

치어기 넙치(*Paralichthys olivaceus*) 사료 내 돈모분(Pig Bristle Meal)의 어분대체 가능성 평가

김유정 · 신재형 · 권황원¹ · 이소연¹ · 김주민² · 김민기 · 김정대² · 이경준*

제주대학교 해양생명과학과, ¹베스트롱생명과학(주), ²강원대학교 동물생명과학대학

Evaluation of a Hydrolyzed Pig Bristle Meal as a Partial Fish Meal Replacer in Diets for Juvenile Olive Flounder *Paralichthys olivaceus*

Youjeong Kim, Jaehyeong Shin, Hwangwon Kwon¹, Soyeon Lee¹, Joo-Min Kim², Min-Gi Kim, Jeong-Dae Kim² and Kyeong-Jun Lee*

Department of Marine Life Sciences, Jeju National University, Jeju 63243, Korea

¹Bestron Life Science. Co. Ltd. KRIBB BVC 117, Daejeon 28148, Korea

²College of Animal Life Science, Kangwon National University, Chuncheon 24341, Korea

This study was conducted to evaluate dietary hydrolyzed pig bristle meal (PBM) for juvenile olive flounder *Paralichthys olivaceus*. In Experiment 1 (EXP-1), six experimental diets were prepared to contain 0, 3, 6, 9, 12 and 15% PBM (designated Con, PBM3, PBM6, PBM9, PBM12 and PBM15, respectively). Triplicate groups of olive flounder (initial body weight, 8.69 g) were fed the diets to apparent satiation for 8 weeks during the optimal water temperature season (20.5±2.12 °C). All PBM supplemented groups except for PBM3 showed significantly lower growth performance and feed utilization compared to the control group. The protein digestibility of PBM3, PBM6, and PBM9 diets did not significantly differ from that of the control diet. In Experiment 2, 1% mono-calcium phosphate was added into the experimental diets used in Exp-1. Triplicate groups of olive flounder (10.6 g) were fed the diets to apparent satiation for 8 weeks during the low water temperature season (12.5±1.12 °C). The growth performances and feed utilization of fish fed all diets except for PBM15 diet did not significantly differ from those of the control diet. This study indicates that hydrolyzed PBM can replace fish meal by up to 12% with limiting amino acids and mono-calcium phosphate in diets for juvenile olive flounder.

Key words: Pig bristle meal, Fish meal, Olive flounder, Digestibility

서 론

세계 어류양식 생산량은 급속하게 증가하는 추세를 보이고 있다(FAO, 2016). 어분(fish meal)은 조단백질의 함량이 높고 우수한 아미노산 조성으로 양어사료에 있어 주 단백질원료로 사용되고 있다(Gatlin et al., 2007; Tacon et al., 2011). 일반적으로 어분은 양어사료 내 40-60%의 높은 비율로 사용된다(Karapanagiotidis, 2014). 하지만 어분의 가격은 공급 불안정으로 인해 계속해서 증가하고 있는 추세이다. 오랜 기간 연구자들은 어분을 대체할 수 있는 사료원료를 찾는데 주력해 왔다(Martínez-Llorens et al., 2012; Moutinho et al., 2017a; 2017b). 그 중 동

물성 단백질원료인 도축부산물은 어분에 비해 가격이 현저히 낮아 양어사료 내 이용가능성에 관한 다양한 연구가 진행되었다(Kikuchi et al., 1994; Hartviksen et al., 2014; Moutinho et al., 2017a; 2017b). 도축부산물은 소, 돼지, 가금류 등과 같은 가축을 도축하는 과정에서 발생하는 각종 부산물을 말하며, 이를 분말화 시켜 단백질원료로 사용한다. 도축부산물은 대상이 되는 종과 사용되는 부위에 따라 가금부산물, 우모분, 육골분, 육분, 혈분 등으로 분류된다.

돈모분(Pig Bristle Meal; PBM)은 돼지의 털을 가수분해하여 제조된 원료이다. 돈모의 가수분해 과정은 우모분의 제조과정과 유사하다. 돈모는 고압증기 멸균기를 이용하여 130 °C의 저

<https://doi.org/10.5657/KFAS.2018.0148>



This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

Korean J Fish Aquat Sci 51(2) 148-156, April 2018

Received 5 March 2018; Revised 26 March 2018; Accepted 4 April 2018

*Corresponding author: Tel: +82. 64. 754. 3423 Fax: +82. 64. 756. 3493

E-mail address: kjlee@jejunu.ac.kr

기압(<207 kPa)에서 150분, 혹은 145℃의 고기압(>207 kPa)에서 30분간 고압증기로 처리한 후, 60℃에서 건조를 통해 제조된다. 원료의 조단백질 함량은 80-90%로 높고, 아미노산 조성은 제한아미노산(limiting amino acid)인 methionine, lysine, histidine을 제외하면 어분과 유사하다. 돈모는 돼지 생체중량의 3-8% (2-6 kg/마리)를 차지한다. 국내에서 연간 도축되는 돼지는 14,040천두이며, 도축과정에서 발생하는 부산물(내장, 혈액, 털 등)은 36,480톤에 이른다(NIAS, 2012). 도축폐기물은 소각되거나 매립을 통해 폐기되는데 이를 처리하기 위해 매년 막대한 비용이 소요된다. 대량으로 발생하는 돈모를 넙치 사료 내 어분대체원료로 이용할 수 있다면 폐기처리 비용을 절감할 수 있을 뿐만 아니라 소각과 매립과정에서 발생하는 환경오염 문제도 줄일 수 있을 것으로 기대된다.

넙치는 우리나라의 대표적인 해산 양식어종으로 2016년 국내 양식생산량은 41,636톤으로 전체 양식어류 생산량의 약 52%를 차지한다(KOSIS, 2016). 넙치를 대상으로 사료 내 도축부산물인 어분대체 가능성을 조사한 결과, 가끔부산물이 25% (Turker et al., 2005; Yigit et al., 2006), 우모분이 26% (Kikuchi et al., 1994), 육골분이 10-20% (Kikuchi et al., 1997; Lee et al., 2012), 육분이 60% (Sato and Kikuchi, 1997) 가량 어분단백질을 대체할 수 있다고 보고되었다. 하지만, 돈모분의 어분대체원료로서 이용가능성을 평가한 연구는 잉어를 대상으로 진행된 연구가 유일하다(Przybył et al., 1999). 따라서 본 연구는 우리나라의 주요 해산 양식어종인 넙치를 대상으로 사료 내 돈모분의 어분대체원료로서 이용가능성을 조사하기 위해 수행되었다.

재료 및 방법

실험사료

돈모분은 (주)베스트롱 생명과학에서 제공받아 실험에 사용되었다. 돈모분의 일반성분조성은 조단백질(crude protein)이 80.1%, 조지질(crude lipid)이 2.10%, 조회분(crude ash)이 14.1%로 나타났다. 돈모분 내 인의 함량은 0.16%로 분석되었다. 돈모분과 어분의 아미노산 조성은 Table 1에 나타내었다. 실험 1의 경우, 실험사료는 어분(sardine fish meal)을 기초로 한 대조사료(control)와 돈모분을 3, 6, 9, 12, 15% (PBM3, 6, 9, 12, 15) 첨가한 6개의 실험사료가 제작되었다. 실험사료의 조성 및 일반성분은 Table 2에 나타내었다. 실험사료는 사료원을 조성표에 따라 혼합한 후, 혼합물에 대구간유(cod liver oil)와 증류수(사료원료 총 중량의 15%)가 첨가되었다. 반죽물은 사료 제작기(SP-50, Gumgang ENG, Daegu, Korea)를 이용하여 알맞은 크기(2-3mm)로 성형되었다. 성형된 사료는 24시간 건조 후 사료공급 전까지 냉동보관(-20℃)되었다.

실험 2의 경우, 실험 1의 조성을 바탕으로 돈모분이 첨가된 실험구에 일인산칼슘(mono-calcium phosphate)을 1%씩 첨가하

였다(Table 3).

실험어 및 사육관리

실험 1에 사용된 넙치는 제주특별자치도 서귀포시에 위치한 연경수산에서 구입하여 제주대학교 해양과학연구소로 이송되었다. 실험어는 5일간 상업사료(수협, 해뜰자리 2S호)를 공급하여 실험환경에 적응할 수 있도록 순치되었다. 예비사육 후, 넙치(평균무게, 8.69 g)는 총 18개의 원형 polypropylene (PP) 수조(215 L)에 35마리씩 무작위로 배치되었다. 사육수는 모래여과해수를 사용하여 2-3 L/min의 유수량이 되도록 조절되었고, 모든 실험수조의 용존산소를 유지하기 위해 공기발생기(aeration)가 설치되었다. 사육수는 자연수온(20.5±2.12℃)에 의존하였으며, 광주기는 형광등을 이용하여 조절되었다. 실험사료는 1일 3회(08:00, 13:00, 18:00 hr)에 걸쳐 반복공급되었고, 사양실험은 총 8주간 진행되었다.

실험 2의 경우, 넙치(평균무게, 10.4 g)는 총 18개의 원형 PP 수조(215 L)에 35마리씩 무작위로 배치되었다. 평균사육수온은 12.5±1.12℃였으며, 그 외 조건은 실험 1과 동일하였다.

일반성분분석

일반성분분석은 AOAC (2005) 방법에 따라, 수분함량은 상압가열건조법(125℃, 3 hr), 조회분함량은 직접회화법(550℃,

Table 1. Essential and non-essential amino acid composition of PBM and fish meal which were used in experimental diets (% of protein)

AAs	Protein sources	
	PBM ³	Fish meal
EAA¹		
Lysine	3.60	4.45
Methionine	1.20	2.20
Histidine	1.20	2.82
Arginine	5.50	3.67
Isoleucine	2.00	2.59
Leucine	7.80	4.27
Phenylalanine	3.30	2.37
Threonine	5.70	2.51
Valine	3.60	3.09
NEAA²		
Alanine	7.00	3.92
Aspartic acid	7.50	6.11
Glycine	11.0	4.52
Glutamic acid	14.0	7.57
Serine	12.0	2.35
Tyrosine	3.00	1.63

¹Essential amino acid. ²Non-essential amino acid. ³Pig bristle meal.

6 hr), 조단백질함량은 자동단백질분석기(Foss, Kejltec system 2300, Sweden)로 분석되었고, 지방은 Folch et al. (1957)의 방법으로 분석되었다.

어체 무게측정 및 혈액분석

사양실험 종료 후, 실험어의 마리 수, 무게 및 사료공급량을 조사하여 증체율, 사료전환효율, 단백질이용효율이 조사되었다. 각 항목의 계산식은 다음과 같다.

$$\text{증체율(Weight Gain; WG, \%)} = 100 \times (\text{final body weight} - \text{initial body weight}) / \text{initial body weight}$$

$$\text{사료전환효율(Feed Conversion Ratio; FCR)} = \text{feed intake (dry matter)} / \text{fish weight gain}$$

$$\text{단백질이용효율(Protein Efficiency Ratio; PER)} = \text{wet weight gain} / \text{total protein given}$$

각 수조당 총 8마리의 어류를 무작위로 선별하여 2-phenoxy-ethanol 용액(90 mg/L)을 이용하여 마취시킨 후, 일회용주사기를 사용하여 미부 정맥에서 실험어의 혈액을 수집하였다. 4 마리 어류의 혈액은 헤파린 처리하여 hematocrit, hemoglobin 및 nitro-blue tetrazolium (NBT) 활성 측정에 사용되었다. 분석 후, 남은 혈액은 alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), immunoglobulin (Ig) 분석을 위해 원심분리기를 이용하여 5,000 g로 10분간 원심분리 후, 혈장(plasma)이 분리되었다. 나머지 4마리 어류의 혈액은 비특이적 면역능인 lysozyme activity, superoxide dismutase (SOD) 분석을 위해 5,000 g로 10분간 원심분리 후, 혈청(serum)이 분리되었다. Hematocrit (Ht)은 micro-hematocrit technique에 의해 측정되었으며, 전혈(whole-blood)은 플라스틱 유두관에 넣고 micro-hematocrit (vision scientific, VS-12000, South Korea)를 이용하여 10분 동안 12,000 g로 원심분리 되었다. Hemoglobin은 5 mL의 헤모글로빈측정 시약에 전혈(20 µL)을 분주

Table 2. Dietary formulation and proximate composition of the experimental diets for juvenile olive flounder *Paralichthys olivaceus* (% of dry matter) (Exp-1)

Ingredients	Experimental diets					
	Con	PBM3	PBM6	PBM9	PBM12	PBM15
Fish meal, sardine	48.0	44.4	40.8	37.2	33.6	30.0
PBM ¹	-	3.01	6.02	9.03	12.04	15.05
Soybean meal	8.00	8.00	8.00	8.00	8.00	8.00
Corn gluten meal	8.00	8.00	8.00	8.00	8.00	8.00
Wheat flour	27.5	27.5	27.5	27.5	27.5	27.5
Fish oil	4.00	4.40	4.80	5.20	5.60	6.00
Mineral premix ²	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
Vitamin premix ³	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
Starch	2.00	2.01	2.02	2.03	2.04	2.05
Choline chloride	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50
Lysine	-	0.10	0.20	0.30	0.40	0.50
Methionine	-	0.03	0.06	0.09	0.12	0.15
Histidine	-	0.05	0.10	0.15	0.20	0.25
Proximate composition						
Phosphorus ⁴	0.98	0.92	0.86	0.81	0.75	0.70
Crude protein	47.2	47.3	46.9	46.9	47.7	47.5
Crude lipid	9.56	9.57	9.41	10.1	10.5	11.1
Crude ash	11.5	11.0	11.0	10.8	10.5	10.2

¹Pig Bristle Meal, Bestron Life Science. Co. Ltd., South Korea. ²Mineral premix (g/kg⁻¹ of mixture): MgSO₄·7H₂O, 80.0; NaH₂PO₄·2H₂O, 370.0; KCl, 130.0; Ferric citrate, 40.0; ZnSO₄·7H₂O, 20.0; Ca-lactate, 356.5; CuCl₂, 0.2; AlCl₃·6H₂O, 0.15; Na₂Se₂O₃, 0.01; MnSO₄·H₂O, 2.0; CoCl₂·6H₂O, 1.0. ³Vitamin premix (g/kg⁻¹ of mixture): L-ascorbic acid, 121.2; DL-α tocopheryl acetate, 18.8; thiamin hydrochloride, 2.7; riboflavin, 9.1; pyridoxine hydrochloride, 1.8; niacin, 36.4; Ca-D-pantothenate, 12.7; myo-inositol, 181.8; D-biotin, 0.27; folic acid, 0.68; p-aminobenzoic acid, 18.2; menadione, 1.8; retinyl acetate, 0.73; cholecalciferol, 0.003; cyanocobalamin, 0.003. ⁴calculated phosphorus content. Con, control; PBM3, 3% of pig bristle meal in diet; PBM6, 6% of pig bristle meal in diet; PBM9, 9% of pig bristle meal in diet; PBM12, 12% of pig bristle meal in diet; PBM15, 15% of pig bristle meal in diet.

하여 10분 반응 시킨 후, 자동생화학분석기(SLIM, SEAC Inc, Florence, Italy)를 이용하여 측정되었다. 분리된 혈장은 동일한 자동생화학분석기를 이용하여 AST, ALT 분석에 사용되었다. 대식세포 활성(NBT)은 Anderson and Siwicki (1995)의 방법을 기초로 분석되었다. Ig은 Siwicki and Anderson (1993)의 분석방법으로, lysozyme 활성은 Hultmark et al. (1980)의 방법을 기초로 분석되었다. 혈청 내 SOD 활성은 kit (Sigma-aldrich, 19160, St. Louis, USA)를 이용하여 분석되었다.

외관상소화율 측정

소화율사료는 사양실험에 사용되었던 실험사료에 산화크롬(Cr₂O₃, Daejung)을 1% 첨가하여 제조되었다. 실험어의 분(feces)은 소화율전용수조(Guelph system)을 이용하여 수집되었다. 분수집은 1주 동안 분수집장치에 실험어를 적응시킨 이후 시작되었다. 실험 1의 넙치(초기평균무게, 120 g)는 총 6개의 소

화율전용수조(수조용량, 400 L)에 각각 50마리씩 무작위로 배치되었다. 사육수는 1차 모래여과된 해수를 카트리지필터가 장착된 여과기를 통과시켜 1 L/min의 유수량이 되도록 유지되었다. 실험기간 동안 사육수온은 22-25℃ 범위로 자연수온에 의존하였다. 분수집 종료 후, 실험사료와 분의 일반성분이 분석되었고, Divakaran et al. (2002)의 방법을 토대로 산화크롬의 함량이 분석되었다. 실험사료에 대한 실험어의 영양소소화율은 다음과 같은 식에 의해 계산되었다.

$$\text{Apparent Digestibility Coefficient (ADC) of nutrients in experimental diets (\%)} = 100 \times [100 - (\% \text{ Cr}_2\text{O}_3 \text{ in diet} / \% \text{ Cr}_2\text{O}_3 \text{ in feces}) \times (\text{nutrient in feces} / \text{nutrient in diet})]$$

장조직 분석

소화기관의 조직학적 관찰은 전장부의 점막주름에 나타나는

Table 3. Dietary formulation and proximate composition of the experimental diets for juvenile olive flounder *Paralichthys olivaceus* (% of dry matter) (Exp-2)

Ingredients	Experimental diets					
	Con	PBM3	PBM6	PBM9	PBM12	PBM15
Fish meal, sardine	48.0	44.4	40.8	37.2	33.6	30.0
PBM ¹	-	3.01	6.02	9.03	12.04	15.05
Soybean meal	8.00	8.00	8.00	8.00	8.00	8.00
Corn gluten meal	8.00	8.00	8.00	8.00	8.00	8.00
Wheat flour	26.5	26.5	26.5	26.5	26.5	26.5
Fish oil	4.00	4.40	4.80	5.20	5.60	6.00
Mineral premix ²	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
Vitamin premix ³	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
Starch	3.00	2.01	2.02	2.03	2.04	2.05
Choline chloride	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50
Lysine	-	0.10	0.20	0.30	0.40	0.50
Methionine	-	0.03	0.06	0.09	0.12	0.15
Histidine	-	0.05	0.10	0.15	0.20	0.25
MCP ⁴	-	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
Proximate composition						
Phosphorus ⁵	1.19	1.14	1.08	1.03	0.97	0.92
Crude protein	47.0	47.3	47.9	47.1	47.5	47.7
Crude lipid	9.40	9.60	9.80	9.90	10.1	10.3
Crude ash	10.7	10.5	10.7	10.4	10.4	10.5

¹Pig bristle meal, Bestron Life Science. Co. Ltd., South Korea. ²Mineral premix (g/kg⁻¹ of mixture): MgSO₄·7H₂O, 80.0; NaH₂PO₄·2H₂O, 370.0; KCl, 130.0; Ferric citrate, 40.0; ZnSO₄·7H₂O, 20.0; Ca-lactate, 356.5; CuCl₂·2H₂O, 0.2; AlCl₃·6H₂O, 0.15; Na₂Se₂O₃, 0.01; MnSO₄·H₂O, 2.0; CoCl₂·6H₂O, 1.0. ³Vitamin premix (g/kg⁻¹ of mixture): L-ascorbic acid, 121.2; DL-α tocopheryl acetate, 18.8; thiamin hydrochloride, 2.7; riboflavin, 9.1; pyridoxine hydrochloride, 1.8; niacin, 36.4; Ca-D-pantothenate, 12.7; myo-inositol, 181.8; D-biotin, 0.27; folic acid, 0.68; p-aminobenzoic acid, 18.2; menadione, 1.8; retinyl acetate, 0.73; cholecalciferol, 0.003; cyanocobalamin, 0.003 ⁴Mono-Calcium Phosphate (22% of phosphate). ⁵calculated phosphorus content. Con, control; PBM3, 3% of pig bristle meal in diet; PBM6, 6% of pig bristle meal in diet; PBM9, 9% of pig bristle meal in diet; PBM12, 12% of pig bristle meal in diet; PBM15, 15% of pig bristle meal in diet.

배상세포(goblet cell)의 수를 측정하였다. 마취가 된 어류의 장을 적출한 후 bouin's solution을 이용하여 고정하였다. 고정된 조직은 70% ethanol로 탈수시킨 후, 파라핀을 이용하여 봉입되었다. 봉입된 표본은 5 µm 크기로 절편되어 슬라이드에 부착되었다. 조직이 부착된 슬라이드는 harris hematoxylin과 0.5% eosin을 이용하여 염색되었고, 배상세포를 관찰하기 위해 alcian blue (AB)와 periodic acid-Schiff (PAS)로 염색한 후 광학현미경(Olympus CKX41, Tokyo, Japan)을 이용하여 관찰하였다

통계학적 분석

성장 및 분석결과는 SPSS (Version 11.0) 프로그램을 이용하여 One-way ANOVA-test로 통계 분석되었다. 데이터 값의 유의차는 Duncan's multiple range test ($P < 0.05$)로 비교되었다. 데이터는 평균값 ± 표준편차(mean ± SD)로 나타내었다. 백분율 데이터는 arcsine 변형값으로 계산하여 통계 분석되었다.

결과 및 고찰

실험 1의 사육실험 결과, 증체율, 사료전환효율 및 단백질이용효율에서 실험구간 유의적인 차이를 보였다(Table 4). 증체율은 대조구(Con)와 PBM3실험구가 다른 대체실험구(PBM6-15)에 비해 유의적으로 높았다. 생존율은 모든 실험구에서 약 90% 내외로 유의적인 차이는 없었다. 실험 1의 실험사료 배합비에 일인산칼슘을 1%씩 첨가하여 저수온기에 진행된 실험 2

의 경우, 증체율, 사료전환효율, 단백질이용효율에서 PBM15 실험구를 제외한 나머지 돈모분 첨가구(PBM3-12)가 대조구와 비교하여 유의적인 차이가 없었다. 생존율은 실험구간 유의적인 차이를 보이지 않았다.

돈모분의 인함량은 어분(1.67%)과 비교하여 낮기(0.16%) 때문에 돈모분의 대체 함량이 증가할수록 사료 내 인의 함량은 감소한다(Przybył et al., 1999). 인은 생물체 내 인지질, 조효소, 핵산의 구성성분일 뿐만 아니라 세포 내외의 pH를 조절하는 매우 중요한 역할을 함으로(NRC, 2011), 양어사료 내 인이 결핍되면 어류의 성장을 저하시킨다(Sugiura et al., 2004). 넙치와 무지개송어를 대상으로 진행된 어분대체 연구에서 사료 내 인의 첨가는 원료의 대체가능비율을 현저히 증가시킬 수 있다고 보고되었다(Lim and Lee, 2008; Lee et al., 2010). 돈모분을 어분 대체원으로 사용할 경우, 사료 내 인의 보충첨가는 돈모분의 이용효율을 증가시킬 수 있을 것으로 판단된다. 치어기 잉어(평균 무게, 80 g)를 대상으로 어분대체원으로 돈모분을 사료 내 각각 5, 10, 15% 첨가한 실험사료와 대조구사료(사료 내 어분 15%)를 60일간 공급한 연구에서 돈모분은 어분을 100% 대체 가능하다고 보고되었다(Przybył et al., 1999). 일반적으로, 잡식성 어류인 잉어는 사료 내 어분에 대한 의존도가 육식성 혹은 해산 어종에 비해 비교적 낮기 때문에 어분대체율이 높게 나타났던 것으로 사료된다.

Kikuchi et al. (1994)은 넙치사료 내 가수분해 우모분으로 어분을 대체했을 때, 사료 내 우모분의 대체함량이 증가할수록 증체율과 사료효율이 감소한다고 보고하였다. 도축부산물을 어

Table 4. Growth performances of olive flounder *Paralichthys olivaceus* fed the experimental diets for 8 weeks (Exp-1 and Exp-2)

	FBW ¹	WG ²	FCR ³	PER ⁴	Survival (%)
Exp-1. Olive flounder (Initial mean body weight, 8.69 g)					
Con	36.1±1.91 ^a	316±22.2 ^a	0.77±0.05 ^c	2.59±0.07 ^{ab}	92.4±4.36
PBM3	34.9±0.86 ^a	301±8.84 ^a	0.76±0.14 ^c	2.70±0.16 ^a	92.4±7.19
PBM6	30.2±1.50 ^b	248±17.3 ^b	0.93±0.03 ^{bc}	2.21±0.71 ^{abc}	89.5±15.7
PBM9	27.4±1.20 ^c	216±14.9 ^c	1.01±0.09 ^b	1.94±0.65 ^{abc}	90.5±11.9
PBM12	27.1±1.40 ^c	212±17.1 ^c	1.06±0.08 ^b	1.87±0.25 ^{bc}	95.2±1.65
PBM15	24.0±1.49 ^d	175±16.7 ^d	1.32±0.08 ^a	1.42±0.25 ^c	89.5±5.95
Exp-2. Olive flounder (Initial mean body weight, 10.4 g)					
Con	22.3±2.96 ^a	114±28.5 ^a	1.54±0.34 ^a	1.37±0.33 ^a	92.2±10.7
PBM3	22.5±1.61 ^a	117±15.4 ^a	1.53±0.29 ^a	1.36±0.23 ^a	97.8±3.85
PBM6	22.0±0.82 ^a	112±7.78 ^a	1.54±0.17 ^a	1.32±0.15 ^a	96.7±5.77
PBM9	20.2±0.16 ^a	93.8±1.50 ^a	1.80±0.04 ^a	1.11±0.02 ^{ab}	83.3±20.8
PBM12	19.6±0.12 ^{ab}	89.0±1.11 ^{ab}	1.94±0.04 ^{ab}	1.04±0.02 ^{ab}	100±0.00
PBM15	16.9±0.63 ^b	63.0±5.94 ^b	2.69±0.16 ^b	0.75±0.04 ^b	93.3±5.77

¹Final body weight (g). ²Weight gain (%). ³Feed conversion ratio. ⁴Protein efficiency ratio. Mean values of triplicate groups are presented as mean±SD. Values in the same column having different superscript letters are significantly different ($P < 0.05$). Con, control; PBM3, 3% of pig bristle meal in diet; PBM6, 6% of pig bristle meal in diet; PBM9, 9% of pig bristle meal in diet; PBM12, 12% of pig bristle meal in diet; PBM15, 15% of pig bristle meal in diet.

분대체원료로 이용한 연구에서도 사료 내 도축부산물의 함량이 증가할수록 넙치의 성장과 사료효율이 감소했다고 보고되었다(Kikuchi et al., 1997; Turker et al., 2005; Yigit et al., 2006). Hasan et al. (1997)은 사료 내 우모분의 첨가 함량이 증가할수록 잉어의 성장이 감소한다고 보고하였다. 우모분을 비롯한 사료 내 도축부산물의 첨가가 어류의 성장을 저하 시키는 원인은 사료 내 필수아미노산이 부족하거나(Tacon and Cowey, 1985; Nengas et al., 1999; Sevgili and Ertürk, 2004), 원료의 낮은 소화율이 어류의 성장을 저하시키는 것으로 보고되었다(Fowler, 1990; Hardy, 2000; Sevgili and Ertürk, 2004). 우모분의 경우, 넙치 사료 내 어분단백질의 약 40%까지 대체할 수 있다고 보고되었다(Kikuchi et al., 1994). 그러나, Kikuchi et al. (1994)의 대조구 실험사료 내 어분 함량은 80%로 본 연구에서 사용한 48%의 어분보다 훨씬 높았고, 사료 내 조단백질 함량은 55%로 본 연구의 실험사료(약 47%)보다 8% 가량 높았다. Kikuchi et al. (1994)에서 사용된 대조구사료 내 어분과 조단백질의 높은 함량은 우모분이 넙치의 성장에 미치는 부정적 영향을 상쇄시켜 어분대체 가능비율이 높게 나타난 것으로 판단된다. 무지개송어(*Oncorhynchus mykiss*)를 대상으로 어분대체원료

써 우모분의 적정사용비율을 조사한 연구에서 우모분은 어분단백질을 약 30%까지 대체 가능하다고 보고되었다(Bureau et al., 2000). 그러나, 우모분을 가금부산물, 혈분과 혼합하여 사용할 경우, 어분단백질의 약 75%까지도 대체할 수 있다고 보고되었다(Lu et al., 2015). Lee et al. (1996)은 조피볼락(*Sebastes schlegeli*)을 대상으로 한 연구에서 동·식물성 원료의 혼합비율에 따라 성장결과가 다르게 나타났다고 보고하였다. 즉, 어분대체원료인 각 단백질원을 단독으로 사용하였을 때 보다는 각 원료를 혼합하여 사용하였을 때 보다 높은 어분대체율을 보였다. 단백질원을 단독으로 사용하게 되면 원료 내 영양성분(필수아미노산, 필수지방산, 미네랄, 비타민 등)의 과다 혹은 결핍과 더불어 항영양인자(anti-nutritional factors)로 인한 소화율의 감소가 나타날 수 있다(Lee et al., 1996). 이를 극복하기 위해서는 다양한 원료가 혼합된 원료를 사용하여 각 단백질원 내 부족한 영양소를 보완하고, 항영양인자의 영향을 감소시켜야 한다. 이전의 많은 연구결과를 고려하였을 때, 돈모분 또한 식물성 혹은 동물성 단백질원료와 혼합하여 사용하면 사료 내 어분의 대체비율을 증가시킬 수 있을 것으로 사료된다.

실험 1과 2의 혈액분석 결과, Ht, HB, ALT, AST에서는 실험

Table 5. Blood parameters of olive flounder *Paralichthys olivaceus* fed the experimental diets for 8 weeks (Exp-1 and Exp-2)

	Hematocrit (%)	Hemoglobin (g/dL)	AST (U/L) ¹	ALT (U/L) ²
Exp-1. Olive flounder (Initial mean body weight, 8.69 g)				
Con	22.5±2.60	3.81±0.72	36.9±3.03	14.3±4.28
PBM3	26.2±3.79	4.81±2.03	41.3±1.06	13.9±0.85
PBM6	29.5±6.93	3.21±0.25	35.1±7.27	12.9±1.47
PBM9	23.8±4.07	3.61±0.70	33.5±1.97	11.4±1.42
PBM12	27.2±4.54	3.54±0.08	33.3±3.71	14.9±1.40
PBM15	25.2±3.82	3.07±0.60	30.8±6.27	14.2±3.62
Exp-2. Olive flounder (Initial mean body weight, 10.4 g)				
Con	25.2±1.02	2.68±1.22	-	-
PBM3	25.1±3.56	2.61±0.72	-	-
PBM6	23.2±1.17	2.20±0.58	-	-
PBM9	22.9±2.04	2.62±0.38	-	-
PBM12	22.1±1.68	2.04±0.41	-	-
PBM15	20.2±2.83	1.96±0.21	-	-

¹Aspartate aminotransferase (AST). ²Alanine aminotransferase (ALT). Mean values of triplicate groups are presented as mean±SD. Values in the same column having different superscript letters are significantly different (P<0.05). The lack of superscript letter indicates no significant differences among treatments. Con, control; PBM3, 3% of pig bristle meal in diet; PBM6, 6% of pig bristle meal in diet; PBM9, 9% of pig bristle meal in diet; PBM12, 12% of pig bristle meal in diet; PBM15, 15% of pig bristle meal in diet.

Table 6. Non-specific immune responses of juvenile olive flounder *Paralichthys olivaceus* fed the experimental diets for 8 weeks (Exp-1 and Exp-2)

	NBT ¹	Lysozyme ²	Ig ³	SOD ⁴
Exp-1. Olive flounder (Initial mean body weight, 8.69 g)				
Con	0.68±0.13	34.4±13.3 ^{ab}	19.4±3.86 ^{abc}	69.8±3.14
PBM3	0.80±0.27	31.8±14.4 ^{ab}	21.5±5.18 ^{ab}	70.1±26.0
PBM6	0.62±0.16	35.7±11.9 ^a	22.1±1.62 ^{abc}	70.9±21.8
PBM9	0.59±0.06	19.4±9.35 ^b	23.8±1.67 ^a	66.2±13.8
PBM12	0.59±0.04	18.9±1.27 ^b	16.2±7.68 ^{bc}	65.4±15.4
PBM15	0.58±0.08	12.6±8.48 ^b	13.9±4.29 ^c	58.6±18.5
Exp-2. Olive flounder (Initial mean body weight, 10.4 g)				
Con	0.46±0.15	65.1±9.21 ^{ab}	15.3±2.86	1.79±0.37
PBM3	0.40±0.10	62.2±7.70 ^{ab}	20.5±1.76	2.13±0.34
PBM6	0.49±0.12	70.7±2.03 ^a	17.9±1.31	1.30±0.41
PBM9	0.49±0.15	73.3±5.47 ^a	15.0±5.04	1.22±0.38
PBM12	0.44±0.10	71.4±5.97 ^a	15.5±2.21	1.47±0.41
PBM15	0.50±0.15	51.1±11.1 ^b	15.8±2.39	1.39±0.60

¹Nitro blue-tetrazolium activity (absorbance). ²µg/mL⁻¹. ³Immunoglobulin (mg/mL⁻¹ protein). ⁴Superoxide dismutase (% of inhibition). Mean values of triplicate groups are presented as mean±SD. Values in the same column having different superscript letters are significantly different (P<0.05). Con, control; PBM3, 3% of pig bristle meal in diet; PBM6, 6% of pig bristle meal in diet; PBM9, 9% of pig bristle meal in diet; PBM12, 12% of pig bristle meal in diet; PBM15, 15% of pig bristle meal in diet.

구간에 아무런 차이를 보이지 않았다(Table 5). 사료의 조성은 어류의 영양상태에 직접적으로 연관되어 있기 때문에 어류의 건강도와 밀접한 관계가 있다. AST와 ALT는 주로 간과 신장에 분포하며, 어체 내 아미노산의 대사에 관여하는 효소이다. 어류의 간과 신장이 물리적 혹은 생화학적인 손상을 입을 경우에 증가하는 것으로 알려져 있어 어류의 건강도를 조사하는 지표로 사용된다(Kristofferson et al., 1974). 결론적으로 사료 내 돈모분의 첨가는 넙치의 건강도에 유해한 영향을 끼치지 않을 것으로 사료된다.

실험 1과 2의 넙치 혈액 내 면역학적 분석결과는 Table 6에 나타내었다. 실험 1과 2의 경우, 모든 분석항목에서 대조구와 비교하여 유의적인 차이를 보이지 않았다. 따라서 기본적인 건강도 뿐만 아니라 넙치의 비특이적 면역력도 사료 내 돈모분의 첨가에 의해서는 영향을 받지 않을 것으로 사료된다.

외관상소화율 분석결과(Table 7), 단백질 소화율에서 PBM12, 15 실험구가 대조구와 비교하여 유의적으로 낮은 결과를 보였으며, 돈모분의 첨가 함량이 증가할수록, 단백질소화율이 감소하는 경향을 나타냈다. 넙치의 건물소화율은 실험구별로 유의적인 차이가 없었지만, 돈모분의 첨가 함량이 증가할수록 소화율이 감소하는 경향을 나타냈다. 소화율 결과를 통해 돈모분으로 어분단백질의 약 22.5% (PBM 9)까지 대체했을 경우, 넙치 치어의 소화율에는 큰 문제가 없을 것으로 보이나, 그 이상 대체시에는 단백질소화율에 부정적인 영향을 끼칠 수 있을 것으로 판단된다. 넙치를 대상으로 한 연구에서 어분 함량이 70%인 대조구와 우모분으로 어분을 100% 대체한 실험사료의 사육효능을 비교한 결과, 실험사료의 소화율과 단백질이용효율은 대조구에 비해 유의적으로 낮았다고 보고되었다(Kikuchi et al., 1994). 넙치를 대상으로 한 또 다른 연구에서도 우모분의 첨가

량이 증가할수록 증체율이 감소하는 경향을 보였으며, 그 이유를 우모분의 낮은 소화율 때문인 것으로 보고하였다(Kikuchi et al., 1994). Indian carp를 대상으로 어분을 우모분으로 25, 50, 75, 100% 대체한 연구에서, 25% 대체까지는 단백질소화율에서 대조구와 유의적인 차이가 없었지만 50% 이상 대체했을 때는 소화율이 유의적으로 감소한다고 보고되었다(Robinson, 2001). 가축부산물은 지질, 회분, 난소화성 섬유질의 함량이 높은 피혁과 깃털이 주 원료로 사용되기 때문에 양어사료에 사용할 경우, 낮은 소화율을 보이는 것으로 알려져 있다. 하지만, 본 연구에 사용된 돈모분은 1차 가수분해된 원료이기 때문에 넙치에서는 약 23% (PBM9)까지 어분을 대체하더라도 사료의 건물과 단백질소화율에는 영향이 없었던 것으로 사료된다.

실험2의 비만도, 내장중량지수, 간중량지수, 장 배상세포(goblet cell)의 수는 Table 8에 나타내었다. 내장중량지수는 PBM9, 15 실험구가 대조구와 비교하여 유의적으로 낮았다. 배상세포의 수는 PBM9, 12, 15 실험구가 대조구, PBM6 실험구와 비교하여 유의적으로 낮았다. 배상세포는 주로 장에 분포하며, 소화호르몬을 분비하는데 관여함으로써 어류의 소화를 증진시키고 소화기관을 보호하는 역할을 한다고 알려져 있다(Marchetti et al., 2006; Cerezuola et al., 2013). Gilthead seabream (*Sparus aurata*)을 대상으로 진행된 어분대체 연구에서 사료 내 식물성단백질원의 함량이 증가할수록 배상세포의 수는 감소하였다고 보고되었다(Martínez-Llorens et al., 2012).

결론적으로 넙치 사료 내 돈모분의 적정첨가함량은 제한아미노산을 첨가할 경우, 적수온기에서 3% (어분함량의 7.5%), 저수온기(제한아미노산과 일인산칼슘 첨가시)에서 12% (어분함량의 30%)로 사료된다. 하지만, 실험 2의 사양실험도 보다 장기

Table 7. Apparent digestibility coefficients (% of ADC) of dry matter and protein of the experimental diets for juvenile olive flounder *Paralichthys olivaceus* (Exp-1)

	ADCd ¹	ADCp ²
Con	78.4±3.53	93.1±1.13 ^a
PBM3	77.0±5.28	92.4±1.74 ^{ab}
PBM6	76.3±1.63	91.5±0.58 ^{abc}
PBM9	75.5±1.10	91.3±0.39 ^{abc}
PBM12	72.5±4.43	90.6±1.52 ^{bc}
PBM15	73.4±2.62	89.7±1.02 ^c

¹Apparent digestibility coefficient of dry matter. ²Apparent digestibility coefficient of protein. Con, control; PBM3, 3% of pig bristle meal in diet; PBM6, 6% of pig bristle meal in diet; PBM9, 9% of pig bristle meal in diet; PBM12, 12% of pig bristle meal in diet; PBM15, 15% of pig bristle meal in diet. Mean values of triplicate groups are presented as mean±SD. Values in the same column having different superscript letters are significantly different (P<0.05).

Table 8. Visceral parameters and goblet cell of juvenile olive flounder *Paralichthys olivaceus* fed the six experimental diets for 8 weeks (Exp-2)

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

¹Conditional factor=(fish weight/fish length³)×100 (g/cm³). ²Viscera index=(viscera weight/fish weight)×100. ³Hepatosomatic index=(liver weight/ fish weight)×100. ⁴Goblet cell. Con, control; PBM3, 3% of pig bristle meal in diet; PBM6, 6% of pig bristle meal in diet; PBM9, 9% of pig bristle meal in diet; PBM12, 12% of pig bristle meal in diet; PBM15, 15% of pig bristle meal in diet. Mean values of triplicate groups are presented as mean±SD. Values in the same column having different superscript letters are significantly different (P<0.05).

간 진행되었다면, 돈모분의 어분대체율이 본 연구결과인 12%보다 조금 낮아질 수도 있을 것으로 사료된다. 향후 넙치사료 내 어분의 부분 대체원으로 돈모분을 안정적으로 사용하기 위해서는 장기간의 사양실험을 포함하는 보충연구가 있어야 된다고 판단된다. 이와 더불어 돈모분의 이용효율은 원료의 제조과정에 따라 다양하므로(Przybyl et al., 1999), 넙치 사료 내 돈모분의 이용효율을 향상시키기 위해서는 제조공정에 따른 성장효과에 대한 추가연구가 요구된다.

사 사

이 논문은 (주)베스트롱 생명과학의 지원에 의해 수행되었습니다.

References

- Anderson DP and Siwicki AK. 1995. Basic hematology and serology for fish health programs, In: Diseases in Asian Aquaculture II. Shariff M, Arthur JR and Subasinghe RP Eds. Fish Health Section, Asian Fisheries Society, Manila, Philippines, 185-202.
- AOAC (Association of Official Analytical Chemists). 2005. Official Methods of Analysis. 16thed. Association of Official Analytical Chemists, Arlington, Virginia, U.S.A.
- Bureau DP, Harris AM, Bevan DJ, Simmons LA, Azevedo PA and Cho CY. 2000. Feather meals and meat and bone meals from different origins as protein sources in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) diets. Aquaculture 181, 281-291. [http://dx.doi.org/10.1016/S0044-8486\(99\)00232-X](http://dx.doi.org/10.1016/S0044-8486(99)00232-X).
- Cerezuela R, Fumanal M, Tapia-Paniagua ST, Meseguer J, Moriniño MÁ and Esteban MÁ. 2013. Changes in intestinal morphology and microbiota caused by dietary administration of inulin and *Bacillus subtilis* in gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.) specimens. Fish shellfish Immunol 1063-1070. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2013.01.015>.
- Divakaran S, Obaldo LG and Forster IP. 2002. Note on the methods for determination of chromic oxide in shrimp feeds. J Agric Food Chem 50, 464-467. <https://dx.doi.org/10.1021/jf011112s>.
- FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations). 2016. Fisheries and Aquaculture Software. FAO Fisheries Report, Retrieved from <http://www.fao.org/fishery/statistics/software/fish-statj/en> on 24 Mar, 2016.
- Folch J, Lee M and Sloane-Stanley GH. 1957. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. J Biol Chem 226, 497-509. [http://dx.doi.org/10.1016/0079-6786\(71\)90021-5](http://dx.doi.org/10.1016/0079-6786(71)90021-5).
- Fowler LG. 1990. Feather meal as a dietary protein source during parr-smolt transformation in fall chinook salmon. Aquaculture 89, 301-314. [https://doi.org/10.1016/0044-8486\(90\)90134-9](https://doi.org/10.1016/0044-8486(90)90134-9).
- Gatlin DM, Barrows FT, Brown P, Dabrowski K, Gaylord TG, Hardy RW, Herman E, Hu G, Krogdahl A, Nelson R, Overturn K, Rust M, Sealey W, Skonberg D, Souza EJ, Stone D, Wilson R, and Wurtele E. 2007. Expanding the utilization of sustainable plant products in aquafeeds: a review. Aquac Res 38, 551-579. <https://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2109.2007.01704.x>.
- Hardy RW. 2000. New developments in aquatic feed ingredients, and potential of enzyme supplements. Avances en Nutrición Acuicola V. Memorias del V Simposium Internacional de Nutrición Acuicola, 19-22.
- Hartviksen M, Bakke AM, Vecino JG, Ringø E and Krogdahl Å. 2014. Evaluation of the effect of commercially available plant and animal protein sources in diets for Atlantic salmon (*Salmo salar* L.): digestive and metabolic investigations. Fish Physiol Biochem 40, 1621-1637. <https://doi.org/10.1007/s10695-014-9953-4>.
- Hasan MR, Haq MS, Das PM and Mowlah G. 1997. Evaluation of poultry-feather meal as a dietary protein source for Indian major carp, *Labeo rohita* fry. Aquaculture 151, 47-54. [https://dx.doi.org/10.1016/s0044-8486\(96\)01498-6](https://dx.doi.org/10.1016/s0044-8486(96)01498-6).
- Hultmark D, Steiner H, Rasmuson T and Boman HG. 1980. Insect immunity: purification and properties of three inducible bactericidal proteins from hemolymph of immunized pupae of *Hyalophora cecropia*. Eur J Biochem 106, 7-16. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1432-1033.1980.tb05991.x>.
- Karapanagiotidis IT. 2014. The re-authorization of non-ruminant processed animal proteins in European aqua feeds. Fish Aquac J 5, e111. <http://dx.doi.org/10.4172/2150-3508.1000e111>.
- Kikuchi K, Furuta T and Honda H. 1994. Utilization of Feather Meal as a Protein Source in the Diet of Juvenile Japanese Flounder. Fish Sci 60, 203-206. <https://doi.org/10.2331/fishsci.60.203>.
- Kikuchi K, Sato T, Furuta T, Sakaguchi I. and Deguchi Y. 1997. Use of meat and bone meal as a protein source in the diet of juvenile Japanese flounder. Fish Sci 63, 29-32. <https://doi.org/10.2331/fishsci.63.29>.
- KOSIS (Korean Statistical Information Service). 2016. Investigation of fisheries aquaculture production 2016. Retrieved from <http://kosis.kr/> on 12 Mar, 2018.
- Kristoffersson R, Broberg S, Oikari A and Pekkarinen M. 1974. Effect of a sublethal concentration of phenol on some blood plasma enzyme activities in the pike (*Esox lucius* L.) in brackish water. Ann Zool Fennici 11, 220-223.
- Lee J, Choi IC, Kim KT, Cho SH and Yoo JY. 2012. Response of dietary substitution of fishmeal with various protein sources on growth, body composition and blood chemistry of olive flounder (*Paralichthys olivaceus*, Temminck and Schlegel, 1846). Fish Physiol Biochem 38, 735-744. <https://doi.org/10.1007/s10695-011-9555-3>.
- Lee KJ, Powell MS, Barrows FT, Smiley S, Bechtel P and Hardy

- RW. 2010. Evaluation of supplemental fish bone meal made from Alaska seafood processing byproducts and dicalcium phosphate in plant protein based diets for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture* 302, 248-255. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2010.02.034>.
- Lee SM, Jeon IG, Lee JY, Park SR, Kang YJ and Jeong KS. 1996. Substitution of plant and animal proteins for fish meal in the growing Korean rockfish (*Sebastes schlegeli*) feeds. *Korean J Fish Aquat Sci* 29, 651-662.
- Lim SJ and Lee KJ. 2008. Supplemental iron and phosphorus increase dietary inclusion of cottonseed and soybean meal in olive flounder (*Paralichthys olivaceus*). *Aquac Nutri* 14, 423-430. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2095.2007.00546.x>.
- Lu F, Haga Y and Satoh S. 2015. Effects of replacing fish meal with rendered animal protein and plant protein sources on growth response, biological indices, and amino acid availability for rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. *Fish Sci* 81, 95-105. <http://dx.doi.org/10.1007/s12562-014-0818-7>.
- Marchetti L, Capacchietti M, Sabbieti MG, Accili D, Materazzi G and Menghi G. 2006. Histology and carbohydrate histochemistry of the alimentary canal in the rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. *J Fish Biol* 68, 1808-1821. <https://doi.org/10.1111/j.0022-1112.2006.01063.x>.
- Martínez-Llorens S, Baeza-Ariño R, Nogales-Mérida S, Jover-Cerdá M and Tomás-Vidal A. 2012. Carob seed germ meal as a partial substitute in gilthead sea bream (*Sparus aurata*) diets: amino acid retention, digestibility, gut and liver histology. *Aquaculture* 338, 124-133. <https://dx.doi.org/10.1016/j.aquaculture.2012.01.029>.
- Moutinho S, Martínez-Llorens S, Tomás-Vidal A, Jover-Cerdá M, Oliva-Teles A and Peres H. 2017a. Meat and bone meal as partial replacement for fish meal in diets for gilthead seabream (*Sparus aurata*) juveniles: Growth, feed efficiency, amino acid utilization, and economic efficiency. *Aquaculture* 468, 271-277. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2016.10.024>.
- Moutinho S, Peres H, Serra C, Martínez-Llorens S, Tomás-Vidal A, Jover-Cerdá M and Oliva-Teles A. 2017b. Meat and bone meal as partial replacement of fishmeal in diets for gilthead sea bream (*Sparus aurata*) juveniles: Diets digestibility, digestive function, and microbiota modulation. *Aquaculture* 479, 721-731. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2017.07.021>.
- Nengas I, Alexis MN and Davies SJ. 1999. High inclusion levels of poultry meals and related byproducts in diets for gilthead seabream *Sparus aurata* L. *Aquaculture* 179, 13-23. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(99\)00148-9](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(99)00148-9).
- NIAS (National Institute of Animal Science). 2012. Report of current state of pig industry. Retrieved from <http://www.nias.go.kr/front/search.do> on 12 Mar, 2018.
- NRC (National Research Council). 2011. Minerals. In: Nutrient Requirements of Fish and Shrimp. National Academies Press, Washington D.C., U.S.A., 14-26.
- Przybył A, Madziar M and Koligot A. 1999. Suitability of modified pig bristles for extruded feed mixtures for carp fry. *Arch Pol Fish* 7, 113-122.
- Robinson EH, Li MH and Manning BE. 2001. A practical guide to nutrition, feeds, and feeding of catfish (Vol. 1113). Mississippi Agricultural and Forestry Experiment Station, Mississippi State, Mississippi, U.S.A.
- Sato T, and Kikuchi K. 1997. Meat Meal as a Protein Source in the Diet of Juvenile Japanese Flounder. *Fisheries science*, 63, 877-880. <https://doi.org/10.2331/fishsci.63.877>.
- Sevgili H and Ertürk MM. 2004. Effects of Replacement of Fish Meal with Poultry by-Product Meal on Growth Performance in Practical Diets for Rainbow Trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Mediterranean Agricultural Sci* 17, 161-167.
- Siwicki AK and Anderson DP. 1993. Nonspecific defence mechanism assay in fish II; Potential killing activity of neutrophils and monocytes, lysozyme activity in serum and organs and total immunoglobulin (Ig) level in serum. In: Fish Disease Diagnosis and Prevention Methods. Siwicki AK, Anderson DP and Waluga J, eds. Wydawnictwo Instytutu Rybactwa Strodładowego, Olsztyn, Poland, 105-112.
- Sugiura, SH, Hardy RW and Roberts RJ. 2004. The pathology of phosphorus deficiency in fish-a review. *J Fish Dis* 27, 255-265. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2761.2004.00527.x>.
- Tacon AGJ and Cowey CB. 1985. Protein and amino acid requirements. In *Fish energetics*, Croom-Helm, London, U.K., 155-183.
- Tacon AGJ, Hasan MR and Metian M. 2011. Demand and supply of feed ingredients for farmed fish and crustaceans. Trends and prospects. FAO fisheries technical paper 564, FAO, Rome, Italy.
- Turker A, Yigit M, Ergun S, Karaali B and Erteken A. 2005. Potential of poultry by-product meal as a substitute for fishmeal in diets for Black Sea turbot *Scophthalmus maeoticus*: Growth and nutrient utilization in winter. *Israeli J Aquac Bamidgeh* 57, 49-61.
- Yigit M, Erdem M, Koshio S, Ergun S, Türker A and Karaali B. 2006. Substituting fish meal with poultry by product meal in diets for black Sea turbot *Psetta maeotica*. *Aquac Nutr* 12, 340-347. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2095.2006.00409.x>.