

식물성 단백질 혼합물을 이용한 넙치(*Paralichthys olivaceus*) 사료 내 어분대체 가능성 평가

김민기 · 신재형 · 이초롱 · 이봉주¹ · 허상우¹ · 임상구¹ · 이경준*

제주대학교 해양생명과학과, ¹국립수산물과학원 사료연구센터

Evaluation of a Mixture of Plant Protein Source as a Partial Fish Meal Replacement in Diets for Juvenile Olive Flounder *Paralichthys olivaceus*

Min-Gi Kim, Jaehyeong Shin, Chorong Lee, Bong-Joo Lee¹, Sang-Woo Hur¹, Sang Gu Lim¹ and Kyeong-Jun Lee*

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

¹Aquafeed Research Center, National Institute of Fisheries Science, Pohang 37517, Korea

This study was conducted to examine a mixture of plant protein sources as a fish meal (FM) substitute. Two feeding trials were carried out using similar dietary formulations but different FM levels. In Experiments 1 and 2, the basal diets were formulated to contain 65% and 60% of FM, respectively. The other five diets were formulated replacing FM by 10, 15, 20, 25 and 30% with a mixture of soybean meal, wheat gluten and soy protein concentrate. Three synthetic amino acids (lysine, threonine and methionine) were added to the test diet. Groups of fish in experiment 1 (6.76 ± 0.03 g) and experiment 2 (32.5 ± 0.1 g) were fed one of the experimental diets for 7 and 9 weeks, respectively. Each experiment was carried out in triplicate. There were no significant differences among groups in terms of growth performance, feed utilization, survival or hematological parameters in either experiment. The results indicated that a mixture of soybean meal, wheat gluten and soy protein concentrate, supplemented with three synthetic amino acid, can replace fish meal by up to 30% in diets for juvenile olive flounder.

Key words: Olive flounder, Fish meal, Plant protein source, Low-fish meal diet

서론

양식은 인류의 식량생산을 위한 중요한 산업이다. 국내 넙치 양식산업은 1984년 인공종묘 생산기술 개발 이후 지속적으로 발전하고 있다(Son et al., 2006). 국내 넙치 양식생산량은 1990년 1,037톤에서 2018년 37,238톤으로 30여년간 35배 이상 증가되었다(Pham et al., 2005; KOSIS, 2019). 하지만 양식산업이 발전함에도 몇몇 문제점은 남아있는 실정이다. 일반적으로 양식어류 1 kg 생산 시 1.9 kg의 자연산 어류가 필요하며, 육식성어류의 경우 1 kg 생산 시 5 kg의 자연산 어류가 사용된다(Naylor et al., 2000). Hardy (2010)는 양식 생산과정에 투입된 어족자원이 양식 생산량보다 더 많이 소모되고 있는 현상을 두고 “지속 가능한 양식의 모순”이라 말하였다.

어분은 우수한 영양소 조성을 갖추고 있으며, 어류의 성장을 촉진시키는 미지성장인자를 지니고 있어 양어사료 내 주요 단백질원료로 사용되고 있다(Lim and Lee, 2009). 하지만 어분은 제한적인 자원이며, 지속가능한 양식을 위해서는 사료 내 어분의 사용량을 감소시켜야 한다(Gómez-Requeni et al., 2004). 사료 내 어분을 줄이기 위한 여러 연구가 이루어지고 있으며, 대체원료로써 식물성 단백질원료가 자주 사용되고 있다. 식물성 단백질원료의 사용은 경제적이며, 지속가능한 양식을 위한 요소 중 하나이다(Gisbert et al., 2016). 대두박(soybean meal)은 대표적인 식물성 단백질원료로써 저렴한 가격, 안정적인 공급, 높은 단백질 함량을 지니 어분대체 원료로 각광받고 있다(Kim et al., 2000). 밀, 콩 등에서 생산되는 밀글루텐(wheat gluten), 대두농축단백(soy protein concentrate)과 같은 고단백

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

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



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.

<https://doi.org/10.5657/KFAS.2019.0374>

Korean J Fish Aquat Sci 52(4), 374-381, August 2019

Received 1 July 2019; Revised 18 July 2019; Accepted 2 August 2019

저자 직위: 김민기(대학원생), 신재형(대학원생), 이초롱(대학원생), 이봉주(박사), 허상우(박사), 임상구(박사), 이경준(교수)

농축물 또한 많이 사용되고 있다(Hardy, 2010; Draganovic et al., 2011). 밀글루텐은 조단백질 함량이 높으며(80%), 일반적인 식물성 단백질 원료와는 다르게 항영양인자가 적고, 소화율이 높다(Apper-Bossard et al., 2013). 대두농축단백은 60-65%의 조단백질을 함유하고 있으며, rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*, halibut *Hippoglossus hippoglossus*, Atlantic salmon *Salmo salar*, starry flounder *Platichthys sellatus* 사료에서 어분대체 가능성을 보여주었다(Kaushik et al., 1995; Berge et al., 1999; Storebakken et al., 2000; Li et al., 2015). 하지만 넙치 사료 내 25% 이상 대두농축단백을 사용하면 성장률, 사료효율, 사료섭취량이 감소되었다(Deng et al., 2006).

일부 연구에서는 단백질원료의 혼합을 통해 어류의 성장, 사료효율, 사료섭취량을 개선시킬 수 있다고 보고하였다(Lee et al., 1996). Valente et al. (2016)는 완두콩박, 대두농축단백, 감자농축단백, 밀글루텐, 콘글루텐을 혼합하여 사용 시 senegalese sole *Solea senegalensis* 사료 내 어분을 최대 75%까지 대체 할 수 있다고 보고하였다. Gisbert et al. (2016)는 flathead grey mullet *Mugil cephalus* 사료 내 어분을 대두농축단백, 밀글루텐, 대두박을 혼합하여 최대 75%까지 대체 할 수 있다고 보고하였다.

육식성 어종인 넙치는 단백질 이용성이 높은 반면 탄수화물과 지방에 대한 이용성이 낮기 때문에 사료 내 단백질 공급은 아미노산 요구량과 에너지 요구량 충족을 위해 매우 중요하다(Moon and Gatlin, 1991; Kim et al., 2000; Kikuchi and Takeuchi, 2002; NRC, 2011). 넙치 사료 내 적정 단백질 요구량은 46.4-51.2%이며, 57.7%에서 최대 성장이 나타난다(Kim et al., 2002). 이는 Korean rockfish *Sebastes schlegelii*와 같은 타 어종과 비교하여 높은 편이다(Lee et al., 1993a). 높은 단백질 요구량 충족을 위해 넙치 사료 내 많은 양의 어분이 사용되고 있다. Kim et al. (2011)은 넙치 사료 내 어분 사용량이 40-60%라고 보고하였으며, 배합사료 회사에서는 사료 내 어분을 65% 이상 사용하기도 한다. 본 연구에서는 넙치를 대상으로 어분함량이 다른 두 사료 내 어분을 식물성 단백질원료 혼합물을 이용하여 대체하는 연구를 실시하였다.

재료 및 방법

실험사료

실험 1에 사용된 실험사료 배합비는 Table 1에 나타내었다. 실험사료에 사용된 어분은 일반적으로 사용되는 갈색어분(brown fish meal)이 사용되었다. 실험 1은 대조사료(Control) 내 어분의 함량이 65%로 설정되었다. 5종의 실험사료는 대조사료 내 어분이 대두박, 밀글루텐, 대두농축단백 혼합물로 대체되었다. 실험 사료 내 어분대체율은 각각 10%, 15%, 20%, 25%, 30% (FM10, FM15, FM20, FM25, FM30)로 설정되었다. 대체실험사료 간의 동일한 조단백(52%), 조지질(10.0%), 인(1.5%) 조성

을 위해 밀가루, 어유, mono calcium phosphate가 사용되었다. 동일한 필수 아미노산 조성을 위해 합성 아미노산 3종(lysine, threonine, methionine)을 첨가하였다.

실험 2에 사용된 실험사료 배합비는 Table 2에 나타내었다. 실

Table 1. Composition of the experimental diets in experiment 1 (% of dry matter basis)

Experiment 1	Diets					
	Control	FM10	FM15	FM20	FM25	FM30
Brown fish meal ¹	65.00	58.50	55.25	52.00	48.75	45.50
Soybean meal ¹	5.00	7.60	8.90	10.20	11.50	12.80
Wheat gluten ¹	0.00	1.95	2.925	3.90	4.875	5.85
Soy protein concentrate ¹	0.00	1.95	2.925	3.90	4.875	5.85
Corn gluten meal ¹	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00
Wheat flour	19.00	17.50	16.70	16.10	15.40	14.80
Fish oil ²	3.00	3.60	3.90	4.10	4.40	4.70
Lysine ³	0.00	0.20	0.30	0.40	0.50	0.50
Threonine ³	0.00	0.10	0.20	0.20	0.30	0.30
Methionine ³	0.00	0.10	0.20	0.20	0.20	0.30
Lecithin ¹	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50
Mono calcium phosphate ¹	0.00	0.50	0.70	1.00	1.20	1.40
Mineral Mix ⁴	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
Vitamin Mix ⁴	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
Choline	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50
Proximate analysis (% of dry matter)						
Moisture	6.76	8.06	7.94	7.85	8.60	7.69
Crude protein	52.4	52.2	52.0	51.8	51.9	51.7
Crude lipid	10.8	10.9	10.7	11.0	10.5	10.8
Crude ash	119	11.4	11.0	10.7	10.7	10.5

¹Brown fish meal (crude protein 68.0%, crude lipid 8.6%, ash 17.1%), Soybean meal (crude protein 52.7%, crude lipid 1.8%, ash 6.8%), wheat gluten (crude protein 83.2%, crude lipid 15.2%, ash 1.3%), soy protein concentrate (crude protein 68.9%, crude lipid 0.5%, ash 7.1%), corn gluten meal (crude protein 64.1%, crude lipid 3.5%, ash 0.6%), lecithin and mono calcium phosphate were by The Feed Co., Ltd., Seoul, Korea. ²Fish oil was by E-wha oil Co., Ltd., Busan, Korea. ³Lysine, threonine and methionine were by Vixxol Co., Ltd., Gyeonggi, Korea. ⁴Vitamin C and vitamin E were by AlphaAqua Co., Busan, Korea. FM10, 10% fish meal was replaced with mixture of plant protein sources in diet. FM15, 15% fish meal was replaced with mixture of plant protein sources in diet. FM20, 20% fish meal was replaced with mixture of plant protein sources in diet. FM25, 25% fish meal was replaced with mixture of plant protein sources in diet. FM30, 30% fish meal was replaced with mixture of plant protein sources in diet.

험 2는 대조사료 내 어분의 함량이 60%로 설정되었다. 5종의 실험사료는 대조사료 내 어분이 대두박, 밀글루텐, 대두농축단백 혼합물로 대체되었다. 실험 사료 내 어분대체율은 각각 10%, 15%, 20%, 25%, 30% (FM10, FM15, FM20, FM25, FM30)

Table 2. Composition of the experimental diets in experiment 2 (% of dry matter basis)

Experiment 2	Diets					
	Control	FM10	FM15	FM20	FM25	FM30
Brown fish meal ¹	60.00	54.00	51.00	48.00	45.00	42.00
Soybean meal ¹	5.00	7.40	8.60	9.80	11.00	12.20
Wheat gluten ¹	0.00	1.80	2.70	3.60	4.50	5.40
Soy protein concentrate ¹	0.00	1.80	2.70	3.60	4.50	5.40
Corn gluten meal ¹	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00
Wheat flour	23.50	22.20	21.70	21.00	20.40	19.90
Fish oil ²	3.50	4.00	4.20	4.50	4.70	5.00
Lysine ³	0.00	0.10	0.20	0.30	0.40	0.40
Threonine ³	0.00	0.10	0.10	0.10	0.20	0.20
Methionine ³	0.00	0.10	0.10	0.20	0.20	0.20
Lecithin ¹	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50
Mono calcium phosphate ¹	0.00	0.50	0.70	0.90	1.10	1.30
Mineral Mix ⁴	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
Vitamin Mix ⁴	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
Choline	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50
Proximate analysis (% of dry matter)						
Moisture	5.97	5.67	6.26	5.39	5.33	5.18
Crude protein	49.3	49.4	49.3	49.5	49.7	49.6
Crude lipid	10.8	10.8	10.9	10.0	10.1	10.0
Crude ash	11.7	11.2	11.1	10.8	10.6	10.6

¹Brown fish meal (crude protein 68.0%, crude lipid 8.6%, ash 17.1%), Soybean meal (crude protein 52.7%, crude lipid 1.8%, ash 6.8%), wheat gluten (crude protein 83.2%, crude lipid 15.2%, ash 1.3%), soy protein concentrate (crude protein 68.9%, crude lipid 0.5%, ash 7.1%), corn gluten meal (crude protein 64.1%, crude lipid 3.5%, ash 0.6%), lecithin and mono calcium phosphate were by The Feed Co., Ltd., Seoul, Korea. ²Fish oil was by E-wha oil Co., Ltd., Busan, Korea. ³Lysine, threonine and methionine were by Vixxol Co., Ltd., Gyeonggi, Korea. ⁴Vitamin C and vitamin E were by AlphaAqua Co., Busan, Korea. FM10, 10% fish meal was replaced with mixture of plant protein sources in diet. FM15, 15% fish meal was replaced with mixture of plant protein sources in diet. FM20, 20% fish meal was replaced with mixture of plant protein sources in diet. FM25, 25% fish meal was replaced with mixture of plant protein sources in diet. FM30, 30% fish meal was replaced with mixture of plant protein sources in diet.

로 설정되었다. 대체실험사료 간의 동일한 조단백(49%), 조지질(10.5%), 인(1.4%) 조성을 위해 밀가루, 어유, mono calcium phosphate 가 사용되었다. 동일한 필수 아미노산 조성을 위해 합성 아미노산 3종(lysine, threonine, methionine)이 첨가하였다.

실험사료에 사용되는 사료원들 중 분말형태의 사료원들은 사료혼합기를 이용하여 완전히 섞은 후, 어유를 첨가하였다. 이 후 사료원 총 중량의 15%에 해당하는 증류수를 첨가하여 사료혼합기에서 혼합·반죽 하였다. 혼합반죽물은 펠렛성형기(SP-50, Geumgang ENG, Korea)를 이용하여 각각 2 mm, 3 mm 크기의 펠렛 사료 형태로 제작되었다. 제작된 실험사료는 건조기를 이용하여 25°C에서 24시간 건조시켜 사료공급 전까지 -20°C에 보관하였다.

실험어 및 사육관리

실험어는 제주도 서귀포시 성산을 신산리에 위치한 대형수산에서 구입하였다. 실험환경에 대한 적응을 위해 시판되는 넙 치용 배합사료를 공급하며 순치하였다. 실험 1은 예비사육 된 평균무게 6.76 ± 0.03 g의 넙치를 18개 150 L 원형 propylene (PP) 수조에 각 실험구당 55마리씩 3반복으로 배치하였다. 사양실험은 7주간 진행되었다. 실험 2는 예비사육 된 평균무게 32.5 ± 0.1 g의 넙치를 18개 150 L 원형 PP 수조에 각 실험구당 30마리씩 3반복으로 배치하였다. 사양실험은 9주간 진행되었다. 실험 1, 2 모두 실험사료는 1일 3회(8:00, 13:00, 18:00)만복 공급되었다. 사료 공급 30분 후 수조 용량의 80%만큼 환수를 진행하였다. 환수 시까지 수조 내 남아있는 사료는 수거하여 건조하였으며, 건중량을 측정하여 사료공급량에서 제외하였다. 사육수는 모래여과해수를 사용하여 4 L/min의 유수량이 되도록 조절하였다. 각 실험수조 내 사육수 순환과 용존산소 유지를 위하여 에어스톤을 설치하였다. 사육수온은 자연수온에 의존하였다. 실험 1의 사육수온은 $16.5\text{--}22.3^\circ\text{C}$ 였으며, 평균수온은 $19.5 \pm 1.5^\circ\text{C}$ 로 측정되었다. 실험 2의 사육수온은 $19.6\text{--}30.5^\circ\text{C}$ 였으며, 평균수온은 $23.9 \pm 2.3^\circ\text{C}$ 로 측정되었다.

성분분석

AOAC (2000) 분석법에 따라 실험사료에 대한 일반성분분석을 진행하였다. 수분은 상압가열건조법(125°C , 3시간), 조회분은 직접회화법(550°C , 4시간)으로 분석되었다. 지방은 Folch et al. (1957)의 방법에 따라 분석되었다. 단백질은 자동조단백질 분석기(Kejltac system 2300, Sweden)로 분석되었다.

어체측정

사양실험 종료 시 성장률과 사료효율 그리고 생존율의 측정을 위해 실험어류의 수와 무게를 측정하였다. 실험어는 어체측정 18시간 전부터 절식되었다. 무게 측정 후 증체율(weight gain, %), 일간성장률(specific growth rate, %), 사료섭취량(feed intake, g/fish), 사료전환효율(feed conversion ratio), 단백질이용

효율(protein efficiency ratio), 생존율(survival, %)을 조사하였다.

샘플수집 및 생화학적 분석

어체측정 후, 각각의 수조에서 8마리의 어류를 무작위로 선별하였다. 선별된 실험어는 2-phenoxyethanol 용액(100 ppm)을 이용하여 마취시켰으며, 주사기를 이용하여 미부동맥에서 채혈을 실시하였다. 채혈된 혈액은 헤파린이 20 µL씩 처리된 1.5 mL eppendorf tube에 넣어 hematocrit, hemoglobin 및 nitro-blue tetrazolium (NBT) activity측정에 사용되었다.

Hematocrit은 모세혈관 채혈튜브(micro-hematocrit capillary tubes)에 혈액을 채운 다음 고무판(wax plates)에 세운 후, 혈액 진단원심분리기(Micro Hematocrit VS-12000, Vision Scientific, Korea)에서 10분간 원심분리하여 값이 측정되었다. Hemoglobin 분석은 시판되고 있는 kit시약과 반응시킨 후 혈액 생화학분석기(Express plus system, Bayer, USA)를 이용하여 end point 방법으로 분석되었다. 혈액내의 대식세포 활성(NBT activity)은 Kumari and Sahoo (2006)의 분석방법을 바탕으로 respiratory burst동안 호중구(neutrophils)에 의한 산화 라디칼의 생성량이 측정되었다.

통계학적 분석

성장 및 분석결과는 SPSS (Version 18.0) 프로그램을 이용하

여 One-way ANOVA-test로 통계 분석되었다. 데이터 값의 유의차는 Tukey's HSD ($P < 0.05$)로 비교되었다. 데이터는 평균값 $\pm$ 표준편차(mean $\pm$ SD)로 나타내었다. 백분율 데이터는 arc-sine 변형값으로 계산하여 통계 분석되었다.

결과 및 고찰

실험 1과 2의 성장실험 결과는 Table 3에 나타내었다. 모든 실험구에서 증체율, 일간성장률, 사료공급량, 사료전환효율, 단백질이용효율, 생존율은 유의적인 차이가 없었다. 본 연구 결과와는 반대로 여러 연구결과에서는 식물성 단백질 원료를 이용하여 어분을 대체할 경우 성장률, 사료효율 등에 부작용이 발생한다고 보고되었다. 평균무게 35 g의 치어기 넙치를 대상으로 대두박을 이용하여 사료 내 어분을 대체한 연구에서는 18.4% 이상 대체한 실험구가 대조구에 비해 증체율이 유의적으로 낮았고, 사료효율(feed efficiency)과 단백질이용효율은 27.6% 대체한 실험구가 대조구에 비해 유의적으로 낮았다(Kim et al., 2000). 대두농축단백을 이용하여 넙치 사료 내 어분을 대체한 연구에서는 25% 이상 사용할 경우 성장률, 사료섭취량, 사료효율이 유의적으로 감소하였다(Deng et al., 2006). 산가수분해 농축대두박을 이용하여 넙치 치어 사료 내 어분을 40%까지 대체하여도 성장에 유의적인 차이는 없었으나 30% 이상 사용할 경우 사료효율이 감소하였다(Kim et al., 2014). Turbot

Table 3. Results of growth performance, feed utilization and survival in experiment 1 and experiment 2¹

	FBW ²	WG ³	SGR ⁴	FI ⁵	FCR ⁶	PER ⁷	Survival ⁸
Experiment 1							
Control	27.0 $\pm$ 0.5	298 $\pm$ 6	2.09 $\pm$ 0.02	24.6 $\pm$ 3.5	1.22 $\pm$ 0.16	1.59 $\pm$ 0.21	76.4 $\pm$ 4.8
FM10	29.7 $\pm$ 1.3	340 $\pm$ 20	2.24 $\pm$ 0.07	24.7 $\pm$ 3.7	1.07 $\pm$ 0.10	1.80 $\pm$ 0.17	71.5 $\pm$ 10.0
FM15	27.3 $\pm$ 4.0	303 $\pm$ 58	2.10 $\pm$ 0.22	25.8 $\pm$ 4.6	1.27 $\pm$ 0.19	1.53 $\pm$ 0.22	80.0 $\pm$ 16.7
FM20	24.8 $\pm$ 2.3	265 $\pm$ 36	1.96 $\pm$ 0.15	20.7 $\pm$ 2.2	1.17 $\pm$ 0.25	1.68 $\pm$ 0.36	81.8 $\pm$ 4.8
FM25	25.1 $\pm$ 2.2	274 $\pm$ 33	1.99 $\pm$ 0.14	20.0 $\pm$ 1.8	1.10 $\pm$ 0.17	1.77 $\pm$ 0.26	80.6 $\pm$ 6.9
FM30	25.1 $\pm$ 0.8	272 $\pm$ 12	1.99 $\pm$ 0.05	24.5 $\pm$ 0.1	1.33 $\pm$ 0.06	1.44 $\pm$ 0.07	87.8 $\pm$ 1.0
Experiment 2							
Control	155 $\pm$ 2	378 $\pm$ 8	2.48 $\pm$ 0.02	131 $\pm$ 25	1.06 $\pm$ 0.21	1.96 $\pm$ 0.34	62.2 $\pm$ 8.4
FM10	141 $\pm$ 5	332 $\pm$ 15	2.32 $\pm$ 0.06	140 $\pm$ 19	1.35 $\pm$ 0.27	1.55 $\pm$ 0.30	42.2 $\pm$ 12.6
FM15	152 $\pm$ 14	366 $\pm$ 42	2.44 $\pm$ 0.14	132 $\pm$ 20	1.12 $\pm$ 0.28	1.88 $\pm$ 0.43	66.7 $\pm$ 17.3
FM20	152 $\pm$ 5	367 $\pm$ 15	2.45 $\pm$ 0.05	126 $\pm$ 22	1.05 $\pm$ 0.20	1.99 $\pm$ 0.43	62.2 $\pm$ 5.1
FM25	146 $\pm$ 5	349 $\pm$ 17	2.38 $\pm$ 0.06	143 $\pm$ 24	1.26 $\pm$ 0.20	1.64 $\pm$ 0.25	57.8 $\pm$ 18.4
FM30	152 $\pm$ 5	367 $\pm$ 14	2.45 $\pm$ 0.05	133 $\pm$ 28	1.11 $\pm$ 0.19	1.88 $\pm$ 0.34	55.6 $\pm$ 9.6

¹The lack of superscript letter indicates no significant differences among treatments. ²FBW (final mean body weight, g/fish). ³WG (weight gain, %)=(final weight-initial weight) $\times$ 100/initial weight. ⁴SGR (specific growth rate, %/day)=(log_e final weight-log_e initial weight)/days. ⁵FI (feed intake, g/fish)=dry feed consumed (g)/fish. ⁶FCR (feed conversion ration)=dry feed intake/wet weight gain. ⁷PER (protein efficiency ratio)=wet weight gain/protein intake. ⁸Survival (%)=(Number of fish at end of experiment/number of fish stocked) $\times$ 100. FM10, 10% fish meal was replaced with mixture of plant protein sources in diet. FM15, 15% fish meal was replaced with mixture of plant protein sources in diet. FM20, 20% fish meal was replaced with mixture of plant protein sources in diet. FM25, 25% fish meal was replaced with mixture of plant protein sources in diet. FM30, 30% fish meal was replaced with mixture of plant protein sources in diet.

Scophthalmus maximus 사료 내 어분을 대두농축단백을 이용하여 대체할 경우에도 25%까지 대체 가능하다고 보고되었으며, 그 이상 대체할 경우 성장률 및 사료효율이 감소하였다(Day and Plascencia GonzÁlez, 2000). 식물성 단백질원료는 어분에 비해 아미노산 조성이 불균형적이기 때문에 어분을 식물성 단백질원료로 대체할 경우 아미노산의 첨가가 필요하다(Gatlin et al., 2007). 평균무게 5 g의 치어기 넙치를 대상으로 대두박을 이용하여 사료 내 어분을 대체한 연구에서도 20%까지 어분을 대체할 수 있었으나, 필수아미노산을 첨가할 경우 30%까지 어분 대체가 가능한 것으로 보고하였다(Choi et al., 2004). 넙치 사료 내 대두농축단백을 이용하여 어분을 대체한 연구에서도 아미노산 첨가시 어분대체에 따른 성장저하를 다소 완화시켰다(Deng et al., 2006). 본 연구에서도 필수아미노산 3종을 추가하여 필수아미노산을 충족시켰기 때문에 어분 대체시 성장률과 사료효율의 감소를 보완해 준 것으로 판단된다.

Kim et al. (2000)은 여러가지 원료의 적절한 혼합이 원료의 부족한 영양소를 보완하여 성장효과를 개선하고 나아가 높은 비율의 어분대체를 실현할 수 있을 것이라 보고하였다. 넙치를 대상으로 한 연구에서 Kikuchi (1999)는 대두박, 혈분(blood meal), 콘글루텐밀(corn gluten meal)을 혼합하여 사료 내 어분을 40% 대체할 수 있다고 보고하였으며, Kim et al. (2019)은 밀글루텐, 대두농축단백, 수지박(tankage meal), 가금부산물분(poultry by-product meal)을 혼합하여 사료 내 어분을 40-50% 대체할 수 있다고 보고하였다. 타 어종에서도 식물성 원료의 혼합을 통해 높은 비율의 어분대체가 이루어 졌다고 보고되었다. Summer flounder *Paralichthys dentatus* 사료 내 대두박, 콘글루텐밀, 유채단백농축분, taurine을 혼합하여 사용시 어분을 40% 대체할 수 있었다(Enterria et al., 2011). Turbot *Psetta maxima* 사료 내 콘글루텐밀, 밀글루텐, 루핀박(lupine)을 혼합하여 사용 시 어분을 50% 대체할 수 있었다(Fournier et al., 2004). Atlantic salmon 사료와 rainbow trout 사료 내 밀글루텐, 콘글루텐 혼합물과 스피룰리나(spirulina), 대두박 혼합물을 각각 사용시 어분을 100% 대체할 수 있었다(Espe et al., 2006; Flores et al., 2012). 본 연구에서도 어분대체를 위해 대두박, 밀글루텐, 대두농축단백 혼합을 통해 단일 원료 사용시 부족할 수 있는 영양소를 서로 보완해 주었기 때문에 어분을 30% 대체함에도 성장과 사료효율에 문제가 없었던 것으로 판단된다.

혈액학적 분석은 어류 건강을 평가하는데 있어 중요한 기준으로 간주된다(De Pedro et al., 2005). 혈장의 성분은 사료의 영양소의 차이, 사육환경 등에 따라 차이가 난다(Murai et al., 1982; Lee et al., 1993b; Park et al., 1999). 넙치 사료 내 어분을 대체할 경우에도 혈장의 성분이 변화된다고 보고되었다. 산 가수분해 농축대두박을 이용하여 어분을 대체한 연구에서 어분대체율이 증가할수록 hemoglobin과 hematocrit 수치가 감소하였으며, 50% 이상 대체시 대조구와 유의적으로 차이가 났다(Kim et al., 2014). 대두박과 면실박을 혼합하여 어분을 대체한 연구에

서도 어분대체율이 증가할수록 hemoglobin과 hematocrit 수치가 유의적으로 감소하였다. 이 외에도 타 어종을 대상으로 한 연구에서 어분대체 시 혈장 성분의 유의적인 변화가 관찰되었다(Lim et al., 2011; Shin et al., 2019). 하지만 돈모분(pig bristle meal)을 이용한 어분대체 연구에서는 hemoglobin, hematocrit, NBT의 유의적인 차이가 없었다(Kim et al., 2018). 본 연구에서도 혈액학적 분석결과 hemoglobin, hematocrit, NBT에서 모든 실험구가 control 그룹과 비교하였을 때, 유의적인 차이를 보이지 않았다(Table 4). 결론적으로 대두박, 밀글루텐, 대두농축단백 혼합물을 이용해 어분을 30% 대체하여도 넙치의 건강에 유해한 영향을 끼치지 않을 것으로 판단된다.

본 연구에서 실험 2의 생존율은 다소 낮았다. 실험 2에서의 평균 수온은 23.9°C였으나 최고 수온은 30.5°C까지 상승하였다. 넙치의 적정 수온은 21-24°C이다(Oh et al., 2014). 미성어기 넙치를 대상으로 고수온에서 4주간 실험한 결과, 생존율은 최저 68%로 보고된바 있다(Kim et al., 2015a). 수온은 어류의 섭식 욕구에 영향을 미치며, 과도한 수온상승은 먹이 섭식활동을 저하시켜 어류의 영양상태에 악영향을 끼칠 수 있다(Kim et al., 2015b). 또한 수온상승은 어류의 스트레스를 일으키는 주요 요인으로 면역력 감소와 폐사율 증가시킨다(Choi et al., 2009). 따

Table 4. Results of hematological analysis in experiment 1 and experiment 2¹

	Hb ²	Ht ³	NBT ⁴
Experiment 1			
Control	3.59±0.41	29.6±5.7	0.96±0.10
FM10	3.98±0.43	29.8±0.4	1.02±0.08
FM15	3.64±0.88	29.2±2.7	0.90±0.04
FM20	3.63±0.20	30.6±3.6	0.92±0.08
FM25	4.01±0.64	29.0±1.5	0.91±0.01
FM30	3.30±0.19	25.2±4.4	0.85±0.08
Experiment 2			
Control	4.75±0.15	31.1±2.8	0.85±0.04
FM10	3.92±0.33	29.0±1.2	0.76±0.08
FM15	5.07±1.33	30.2±2.0	0.90±0.07
FM20	4.12±0.26	29.3±1.5	0.87±0.07
FM25	4.41±0.19	29.9±2.0	0.97±0.02
FM30	3.76±0.34	25.7±2.4	0.89±0.13

¹The lack of superscript letter indicates no significant differences among treatments. ²Hemoglobin (Hb, g/dL). ³Hematocrit (Ht, %).

⁴Nitro blue tetrazolium activity (absorbance). FM10, 10% fish meal was replaced with mixture of plant protein sources in diet. FM15, 15% fish meal was replaced with mixture of plant protein sources in diet. FM20, 20% fish meal was replaced with mixture of plant protein sources in diet. FM25, 25% fish meal was replaced with mixture of plant protein sources in diet. FM30, 30% fish meal was replaced with mixture of plant protein sources in diet.

라서 실험 2에서 넙치 생존율이 낮은 이유는 과도한 수온 상승이 어류의 영양상태, 생리적 기능, 면역계에 악영향을 끼쳤기 때문으로 판단된다.

본 연구 결과, 넙치 사료 내 아미노산(lysine, threonine, methionine)을 첨가하여 식물성단백질 혼합물을 사용할 경우 사료 내 30%까지 어분대체가 가능할 것으로 보인다. 하지만 식물성 단백질 혼합물을 이용한 최대 어분대체 비율은 본 연구에서 밝힐 수 없었기 때문에 향후 추가적인 연구를 통해 밝혀나가야 할 것으로 판단된다. 또한, 식물성단백질을 사용하여 어분대체 비율이 높아질수록 어류 장 내 염증반응이 발생하는 등 어분 대체 시 발생하는 문제점들에 대한 연구가 보고되고 있다(Gu et al., 2016). 향후 조직학적 분석 및 PCR 분석과 같은 추가적인 연구를 통해 식물성단백질 혼합물의 이용성에 관하여 더욱 자세히 밝혀야 할 것으로 판단된다.

사 사

이 논문은 국립수산물과학원(R2016016) 및 해양수산부의 지원으로 수행된 연구이며 연구비 지원에 감사드립니다.

References

- AOAC (Association of Official Analytical chemists). 2000. Official methods of analysis of AOAC International (17th ed.). Gaithersburg, MD, U.S.A.
- Apper-Bossard E, Feneuil A, Wagner A and Respondek F. 2013. Use of vital wheat gluten in aquaculture feeds. *Aquatic Biosystems* 2013, 9-21. <https://doi.org/10.1186/2046-9063-9-21>.
- Berge GM, Grisdale-Helland B and Helland SJ. 1999. Soy protein concentrate in diets for Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*). *Aquaculture* 178, 139-148. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(99\)00127-1](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(99)00127-1).
- Choi HS, Myoung JI, Park MA and Cho MY. 2009. A study on the summer mortality of Korean rockfish *Sebastes schlegelii* in Korea. *J Fish Pathol* 22, 155-162.
- Choi SM, Wang X, Park GJ, Lim SR, Kim KW, Bai SC and Shin IS. 2004. Dietary dehulled soybean meal as a replacement for fish meal in fingerling and growing olive flounder *Paralichthys olivaceus* (Temminck et Schlegel). *Aquac Res* 35, 410-418. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2004.01046.x>.
- Day OJ and Plascencia González HG. 2000. Soybean protein concentrate as a protein source for tubot *Scophthalmus maximus* L. *Aquac Nutr* 6, 221-228. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2095.2000.00147.x>.
- Deng J, Mai K, Ai Q, Zhang W, Wang X, Xu W and Liufu Z. 2006. Effects of replacing fish meal with soy protein concentrate on feed intake and growth of juvenile Japanese flounder, *Paralichthys olivaceus*. *Aquaculture* 258, 503-513. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2006.04.004>.
- De Pedro N, Guijarro AI, López-Pati o MA, Martínez-Álvarez R and Delgado MJ. 2005. Daily and seasonal variations in haematological and blood biochemical parameters in the tench, *Tinca tinca* Linnaeus, 1758. *Aquac Res* 36, 1185-1196. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2005.01338.x>.
- Draganovic V, van der Goot AJ, Boom R and Jonkers J. 2011. Assessment of the effects of fish meal, wheat gluten, soy protein concentrate and feed moisture on extruder system parameters and the technical quality of fish feed. *Anim Feed Sci Technol* 165, 238-250. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2011.03.004>.
- Enterria A, Slocum M, Bengtson DA, Karayannakidis PD and Lee CM. 2011. Partial replacement of fish meal with plant protein sources singly and in combination in diets for summer flounder, *Paralichthys dentatus*. *J World Aquac Soc* 42, 753-765. <https://doi.org/10.1111/j.1749-7345.2011.00533.x>.
- Espe M, Lemme A, Petri A and El-Mowafi A. 2006. Can Atlantic salmon (*Salmo salar*) grow on diets devoid of fish meal? *Aquaculture* 255, 255-262. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2005.12.030>.
- Flores GH, Hernández LHH, Araiza MAF and López OA. 2012. Effects of Total Replacement of Fishmeal with *Spirulina* Powder and Soybean meal on Juvenile Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum). *Isr J Aquac* 64, 41-48. <http://hdl.handle.net/10524/31828>.
- Folch J, Lees 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.
- Fournier V, Huelvan C and Desbruy res E. 2004. Incorporation of a mixture of plant feedstuffs as substitute for fish meal in diets of juvenile turbot (*Psetta maxima*). *Aquaculture* 236, 451-465. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2004.01.035>.
- Gatlin III DM, Barrows FT, Brown P, Dabrowski K, Gaylord TG, Hardy RW, and Overturf K. 2007. Expanding the utilization of sustainable plant products in aquafeeds: a review. *Aquac Res* 38, 551-579. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2007.01704.x>.
- Gisbert E, Mozanzadeh MT, Kotzamanis Y and Est vez A. 2016. Weaning wild flathead grey mullet (*Mugil cephalus*) fry with diets with different levels of fish meal substitution. *Aquaculture* 462, 92-100. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2016.04.035>.
- Gómez-Requeni P, Mingarro M, Cald ch-Giner JA, M dale F, Martin SAM, Houlihan DF and Pérez-Sánchez J. 2004. Protein growth performance, amino acid utilisation and somatotrophic axis responsiveness to fish meal replacement by plant protein sources in gilthead sea bream (*Sparus aurata*). *Aquaculture* 232, 493-510. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(03\)00532-5](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(03)00532-5).
- Gu M, Bai N, Zhang Y and Krogdahl  . 2016. Soybean meal induces enteritis in turbot *Scophthalmus maximus* at high supplementation levels. *Aquaculture* 464, 286-295. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2016.04.004>.

- doi.org/10.1016/j.aquaculture.2016.06.035.
- Hardy RW. 2010. Utilization of plant proteins in fish diets: effects of global demand and supplies of fishmeal. *Aqu Res* 41, 770-776. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2109.2009.02349.x>.
- Kaushik SJ, Cravedi JP, Lalles JP, Sumpster J, Fauconneau B and Laroche M. 1995. Partial or total replacement of fish meal by soybean protein on growth, protein utilization, potential estrogenic or antigenic effects, cholesterolemia and flesh quality in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Aquaculture* 133, 257-274. [https://doi.org/10.1016/0044-8486\(94\)00403-B](https://doi.org/10.1016/0044-8486(94)00403-B).
- Kikuchi K. 1999. Use of defatted soybean meal as a substitute for fish meal in diets of Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*). *Aquaculture* 179, 3-11. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(99\)00147-7](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(99)00147-7).
- Kikuchi K and Takeuchi T. 2002. Pp. 113-120. In: Webster CD and Lim C (Eds.) Nutrient requirements and feeding of fin-fish for aquaculture. CABI Publishing, Alabama, U.S.A.
- Kim KW, Kim KD, Son MH and Ahn CM. 2011. Evaluation of Squid Liver Powder as a Dietary Protein Source Replacing Fish Meal in Juvenile flounder, *Paralichthys olivaceus*. *Jour Fish Mar Edu* 23, 461-467.
- Kim KW, Wang XJ and Bai SC. 2002. Optimum dietary protein level for maximum growth of juvenile olive flounder *Paralichthys olivaceus* (Temminck et Schlegel). *Aquac Res* 33, 673-679. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2109.2002.00704.x>.
- Kim MG, Lee CR, Kim YJ, Oh DH, Lee BJ, Kim SS and Lee KJ. 2015b. Optimum feeding rates of subadult Korean rockfish *Sebastes schlegeli* fed a commercial diet at different water temperature. *Korean J Fish Aquat Sci* 48, 322-328. <https://dx.doi.org/10.5657/KFAS/2015.0322>.
- Kim MG, Lee CR, Shin JH, Lee BJ, Kim KW and Lee KJ. 2019. Effects of fish meal replacement in extruded pellet diet on growth, feed utilization and digestibility in olive flounder *Paralichthys olivaceus*. *Korean J Fish Aquat Sci* 52, 149-158. <https://doi.org/10.5657/KFAS.2019.0149>.
- Kim SS, Kim KW, Kim KD, Lee BJ, Han HS and Lee KJ. 2015a. Optimum feeding rates for growing and sub-adult olive flounder *Paralichthys olivaceus* fed practical extruded pellets at high water temperature. *Korean J Fish Aquat Sci* 48, 681-687. <https://dx.doi.org/10.5657/KFAS.2015.0681>.
- Kim SS, Oh DH, Cho SJ, Seo SH, Han HS and Lee KJ. 2014. Evaluation of acid-concentrated soybean meal as a fishmeal replacement and its digestibility in diets for juvenile olive flounder *Paralichthys olivaceus*. *Korean J Fish Aquat Sci* 47, 824-831. <http://dx.doi.org/10.5657/KFAS.2014.0824>.
- Kim YJ, Shin JH, Kwon HW, Lee SY, Kim JM, Kim MG, Kim JD and Lee KJ. 2018. Evaluation of a hydrolyzed pig bristle meal as a partial fish meal replacer in diets for juvenile olive flounder *Paralichthys olivaceus*. *Korean J Fish Aquat Sci* 51, 148-456. <https://doi.org/10.5657/KFAS.2018.0148>.
- Kim YS, Kim BS, Moon TS and Lee SM. 2000. Utilization of defatted soybean meal as a substitute for fish meal in the diet of juvenile flounder (*Paralichthys olivaceus*). *Fish Aquatic Sci* 33, 469-474.
- KOSIS (Korean Statistical Information Service). 2019. Expenditure per aquaculture. Retrieved from http://kosis.kr/statHtml/statHtml.do?orgId=307&tblId=TX_30702_A018&conn_path=I2 on Jun 10, 2019.
- Kumari J and Sahoo PK. 2006. Dietary β -1,3 glucan potentiates innate immunity and disease resistance of Asian catfish, *Clarias batrachus* (L.). *J Fish Dis* 29, 95-101. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2761.2006.00691.x>.
- Lee JY, Kang YJ, Lee SM and Kim IB. 1993a. Protein requirements of the Korean rockfish *Sebastes schlegeli*. *J Aquaculture* 6, 13-27.
- Lee SM, Lee Jy, Kang YJ and Hur SB. 1993b. Effects of dietary n-3 highly unsaturated fatty acids on growth and biochemical changes in the Korean rockfish *Sebastes schlegeli* II. Changes of Blood Chemistry and Properties of Liver Cells. *J Aquaculture* 6, 107-123.
- 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. *Fish Aquatic Sci* 29, 651-662.
- Li PY, Wang JY, Song ZD, Zhang LM, Zhang H, Li XX and Pan Q. 2015. Evaluation of soy protein concentrate as a substitute for fishmeal in diets for juvenile starry flounder (*Platichthys stellatus*). *Aquaculture* 448, 578-585. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2015.05.049>.
- Lim SJ and Lee KJ. 2009. Partial replacement of fish meal by cottonseed meal and soybean meal with iron and phytase supplementation for parrot fish *Oplegnathus fasciatus*. *Aquaculture* 290, 283-289. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2009.02.018>.
- Lim SJ, Kim SS, Ko GY, Song JW, Oh DH, Kim JD, Kim JU and Lee KJ. 2011. Fish meal replacement by soybean meal in diets for tiger puffer, *Takifugu rubripes*. *Aquaculture* 313, 165-170. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2011.01.007>.
- Moon HY and Gatlin III DM. 1991. Total sulfur amino acid requirement of juvenile red drum, *Sciaenops ocellatus*. *Aquaculture* 95, 97-106. [https://doi.org/10.1016/0044-8486\(91\)90076-J](https://doi.org/10.1016/0044-8486(91)90076-J).
- Murai T, Ogata H and Nose T. 1982. Methionine coated with various materials supplemented to soybean meal diet for fingerling carp *Cyprinus carpio* and channel catfish *Ictalurus punctatus*. *Bull Jpn Soc Sci Fish* 48, 85-88.
- Naylor RL, Goldbug RJ, Primavera JH, Kautsky N, Beveridge MCM, Clay J, Folke C, Lubchenco J, Mooney H and Troell M. 2000. Effect of aquaculture on world fish supplies. *Nature* 405, 1017-1024. <https://doi.org/10.1038/35016500>.
- NRC (National Research Council). 2011. Nutrient requirements of fish and shrimp. The National Academy Press, Washing-

- ton DC, U.S.A.
- Oh DH, Kim SS, Kim KW, Kim KD, Lee BJ, Han HS, Kim JW, Okorie OE, Bai SC and Lee KJ. 2014. Optimum feeding rate for growing olive flounder (317 g) *Paralichthys olivaceus* fed practical extruded pellets at optimum water temperature (21-24°C). Korean J Fish Aquat Sci 47, 399-405. <https://dx.doi.org/10.5657/KFAS.2014.0399>.
- Park MR, Chang YJ and Kang DY. 1999. Physiological response of the cultured olive flounder (*Paralichthys olivaceus*) to the sharp changes of water temperature. J Aquacult 12, 221-228.
- Pham MA, Lee KJ, Lim SJ, Lee BJ, Kim SS, Park YJ and Lee SM. 2005. Fish meal replacement by cottonseed and soybean meal in diets for juvenile olive flounder, *Paralichthys olivaceus*. Kor Aquac Soc 18, 215-221. Shin SJ, Lee TK, Lee OH, Lim SR, Yang IC, Kim SS, Choi JW, Kim JS and Kim JD. 2019. Effect of dietary fish meal replacement by a blend of plant and animal ingredients on the growth and blood chemistry of starry flounder *Platichthys stellatus*. Korean J Fish Aquat Sci 52, 134-140. <https://doi.org/10.5657/KFAS.2019.0134>.
- Son MH, Park MW, Kim EO, Lim HK, Kim DJ, An CM, Eom KH, Kim SG, Cho YC, Lee CH, Hwang HK, Youn SJ, Han SJ, Choi NJ, Park YB, Eh YY. 2006. Standard manual of olive flounder culture, National Fisheries Research and Development Institute (NFRDI), Busan, Korea.
- Storebakken T, Shearer KD and Roem AJ. 2000. Growth, uptake and retention of nitrogen and phosphorus, and absorption of other minerals in Atlantic salmon *Salmo salar* fed diets with fish meal and soy-protein concentrate as the main sources of protein. Aquac Nutr 6, 103-108. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(99\)00316-6](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(99)00316-6).
- Valente LMP, Cabral EM, Sousa V, Cunha LM and Fernandes JMO. 2016. Plant protein blends in diets for senegalese sole affect skeletal muscle growth, flesh texture and the expression of related genes. Aquaculture 453, 77-85. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2015.11.034>.