAME Mix, USA)을 사용하였다. 혈장성분의 변화를 조사하기 위해 각 실험구당 5마리씩 무작위로 추출하여 헤파린 주사액이 처리된 1 ml 주사기를 사용하여 실험어의 미부 혈관에서 채혈하였으며, 원심분리기 (3,500 rpm for 10 min)를 사용하여 얻은 혈장을 분석을 위해 동결보존(-70 $^{\circ}\text{C}$ )하였다. 혈장내 total protein은 biuret법으로 glucose는 효소법으로, GOT와 GPT는 kinetic UV법으로, total cholesterol은 COD-POD법으로 triglyceride는 유리 Glycerol 소거법을 사용하여 각각 분석하였다.

통계처리

결과의 통계 처리는 SPSS Version 14 (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.

Table 3-18. Composition and proximate analysis of the experiment diets (% of dry matter basis)

Ingredient	Diets					
	HL-FO-VE	HL-VO-VE	LL-HC-VE	HL-FO+VE	HL-VO+VE	LL-HC+VE
Fish meal	50	50	52	50	50	52
Wheat flour	22.8	22.8	18.8	22.4	22.4	18.4
Dehulled soya	7	7	7	7	7	7
Alpha-starch			11			11
Wheat gluten	5	5	5	5	5	5
Beer yeast	2	2	2	2	2	2
Squid liver oil	10	1	1	10	1	1
Linseed oil		4.5			4.5	
soybean oil		4.5			4.5	
Vitamin premix	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5
Mineral premix	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5
Chorine	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
Vitamin E				0.04	0.04	0.04
Vitamin C	0.15	0.15	0.15	0.15	0.15	0.15
<i>Nutrient contents (% of dry matter basis)</i>						
Dry matter	88.7	86.4	86.0	87.6	87.5	84.9
Crude protein	48.5	48.5	49.0	48.7	48.7	49.0
Crude lipid	15.5	15.8	5.5	15.9	15.6	5.1
Ash	9.2	9.1	9.7	9.5	9.5	10.2

#### 나. 결과

평균 체중 8.5 g의 넙치를 15주간 사육 실험한 후, 성장 결과를 Table 3-19에 나타내었다. 생존율, 증중율, 일간성장률, 비만도, 간중량비 및 장 중량비는 모든 실험구간에 유의한 차이가 없었다( $P>0.05$ ). Table 3-20에 나타낸 것처럼, 사료효율은 HL-VO-VE, HL-FO+VE 및 HL-VO+VE 실험구가 높은 값을 보였고, LL-HC-VE 공급구가 가장 낮은 값을 나타내었다. HL-FO-VE와 LL-HC+VE 실험구와는 유의한 차이가 없었다( $P>0.05$ ). 일일사료섭취율은 HL-FO+VE 공급구가 가장 높았고

LL-HC-VE 공급구가 가장 낮았다. 일일단백질섭취율은 모든 실험구간에 유의한 차이가 없었으며( $P>0.05$ ), 단백질 섭취에 따른 증체량을 나타내는 단백질효율은 HL-VO-VE 실험구가 LL-HC-VE 실험구보다 유의하게 높았으나( $P<0.05$ ), HL-FO+VE와 HL-VO+VE 실험구간에 유의한 차이가 없었다( $P>0.05$ ). 어체의 비만도, 간 중량지수 및 장 중량지수를 측정된 결과, 비만도, 간 및 장 중량지수는 모든 실험구간에 유의한 차이가 없었다( $P>0.05$ ).

Table 3-19. Growth performance of juvenile flounder fed the experimental diets for 15 weeks<sup>1</sup>

Diets	IMW	SUR (%)	WG <sup>2</sup> (%)	SGR <sup>3</sup>	CF <sup>4</sup>	HSI <sup>5</sup>	VSI <sup>6</sup>
HL-FO-VE	8.5±0.1	90±2.9 <sup>ns</sup>	991±17.0 <sup>ns</sup>	2.27±0.03 <sup>ns</sup>	0.98±0.022 <sup>ns</sup>	1.72±0.05 <sup>ns</sup>	2.62±0.05 <sup>ns</sup>
HL-VO-VE	8.3±0.0	89±7.0	918±51.7	2.20±0.06	0.95±0.009	1.82±0.08	2.38±0.10
LL-HC-VE	8.5±0.1	90±4.4	888±55.3	2.17±0.07	1.05±0.015	0.73±0.17	2.50±0.05
HL-FO+VE	8.5±0.1	91±1.0	885±52.9	2.17±0.03	1.65±0.708	1.63±0.14	2.27±0.15
HL-VO+VE	8.5±0.0	92±1.0	940±60.2	2.23±0.07	1.01±0.036	1.97±0.14	2.49±0.10
LL-HC+VE	8.7±0.1	85±1.5	869±84.3	2.13±0.09	1.00±0.027	1.77±0.06	2.24±0.18

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

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

<sup>3</sup> Specific growth rate : (Ln final weight - Ln initial weight) × 100 / days of feeding.

<sup>4</sup> Condition factor : [fish wt. (g) / fish length (cm)<sup>3</sup>] × 100.

<sup>5</sup> Hepatosomatic index : (liver weight / body weight) × 100.

<sup>6</sup> Visceralsomatic index : (viscera weight / body weight) × 100.

Table 3-20. Feed utilization of flounder fed the experimental diets for 15 weeks

Diets	FE <sup>7</sup> (%)	DFI <sup>8</sup> (%)	DPI <sup>9</sup> (%)	PER <sup>10</sup> (%)
HL-FO-VE	118±11.1 <sup>ab</sup>	1.28±0.09 <sup>a</sup>	0.62±0.09 <sup>ab</sup>	2.4±0.23 <sup>abc</sup>
HL-VO-VE	123±7.0 <sup>b</sup>	1.21±0.05 <sup>a</sup>	0.59±0.05 <sup>a</sup>	2.5±0.15 <sup>c</sup>
LL-HC-VE	91±4.6 <sup>a</sup>	1.54±0.08 <sup>b</sup>	0.76±0.08 <sup>c</sup>	1.8±0.09 <sup>a</sup>
HL-FO+VE	121±11.2 <sup>b</sup>	1.21±0.08 <sup>a</sup>	0.59±0.08 <sup>ab</sup>	2.5±0.22 <sup>bc</sup>
HL-VO+VE	122±11.5 <sup>b</sup>	1.23±0.09 <sup>a</sup>	0.60±0.09 <sup>ab</sup>	2.5±0.23 <sup>bc</sup>
LL-HC+VE	94±2.9 <sup>ab</sup>	1.46±0.03 <sup>ab</sup>	0.71±0.03 <sup>bc</sup>	1.9±0.07 <sup>ab</sup>

<sup>7</sup> Feed efficiency ratio : Fish wet weight gain × 100 / feed intake.

<sup>8</sup> Daily feed intake : Feed intake × 100 / [(initial fish wt + final fish wt + dead fish wt) × days reared/2].

<sup>9</sup> Daily protein intake : protein intake × 100 / [(initial fish wt + final fish wt + dead fish wt) × days reared/2].

<sup>10</sup> Protein efficiency ratio : (wet weight gain / protein intake) × 100.

어체의 미부동맥에서 추출한 혈액의 분석결과를 Table 3-21에 나타내었다. 혈액의 total protein, glucose, GOT 및 GPT 함량은 모든 실험구간에 유의차가 없었으나(P>0.05), cholesterol 함량은 HL-FO-VE와 HL-FO+VE 공급구가 다른 실험구들보다 유의하게 높았으며(P<0.05), LL-HC-VE 공급구가 가장 낮은 함량을 보였다. LL-HC-VE 공급구의 triglyceride 함량은 HL-VO-VE, HL-FO+VE 및 LL-HC+VE 공급구들보다 유의하게 높으나, HL-FO-VE와 HL-VO+VE 공급구와는 유의한 차이가 없었다(P>0.05).

Table 3-21. Hematological change of the plasma in juvenile flounder fed the experimental diets for 15 weeks<sup>1</sup>

Diets	Total protein (g/dl)	Glucose (mg/dl)	GOT (IU/L)	GPT (IU/L)	Cholesterol (mg/dl)	Triglyceride (mg/dl)
HL-FO-VE	3.30±0.16 <sup>ns</sup>	25.5±1.6 <sup>ns</sup>	12.0±1.16 <sup>ns</sup>	1.0±0.0 <sup>ns</sup>	333±25.0 <sup>c</sup>	110±7.9 <sup>bc</sup>
HL-VO-VE	3.30±0.04	23.8±0.8	12.3±1.32	1.0±0.0	224±10.7 <sup>ab</sup>	104±13.5 <sup>b</sup>
LL-HC-VE	3.28±0.09	24.8±0.3	9.8±0.48	1.0±0.0	181±10.9 <sup>a</sup>	149±19.3 <sup>c</sup>
HL-FO+VE	3.50±0.09	24.3±0.3	11.0±0.82	1.0±0.0	348±30.5 <sup>c</sup>	84±5.5 <sup>ab</sup>
HL-VO+VE	3.45±0.03	25.5±1.0	12.0±1.29	1.0±0.0	248±10.1 <sup>b</sup>	119±18.5 <sup>bc</sup>
LL-HC+VE	3.40±0.07	25.5±0.5	11.2±2.04	1.0±0.0	208±4.7 <sup>ab</sup>	47±4.5 <sup>a</sup>

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

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

사육실험 15 주 후의 등근육 지방산 조성 및 지질함량을 Table 3-22에 표시하였다. 등근육의 지방산 함량은 사료 지방산 조성에 직접적인 영향을 받아 다양한 값을 보였다. 사료의 비타민 E 첨가에 관계없이 넙치 근육의 18:2n-6과 C18:3n-3 함량은 지질원으로 식물성 지질을 첨가한 HL-VO 공급구에서 가장 높게 나타났으며, C22:6n-3과 n-3HUFA 함량은 지질원으로 오징어 간유를 첨가한 HL-FO 공급구에서 높게 나타났다. 그리고 C22:5n-3 함량은 HL-VO 공급구에서 낮은 값을 보였다. 근육의 지질함량은 HL-VO+VE 공급구에서 가장 높았고 HL-VO-VE 공급구에서 가장 낮았으며(P<0.05), HL-VO+VE 공급구와 HL-FO-VE 공급구간에 유의한 차이는 없었다(P>0.05).



Table 3-22. Fatty acids (% of total fatty acids) and crude lipid composition of dorsal muscle in juvenile flounder fed experimental diet for 15 weeks.

Fatty acids	Diets					
	HL-FO-VE	HL-VO-VE	LL-HC-VE	HL-FO+VE	HL-VO+VE	LL-HC+VE
C14:0	1.6±0.05 <sup>cd</sup>	0.8±0.02 <sup>a</sup>	1.8±0.03 <sup>cd</sup>	1.5±0.09 <sup>bc</sup>	1.2±0.21 <sup>ab</sup>	1.9±0.19 <sup>d</sup>
C16:0	25.7±0.4 <sup>b</sup>	19.7±0.1 <sup>a</sup>	25.4±1.3 <sup>b</sup>	25.4±0.3 <sup>b</sup>	21.8±1.5 <sup>a</sup>	25.0±0.5 <sup>b</sup>
C16:1	0.3±0.1	0.2±0.1	1.3±0.9	0.3±0.1	0.3±0.1	0.4±0.1
C17:0	0.2±0.02 <sup>ns</sup>	0.1±0.03	0.3±0.09	0.2±0.03	0.1±0.01	0.2±0.02
C17:1	0.4±0.1	0.5±0.1	0.5±0.1	0.5±0.1	0.6±0.1	0.6±0.1
C18:0	4.0±2.0	6.5±0.1	4.2±2.0	6.2±0.1	4.5±2.2	6.7±0.2
C18:1n-9	10.5±0.3 <sup>a</sup>	12.9±0.5 <sup>b</sup>	12.5±0.5 <sup>b</sup>	10.2±0.6 <sup>a</sup>	13.8±0.5 <sup>b</sup>	13.4±0.3 <sup>b</sup>
C18:2n-6	5.6±0.9 <sup>a</sup>	24.1±0.8 <sup>c</sup>	10.7±1.7 <sup>b</sup>	5.2±0.6 <sup>a</sup>	20.9±2.2 <sup>c</sup>	9.9±1.1 <sup>b</sup>
C18:3n-3	1.8±0.1 <sup>a</sup>	8.6±0.2 <sup>b</sup>	1.4±0.6 <sup>a</sup>	1.8±0.1 <sup>a</sup>	8.2±1.4 <sup>b</sup>	2.2±0.9 <sup>a</sup>
C18:3n-6	0.1±0.1	0.3±0.2	0.3±0.2	0.3±0.3	0.4±0.1	0.2±0.1
C20:3n-3	0.1±0.1	0.1±0.1	0.6±0.5	0.1±0.1	0.1±0.1	0.1±0.1
C20:4n-6	0.2±0.03 <sup>a</sup>	0.8±0.04 <sup>b</sup>	0.7±0.34 <sup>ab</sup>	0.2±0.01 <sup>a</sup>	0.7±0.07 <sup>ab</sup>	0.3±0.10 <sup>ab</sup>
C20:5n-3	7.6±0.1 <sup>b</sup>	4.0±0.1 <sup>a</sup>	8.2±0.4 <sup>b</sup>	7.3±0.5 <sup>b</sup>	5.0±1.1 <sup>a</sup>	8.4±0.9 <sup>b</sup>
C22:1n-9	0.5±0.13 <sup>bc</sup>	0.2±0.02 <sup>a</sup>	0.5±0.11 <sup>bc</sup>	0.7±0.03 <sup>c</sup>	0.2±0.03 <sup>a</sup>	0.3±0.02 <sup>ab</sup>
C22:6n-3	41.4±2.1 <sup>c</sup>	21.4±0.3 <sup>a</sup>	31.7±2.6 <sup>b</sup>	40.2±1.0 <sup>c</sup>	22.5±3.3 <sup>a</sup>	30.4±0.9 <sup>b</sup>
n-3HUFA <sup>1</sup>	49.1±2.2 <sup>c</sup>	25.5±0.2 <sup>a</sup>	40.5±2.5 <sup>b</sup>	47.6±0.8 <sup>c</sup>	27.6±4.2 <sup>a</sup>	38.9±1.6 <sup>b</sup>
Crude lipid	3.7±0.14 <sup>bc</sup>	2.5±0.17 <sup>a</sup>	2.8±0.30 <sup>ab</sup>	3.4±0.31 <sup>ab</sup>	4.3±0.46 <sup>c</sup>	3.2±0.06 <sup>ab</sup>

<sup>1</sup> High unsaturated fatty acids (C≥20).

본 연구의 결과, 사료의 지질원, 지질함량 및 비타민 E 첨가는 넙치 치어의 성장에 영향을 미치지 않지만, 지질원에 따라 근육의 지방산 조성은 달라질 수 있으며 사료내 높은 탄수화물 함량은 넙치의 사료 이용성을 저하시킬 수 있을 것으로 판단된다.

## 5. 배합사료의 지질원 및 함량과 비타민 E 첨가가 넙치 육성어의 성장, 혈액성상 및 근육 지방산 조성에 미치는 영향

### 가. 재료 및 방법

#### 실험사료

실험사료는 Table 3-18에 나타낸 바와 같이 사료의 주요 단백질원으로 어분을 탄수화물원으로 소맥분을 사용하였다. 사료의 지질원, 지질 함량 및 비타민 E의 첨가 효과를 조사하기 위해 동물성 및 식물성 지질 첨가로 사료의 지질함량을 높여주거나 지질함량을 낮추고 전분첨가로 탄수화물 함량을 높인 사료에 비타민 E를 무첨가(HL-FO-VE, HL-VO-VE, LL-HC-VE) 및 0.4% 첨가(HL-FO+VE, HL-VO+VE, LL-HC+VE)하여 총 6종류의 실험사료를 설계하였다. 실험사료는 원료를 혼합한 후 원료 100g 당 물 40 g 을 첨가하여 펠렛 제조기로 성형한 후 실온에서 24시간 건조하였다. 제조된 실험사료는 -30℃에 보관하면서 필요시 공급하였다.

#### 실험어 및 사육관리

경북 포항의 개인 양식장에서 넙치 육성어를 구입하여 강릉대학교 해양생물연구교육센터로 수송한 후 상품사료로 2주간 예비 사육하였다. 평균체중 120 g 전후의 실험어를 무작위로 선별하여 총 18개의 FRP 수조수조(300L)에 20마리씩 3반복으로 수용하여 15주간 사육실험 하였다. 실험사료는 1일 1회(09:00, 주 6일 공급) 실험어가 먹을 때 까지 반복으로 공급하였다. 각 수조마다 약하게 폭기시켜 산소를 공급하였고, 여과된 자연해수를 각 실험수조마다 분당 2L로 조절하여 흘려주었으며, 사육기간 동안의 수온은  $20.9 \pm 1.2^{\circ}\text{C}$  (평균 $\pm$ 표준편차)였다. 그리고 사료공급 1시간 후, 사육수를 환수시켜 배설물 및 사료찌꺼기를 제거해 주었으며, 각 수조에서 죽은 개체는 매일 제거해 주었다.

#### 사료 채취 및 성분분석

사육실험 시작시와 종료시에는 측정 전일 절식시킨 후 MS222 100ppm 수용액에 마취시켜 수조에 수용된 모든 실험어의 전체무게를 측정하였다. 실험사료 및 근육의 일반성분은 AOAC (1995)의 방법에 따라 조단백질( $\text{N} \times 6.25$ )은 Auto Kjeldahl system을 사용하여 분석하였고, 조지방은 ether 추출법을 사용하였으며, 수분은 105℃ dry oven에서 6시간 동안 건조 후 측정하였고 조회분은 600℃ 회화로에서 4시간 동안 태운 후 측정하였다. 지방산 분석은 Folch et al. (1957)의 방법에 따라 클로로포름과 메탄올 혼합액(2:1)으로 총 지질을 추출하여 14% BF<sub>3</sub>-methanol

(Sigma, USA) 용액으로 지방산을 methylation 시킨 후, capillary column (SP<sup>TM</sup>-2560, 100 m× 0.25 mm i. d., film thickness 0.20 um, 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. 혈장성분의 변화를 조사하기 위해 각 실험구당 5마리씩 무작위로 추출하여 헤파린 주사액이 처리된 1 ml 주사기를 사용하여 실험어의 미부 혈관에서 채혈하였으며, 원심분리기 (3,500 rpm for 10 min)를 사용하여 얻은 혈장을 분석을 위해 동결보존(-70°C)하였다. 혈장내 total protein은 biuret법으로 glucose는 효소법으로, GOT는 kinetic UV법으로, total cholesterol은 COD-POD법으로 triglyceride는 유리 Glycerol 소거법을 사용하여 각각 분석하였다.

#### 육질의 품질평가

실험 종료시 분석용으로 표본추출하고 남은 어체를 청송횃집(강원 강릉)으로 운반하여 회로 손질한 후, 실험과 무관한 33명을 대상으로 관능평가를 실시하였다. 관능평가는 회(근육)의 색, 냄새, 맛 및 탄력성의 4가지 항목을 설정하였으며, 평가시 점수는 5점 만점으로 3점에 기준을 두어 상대평가 하였다. 그리고 근육의 물리적 평가를 위해, 각 수조에서 3마리씩 무작위로 넙치를 샘플링하여, Rheo meter를 이용하여 등근육의 최대 응력(MAX weight), 경도(Hardness) 그리고 강도(Gel strength)를 측정하였다.

#### 통계처리

결과의 통계 처리는 SPSS Version 14 (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.

#### 나. 결과

평균 체중 120 g 전후의 넙치 육성어를 15주간 사육 실험한 후, 성장 결과를 Table 3-23과 3-24에 각각 나타내었다. 증중율과 일간성장율은 HL-FO+VE 공급구에서 가장 높았고 LL-HC-VE와 HL-VO+VE 공급구에서 가장 낮았으며(P<0.05), HL-FO+VE 공급구와 HL-FO-VE, HL-VO-VE 및 LL-HC+VE 공급구간에 유의한

차이는 없었다( $P>0.05$ ). 간중량비는 비타민 E 첨가에 관계없이 낮은 지질함량에서 탄수화물 함량이 높은 실험구에서 낮은 값을 보였으나, 장 중량비는 실험구간에 유의한 차이가 없었다.

사료효율과 단백질 효율은 높은 지질함량과 비타민 E를 첨가한 HL-FO+VE와 HL-VO+VE 공급구에서 높은 값을 보였고, LL-HC+VE 공급구에서 가장 낮았다 ( $P<0.05$ ). 일일사료섭취율과 일일단백질섭취율은 LL-HC+VE 공급구에서 가장 높았으나( $P<0.05$ ), HL-VO-VE와 LL-HC-VE 공급구와 유의한 차이가 없었다( $P>0.05$ ). 비만도 및 폭에 대한 두께의 비는 실험구간에 유의한 차이를 보이지 않았다 ( $P>0.05$ ).

Table 3-23. Growth performance of growing flounder fed the experimental diets for 15 weeks<sup>1</sup>

Diets	Initial mean weight (g/fish)	Survival (%)	Weight gain (%)	Specific growth rate (%)	Hepatosomatic index	Visceralsomatic index
HL-FO-VE	120±2.2 <sup>ns</sup>	80±7.6 <sup>ns</sup>	207±5.4 <sup>ab</sup>	1.06±0.02 <sup>ab</sup>	1.81±0.22 <sup>b</sup>	1.79±0.07 <sup>ns</sup>
HL-VO-VE	119±1.2	92±4.4	201±10.5 <sup>ab</sup>	1.05±0.04 <sup>ab</sup>	1.74±0.10 <sup>b</sup>	1.78±0.08
LL-HC-VE	121±2.5	92±8.3	196±14.9 <sup>a</sup>	1.03±0.05 <sup>a</sup>	0.97±0.07 <sup>a</sup>	1.91±0.12
HL-FO+VE	119±2.8	80±2.9	230±5.7 <sup>b</sup>	1.13±0.02 <sup>b</sup>	1.62±0.12 <sup>b</sup>	1.97±0.09
HL-VO+VE	120±2.5	93±6.7	197±9.8 <sup>a</sup>	1.03±0.03 <sup>a</sup>	1.40±0.05 <sup>b</sup>	2.08±0.15
LL-HC+VE	121±1.5	85±5.8	209±0.9 <sup>ab</sup>	1.07±0.00 <sup>ab</sup>	0.96±0.16 <sup>a</sup>	1.53±0.36

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

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

Table 3-24. Feed utilization of growing flounder fed the experimental diets for 15 weeks

Diets	Feed efficiency (%)	Daily feed intake (%)	Daily protein intake (%)	Protein efficiency ratio	Condition factor	Thickness (cm) /Width (cm)
HL-FO-VE	113±10.1 <sup>ab</sup>	0.68±0.01 <sup>a</sup>	0.33±0.004 <sup>a</sup>	2.8±0.25 <sup>ab</sup>	1.36±0.15 <sup>ns</sup>	0.2±0.01 <sup>ns</sup>
HL-VO-VE	110±5.2 <sup>ab</sup>	0.74±0.03 <sup>ab</sup>	0.36±0.014 <sup>ab</sup>	2.7±0.13 <sup>ab</sup>	1.20±0.05	0.2±0.01
LL-HC-VE	107±1.7 <sup>ab</sup>	0.75±0.02 <sup>ab</sup>	0.38±0.012 <sup>b</sup>	2.6±0.04 <sup>ab</sup>	1.05±0.12	0.2±0.01
HL-FO+VE	122±1.2 <sup>b</sup>	0.67±0.01 <sup>a</sup>	0.33±0.006 <sup>a</sup>	2.9±0.03 <sup>b</sup>	1.20±0.07	0.2±0.01
HL-VO+VE	121±0.6 <sup>b</sup>	0.68±0.04 <sup>a</sup>	0.33±0.022 <sup>a</sup>	3.0±0.02 <sup>b</sup>	1.09±0.07	0.2±0.01
LL-HC+VE	96±5.1 <sup>a</sup>	0.80±0.03 <sup>b</sup>	0.39±0.002 <sup>b</sup>	2.4±0.13 <sup>a</sup>	1.14±0.08	0.2±0.01

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

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

사육실험 15주 후, 어체의 미부동맥에서 추출한 혈액의 정상변화를 Table 3-25에 나타내었다. Total protein, glucose 및 cholesterol 함량은 HL-FO-VE 공급구에서 가장 높게 나타났고, triglyceride 함량은 HL-VO+VE 공급구에서 가장 높았다.

Table 3-25. Hematological change of the plasma in growing flounder fed the experimental diets for 15 weeks<sup>1</sup>

Diets	Total protein (g/100ml)	Glucose (mg/100ml)	GOT (IU/L)	Cholesterol (g/100ml)	Triglyceride (mg/100ml)
HL-FO-VE	4.9±0.15 <sup>c</sup>	44.5±7.80 <sup>b</sup>	6.3±0.48 <sup>ns</sup>	406±4.6 <sup>d</sup>	85±2.0 <sup>b</sup>
HL-VO-VE	3.9±0.12 <sup>a</sup>	31.3±1.50 <sup>a</sup>	8.3±0.48 <sup>ns</sup>	248±10.9 <sup>b</sup>	51±8.9 <sup>a</sup>
LL-HC-VE	3.9±0.14 <sup>a</sup>	23.3±1.00 <sup>a</sup>	6.8±0.48 <sup>ns</sup>	206±6.2 <sup>a</sup>	56±5.5 <sup>a</sup>
HL-FO+VE	4.4±0.07 <sup>b</sup>	30.5±2.00 <sup>a</sup>	5.5±0.87 <sup>ns</sup>	339±16.2 <sup>c</sup>	161±8.4 <sup>c</sup>
HL-VO+VE	4.2±0.10 <sup>ab</sup>	31.8±1.93 <sup>a</sup>	7.3±0.75 <sup>ns</sup>	251±11.3 <sup>b</sup>	62±8.2 <sup>a</sup>
LL-HC+VE	4.1±0.03 <sup>a</sup>	28.3±1.80 <sup>a</sup>	6.8±0.25 <sup>ns</sup>	212±5.8 <sup>a</sup>	55±5.5 <sup>a</sup>

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

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

사육실험 15 주 후의 등근육 지방산 조성 및 지질함량을 Table 3-26에 표시하였다. 넙치 근육의 지방산 조성은 사료의 비타민 E 첨가에 관계없이 지질원으로 식물성 지질을 첨가한 HL-VO 공급구에서는 18:2n-6과 C18:3n-3 함량이, 지질원으로 오징어 간유를 첨가한 HL-FO 공급구에서는 n-3HUFA 함량이 높게 나타났다. 그리고 C22:5n-3 함량은 사료의 비타민 E 첨가에 관계없이 식물성 지질을 첨가한 HL-VO 공급구에서 낮은 값을 보였다. 근육의 지질함량은 HL-VO+VE 공급구에서 가장 높았고 HL-VO-VE 공급구에서 가장 낮았으며(P<0.05), HL-VO+VE 공급구와 HL-FO-VE 공급구간에 유의한 차이는 없었다(P>0.05).

Table 3-26. Fatty acids composition (% of total fatty acids) of dorsal muscle in growing flounder fed experimental diet for 15 weeks<sup>1</sup>

Fatty acids	Diets					
	HL-FO-VE	HL-VO-VE	LL-HC-VE	HL-FO+VE	HL-VO+VE	LL-HC+VE
C14:0	1.6±0.12 <sup>b</sup>	0.8±0.01 <sup>a</sup>	1.5±0.14 <sup>b</sup>	1.7±0.08 <sup>b</sup>	1.0±0.10 <sup>a</sup>	1.7±0.11 <sup>b</sup>
C16:0	23.8±0.1 <sup>ab</sup>	23.6±0.1 <sup>ab</sup>	24.9±1.0 <sup>b</sup>	23.8±0.5 <sup>ab</sup>	22.1±0.5 <sup>a</sup>	25.0±0.5 <sup>b</sup>
C16:1	0.7±0.03 <sup>bc</sup>	0.4±0.01 <sup>a</sup>	0.9±0.14 <sup>c</sup>	0.9±0.09 <sup>c</sup>	0.5±0.05 <sup>ab</sup>	0.7±0.05 <sup>bc</sup>
C18:0	1.8±0.5	1.7±0.1	3.3±2.6	3.3±1.0	2.9±1.5	1.8±0.7
C18:1n-9	6.1±0.11 <sup>ab</sup>	7.4±0.01 <sup>c</sup>	6.5±0.19 <sup>b</sup>	5.9±0.25 <sup>a</sup>	7.2±0.05 <sup>c</sup>	6.5±0.06 <sup>b</sup>
C18:2n-6	10.0±0.4 <sup>a</sup>	14.7±0.1 <sup>c</sup>	10.9±0.6 <sup>ab</sup>	10.1±0.2 <sup>a</sup>	15.3±0.2 <sup>c</sup>	12.3±1.1 <sup>b</sup>
C18:3n-3	3.7±0.2 <sup>a</sup>	18.8±0.1 <sup>c</sup>	6.0±0.4 <sup>ab</sup>	3.8±0.1 <sup>ab</sup>	18.2±2.0 <sup>c</sup>	6.5±0.5 <sup>b</sup>
C20:4n-6	3.6±0.1 <sup>c</sup>	0.6±0.1 <sup>a</sup>	2.6±0.1 <sup>bc</sup>	1.6±0.7 <sup>ab</sup>	1.0±0.3 <sup>a</sup>	2.6±0.1 <sup>bc</sup>
C20:5n-3	6.4±0.2 <sup>b</sup>	3.1±0.1 <sup>a</sup>	6.1±0.2 <sup>b</sup>	6.1±0.1 <sup>b</sup>	3.4±0.4 <sup>a</sup>	6.2±0.3 <sup>b</sup>
C22:6n-3	42.3±0.5 <sup>c</sup>	29.2±0.1 <sup>a</sup>	37.3±0.6 <sup>b</sup>	42.7±1.6 <sup>c</sup>	28.3±2.0 <sup>a</sup>	36.7±0.9 <sup>b</sup>
n-3HUFA <sup>1</sup>	48.7±0.3 <sup>c</sup>	32.2±0.1 <sup>a</sup>	43.4±0.4 <sup>b</sup>	48.8±1.5 <sup>c</sup>	31.7±2.4 <sup>a</sup>	42.9±0.7 <sup>b</sup>
Crude lipid	5.1±0.27 <sup>c</sup>	4.2±0.58 <sup>bc</sup>	2.5±0.11 <sup>a</sup>	3.9±0.77 <sup>abc</sup>	4.1±0.47 <sup>bc</sup>	2.9±0.29 <sup>ab</sup>

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

<sup>2</sup> High unsaturated fatty acids (C≥20).

이상으로 결과로부터, 사료의 지질원 및 지질함량은 넙치 육성어의 성장에 영향을 미치지 않는 것으로 보이나, 비타민 E 첨가는 사료 이용성을 향상시킬 수 있을 것으로 판단된다. 또한, 사료내 높은 탄수화물 함량은 넙치의 사료 이용성을 저하시킬 수 있다.

## 3.2. 기능성 어류 생산을 위한 배합사료 개발 연구

### 1. 배합사료내 다양한 첨가제가 넙치 치어의 성장, 혈액성상 및 근육 지방산 조성에 미치는 영향

#### 가. 서론

양식어류 배합사료에 관한 영양소 요구량 설정 등 기초적인 연구가 계속 수행되고 있으나 대상종 배합사료가 연구되고 있다 하더라도 그 품질을 계속 개선하여 사료효율을 높이고 값비싼 영양소의 첨가수준을 최소화하여 사료원가를 줄이는 연구와 양식어의 성장과 품질을 개선시키기 위한 연구는 계속되어야 할 것이다. 어류의 성장을 증진시키거나 품질을 개선시키는 것은 어렵지만, 어류의 식성 등을 고려하여 사료섭취 유인 물질이나 성장, 양식어의 육질을 개선시키고 면역을 증강시키는 원료를 사료에 첨가하여 어체의 품질을 개선하려는 연구가 필요하다.

사료 첨가제의 효능은 어종이나 사료조성 및 사료품질 등에 따라서 다를 수 있으므로(Lindsay et al., 1984; Kono et al., 1987; Shiau and Yu, 1999), 첨가제 사용에는 반드시 이에 대한 고려가 필요하다. 가령 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 적정함량 이상 사용하는 것은 첨가제의 종류에 따라서 오히려 부작용이 나타날 수도 있으며(Shiau and Yu, 1999), 그에 따른 경제적인 불이익을 초래할 수 있다. 따라서 양식 대상종의 성장, 품질 및 생리 상태를 향상시킬 수 있는 첨가제의 효능은 첨가제 종류 및 효능범위에 따른 생리적인 변화 등을 고려하면서 연구되어야 할 것이다. 본 연구에서는 기존에 수행된 넙치의 영양소 이용성에 관한 연구결과들을 토대로 배합사료를 설계하여 넙치 치어 및 육성어의 성장과 체조성에 미치는 부작용을 최소화 할 수 있는 각종 첨가제를 탐색하고 그 가능성을 타진하고자 하였다.

#### 나. 재료 및 방법

##### 실험사료

Table 3-27에 나타낸 바와 같이, 대조사료(Con)는 주요 단백질원으로 어분을 사용하였고, 탄수화물원으로 소맥분을 사용하였으며, 지질원으로 오징어간유, 아마인유 및 대두유를 각각 사용하였다. 다양한 첨가제의 효과를 조사하기 위하여 대조사

료(Con)의 소맥분 대신 kelp meal 5%(A1), 어분 대신 krill meal 10%(A2), 그리고 마늘, 양파, 생강, 약썩, 감초, 와사비, 감귤분말 및 각 첨가제의 혼합물을 각각 1%씩 그리고 양파를 3% 첨가하여(A3-A10) 총 11종류의 실험사료를 넙치의 요구량 (Lee et al., 2000, 2002; Kim et al., 2002; Kim and Lee, 2004)에 맞도록 설계하였다. 이와 같이 설계된 원료들을 분말형태로 잘 혼합하고, 물을 첨가하여 펠렛 제조기로 성형한 후 실온에서 24시간 건조하였다. 제조된 실험사료는 -30°C에서 보관하면서 사료 공급시마다 사용하였다.

#### 실험어 및 사육관리

전북 고창의 개인 양식장에서 종묘 생산된 넙치 치어를 구입하여 강릉대학교 해양생물연구교육센터로 수송한 후 상품사료로 2주간 예비 사육하였다. 평균체중 8.8 g 전후의 실험어를 무작위로 선별하여 총 33개의 수조(50L 사각수조)에 40마리씩 3반복으로 수용하여 15주간 사육실험 하였다. 실험사료는 1일 2회(09:00와 17:00, 주 6일 공급) 실험어가 먹을 때 까지 반복으로 공급하였다. 각 수조마다 약하게 폭기시켜 산소를 공급하였고, 여과된 자연해수를 각 실험수조마다 분당 2L로 조절하여 흘러주었으며, 사육기간 동안의 수온은  $20.9 \pm 1.2^\circ\text{C}$  (평균 $\pm$ 표준편차)였다. 그리고 사료공급 1시간 후, 사육수를 환수시켜 배설물 및 사료찌꺼기를 제거해 주었으며, 각 수조에서 죽은 개체는 매일 제거해 주었다.

#### 사료 채취 및 성분분석

사육실험 시작시와 종료시에는 측정 전일 절식시킨 후 MS222 100ppm 수용액에 마취시켜 수조에 수용된 모든 실험어의 전체무게를 측정하였다. 실험사료 및 근육의 일반성분은 AOAC (1995)의 방법에 따라 조단백질(N $\times$  6.25)은 Auto Kjeldahl system을 사용하여 분석하였고, 조지방은 ether 추출법을 사용하였으며, 수분은 105°C dry oven에서 6시간 동안 건조 후 측정하였고 조회분은 600°C 회화로에서 4시간 동안 태운 후 측정하였다. 지방산 분석은 Folch et al. (1957)의 방법에 따라 클로로포름과 메탄올 혼합액(2:1)으로 총 지질을 추출하여 14% BF<sub>3</sub>-methanol (Sigma, USA) 용액으로 지방산을 methylation 시킨 후, capillary column (SP<sup>TM</sup>-2560, 100 m $\times$  0.25 mm i. d., film thickness 0.20  $\mu\text{m}$ , 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. 혈장성분의 변화를 조사하기 위해 각 실험구당 5마리씩 무작위로 추출하여 헤파린 주사액이 처리된 1 ml 주사기를 사용하여 실험어의 미부 혈관에서 채혈하였으며, 원심분리기 (3,500 rpm for 10 min)를 사용하여 얻은 혈장을 분석을 위해 동결보존(-70℃)하였다. 혈장내 total protein은 biuret법으로 glucose는 효소법으로, GOT는 kinetic UV법으로, total cholesterol은 COD-POD법으로 triglyceride는 유리 Glycerol 소거법을 사용하여 각각 분석하였다.

#### 통계처리

결과의 통계 처리는 SPSS Version 14 (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.

Table 3-27. Composition and proximate analysis of the experiment diets (% of dry matter basis)

Ingredient	Diets										
	CON	A1	A2	A3	A4	A5	A6	A7	A8	A9	A10
Fish meal	50	50	40	50	50	50	50	50	50	50	50
Wheat flour	27.7	22.7	26.7	26.7	26.7	26.7	26.7	26.7	26.7	26.7	26.7
Dehulled soya	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7
Wheat gluten	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
Beer yeast	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
Squid liver oil	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Linseed oil	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
soybean oil	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
Vitamin premix	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5
Mineral premix	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5
Choline	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
Vitamin E	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04
Vitamin C	0.15	0.15	0.15	0.15	0.15	0.15	0.15	0.15	0.15	0.15	0.15
Garlic				1		0.2					
Onion						0.5	3				
Ginger						0.2		1			
Mugwort						0.2			1		
Licorice						0.2				1	
Wasabi						0.2					1
Orange					1	0.2					
Kelp meal		5									
Krill meal			10								
<i>Nutrient contents (% of dry matter basis)</i>											
Dry matter	84.0	84.7	85.7	85.4	87.5	87.9	86.3	86.7	85.7	86.5	87.1
Crude protein	49.2	49.4	48.1	49.3	49.0	48.3	48.7	48.7	49.6	49.7	49.5
Crude lipid	10.0	10.0	10.5	10.3	10.3	10.2	10.5	10.2	9.9	10.0	9.8
Ash	9.4	11.7	9.4	9.6	9.3	10.3	10.0	9.9	9.8	8.3	9.8

#### 나. 결과

평균 체중 8.7 g의 넙치를 15주간 사육 실험한 결과를 Table 3-28과 3-29에 나타내었다. 생존율, 증중율, 일간성장율, 비만도, 간 중량지수 및 장 중량지수는 모든 실험구간에 유의한 차이가 없었으며( $P>0.05$ ), 사료효율, 일일사료섭취율, 일일단백질섭취율 및 단백질효율 또한 실험사료의 다양한 첨가제에 영향을 받지 않았다( $P>0.05$ ).

Table 3-28. Growth performance of juvenile flounder fed the experimental diets for 15 weeks

Diets	Initial weight (g/fish)	Survival (%)	Weight gain (%)	Specific growth rate (%)	Condition factor	Hepatosomatic index	Visceralsomatic index
Con	8.7±0.1 <sup>ns</sup>	86±1.7 <sup>ns</sup>	968±72.8 <sup>ns</sup>	2.23±0.07 <sup>ns</sup>	1.04±0.06 <sup>ns</sup>	1.82±0.17 <sup>ns</sup>	1.95±0.11 <sup>ns</sup>
A1	8.9±0.1	89±3.5	861±16.4	2.17±0.03	1.01±0.04	1.23±0.28	1.89±0.29
A2	8.6±0.1	84±8.1	955±14.0	2.23±0.03	0.99±0.04	1.45±0.15	1.94±0.14
A3	8.9±0.1	89±2.3	914±70.8	2.20±0.06	1.04±0.02	1.43±0.27	2.01±0.18
A4	8.5±0.1	85±4.3	998±28.6	2.27±0.03	1.10±0.03	1.75±0.28	2.15±0.07
A5	8.6±0.1	89±5.2	986±15.6	2.27±0.03	0.99±0.06	1.53±0.22	1.91±0.13
A6	8.8±0.1	89±3.5	1003±53.7	2.30±0.06	1.05±0.05	1.86±0.39	1.96±0.17
A7	8.7±0.2	85±3.9	992±42.8	2.27±0.03	1.06±0.05	1.50±0.33	1.81±0.23
A8	8.8±0.1	84±2.3	987±75.9	2.27±0.07	1.02±0.01	1.20±0.26	1.80±0.39
A9	8.8±0.1	88±1.5	985±64.8	2.30±0.06	1.03±0.02	1.51±0.21	2.12±0.02
A10	8.8±0.2	85±1.7	959±36.6	2.27±0.03	1.02±0.02	1.28±0.21	1.96±0.07

Table 3-29. Feed utilization of juvenile flounder fed the experimental diets for 15 weeks

Diets	Feed efficiency (%)	Daily feed intake (%)	Daily protein intake (%)	Protein efficiency ratio
Con	104±9.7 <sup>ns</sup>	0.08±0.006 <sup>ns</sup>	0.04±0.001 <sup>ns</sup>	2.10±0.21 <sup>ns</sup>
A1	105±4.0	0.07±0.002	0.03±0.003	2.13±0.09
A2	111±9.9	0.07±0.00	0.03±0.003	2.27±0.20
A3	112±9.1	0.07±0.007	0.03±0.003	2.30±0.17
A4	106±11.3	0.07±0.007	0.03±0.003	2.17±0.23
A5	117±2.4	0.07±0.002	0.03±0.003	2.43±0.03
A6	109±4.7	0.07±0.006	0.03±0.003	2.27±0.09
A7	106±7.2	0.08±0.006	0.03±0.003	2.17±0.15
A8	117±10.3	0.08±0.007	0.04±0.006	2.37±0.22
A9	114±3.0	0.08±0.006	0.04±0.003	2.27±0.03
A10	116±10.2	0.08±0.004	0.04±0.003	2.37±0.22

어체의 미부동맥에서 추출한 혈액 성분변화를 Table 3-30에 나타내었다. Total protein 함량은 kelp meal을 첨가한 A1과 첨가제 혼합물을 첨가한 A5 공급구에서 높게 나타났고, 약썩을 첨가한 A8 공급구에서 가장 낮았다(P<0.05). Triglyceride 함량은 krill을 첨가한 A2 공급구에서 가장 높았으나, Con, 감귤(A4) 및 와사비(A10) 첨가구와 유의한 차이가 없었으며(P>0.05), 생강(A7)과 약썩(A8) 첨가구에서 낮은 함량을 보였다. 혈장내 glucose, GOT 및 cholesterol 함량은 사료 첨가제에 영향을 받지 않았다(P<0.05).

Table 3-30. Hematological change of the plasma in juvenile flounder fed the experimental diets for 15 weeks<sup>1</sup>

Diets	Total protein (g/100ml)	Glucose (mg/100ml)	GOT (IU/L)	Cholesterol (g/100ml)	Triglyceride (mg/100ml)
Con	3.63±0.03 <sup>cd</sup>	27.3±1.18 <sup>ns</sup>	10.3±0.75 <sup>ns</sup>	243±11.6 <sup>ns</sup>	146±27.4 <sup>c</sup>
A1	3.70±0.07 <sup>d</sup>	28.50±0.65	9.0±0.58	242±6.3	66±13.4 <sup>ab</sup>
A2	3.58±0.05 <sup>bcd</sup>	31.75±4.21	13.5±1.50	230±6.0	162±17.2 <sup>c</sup>
A3	3.52±0.09 <sup>abcd</sup>	24.50±0.65	13.3±2.39	230±16.9	71±5.9 <sup>ab</sup>
A4	3.60±0.09 <sup>bcd</sup>	25.75±1.93	15.0±1.92	253±8.8	113±15.3 <sup>bc</sup>
A5	3.73±0.15 <sup>d</sup>	24.50±0.65	11.3±0.75	260±13.7	79±17.4 <sup>ab</sup>
A6	3.50±0.04 <sup>abcd</sup>	27.00±1.87	13.3±0.85	222±4.1	60±11.8 <sup>ab</sup>
A7	3.63±0.05 <sup>cd</sup>	26.25±0.48	12.0±1.29	249±9.5	57±7.0 <sup>a</sup>
A8	3.30±0.07 <sup>a</sup>	23.25±0.48	10.0±0.71	214±12.0	44±2.5 <sup>a</sup>
A9	3.35±0.10 <sup>ab</sup>	27.25±0.95	12.8±0.48	235±15.4	68±8.1 <sup>ab</sup>
A10	3.40±0.08 <sup>abc</sup>	24.50±1.19	11.3±1.03	219±4.0	154±34.3 <sup>c</sup>

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

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

사육실험 종료 후, 등근육 지방산 조성 및 지질함량을 Table 3-31에 표시하였다. 실험사료에 관계없이 16:0, 18:1n-9, 18:2n-6 및 22:6n-3 함량이 각각 높게 나타났으며, 근육의 지방산 조성은 사료 첨가제에 영향을 받지 않았다(P>0.05). 등근육의 지질함량 또한 실험구간에 유의한 차이를 보이지 않았다(P>0.05).

Table 3-31. Fatty acids and crude lipid composition (%) of dorsal muscle in juvenile flounder fed experimental diet for 15 weeks

	Diets											SEM
	CON	A1	A2	A3	A4	A5	A6	A7	A8	A9	A10	
Fatty acids (% of total fatty acids)												
C16:0	23.0	23.1	23.9	23.4	23.7	23.1	22.9	23.8	23.6	23.4	23.9	0.36
C16:1	0.2	0.2	0.2	0.3	0.2	0.3	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.01
C17:0	0.1	0.1	0.2	0.1	0.2	0.2	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.05
C17:1	0.5	0.4	0.2	0.2	0.1	0.4	0.4	0.2	0.2	0.4	0.4	0.04
C18:0	6.4	6.5	7.0	4.7	5.7	7.0	7.0	4.6	4.6	4.7	4.9	0.48
C18:1n-9	13.9	13.6	13.3	14.2	14.0	13.5	13.4	13.7	13.7	13.5	13.7	0.12
C18:2n-6	19.9	18.2	18.1	18.7	16.8	18.6	18.0	18.2	18.1	17.9	17.9	0.24
C18:3n-3	6.7	6.0	6.4	6.8	5.6	6.1	6.4	6.5	6.6	6.4	6.1	0.13
C18:3n-6	0.2	0.1	0.3	0.2	0.3	0.4	0.3	0.2	0.2	0.2	0.3	0.02
C20:3n-3	0.1	0.1	0.3	0.2	0.2	0.2	0.1	0.1	0.1	0.3	0.2	0.02
C20:4n-6	0.6	0.6	0.6	0.5	0.7	0.6	0.7	0.7	0.6	1.0	0.6	0.05
C20:5n-3	5.3	5.8	5.7	5.7	4.6	5.2	5.7	5.9	5.7	5.7	5.5	0.09
C22:1n-9	0.2	0.2	0.2	0.2	0.3	0.3	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.01
C22:6n-3	22.9	25.1	23.6	24.8	22.9	24.3	24.5	25.6	25.9	26.0	25.9	0.34
n-3HUFA <sup>1</sup>	28.3	31.0	23.6	30.7	27.7	29.7	30.4	31.6	31.7	32.0	31.6	0.41
Crude lipid	3.0	3.3	3.6	2.5	3.2	2.4	3.9	3.0	3.6	2.7	2.9	0.13

<sup>1</sup> High unsaturated fatty acids (C $\geq$ 20).

이상의 결과들로 보아, 본 연구에 사용된 첨가제들은 넙치 치어의 성장 및 사료 이용성에 영향을 미치지 않는 것으로 생각된다. 하지만, 이전 연구들에서 사료첨가제에 의해 면역반응 및 질병저항성이 향상된다고 보고되어 있다. 그러므로, 향후 다양한 첨가제에 대한 넙치 치어의 면역반응 및 질병 저항성에 대한 연구가 수행되어야 할 것으로 생각된다.

## 2. 배합사료내 다양한 첨가제가 넙치 육성어의 성장, 혈액성상 및 근육 지방산 조성에 미치는 영향

### 나. 재료 및 방법

#### 실험사료

Table 3-27에 나타낸 바와 같이, 대조사료(Con)는 주요 단백질원으로 어분을 사용하였고, 탄수화물원으로 소맥분을 사용하였으며, 지질원으로 오징어간유, 아마인유 및 대두유를 각각 사용하였다. 다양한 첨가제의 효과를 조사하기 위하여 대조사료(Con)의 소맥분 대신 kelp meal 5%(A1), 어분 대신 krill meal 10%(A2), 그리고 마늘(A3), 감귤분말(A4) 및 각 첨가제의 혼합물(A5)을 각각 1%씩 첨가하여 총 6 종류의 실험사료를 넙치의 요구량(Lee et al., 2000, 2002; Kim et al., 2002; Kim and Lee, 2004)에 맞도록 설계하였다. 이와 같이 설계된 원료들을 분말형태로 잘 혼합하고, 물을 첨가하여 펠렛 제조기로 성형한 후 실온에서 24시간 건조하였다. 제조된 실험사료는  $-30^{\circ}\text{C}$ 에서 보관하면서 사료 공급시마다 사용하였다.

#### 실험어 및 사육관리

경북 포항의 개인 양식장에서 넙치 육성어를 구입하여 강릉대학교 해양생물연구교육센터로 수송한 후 상품사료로 2주간 예비 사육하였다. 평균체중 120 g 전후의 실험어를 무작위로 선별하여 총 33개의 FRP 수조수조(300L)에 20마리씩 3반복으로 수용하여 15주간 사육실험 하였다. 실험사료는 1일 1회(09:00, 주 6일 공급) 실험어가 먹을 때 까지 반복으로 공급하였다. 각 수조마다 약하게 폭기시켜 산소를 공급하였고, 여과된 자연해수를 각 실험수조마다 분당 5L로 조절하여 흘려주었으며, 사육기간 동안의 수온은  $20.9\pm 1.2^{\circ}\text{C}$ (평균 $\pm$ 표준편차)였다. 그리고 사료공급 1시간 후, 사육수를 환수시켜 배설물 및 사료찌꺼기를 제거해 주었으며, 각 수조에서 죽은 개체는 매일 제거해 주었다.

#### 시료 채취 및 성분분석

사육실험 시작시와 종료시에는 측정 전일 절식시킨 후 MS222 100ppm 수용액에 마취시켜 수조에 수용된 모든 실험어의 전체무게를 측정하였다. 실험사료 및 근육의 일반성분은 AOAC (1995)의 방법에 따라 조단백질(N $\times$  6.25)은 Auto Kjeldahl system을 사용하여 분석하였고, 조지방은 ether 추출법을 사용하였으며, 수분은 105 $^{\circ}\text{C}$  dry oven에서 6시간 동안 건조 후 측정하였고 조회분은 600 $^{\circ}\text{C}$  회화로에서 4시

간 동안 태운 후 측정하였다. 지방산 분석은 Folch et al. (1957)의 방법에 따라 클로로포름과 메탄올 혼합액(2:1)으로 총 지질을 추출하여 14% BF<sub>3</sub>-methanol (Sigma, USA) 용액으로 지방산을 methylation 시킨 후, capillary column (SP<sup>TM</sup>-2560, 100 m×0.25 mm i. d., film thickness 0.20 um, 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. 혈장성분의 변화를 조사하기 위해 각 실험구당 5마리씩 무작위로 추출하여 헤파린 주사액이 처리된 1 ml 주사기를 사용하여 실험어의 미부 혈관에서 채혈하였으며, 원심분리기 (3,500 rpm for 10 min)를 사용하여 얻은 혈장을 분석을 위해 동결보존(-70°C)하였다. 혈장내 total protein은 biuret법으로 glucose는 효소법으로, GOT와 GPT는 kinetic UV법으로, total cholesterol은 COD-POD법으로 triglyceride는 유리 Glycerol 소거법을 사용하여 각각 분석하였다.

#### 통계처리

결과의 통계 처리는 SPSS Version 14 (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.

#### 나. 결과

평균 체중  $120 \pm 2.9$  g의 녀치를 15주간 사육 실험한 결과를 Table 3-32과 3-33에 나타내었다. 생존율, 증중율, 일간성장율, 간 중량지수 및 장 중량지수는 모든 실험구간에 유의한 차이가 없었다( $P > 0.05$ ). 사료효율과 단백질효율은 마늘을 첨가한 A3 공급구가 가장 높은 값을 보였으며( $P < 0.05$ ), 그 외 실험구간에 유의한 차이는 없었다( $P > 0.05$ ). 일일사료섭취율, 일일단백질섭취율, 비만도 및 폭에 대한 두께의 비는 첨가제에 영향을 받지 않았다( $P > 0.05$ ).



Table 3-32. Growth performance of growing flounder fed the experimental diets for 15 weeks<sup>1</sup>

Diets	Initial mean weight (g/fish)	Survival (%)	Weight gain (%)	Specific growth rate (%)	Hepatosomatic index	Visceralsomatic index
Con	122±2.5 <sup>ns</sup>	72±9.3 <sup>ns</sup>	207±6.6 <sup>ns</sup>	1.07±0.02 <sup>ns</sup>	1.97±0.07 <sup>ns</sup>	2.18±0.143 <sup>ns</sup>
A1	119±0.6	90±2.9	220±7.2	1.11±0.02	1.62±0.15	2.15±0.06
A2	119±4.9	75±5.0	193±9.7	1.02±0.03	1.72±0.30	1.90±0.07
A3	121±3.0	80±10.0	218±1.5	1.10±0.01	1.22±0.35	1.86±0.23
A4	121±2.1	75±13.2	237±15.0	1.15±0.04	1.68±0.08	2.08±0.04
A5	119±3.9	70±10.0	216±25.8	1.09±0.07	1.80±0.10	1.98±0.01

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

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

Table 3-33. Feed utilization of growing flounder fed the experimental diets for 15 weeks<sup>1</sup>

Diets	Feed efficiency (%)	Daily feed intake (%)	Daily protein intake (%)	Protein efficiency ratio	Condition factor	Thickness (cm) /Width (cm)
Con	103±5.8 <sup>a</sup>	0.69±0.03 <sup>ns</sup>	0.34±0.019 <sup>ns</sup>	2.5±0.14 <sup>a</sup>	1.21±0.04 <sup>ns</sup>	0.2±0.01 <sup>ns</sup>
A1	112±3.1 <sup>a</sup>	0.76±0.02	0.38±0.01	2.7±0.13 <sup>a</sup>	1.12±0.07	0.2±0.02
A2	107±1.1 <sup>a</sup>	0.67±0.01	0.33±0.01	2.6±0.04 <sup>a</sup>	1.20±0.02	0.2±0.01
A3	127±2.9 <sup>b</sup>	0.63±0.04	0.31±0.02	3.1±0.12 <sup>b</sup>	1.21±0.06	0.2±0.01
A4	113±2.2 <sup>a</sup>	0.68±0.04	0.34±0.02	2.7±0.10 <sup>a</sup>	1.14±0.01	0.2±0.01
A5	106±5.5 <sup>a</sup>	0.68±0.02	0.33±0.10	2.6±0.24 <sup>a</sup>	1.18±0.03	0.2±0.01

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

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

사육실험 15주 후, 어체의 미부동맥에서 추출한 혈액의 정상변화를 Table 3-34에 나타내었다. Total protein, glucose 및 GOT 함량은 실험구간에 유의한 차이를 보이지 않았으나(P>0.05), cholesterol은 A2 공급구에서 가장 높은 함량을 보였으나,

A4와 A5 공급구와 유의한 차이가 없었다. Triglyceride 함량은 A3 공급구가 다른 사료 공급구에 비해 유의하게 높게 나타났다( $P<0.05$ ).

Table 3-34. Hematological change of the plasma in growing flounder fed the experimental diets for 15 weeks<sup>1</sup>

Diets	Total protein (g/100ml)	Glucose (mg/100ml)	GOT (IU/L)	Cholesterol (g/100ml)	Triglyceride (mg/100ml)
Con	4.2±0.14 <sup>ns</sup>	36±6.0 <sup>ns</sup>	6.0±0.4 <sup>ns</sup>	208±3.4 <sup>a</sup>	42±8.7 <sup>a</sup>
A1	4.2±0.14	30±2.2	6.0±0.0	205±6.6 <sup>a</sup>	72±7.1 <sup>a</sup>
A2	4.4±0.18	30±1.6	5.8±0.3	243±11.7 <sup>c</sup>	44±6.6 <sup>a</sup>
A3	4.2±0.11	24±1.5	5.3±0.3	218±1.3 <sup>ab</sup>	167±18.4 <sup>b</sup>
A4	4.4±0.05	31±2.8	5.8±0.3	228±7.2 <sup>abc</sup>	44±6.1 <sup>a</sup>
A5	4.3±0.12	32±1.1	5.8±0.5	234±10.7 <sup>bc</sup>	70±8.3 <sup>a</sup>

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

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

사육실험 종료 후, 등근육 지방산 조성 및 지질함량을 Table 3-35에 표시하였다. 등근육의 16:0, 18:1n-9, 18:2n-6 및 22:6n-3 함량은 실험구간에 유의한 차이 없이 높은 값을 보였으며, 등근육의 지질함량 또한 실험구간에 유의한 차이가 없었다 ( $P>0.05$ ).

Table 3-35. Fatty acids (% of total fatty acids) and crude lipid (% of dry matter basis) composition of dorsal muscle in growing flounder fed experimental diet for 15 weeks

Fatty acids	Diets					
	Con	A1	A2	A3	A4	A5
C14:0	1.5±0.1 <sup>a</sup>	1.5±0.1 <sup>a</sup>	2.2±0.1 <sup>b</sup>	1.4±0.2 <sup>a</sup>	1.7±0.1 <sup>a</sup>	1.4±0.1 <sup>a</sup>
C16:0	24.8±1.3	25.0±0.8	26.4±0.3	25.0±0.8	25.2±0.3	25.8±0.7
C16:1	0.9±0.5	0.6±0.1	0.8±0.1	0.6±0.1	0.9±0.2	0.9±0.2
C18:0	0.5±0.1	2.8±1.9	0.9±0.1	1.3±0.2	1.7±0.4	1.5±0.6
C18:1n-9	9.6±2.3	7.8±0.2	7.3±0.5	7.1±0.2	6.4±0.8	8.2±0.3
C18:2n-6	17.2±0.7	17.5±0.4	18.7±0.7	17.6±0.6	18.4±0.1	17.4±0.1
C18:3n-3	7.5±0.4	6.7±0.3	7.2±0.7	8.7±3.0	7.4±0.2	6.4±0.1
C20:4n-6	2.0±0.1 <sup>c</sup>	0.6±0.1 <sup>ab</sup>	0.6±0.1 <sup>ab</sup>	0.5±0.1 <sup>a</sup>	1.2±0.3 <sup>b</sup>	1.0±0.4 <sup>ab</sup>
C20:5n-3	5.0±0.2	5.1±0.3	5.4±0.1	5.2±0.5	5.6±0.1	5.0±0.2
C22:6n-3	31.0±2.3	32.4±1.3	30.6±1.4	32.7±1.2	31.5±0.9	32.4±0.9
n-3HUFA <sup>1</sup>	36.0±2.1	37.5±1.3	36.0±1.5	39.9±1.3	37.2±0.8	37.4±0.6
Crude lipid	2.7±0.67	3.7±0.56	2.7±0.44	3.7±0.93	3.4±0.86	2.2±0.09

<sup>1</sup> High unsaturated fatty acids (C≥20).

이상의 결과들로 보아, 본 연구에 사용된 첨가제들은 넙치 치어의 성장 및 사료 이용성에 영향을 미치지 않아 치어와 유사한 결과를 보였다. 하지만, 이전 연구들에서 사료첨가제에 의해 면역반응 및 질병저항성이 향상된다고 보고되어 있다. 그러므로, 향후 다양한 첨가제에 대한 넙치 육성에 관해서도 면역반응 및 질병 저항성에 대한 연구가 수행되어야 할 것으로 생각된다.

### 3.3. 면역력 증가를 위한 사료 연구

#### 1. 다양한 사료 첨가제 공급이 넙치의 성장, 체조성 및 면역력 향상에 미치는 영향

##### 가. 서론

넙치는 가자미목 넙치과 어류로서 1970년대 이후 인공종묘생산기술의 보급에 따라 양식기술이 보편화되어 종묘생산부터 양성까지 완전양식이 이루어지고 있으며, 성장이 빠르고 환경변화에 내성이 강하여 비교적 양성이 용이하기 때문에 일찍이 우리나라 주요 해산 양식어종으로 선택되어왔다. 또한 우리나라와 일본의 활어문화의 발달로 인해 넙치의 수요는 계속적으로 증가하여 넙치 양식산업의 발달을 가져왔다. 2007년 국내 어류 천해양식 총생산량(약 97,000톤)의 42.2%와 총생산금액(약 802억원)의 54.7%를 차지하면서(MIFAFF, 2008) 현재 우리나라에서 가장 중요한 해산어류 양식대상종이다. 따라서 넙치의 효율적인 양식생산을 위한 연구로서 사료내 영양소 요구량 규명(Lee et al., 2002a; Lee et al., 2003; Kim and Lee, 2004), 다양한 단백질원의 이용성(Yoo et al., 2006), 사료공급전략(Kim et al., 2002b; Seo et al., 2005; Cho, 2005; Cho et al., 2006) 및 단백질 대체원 개발(Kikuchi, 1999; Kim et al., 2003; Cho et al., 2005a, b; Pham et al., 2005; ) 등에 대한 다양한 연구가 진행되어왔다. 그리고 최근 웰빙 문화의 보급으로 넙치의 고부가가치 창출을 위한 사료내 첨가제 연구로서 고추냉이 추출물(Park et al., 2003), 어보산(Kim et al., 1998; Lee et al., 1998; Kim et al., 2000), 한방제제(Kim et al., 1996), 버섯균사체 배양액(Kim et al., 2006) 및 녹차첨가제(Cho et al., 2007) 등의 다양한 첨가제를 이용한 넙치의 생존율 향상, 면역성 증가, 근육품질 개선 및 성장 개선을 위한 다양한 연구들이 보고된 바 있다. 그러나 넙치의 연중 양식생산동안 발생하는 여러 가지 요인에 의한 넙치의 질병 발생과 이로 인한 넙치의 대량폐사로 인하여 넙치양식어민들은 많은 경제적인 어려움을 겪고 있기 때문에 넙치의 생산성과 면역성 향상에 대한 다양한 연구가 필요한 실정이다.

최근 다양한 원료의 사료첨가제를 이용한 어류의 생산성 및 면역성 향상에 대한 연구가 일부 수행된 바 있다. 그 중에서도 백련초(*Opuntia ficus-indica* ver. *saboten*)는 열대지역 다년초로서 그 열매와 줄기는 최근 국내외적으로 민간요법에 주로 이용되는 물질이며, 향균효과(Kim et al., 2002c)의 효능이 보고된 바 있다. 그리고 벌집에서 얻어지는 지용성 복합체인 프로폴리스(pro-polis)는 다양한 꽃밥 및 수목의 봉교가 꿀벌의 침샘분비물과 혼합된 물질이며, 항균 및 항산화에 효과적

인 물질이라고 보고된 바 있다(Kim et al., 2002a; Lee et al., 2002b). 그리고 JS유산균(JS lactic acid bacteria)은 김치나 절임식품류 등 식물을 소재로 한 식품류에서 분리된 식물성 유산균이며, 혈청내 글루코오즈, 지질대사 관여 및 항산화 효과를 가진다고 알려져 있다. 또한 양파(*Allium cepa*)는 백합과에 속하는 두해살이풀로서 식품 및 건강식품으로 널리 알려진 식물이며 매우 다양한 효능이 있는 식품으로 알려져 있으며, 어류 병원성세균에 대한 항균성에 대한 연구(Yun and Bae, 1998) 및 항산화 효과(Ra et al., 1997)에 대한 연구들이 보고된 바 있다. 무화과(Fig extract, *Ficus carica*)는 예로부터 민간치료제로 이용되어오면서 식이섬유, 무기질 및 폴리페놀의 우수한 공급원이자 콜레스테롤 저하에도 효과적인 건강 과일로 알려져 있으며(Vinson, 1999), 항균활성(Ryu and Jung, 1999)과 항산화효과(Lim et al., 2005)가 알려져 있다. 최근 청국장의 점액성 물질의 주성분인 아미노산 고분자인 폴리감마글루탐산( $\gamma$ -PGA)은 포유류의 생존율 증가 및 종양 증가를 저해시키는 항암물질로써 알려져 있다(Hahm, 2005). 또한 유기유황(Organic sulfur) 및 Biostone도 양어용 사료첨가제로 개발되어 어류양식에 이용되고 있다. 다양한 사료첨가제는 수산양식분야에 유용하게 적용될 수 있으나 과학적이고 체계적인 연구가 아직까지도 미흡한 실정이다.

따라서 본 연구에서는 다양한 사료첨가제를 이용하여 넙치 배합사료에 첨가함으로써 넙치 유어의 성장, 체조성 및 면역성 향상에 미치는 영향을 조사함으로써 이들 원료를 배합사료용 첨가제로서 개발하고자 한다.

## 나. 재료 및 방법

### 실험어 및 사육조건

사육실험에 사용된 넙치 유어는 경북 울진에 위치한 개인양식장에서 구입하여, 사육실험환경에 적응시켰다. 마리당 평균 체중 26 g의 넙치 유어 30마리를 27개의 180 L 유수식 수조(수량: 150 L)에 각각 수용하였으며, 각 수조에 평균 7.2 L/min의 주수량으로 모래여과된 자연해수를 공급하였다. 모든 수조에는 지속적으로 aeration을 공급하였으며, 광주기는 자연광주기 조건을 따랐다. 사육동안의 수온은 16.1°C~23.5°C(평균:21.2±1.77°C)의 범위이었다.

### 실험디자인 및 실험사료 준비

본 연구에서는 총 9종류 [①대조구(control, Con)-무첨가구, ②백련초(*Opuntia ficus-indica* ver. *saboten*, OF), ③프로폴리스(pro-polis, PP), ④JS유산균(식물성유

산균, JS), ⑤ $\gamma$ -PGA(청국장 발효물 유래,  $\gamma$ P), ⑥양파추출물(Onion extract, OE), ⑦ 유기유황(Organic sulfur, OS), ⑧바이오스톤(Biostone, BS), ⑨무화과엑기스(Fig extract, FE)]의 사료첨가제가 첨가된 실험사료를 준비하였으며, 각 실험구는 3반복구를 두었다(Table 3-36). 어분, 탈피대두박 및 콘글루텐분을 주요 단백질원으로 이용하였고, 소맥분을 주요 탄수화물원으로 이용하였으며, 대두유를 주요 지질원으로 사용하였다. 대조구를 제외한 첨가제 공급하는 사료들에는 첨가제 원료를 1% 소맥분 대신에 첨가하였으며, 무화과엑기스는 1% 농도가 되게끔 물 대신에 첨가하였다. 모든 실험사료의 원료는 혼합기로 균질하게 혼합한 후 물과 7:3의 비율로 섞어서 잘 혼합한 후 펠렛제조기를 이용하여 제조하였으며, 그늘에서 24시간 건조시킨 후 -20°C에서 보관하면서 필요시마다 소량씩 사용하였다. 사료공급은 1일 2회(07:00 및 17:00) 손으로 반복이 되게끔 공급하였다. 사육기간은 총 6주간이었으며, 1주일에 6일간 사료를 공급하였다.

## 채혈

실험사료 공급 6주 후 각 실험구에서 넙치를 무작위로 5마리씩 샘플하여 미부정 맥에서 채혈하여 혈청을 분리하였으며 분리된 혈청을 이용하여 면역능 실험에 사용하였다.

## 세균 공격 실험

다양한 첨가제를 첨가한 사료의 공급이 넙치의 항병력에 미치는 영향을 조사하기 위하여 병원성 세균인 *Edwardsiella tarda* 219 균주로서 12마리의 무작위로 추출된 넙치에게 공격실험을 실시하였다. 즉, 시험 균주는 TSA 배지에서 27, 24시간 배양한 후 집균하여, 멸균생리식염수로  $1 \times 10^8$  cfu/ml (OD 600 nm=0.3)이 되도록 현탁시켜 넙치의 복강에 0.1 ml씩 주사한 후 사망하는 개체를 제거하여 주었으며, 복강 주사 이후 2주간 관찰하였다.

## 일반성분 분석

사육실험 시작시 및 사육실험 종료시 각 수조당 5마리씩 샘플하여 일반성분분석에 이용하였다. 실험사료 및 어체의 일반성분은 AOAC (1990)의 방법에 따라 분석하였다. 조단백질(N $\times$ 6.25)은 Auto Kjeldahl System (Buchi, Switzerland; Metrohm, Switzerland)을 이용하여 분석하였고, 조지질은 ether 추출법을 이용하였으며, 수분은 105°C의 dry oven에서 6시간 동안 건조 후 측정하였으며, 조회분은 600°C의 회화로에서 4시간 동안 태운 후 측정하였다.

## 통계분석

One-way ANOVA, Duncan's multiple range test (Duncan, 1955)와 Tukey test 분석을 SAS version 9.1 (SAS Institute, Cary, NC, USA) 프로그램을 이용하여 각 실험구간의 유의성을 검정하였다.

## 다. 결과 및 논의

### 넙치 유어의 성장 및 사료 이용성

다양한 사료첨가제가 포함된 실험사료를 6주간 공급한 후 넙치 유어의 생존율(%), 어체중 증가량(g/fish) 및 일일성장률(specific growth rate, SGR)을 Table 3-37에 나타내었다. 모든 실험구에서 넙치의 생존율은 94% 이상 높게 나타났으며, 각 실험구간 유의적인 차이를 보이지 않았다( $P > 0.05$ ). 그러나 어체중 증가량은 양과추출물이 첨가된 실험사료(OE)를 공급한 실험구에서 대조구(Con) 및 프로폴리스가 첨가된 실험사료(PP)를 공급한 실험구보다 유의적으로 높게 나타났으며( $P < 0.05$ ), 다음으로 무화과엑기스(FE), 유기유황(OS), JS유산균(JS), 바이오스톤(BS), 백련초(OF) 및  $\gamma$ -PGA( $\gamma$ P)의 순으로 나타났으나 유의적인 차이를 보이지 않았다( $P > 0.05$ ). 본 연구에서 사용된 다양한 첨가제 중 양과추출물이 넙치의 성장 개선에 아주 효과가 있는 것으로 판단되며, 무화과엑기스, 유기유황 또는 JS 유산균도 넙치의 성장개선 효과를 기대할 수 있는 것으로 생각된다. 이와 유사하게 유용미생물과 한약제의 혼합물 및 어보산을 각각 첨가한 사료를 공급한 넙치에서 우수한 성장 개선 효과를 보였다(Kim et al., 1998; Lee et al., 1998; Yeo and Rho, 2004). 본 연구의 결과와 유사하게 사료내 무화과엑기스 첨가가 넙치의 사료 섭취량을 증가시켰으며, 넙치의 성장 개선효과를 기대할 수 있다고 보고한 바 있다(Cho et al., 2007). 또한 일일성장율은 양과추출물(OE), 무화과엑기스(FE), 유기유황(OS), JS유산균(JS), 바이오스톤(BS) 및 백련초(OF) 첨가구가 프로폴리스(PP) 첨가구보다 유의적으로 높은 것으로 나타났다( $P < 0.05$ ).

6주간의 사육실험 종료시 넙치의 사료소비량(g/fish), 사료전환효율(Feed efficiency rate, FER), 단백질전환효율(Protein efficiency rate, PER), 단백질축적율(Protein retention, PR), 간체장지수(Hepatosomatic index, HSI) 및 비만도(Condition factor, CF)는 Table 3-38에 나타내었다. 사료소비량, 사료전환효율, 단백질전환효율 및 단백질축적율에서는 각 실험구간 유의적인 차이는 없었지만( $P > 0.05$ ), 사료전환효율, 단백질전환효율 및 단백질축적율은 양과추출물 공급 실험구

(OE) 가 우수한 것으로 나타났다.

넙치의 간체장지수와 비만도 측정 결과, 각 실험구간 유의적인 차이를 보이지 않았지만( $P > 0.05$ ), 비만도는 사료첨가제가 포함되지 않은 대조구에 비하여 사료첨가제가 포함된 모든 실험구에서 다소 높아지는 경향을 보였다. 이와 유사하게 다른 연구에서도 유용미생물과 한약제 혼합 첨가한 사료를 공급한 실험구의 비만도가 대조구에 비하여 개선된다고 보고하였(Yeo and Rho, 2004).

### 어체 일반성분 분석

사육실험 6주간 다양한 사료첨가제를 포함한 실험사료를 공급한 후 넙치의 간을 제외한 어체 및 간의 일반성분 분석 결과 각 실험구간 유의적인 차이를 보이지 않았다( $P > 0.05$ ) (Table 3-39). 그러나 사료내 한약제 (Lee and Lim, 2000) 또는 사료내 녹차(Cho et al., 2007) 첨가는 어체의 지질 함량을 감소시킨다고 보고한 바 있다.

### 세균 공격성 실험

세균 감염이후 2주간 관찰하였으나 모든 실험구에서 2마리만 폐사하여서 실험구간에 뚜렷한 차이를 관찰할 수가 없었다. 따라서 2주간의 관찰이후 생존한 개체를 무작위로 5마리씩 샘플 및 채혈하여 보체 활성을 측정하였다.

### 보체 활성

실험 종료시 모든 실험구간 넙치의 보체 활성에는 유의적인 차이가 전혀 나타나지 않았다 (Fig. 3-1). 그러나 인위적으로 세균을 투여한 후 백련초(OF),  $\gamma$ -PGA( $\gamma$ P)와 양파추출물(OE) 첨가구에서 보체 활성이 유의성 있게 증가하였다(Fig. 3-2; ANOVA Tukey,  $P < 0.05$ ). 사료내 Vitamin E를 첨가하여 투여한 결과 농어에서 보체활성이 증가하였으며(Obach et al., 1993), 또한 구기자 첨가사료의 공급이 나일틸라피아의 보체 활성을 증가시킨다(Kwon, 1999)고 보고하였다.

### 사료 첨가물의 특이적 면역반응에 대한 영향 분석

넙치에 *E. tarda* 219 세균을 복강 주사한 후 응집항체를 조사하여 각 사료 첨가제의 특이적 면역반응에 대한 영향을 분석하였다. 응집항체의 측정은 우선, 실험에 사용할 혈청을 96 well plate에 1/20부터 1/20480까지 두배씩 단계 희석 하여 50 $\mu$ l씩 주입하였으며, 마지막 well에 negative control로 50 $\mu$ l의 PBS를 넣었다. *E. tarda* 219 FKC를 PBS로 3회 세척하여 5mg/ml의 농도로 현탁한 후 50 $\mu$ l를 각 well



에 분주하고 상온에서 시켰다. 응집항체가는 응집반응이 일어나는 최고희석배수로 결정하였다. 그 결과 백련초 첨가구(OF)를 공급한 넙치에서 응집항체가가 유의성 있게 증가하였다(Fig. 3-3; ANOVA Tukey,  $P < 0.05$ ). 본 연구 결과와 유사하게 백련초를 이용한 *in vitro*와 *in vivo*에서 백련초가 *Salmonella*와 *E. coli*에 대한 항균력을 보여서 병원성 세균의 제거 및 면역 증진 효과가 있다고 보고하였다(Kim et al., 2002).

나일틸라피아를 대상으로 실시한 연구에서는 구기자 첨가 사료의 투여가 대조 사료 투여구에 비하여 높은 응집 항체가를 보였다(Kwon et al., 1999).

Table 3-36. Ingredients (%) and nutrient composition of the experimental diets

	Experimental diets								
	Con	OF	PP	JS	γP	OE	OS	BS	FE
<i>Ingredient (%)</i>									
Fishmeal	40	40	40	40	40	40	40	40	40
Dehulled soybean meal	20	20	20	20	20	20	20	20	20
Corn gluten	10	10	10	10	10	10	10	10	10
Wheat flour	23	22	22	22	22	22	22	23	22
Soybean oil	4.9	4.9	4.9	4.9	4.9	4.9	4.9	4.9	4.9
Vitamin premix <sup>1</sup>	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Mineral premix <sup>2</sup>	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Choline (50%)	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
<i>Opuntia ficus-indica</i> ver. <i>saboten</i> <sup>3</sup>		1							
Pro-polis <sup>3</sup>			1						
JS lactic acid bacteria <sup>3</sup>				1					
γ-PGA <sup>3</sup>					1				
Onion extract <sup>3</sup>						1			
Organic sulfur <sup>3</sup>							1		
Biostone <sup>3</sup>								1	
Fig extract <sup>4</sup>									+
<i>Nutrients (% , DM basis)</i>									
Crude protein	51.3	51.8	51.8	53.7	51.9	52.5	52.4	53.1	52.4
Crude lipid	10.2	10.7	11.1	10.9	9.9	10.5	9.8	10.8	10.2
Ash	7.7	7.8	8.5	7.7	7.7	8.7	7.8	7.6	8.6

<sup>1</sup>Vitamin premix contained the following amount which were diluted in cellulose (g kg<sup>-1</sup> mix): L-ascorbic acid, 121.2; DL-α-tocopheryl acetate, 18.8; thiamin hydrochloride, 2.7; riboflavin, 9.1; pyridoxine hydrochloride, 1.8; niacin, 36.4; Ca-D-pantothenate, 12.7; myo-inositol, 181.8; D-biotin, 0.27; folic acid, 0.68; p-aminobenzoic acid, 18.2; menadione, 1.8; retinyl acetate, 0.73; cholecalciferol, 0.003; cyanocobalamin, 0.003.

<sup>2</sup>Mineral premix contained the following ingredients (g kg<sup>-1</sup> mix): MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O, 80.0; NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>·2H<sub>2</sub>O, 370.0; KCl, 130.0; Ferric citrate, 40.0; ZnSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O, 20.0; Ca-lactate, 356.5; CuCl, 0.2; AlCl<sub>3</sub>·6H<sub>2</sub>O, 0.15; KI, 0.15; Na<sub>2</sub>Se<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, 0.01; MnSO<sub>4</sub>·H<sub>2</sub>O, 2.0; CoCl<sub>2</sub>·6H<sub>2</sub>O, 1.0.

<sup>3</sup>*Opuntia ficus-indica* ver. *saboten*, Pro-polis, JS lactic acid bacteria, γ-PGA, Onion extract, Organic sulfur and Biostone were supplied by Jeilfeed Co. Ltd. (Haman, Gyeongsangnam-do, Korea).

<sup>4</sup>Fig extract was purchased from Bosunggreentea Co. Ltd. (Bosung-gun, Jeollanam-do, Korea).

Table 3-37. Growth performance of olive flounder fed the diets containing various sources of additives for 6 weeks (Mean±SE)

Diets	Initial weight (g/fish)	Final weight (g/fish)	Survival (%)	Weight gain (g/fish)	SGR <sup>1</sup>
Con	25.0±0.02	72.2±1.08 <sup>bc</sup>	96.7±1.92 <sup>a</sup>	47.3±1.09 <sup>bc</sup>	2.9±0.04 <sup>ab</sup>
OF	25.0±0.02	73.3±1.73 <sup>abc</sup>	94.4±2.94 <sup>a</sup>	48.3±1.74 <sup>abc</sup>	2.9±0.07 <sup>a</sup>
PP	25.0±0.07	69.1±1.38 <sup>c</sup>	96.7±1.92 <sup>a</sup>	44.1±1.33 <sup>c</sup>	2.7±0.05 <sup>b</sup>
JS	25.0±0.03	74.4±1.05 <sup>ab</sup>	96.7±1.92 <sup>a</sup>	49.4±1.05 <sup>ab</sup>	2.9±0.04 <sup>a</sup>
γP	25.0±0.02	72.8±1.41 <sup>abc</sup>	98.9±1.11 <sup>a</sup>	47.9±1.43 <sup>abc</sup>	2.9±0.05 <sup>ab</sup>
OE	25.0±0.03	77.5±0.87 <sup>a</sup>	97.8±1.11 <sup>a</sup>	52.5±0.90 <sup>a</sup>	3.1±0.03 <sup>a</sup>
OS	25.0±0.05	74.6±1.04 <sup>ab</sup>	94.4±2.22 <sup>a</sup>	49.6±1.01 <sup>ab</sup>	3.0±0.03 <sup>a</sup>
BS	25.0±0.03	74.2±1.45 <sup>ab</sup>	97.8±2.22 <sup>a</sup>	49.2±1.47 <sup>ab</sup>	2.9±0.05 <sup>a</sup>
FE	25.0±0.04	76.1±2.42 <sup>ab</sup>	96.7±1.92 <sup>a</sup>	51.1±2.39 <sup>ab</sup>	3.0±0.08 <sup>a</sup>

<sup>1</sup>SGR = (Ln final weight of fish - Ln initial weight of fish)×100/days of feeding trial.

Table 3-38. Feed consumption (g/fish), feed efficiency ratio (FER), protein efficiency ratio (PER), protein retention (PR), hepatosomatic index (HSI) and condition factor (CF) of olive flounder at the end of the 6-week feeding trial (Mean±SE)

Diets	Feed consumption (g/fish)	FER <sup>1</sup>	PER <sup>2</sup>	PR <sup>3</sup>	HSI <sup>4</sup>	CF <sup>5</sup>
Con	48.1±0.73 <sup>a</sup>	0.98±0.008 <sup>a</sup>	1.92±0.015 <sup>a</sup>	36.4±1.33 <sup>a</sup>	2.23±0.166 <sup>a</sup>	0.93±0.018 <sup>a</sup>
OF	49.5±0.33 <sup>a</sup>	0.98±0.034 <sup>a</sup>	1.89±0.065 <sup>a</sup>	36.0±2.15 <sup>a</sup>	2.09±0.113 <sup>a</sup>	1.00±0.007 <sup>a</sup>
PP	46.5±1.24 <sup>a</sup>	0.95±0.004 <sup>a</sup>	1.83±0.007 <sup>a</sup>	35.4±0.36 <sup>a</sup>	1.97±0.152 <sup>a</sup>	1.01±0.017 <sup>a</sup>
JS	50.5±1.06 <sup>a</sup>	0.98±0.014 <sup>a</sup>	1.82±0.025 <sup>a</sup>	32.7±1.97 <sup>a</sup>	2.33±0.038 <sup>a</sup>	0.98±0.010 <sup>a</sup>
yP	49.5±0.28 <sup>a</sup>	0.97±0.027 <sup>a</sup>	1.86±0.052 <sup>a</sup>	35.2±1.44 <sup>a</sup>	2.41±0.088 <sup>a</sup>	0.99±0.022 <sup>a</sup>
OE	51.3±2.04 <sup>a</sup>	1.03±0.026 <sup>a</sup>	1.95±0.050 <sup>a</sup>	36.5±1.30 <sup>a</sup>	2.05±0.098 <sup>a</sup>	1.03±0.012 <sup>a</sup>
OS	51.2±0.46 <sup>a</sup>	0.97±0.026 <sup>a</sup>	1.85±0.050 <sup>a</sup>	34.7±0.53 <sup>a</sup>	2.07±0.041 <sup>a</sup>	1.04±0.032 <sup>a</sup>
BS	51.9±1.12 <sup>a</sup>	0.95±0.047 <sup>a</sup>	1.81±0.089 <sup>a</sup>	35.0±2.73 <sup>a</sup>	2.15±0.029 <sup>a</sup>	1.02±0.032 <sup>a</sup>
FE	50.7±1.52 <sup>a</sup>	1.01±0.041 <sup>a</sup>	1.90±0.077 <sup>a</sup>	35.9±1.82 <sup>a</sup>	2.23±0.111 <sup>a</sup>	0.99±0.043 <sup>a</sup>

<sup>1</sup>Feed efficiency ratio (FER) = Weight gain of fish/feed consumed.

<sup>2</sup>Protein efficiency ratio (PER) = Weight gain of fish/protein consumed.

<sup>3</sup>Protein retention (PR) = Protein gain×100/protein consumed.

<sup>4</sup>Hepatosomatic index (HSI) = Liver weight×100/fish weight.

<sup>5</sup>Condition factor (CF) = Fish weight×100/total length<sup>3</sup>.

Table 3-39. Proximate composition (%) of olive flounder at the end of the 6-week feeding trial (Mean±SE)

Diets	Whole body of fish without liver			
	Moisture	Crude protein	Crude lipid	Ash
Con	73.7±0.78 <sup>a</sup>	18.0±0.39 <sup>a</sup>	4.1±0.05 <sup>a</sup>	3.1±0.37 <sup>a</sup>
OF	73.1±0.47 <sup>a</sup>	18.1±0.51 <sup>a</sup>	4.3±0.19 <sup>a</sup>	3.0±0.23 <sup>a</sup>
PP	74.8±1.15 <sup>a</sup>	18.2±0.10 <sup>a</sup>	4.1±0.19 <sup>a</sup>	3.1±0.14 <sup>a</sup>
JS	73.2±0.43 <sup>a</sup>	17.4±0.58 <sup>a</sup>	4.4±0.39 <sup>a</sup>	3.2±0.12 <sup>a</sup>
γP	74.2±0.49 <sup>a</sup>	18.0±0.28 <sup>a</sup>	4.0±0.49 <sup>a</sup>	3.3±0.31 <sup>a</sup>
OE	75.1±0.32 <sup>a</sup>	17.9±0.23 <sup>a</sup>	3.8±0.25 <sup>a</sup>	3.7±0.34 <sup>a</sup>
OS	74.9±0.17 <sup>a</sup>	17.9±0.15 <sup>a</sup>	4.2±0.18 <sup>a</sup>	2.9±0.15 <sup>a</sup>
BS	73.8±0.40 <sup>a</sup>	18.2±0.40 <sup>a</sup>	4.3±0.38 <sup>a</sup>	3.1±0.03 <sup>a</sup>
FE	74.6±0.51 <sup>a</sup>	18.0±0.18 <sup>a</sup>	4.3±0.33 <sup>a</sup>	2.8±0.23 <sup>a</sup>
Diets	Liver			
	Moisture	Crude protein	Crude lipid	
Con	60.6±0.65 <sup>a</sup>	10.3±0.17 <sup>a</sup>	20.4±2.31 <sup>a</sup>	
OF	59.6±0.98 <sup>a</sup>	10.3±0.37 <sup>a</sup>	19.2±1.51 <sup>a</sup>	
PP	59.1±1.19 <sup>a</sup>	10.2±0.40 <sup>a</sup>	21.0±1.70 <sup>a</sup>	
JS	60.3±0.99 <sup>a</sup>	9.5±0.09 <sup>a</sup>	18.9±1.26 <sup>a</sup>	
γP	60.5±2.34 <sup>a</sup>	9.7±0.26 <sup>a</sup>	21.8±1.07 <sup>a</sup>	
OE	59.7±0.79 <sup>a</sup>	10.2±0.17 <sup>a</sup>	20.8±0.59 <sup>a</sup>	
OS	60.5±1.85 <sup>a</sup>	10.2±0.41 <sup>a</sup>	19.2±0.17 <sup>a</sup>	
BS	60.9±0.49 <sup>a</sup>	10.7±0.15 <sup>a</sup>	22.0±1.23 <sup>a</sup>	
FE	59.3±1.16 <sup>a</sup>	10.7±0.20 <sup>a</sup>	23.0±0.87 <sup>a</sup>	

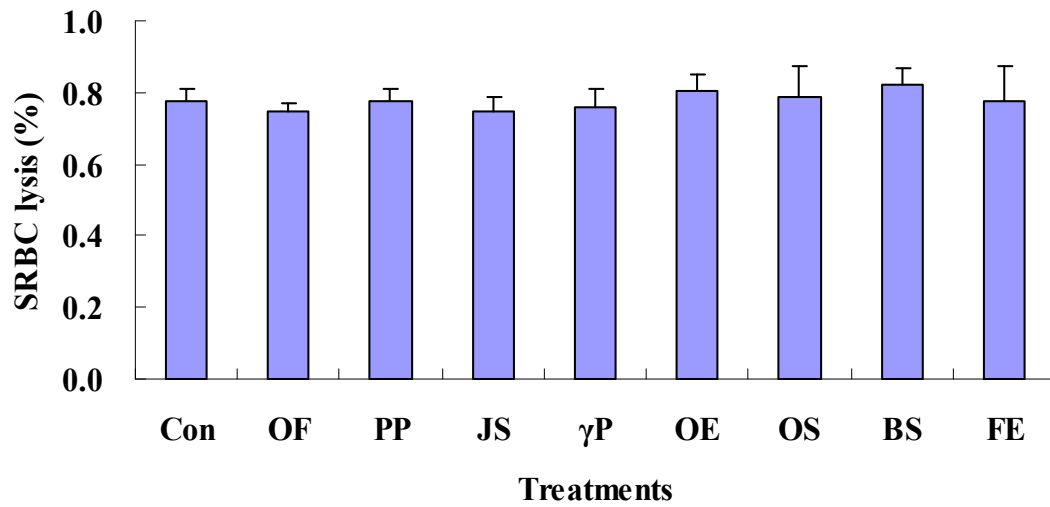


Fig. 3-1. Effects of dietary additives on alternative complement activation pathway in olive flounder (*Paralichthys olivaceus*).

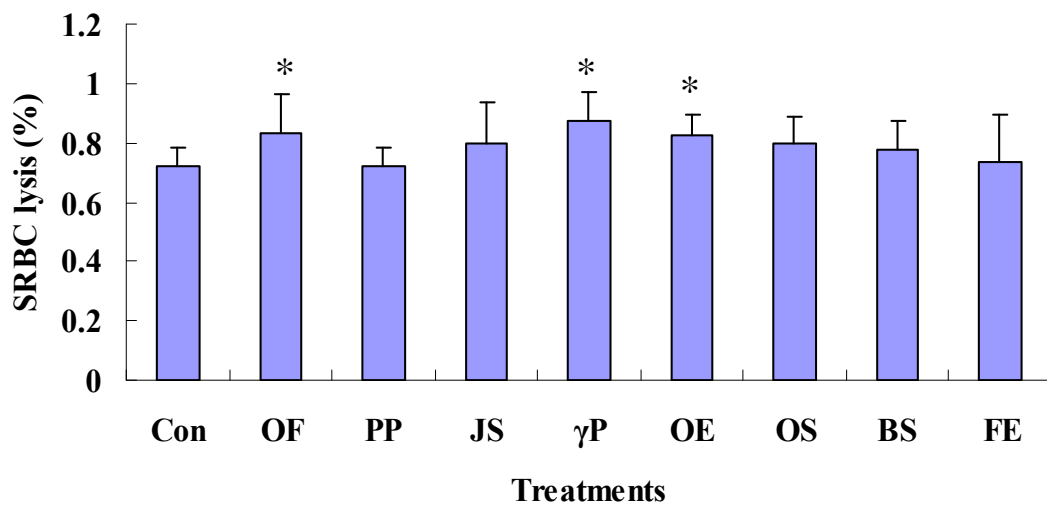


Fig. 3-2. Effects of dietary additives on alternative complement activation pathway in olive flounder (*Paralichthys olivaceus*) in 2 weeks after *E. tarda* infection.

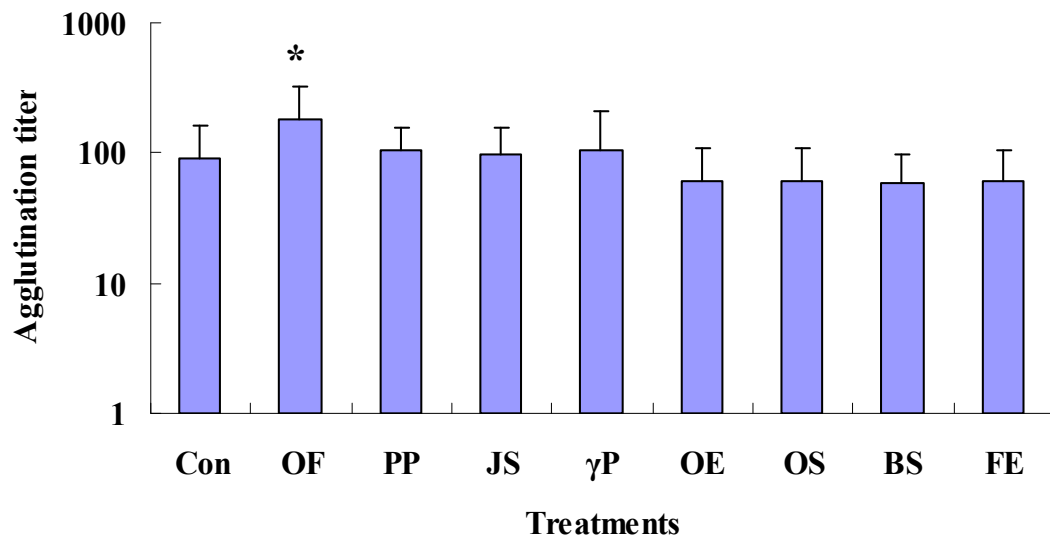


Fig. 3-3. Agglutination titer of olive flounder at the end of the 6-week feeding trial in 2 weeks after *E. tarda* infection.

## 2. 사료내 스피룰리나, 아스타잔틴, 톳·감태의 첨가가 넙치의 비특이적 면역반응과 어병세균(*Edwardsiella tarda*)저항성에 미치는 영향

### 가. 서론

국내에서 가장 많이 양식되고 있는 넙치는 고밀도 양식으로 인한 여러 질병의 발생으로 경제적 손실을 비롯한 많은 어려움을 겪고 있다. 넙치를 양식하는데 있어서 빈번하게 발생하는 병원성 미생물 중 대표적으로 *Edwardsiella tarda*를 들 수 있다. *Edwardsiella tarda*는 Enterobacteriaceae과에 속하는 그람음성균으로서 *Edwardsiella* 패혈증의 원인이 되며, 중요한 양식어종인 뱀장어(Wakabayashi and Egusa, 1973), chinook salmon (Amandi et al., 1982), 넙치(Nakatsugawa, 1983), 틸라피아(Kubota et al., 1981), 잉어(Sae-Oui et al., 1984), 차넬메기(Meyer and Bullock, 1973) 및 송어(Kusuda et al., 1976)와 같이 다양한 어종에서 광범위하게 피해를 입히고 있다. 이러한 여러 질병치료 대책으로 대부분의 양식장에서는 oxytetracycline과 같은 합성항생제를 무분별하게 사용하고 있다. 합성항생제의 무분별한 사용은 어류에 대한 약제 내성을 증가시켜 (Mcphearson et al., 1991), 어류의 면역력을 저해 시킨다 (Heo et al., 1992). 최근에는 여러 국가에서 항생제 사용을 금하고 그 사용량과 식품에서의 최대잔류 허용기준을 설정하여 규제하고 있다. 따라서 항생제 대체 방안으로 부작용이 없는 천연물질의 개발로 양식어류의 건강증진과 성장을 촉진시키기 위한 양식산업의 기능적 브랜드화가 시도되고 있는 실정이다.

스피룰리나는 담수미세조류로 Cyanophyceae강, Nostocales목에 속하며 단백질 함유량이 60%이상, 카로틴함량 100-200mg/100g, 식물성 지방산 8% 이상, 비타민류, 핵산, 피코시아닌 등 생명유지에 필요한 영양소와 높은 소화율로 그 이용성이 매우 높은 기능성 단백질원이라 할 수 있다. 따라서 가축, 어류 및 연체동물의 사료에 첨가되는 것이 신중하게 고려되고 있다. 최근에는 건강보조식품 및 여러 형태의 식품첨가물로 이용하기 위해 연구가 활발히 이루어지고 있다. 또한 항바이러스, 항암성, 항산화활성, 항균성, 구충제 및 알레르기, 케양, 빈혈 등에 대해서 폭넓게 연구되기 시작하였다. 어류를 대상으로 한 스피룰리나 첨가실험은 극히 몇몇 어종을 대상으로 연구되었을 뿐 매우 드물다고 할 수 있다. 또한 스피룰리나에는 여러 종의 종류가 있으며 어류에 있어서의 효과는 스피룰리나의 종에 따라 다를 수 있다고 보고되었다.

아스타잔틴(Astaxanthin)은 게, 가재 껍질로부터 추출되는 카로티노이드계 색소의 일종으로 자연계 특히 해수환경에 널리 분포되어 있고 돛류, 연어, 송어, 새우 및 가재 등의 체색을 붉은색으로 발현시키는 물질로 잘 알려져 있다(Chien and Jeng, 1992; Mensaveta et al., 1994). 또한 아스타잔틴은 불안정 산소를 안정화하거나 활성산소



(oxygen free radical)를 제거하는 기능이 매우 좋다는 연구결과가 최근 들어 보고되고 있다(Goto et al., 2001; Mortensen et al., 2001; Pan et al., 2003; Winston et al., 2004).

제주도는 사면이 바다이고 우리나라의 최남단에 위치하며 난류의 영향을 가장 많이 받고 있어서 이곳에 서식하는 해조류의 종류가 다양하고 풍부하여 해조류를 이용한 연구가 활발히 이루어지고 있다. 제주도에 서식하는 해조류 중 감태(*Ecklonia cava*)는 갈조식물문(Phaeophyta), 미역과에 속하는 다년생 해조류이며, 대형 갈조류로 제주해안에 많이 분포하고 있다. 하지만 감태는 식용으로 애용하고 있는 미역과는 달리 덜 익은 감을 맛보았을 때 느낄 수 있는 떼은맛이 나는 이유로 국내에서는 극히 일부지역을 제외하고는 식용으로 거의 이용되지 않으며 소라, 전복 등의 먹이로 많이 이용되고 있다(김과 이, 2004). 감태와는 달리 식용으로 많이 이용되고 있는 툃(*Hizikia fusiformis*)은 한국과 일본등지에 널리 분포하고 있는 갈조류 모자반과 에 속하는 해조류이며, 많은 연구를 통해 높은 항산화 활성을 갖고 있는 것으로 보고되고 있다 (Karawita et al., 2004; Siriwardhana et al., 2003a, Siriwardhana et al., 2003b; Siriwardhana et al., 2004; Siriwardhana et al., 2005). 툃은 오래전부터 제주인들의 식탁에 자주 오르는 식품재료로 이용되었으며, 식품으로서 조리과학적인 연구가 이미 이루어져 있다. Shan 등 (1999) 에 의하면 툃은 동물과 인간에게 면역력과 질병 저항력을 증가시킨다고 보고하고 있다 (Liu et al., 1997; Okai et al., 1997; Okai et al., 1998). 최근 들어 국내에서도 감태를 이용한 식용화 연구에 관심을 보이고 있으며 높은 항산화 활성이 많은 연구를 통해 보고되고 있고(Kim et al., 2004; Heo et al., 2005, Heo et al., 2003), 항고혈압제와 같은 약제로서의 가능성도 엿볼 수 있으며(Athukorala and Jeon, 2005), 발암성 니트로사민 생성인자의 하나인 아질산염을 효과적으로 분해한다고 보고되었다(Park, 2005).

이 연구에서 사용된 면역증강물질인 스피롤리나, 아스타잔틴, 툃·감태의 효능은 기능성 사료첨가제로써 양식어류의 건강증진과 성장에 효과적으로 작용할 것으로 예측되지만, 양식넙치에 있어서는 그 연구가 미비한 실정이다. 또한 이런 좋은 사료 첨가제들도 어종이나 사료조성 및 사료품질 등에 따라 차이가 있을 수 있다(Lindsay et al., 1984; Shiau and Yu, 1999). 많은 연구에서 그 우수성이 보고된 물질이라 하더라도 그 농도를 적정농도 이상 사용하면 오히려 부작용이 나타날 수 있으며(Shiau and Yu, 1999), 적정농도 이하로 사용하면 그 효과가 미비할 수도 있다. 따라서 양식 대상종에 따라 첨가제의 종류 및 첨가농도를 고려하면서 연구되어야 할 것이다. 따라서 이 연구는 스피롤리나, 아스타잔틴, 툃·감태의 농도를 달리하여 사료에 첨가하여 최적의 첨가량을 알아보고 비특이적 면역반응과 어병세균인 *Edwardsiella tarda*에 대한 저항성에 어떠한 영향을 미치는지를 알아보기 위해 수행되었다.

## 나. 재료 및 방법

### 실험사료

#### 실험 1 (스피룰리나 실험)

총 4개의 실험사료는 46%의 조단백질과 17.3 MJ/kg의 에너지함량을 갖도록 동일하게 조성되었다 (Table 3-40). 본 실험에 사용된 스피룰리나(*Spirulina pacifica*) 분말은 Cyanotech Ltd. (Kailua-Kona, Hawaii, USA)에서 지원받았으며 일반성분 분석은 Table 3-41에 나타내었다. 분말형태의 스피룰리나를 사료 내 첨가함량이 각각 0%, 3%, 6% 및 9%가 되도록 첨가하여 (SPI 0, SPI 3, SPI 6, SPI 9) 실험사료를 제조하였다. 실험사료 제조는 우선 모든 사료원을 파쇄기를 이용하여 분말형태로 일정하게 만들고, 각 사료원들을 사료조성표에 따라 정확히 무게를 잰 후, 잘 섞은 다음 사료원 총량의 30-40%에 해당하는 증류수를 첨가하여 사료혼합기 (NVM-14-2P, Korea)로 혼합, 반죽시켰다. 혼합반죽물은 소형초파기 (SMC-12, Korea)를 이용하여 직경 3 mm 크기로 성형되었다. 성형된 실험사료는 -70℃ 동결냉동 건조기에서 건조시켜, 시브 (Sieve)를 이용하여 적당한 크기의 사료로 가공되었으며, 사료 공급 전까지 -20℃ 냉동고에 보관되었다.

#### 2. 실험 2 (아스타잔틴 실험)

총 4개의 실험사료는 44%의 조단백질과 17.1 MJ/kg의 에너지함량을 갖도록 동일하게 조성되었다 (Table 3-40). 본 실험에 사용된 아스타잔틴(*astaxanthin*) 분말은 Cyanotech Ltd. (Kailua-Kona, Hawaii, USA)에서 지원받았으며 Table 3-41에 나타내었다. 분말형태의 아스타잔틴을 사료 내 첨가함량이 각각 0%, 1%, 2% 및 3%가 되도록 첨가하여 (AST 0, AST 1, AST 2, AST 3) 실험사료를 제조하였다. 실험사료 제조는 실험 1과 동일한 절차로 진행되었다.

#### 3. 실험 3 (툇·감태 실험)

총 5개의 실험사료는 44%의 조단백질과 17.1 MJ/kg의 에너지함량을 갖도록 동일하게 조성되었다 (Table 3-40). 본 실험에 사용된 툇 (*Hizikia fusiforme*)과 감태 (*Ecklonia cava*)는 제주대학교 해양과학대학 해양생물자원이용공학연구소로부터 지원받았으며, 일반성분 분석은 Table 3-41에 나타내었다. 우선 동결건조된 분말형태의 툇과 감태를 1:1 비율로 혼합하였다. 그 후, 사료 내 첨가함량이 각각 0%, 2%, 4%, 6% 및 8%가 되도록 첨가하여 (HE 0, HE 2, HE 4, HE 6 및 HE 8) 실험사료를 제조하였다. 실험사료 제조는 실험 1과 동일한 절차로 진행되었다.

Table 3-40. Formulation of experimental diets (1000 g dry matter)

<b>Ingredients</b>	<b>Diets</b>			
	<b>SPI0</b>	<b>SPI3</b>	<b>SPI6</b>	<b>SPI9</b>
White fish meal	45.0	45.0	45.0	45.0
Casein	10.0	8.0	6.0	4.0
Spirulina powder	0.0	3.0	6.0	9.0
Starch	10.0	9.0	8.0	7.0
Wheat flour	23.0	23.0	23.0	23.0
Yeast	2.0	2.0	2.0	2.0
Mineral mix <sup>a</sup>	1.0	1.0	1.0	1.0
Vitamin mix <sup>b</sup>	1.0	1.0	1.0	1.0
Squid liver oil	8.0	8.0	8.0	8.0

<b>Ingredients</b>	<b>Diets</b>			
	<b>AST0</b>	<b>AST1</b>	<b>AST2</b>	<b>AST3</b>
White fish meal	45.0	45.0	45.0	45.0
Soybean meal	15.0	15.0	15.0	15.0
Astaxanthin	0.0	1.0	2.0	3.0
Starch	5.0	4.0	3.0	2.0
Wheat flour	23.0	23.0	23.0	23.0
Yeast	2.0	2.0	2.0	2.0
Mineral mix <sup>a</sup>	1.0	1.0	1.0	1.0
Vitamin mix <sup>b</sup>	1.0	1.0	1.0	1.0
Squid liver oil	8.0	8.0	8.0	8.0

<b>Ingredients</b>	<b>Diets</b>				
	<b>HE0</b>	<b>HE2</b>	<b>HE4</b>	<b>HE6</b>	<b>HE8</b>
White fish meal	45.0	45.0	45.0	45.0	45.0
Soybean meal	15.0	15.0	15.0	15.0	15.0
Starch	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0
Wheat flour	23.0	21.0	19.0	17.0	15.0
Yeast	21.2	21.2	21.2	21.2	21.2
Mineral mix <sup>a</sup>	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
Vitamin mix <sup>b</sup>	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
Squid liver oil	8.0	8.0	8.0	8.0	8.0
Ecklonia powder	0.0	1.0	2.0	3.0	4.0
Hizikia powder	0.0	1.0	2.0	3.0	4.0

a MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O, 80.0; NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>·2H<sub>2</sub>O, 370.0; KCl, 130.0; Ferric citrate, 40.0; ZnSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O, 20.0; Ca-lactate, 356.5; CuCl, 0.2; AlCl<sub>3</sub>·6H<sub>2</sub>O, 0.15; Na<sub>2</sub>Se<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, 0.01; MnSO<sub>4</sub>·H<sub>2</sub>O, 2.0; CoCl<sub>2</sub>·6H<sub>2</sub>O, 1.0.

bL-ascorbic acid, 121.2; DL-tocopheryl acetate, 18.8; thiamin hydrochloride, 2.7; riboflavin, 9.1; pyridoxine hydrochloride, 1.8; niacin, 36.4; Ca-D-pantothenate, 12.7; myo-inositol, 181.8; D-biotin, 0.27; folic acid, 0.68; p-aminobenzoic acid, 18.2; menadione, 1.8; retinyl acetate, 0.73; cholecalciferol, 0.003; cyanocobalamin, 0.003.

Table 3-41. The proximate composition of major ingredients used in experimental diets (% DM)

Ingredients	Moisture	Protein	Lipid	Ash
White fish meal	8.7	74.8	9.4	14.0
Soybean meal	8.1	46.8	2.5	6.5
Yeast	5.5	42.2	1.0	5.6
Casein	4.0	91.0	0.1	1.3
Hizikia <sup>a</sup>	9.50	9.9	1.2	40.0
Ecklonia <sup>a</sup>	8.8	10.0	0.7	17.4
Spirulina powder <sup>b</sup>	6.0	61.3	1.8	9.7
Astaxanthin	3.5	1.0	60.0	60.0

<sup>a</sup> Hizikia and Ecklonia was kindly provided by Prof. Marine Bio-Chemistry Department, Marine science of College, Cheju National University

<sup>b</sup> Spirulina powder was kindly provided from Cyanotech Ltd., Kailua-Kona, Hawaii, USA.

## 실험어 및 사육관리

### 1. 실험 1 (스피룰리나 실험)

실험에 사용된 넙치치어는 제주도 내 종묘 배양장 (창해수산)에서 수송하여 제주대학교 소속 해양과환경연구소로 운송되어, 약 2주 동안 시판 배합사료를 공급하면서 실험환경에 적응할 수 있도록 순치시킨 후 사료공급실험에 사용되었다. 예비사육 후 넙치 (초기평균무게: 28.3 g)는 총 12개의 110L 원형 플라스틱 수조에 각 수조 당 30마리씩 무작위로 선택되어 배치되었다. 사료공급실험은 사료실험구당 3 반복구를 두었으며, 사육수는 여과해수를 사용하여 2-3 L/min의 유수량이 공급되도록 조절되었고, 모든 실험수조에 용존산소 유지와 원활한 사육수 순환을 위하여 에어스톤을 설치하였다. 광주기는 형광등을 이용하여 12L:12D 조건으로 유지되었고, 전 실험기간 동안 평균 수온은 21℃에서 24℃ 범위로 자연수온에 의존되었다. 실험사료는 1일 2회 (8:00와 18:00시)에 나눠서 2주 동안 반복공급 하였다.

### 2. 실험 2 (아스타잔틴 실험)

실험방법에서 실험사료만 제외하고 실험1과 동일하다.

### 3. 실험 3 (툇·감태 실험)

실험에 사용된 넙치치어는 제주도 내 종묘 배양장 (창해수산)에서 수송하여 제주대학

교 소속 해양과환경연구소로 운송되어, 약 2주 동안 시판 배합사료를 공급하면서 실험환경에 적응할 수 있도록 순치시킨 후 사료공급실험에 사용되었다. 예비사육 후 넙치 (초기평균무게: 26.8 g)는 총 15개의 75L 원형 플라스틱 수조에 각 수조 당 30마리씩 무작위로 선택되어 배치되었다. 사료공급실험은 사료실험구당 3 반복구를 두었으며, 사육수는 여과해수를 사용하여 2-3 L/min의 유수량이 공급되도록 조절되었고, 모든 실험수조에 용존산소 유지와 원활한 사육수 순환을 위하여 에어스톤을 설치하였다. 광주기는 형광등을 이용하여 12L:12D 조건으로 유지되었고, 전 실험기간 동안 평균 수온은 21℃에서 24℃ 범위로 자연수온에 의존되었다. 실험사료는 1일 2회 (8:00와 18:00시)에 나눠서 2주 동안 반복공급을 하였다.

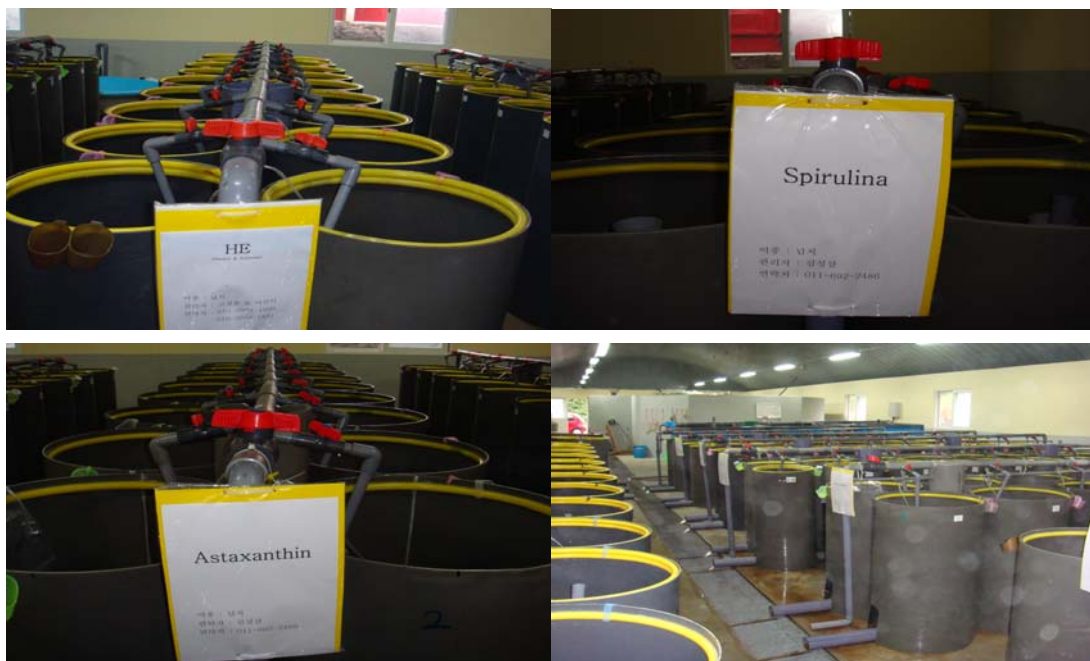


Fig. 3-4. Experimental tanks for feeding trials

#### 샘플수집 및 분석

2주간의 사료공급 마지막 날, 최후 사료공급을 실시한 후, 시간대별로 나누어 혈액을 채취하였다. 시간은 마지막 사료공급을 실시하고 3시간, 6시간, 12시간 및 24시간 후에 각 수조마다 3마리씩의 어류를 무작위로 선별하여 2-phenoxyethanol 용액(100ppm)으로 마취시킨 후, 주사기를 사용하여 미부동맥에서 채혈을 한 후 NBT (nitroblue tetrazolium) activity를 측정하였다. 분석 후, 남은 혈액은 MPO (myeloperoxidase) activity 등 기타 면역활성 분석을 위해 원심분리기 (Micro 17TR, Hanil Science, Korea)를 이용하여 5,000 rpm으로 10분간 원심분리 하여 혈장을 분리하였다.

### 실험사료 분석

실험사료원 및 실험사료의 일반성분 분석은 AOAC (1995) 방법에 따라 수분은 상압 가열건조법(125°C, 3h), 조회분은 직접회화법(600°C, 12h) 으로 측정 하였고, 단백질은 자동 조단백 분석기 (Kejlttec System 2300, Sweden) 로 분석하였으며, 지방은 Folch et al. (1959) 의 방법에 따라 Soxhlet 추출장치를 (Soxhlet Heater System C-SH6, Korea) 이 용하여 분석 하였다.

### Vitamin C 분석

실험사료와 간에서의 총 vitamin C 함량은 Dabrowski and Hinterleitner (1989)의 분석방법을 토대로 2,4-dinitrophenylhydrazine (DNPH)를 사용하여 비색정량하여 분석되었다. 샘플은 250 mM HClO<sub>4</sub>가 포함된 5% trichloroacetic acid 용액으로 균질화 하였다. 균질화된 샘플은 4°C에서 30분간 15,000rpm 으로 원심분리 하였다. 분리된 상층액 250 ul에 0.2% dichlorophenolindophenol 용액 25 ul를 첨가한 후, 상온에서 20분간 반응시켰다. 5% meta-phosphoric acid에 2% thiourea이 포함된 250 ul와 2% DNPH 250 ul를 혼합하여 첨가하고 3시간 동안 60°C에서 배양하였다. 혼합된 샘플은 18 M sulfuric acid 500 ul를 첨가한 후에 524 nm에서 흡광도를 측정하였다. L-Ascorbic acid를 이용하여 정량곡선을 만들어 정량하였다.

### 대식세포 활성분석(Nitroblue tetrazolium activity)

혈액내의 대식세포 활성은 Stasiak 와 Bauman (1996) 의 분석방법을 토대로 수행하였다. 전혈 50 $\mu$ l를 96-well U-bottom plate에서 넣은 후 37°C에서 1시간동안 반응시켰다. 추출된 상층액은 PBS를 사용하여 씻어내었다. 0.2% NBT 용액을 50 $\mu$ l를 첨가한 후에 상온에서 1시간 반응시킨 후, 모든 cell을 100% 메탄올을 100 $\mu$ l사용하여 고정시켰다. 그 후 50 $\mu$ l의 30%메탄올로 2~3회 씻어내어 37°C에서 약 30분가량 건조시켰다. 60 $\mu$ l의 2N potassium hydroxide와 70 $\mu$ l의 DMSO (dimethyl sulphoxide)를 각각의 cell에 첨가한 후 분광광도계 (Multiskan EX, Thermo, Finland)를 사용하여 540nm에서 흡광도를 측정하였다.

### 폴리페놀 함량 분석

실험사료에서의 총 폴리페놀 함량은 Skerget et al. (2005)의 방법을 기초로 약간 수정하여 비색 정량하였다. 먼저, 사료를 분쇄시킨 다음 각 사료의 1g을 메탄올 50mL에 넣은 후 40°C에서 2시간 동안 추출하였다. 추출된 용액은 상온에서 식힌 후, 0.45 $\mu$ m주사기용 여과필터 (Whatman Inc., Clifton, NJ)로 여과시켰다. 그런 다음 2.5mL의

Folin-Ciocalteu (0.2N, Sigma)시약을 첨가한 후에 상온에서 5분 동안 반응시킨 후, 2mL의 sodium carbonate (Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>) 포화용액 (75 g/L)을 첨가하였다. 혼합된 샘플을 50°C에서 5분간 반응시킨 다음 상온에서 식힌 후, 분광광도계(Genesys 10 UV, Rochester, NY, USA)를 사용하여 760nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준시약으로는 gallic acid를 사용하였다.

#### DPPH radical scavenging 분석

실험재료와 실험어류의 간에 축적된 항산화효과를 검증하기 위하여 DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) 저해활성 분석을 수행하였다. 먼저, 재료와 간을 막자사발을 이용하여 분쇄시킨 다음 희석 메탄올 용액에서 (methanol:water, 4:1, v:v)균질기 (CAT Homogenizer X120, Germany)로 1분 동안 균질화하였다. 균질화 된 혼합물을 1500 $\mu$ l씩 eppendorf tube로 옮긴 후 원심 분리기로 4°C에서 5000rpm 속도로 10분 동안 원심분리하여 상층액을 0.45 $\mu$ m microfilter 주사기를 이용하여 여과하였다. 여과된 샘플은 다시 eppendorf tube로 옮긴 후 DPPH용액(0.1mM)과 샘플의 비율이 각각 950 $\mu$ l : 50 $\mu$ l 되도록 혼합된 후 분광광도계로 517nm파장에서 1분 간격으로 10분동안 측정되었다. 측정된 값은 다음 식을 통하여 계산되었다 (Sandoval et al., 2002).

Percent Inhibition = [(A<sub>0</sub>-A<sub>s</sub>)/A<sub>0</sub>] $\times$ 100 (A<sub>0</sub>:처음흡광도, A<sub>s</sub>:시간에 따른 517nm에서의 흡광도)

#### Myeloperoxidase 분석

혈청 내 myeloperoxidase 분석은 Kumari and Sahoo (2005)의 방법을 기초로 분석하였다. 먼저 HBSS (Hans balance saline solution)을 96-well plates에 80 $\mu$ l씩 분주한 다음 혈청 20 $\mu$ l를 넣는다. 그 후 20mM TMB (3,3',5,5'-tetramethylbenzidine hydrochloride)용액과 5mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>용액을 넣는다. 2분간 반응시킨 후 4M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>용액을 35 $\mu$ l 첨가한다. 그 후 microplate reader 450nm에서 흡광도를 측정한다.

#### Lysozyme 분석

혈청 내 lysozyme 분석을 위해 Micrococcus lysodeikticus cell을 이용하여 분석하였다. 먼저, 0.1M sodium phosphate acid buffer (pH 6.4)에 동결 건조된 M.lysodeikticus (Sigma)를 첨가하여 0.75 mg/ml 농도의 현탁액을 만든다. 200 $\mu$ l의 현탁액을 96-well plates에 분주하고, 어류에서 분리한 혈청 20 $\mu$ l를 넣는다. 접종 후 즉시, 570nm 흡광도에서 최초 흡광도 값을 측정하고, 상온에서 30분 동안 배양 후, 마지막 흡광도 값을 측정한다. 분석 값은 혈청 1ml당 lysozyme unit으로 표현되며, 1 unit은 분당 0.001 흡광도의

감소를 일으키는 총량으로 정의된다.

#### SOD (Superoxide dismutases) activity 분석

우선 간 샘플을 각 수조 당 3마리씩 분리한 후, 0.2g의 간에 20mM sodium phosphate buffer (pH 7.4)를 1.8ml 넣은 후 호모제나이저를 이용하여 40초 동안 균질화 시킨다. 그 후 원심분리기 15000rpm으로 4°C에서 10분간 분리하여 상층액을 분리한다. 다음 96-well plates에 20 $\mu$ l radical detector 첨가한 후 샘플을 10 $\mu$ l씩 넣는다. 그 후 20 $\mu$ l xanthine oxidase를 첨가하여 20분 반응시킨다. 최종적으로 microplate reader 450nm에서 흡광도를 측정한다. U/mg protein으로 값을 나타내었다.

#### *Edwardsiella tarda* 공격실험

본 실험에서 사용된 *Edwardsiella tarda*는 어류 질병 미생물로서 KCTC-12267(한국유전자은행)에서 분양 받아 -70°C Deep freezer에서 보관 (50% 글리세롤)하여 실험에 사용하였다.



Fig. 3-5. Experimental tanks for challenge test with *Edwardsiella tarda*

분양받은 세균은 1.5% NaCl이 첨가된 Brain Heart Infusion Broth (Difco)배지에 25°C 48시간 배양을 하여 사용하였으며, 1.5% NaCl이 첨가된 Salmonella Shigella agar (Difco)에 균액을 접종하여 균의 집락을 확인하였다. 균액의 농도를 McFarland No. 0.5로 맞추기 위하여 배양된 균액을 멸균생리식염수로 희석하였다. 2주간의 사료공급이 끝나고 면역분석을 위해 채혈한 후 남은 어류 중 각 수조마다 10마리의 실험어를 무작위 선별하여 0.1ml의 *Edwardsiella tarda* 현탁액을 (107 colony forming units/ml) 넙치 복강 내에 주사하였다. 병원균이 주입된 실험어는 총 26개의 20L 수조에 그룹별로 2반복 무작위 배치하였다 (Fig. 3-5). 사육수는 여과해수를 하루 2번 교환하였고, 하루 두 번 실험어의 누적사망률을 형태적으로 관찰하였고, 사망어류의 신장을 분리한 후



Salmonella shigella agar (Difco)에서 배양하여 사망원인을 진단하였다.

#### 통계학적 분석

실험사료의 배치는 완전확률계획법(Completely randomized design)을 실시하였고, 성장 및 분석결과는 SPSS (Version 11.0) 프로그램을 이용하여 One-way ANOVA로 통계 분석되었다. 데이터 값의 유의차는 Duncan's multiple test (P 0.05)로 비교되었다. 데이터는 평균값  $\pm$  표준편차(mean  $\pm$  std)로 나타내었다. 백분율 데이터는 arcsine 변형값으로 계산하여 통계 분석되었다.

### 다. 실험 결과

#### 1. 실험 1 (스피롤리나 실험)

본 실험은 스피롤리나의 단계별 첨가를 통해 넙치를 대상으로 면역력 증강효과를 조사하기 위해 수행되었다. 실험사료를 공급한 어류의 혈액에 있어서의 NBT activity, MPO activity를 분석한 결과 스피롤리나가 첨가구에서 유의적으로 높은 비특이적 면역 활성을 보였다(Fig. 3-6 and 3-7). 우선 시간대별로 NBT activity를 분석한 결과 3시간에서는 모든 실험구에서 유의적인 차이를 보이지 않았다. 하지만 6시간 후에는 스피롤리나가 첨가된 모든 실험구에서 스피롤리나가 첨가되지 않은 대조구보다 유의적으로 높은 활성을 보였으며, 12시간과 24시간 후에는 유의적인 차이를 보이지 않았지만 모든 실험구에서 대조구 보다 높은 활성을 보였다. 24시간 후의 혈액에서의 MPO activity는 스피롤리나 첨가함량이 증가함에 따라 증가하는 경향을 보였고, 스피롤리나 9%첨가구가 대조구 보다 유의적으로 높은 활성을 보였다 (Fig 3-7).

간에서의 SOD activity의 결과를 보면 스피롤리나의 함량이 증가함에 따라 SOD activity도 증가하는 경향을 보였고, 스피롤리나 9%첨가구에서 대조구보다 유의적으로 높은 활성을 보였고, 6%첨가구와는 유의적인 차이를 보이지 않았다 (Fig. 3-8).

사료공급실험 종료 후, *Edwardsiella tarda*를 이용한 공격실험의 결과는 Fig. 3-9에서 보여주고 있다. 스피롤리나가 첨가된 모든 실험구에서 대조구보다 유의적으로 낮은 누적사망률 결과를 보여주고 있다. 공격실험 3일째까지는 비슷한 경향을 보이다가 4일째부터 급격하게 폐사하기 시작하여 7일째 부터는 더 이상 폐사하는 개체가 발생하지 않았다.

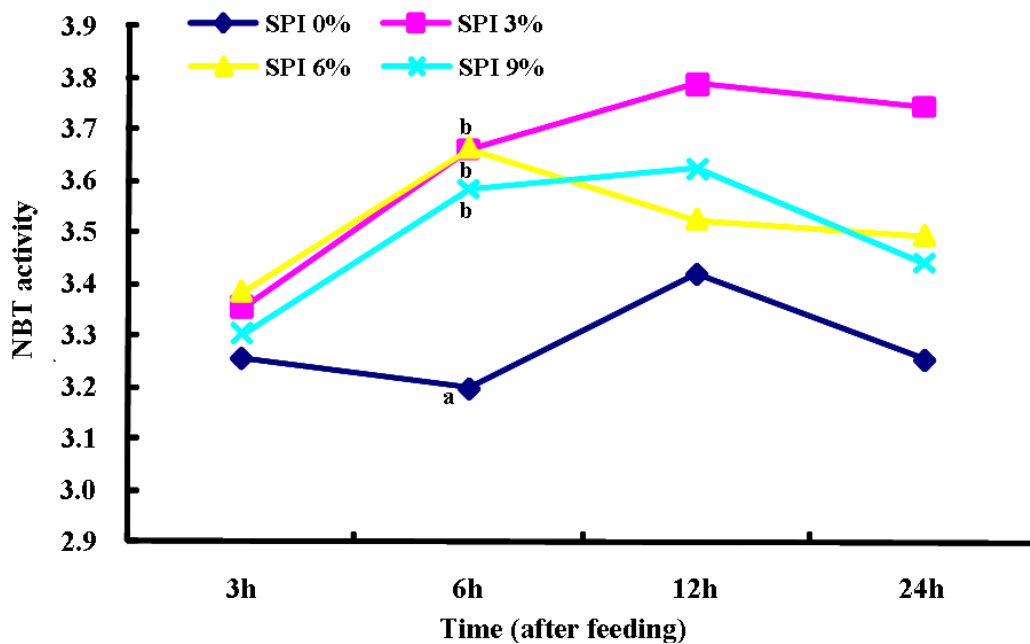


Fig. 3-6. NBT activity of olive flounder fed the experimental diets containing 0%, 3%, 6% and 9% of *Spirulina pacifica*. Values are presented as means  $\pm$  SD (n=3).

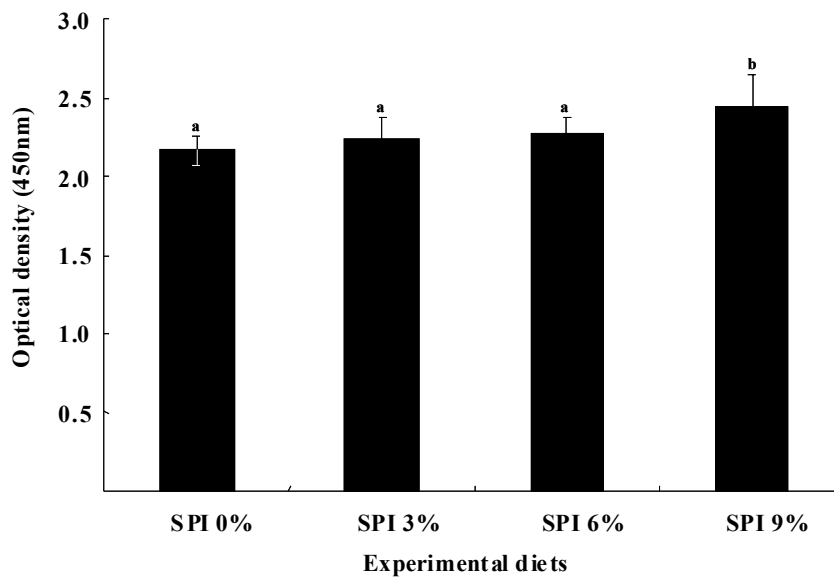


Fig. 3-7. Myeloperoxidase activity in fish fed the experimental diets containing different levels of *Spirulina pacifica* for 2 weeks. Values are means of three replicates per treatment. Bars with different letters are significantly different ( $P \leq 0.05$ ).

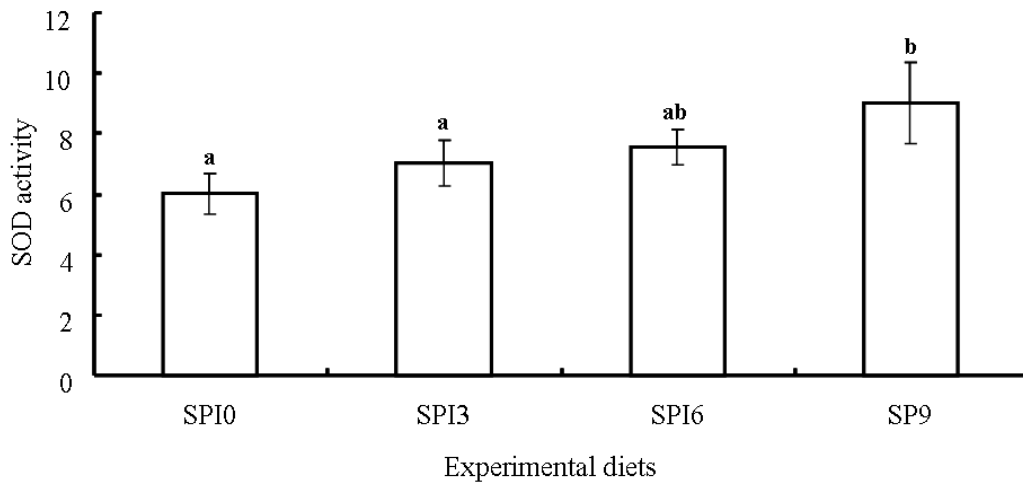


Fig. 3-8. Liver superoxide dismutase activity (SOD) of olive flounder fed the experimental diets containing 0%, 3%, 6% and 9% of *Spirulina pacifica*. Values are presented as means  $\pm$  SD (n=3).

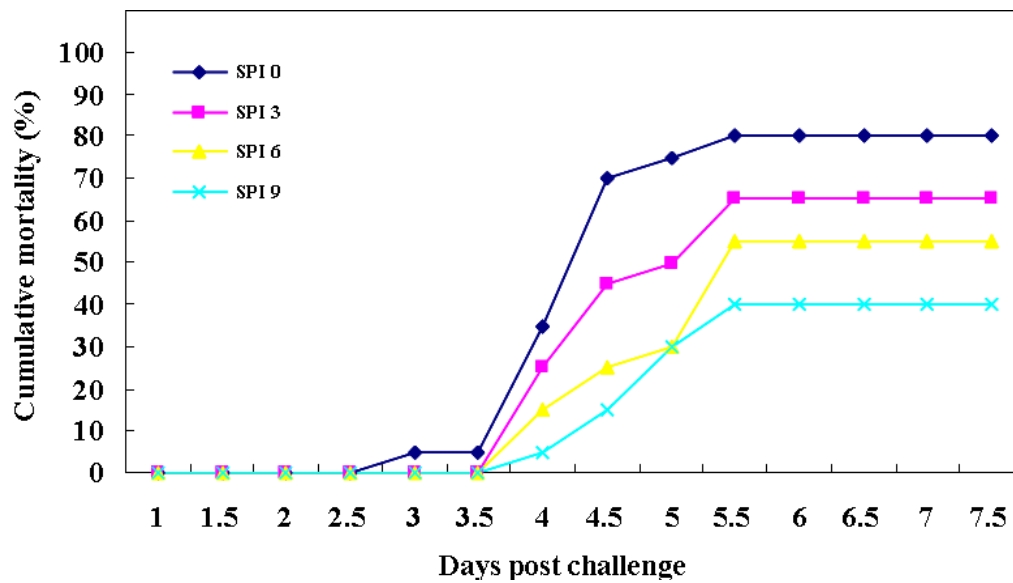


Fig. 3-9. Cumulative mortality after challenge test with *Edwardsiella tarda* by intraperitoneal injection in olive flounder fed the diets containing 0%, 3%, 6% and 9% of *Spirulina pacifica* for 2 weeks. Values are presented  $\pm$  as means (n=3).

## 2. 실험 2 (아스타잔틴 실험)

본 실험은 아스타잔틴의 단계별 첨가를 통해 넙치를 대상으로 면역력 증강효과를 조사

하기 위해 수행되었다. 실험사료를 공급한 어류의 혈액에 있어서의 NBT activity를 분석한 결과 아스타잔틴 첨가구에서 유의적으로 높은 비특이적 면역 활성을 보였다 (Fig. 3-10). 우선 시간대별로 NBT activity를 분석한 결과 3시간에서는 모든 실험구에서 유의적인 차이를 보이지 않았다. 하지만 6시간 후에는 아스타잔틴이 첨가된 모든 실험구에서 아스타잔틴이 첨가되지 않은 대조구 보다 유의적으로 높은 활성을 보였으며, 12시간 후에도 1%첨가를 제외한 2, 3% 첨가구에서 대조구 보다 유의적으로 높은 활성을 보였다. 24시간 후에는 유의적인 차이를 보이지 않았지만 모든 실험구에서 대조구 보다 높은 활성을 보였다. 간에서의 SOD activity 결과를 보면, 아스타잔틴의 함량이 증가함에 따라 SOD activity도 증가하는 경향을 보였고, 아스타잔틴 2, 3%첨가구에서 대조구보다 유의적으로 높은 활성을 보였고, 1%첨가구와는 유의적인 차이를 보이지 않았다 (Fig. 3-11). 아스타잔틴은 카로티노이드계 색소로써 비타민 E보다도 강한 항산화효과가 있다고 알려져 있다. 따라서 이번 연구에서는 실험사료와 간에서의 vitamin C 함량을 분석하였는데, 분석 결과 아스타잔틴 첨가함량이 증가함에 따라 실험사료와 간에서의 vitamin C 함량이 증가하는 것을 볼 수 있었다 (Fig. 3-12).

사료공급실험 종료 후, *Edwardsiella tarda*를 이용한 공격실험의 결과는 Fig. 3-13에서 보여주고 있다. 아스타잔틴이 첨가된 모든 실험구에서 대조구보다 유의적으로 낮은 누적 사망률 결과를 보여주고 있다. 공격실험 4일째까지는 비슷한 경향을 보이다가 5일째부터 급격하게 폐사하기 시작하여 7일째부터는 더 이상 폐사하는 개체가 발생하지 않았다.

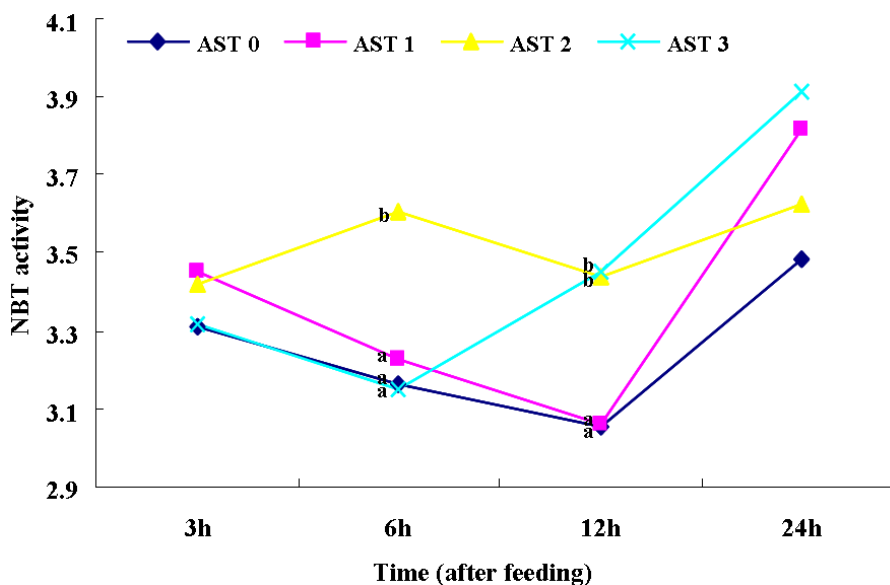


Fig. 3-10. NBT activity of olive flounder fed the experimental diets containing 0%, 1%, 2% and 3% of astaxanthin. Values are presented as means  $\pm$  SD (n=3).

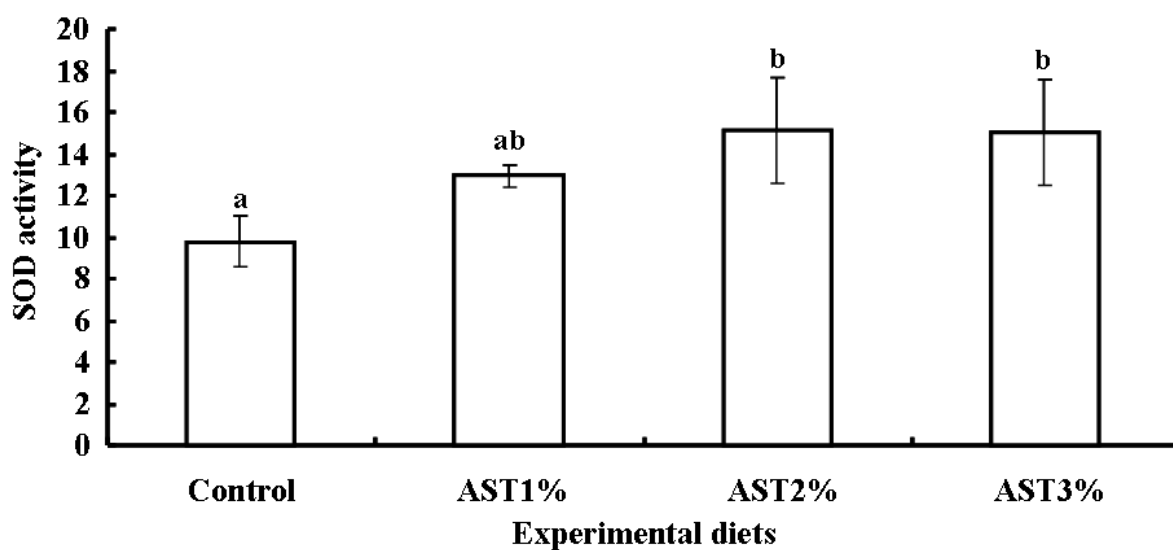


Fig. 3-11. Superoxide dismutase activity of olive flounder fed the experimental diets containing 0%, 1%, 2% and 3% of astaxanthin. Values are presented as means  $\pm$  SD (n=3).

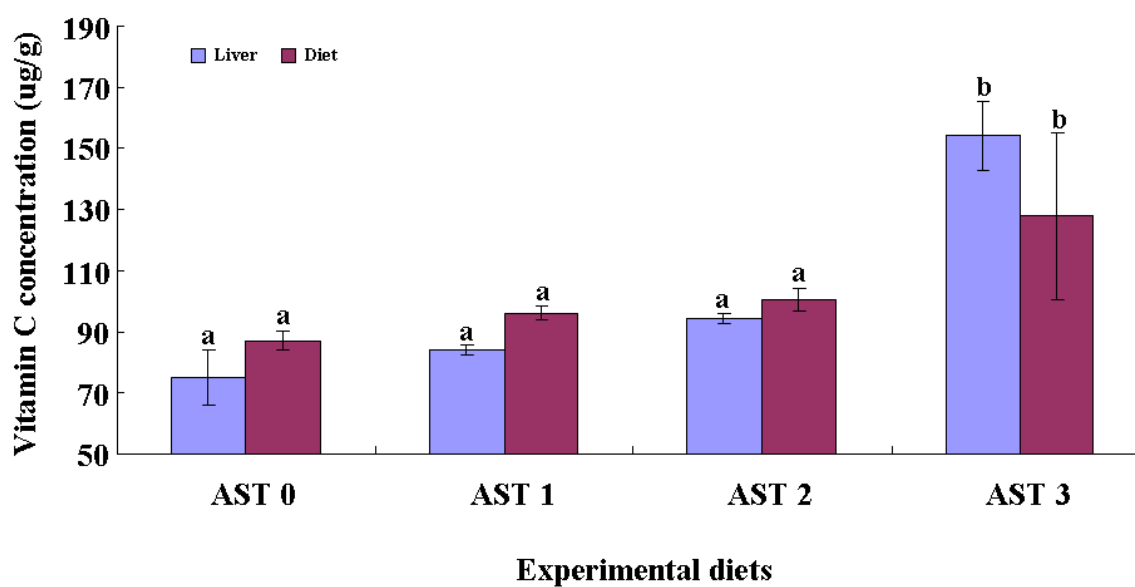


Fig. 3-12. Vitamin C concentration of the experimental diets and liver

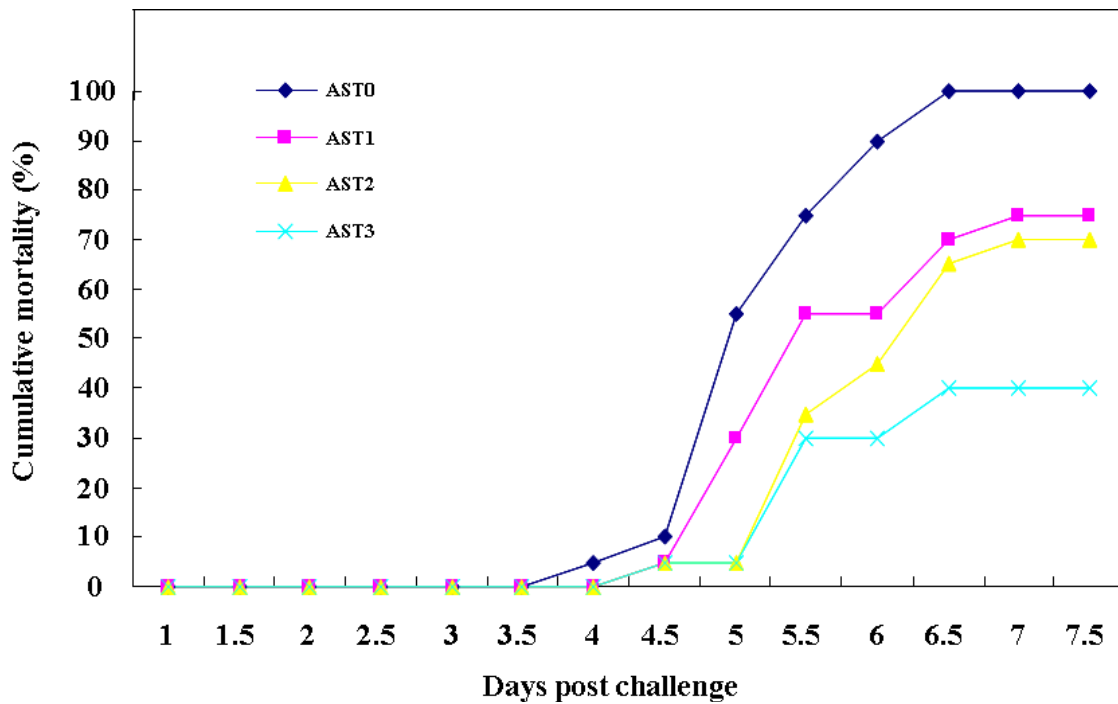


Fig. 3-13. Cumulative mortality after challenge with *Edwardsiella tarda* by intraperitoneal injection in olive flounder fed the challenge test diet containing 0%, 1%, 2% and 3% of astaxanthin for 2 weeks.

### 3. 실험 3 (툫·감태 실험)

이 실험은 툫·감태의 혼합첨가를 통해 넙치를 대상으로 면역력 증강효과를 조사하기 위해 수행되었다. 실험사료를 공급한 어류의 혈액에 있어서의 NBT activity를 분석한 결과 툫·감태 첨가구에서 유의적으로 높은 비특이적 면역 활성을 보였다. 우선 시간대별로 NBT activity를 분석한 결과 3시간에서는 모든 실험구에서 유의적인 차이를 보이지 않았다. 하지만 6시간 후에는 툫·감태가 첨가된 모든 실험구에서 툫·감태가 첨가되지 않은 대조구 보다 유의적으로 높은 활성을 보였으며, 12시간 후에는 다시 모든 실험구에서 유의적인 차이를 보이지 않았으며, 24시간 후에 다시 툫·감태 4%와 6% 첨가구가 대조구 보다 유의적으로 높은 활성을 보였으며, 2%와 8%와는 유의적인 차이를 보이지 않았다 (Fig. 3-14).

실험사료에서 DPPH radical scavenging activity를 분석한 결과, 툫·감태 첨가함량이 증가함에 따라 항산화효과가 증가하는 경향을 보였다. 실험사료에서의 폴리페놀함량 또한 툫·감태 첨가함량이 증가함에 따라 유의적으로 증가하는 결과를 보였다 (Fig. 3-15, 3-16).

사료공급실험 종료 후, *Edwardsiella tarda*를 이용한 공격실험의 결과는 Fig. 3-17에 나

타내었다. 톳·감태가 2% 첨가된 실험구를 제외한 모든 실험구에서 대조구 보다 유의적으로 낮은 누적사망률 결과를 보여주고 있다. 공격실험 3일째까지는 비슷한 경향을 보이다가 4일째부터 급격하게 폐사하기 시작하여 5일째부터는 더 이상 폐사하는 개체가 발생하지 않았다.

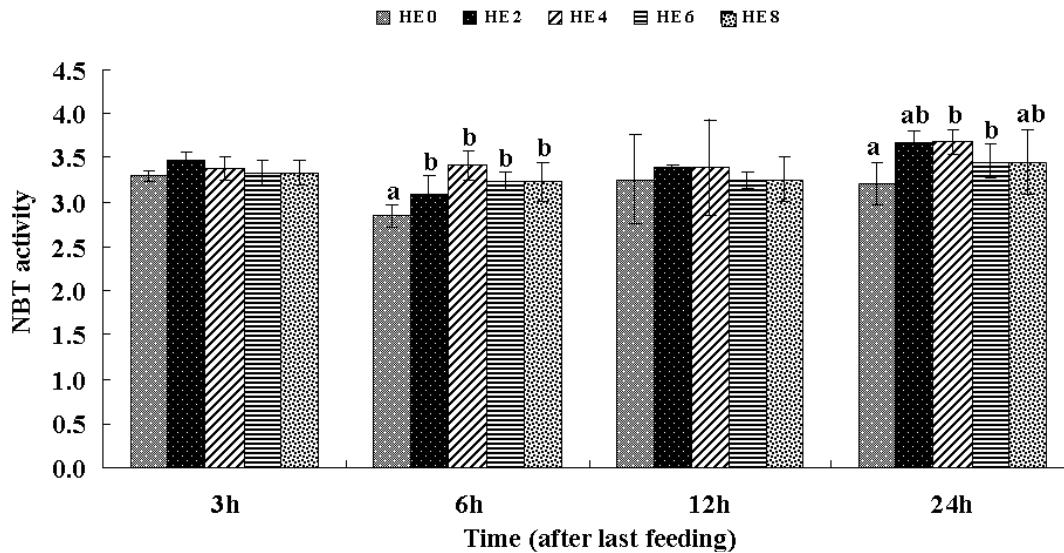


Fig. 3-14. NBT activity of olive flounder fed the experimental diets containing 0%, 2%, 4%, 6% and 8% of alga mixtures. Values are presented as means  $\pm$  SD (n=3).

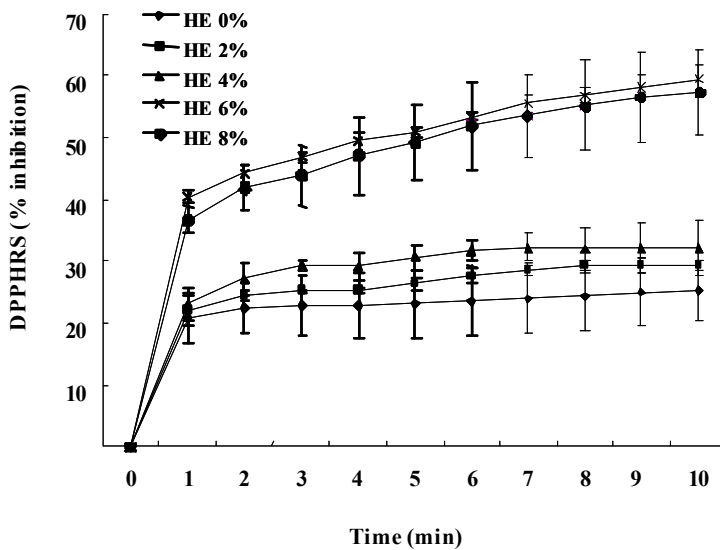


Fig. 3-15. DPPH radical scavenging activity (DPPHRS) in the experimental diets

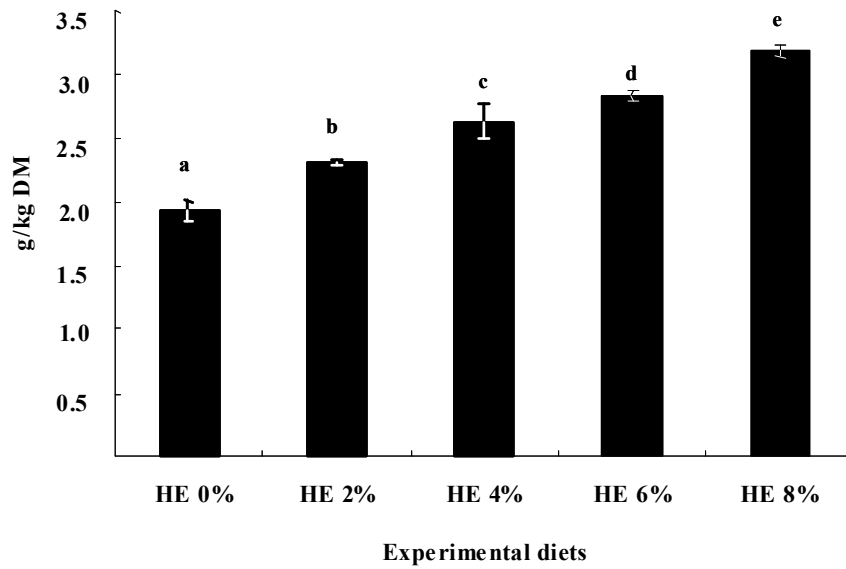


Fig. 3-16. Total polyphenolic compounds in the experimental diets supplemented with 0%, 2%, 4%, 6% and 8% alga mixtures. Bars with different letters are significantly different ( $P \leq 0.05$ )

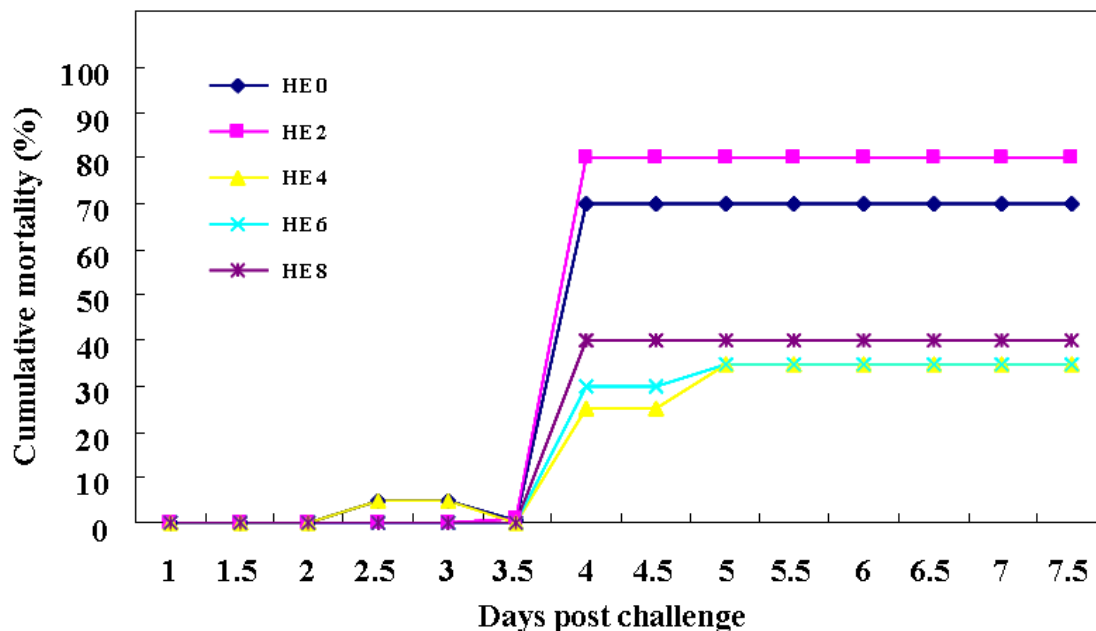


Fig. 3-17. Cumulative mortality after challenge with *Edwardsiella tarda* by intraperitoneal injection in olive flounder fed the challenge test diet containing 0%, 1%, 2% and 3% of alga mixtures for 2 weeks.



## 라. 결론

이 연구는 스피룰리나, 아스타잔틴, 톳·감태 혼합물을 사료에 첨가하여 넙치를 대상으로 면역력 증강 효과와 어병 세균에 대한 저항성을 알아보고자 수행하였다.

실험 1의 스피룰리나 실험에서는 스피룰리나를 사료 내 단계별로 0%, 3%, 6% 및 9%로 첨가하여 최적의 첨가량을 결정하고 비특이적 면역관련 활성을 분석한 결과, 사료 내 스피룰리나의 첨가는 면역세포의 활성을 증가시켜 비특이적 면역반응을 향상시키는 것으로 판단되었다. 또한 넙치에 있어서 주요 어병세균인 *Edwardsiella tarda*에 대해서도 누적사망률이 유의적으로 감소하는 것으로 보아 저항성을 높일 수 있을 것으로 판단된다. 적정첨가 함량은 6%이상으로 보여진다.

실험 2, 아스타잔틴의 경우 아스타잔틴의 단계별 첨가 (0%, 1%, 2% 및 3%)를 통해 넙치를 대상으로 면역력 증강효과를 조사한 결과, 아스타잔틴의 사료 내 첨가는 넙치의 비특이적 면역반응을 증가시키는 것으로 결론지어졌다. 넙치에 있어서 주요 어병 세균인 *Edwardsiella tarda*에 대한 공격실험을 수행한 결과, 아스타잔틴의 첨가함량이 증가함에 따라 누적사망률이 감소시킴으로서 질병저항성도 높일 수 있을 것으로 판단된다. 또한 실험사료와 간에서 vitamin C 함량을 분석한 결과, 아스타잔틴의 첨가함량이 증가함에 따라 vitamin C 절약효과를 나타냄으로서 강한 항산화제로써도 유용하게 이용될 것으로 판단된다. 적정첨가 함량은 2-3% 범위로 여겨진다.

실험 3, 톳·감태 혼합물의 경우 실험사료 단계별 첨가 (0%, 2%, 4%, 6% 및 8%)를 통해 넙치를 대상으로 면역력 증강효과를 조사한 결과, 항산화효과뿐만 아니라 유의적으로 높은 비특이적 면역 활성을 관찰할 수 있었다. 어병세균에 대한 공격실험에서도 2% 첨가구를 제외한 모든 첨가구에서 유의적으로 낮은 누적사망률을 관찰할 수 있었다. 따라서 사료 내 톳·감태의 적정 첨가는 넙치에 있어서 비특이적 면역반응 향상에 효과가 있고, 어병세균에 대한 저항성을 높일 수 있을 것으로 사료된다. 적정첨가 함량은 4-6% 범위로 여겨진다.

이상의 결과를 종합해 보면, 스피룰리나, 아스타잔틴 및 톳·감태 혼합물은 넙치에 있어서 비특이적 면역반응의 향상과 어병세균인 *E. tarda*에 대한 저항성을 향상시켜 앞으로 합성항생제를 대체할 수 있는 천연 면역증강물질로 사용할 수 있는 가능성을 보여 주었다. 이 물질들이 넙치의 비특이적 면역반응과 어병세균에 대한 저항성을 높이는 메카니즘은 폴리페놀 함량과 항산화 효과 및 강한 항산화제인 vitamin C와 같은 영양소에 대해서 절약효과(sparing effect)를 가져오기 때문으로 판단된다. 앞으로 경제성과 기타 추가분석을 통해 상업적으로 가능한 최적의 첨가량을 결정하고 합성항생제를 대체할 수 있는 천연 사료첨가제로써 이용하기 위해, 성장효과와 더불어 보다 장기적인 사육실험이 추가적으로 수행되어야 할 것으로 판단된다.

### 3. 사료 조성에 따른 넙치의 유전자 발현양상 분석

#### 가. Realtime PCR 조건의 확립

Realtime PCR법을 이용하여 유전자 발현양상을 분석하였으며 사용된 primer는 Table 3-42에 나열되어 있으며 dissociation curve로서 각 primer set가 특이적으로 결합한 것을 확인하였고 또한 amplification plot으로서 반응이 잘 일어나는 것을 알 수 있었다 (Fig. 3-18, 3-19). 그리고 각 primer set를 이용한 PCR 산물들은 sequencing하여 염기 서열을 확인하였다 (data not shown).

Table 3-42. Primer lists used for realtime PCR analysis

Gene	sequence	Tm(°C)
TNF- $\alpha$ F	5'-GGACGGAGACGCCACCTT-3'	56.2
TNF- $\alpha$ R	5'-CTCAAACATCCAAAGTCGAGCTT-3'	56.0
IL-1 $\beta$ F	5'-GACAGTGAGATGGTGCATTTC-3'	55.7
IL-1 $\beta$ R	5'-ACCATCACTGGCCTGTTGTCT-3'	55.5
NKC F	5'-GACTCACACTTCTCCCATTTTGC-3'	55.6
NKC R	5'-TCTTCCTTCAGGACGCCATAG-3'	55.8
Gelsolin F	5'-GAGCCTCCCCACCTGATGA-3'	56.8
Gelsolin R	5'-GGTCTGCGACTGTCCACCTT-3'	56.1
NADH <sub>ds1</sub> F	5'-GGCGCTTCCCACATTCC-3'	55.8
NADH <sub>ds1</sub> R	5'-TGCTTTGGTCATGATATTGATGCT-3'	57.2
COS3 F	5'-CTTCGTTGCCACTGGTTTCC-3'	56.6
COS3 R	5'-TCATGCGGCTGCTTCGA-3'	56.8
Myosin F	5'-AGCCCTACAATCGCTTCCTACA-3'	56.7
Myosin R	5'-GCTACGTCGTCCTGGAAACC-3'	55.8
HSC70 F	5'-CCGCACCCAACACCTAAAGT-3'	56.1
HSC70 R	5'-CTGTTGCCCTGGTCATTGG-3'	55.8

Table 3-43. Sequence of PCR products

Gene	Sequence of PCR products	Identities	Gene ID
TNF- $\alpha$	GGACGGAGACGCCACCTTCCTGGGTGCTGTCAAACCTG GCCTGAATGGTGTACCTCACCTTGGACCCGGGGGAC TCTGCTGTCATTTGAAAAGAGTTTCATACTGGGAA GCTCGACTTTGGATGTTTGGAG	98%	gi:78225772
IL-1 $\beta$	GACAGTGAGATGGTGCATTTCTGTTCTAC AAGCAGGACAGCGGGGGGGTGGAGCATCAGC ACCCTCATGTCCGCCCGCTTCCCAACTGGTACATCA GCACATCAGAGCAAGACAACAGGCCAGTGATGGT	98%	gi:19911214
NKEF	GACTCACACTTCTCCATTTTGCATGGACCAACACAC CACGTAAGCMGGGCGGTCTGGGTACCATGAAGATTC CCTTGGTATCTGACACACGGCGCACCATCTCCACAGA CTATGGCGTCTGAAGGAAG	100%	gi:12391308
Gelsolin	GAGCCTCCCCACCTGATGAGCCTGTTCCAGGGCAAAC CCATGATCATCCACAGCGGAGGGACGTCACGCAAAGG TGGACAGTCGCAGACC	100%	This lab
NADH dehydrogenase subunit 1	GGCGCTTCCCACATTCCGTCCATCCCCGAATTGACGA GCATCAATATCATGACCAAAGCA	98%	gi:78227496
Cytochrome oxidase subunit 3	CTTCGTTGCCACTGGTTTCCACGGACTTCATGTTCT AATCGGCTCGACGTTCTTGGCCGTCTGCCTCCTACGT CAGATTCTCCACCACTTTACGGCCAATCACCATTTTG GGTTTGAAGCAGCCGCATGA	98%	gi:5018706
Myosin	AGCCCTACAATCGCTTCCCTACAGCGGTATAAAATGAC GTGTGAGTACACCTGGCCGAACCACCTGATGGGGTC GGACAGACAGGCCGTGGAGGCCATCGTCAACCACTAC GGTTTCCAGGACGACGTAGC	98%	gi:5018506
HSC70	ACTGCTATGTCAGGCACATAGCTAGGTGAGGTCGTG TGCCCTTGATCTCGGCACCACCTACTCCTGTGTTGGT GTGTTCCAGCATGCAAAAGTTGAGATCATTGCCAAT GACCAGGGCAACAGGACCACCCAGCTATGTGGCCT TCACAGATCCGAGAGGCTGATTGGG	92%	gi:154782721

Real time PCR로 측정된 Ct값은 HSC70 유전자에 의해서 normalize되었으며, 대조구 사료와 비교하여 그 발현의 차이를 fold change로 나타내었다. 측정된 데이터는 SPSS 프로그램을 사용하여 One Way ANOVA test를 하여 유의적인 차이를 확인하였으며, Duncan의 다중비교를 사용하여 그룹을 확인 하였다.

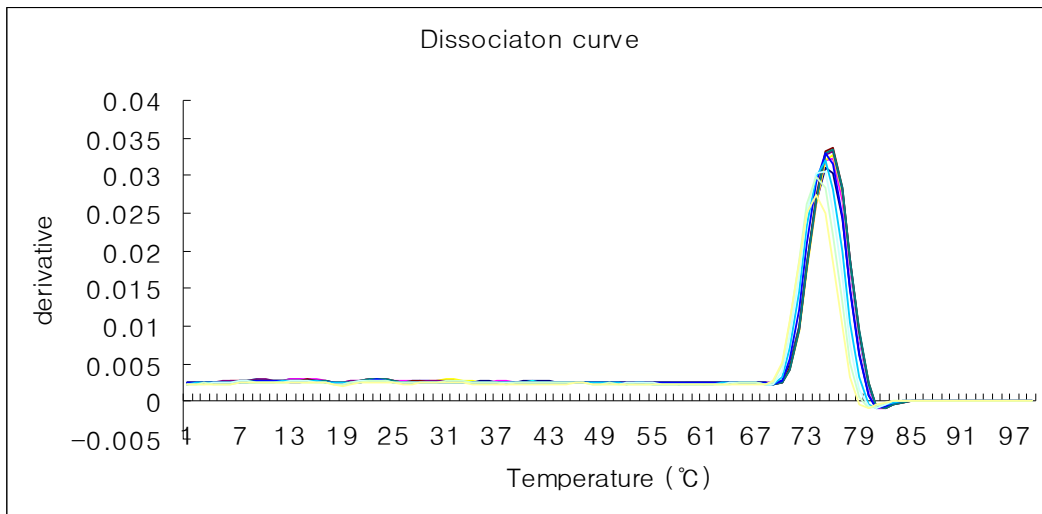


Fig. 3-18. Dissociation curve. Specific bindings of primers were verified.

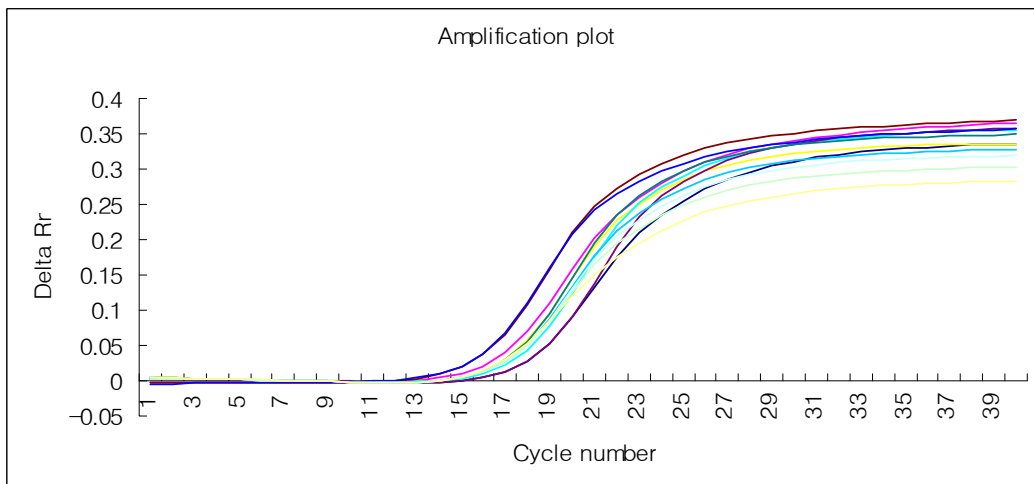


Fig. 3-19. Amplification plot of realtime PCR

#### 나. 넙치 조직별 유전자 발현 양상

어체 내 조직별 유전자의 발현 양상을 조사하기 위하여 실험구당 각각 9마리의 넙치로부터 전신(S-HK), 간(S-L), 장(S-I), 조직을 채취하고 즉시 액체질소에서 동결한 후  $-80^{\circ}\text{C}$ 에서 보관한다. 보관하던 조직은 막자사발에 액체질소를 넣어 가루로 분쇄한 후 Trizol 시약을 사용하여 total RNA를 분리한다. 역전사하여 cDNA를 제작한 후 Q-PCR을 실시하였다. internal control 유전자로서 HSC70 (Heat Shock Protein 70) 유전자를 이용하였다.

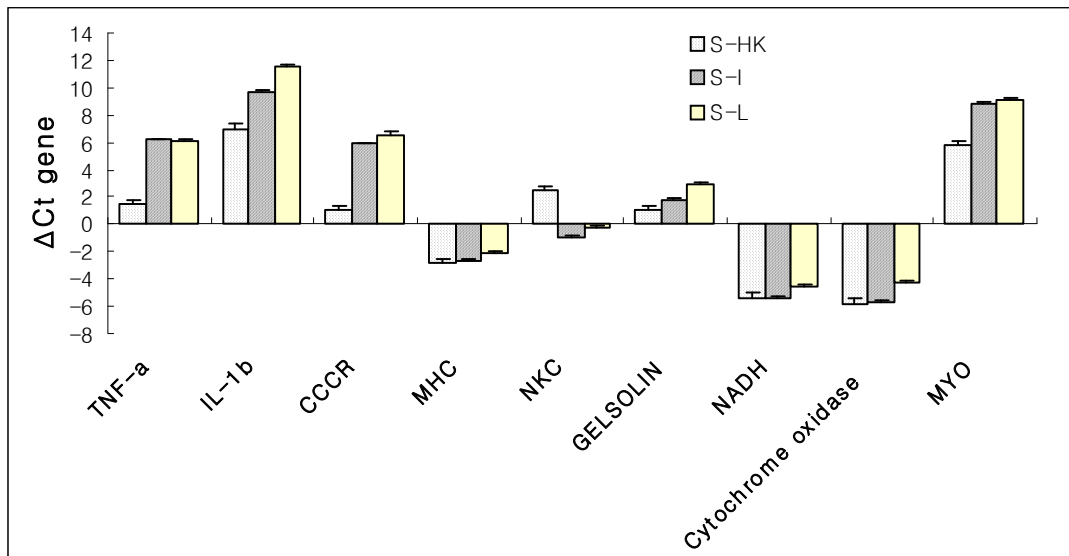


Fig. 3-20. Levels of  $\Delta C_t$  gene in headkidney, intestine and liver

- 유전자 발현 분석을 위한 시료 처리 방법 및 각 유전자별 Q-PCR 조건을 확립함
- 조직간, 유전자간의 발현차이를 확인함

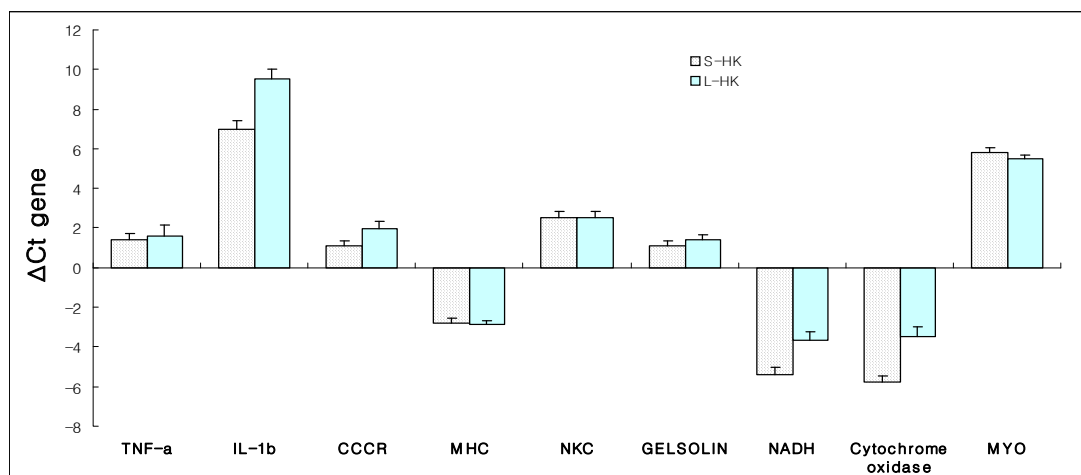


Fig. 3-21. Levels of  $\Delta C_t$  gene in headkidney, intestine, and liver in large size and small size of flounder

- 전신에서 큰 넙치와 작은 넙치의 유전자 발현양상이 거의 유사함을 확인함 따라서 앞으로의 실험에 작은 넙치를 이용하고자함

#### 다. 넙치 조직별 유전자 발현 양상

사료조성을 달리한 사료를 먹인 넙치를 각 실험구당 5마리씩 채집하여 마취시킨 후 두 신을 5주와 15주째에 분리하였다. TRIzol®(invitrogen)을 사용하여 RNA를 추출하였고,

추출된 RNA를 사용하여 cDNA를 합성하였다. 합성된 cDNA를 ABI 7200 실시간 중합 효소 연쇄 반응기를 이용하여 Real time PCR을 실시하였다. 발현 분석에 사용된 유전자는 TNF- $\alpha$  (tumor cell necrosis factor), IL-1beta, NK-cell enhancing factor, gelsolin, NADH dehydrogenase, cytochrome oxidase 그리고 myosin의 발현량을 측정하였으며, house keeping gene으로 HSC70(heat shock cognate 70)유전자를 사용하였다.

#### 라. 사료 조성에 따른 유전자 발현의 분석

##### 지질원과 지질, 탄수화물, 단백질양의 차이에 따른 유전자의 발현분석

사료급이 5주와 15주후에 전신에서의 유전자 발현을 분석한 결과 5주째에는 모든 유전자의 발현이 대조구와 비교하여 대체로 증가하는 경향을 보였으나 15주째에는 대조구와 거의 비슷한 유전자 발현양상을 보여 실험에 사용된 사료급이가 초기에는 어체에 스트레스로 작용하지만 장기간 급이에 의해 적응이 되는 것으로 보인다(Table 3-43). 5주째에 FO와 HL-FO그룹에서 TNF- $\alpha$  유전자 발현이 대조구와 비교하여 유의성 있게 증가하였으나 15주째에는 대조구와 비교하여 유의성있게 증가하거나 감소하는 유전자발현을 관찰할 수 없었다 (Fig. 3-22). 성장관련 유전자인 myosin의 경우 5주째에는 HL-FO와 HL-VO 그룹에서 증가하는 경향을 보였으나 15주째에는 SO 그룹에서 증가되고 반면에 LL-HP와 LO그룹에서는 감소되는 것으로 나타나 지질의 감소되었을때 단백질의 증가는 성장에 도움이 되지 않을 것으로 보이며 단백질 보다는 탄수화물의 증가시키는 것이 성장에는 도움을 줄 수 있을 것으로 보인다. 또한 Linseed oil의 장기적인 급이는 성장에 안 좋은 영향을 미칠 수도 있다 (Fig. 3-28). 그 외 면역관련유전자인 IL-1beta나 NK cell enhancing factor, 아포토시스관련 유전자인 gelsolin의 경우는 실험구간에 차이를 보이지 않는 것으로 나타나 지질원과 지질, 탄수화물, 단백질양의 차이가 이들 유전자에 영향을 미치지 않는 것으로 생각된다.

Table 3-44. Gene expression levels relative to control group after feeding diets containing different oil sources or different levels of nutrients for 5 weeks or 15 weeks

Gene	Diet	week 5		week 15	
		fold change	S.D.	fold change	S.D.
TNF- $\alpha$	FO	11.34 *	10.99	0.91	0.6
	LO	5.51	3.25	0.92	0.41
	SO	0.85	0.81	2.56	1.58
	Control	1.05	0.97	1.38	1.09
	LL-HP	0.66	0.28	1.59	1.43
	HL-FO	9.29 *	4.73	0.99	0.16
	HL-VO	5.16	1.89	0.87	0.47
	LL-HC	5.5	2.24	0.33	0.54
IL-1 $\beta$	FO	1.39	0.46	0.66	0.24
	LO	15.89	14.82	0.86	0.61
	SO	0.29	0.99	0.79	1.12
	Control	1.15	2.64	1	0.82
	LL-HP	0.38	0.25	0.81	0.95
	HL-FO	9.14	7.59	2.36	1.24
	HL-VO	2.53	1.85	1.13	5.47
	LL-HC	10	10.68	0.17	0.77
NKEF	FO	2.83	1.19	0.96	5.16
	LO	6.84	3.79	0.47	0.18
	SO	0.87	0.8	1.33	3.9
	Control	0.75	0.68	1	1.06
	LL-HP	0.22	0.03	0.63	0.59
	HL-FO	5.48	2.31	0.52	0.69
	HL-VO	6.47	10.51	0.85	9.3
	LL-HC	2.81	1.91	0.22	0.26
Gelsolin	FO	5.62	6.07	0.58	0.64
	LO	13.13	4.01	0.65	0.25
	SO	1.8	3.17	1.74	0.92
	Control	1	2.2	1	0.63
	LL-HP	0.64	0.11	0.81	0.34
	HL-FO	10.71	4.65	0.63	0.2
	HL-VO	10.3	12.53	0.8	5.29
	LL-HC	4.99	1.87	0.26	0.63

NADH dehydrogenase	FO	1.81	0.93	0.77	0.69
	LO	26.43	18.75	0.51	0.53
	SO	0.76	0.67	2.27	0.87
	Control	1	15.01	1	0.49
	LL-HP	0.55	0.14	1.99	1.09
	HL-FO	14.15	13.05	1.27	1.29
	HL-VO	8.2	3.6	2.1	20.59
	LL-HC	7.46	4.82	0.5	0.65
Cytochrome oxidase	FO	2.16	0.83	0.99	0.79
	LO	26.34	20.84	0.56	0.64
	SO	0.86	0.82	1.83	0.75
	Control	1	15.11	1	0.79
	LL-HP	0.49	0.11	2.14	1.06
	HL-FO	13.05	13.93	1.12	0.79
	HL-VO	8.35	1.02	1.57	10.18
	LL-HC	7.03	4.57	0.55	0.35
Myosin	FO	0.87	0.91	0.39	0.17
	LO	0.54	1.08	0.26	0.09
	SO	0.81	0.32	1.14	0.5
	Control	0.76	0.53	1	0.31
	LL-HP	0.77	0.12	0.42	0.27
	HL-FO	1.97	0.87	0.52	0.26
	HL-VO	2.46	0.75	0.71	0.66
	LL-HC	0.71	0.36	0.34	0.3



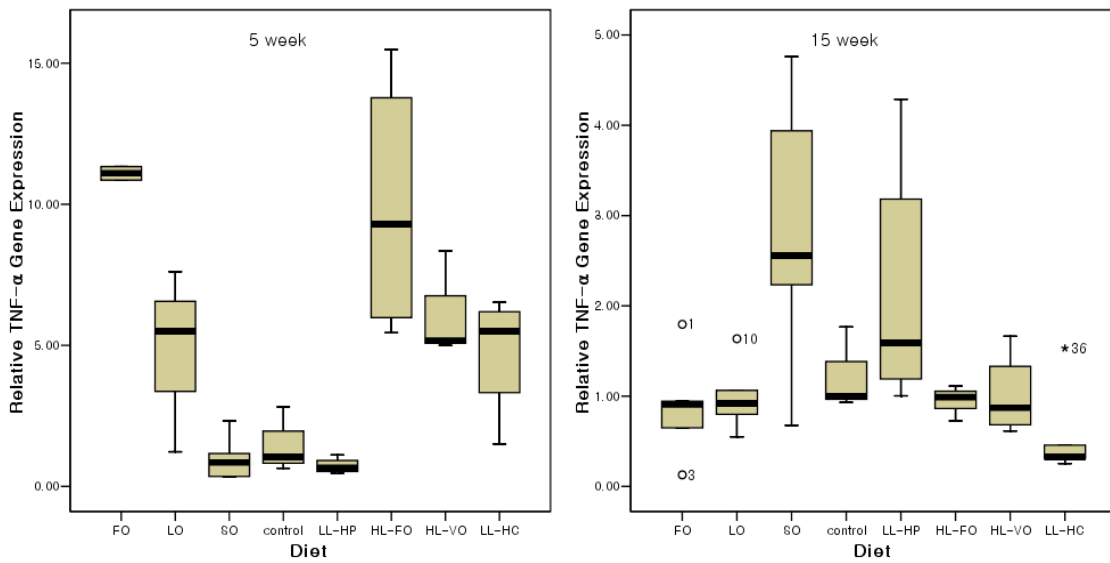


Fig. 3-22. TNF- $\alpha$  gene expression relative to control group at 5 and 15 week after feeding diets containing different oil sources or different levels of nutrients

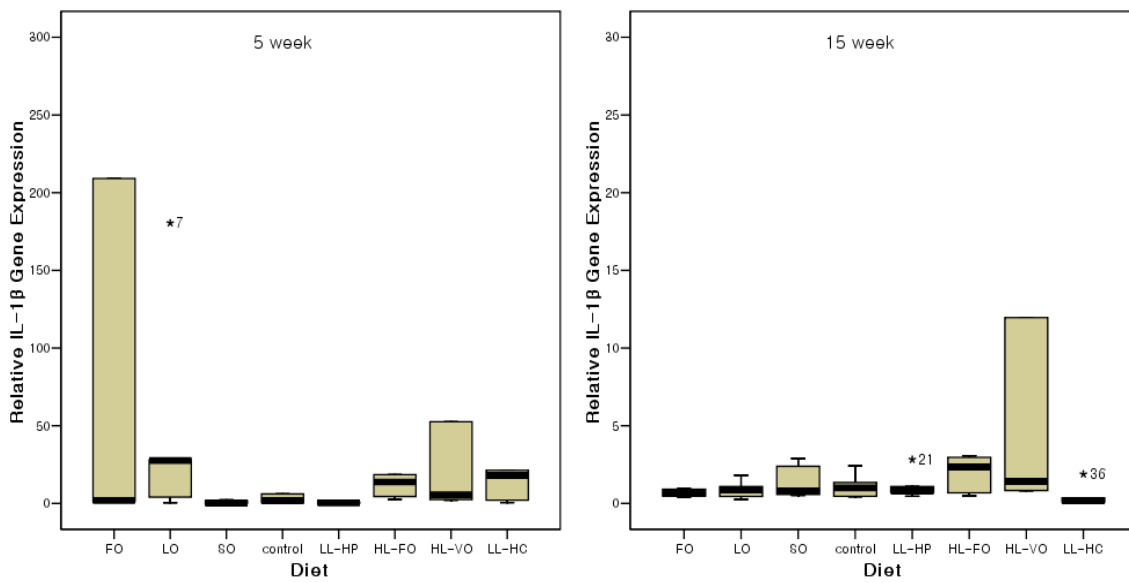


Fig. 3-23. IL-1beta gene expression relative to control group at 5 and 15 week after feeding diets containing different oil sources or different levels of nutrients

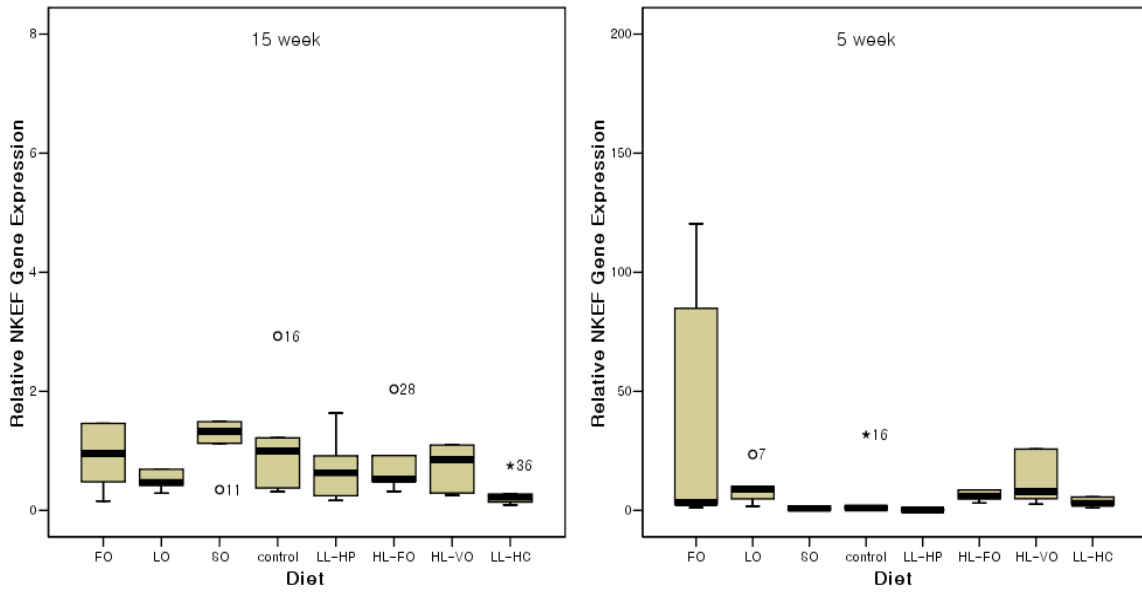


Fig. 3-24. NK-cell enhancing factor gene expression relative to control group at 5 and 15 week after feeding diets containing different oil sources or different levels of nutrients

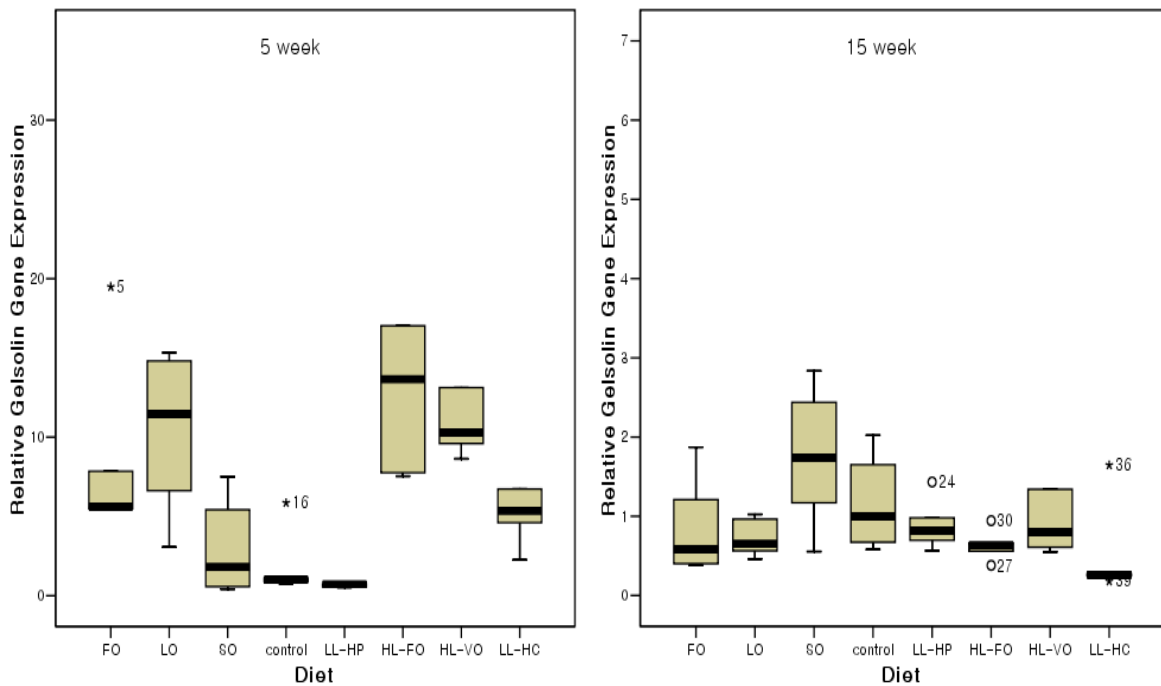


Fig. 3-25. Gelsolin gene expression relative to control group at 5 and 15 week after feeding diets containing different oil sources or different levels of nutrients

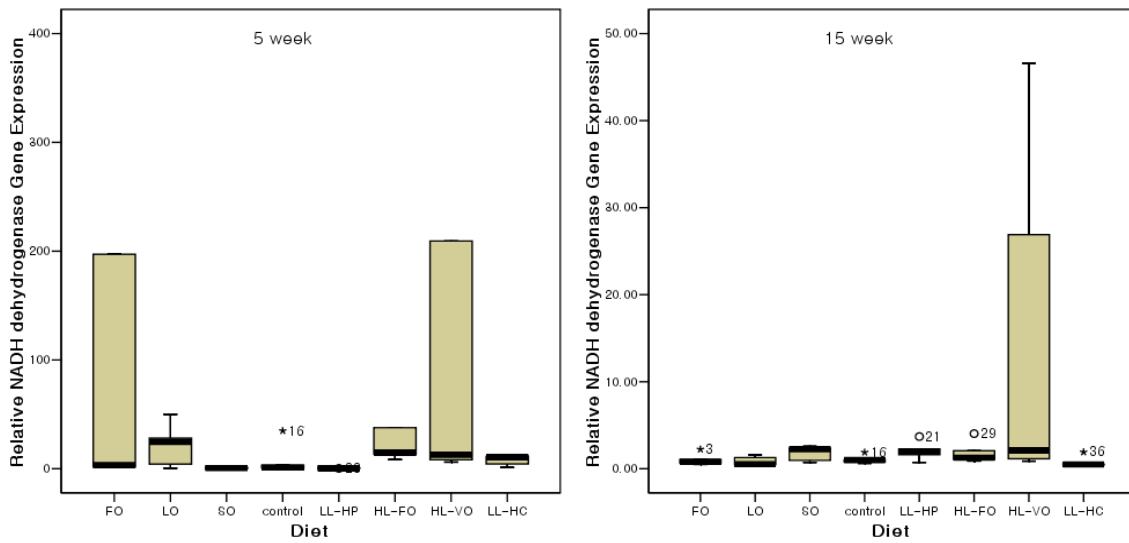


Fig. 3-26. NADH dehydrogenase gene expression relative to control group at 5 and 15 week after feeding diets containing different oil sources or different levels of nutrients

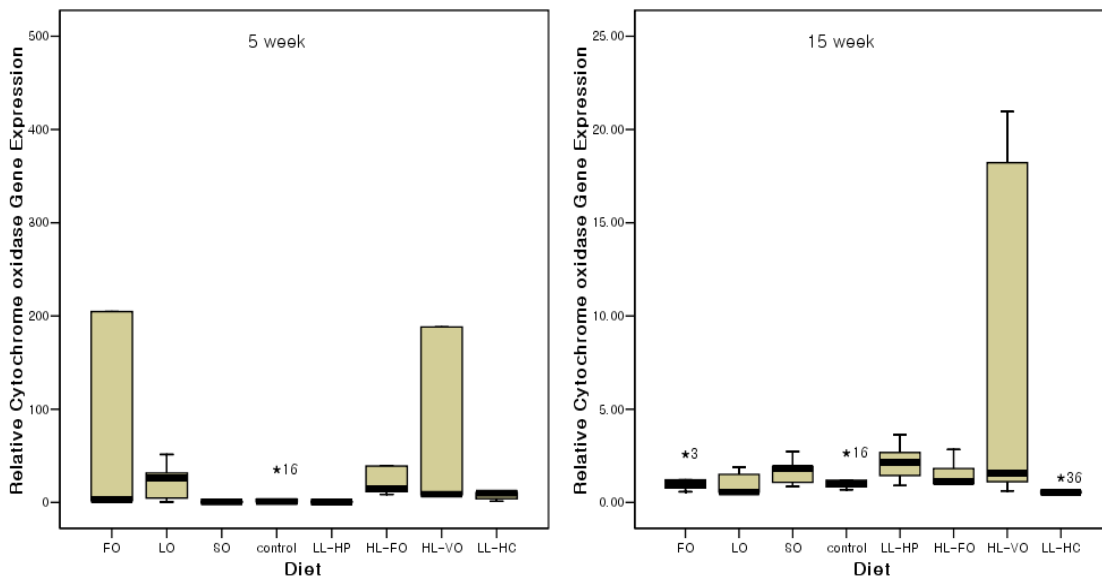


Fig. 3-27. Cytochrome oxidase gene expression relative to control group at 5 and 15 week after feeding diets containing different oil sources or different levels of nutrients

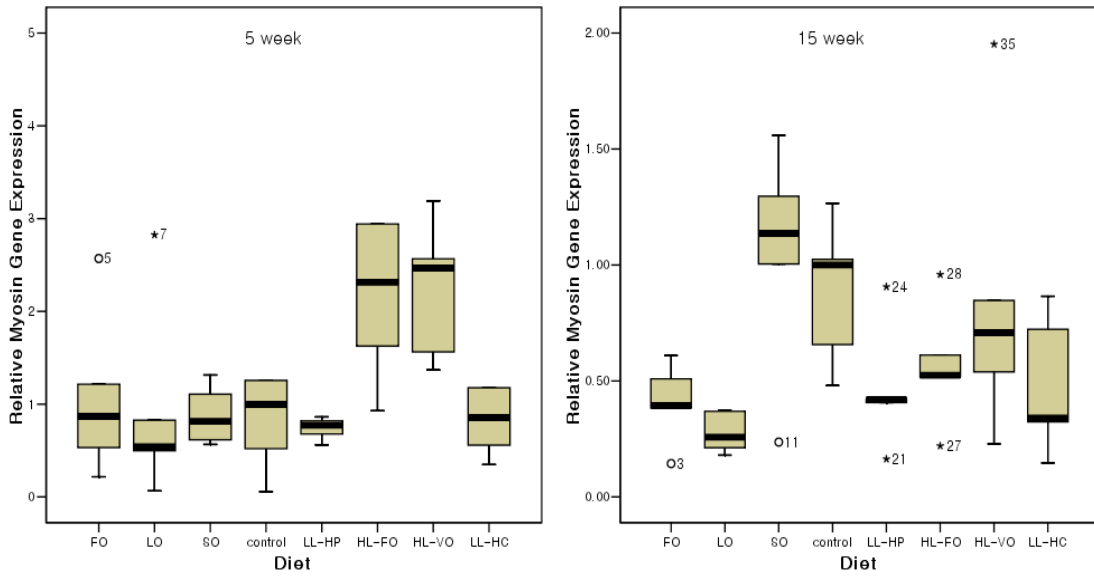


Fig. 3-28. Myosin gene expression relative to control group at 5 and 15 week after feeding diets containing different oil sources or different levels of nutrients

### Vitamin E 첨가에 따른 유전자 발현분석

5주째에는 LL-HC+VE를 제외한 전체 실험구에서 myosin을 제외한 모든 유전자의 발현이 증가하는 양상을 보여 어체가 상당한 스트레스를 받은 것으로 보이며 15주째에는 HL-FO-VE 그룹에서 TNF- $\alpha$ , NAHD dehydrogenase, gelsolin 유전자의 발현이 감소되었으나 나머지 실험구에서는 대조구와 비슷한 발현양상을 나타내어 장기급이에 의해 어체가 실험사료에 적응을 하는 것으로 보인다 (Fig. 3-29~3-34). myosin 유전자의 경우 5주째에는 실험구간 차이가 없으며 5주째에는 대조구와 비교하여 약간 감소하기는 하였으나 유의적인 차이는 보이지 않았다 (Fig. 3-35).

Table 3-45. Effect of Vitamin E on the gene expression in flounder fed diets containing different oil sources different levels of nutrients for 5 weeks or 15 weeks

Gene	Diet	week 5		week 15	
		fold change	S.D.	fold change	S.D.
TNF- $\alpha$	HL-FO-VE	3.81	2.39	0.39	0.18
	HL-VO-VE	10.07	7.18	0.31	1.09
	LL-HC-VE	6.74	2.46	0.8	0.08
	HL-FO+VE	4.72	5.88	1.08	0.65
	HL-VO+VE	4.98	2.72	1.41	0.43
	LL-HC+VE	2.34	1.01	1.82	0.82
	Control	1.11	4.87	1.77	1.3
IL-1 $\beta$	HL-FO-VE	2.22	3	0.22	0.11
	HL-VO-VE	10.43	20.38	0.14	1.2
	LL-HC-VE	3.87	4.1	1.01	0.36
	HL-FO+VE	3.19	1.53	0.82	0.62
	HL-VO+VE	5.92	12.14	1.19	0.35
	LL-HC+VE	2.85	5.34	1.12	0.45
	Control	1.15	2.64	1	0.82
NKEF	HL-FO-VE	1.76	1.56	0.1	0.16
	HL-VO-VE	4.78	1.39	0.3	1.15
	LL-HC-VE	4.49	1.72	0.36	0.08
	HL-FO+VE	3.51	1.16	0.55	1.62
	HL-VO+VE	3.46	0.95	0.59	0.41
	LL-HC+VE	1.99	1.21	0.91	0.38
	Control	0.75	0.68	1	1.06
Gelsolin	HL-FO-VE	4.36	0.98	0.24	0.08
	HL-VO-VE	8.34	4.72	0.18	0.8
	LL-HC-VE	7.55	3.97	0.54	0.18
	HL-FO+VE	7.34	3.06	0.89	0.37
	HL-VO+VE	6.77	5.69	1.21	0.68
	LL-HC+VE	3.2	1.81	2.16	1.02
	Control	1	2.2	1	0.63

NADH dehydrogenase	HL-FO-VE	3	7.36	0.26	0.16
	HL-VO-VE	18.74 *	5.54	0.36	0.96
	LL-HC-VE	9.39	5.66	0.77	0.38
	HL-FO+VE	4.96	3.09	0.63	0.64
	HL-VO+VE	8.19	4.32	1.13	1.37
	LL-HC+VE	2.02	1.98	1.31	0.88
	Control	0.87	1.28	1	0.49
Cytochrome oxidase	HL-FO-VE	3.09	6.91	0.29	0.17
	HL-VO-VE	16.21 *	5.06	0.37	0.77
	LL-HC-VE	8.96	5.31	0.9	0.41
	HL-FO+VE	4.83	3.9	0.8	0.89
	HL-VO+VE	6.84	4.03	1.04	1.52
	LL-HC+VE	1.91	1.83	2.31	0.81
	Control	0.84	1.35	1	0.79
Myosin	HL-FO-VE	0.76	0.31	0.43	0.18
	HL-VO-VE	1.23	0.65	0.62	0.53
	LL-HC-VE	0.82	0.51	0.48	0.17
	HL-FO+VE	1.03	0.31	0.45	0.3
	HL-VO+VE	1.24	0.9	0.63	0.55
	LL-HC+VE	0.45	0.35	0.7	0.56
	Control	0.76	0.53	1	0.31

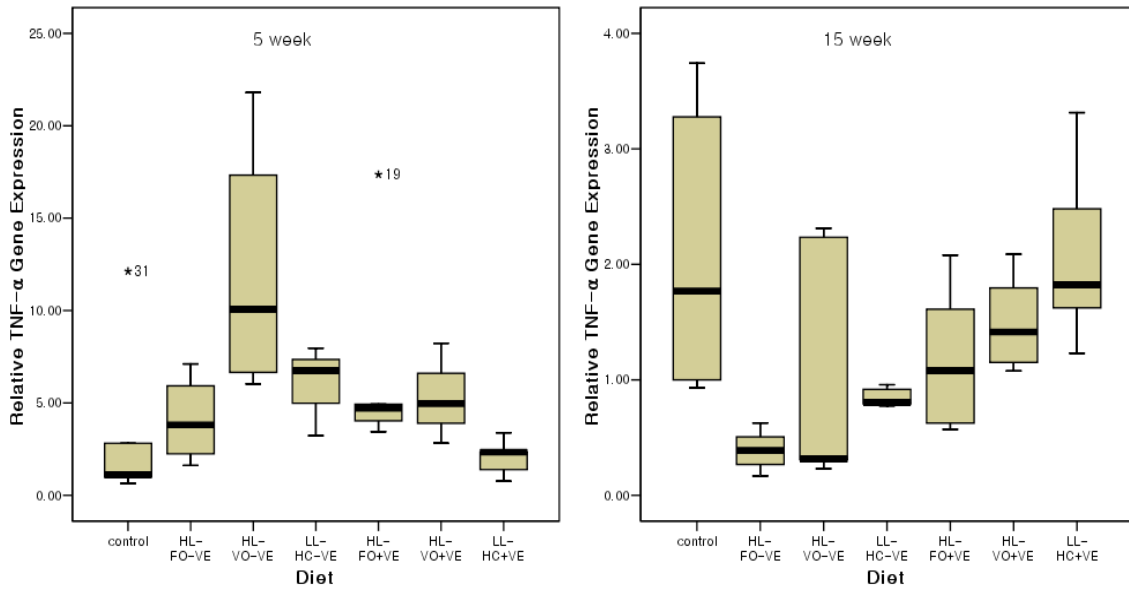


Fig. 3-29. Effect of Vitamin E on TNF- $\alpha$  gene expression in flounder fed diets containing different oil sources different levels of nutrients for 5 weeks or 15 weeks

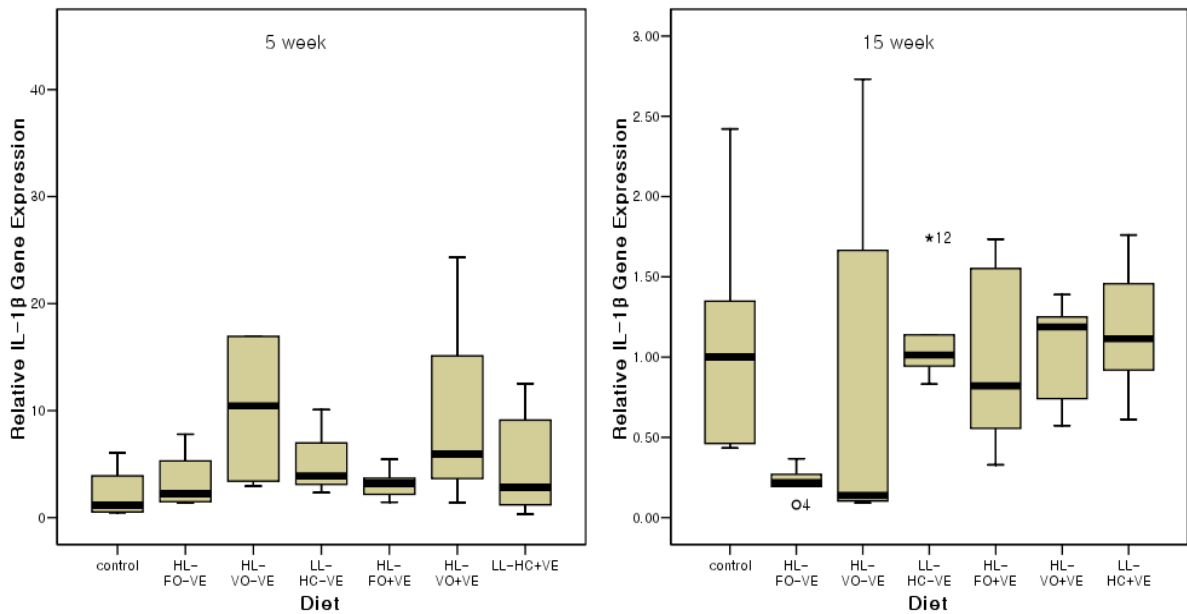


Fig. 3-30. Effect of Vitamin E on IL-1 $\beta$  gene expression in flounder fed diets containing different oil sources different levels of nutrients for 5 weeks or 15 weeks

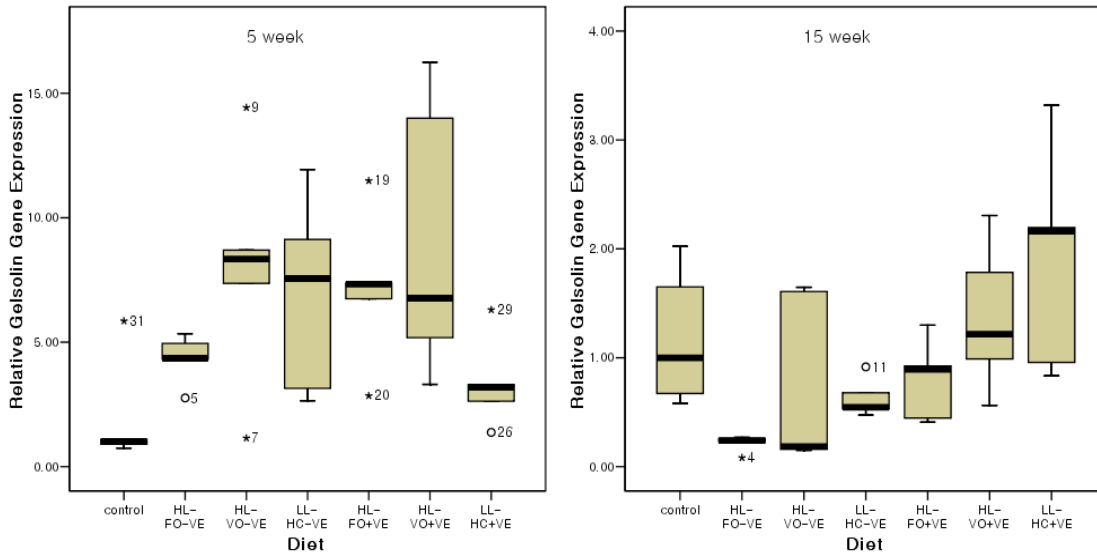


Fig. 3-31. Effect of Vitamin E on Gelsolin gene expression in flounder fed diets containing different oil sources different levels of nutrients for 5 weeks or 15 weeks

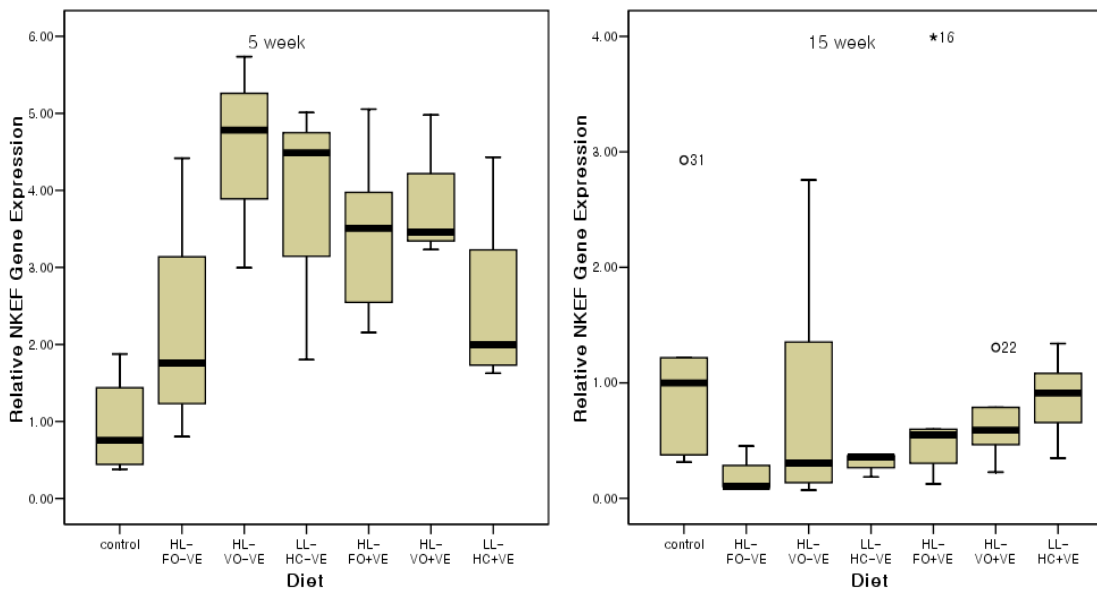


Fig. 3-32. Effect of Vitamin E on NK-cell enhancing factor gene expression in flounder fed diets containing different oil sources different levels of nutrients for 5 weeks or 15 weeks



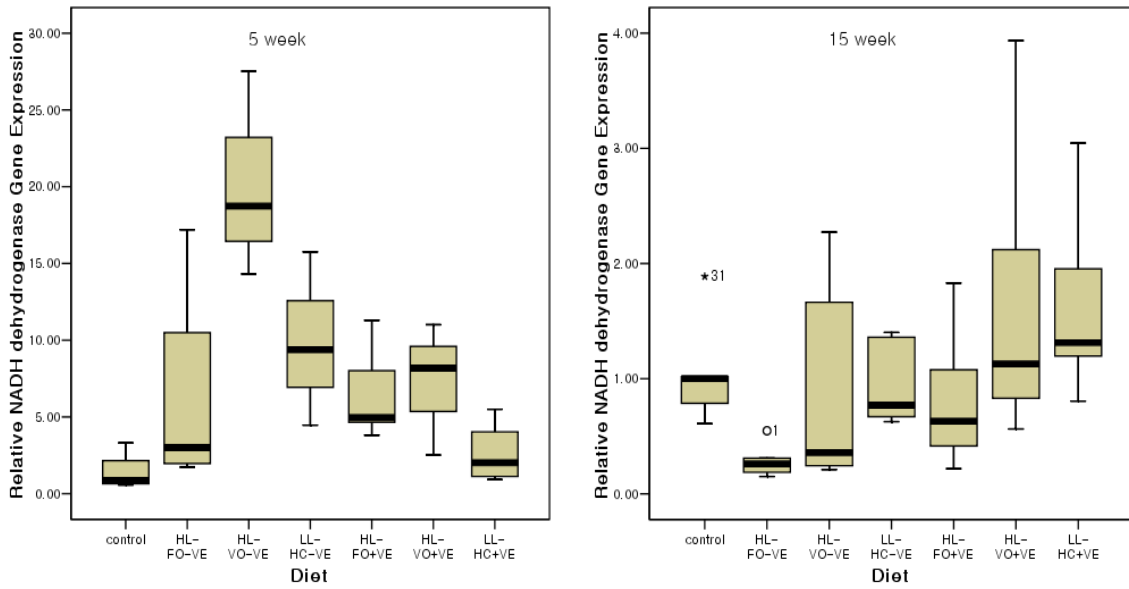


Fig. 3-33. Effect of Vitamin E on NADH dehydrogenase gene expression in flounder fed diets containing different oil sources different levels of nutrients for 5 weeks or 15 weeks

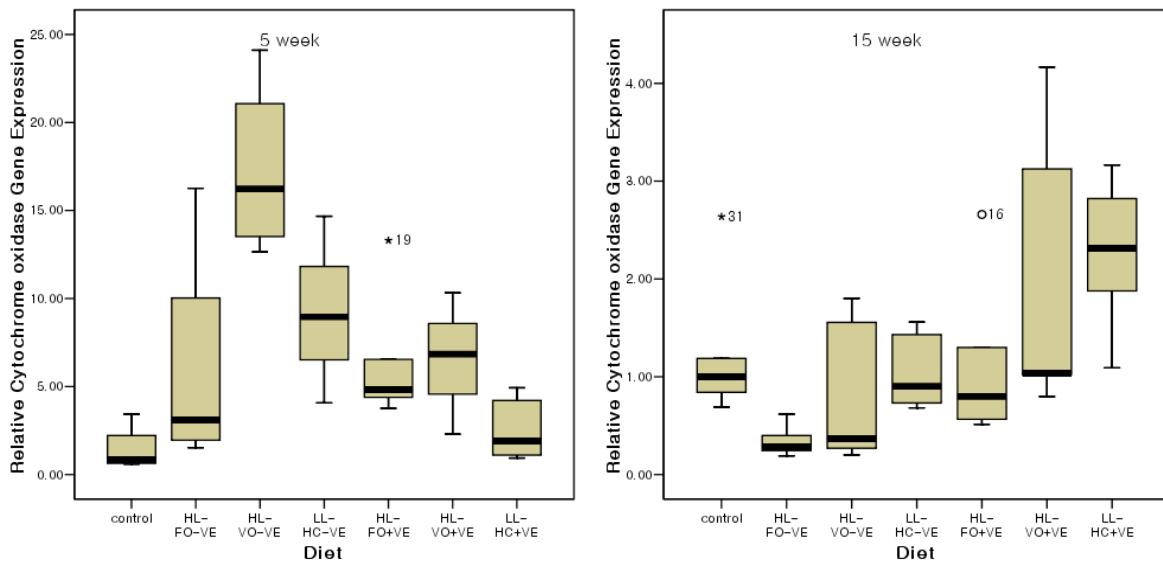


Fig. 3-34. Effect of Vitamin E on cytochrome oxidase gene expression in flounder fed diets containing different oil sources different levels of nutrients for 5 weeks or 15 weeks

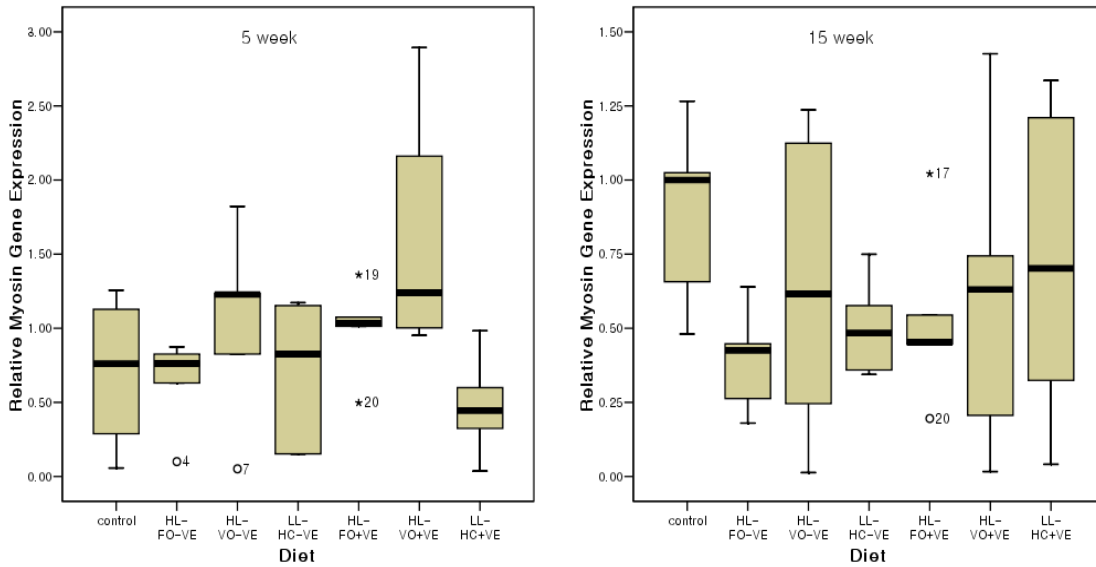


Fig. 3-35. Effect of Vitamin E on myosin gene expression in flounder fed diets containing different oil sources different levels of nutrients for 5 weeks or 15 weeks

#### 천연물 첨가에 따른 유전자 발현분석

5주째에는 감초첨가물을 급이한 그룹에서 myosin을 제외한 모든 유전자발현이 증가되었으며 gelsolin의 경우 모든 실험구에서 증가되는 양상을 보였다. 따라서 감초의 첨가는 일시적으로 면역관련유전자의 발현을 증가시키나 동시에 약물대사효소인 NAHD dehydrogenase와 cytochrome oxidases 혹은 아포토시스와 염증반응에 동시에 관여하는 TNF- $\alpha$ 유전자의 발현도 증가시키므로 어체에 좋은 영향을 준다고는 할 수 없다. 한편 성장관련유전자인 myosin의 발현에 있어서도 감초첨가구에서 15주째에 감소되는 것으로 나타났다. 그러나 나머지 첨가구에서는 위의 결과에서처럼 TNF- $\alpha$ 나 NADH dehydrogenase, cytochrome oxidase등이 증가하지는 않는 것으로 나타나 스트레스를 받지 않는 것으로 보인다. 15주째에는 켈프밀과 생강 첨가구에서 면역유전자인 NK cell enhancing factor의 발현이 증가하여 면역증강효과가 있는 것으로 나타나지만 약물대사 효소인 NAHD dehydrogenase나 cytochrome oxidase가 동시에 증가하여 이들 물질의 장기급이가 어체의 면역능 증가에는 효과적일 수 있으나 또 한편으로는 어체에 독성으로도 작용할 수도 있다. 하지만 사료내 첨가량을 현재 1%에서 좀더 줄일 경우독성효과를 감소시키는 것이 가능할 것이다.

Table 3-46. Effects of natural substances on the gene expression in flounder fed diets containing kelp meal, krill, garlic, mandarin, onion, ginger, moxa, licorice root, wasabi for 5 weeks or 15 weeks

Gene	Diet	week 5		week 15	
		fold change	S.D.	fold change	S.D.
TNF- $\alpha$	Kelp meal	2.48	13.85	2.29	5.24
	Krill	2.79	2.62	1.32	0.81
	Garlic	5.43	6.22	1.45	0.88
	Mandarin	17.89	16.85	1.16	0.44
	Mix	5.29	3.86	1.03	0.54
	Onion	3.66	2.62	1.91	4.14
	Ginger	2.69	0.87	2.25	0.7
	Moxa	4.63	1.53	1.17	0.83
	Licorice root	170.84 *	82.93	1.39	0.85
	Wasabi	3.05	1.62	2.13	0.81
	Control	1.11	4.87	1.77	1.3
IL-1 $\beta$	Kelp meal	1.59	4.66	1.46	6.61
	Krill	1.76	1.65	0.82	0.34
	Garlic	4.61	2.18	1.21	649.45
	Mandarin	1.5	1.18	0.76	0.51
	Mix	1.47	1.12	1.03	0.59
	Onion	2.29	1.37	1.21	3.2
	Ginger	1.72	1.72	1.27	0.76
	Moxa	2.71	2.8	0.8	0.5
	Licorice root	240.18 *	31.57	1.15	1.72
	Wasabi	1.27	0.56	0.92	0.59
	Control	0.58	0.69	1	0.82
NKEF	Kelp meal	1.49	2.6	7.4	4.1
	Krill	1.4	0.74	1.05	2.22
	Garlic	4.87	4.04	0.85	7.99
	Mandarin	2.39	1.08	0.33	0.18
	Mix	3.24	2.03	0.61	0.56
	Onion	2.12	1.53	0.44	1.13
	Ginger	2.64	1.86	1.35	0.94
	Moxa	3.25	1.05	0.66	0.66
	Licorice root	153.85 *	81.68	0.54	3.36
	Wasabi	2.09	1.98	0.82	0.44
	Control	0.75	0.68	1	1.06
Gelsolin	Kelp meal	3.03	1.29	1.7	2.28
	Krill	3.66	1.48	0.8	0.28
	Garlic	9.75 *	3.22	0.85	1.08
	Mandarin	11.65 *	3.81	0.59	0.45
	Mix	6.24	1.56	0.46	0.27

Gelsolin continued	Onion	3.54	1.32	0.88	1.95
	Ginger	3.68	0.67	1.46	0.42
	Moxa	5.33	2.07	0.88	0.64
	Licorice root	2.16	1.39	0.84	0.59
	Wasabi	6.54	3	0.7	0.54
	Control	1	2.2	1	0.63
NADH dehydrogenase	Kelp meal	7.33	3.13	1.66	2.87
	Krill	4.79	6.55	1.07	0.94
	Garlic	7.48	4.39	1.03	0.84
	Mandarin	3.87	1.79	0.57	0.24
	Mix	6.95	5.15	0.63	0.18
	Onion	8.98	4.13	2.76	1.91
	Ginger	2.78	0.56	2.27	1.28
	Moxa	8.01	1.09	1.79	0.73
	Licorice root	1236.8 *	458.73	1.07	1
	Wasabi	5.66	1.49	1.95	1.56
	Control	0.87	1.28	1	0.49
Cytochrome oxidase	Kelp meal	6.1	2.91	2.58	2.73
	Krill	2.19	2.54	1.49	1.02
	Garlic	6.47	3.4	1.26	0.76
	Mandarin	4.15	1.77	0.61	0.33
	Mix	4.89	3.24	0.71	0.24
	Onion	8.27	4.32	1.75	1.18
	Ginger	2.97	0.61	2.19	1.11
	Moxa	9.73	4.12	1.86	0.96
	Licorice root	1421.3 *	562.27	0.98	1.27
	Wasabi	6.25	1.68	1.97	1.72
	Control	0.84	1.35	1	0.79
Myosin	Kelp meal	0.43	0.7	0.78	1.28
	Krill	0.42	0.78	0.44	0.29
	Garlic	1.28	0.93	0.67	0.11
	Mandarin	0.23	0.28	0.45	0.13
	Mix	0.13	0.13	0.38	0.34
	Onion	0.37	0.11	0.61	0.44
	Ginger	0.46	0.4	0.79	0.38
	Moxa	0.34	0.44	0.53	0.52
	Licorice root	0.11	0.28	0.33	0.12
	Wasabi	0.32	0.21	0.26	0.43
	Control	0.76	0.53	1	0.31

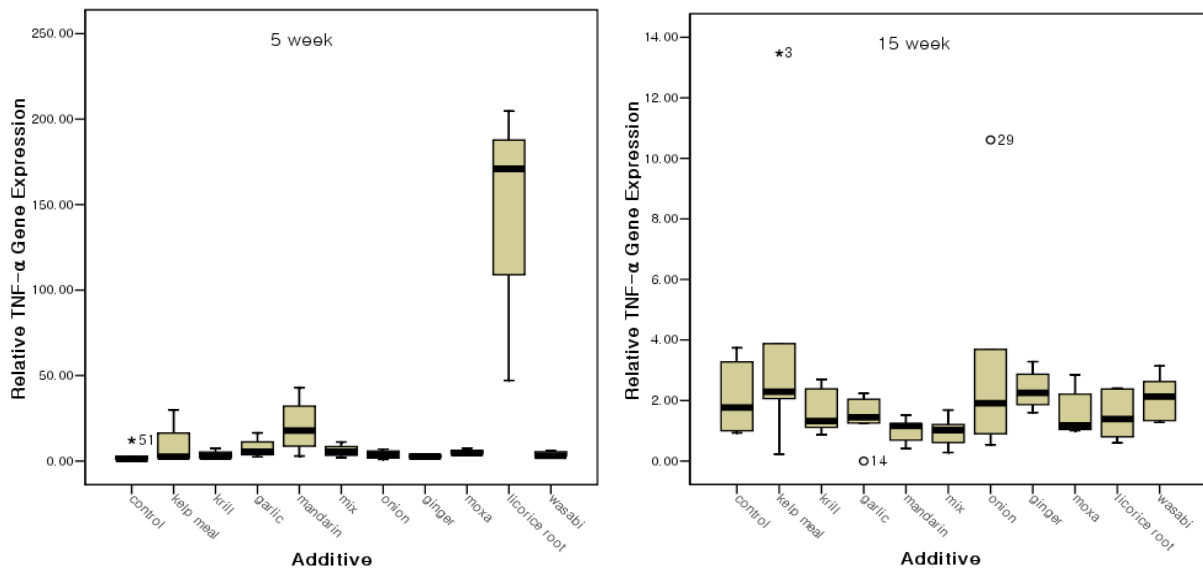


Fig. 3-36. Effects of natural substances on TNF- $\alpha$  gene expression in flounder fed diets containing kelp meal, krill, garlic, mandarin, onion, ginger, moxa, licorice root, wasabi for 5 weeks or 15 weeks

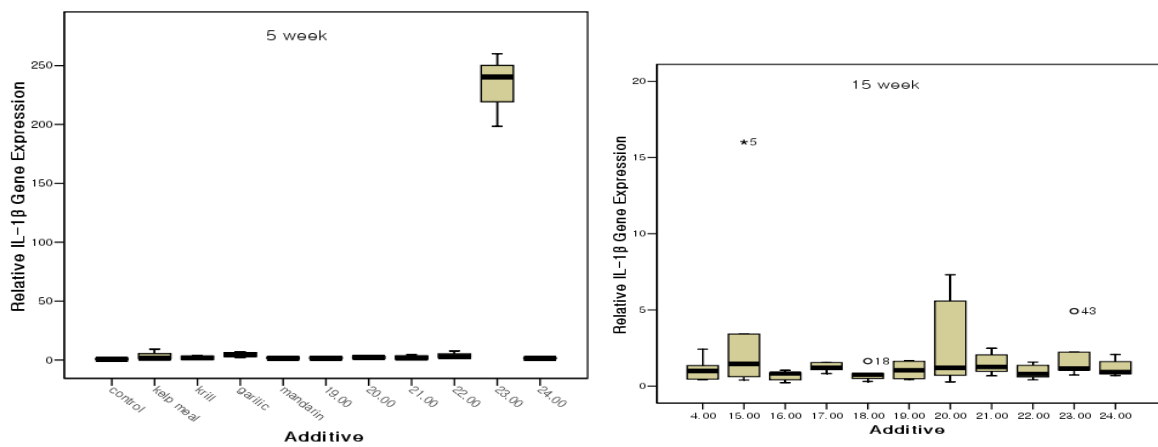


Fig. 3-37. Effects of natural substances on IL-1beta gene expression in flounder fed diets containing kelp meal, krill, garlic, mandarin, onion, ginger, moxa, licorice root, wasabi for 5 weeks or 15 weeks

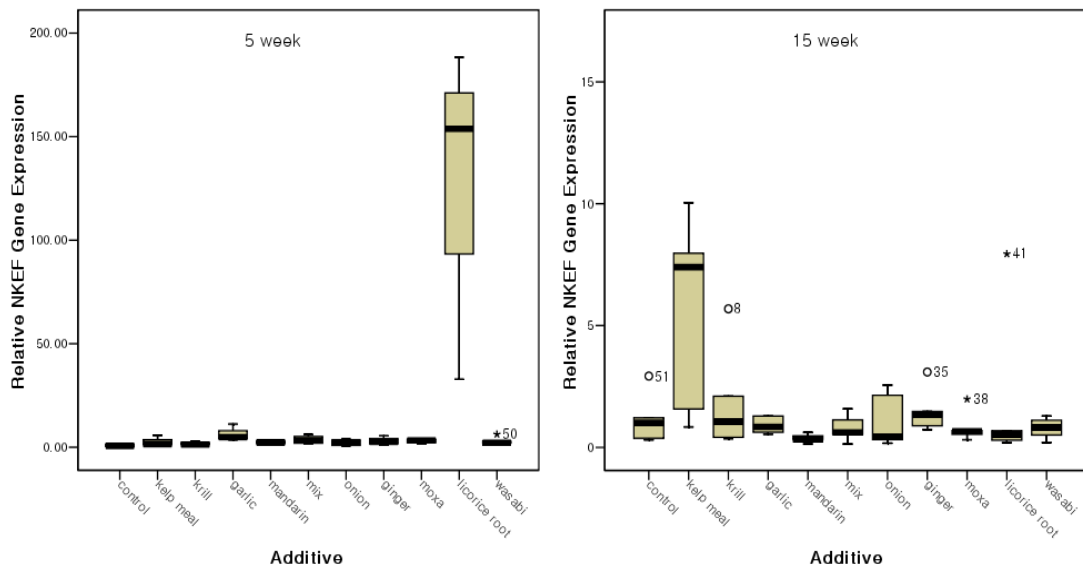


Fig. 3-38. Effects of natural substances on NK-cell enhancing factor gene expression in flounder fed diets containing kelp meal, krill, garlic, mandarin, onion, ginger, moxa, licorice root, wasabi for 5 weeks or 15 weeks

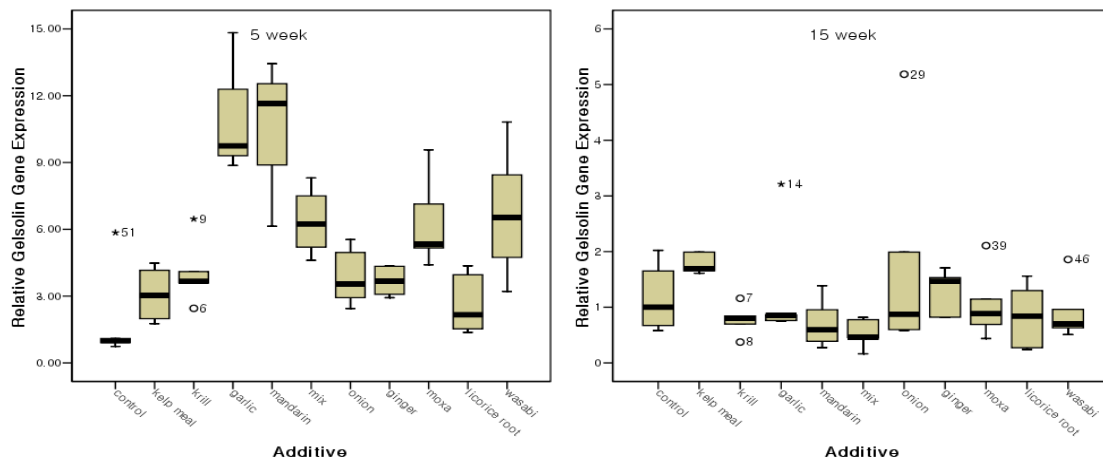


Fig. 3-39. Effects of natural substances on gelsolin gene expression in flounder fed diets containing kelp meal, krill, garlic, mandarin, onion, ginger, moxa, licorice root, wasabi for 5 weeks or 15 weeks

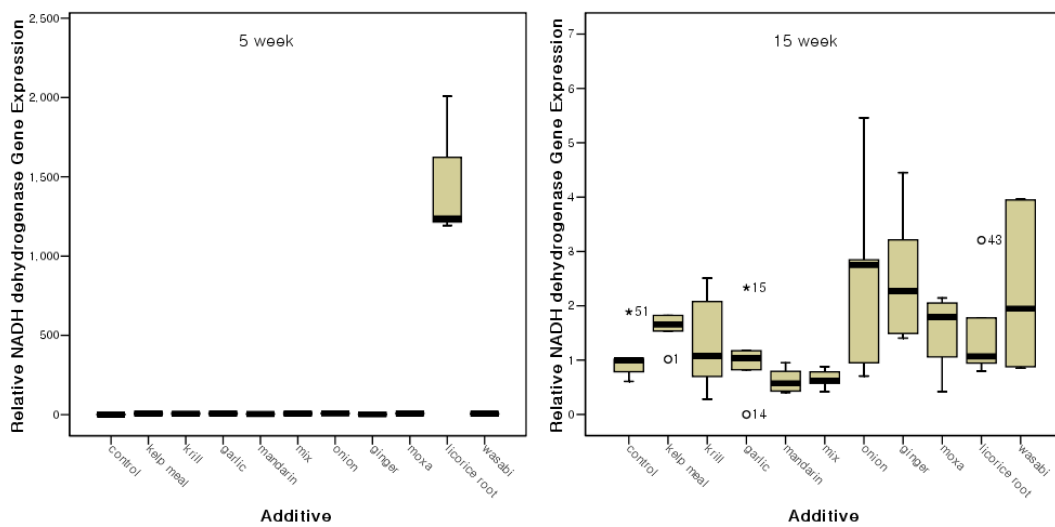


Fig. 3-40. Effects of natural substances on NADH dehydrogenase gene expression in flounder fed diets containing kelp meal, krill, garlic, mandarin, onion, ginger, moxa, licorice root, wasabi for 5 weeks or 15 weeks

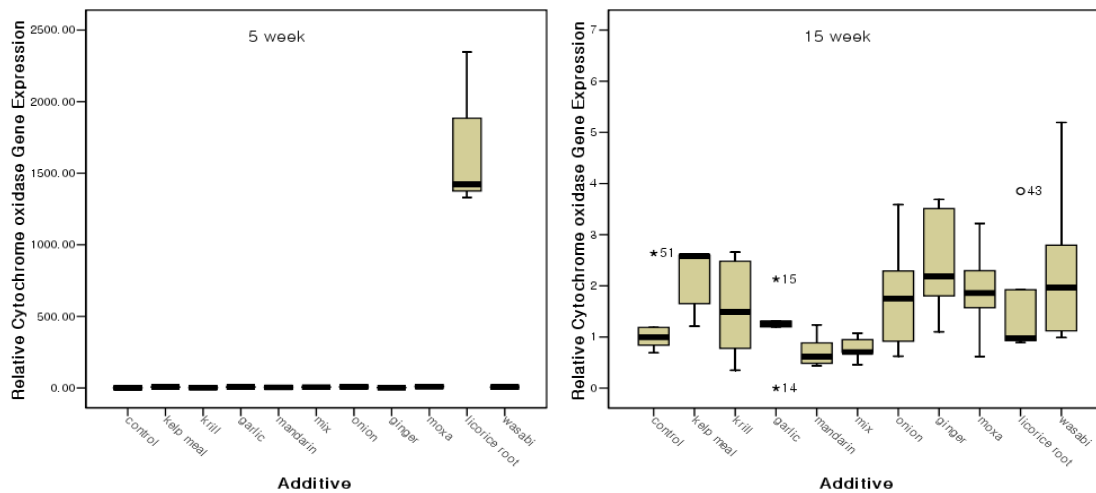


Fig. 3-41. Effects of natural substances on Cytochrome oxidase gene expression in flounder fed diets containing kelp meal, krill, garlic, mandarin, onion, ginger, moxa, licorice root, wasabi for 5 weeks or 15 weeks

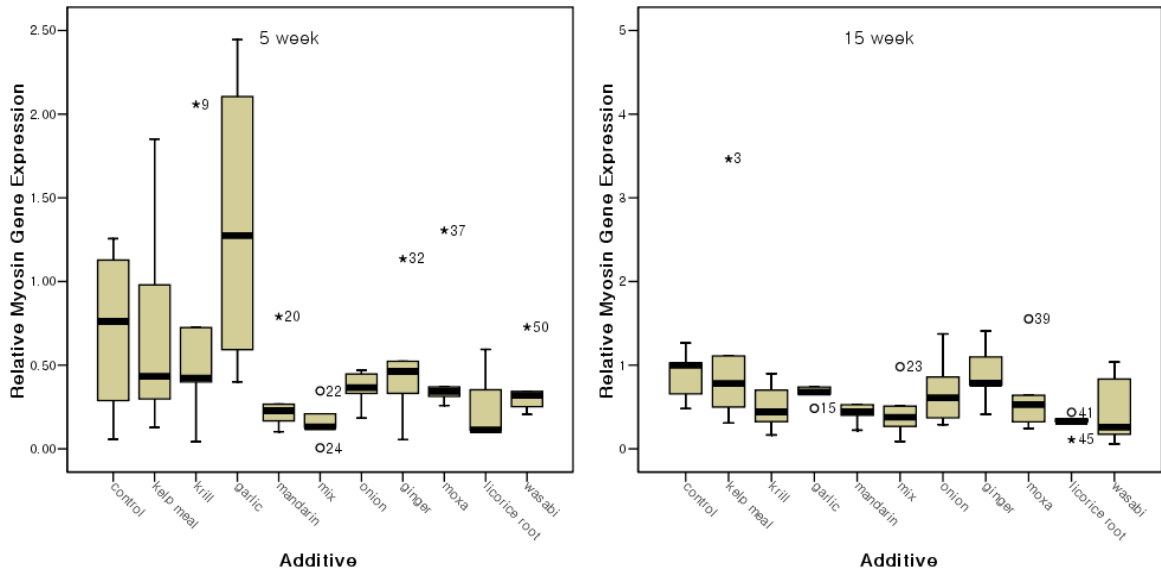


Fig. 3-42. Effects of natural substances on myosin gene expression in flounder fed diets containing kelp meal, krill, garlic, mandarin, onion, ginger, moxa, licorice root, wasabi for 5 weeks or 15 weeks

#### 나. 사료 조성에 따른 보체활성 분석

보체활성에 사용한 혈청은 배합사료 급이 후 15주 지난 어체의 혈액에서 분리하여 실험에 사용하였다. Sheep red blood cell에 넙치의 혈청을 혼합한 후 보체활성에 의한 Sheep red blood cell의 용혈 정도를 흡광도로 나타내었다. 96well plate에 Sheep red blood cell을 각각  $10\mu\text{l}$  분주 한 후 실험어의 혈청을  $25\mu\text{l}$  넣어  $20^{\circ}\text{C}$ 에서 2시간 반응 시킨 후 생리식염수를  $280\mu\text{l}$  첨가하여 160G에서 5분간 원심 분리하여 용혈 되지 않은 Sheep red blood cell을 제외한 상등액  $100\mu\text{l}$ 의 흡광도를 414nm 파장에서 측정하였다. 그 결과 전체실험구에서 보체의 활성화에는 유의적인 차이가 전혀 나타나지 않았다. 따라서 본 연구에서 급이된 사료들은 어체의 보체대체경로 활성화에 영향을 미치지 않는 것으로 생각된다. 보체대체경로는 C3의 활성화된 이후로부터 시작되며 C3가 활성화되기 위해서는 MBL 경로나 보체고전경로의 초기반응이 필요로 된다. 따라서 어체에 어떤 감염이나 이물질의 침입이 없는 상황에서의 대체경로의 활성화는 도리어 병적인 상황일 수 있다. 사람의 경우 병적인 보체의 활성화에 의해 전신성 홍반이 나타나기도 한다.



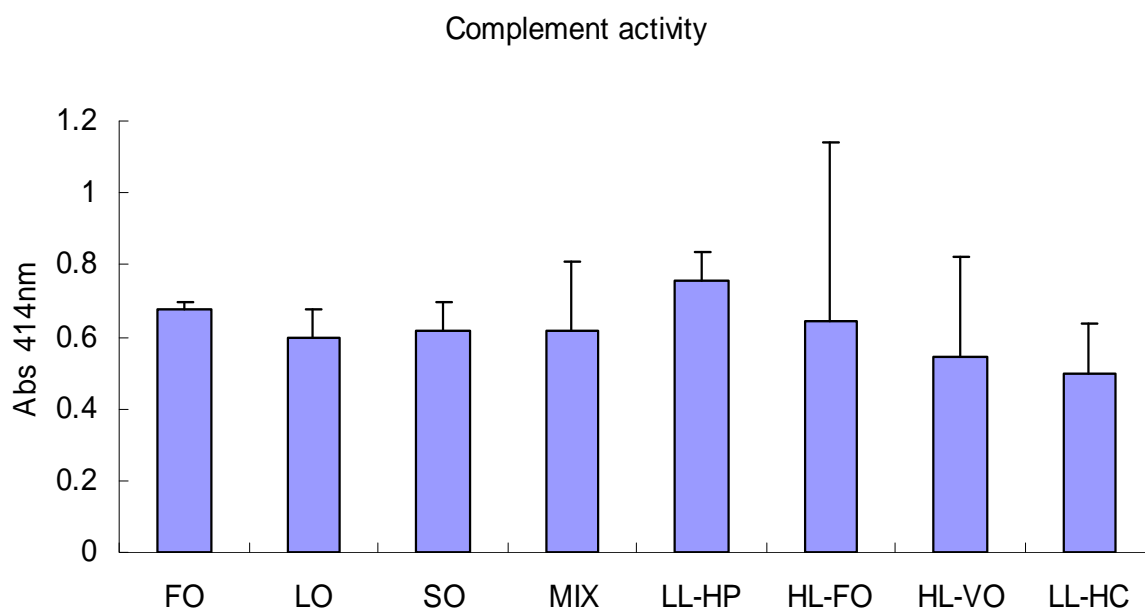


Fig. 3-43. Effects of natural substances on alternative complement activation pathway in flounder fed diets containing different oil sources or different levels of nutrients for 15 weeks

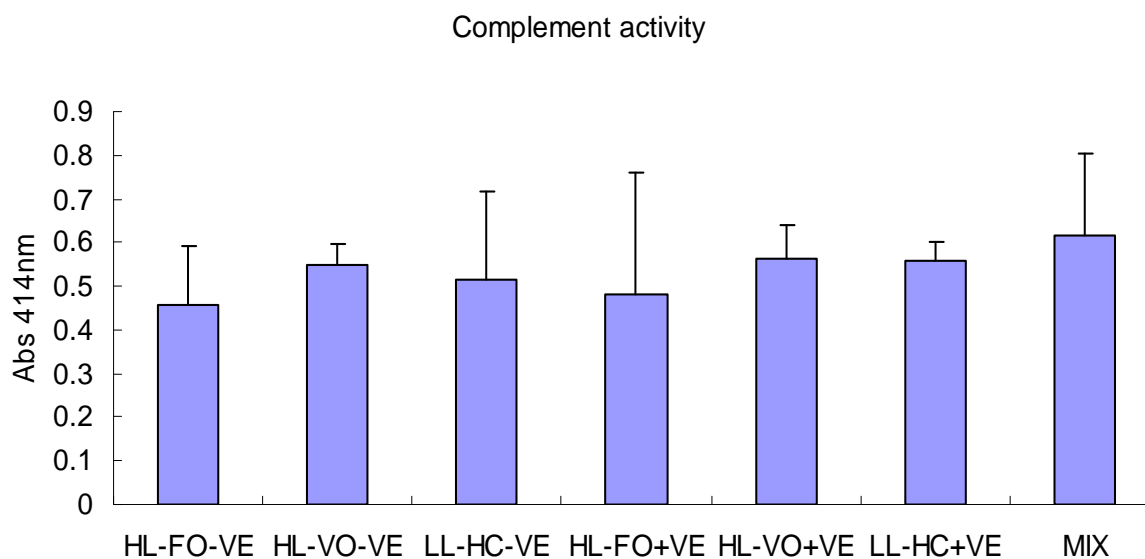


Fig. 3-44. Effects of natural substances on alternative complement activation pathway in flounder fed diets containing different oil sources different levels of nutrients for 15 weeks

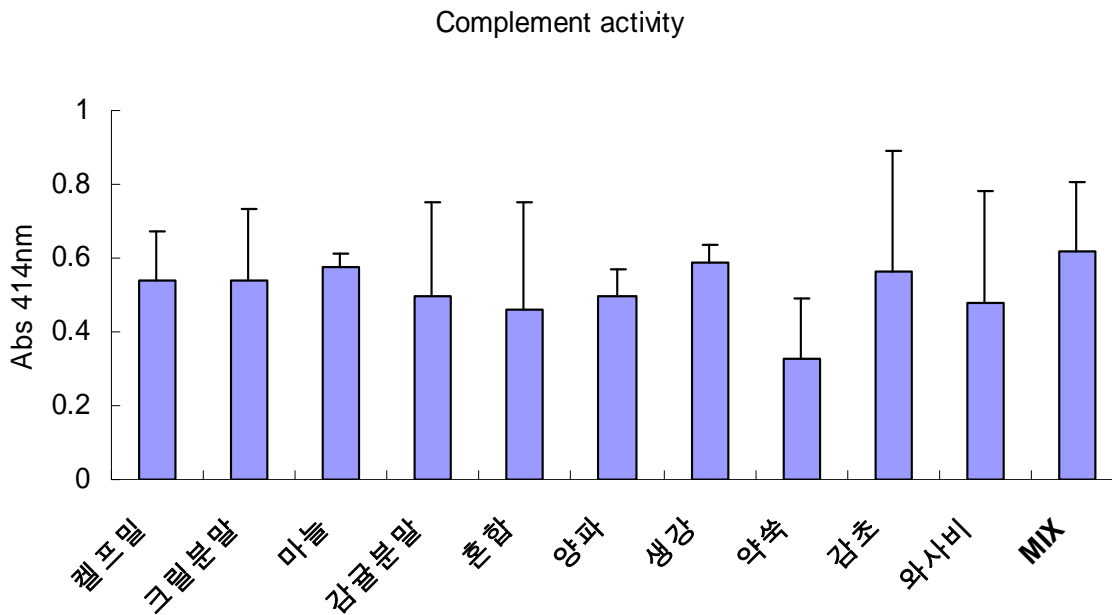
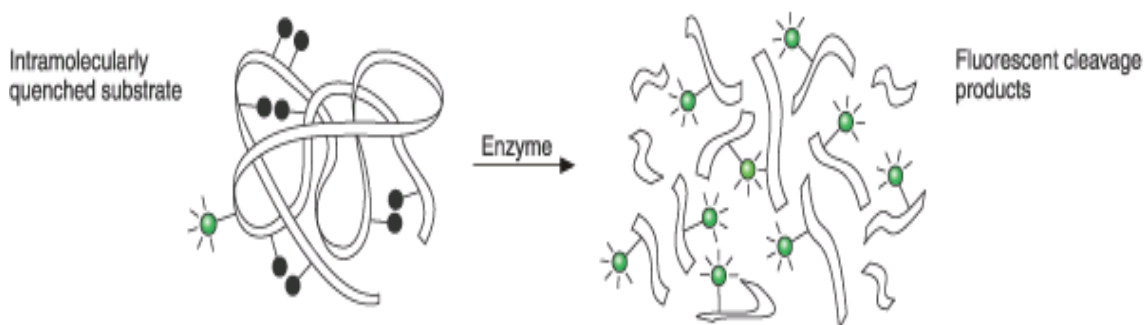


Fig. 3-45. Effects of natural substances on alternative complement activation pathway in flounder fed diets containing kelp meal, krill, garlic, mandarin, onion, ginger, moxa, licorice root, wasabi for 15 weeks

#### 다. 천연물 첨가에 따른 혈청 내 lysozyme활성 분석

실험구당 각각 6마리의 넙치로부터 혈액을 채취한 후 혈청을 분리하여  $-70^{\circ}\text{C}$  보관하였다. lysozyme 활성은 형광에 기초한 EnzChek lysozyme Assay kit (E-22013, Molecular probe)를 사용하여 매뉴얼에 따라 측정하였다. 그 결과 약쑥첨가구에서 라이소자임 활성이 증가하는 것으로 나타났다.



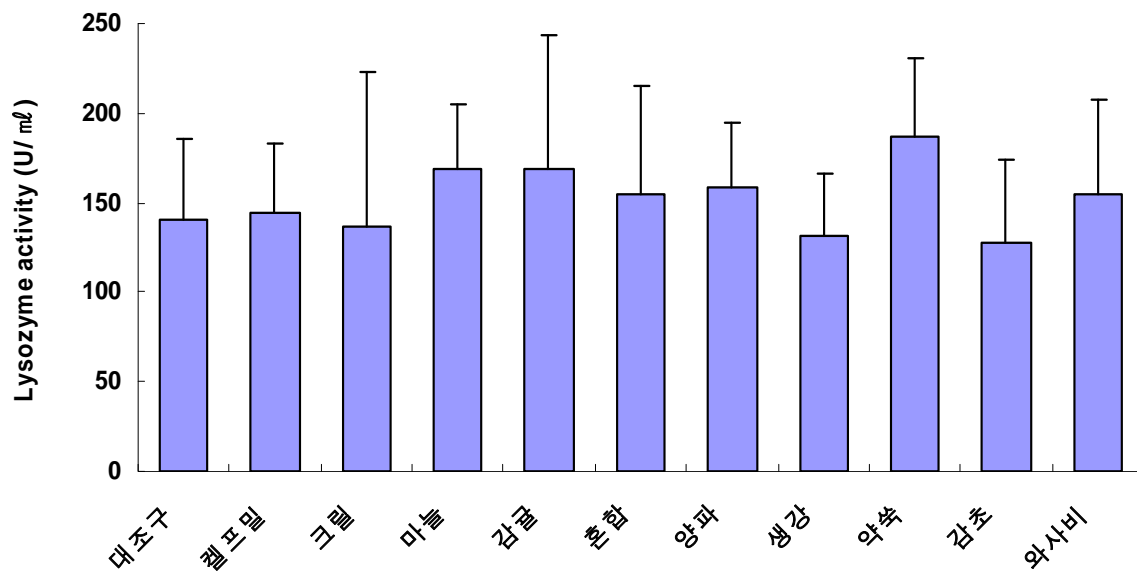


Fig. 3-46. Effects of natural substances on serum lysozyme activity in flounder fed diets containing kelp meal, krill, garlic, mandarin, onion, ginger, moxa, licorice root, wasabi for 15 weeks

#### 4. 사료첨가제 투여에 따른 넙치의 병리조직학적 변화

##### 가. 연구목적

각종 사료 첨가제의 장기간 투여에 의한 넙치 각 장기의 조직학적 변화 유무를 관찰하기 위하여 먼저, 시험 개시 직전 공시어의 각 장기를 조직학적으로 관찰하였다.

##### 나. 재료 및 방법

실험 개시 이전에 공시어를 무작위로 채집하였다. 이후 각 사료첨가제를 XXX일간 투여하면서 실험 진행기간 중에 1회, 실험 종료 시점에서 각 시험군 별로 개체들을 무작위로 채집하여 마취제 (MS-222)를 과량 투여하여 안락사시킨 후 체중 및 체장을 측정하였다. 각 개체의 아가미, 근육, 신장, 비장, 간장, 소화관을 적출하여 Bouin's solution으로 고정하였다. 이후 통상적인 방법에 따라 조직을 처리한 후 파라핀 포매하여 5  $\mu$ m 로 박절하였다. 제작한 슬라이드 표본은 Hematoxylin & Eosin 염색액으로 염색하여 관찰하였다.

##### 다. 결과

사료 첨가제 투여군 별로 각 장기의 조직표본을 관찰해 본 결과, 사료 첨가제 투여에 따른 각 장기의 큰 이상은 발견되지 않았다. 아가미의 경우, 일부 개체에서 아가미 상피세포의 미약한 증상이 관찰되었으나 이는 사료 첨가제 투여에 의한 것이 아니라 비특이적으로 사육수 내의 미세 입자에 의한 물리적 자극이 원인일 가능성이 높다. 이 현상은 대조군에서도 관찰이 되었다. 위 및 유문수, 소장의 조직을 관찰한 결과, 사료 첨가제의 투여 여부, 사료 첨가제의 종류에 따른 차이 등은 발견되지 않았다. 또한 비장에서도 마찬가지로 특별한 이상이 발견되지 않았다.

간장의 경우, 대부분의 실험군에서 간장세포의 미약한 괴사가 관찰되었다. 이는 투여한 사료첨가제의 종류와 관계없이 모든 실험군에서 관찰되었으며, 대조군에서도 관찰이 되었다. 신장에서 별다른 이상은 관찰되지 않았다.

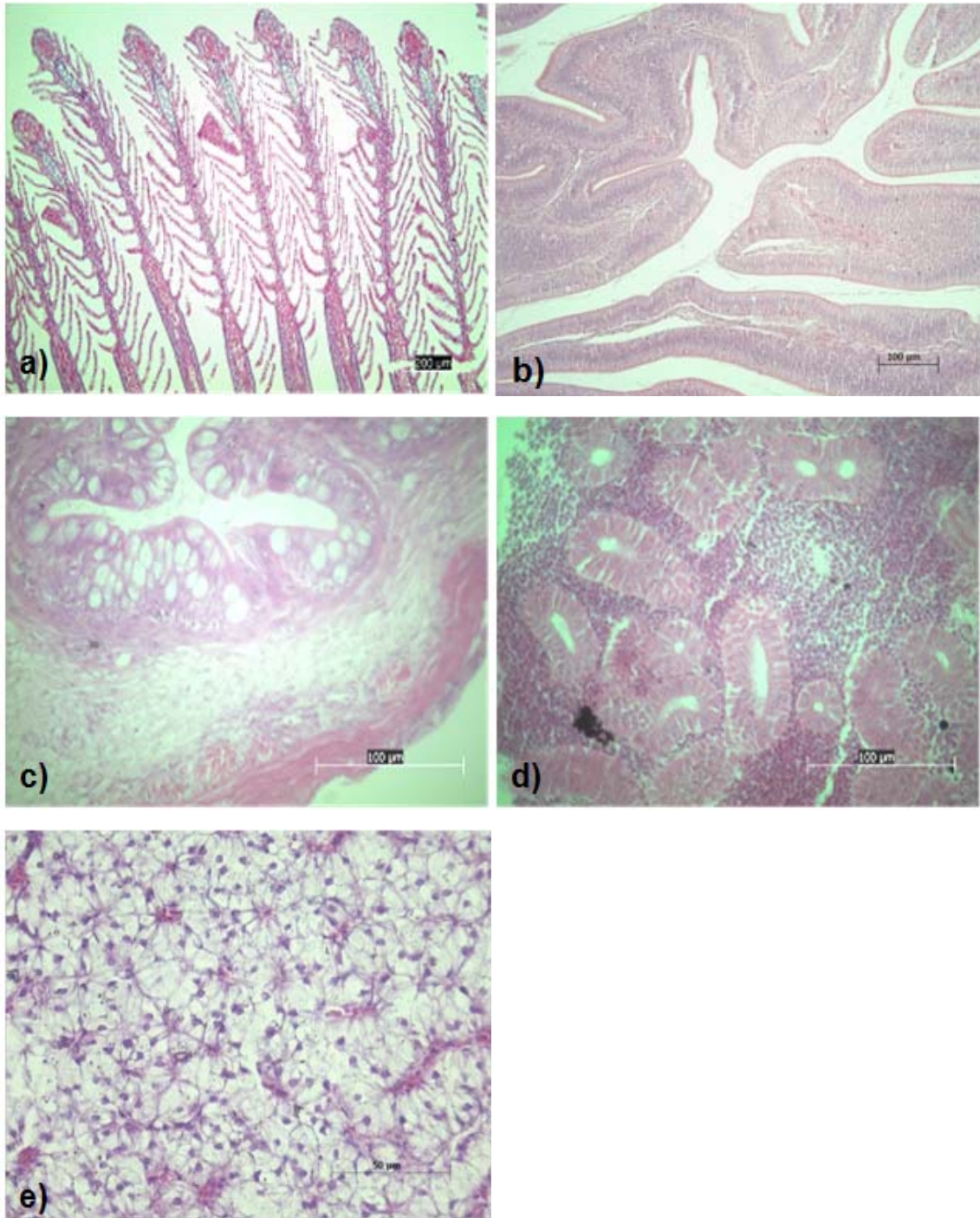


Fig. 3-47. Histological sections of Control group. a) gills; b) intestines; c) stomach; d) kidneys; e) liver

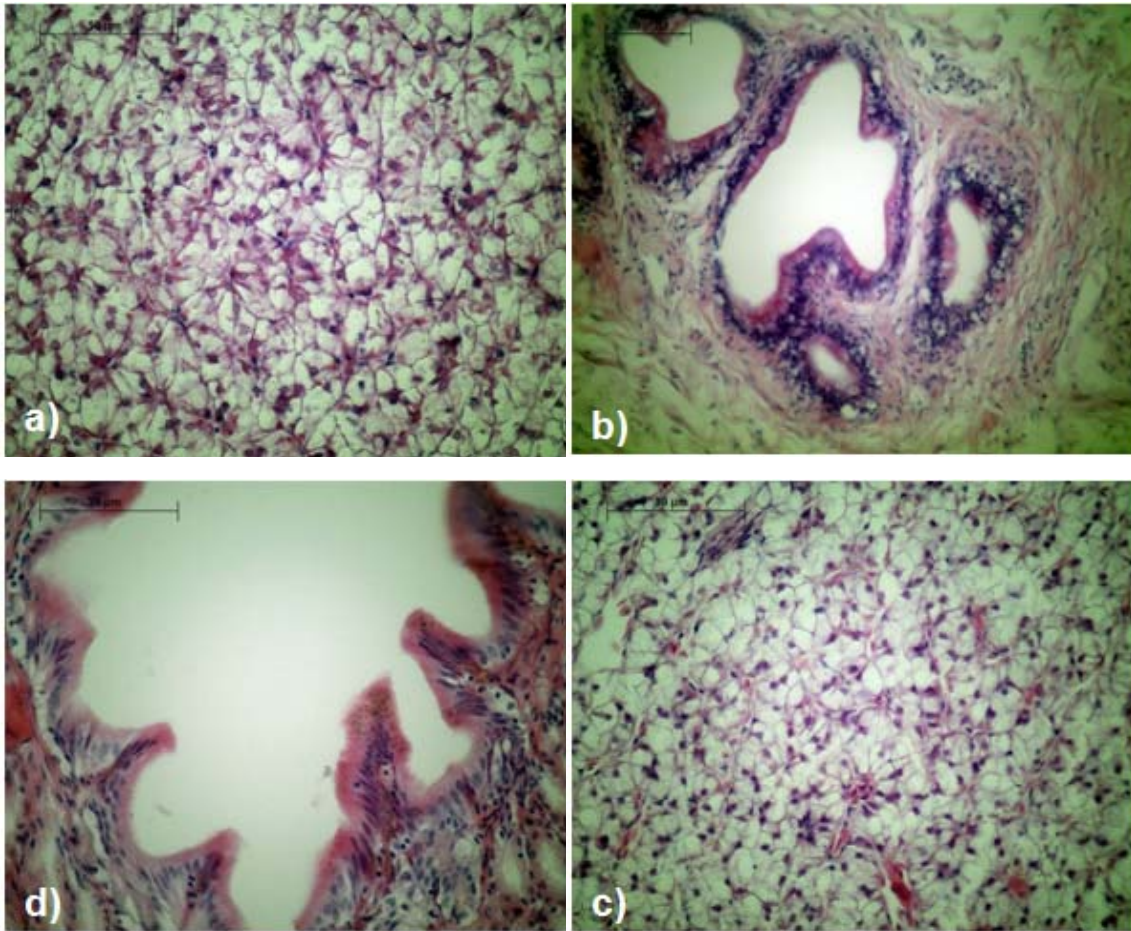


Fig. 3-48. Kelp meal-administered group. a) liver, adult group; b) stomach, adult group; c) liver, juvenile group; d) stomach, juvenile group

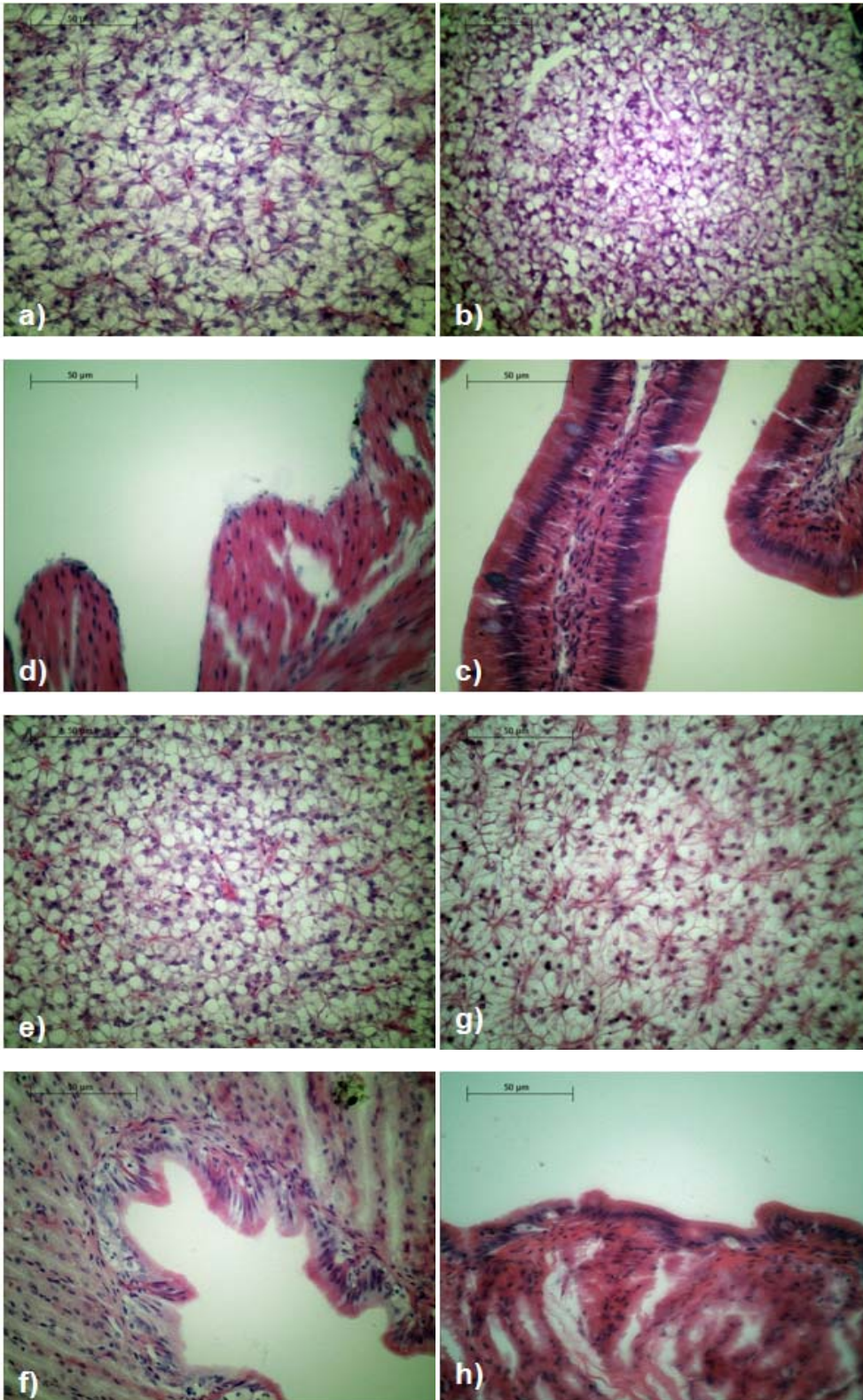


Fig. 3-49. Krill meal-administered group. a) liver, adult group; b) liver, juvenile group; c) intestines, juvenile group; d) stomach, juvenile group; e) liver, juvenile group; f) stomach, adult group; g) liver, adult group; h) stomach, adult group

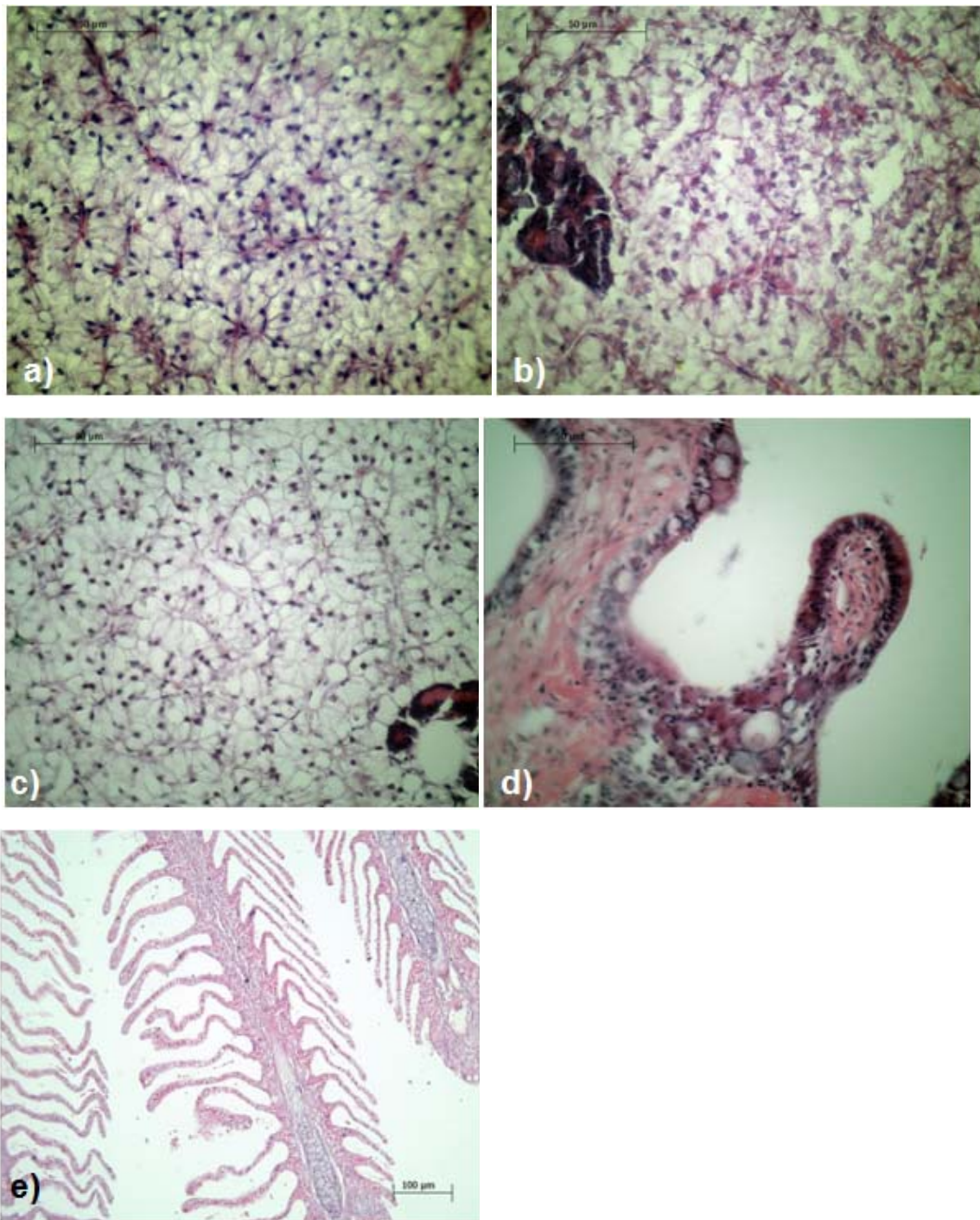


Fig. 3-50. Garlic powder-administered group. a) liver, adult group; b) liver, juvenile group; c) liver, juvenile group; d) stomach, juvenile group; e) gill, adult group



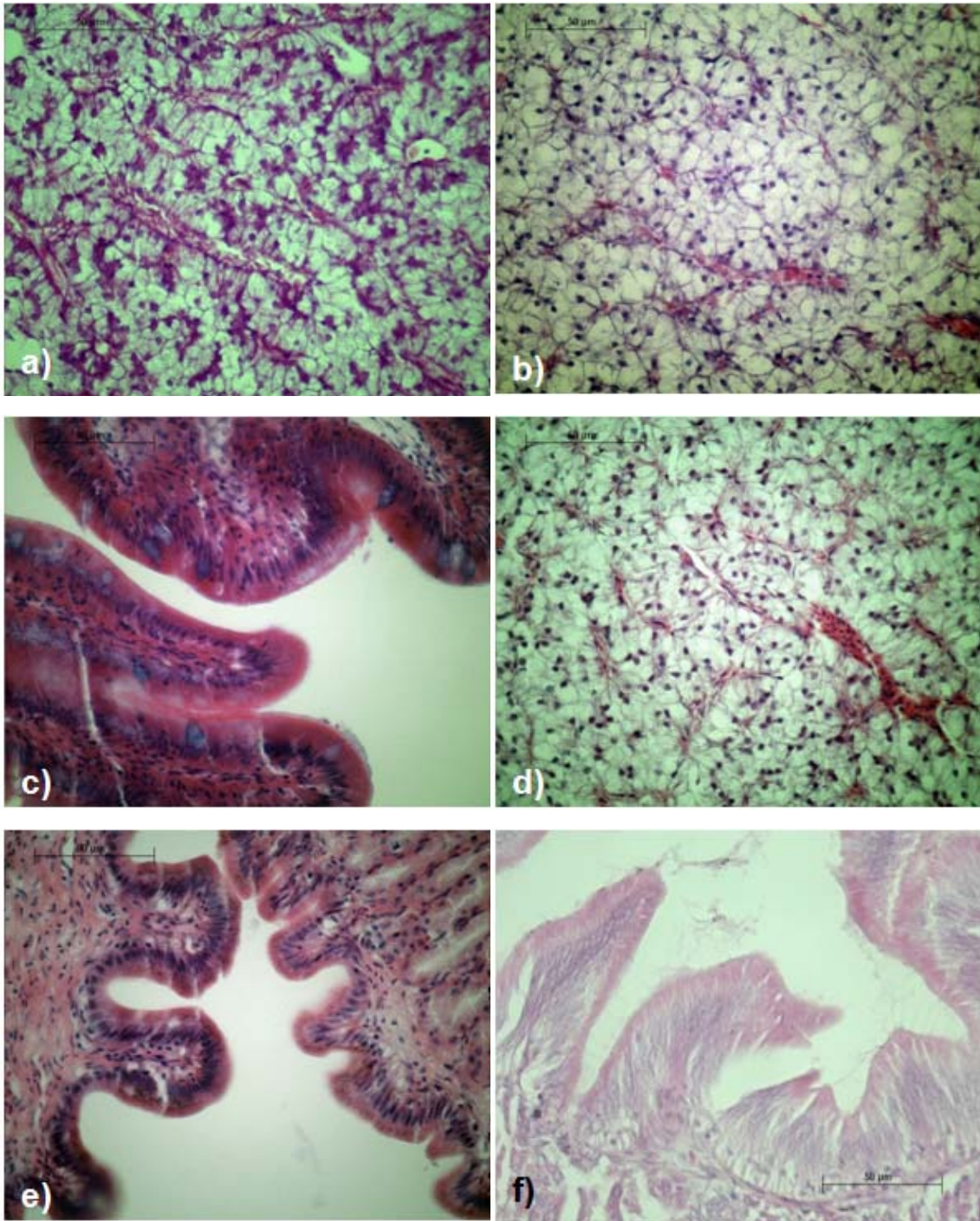


Fig. 3-51. Tangerine-administered group a) liver, adult group; b) liver, juvenile group; c) intestines, juvenile group; d) liver, juvenile group; e) stomach, juvenile group ; f) stomach, adult group

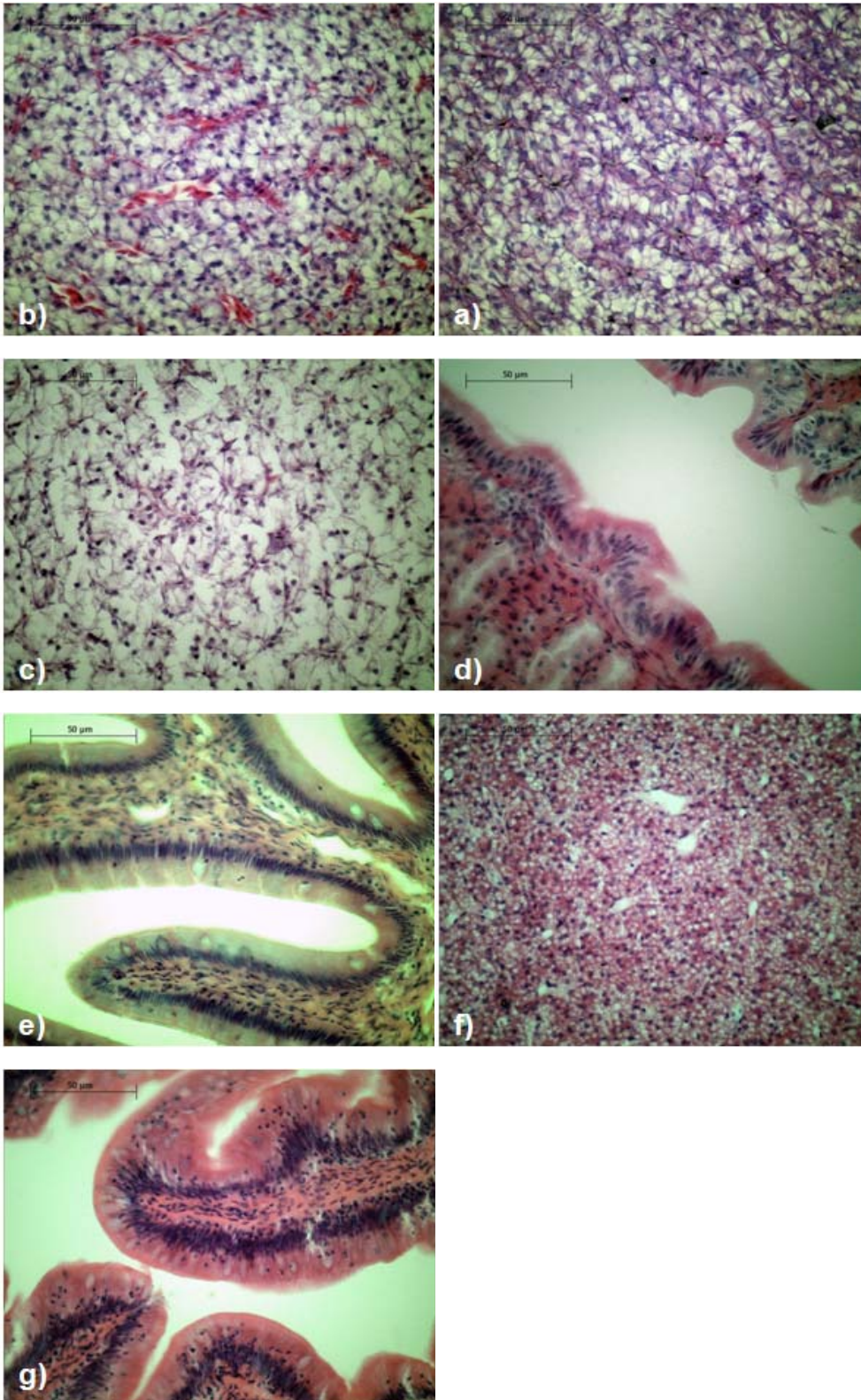


Fig. 3-52. Mix powder-administered group a) liver, adult group; b) liver, juvenile group; c) liver, juvenile group; d) stomach, juvenile group; e) intestines, juvenile group; f) liver, adult group; g) intestines, adult group

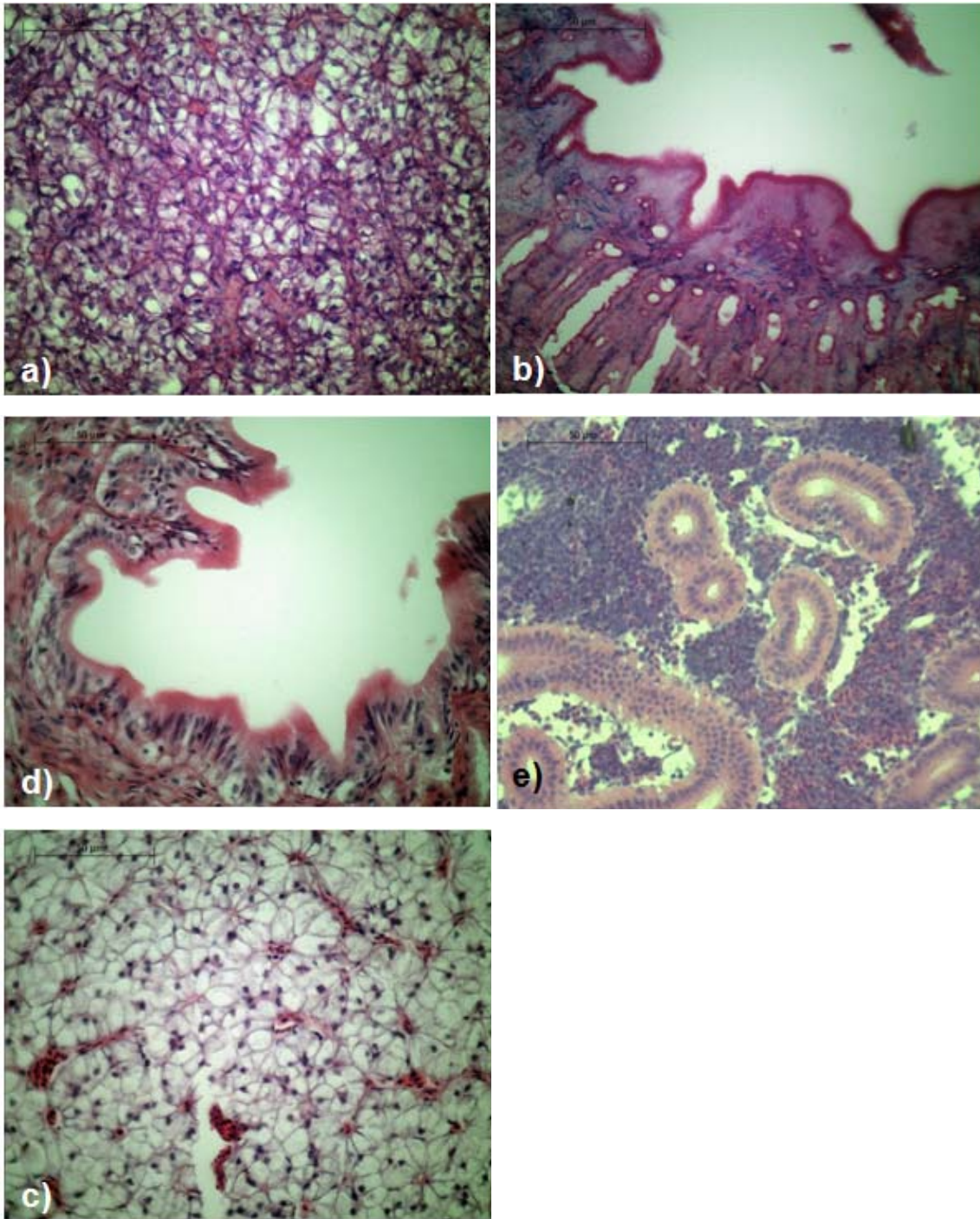


Fig. 3-53. Onion-administered group a) liver, juvenile group; b) stomach, juvenile group; c) liver, adult group; d) stomach, juvenile group; e) kidneys, juvenile group.

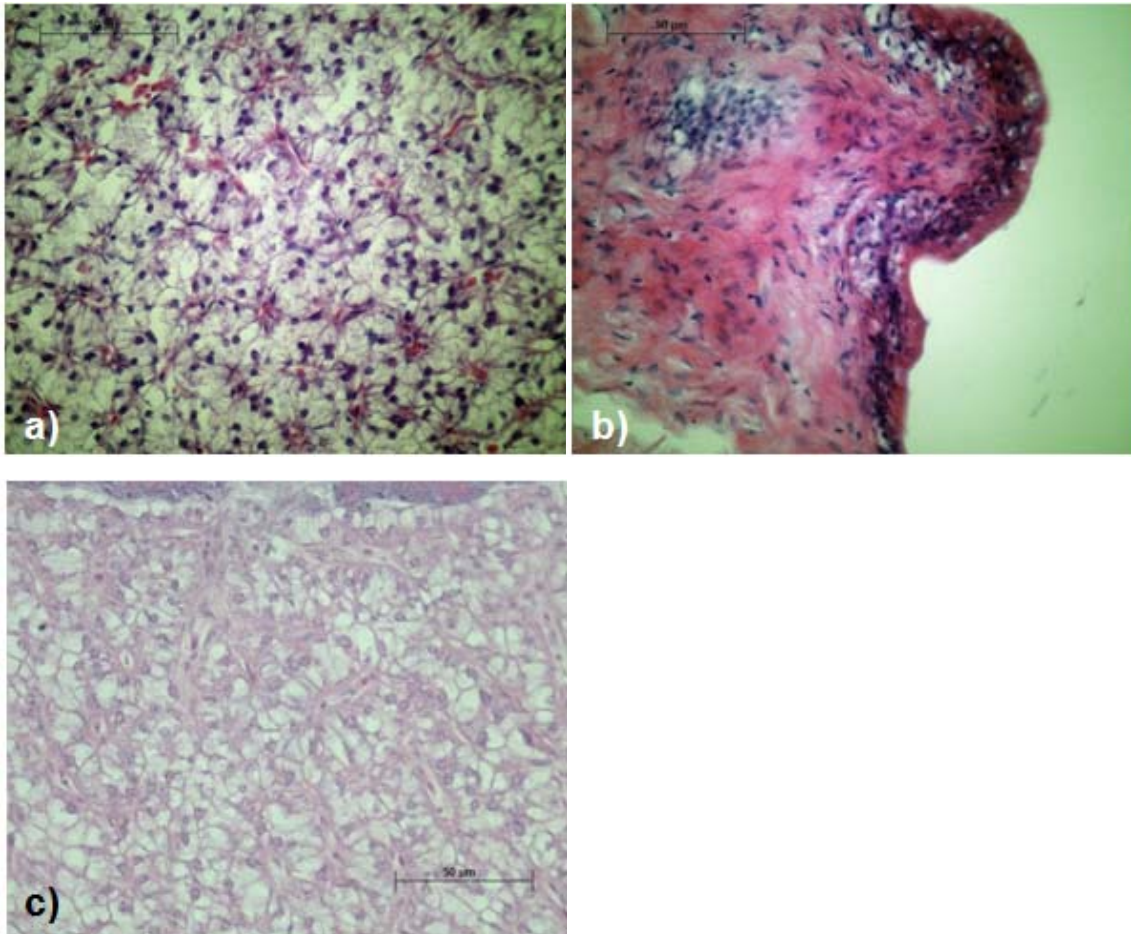


Fig. 3-54. Ginger administered group. a) liver, juvenile group; b) stomach, juvenile group; c) liver, adult group

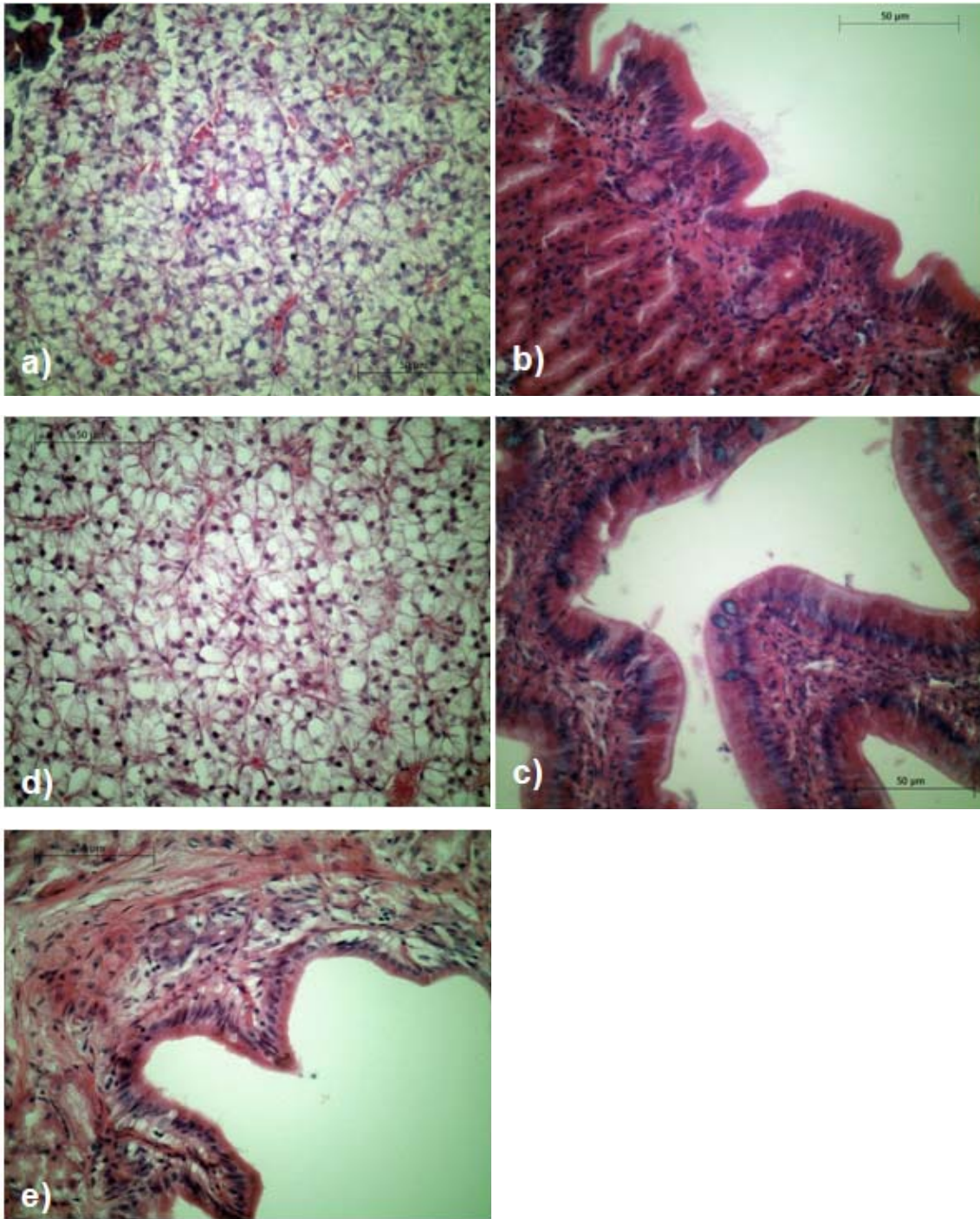


Fig. 3-55. *Artemisia* administered group. a) liver, juvenile group; b) stomach, juvenile group; c) intestines, juvenile group; d) liver, adult group; e) stomach; adult group

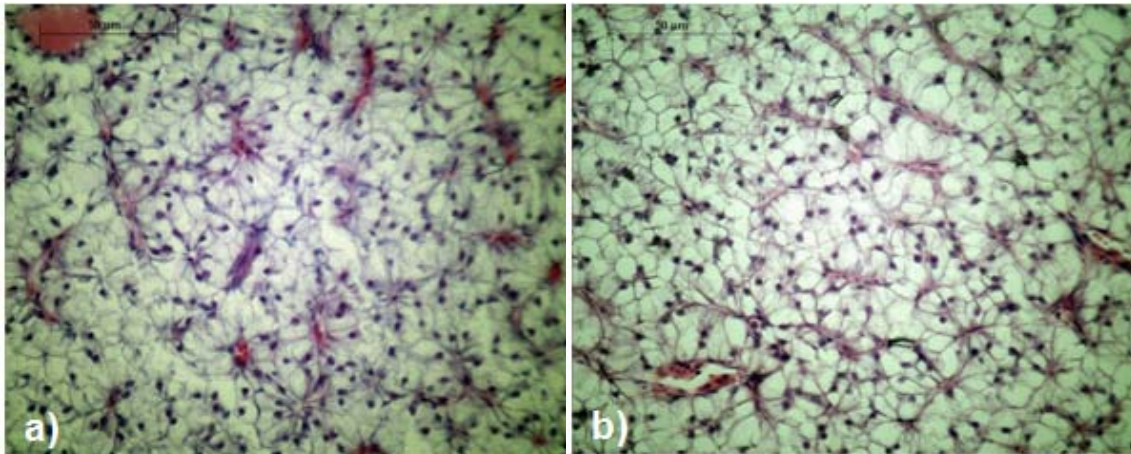


Fig. 3-56. Licorice administered group. a) liver, juvenile group; b) liver, adult group

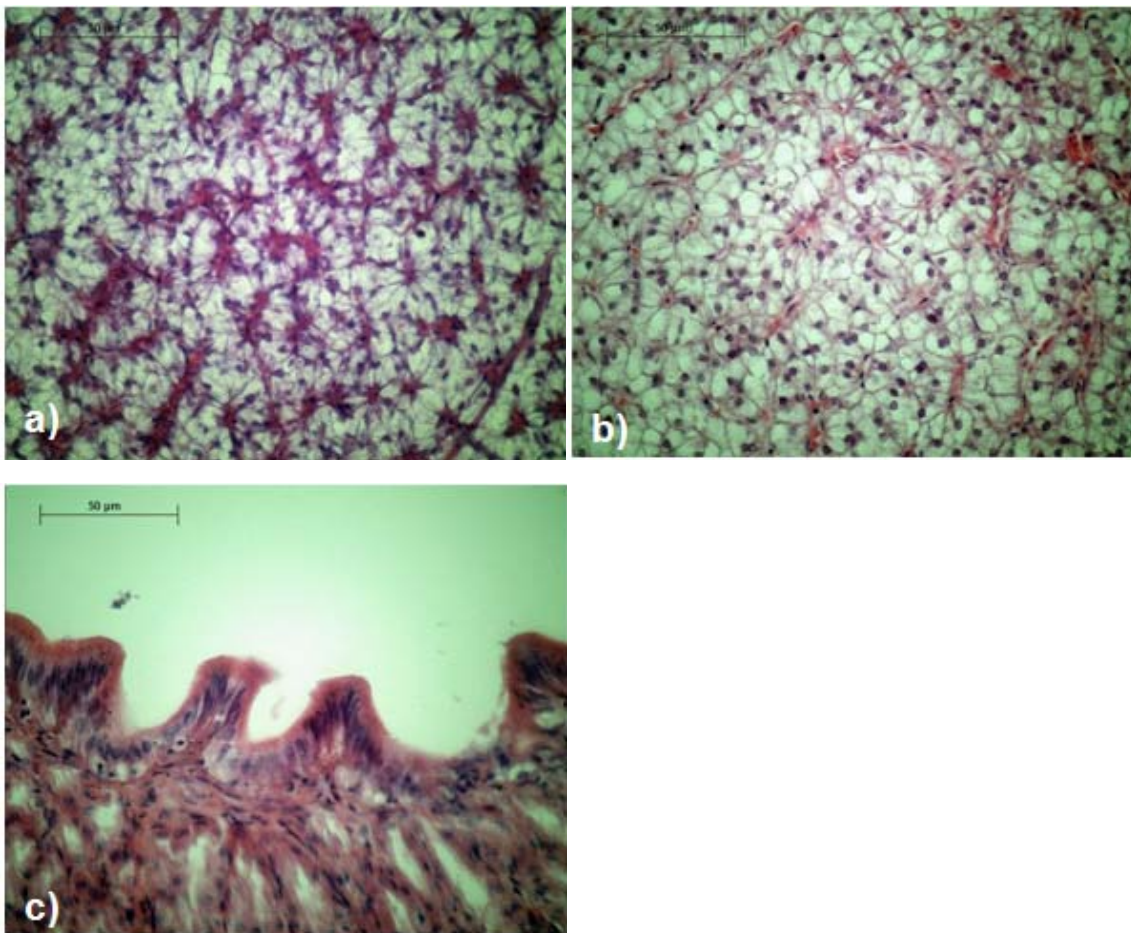


Fig. 3-57. Wasabi administered group. a) liver, juvenile group; b) liver, adult group;  
c) stomach, adult group

## 라. 고찰

각종 사료 첨가제를 사용하여 양식 어류의 증체율 증가, 성장촉진, 항병력 등을 향상시키려는 노력은 어류 양식 분야에서도 활발하게 시도되고 있으며, 다양한 식물, 광물, 미생물 또는 이들의 추출물을 각종 어류에게 투여하여 사료 첨가제로서의 효과를 알아보는 연구가 진행되고 있다 (Fernandez-Navarro et al., 2008; Li et al., 2008; Ma et al., 2008; Paek et al., 2001; Pan et al., 2008) 이러한 사료 첨가제들은 대부분이 사람 혹은 다른 동물에서 약제 혹은 식품으로서 이미 사용되고 있거나 선행 연구가 진행된 것이 대부분이어서 비교적 적용하기 쉬운 장점을 지니고 있다. 본 연구에서는 각종 사료첨가제를 넙치에게 장기간 투여하였을 때 각 장기에 병리조직학적 이상의 발생 여부를 통상적인 병리조직 표본제작법을 통하여 조직표본을 제작, 관찰하여 대조군과 비교, 분석하였다. 각 장기 및 사료 첨가제 투여군 별로 각 장기의 조직표본을 관찰해 본 결과, 사료 첨가제의 투여 유무, 사료 첨가제의 종류에 따른 병리조직학적 변화는 대부분의 장기에서 관찰되지 않았다. 한편, 간장에서는 비특이적인 간세포의 변성이 관찰되었다. 사료첨가제의 종류에 따라서는 장기간 투여시 간장에 병리조직학적 변화를 유발하는 경우가 있으며, 예를 들어 장기간 과량의 식물성 오일을 사료에 첨가하여 양식어류에게 급이하면 지방간이 유도되는 것으로 알려져 있다 (Caballero et al., 2004; Benedito-Palos et al., 2008). 그러나, 이러한 병리조직학적 변화는 첨가량을 줄이면 사라지므로 첨가량의 조절에 의해 회복이 가능한 가역적 병리조직 변화로 판단된다. 한편, 본 연구에서 발견된 간세포의 변성은 대조군에서도 관찰되었으므로 사료첨가제의 투여와 관련이 없는 것으로 보이며, 각종 사료첨가제의 투여에도 불구하고 대조군과 차이가 없는 것으로 보아 사료첨가제의 투여에 의해 개선되지는 않는 것으로 사료된다.

## 제 4 장 연구개발 목표달성도 및 관련분야에의 기여도

### 1. 목표 달성도

연구항목	연구개발 내용 및 결과	달성도 (%)
사료원료 성분특성 연구	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 사료원료 사용 현황</li> <li>- 사료원료별 성분분석</li> <li>- 사료원료별 소화율 측정</li> <li>- 배합사료의 어분종류가 넙치 치어에 미치는 영향</li> </ul>	100
고품질 배합사료 개발	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 고품질 배합사료 제조 및 평가시험</li> <li>- 사료종류별 육질평가</li> <li>- 지역별 양식장 급이현황 조사</li> <li>- 사육수조 크기별 넙치치어의 고수온기 일간성장률조사</li> </ul>	100
어체품질 향상을 위한 연구	어체 비만도 향상을 위한 연구 <ul style="list-style-type: none"> <li>- 넙치 치어, 육성어, 성어에 대한 사료의 지질원 및 함량의 효과</li> <li>- 넙치 치어, 육성어에 지질원 및 비타민E 첨가 효과</li> </ul>	100
	기능성 어류생산을 위한 배합사료 개발 연구 <ul style="list-style-type: none"> <li>- 넙치 치어, 육성어에 대한 기능성 원료 첨가효과</li> </ul>	100
	면역증가를 위한 사료 연구 <ul style="list-style-type: none"> <li>- 다양한 사료 첨가제 공급 효과</li> <li>- 사료내 스피룰리나, 아스타잔틴, 톳·감태의 첨가효과</li> <li>- 사료 첨가제에 따른 넙치 치어의 유전자발현양상</li> <li>- 사료첨가제 투여에 따른 넙치의 병리조직학적 변화</li> </ul>	100



## 2. 관련분야 기여도

### 가. 기술적 측면

- 양식어의 성장 및 어체 품질향상을 위한 고효율 배합사료가 개발되어 보급되면 사료 회사에서는 보다 질 좋은 실용배합사료를 개발하기 위해 투자할 것이고, 양어가들은 생사료와 MP 사료 대신 고품질의 배합사료를 사용할 수 있어 미래 지향적이고 환경 친화적인 양식 산업이 형성 될 수 있을 것이다.
- 산학연 모두가 주체가 되어 배합사료 개발과 연구에 지속적인 투자로 꾸준한 사료개발과 배합사료 품질향상에 관심을 가질 수 있을 것이다.

### 나. 경제·산업적 측면

- 경제적인 고효율 배합사료가 개발되면 영양소 불균형에서 유래되는 영양성 질병 및 병원균의 전염병을 예방하고 사료 유실로 인한 수질오염을 감소, 냉동보관, 유통 및 준비하는데 소요되는 노동력이나 시간의 낭비를 감소시킬 수 있다.
- 품질이 보증된 배합사료가 개발되어 보급되면, 배합사료 공급에 따른 안정적인 양식 어류 생산량 예측, 양식 생산물의 수요와 공급 조절이 가능할 것이다.

## 제 5 장 연구개발결과의 활용계획

- 주요 양식어종의 고효율 배합사료를 통한 양식어의 성장이나 어체의 품질향상을 위해 어체 비만도 향상과 기능성 어류 생산 및 면역력 증가를 위한 연구 개발을 토대로 배합사료 설계 및 제조기술을 산업계 및 민간업체와 공유하고, 이와 동시에 배합사료의 우수성을 양어가에게 홍보하며 배합사료를 사용할 수 있도록 적극 권장하고 개발된 배합사료의 품질을 계속 향상시킬 수 있도록 한다.
- 사료 업계에서 실용 배합사료를 제조할 수 있도록 정보를 제공하고, 배합사료로 생사료 및 MP 사료의 대체가 가능하며 사료의 품질을 보증할 수 있도록 하여 양어가들이 배합사료에 대한 신뢰성을 높일 수 있도록 한다.
- 배합사료의 꾸준한 개발 및 연구결과를 바탕으로 간담회 및 학회발표 등을 통하여 관련분야 양식업계에 제공하여 배합사료의 신뢰성을 높인다.

## 제 6 장 참고문헌

- Amandi, A., S. F. Hiu, J. S. Rohovec and J. L. Fryer, 1982. Isolation and characterization of *dwardsiella tarda* from fall Chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*). Appl. Environ. Microbiol. 43, 1380-1384.
- AOAC (Association of Official Analytical Chemists), 1995. P. Cunniff (Editor), Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists, 16th edition. Association of Official Analytical Chemists, Inc., Arlington, VA.
- Aoki, T., T. Kanazawa, and T. Kitao, 1985. Epidemiological surveillance of drug resistant *Vibrio anguillarum* strains. Fish Pathol., 29, 199-208.
- Athukorala, Y. and Y. J. Jeon, 2005. Screening for angiotensin 1-converting enzyme inhibitory activity of *Ecklonia cava*. J. Food Sci. Nutr., 10, 134-139.
- Baek, NS, Lim, YB & Kim YM (2001): Antibacterial activity and growth promotion in aquacultured fish by probiotics. Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol. 29: 56-61 (in Korean with English Summary).
- Benedito-Palos, L, Navarro, JC, Sitja-Bobadilla A, Bell, JG, Kaushik, S & Perez-Sanchez, J. (2008): High levels of vegetable oils in plant protein-rich diets fed to gilthead seabream (*Sparus aurata* L.): growth performance, muscle fatty acid profiles and histological alterations of target tissues. Br. J. Nut. 100: 992-1003
- Block, E., Ahmad, S., Catalfamo, J.L., Jain, M.K. and Costro, R.A. 1986. Antithrombotic organosulfur compounds from garlic. J. Am. Chem. Soc. 108: 7045.
- Block, E., Calvey E. M., Gillies C. W., Gillies J. Z., and Uden, P. (1996) Peeling the onion. In Functionality of Food Phytochemicals; Johns, T., Romeo, J. T, Eds; Plenum press, New York, pp.1~30.
- Bordia,A. and Bansal, H.C. 1975. Effect of the essential oils of barlic and onion on alimentary hyperlipidemia. Atherosclerosis. 21:15.
- Braddock RJ (1983) Utilization of citrus juice vesicle and peel fiber. Food Technol 37: 85-87.
- Busboom JR, Miller GJ, Field RA, Crouse JD, Riley ML, Nelms GE, Ferrell CL. 1981. Characteristics of fat from heavy ram and wether lambs. J. Animal Sci. 52: 83-92.
- Caballeto, MJ, Izquierdo, MS, Kjorsvik, E, Fernandez, AJ & Rosenlund G. (2004):

- Histological alterations in the liver of sea bream, *Sparus aurata* L., caused by short- or long-term feeding with vegetable oils, Recovery of normal morphology after feeding fish oil as the sole lipid sources. *J. Fish Dis.* 27: 531–541
- Chien, Y. H. and S. C. Jeng, 1992. Pigmentation of kuruma prawn, *Penaeus japonicus* Bate, by various pigment source and levels and feeding regimes. *Aquaculture*, 102, 333–346.
- Cho, S. H. 2005. Compensatory growth of juvenile flounder *Paralichthys olivaceus* L. and changes in biochemical composition and body condition indices during starvation and after refeeding during the winter season. *Journal of the World Aquaculture Society*, 36, 508–514.
- Cho, S. H., S. Lee, B. H. Park, S. C. Ji, J. H. Lee, J. Bae and S. Oh, 2007. Effect of dietary inclusion of various sources of green tea on growth, body composition and blood chemistry of juvenile olive flounder *Paralichthys olivaceus*. *Fish Physiology and Biochemistry*, 33, 49–57.
- Cho, S. H., S. Lee, B. H. Park, S. Ji, J. Lee, J. Bae and S. Oh. 2006. Compensatory growth of juvenile olive flounder *Paralichthys olivaceus* L. and changes in proximate composition and body condition indexes during fasting and after refeeding in summer season. *Journal of the World Aquaculture Society*, 37, 168–174.
- Cho, S. H., S. Lee, B. Park, I. Park, C. Y. Choi, S. Lee, B. H. Min, S. Hur and Y. S. Lim. 2005b. Effect of partial dietary substitution of meat meal for fish meal on the growth and body composition of the juvenile olive flounder *Paralichthys olivaceus*. *Journal of Fisheries Science and Technology*, 8, 138–141.
- Cho, S. H., S. Lee, S. Lee, B. Park, I. Park, C. Y. Choi, B. H. Min, S. Hur and J. Jo. 2005a. Effect of partial replacement of fish meal with squid liver meal™ in the diet on growth and body composition of juvenile olive flounder (*Paralichthys olivaceus*) during winter season. *Journal of Fisheries Science and Technology*, 8, 65–69.
- Cooksley VG. 1996. *Aromatherapy*. Silver Press, Englewood Cliffs, NJ. p 349–350.
- Dabrowski K, Matusiewicz K, Matusiewicz M, Hoppe PP, Ebeling J. 1996. Bioavailability of vitamin C from two ascorbyl monophosphate esters in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). *Aquaculture Nutr.*, 2, 3–10.
- Dorsch, W. O., J. W. Adam and T. Ziegeltrum. 1985. Antiasthmatic effects of onion

- extracts-detection of benzyl and other isothiocyanates (mustard oils) as antiasthmatic compounds of plant origin. *Eur. J. Pharmacol.* 107, 17-25.
- Dryden FD, Marchello JA. 1970. Influence of total lipid and fatty acid composition upon the palatability of three bovine muscles. *J. Anim. Sci.* 31: 36-43.
- Duncan, D.B., 1955. Multiple-range and multiple F tests. *Biometrics*, 11 : 1-42
- Fernandez-Navarro MI, Peragon J., Amores, V, De La Higuera M & Lupianez JA. 2008. Maslinic acid added to the diet increases growth and protein-turnover rates in the white muscle of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Comp. Biochem. Physiol. C.* 147: 158-167
- Fletcher GC, Statham JO. 1988. Shelf life of sterile yellow-eyed mullet (*Aldrichetta forsteri*) at 4°C. *J. Food Sci.* 53: 1030-1035.
- Folch, J., Lees, M., Sloane-Stanley, G.H.S., 1957. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J. Biol. Chem.* 226, 497 - 509.
- Folch, J., M. Lee and G. H. Sloane-Stanly, 1957. A simple method for the isolation and purification of total lipid from animal tissues. *J. Biol. Chem.*, 226, 497-509.
- 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.
- Goto, S., K. Kogure, K. Abe, Y. Kimata, K. Kitahama, E. Yamashita and H. Terada, 2001. Efficient radical trapping at the surface and inside the phospholipid membrane is responsible for highly potent antiperoxidative activity of the carotenoid astaxanthin. *Biochem. Biophys. Acta.*, 1512, 251-258.
- Grundy SM. 1986. Comparison of monounsaturated fatty acids and carbohydrates for lowering plasma cholesterol. *N. Engl. J. Med.* 314: 2855-2856.
- Hahm, J. H., 2005. Anti-tumor effects of poly-γ-glutamate from *Bacillus subtilis*, Chungkookjang. A thesis for the degree of master of science. Hanyang University.
- Hasimoto HR. 1972. Taste of marine products. *Cookery Sci.* 5: 2-7.
- Heo, G. J., K. S. Shin and M. H. Lee. 1992. Diseases of aquaculture animals and prevention of drug residues. *Kor. J. Food Hygiene*, 7, S7-S19.
- Heo, S. J., P. J. Park, E. J. Park, S. K. Cho, S. K. Kim and Y. J. Jeon, 2005. Antioxidant effect of proteolytic hydrolysates from *Ecklonia cava* on radical

- scavenging using ESR and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-induced DNA damage. Food Sci. Biotechnol., 14(5), 614-620.
- Heo, S. J., Y. J. Jeon, J. H. Lee, H. T. Kim and K. W. Lee, 2003. Antioxidant effect of enzymatic hydrolyzate from a kelp, *Ecklonia cava*. Algae, 18(4), 341-347.
- Hong CH, Lee JM, Kim KS. 2004. Changes of nucleotides in the raw fishes during the aquarium storage. Korean J. Food Sci. Technol. 36: 379-384.
- Hung, S.S.O., Cho C.Y., Slinger, S.J., 1980. Measurement of oxidation in fish oil and its effect on vitamin E nutrition on rainbow trout (*Salmo gairdneri*). Can. J. Fish. Aquatic Sci. 37, 1248-1253.
- Hung, S.S.O., Cho C.Y., Slinger, S.J., 1981. Effect of oxidation fish oil, dl- $\alpha$ -Tocopherol acetate and ethoxyquin supplementation of the vitamin E nutrition of ainbow trout (*Salmo gairdneri*) fed practical diets. J. Nutr. 111, 648-657.
- Huss HH. 1988. Fresh Fish: Quality and quality changes. FAO, Rome, Italy.
- Ioka H, Yamanaka H. 1997. Quality evaluation of the muscle of cultured plaice fed with three different diets. Nippon Suisan Gakkaishi, 63: 370-377.
- Jacobsen, J. G. and Smith, L. H Jr. (1968), Biochemistry and physiology of taurine and taurine derivatives. Physiol. Rev. 48:424~511.
- Kang JH, Ahn BW, Lee DH, Byun HS, Kim SB, Park YH. 1988. Inhibitory effect of ginger and galic extracts on the DNA damage. Korean J Food Sci Technol 20: 287-292.
- Karawita, R., N. Siriwardhana, K.-W. Lee, M.-S. Heo, I.-K. Yeo, Y.-D. Lee and Y.-J. Jeon, 2004. Reactive oxygen species scavenging, metal chelating, reducing power and lipid peroxidation inhibition properties of different solvent fractions from *Hizikia fusiformis*. European Food Research and Technology 220, 363 - 371.
- Katiyar SK. 1996. Inhibition of tumor promotion in SENCAR mouse skin by Zingiber officinale Rhizoma. Planta Med 56:1023-1030.
- Keeling, P. L., Smith. L. L., and Aldridge, W. N. (1982) Bopcjem. Biophys. Acta. 716:249~257.
- Kikuchi, K., 1999. Use of defatted soybean meal as a substitute for fish meal in diets of Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*). Journal of Fisheries Society, 179, 3-11.
- Kim EJ, Ahn MS. 1993. Antioxidative effect of ginger extracts. Korean J Food Cookery Sci 9: 37-42.

- Kim HY, Shin JW, Park HO, Choi SH, Jang YM, Lee SO. 2000. Comparison of the taste compounds of red sea bream, rockfish and flounders differing in the localities and growing conditions. *Korean J. Food Sci. Technol.* 32: 550-563.
- Kim SH, Kim TS. 2002. Synergistic induction of 1,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> and all-trans-retinoic acid-induced differentiation of HL-60 leukemia cells by yomogin, a sesquiterpene lactone from *Artemisia princeps*. *Planta Med* 68: 886-890.
- Kim, B. S., M. R. Jeong and Y. E. Lee, 2003. Quality characteristics of Muhwakwa-pyun with various starches. *The Journal of Korean Society of Food Science*, 19, 783-793.
- Kim, D. S., J. H. Kim, C. H. Jeong, S. M. Lee and Y. B. Moon, 1996. Effects of dietary herbs on growth and body composition in olive flounder, *Paralichthys olivaceus*. *Journal of Aquaculture*, 9, 461-465.
- Kim, D. S., J. H. Kim, C. H. Jung, S. Y. Lee, S. M. Lee and Y. B. Moon, 1998. Utilization of obosan (dietary herbs) I. Effects on survival, growth, feed conversion ratio and condition factor in olive flounder, *Paralichthys olivaceus*. *Journal of Aquaculture*, 11, 213-221.
- Kim, H., H. Sik and S. Lee, 2002a. Studies on the antioxidant effect of Korean propolis. *Korean Journal of Food Science of Animal Resources*, 22, 77-80.
- Kim, J. A., J. M. Lee, D. B. Shin and N. H. Lee, 2004. The antioxidant activity and tyrosinase inhibitory activity of phloro-tannins in *Ecklonia cava*. *Food Sci. Biotechnol.*, 13(4), 476-480.
- Kim, J. D., S. H. Shim, K. J. Cho and S. M. Lee, 2002b. Effect of daily and alternate day feeding regimens on growth and food utilization by juvenile flounder *Paralichthys olivaceus*. *Journal of Aquaculture*, 15, 15-21.
- Kim, J. H., Y. B. Moon, C. H. Jeong and D. S. Kim, 2000. Utilization of dietary herb obosan III. Growth of juvenile olive flounder, *Paralichthys olivaceus*. *Journal of Aquaculture*, 13, 231-238.
- Kim HY, Shin JW, Sim GC, Park HO, Kim HS, Kim SM, Cho JS, Jang YM. 2000. Comparison of the taste compounds of wild and cultured eel, puffer and snake head. *Korean J. Food Sci. Technol.* 32: 1058-1067.
- Kim, K. D. and S. M. Lee, 2004. Requirement of dietary n-3 highly unsaturated fatty acids for Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*). *Journal of Aquaculture*, 229,

315-323.

- Kim KW, Kang YJ, Kim KD, Choi SM, Lee JY, Moon Lee HY, Bai SC C. 2007. Long-term evaluation of muscle quality of the olive flounder, *Paralichthys olivaceus*, fed with extruded pellet. J. of Aquaculture, 20: 51-55.
- Kim, M. J., M. C. Kim, T. Kim, K. U. Kim and M. S. Heo, 2006. Effect of dietary supplementation of extracts of mushroom mycelium on survival and growth of juvenile Flounder, *Paralichthys olivaceus*. Journal of Aquaculture, 19, 231-235.
- Kim, S. H., N. H. Kwon, J. Y. Kim, J. Y. Lim, W. K. Bea, J. M. Kim, K. M. Noh, J. Hur, W. K. Jung, K. T. Park, J. E. Lee, J. C. Ra and Y. H. Park, 2002c. Antimicrobial activity of natural product made by *Opuntia ficus-indica* var. saboten against *Salmonella* spp. and *Escherichia coli* O157:H7. Journal of Food Hygiene Safety, 17, 71-78.
- 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.
- Koshihara Y, Neichi T, Murota S, Lao A, Fujimoto Y, Tatsuno T. 1983. Selective inhibition of 5-lipoxygenase by natural compounds isolated from Chinese plants, *Artemisia rubripes* Nakai. FEBS Lett 158: 41-44.
- Kubicek CP, Honlinger C, Jaklitsch WM, Affenzeller K, Mach R. 1990. Regulation of lysine biosynthesis in the fungus *Penicillium chrysogenum*. In Amino Acids: chemistry, biology and medicine. Lubec G, Rosenthal GA, eds. Escom, Leiden. p 1029-1034.
- Kubota, S. S., Kaige, N., Miyazaki, T., Miyashita, T., 1981. Histopathological studies on edwardsiellosis of tilapia. I. Natural infection. Bull. Fac. Fish., Mie Univ. 9, 155-165.
- Kumagai, H., T. Kashima, T. Seki, H. Sacurai, K. Ishii and T. Ariga. 1994. Analysis of volatile compositions in essential oil of upland wasabi and their inhibitory effects on platelet aggregation. Biosci. Biotechnol. Biochem. 58, 2131-2135.
- Kumar, V., N. P. Sahu, A. K. Pal and S. Kumar, 2007. Immunomodulation of *Labeo rohita* juveniles due to dietary gelatinized and non-gelatinized starch. Fish Shellfish Immunol. 23. 341-353.
- Kumari, J. and Sahoo P. K. Effects of cyclophosphamide on the immune system and disease resistance of Asian catfish *Clasrias batrachus*. Fish Shellfish Immun.



2005;19:307-316.

- Kusuda, R., T. Toyoshima, Y. Iwamura and H. Sako, 1976. *Edwardsiella tarda* from an epizootic of mullets (*Mugil cephalus*) in Okitsu bay. Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish. 42, 271-275.
- Kwon, M. G., Y. C. Kim, Y. C. Shon and S. I. Park, 1999. The dietary effects of kugija, *Lycium chinense*, on immune responses of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*, to *Edwardsiella tarda*. Journal of Fish Pathology, 12, 73-81.
- Lee, K. H., Y. S. Lee, J. H. Kim and D. S. Kim, 1998. Utilization of obosan (dietary herbs) II. Muscle quality of olive flounder, *Paralichthys olivaceus* fed with diet containing obosan. Journal of Aquaculture, 11, 319-325.
- Lee KH, Lee YS. 1997. Muscle quality of cultured olive flounder, *Paralichthys olivaceus*. Korean J. Soc. Food Sci. 13: 448-452.
- Lee KH, Lee YS. 1999. Muscle quality of cultured and wild red sea bream (*Pagrosomus auratus*). Korean J. Soc. Food Sci. 15: 639-644.
- Lee KH, Lee YS. 2000. The effect of lipid and collagen content, drip volume on the muscle hardness of cultured and wild red sea bream (*Pagrosomus auratus*) and flounder (*Paralichthys olivaceus*). Korean J. Soc. Food Sci. 16: 352-357.
- Lee KH, Lee YS. 2001. Observation of muscle structure and DSC measurement of collagen of the cultured and wild red sea bream and flounder. Korean J. Soc. Food Cookery Sci. 17: 549-554.
- Lee, S. and T. Lim, 2000. Effects of herb as an additive in formulated diet on growth and body composition of larval Ayu (*Plecoglossus altivelis*). Journal of East Coastal Research, 11, 35-42.
- Lee, S. M., C. S. Park and I. C. Bang, 2002a. Dietary protein requirement of young Japanese flounder *Paralichthys olivaceus* fed isocaloric diets. Fisheries Science, 68, 158-164.
- Lee, S. M., K. D. Kim and S. P. Lall, 2003. Utilization of glucose, maltose, dextrin and cellulose by juvenile flounder (*Paralichthys olivaceus*). Aquaculture, 221, 427-438.
- Lee, S., H. Sik and H. Kim, 2002b. Antimicrobial activity of Korean propolis. Korean Journal of Food Science of Animal Resources, 22, 66-71
- Lee, S.-M. and T.-J. Lim, 2005. Effects of dietary protein and energy level on growth and lipid composition of juvenile snail (*Semisulcospira gottschei*). J. Shell.

- Res., 24, 99–102.
- 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.
- Lewis, D. A., (1989) Flavonoids. In Lewis. D. A. (eds), Suppl. Vol. 27. Berkhauser Verlage, Basel. pp.137~165.
- Li, Y, Wang, YJ, Wang L & Jiang KY (2008): Influences of several non-nutrient additives on nonspecific immunity and growth of juvenile turbot, *Scophthalmus maximus* L. Aquaculture Nutr. 14: 387–395
- Lim, K. T., S. J. Lee, J. H. Ko and P. S. Oh, 2005. Hypolipidemic effects of glycoprotein isolated from Ficus Carica Linnoeus in mice. Korean Journal of Food Science and Technology, 37, 624–630.
- 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.
- Lindsay, G.J.M., 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.
- Liu, J. N., Y. Yoshida, M. Q. Wang, Y. Okai and U. Yamashita, 1997. B cell stimulating activity of seaweeds extracts. Int. J. Immunopharmac., 19, 135–142.
- Lunt DK, Smith SB. 1991. Wagyu beefs holds profit potential for U.S. feed lot. Feedstuffs, 19: 18–26.
- Ma, JJ, Xu, ZR, Shao, QJ, Xu, JZ, Hung, SSO, Hu, WL & Zhuo LY (2008): Effect of dietary supplemental L-carnitine on growth performance, body composition and antioxidant status in juvenile black sea bream, *Sparus macrocephalus*. Aquaculture Nutr. 14: 464–471
- Mcphearson, R. M., A. DePaola, S. R. Zywno, J. M. L. Motes and A. M. Guarino. 1991. Antibiotic resistance in gram-negative bacteria from cultured catfish and aquaculture ponds. Aquaculture, 99, 203–211.
- Mensaveta, P., W. Worawattanamateekul, Y. Latscha and J. S. Clark, 1993. Correction of tiger prawn (*Penaeus monodon* Fabricus) coloration by astaxanthin. Aquac.

- Eng., 12, 203–213.
- Meyer, F. P. and G. L. Bullock, 1973. *Edwardsiella tarda*, a new pathogen of channel catfish (*Ictalurus punctatus*). Appl. Microbiol. 25, 155–156.
- Michael G. L. H., Edith J. M. F., Peter C. H. H.(1993), Dietary antioxidant flavonoids and risk of coronary heart disease. Lancet 342:107.
- MIFAFF (Ministry for Food, Agriculture, Forestry and Fisheries), 2008 Statistical DB.
- Mortensen, A., L. H. Skibsted and T. G. Truscott, 2001. The interaction of dietary carotenoids with radical species. Arch. Biochem. Biophys., 385, 13–19.
- Morishita T, Uno K, Araki T, Takahashi T. 1989. Comparison of the fatty acid compositions in cultured red sea bream differing the localities and culture methods, and those in wild fish. Bull. Japan Soc, Sci, Fish, 55: 847–852.
- Murai, T., Andrews, J.W., 1974. Interactions of Dietary  $\alpha$ -Tocopherol, Oxidized Menhaden Oil and Ethoxyquin on Channel Catfish (*Ictalurus punctatus*). J. Nutr., 104, 1416–1431.
- Nakagawa H, Kumai H, Nakamura M, Kasahara S. 1985. Effect of algae supplemented diet on serum and body constituents of cultured yellow tail. Bull. Japan Soc, Sci, Fish, 51: 279–286.
- Nakatsugawa, T., 1983. *Edwardsiella tarda* isolated from cultured young flounder. Fish Pathol. 18, 99–101.
- National Research Council (NRC), 1993. Nutrient Requirement of Fish. National Academy Press, Washington, DC, USA.
- Obach, A., C. Quentel and F. B. Laurencin, 1993. Effects of alpha-tocopherol and dietary oxidized fish oil on the immune response of sea bass *Dicentrarchus labrax*. Disease of Aquatic Organisms, 15, 175–185.
- Okai, Y., K. H. Okai, S. Ishizaka, K. Ohtani, I. M. Yuasa and U. Yamashita, 1998. Possible immunomodulating activities in an extract of edible brown algae, *Hijikia fusiformis* (Hijikia). J. Sci. Food Agric. 76, 56–62.
- Okai, Y., K. Higashi-Okai, S. Ishizaka and U. Yamashita, 1997. Enhancing effect of polysaccharides from an edible brown alga, *Hijikia fusiforme* (Hijikia), on release of tumor necrosis factor alpha from macrophages of endotoxin-nonresponder C3H/HeJ mice. Nutr. Cancer. 27, 74–79
- Ohshima T, Wada S, Koizumi C. 1983. Comparison of lipids between cultured and

- wild sea breams. Bull. Japan Soc. Sci. Fish, 49: 1405-1409.
- Ohshima T, Widjaja HD, Wada S, Koizumi C. 1982. A comparison between cultured and wild ayu lipids. Bull. Japan Soc, Sci, Fish, 48: 1795-1801.
- Pan, C. H., Y. H. Chien and B. Hunter, 2003. The resistance to ammonia stress of *Penaeus monodon* Fabricius juvenile fed diets supplemented with astaxanthin. J. Exp. Mar. Biol. Ecol., 297, 107-118.
- Pan, C. H., Y. H. Chien and B. Hunter, 2003. The resistance to ammonia stress of *Penaeus monodon* Fabricius juvenile fed diets supplemented with astaxanthin. J. Exp. Mar. Biol. Ecol., 297, 107-118.
- Park BH, Park SH, Jo JS. 2003. A study on the organoleptic characteristics and changes in freshness of cultivated and wild *Paralichthys olivaceus* during storage. Korean J. Soc. Food Cookery Sci. 19: 72-78.
- Park Tae-Sun, Park Jun-Eun, Chang Jun-Sung, Son Mi-Won, and Sohn Kyun-Hee
- Park, S. U., M. G. Kwon, Y. H. Lee, I. S. Shin and S. M. Min, 2003. Effects of supplemental undaria, obosan and wasabi in the experimental diets on growth, body composition, blood chemistry and non-specific immune response of juvenile flounder, *Paralichthys olivaceus*. Journal of Aquaculture, 16, 210-215.
- Park, Y. B., 2005. Determination of nitrite-scavenging activity of seaweed. J. Kor. Food Sci. Nutr., 34(8), 1293-1296.
- Peres, H., Oliva-Teles, A., 1999. Effect of dietary lipid level on growth performance and feed utilization by European sea bass juveniles *Dicentrarchus labrax*. Aquaculture 179, 325-334.
- Pham, M. A., K. J. Lee, S. J. Lim, B. J. Lee, S. S. Kim, Y. J. Park and S. M. Lee, 2005. Fish meal replacement by cottonseed and soybean meal in diets for early juvenile flounder, *Paralichthys olivaceus*. Journal of Aquaculture, 18, 215-221.
- Poston, H.A., Combs, G.F., Jr., Leibovitz, L., 1976. Vitamin E and Selenium Interrelations in the Diet of Atlantic Salmon (*Salmo salar*): Gross, Histological and Biochemical Deficiency Signs. J. Nutr. 109, 1710-1714.
- Ra, K. S., H. J. Suh, S. H. Cunug and J. Y. Son, 1997. Antioxidant activity of solvent extract from onion skin. Korean Journal of Food Science and Technology, 29, 595-600.
- Ranganna S, Govindarajan VS, Ramana KVR (1983) Citrus fruitsvarieties, chemistry, technology, and quality evaluation. Part II. Chemistry, technology, and quality

- evaluation. *CRC Crit Rev Food Sci Nutr* 18: 313-386.
- Ryu SN, Han SS, Yang JJ, Jeong HG, Kang SS. 2005. Variation of eupatilin and jaceosidin content of mugwort. *J Crop Sci* 50: 204-207.
- Ryu, S. R. and S. T. Jung, 1999. The preparation and synthesis of antifungal agents using biological activity compounds separated in figs. *Applied Chemistry*, 3, 165-168.
- Sae-Oui, D., K. Muroga and T. Nakai, 1984. A case of *Edwardsiella tarda* in cultured colored carp, *Cyprinus carpio*. *Fish Pathol.* 19, 197-199.
- Sandoval, M., N. N. Okuhama, M. F. Angeles, V. V. Melchor, A. L. Condezo, J. Lao and S. J. M. Miller, 2002. Antioxidant activity of the cruciferous vegetable Maca (*Lepidium meyenii*). *Food Chem.*, 79, 207-213.
- Sato M, Yoshinaka R, Nishinaka Y, Morimoto H, Kojima T, Yamamoto Y, Ikeda S. 1977. Comparison of nutritive components in meat of wild and cultured bastard halibut *Paralichthys olivaceus*. *Bull. Japan Soc, Sci, Fish*, 52: 1043-1047.
- Seo, J. Y., H. S. Jang, K. D. Kim, G. U. Kim and S. M. Lee, 2005. Effects of dietary composition, feeding satiation rate and feeding frequency of extruded pellets on growth and body composition of flounder (*Paralichthys olivaceus*). *Journal of Aquaculture*, 18, 98-106.
- Shan, B. E., Y. Yoshida, E. Koroda and U. Yamashita, 1999. Immunomodulating activity of seaweed extract on human lymphocytes in vitro. *International Journal Immunopharmacology* 21, 59-70.
- Shiau, S. Y. and Y. P. Yu, 1999. Dietary supplementation of chitin and chitosan depresses growth in tilapia, *Oreochromis niloticus* × *O. aureus*. *Aquaculture*, 179, 439-436.
- Shiau, S.-Y. and Y.-P. Yu, 1999. Dietary supplementation of chitin and chitosan depresses growth in tilapia, *Oreochromis niloticus* × *O. aureus*. *Aquaculture*, 179, 439-446.
- 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 sea water, *Fish nutrition in practice*. Paris: Les Colloques, No. 61, INRA Edns, pp. 459-468.
- Siriwardhana, N., K.-W. Lee and Y.-J. Jeon, 2005. Radical scavenging potential of hydrophilic phlorotannins of *Hizikia fusiformis*. *Algae* 20, 69-75.

- Siriwardhana, N., K.-W. Lee, S-H. Kim, S. J. Ha and Y.-J. Jeon, 2003a. Antioxidant activity of *Hizikia fusiformis* reactive oxygen species scavenging and lipid peroxidation inhibition. *Food Science and Technology International* 9, 339 - 348.
- Siriwardhana, N., K.-W. Lee, S-H. Kim, S. J. Ha, G.-T. Park and Y.-J. Jeon, 2003b. Lipid peroxidation inhibitory effects of *Hizikia fusiformis* methanolic extract on fish oils and linoleic acid. *Food Science and Technology International* 10, 65-72.
- Siriwardhana, N., Y.-J. Jeon, S-H. Kim, S. J. Ha, Heo., and K.-W. Lee, 2004. Enzymatic hydrolysis for effective extraction of antioxidative compounds from *Hizikia fusiformis*. *Algae* 19, 59 - 68.
- Skerget, M., P. Kotnik, M. Hadolin, A. R. Hras, M. Simoncic and Z. Knez. 2005. Phenols, proanthocyanidins, flavones and flavonols in some plant materials and the antioxidant activities. *Food Chem.*, 89, 191-198.
- Stavric, B. (1997) Chemopreventive agents in foods, In *Functionality of Food Phytochemicals*; Johns, T., Romeo, J. T., Eds; Plenum press, New York. pp.53~87.
- Suyama M, Hirano T, Okada N, Shibuya T. 1977. Quality of wild and cultured ayu- I : On the proximate composition, free amino acids and related compounds. *Bull. Japan Soc, Sci, Fish*, 43: 535-540.
- Takada M, Li ZK, Hattori T, Kitai ST. Astroglia ablation by the glutamate analogue gliotoxin  $\alpha$ -aminoadipic acid prevents 1-methyl-4-phenyl-1, 2, 3, 6-tetrahydropyridine-induced nigrostriatal neuronal death. 1990. In *Amino Acids: chemistry, biology and medicine*. Lubec G, Rosenthal GA, eds. Escom, Leiden. p 519-528.
- Vinson, J. A., 1999. The functional food properties of figs. *Cereal Food World* 44, 82-87.
- Wakabayashi, H. and S. Egusa, 1973. *Edwardsiella tarda* (*Paracolobactrum anguillimortiferum*) associated with pond-cultured eel disease. *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish.* 39, 931-936.
- Watanabe, T., Takeuchi, T., Matsui, M., Ogino, C., Kawabata, T., 1977. Effect of  $\alpha$ -tocopherol deficiency on carp: VII. The relationship between dietary levels of linoleate and  $\alpha$ -tocopherol requirement. *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish* 43, 935-946.
- Whittington FM, Prescott NJ, Wood JD, Enser M. 1986. The effect of dietary linoleic acid on the firmness of backfat of 85kg live weight. *J. Science Food and Agri.*

37: 753-761.

- Winston, G. W., D. G. E. Lemaire and R. F. Lee, 2004. Antioxidants and total oxyradical scavenging capacity during grass shrimp, *Palaemonetes pugio*, embryogenesis. *Comp. Biochem. Physi. C.*, 139, 281-288.
- Yamaguchi S. 1967. The synergistic taste effect of monosodium glutamate and disodium 5'-inosinate. *J. Food Sci.* 32: 473.
- Yang SJ, Song JY, Yang TI, Jung IC, Park KS, Moon YH (2005) Effect of feeding of unshiu orange byproducts on nutritional composition and palatability of crossbred pork loin. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 34: 1593-1598.
- Yang ST, Lee EH. 1982. Taste compounds of fresh water fishes: 5. Sensory evaluation of taste components in the extract of wild common carp and korean snakehead meat. *Bull. Korean Fish. Soc.* 15: 303-311.
- Yang ST, Lee EH. 1984. Taste compounds of fresh water fishes: 9. Taste compounds of wild loach meat. *Bull. Korean Fish. Soc.* 17: 177-183.
- Yeo, I. and S. Rho, 2004. Effects of additive of effective microorganisms and herb medicine (Hanbangchun · Olyukchun) on physiological vitality in olive flounder, *Paralichthys olivaceus*. *Bulletin of Marine and Environmental Research Institute Cheju National University*, 28, 7-13.
- Yoo, G. Y., S. M. Choi, K. W. Kim and S. C. Bai, 2006. Apparent protein and phosphorus digestibilities of nine different dietary protein sources and their effects on growth of juvenile olive flounder, *Paralichthys olivaceus*. *Journal of Aquaculture*, 19, 254-260.
- Yun, H. and S. Bae, 1998. Antibacterial activities of onion shell extract against fish pathogenic bacteria. *Journal of Veterinary Science Chonnam National University*, 6, 25-29.

## 주 의

1. 이 보고서는 농림수산식품부에서 시행한 정책과제의 연구보고서입니다.
2. 이 보고서 내용을 발표할 때에는 반드시 농림수산식품부에서 시행한 정책과제의 연구결과임을 밝혀야 합니다.
3. 국가과학기술 기밀유지에 필요한 내용은 대외적으로 발표 또는 공개하여서는 아니됩니다.