

## 제1위 섬모충(rumen ciliates)을 이용한 동물성 단백질(치어용 사료) 개발

지차호 · 현공율

충북대학교 수의과대학  
(1994년 12월 28일 접수)

Development of animal protein(feed for fry) utilizing the rumen ciliates

Cha-ho Jee, Gong-yool Hyun

College of Veterinary Medicine, Chungbuk National University  
(Received Dec 28, 1994)

**Abstract :** This study was carried out to develop the animal protein(feed for fry) that was isolated, purified and lyophilized the rumen ciliates from the healthy rumen contents which have  $10^5$ - $10^6$ /g ciliates and were discarded in abattoirs. The rumen ciliates are non-pathogenic, anaerobic and the weight of this protozoa is 2% of rumen content. The rumen protozoan and bacterial proteins both have a biological value for rats of 80-81, which is higher than the 72 of brewer's yeasts. Furthermore, the true digestibility and net protein utility of the protozoan protein are 91 and 73, much higher than those of bacterial(74 and 60) or yeast(84 and 60) proteins. The amino acids of rumen protozoa is nutritionally superior than the others. The size of rumen ciliates is  $30$ - $200 \times 20$ - $110 \mu\text{m}$  and so we had isolated and purified the rumen ciliates from the rumen contents by the physical methods. The purified rumen protozoa was lyophilized with freezing dryer. The results of this experiment were as follows :

1. Population dynamics of protozoan ciliates in slaughtered rumens ; % of samples which small ciliates were predominated was 82.5%(52/63) and that of large ciliates was 17.5%(11/63).

1) predominant species of small ciliates were *Entodinium ovinum* and *E nanellum*.

2) predominant species of large ciliates were *Epidinium ecaudatum* and *Diploplastron affine*.

2. The lyophilized rumen ciliates which were isolated and purified from 1 kg of rumen content at the pH 6.2-6.8 was about 7.0 gram.

3. The nutrient analysis of lyophilized rumen ciliates(LRC) was as follows:

1) Proximate analysis of the LRC and the composition of fry feed; moisture 8.05%(below 10.0), protein 35.37%(45), fat 5.39%(4.5), fiber 1.23%(below 2.5), ash 2.25%(below 15.0), Ca 0.26%(below 2.0), P 0.14%(below 1.1), energy 4,608.11(fish meal 5000 cal/g)

2) Amino acids (% in crude protein) of the LRC and the rotifer(*Brachionus plicatilis*); Arg 5.19%(4.50), His 2.

이 논문은 1993년도 한국학술진흥재단의 자유공모과제 연구비에 의하여 연구되었음.

Address reprint requests to Dr Cha-ho Jee, College of Veterinary Medicine, Chungbuk National University, Chungju 360-763, Republic of Korea.

50%(1.55), Ile 5.29%(3.45), Leu 8.11%(5.85), Lys 10.34%(6.15), Met 2.25% (0.85), Phe 5.66%(3.80), Thr 5.14% (3.45), Val 4.18%(3.90), Ala 4.13%(3.35), Asp 13.26%(8.25), Glu 16.62%(9.20), Gly 4.23%(3.10), Pro 3.25%(5.05), Ser 4.85%(3.85), Tyr 5.04%(3.05)

3) Fatty acids(% in fat) of the LRC and the rotifer(biological feed ; *Brachionus plicatilis*); myristic acid(C14:0) 3.27%(0.3), myristoleic acid(C14:1) 0.83%(-), palmitic acid(C16:0) 39.11% (23.5), palmitoleic acid(C16:1) 2.81%(2.0), stearic acid(C18:0) 9.36%(5.6), oleic acid(C18:1) 25.54%(3.5), linoleic acid(C18:2) 15.05%(32.9), linolenic acid(C18:3) 1.74%(9.8).

Judging from the above investigated results, the analytical data of proximate analysis, amino acids , fatty acids of the purified and lyophilized rumen protozoa are reasonable for the feed of freshwater fishes(fry and fingerling). But it was disappointed of our expectation that the crude protein of lyophilized rumen ciliates contains low percentage, it was thought that because of the small ciliates(starch digester) in beef cattle rumens which were administered the concentrated feed, is much difficult to isolate and purify than the large ciliates(fiber digester).

**Key words** : rumen ciliates, animal protein, feed for fry and fingerling

## 서 론

우루과이라운드(UR)협상에서 농수축산물 수입개방에 따라 1994년까지 총 131개 품목 중에서 수산물 61개(47%)가 수입자유화 되었고 또한 95년 이후 검토 대상품목도 142개 품목중 수산물은 46개 품목으로 알려져 농수축산물 수입자유화에 따른 수산물분야가 심각한 실정이다.

국내 양식업은 초기단계이지만 인공부화 및 양식기술은 원만한 수준까지 도달된 어종도 있다. 그러나 갯 부화한 치어의 먹이부침사료가 개발되지 않아 생존율이 크게 저하되고 있는 실정이다. 국내의 孵化仔稚魚 초기 먹이나 중요생산에 사용하고 있는 생물사료(biological feed)는 클로렐라 및 효모로 배양한 rotifer(*Brachionus plicatilis*), 값비싼 수입산 알테미아(*Artemia*)이고, 어종에 따라 까나리 등의 소형 어류를 직접 배합사료와 자가 혼합하여 급여하고 있으며, 식물성 대두단백질과 질이 좋지 못한 어분은 치어가 소화, 흡수할 수 있는 부분은 한정되어 생존율이 낮아지는 원인이 되고 있다<sup>18</sup>.

건강한 반추동물(소)의 제1위내에 있는 섬모충은 내용물 1g당  $10^5$ - $10^6$ 개이고, 무게로 환산하면 2%에 해당하며, 비병원성, 혐기성(anaerobic)이다<sup>6</sup>. 제1위에는 전분이나 섬유소를 소화하는 능력에 따라 전분소화(starch digester), 섬유소소화(cellulose digester) 섬모충으로 분류하며, 전자에는 주로 소형섬모충(*Entodinium*; 30-70×20-60 $\mu$ m)이고, 후자에는 대형섬모충(*Polyplastron*, *Diploplastron*, *Eudiploplastron*, *Enoploplastron*, *Eremoplastron*, *Opharyoscolex*; 80-200×

70-130 $\mu$ m)이 있다<sup>16</sup>. 반추동물의 성장과 질소의 생산성을 높이는 이상적인 제1위 발효성상(ideal rumen fermentation pattern)은 섬유소분해능력이 있는 제1위 미생물총(rumen microbial flora)의 밀도가 높아야 한다<sup>13</sup>. 즉, 질소의 생산성(유량)을 증가시키는 제1위 발효성상은 제1위 미생물총중에는 섬유소분해섬모충인 대형섬모충의 증식이 활발하고 그 숫자가 많아야 한다<sup>16</sup>. 이 섬모충 단백질의 순소화율(true digestibility)은 91으로 세균 단백질 74보다 높고 생물가(biological value)는 섬모충 단백질 80, 세균단백질 81이지만, 섬모충단백질은 순소화율이 높기 때문에, 순단백질 이용률(NPU; net protein utilization)은 73으로서 세균단백질 60보다 높으며, 섬모충단백질의 아미노산 균형(amino acid balance)이 세균, 효모보다 더 좋은 것으로 알려져 있으며<sup>11,17</sup>, 또한 이 섬모충은 전분이나 섬유소를 포함한 탄수화물의 발효와 단백질을 분해하여 포화지방산을 불포화지방산으로 전환시키는 역할도 한다<sup>7</sup>.

이와 같은 특성을 가진 제1위섬모충의 크기는 30-200×20-130 $\mu$ m로서 세균보다 크고 섬유소나 사료입자보다 작기 때문에 물리적인 방법으로 분리,수거,정제가 가능하다. 그러나 이론치에 해당하는 섬모충단백질을 얻기 위해서는 특히 섬유소에 부착되어 있는 대형섬모충(*Polyplastron*, *Diploplastron* 등)의 분리법을 산업적 이용이 가능한 방법으로 고안하여 도축장에서 버려지는 제1위내용물에서 섬모충(rumen ciliates)을 분리,수거,정제,동결건조 및 영양분석(일반성분, 아미노산, 지방산)을 통하여 얻은 결과가 국내 양식업에 절실히 요구되는 동물성 단백질로서 자치어의 초기먹이로 그 가

능성이 있어 보고하는 바이다. 제1위섬모충은 도축장에서 버려지는 제1위내용물에서 분리수거함으로써 부존자원을 활용하는 이점과 도축장 폐수처리량을 감소시키는 一石二鳥의 효과가 있다.

## 재료 및 방법

실험재료는 도축장에서 도살한 제1위내용물을 사용하였으며, 대형섬모충은 주로 섬유소를 분해, 소화하므로 섬유소에 부착되어 있기에<sup>8</sup> 단백질이 많은 대형섬모충을 효과적으로 분리, 수거하는 것이 원충단백질을 많이 얻는 지름길이다. 섬유소와 대형섬모충을 효과적으로 분리, 수거하는 방법, 동결건조 및 영양분석 방법으로 나누어 생각해 보기로 한다.

섬모충의 분포도 및 대형섬모충의 섬유소 분리방법 : 정상적인 제1위내 소화생리환경은 섬모충 및 세균이 산화환원 전위차(oxidation-reduction potential)를 -300~-400mV로 유지하므로 편성혐기성(strict anaerobic)이고 pH는 6.2-6.8이며, 온도는 38-41℃이다<sup>2</sup>. 이러한 제1위 환경조건에서 섬모충 및 세균의 증식 및 활동이 활발하다는 사실을 근거로 그 반대조건들로 활동을 저하시켜 분리하고자 한다.

1) aeration; 편성 혐기조건을 aeration방법으로 용전 산소(DO)량을 높이면 활동이 저하되어 분리, 수거가 쉬울 것이라는 가설이다.

2) 계면활성제 사용; aeration방법의 보조방법으로 계면활성제를 이용하여 섬모충이 섬유소에서 쉽게 분리될 수 있는 계면활성제의 농도를 찾는다.

3) 산화제 사용; 편성 혐기성(strict anaerobic)의 역조건으로 산업적 이용 타당성을 조사한다.

4) pH 변화; 제1위내 정상 pH범위(6.2-6.8)를 벗어난 조건을 적용하여 산업적 이용 가능성을 타진한다

5) 온도저하; 도축장에서 공장으로 운반 및 제조공정상 대기하는 시간이나 부패방지목적으로 섬모충의 활동을 저지시키는 방법으로 cold room, cold chamber을 이용한다.

이상의 5가지 방법을 기본으로 산업적으로 이용할 수 있는 경제적인 방법을 찾기위하여 다음과 같이 실험실적 방법으로 예비시험하였다.

1) 도축장에서 제1위 내용물 5kg정도를 비닐백에 넣고 뚜껑이 있는 플라스틱 바켓스에 담아 실험실로 옮겨 시험할 때까지 냉장고에 보관하였다.

2) 제1위 내용물을 잘 섞은 후 70g씩 취하여 각각 물

280ml을 가한 후

control; 30분 동안 2-3분 간격으로 교반

pH 4.5용액; pH 4.5로 조정후 2-3분 간격으로 30분간 교반

계면활성제 0.5%용액; 2-3분 간격으로 30분간 교반 aeration; 30분간 공기를 불어넣었다.

agitation; water bath에서 20회/분 정도로 30분간 처리

3) 이상과 같이 처리한 제1위 내용물을 거즈 2겹으로 여과 - pH측정한 후, 섬모충의 분포도를 관찰하려고 제1위액 1ml을 MFS(methylgreen-formalin-saline) 용액 9ml에 염색, 고정하였다.

4) 섬모충의 수를 측정하기 위하여 3)의 MFS용액 0.1ml을 plankton chamber위에 놓고 커버글라스로 덮은 다음 현미경 100배(10×10)에서 섬모충의 수를 측정하였다.

5) 대형 섬모충(75µm이상)과 소형 섬모충(75µm이하)의 구성비를 조사하기 위하여 4)의 방법으로 대,소형 섬모충의 수를 조사하였다.

산업적 이용이 가능하도록 가장 경제적인 방법을 고려하고 온도는 2-10℃을 유지하면서 연속작업 공정으로 실시하였다.

1) aeration한 물 4 L(D.O 4-5mg/L, 2-10℃)에 제1위내용물 1kg을 섞어 분당 20회 속도로 5분간 교반한 후, 표준체(standard sieves)로 단계별(8, 60, 200, 400 mesh)여과하면서

2) 200(75µm), 400(38µm) 메쉬에 있는 잔사물을 back-washing방법으로 회수하고

3) 스텐레스 용기(30×75×15cm)를 계단식 요철장치와 10°경사로 제작하여 적절한 유속으로 불순물은 흘러보내고, 침전한 이물질층과 정제된 섬모충을 분리수거하였다.

4) 분리수거한 섬모충은 원심분리하여 물을 제거한 후, -25℃ 냉동실에 보관하였다.

동결건조 : 정제된 제1위섬모충을 동결건조기(freezing dryer)을 이용하여 수분 10%이하로 건조시켰다.

영양분석

1) 일반성분 분석(proximate analysis); 수분, 조단백질, 조지방, 조섬유, 조회분 등을 Weende방법으로 분석하고 치어용 사료조성과 비교분석하였다.

2) 아미노산함량 분석; 10개 필수아미노산 및 그외 아미노산의 함량을 아미노산 자동분석기로 분석하고 생물사료(rotifer; *Brachionus plicatilis*)의 아미노산 조성

및 자치어의 최소 아미노산 요구량 과 비교분석하였다.

3) 지방산분석; 한국사료협회 기술연구소에 의뢰 분석한 결과와 담수산 생물사료(*rotifer*; *Brachionus plicatilis*)의 지방산조성과 비교분석하였다.

## 결 과

제1위내에 존재하는 대,소형섬모충을 섬유소와 사료에서 분리하고자 대조구와 4 처리구로 나누어 시험한 예비시험 결과, pH 4.5용액, 계면활성제 0.5%용액의 처리구에서는 섬모충의 수도 적게 나타났을 뿐만 아니라, pH 4.5용액은 산(acid)으로 처리한 후, 다시 염기(alkali)로 중화하려면 산,염기가 이중 소요되기 때문에 산업적 방법으로 이용하기에 부적합하였으며, 계면활성제 0.5%용액 처리는 거품과 함께 섬유소가 부유되고 환경보호차원에서 바람직한 방법이 아니었다. Aeration처리구에서는 섬유소가 제1위액의 점액성분과 함께 부유되어 성적이 좋지 않았다. 그래서 산업적인 제1위섬모충의 섬유소 분리는 충분한 용전산소(DO 4-5mg/L이상)가 있는 찬물(2-10℃)에 제1위내용물을 섞어 분당 20회 속도로 5분간 교반(agitation)하는 방법을 이용하였다.

### 제1위섬모충의 분포도 및 회수량

제1위내 pH별 섬모충의 분포도 : 정상적인 소화생리 조건하에서는 제1위섬모충 및 세균이 산화환원전위차(oxidation-reduction potential)를 -300~400 mV로 유지하므로 편성혐기성(strict anaerobic)이고 pH는 6.2-6.8, 온도는38-41℃이지만<sup>2</sup>, 도축장에 도살하려 오는 소의 제1위는 정상적인 소화생리 상태가 아닌 것이 시험하는 동안 판명되었다. 즉, 축주는 생체 체중을 늘이

기 위하여 농후사료와 물을 많이 먹이고 자동차로 운반 도중 소는 매우 불안하여 먹은 사료와 물을 제대로 소화하지 못한 상태로 도축장의 계류장에서 추위와 불안 속에서 밤을 지새우고 도축되었다는 사실이 시험결과로 나타났다. 정상적인 제1위 내에는 섬유소가 소화되는 pH 6.2-6.8이고 1ml당 섬모충의 수는  $10^{5-6}$ 이고 대형(섬유소분해), 소형(전분분해)섬모충의 비율이 1:1정도가 이상적인 비율이지만<sup>3</sup> 도축장에 오는 소는 위에서 언급한 바와 같이 정상적인 제1위 소화 생리조건이 아니었기에, 대형섬모충만의 확보는 어렵고 회수량이 적을 것으로 추정되므로 대, 소형섬모충을 함께 수거하여 동물성 단백질로 개발하기로 하였다.

Table 1에서 보는 바와 같이 pH가 높을수록 대형섬모충이 우세한 샘플수가 많아지고, pH가 낮을수록 소형섬모충이 우세한 샘플수가 많음을 알 수 있었다. 제1위 pH범위 6.2 이하가 63%(40/63)이었고 5.5이하도 22%(14/63)로 나타났으며, 대형 : 소형섬모충의 비도 1.4.72로 소형섬모충의 수가 많아 소형섬모충이 대형섬모충보다 많은 샘플수도 83%(52/63)로 나타났다(Table 1).

이와 같은 이유는 제1위내 pH 6.2-6.8에서 섬유소소화가 이루어지기 때문에 대형(섬유소분해)섬모충은 섬유소분해세균과 함께 활발히 증식하고 대사산물로 뷰틸산을 산생하며, pH 6.2이하에서는 소형(전분소화)섬모충이 전분소화세균과 함께 대사산물로 젖산(lactic acid)을 산생하여 젖산발효(lactic acid fermentation)가 일어나기에 제1위내 pH를 낮추어 대형(섬유소분해)섬모충이나 섬유소분해세균이 증식되지 못하기 때문이다. 전분소화 섬모충(소형)은 섬유소소화 섬모충(대형)보다 pH에 저항성이 있어서 pH 5.9에서  $6.8 \times 10^5$ 까지 증식하지만, 섬유소소화 섬모충은 pH 6.5이하에서는 증식하지 못한다.

본 시험에서 나타난 우세종의 소형섬모충은 *En-*

Table 1. Population dynamics of large and small ciliates according to the pH of slaughtered rumen in abattoir(unit  $\times 10^5$ )

pH	Total No of samples	No of ciliates (mean $\pm$ SD)	Predominant species
			Large ciliate/Small ciliate (No of samples)
5.3-5.5	14	6.33 $\pm$ 2.24	<i>E. caudatum</i> (1)/ <i>E. ovinum</i> (13)
5.6-6.0	24	9.87 $\pm$ 3.15	<i>E. caudatum</i> (3)/ <i>E. nanellum</i> (21)
6.1-6.5	11	7.02 $\pm$ 2.84	<i>D. affine</i> (3)/ <i>E. nanellum</i> (8)
6.5-7.2	14	5.53 $\pm$ 2.32	<i>D. affine</i> (4)/ <i>E. nanellum</i> (10)

*tozinium ovinum*, *E nanellum* 등이 나타났고 우세종의 대형섬모충은 *Epidinium ecaudatum*, *Diploplastron affine* 등이 나타났었다(Table 1).

제1위 섬모충의 회수량(회수율) : 산업적 이용이 가능한 경제적인 방법으로 분리,수거, 정제한 제1위섬모충을 동결건조한 결과는 Table 2에서 보는 바와 같이 pH가 높아짐에 따라 회수량도 많아짐을 알 수 있었다. 이는 위에서 언급한 바와 같이 섬유소분해(대형)섬모충은 pH 6.5이상에서 증식하고 분리,수거,정제가 소형섬모충보다 용이하여 pH가 높아짐에 따라 회수량이 많았다. 제1위내의 pH범위가 6.2-6.8에서는 제1위내용물 1kg에서 동결건조한 섬모충 7g정도가 회수되었다(Table 2).

Table 2. Lyophilized weight(grams) of the isolated and purified ciliates from 1kg of rumen content

pH	Weight(mean±SD)
5.3-5.5	3.63±0.72
5.6-6.0	4.68±1.02
6.1-6.5	6.93±1.24
6.6-7.2	7.12±1.12

제1위내용물 1kg에서 동결건조한 량이 5-7g이므로 회수율 0.5-0.7%는 산업적 이용가치가 있다고 사료된다. 예를 들면, 제1위내용물이 100kg인 젖소 1마리에서 동결건조된 섬모충단백질 500-700g을 얻을 수 있으며, 이 량은 급이율 3-5%로 환산하면 부화자치어(어체중 0.05g) 10-21kg(200,000-420,000 마리)을 먹일 수 있다. 가락동 도축장에서 1일 도축두수가 200두라고 가정하면 100kg의 동물성 단백질을 얻을 수 있다는 계산이다.

동결건조한 섬모충의 영양분석 : 산업적 이용이 가능한 방법(pilot 생산방법)으로 분리,수거,정제한 제1위섬모충을 동결건조한 후, 일반성분(에너지), 아미노산, 불포화지방산을 분석하여 치어용 사료로서 사용이 가능한 지 조사한 결과는 다음과 같았다.

동결건조한 섬모충과 치어용 사료의 일반성분(proximate analysis) 비교 : 동결건조한 제1위 섬모충의 일반성분분석과 치어용 사료의 일반성분에 대한 비교는 Table 3과 같다. 일반적으로 무지개송어 및 이

스라엘잉어(항어)의 자치어(fry)용 배합사료의 조성은 수분 10%이하, 조단백질 45-50%, 조지방 4.5-5.0%, 조섬유 1.0-2.5%, 조회분 15.0%이하(칼슘 2.0%이하, 인 1.1%이하) 등과 비교해 보면 조단백질함량이 부족되게 나타났고, 에너지 열량은 어류사료로서 적당한 것으로 나타났었다(Table 3).

Table 3. Comparative proximate analysis(%) of the lyophilized rumen ciliates(LRC) and the composition of fry feed

Items	LRC	Composition of fry feed
Moisture	8.05	<10.0
Crude protein	35.37	45.0-50.0
Crude fat	5.39	4.5- 5.0
Crude fiber	1.23	1.0- 2.5
Crude ash	2.25	<15.0
Calcium	0.26	< 2.0
Phosphouse	0.14	< 1.1
NFE*	47.31	-
Energy(cal)	4608.11	-

\*NFE; nitrogen free extract

조단백질함량이 부족하게 나타난 원인은 제1위섬모충의 분포도에서 언급한 바와 같이 비육우는 농후사료를 주로 급여하여 소형섬모충(전분소화섬모충)이 주종을 이루고 이 소형섬모충은 분리, 수거가 대형섬모충보다 어려워 수거량이 적을 뿐만 아니라 도축우에서는 위에서 언급한 바와 같이 정상적인 제1위 소화생리조건이 아니고 소형섬모충은 분리, 정제가 대형섬모충보다 어려워 조단백질함량이 부족된 것으로 사료된다. 그러나 국내에서도 양질의 조사료(알팔파큐빅, 암모니아처리 볏짚 등)가 확보된다면 제1위섬모충의 회수율 및 조단백질함량은 증가될 것이다.

아미노산 함량 비교분석 : 단백질은 생물체의 조직과 기능에 중심적인 역할을 수행하는 물질로서 약 20개의 아미노산으로 구성되어 있으며, 동물 및 어류의 단백질 영양은 이들을 구성하고 있는 아미노산의 질적, 양적인 면에 크게 좌우된다. 동결건조한 제1위섬모충(LRC)의 아미노산 분석, 생물사료(biological feed)의 아미노산 조성<sup>2)</sup>과 자치어(fry)에 대한 급이율 2.5%일 때의 아미노산 최소요구량(DDF)<sup>19)</sup>은 Table 4와 같다(Table 4).

**Table 4.** Comparative analysis on amino acid(% in crude protein) of the lyophilized rumen ciliates(LRC), rotifer (biological feed) and the minimum requirement for fry(MRF)

Amino acid	LRC	Rotifer	MRF <sup>#</sup>	Amino acid	LRC	Rotifer	MRF <sup>#</sup>
* Arg	5.19	4.50	4.00	* Val	4.18	3.90	3.20
* His	2.50	1.55	1.80	Ala	4.13	3.35	
* Ile	5.29	3.45	2.60	Asp	13.26	8.25	
* Leu	8.11	5.85	4.80	Glu	16.62	9.20	
* Lys	10.34	6.15	5.60	Gly	4.23	3.10	
* Met	2.25	0.85	2.00	Pro	3.25	5.05	
* Phe	5.66	3.80	2.90	Ser	4.85	3.85	
* Thr	5.14	3.45	3.10	Tyr	5.04	3.05	2.20

\* essential amino acid      # feeding ratio 2.5%

어류사료내 각각의 필수아미노산이 많거나 부족되지 않고 요구량에 알맞게 함유된 상태를 아미노산균형이라고 한다. Table 4에서 보는 바와 같이 섬모충 단백질의 아미노산함량은 생물사료, 최소 요구량과 비교해 보면, 훌륭한 아미노산 균형의 동물성 단백질이다. 급이율이 높을수록 사료량이 많아지므로, 아미노산의 사료내 함량은 낮아도 된다. 급이율은 어종,수온에 따라 다르지만, 무지개송어에서 수온 15℃일 때 표준급이율은 자치어(fry)는 총 어체중의 7% 사료를 하루 5-6회, 치어(fingerling)는 3.5-6.0%, 3-4회에 나누어 급이한다<sup>10</sup>. 본 시험에서 동결건조한 제1위섬모충의 아미노산 분석치는 생물사료의 아미노산 조성과 자치어의 아미노산 최소요구량보다 함량이 높게 나타났으며, 아미노산 균형

(amino acid balance)도 좋아 단백질 이용효율도 높아 지므로 담수어의 좋은 생물사료가 될 수 있다.

필수지방산 분석 : 일반적으로 생체내 지질(lipid)은 축적지방과 조직지방이 있으며, 축적지방은 주로 glycerid로 피하조직이나 장간막부위에 존재하여 에너지원으로 이용되고, 조직지방은 인지질, cholesterol로 생명유지에 관여하는 지방이다. 특히 어류에서 필수지방산은 성장,생명유지에 필수적이며, 담수어에서는 불포화 지방산인 리놀산(linoleic acid), 리놀렌산(linolenic acid; w3계 필수지방산)등이 유효하다. 동결건조한 제1위섬모충의 지방산분석 결과와 담수생물사료(rotifer; *Brachionus plicatilis*)의 지방산조성<sup>21</sup> 비교는 Table 5와 같다(Table 5).

**Table 5.** Comparative analysis on fatty acid(%) of the lyophilized rumen ciliates(LRC) and the rotifer(*Brachionus plicatilis*)

Fatty acid(No of C)	LRC	Rotifer( <i>B plicatilis</i> )
Myristic acid (C 14:0)	3.27	0.3
Myristoleic acid (C 14:1)	0.83	-
Palmitic acid (C 16:0)	39.11	23.5
Palmitoleic acid (C 16:1)	2.81	2.0
Stearic acid (C 18:0)	9.36	5.6
Oleic acid (C 18:1w 9)	25.54	3.5
Linoleic acid (C 18:2w 6)	15.05	32.9
Linolenic acid (C 18:3w 3)	1.74	9.8
Arachidic acid (C 20:1)	-	0.3

Table 5에서 보는 바와 같이 동결건조한 제1위섬모충의 지방산 조성은 클로렐라(*Chlorella regularis*)로 배양한 후 건조한 rotifer의 지방산 조성과의 비교해 보면 담수어의 필수지방산(essential fatty acid; EFA)인 리놀산(18:2w6)과 리놀렌산(18:3w3)의 함량은 미달되는 것으로 나타났다. 해산어의 필수지방산은 고도불포화지방산(w3 HUFA ; high unsaturated fatty acid)으로서 어류를 제외한 동물성, 식물성 기름에는 존재하지 않는다. 그러므로 담수어, 해산어의 어종에 따라 필요한 필수지방산은 부족되는 양은 어유, 대구간유, 아미노유 등을 첨가하는 것이 바람직하다.

## 고 찰

1843년 Gruby와 Delafond가 제1위섬모충을 발견한 이후, 많은 학자들에 의해 분류학적, 형태학적, 생리학적, 영양학적인 연구들이 수행되어 왔다. 제1위내에는 섬모충이외에도 세균, 편모충(flagellate), 곰팡이(fungi) 등이 존재하지만, 섬모충과 세균이 주종을 이루고 있다. 이러한 미생물 전체를 제1위미생물총(rumen microbial flora)이라 하며, 섬모충( $10^5$ - $10^6$ /g)과 세균( $10^{10}$ - $10^{12}$ /g)의 양은 같고 혐기성(anaero-bic)이다<sup>12</sup>. 편성혐기성(strict anaerobic)세균은 산화환원전위(oxidation-reduction potential; -300~-400 mV)를 유지시켜 섬모충증식에 관여하고 섬모충은 사료중의 전분이나 단백질을 amylopectin이나 아미노산으로 전환시켜 세균이 이용할 수 있게 함으로써 상호 공생관계를 유지하고 있으며<sup>3</sup>, 제1위 섬모충은 혐기성 세균과 공동으로 직접 섬유소와 전분을 소화하여 증식하고 젖산(lactic acid)을 푸로피온산이나 뷰틸산으로 전환시키는 능력이 세균보다 강하고<sup>1</sup>, 전분이나 단백질을 amylopectin상태로 축체내에 저장하므로 pH 안정화 효과가 있다<sup>14</sup>.

부화자치어의 초기먹이 조건은 ① 동물성이고 ② 단백질(필수아미노산)함량이 높으며 ③ 필수지방산(불포화지방산)의 함량이 많아야 한다<sup>19</sup>. 이러한 조건을 차례로 설명하면 다음과 같다.

첫째, 제1위섬모충은 Kingdom Protista 原蟲動物界, Phylum Ciliophora 有毛蟲門, Class Ciliata 纖毛蟲綱에 속하는 제1위내에 혐기성 세균과 공생하는 혐기성 原蟲이므로 동물성이다. 제1위내 서식하고 있는 주요한 Family는 sotrichidae, Opharyoscolecidae의 2科가 있지만, 제1위섬모충의 총 종류는 3목(order), 4과(family), 22속(genus), 66종(species)으로 보고되었다<sup>12</sup>.

제1위섬모충은 전분이나 섬유소를 포함한 탄수화물의 발효와 단백질을 분해, 소화하는 역할 외에도 포화지방산을 불포화지방산으로 전환시키는 역할도 한다<sup>7</sup>는 사실이 알려져 있기 때문에 제1위섬모충에는 불포화지방산이 세균보다 많이 포함되어 있다. 그러나 제1위섬모충의 지질, 핵산, 비타민 및 무기물의 관계는 아직까지 불투명한 상태이다<sup>20</sup>. 이상적인 제1위 발효조건은 섬유소소화율, 미생물 단백질량의 증가, 초산/푸로피온산의 적정, 메탄가스 손실과 암모니아가스 축적의 최소화, 독성물질에 대한 중화력이 있는 것이다.

Table 1에 나타난 소형섬모충이 많은 이유는 국내 도축장에서 도축되는 비육우가 젖소보다 많고 비육우는 주로 농후사료를 급여하기에 소형(전분소화)섬모충이 월등히 많게 나타났다. 이러한 결과보다 바람직한 것은 대형(섬유소분해)섬모충이 많아야 하지만, 국내 초지사정이 여의치 않고 양질의 조사료 확보가 어렵기 때문에 사료된다. 그러나 볏짚의 암모니아처리, 알팔파 큐빅사료 등의 국내 조사료 사정이 호전된다면 이번 결과보다는 대형섬모충의 양이 증가되어 양질의 동물성 단백질을 회수할 수 있을 것이다.

둘째, 단백질은 동물의 성장과 생명유지에 필수적인 영양소로서 단백질의 영양가는 아미노산의 종류와 그 함량에 의해 결정된다. 반추동물의 제1위내 세균은 사료원 단백질을 분해하여 peptide와 아미노산으로 분해한 후 최종분해산물인 암모니아로 분해, 이용하여 증식한 세균은 박테리아 체단백질을 합성하며, 섬모충은 세균, 사료입자, 유리아미노산, purine, pyrimidine을 흡수 소화하여 섬모충단백질을 합성한다. 그러므로 반추동물은 단위동물과 다르게 비단백질소(NPN; nonprotein nitrogen)를 제1위미생물(세균, 섬모충)에 의해 암모니아로 분해시켜 미생물 체단백질을 합성할 수 있다<sup>17</sup>. 일반적으로 아미노산 중에서 체내에서 아미노基 轉移反應에 의해 합성할 수 없는 필수아미노산(arginine, histidine, isoleucine, leucine, lysine, methionine, phenylalanine, threonine, tryptophan, valine)은 사료로서 외부에서 공급되어야 한다. 섬모충단백질은 아미노산함량에서 세균보다 lysine, leucine, phenylalanine의 함량이 높고<sup>17</sup>, 순소화율(true digestibility)과 순단백질 이용율(net protein utilization)에서도 각각 91과 73으로서, 세균 74와 60보다 높다<sup>11</sup> 부화자치어의 초기먹이로 적합하다. 본 시험에서 나타난 섬모충단백질의 아미노산 조성은 Storm et al(1981)<sup>17</sup>이 분석 보고한 제1위원충(protozoa)의 아미노산조성을 비교해보면, arginine 5.19%(4.6), histidine 2.50%(1.8), isoleucine 5.29%(6.

3), leucine 8.11%(7.8), lysine 10.34%(10.2), methionine 2.25%(2.1), phenylalanine 5.66%(5.3), threonine 5.14%(5.2), tryptophan-(1.4), valine 4.18%(4.8), alanine 4.13%(4.9), asparagine 13.26%(13.4), glutamine 16.62%(14.3), proline 3.25%(3.7), serine 4.85%(4.3), tyrosine 5.04%(4.4)로서 비슷한 수준이였음이 발견되었다. 幼魚期에 영양가 높은 단백질을 주면 성장에 이용되는 아미노산의 비율이 높게 되고, 반대로 영양가가 낮은 단백질을 투여하면 에너지원으로 이용하는 비율이 높기 때문에 성장이 둔화되어 사료효율이 낮아진다<sup>18</sup>.

그러므로 부화자치어의 초기먹이는 단백질함량이 높아야 하고 또한 아미노산 균형(amino acid balance)이 좋아야 단백질의 이용효율(PER; protein efficiency ratio)이 높아지므로, 섬모충단백질은 부화자치어의 좋은 초기사료가 될 수 있다고 사료된다.

셋째, 필수지방산(essential fatty acid; EFA)의 종류는 물고기에 따라 다르고 이러한 필수지방산의 대부분은 불포화지방산이다. 담수어의 필수지방산은 리놀렌산 18: 3w3, 리놀산 18: 2w6(18은 C수, 2는 이중결합수, w6은 이중결합의 위치로 -COOH기로부터 6번째 C)이고, 그 중에서 리놀렌산 18: 3w3(w3계)이 중요한 필수지방산이다. 생체내 지질(lipid)은 축적지방과 조직지방이 있으며, 축적지방은 주로 glycerid로 피하조직이나 장간막부위에 존재하여 에너지원으로 이용되고 조직지방은 주로 인지질(phospholipid)로서 생명유지에 관여하는 지방이다. 이 인지질의 지방산은 주로 제1위내 미생물에서 근원된 것으로 추정되고 유리지방산과 에스테르화된 지방에 많은 불포화지방산이 있으며, 제1위 미생물의 지방분해 효소작용에 의하여 여러형태의 C 18 dienoic, monoenoic acid의 유도체로 되고 최종적으로는 stearic acid가 된다. 제1위내 미생물의 지방산 함량은 섬모충 6.3-9.1%, 박테리아 6.8%이며<sup>17</sup>, 본 시험에서 나타난 섬모충의 지방산분석 결과와 밝혀진 제1위 원충의 인지질 조성<sup>17</sup>을 비교해 보면 palmitic acid(C 16: 0) 39.11%(37.5), palmitoleic acid(C 16:1) 2.81%(1.2), stearic acid(C 18:0) 9.36%(10.3), oleic acid (C 18:1w) 25.54% (20.3), linoleic acid(C 18:2w) 15.05%(14.6), linolenic acid(C 18:3w) 1.74%(-)로서 큰 차이를 발견할 수 없었다. 필수지방산의 중요성은 무지개송어에서 성장둔화, 사료효율저하, 더 심하게 되면 지느러미의 미란(erosion), 心筋염증, 쇼크증상, 헤모글로빈량의 저하, 근육중 수분함량 증가 등의 증상들이 나타난 후, 처음으로 인식되기 시작하였다. 잉어에서는 성장이 어느

정도 진행된 후에는 별 증상이 없으나, 체중 0.6 g 전후의 치어에서는 현저한 성장장애, 식욕부진을 나타내지만 필수지방산을 투여하면 이러한 증상이 없어진다. 해산어(참돔, 흑돔, 넙치등)에서는 담수어의 필수지방산인 리놀렌산 18 : 3w3, 리놀산 18 : 2w6이 중요하지 않고 w3 HUFA(고도불포화지방산)가 중요한 필수지방산으로 알려져 있다.

버려지는 제1위 내용물에서 제1위섬모충을 분리, 수거한 섬모충단백질은 ①동물성이고 회수율 0.5-0.7%로 그 경제성과 산업적 생산성이 인정되고, ②단백질함량은 약간 낮았지만 아미노산 균형이 좋고 순소화율, 순단백질이용율(NPU)이 다른 단세포 생물사료보다 높았다. ③지방산분석에서 w3 HUFA(고불포화지방산;유도지방산)는 동,식물성 기름에는 존재하지 않으므로 분석되지 않았고, 담수어의 필수지방산인 리놀렌산(18:3w3), 리놀산(18:2w6)이 분석되었지만, 어중에 따라 부족한 함량이었다.

담수어, 해산어에서 완벽한 부화자치어의 초기먹이로서 보완할 점은 첫째, 단백질 함량이 부족되는 점은 고단백질의 사료원료(어분,육분,탈지분유 등)첨가이고, 둘째, 동물조직에 없는 w3 HUFA(리놀레닉산, 유도지방산)은 아마인유, 어유, 어간유를 어중에 따라 0.5-1.6% 첨가하면 해산어, 종묘생산용 사료로서도 그 가능성이 있을 것으로 사료된다. 본 연구에서 개발한 제1위섬모충의 단백질이 산화되어 幼魚期 사료에 사용된다면 양식업의 생산성이 향상될 수 있고, 수입산 생물사료의 대체화, UR협상에서 물밑듯이 밀려오는 수산물 수입자유화에 대한 경쟁력 강화에 조그마한 보탬이 되기를 희망하는 바이다.

## 결 론

도축장에서 버려지는 소 제1위 내용물에 있는 10<sup>5</sup>-10<sup>6</sup>/g의 제1위섬모충을 분리, 정제한 후 동결건조하여 동물성 단백질(치어용 사료)을 개발하고자 하였다. 제1위섬모충은 혐기성(anaerobic), 비병원성(non-pathogenic)이며, 섬모충의 양은 제1위내용물의 2%(wt/wt)이다. 이 섬모충 단백질의 순소화율(true digestibility)은 91로 세균단백질 74보다 높고 생물가(biological value)는 섬모충단백질 80, 세균단백질 81이지만, 섬모충단백질은 순소화율이 높기 때문에, 순단백질 이용율(NPU; net protein utilization)은 73으로서 세균단백질 60보다 높으며, 섬모충단백질의 아미노산 균형(amino



acid balance)이 세균, 효모보다 더 좋은 것으로 알려져 있다. 제1위섬모충의 크기는 30-200×20-110um이기에 물리적인 방법으로 분리, 정제한 결과와 동결건조한 섬모충단백질의 영양학적 분석결과는 아래와 같았다.

1. 제1위섬모충의 분포도(population dynamics of rumen ciliates); 소형섬모충이 우세한 샘플수(82.5%)가 대형섬모충(17.5%)보다 많았으며, 소형섬모충의 우세종은 *Entodinium ovinum*와 *E nanellum*이고, 대형섬모충의 우세종은 *Epidinium ecaudatum*과 *Diploplastron affine*이었다.

2. 제1위내용물(pH 6.2-6.8) 1kg에서 분리, 정제한 후, 동결건조한 섬모충단백질은 약 7.0g이었다.

3. 동결건조한 섬모충단백질의 영양학적 분석결과는 아래와 같았다;

1) 섬모충단백질의 일반성분분석과 치어용 사료의 조성 비교

moisture 8.05%(below 10.0), protein 35.37%(45), fat 5.39%(4.5), fiber 1.23%(below 2.5),

ash 2.25%(below 15.0), Ca 0.26%(below 2.0), P 0.14%(below 1.1), energy 4,608.11(fish meal 5000 cal/g)

2) 섬모충단백질과 생물사료(rotifer; *Brachionus plicatilis*)의 아미노산 분석 비교

Arg 5.19%(4.50), His 2.50%(1.55), Ile 5.29%(3.45), Leu 8.11%(5.85), Lys 10.34%(6.15), Met 2.25%(0.85), Phe 5.66%(3.80), Thr 5.14%(3.45), Val 4.18%(3.90), Ala 4.13%(3.35), Asp 13.26%(8.25), Glu 16.62%(9.20), Gly 4.23%(3.10), Pro 3.25%(5.05), Ser 4.85%(3.85), Tyr 5.04%(3.05)

3) 섬모충단백질과 생물사료(rotifer; *Brachionus plicatilis*)의 지방산 분석 비교

myristic acid(C14:0) 3.27%(0.3), myristoleic acid(C14:1) 0.83%(-), palmitic acid(C16:0) 39.11%(23.5), palmitoleic acid(C16:1) 2.81%(2.0), stearic acid(C18:0) 9.36%(5.6), oleic acid(C18:1) 25.54%(3.5), linoleic acid(C18:2) 15.05%(32.9), linolenic acid(C18:3) 1.74%(9.8).

이상의 연구결과를 토대로 종합평가를 해보면, 일반 성분, 아미노산 함량 및 균형, 지방산 분석 성적은 담수 어류의 치어용 사료로서 사용 가능성이 있다고 판단된다. 다만, 단백질함량이 35%정도로서 예상보다 적은 것은 도축우는 대부분 비육우로서 농후사료를 급여하므로써 소형섬모충(starch digester)이 주종을 이루고 있기 때문에 대형섬모충(fiber digester)에 비하여 분리, 정제

에 어려움이 많아 회수를 및 단백질함량에도 영향이 있었다고 사료되며, 앞으로 국내 조사료(알팔파큐빅, 암모니아 처리한 벧등) 사정이 좋아지면 이런 문제점은 해결될 수 있다고 사료된다. 필수지방산분석에서 담수어의 필수지방산인 리놀산15.05%, 리놀렌산 1.74%가 함유되어 있었지만, 그 함량이 적고 또한 고불포화지방산(w3 HUFA)은 분석되지 않았기에 아마인유, 어유, 어간유를 어종에 따라 0.5-1.6% 첨가해야 할 것이다.

## 참 고 문 헌

1. Chamberlain DG, Thomas PC, Anderson FJ. Volatile fatty acid proportions and lactic acid metabolism in rumen of sheep and cattle receiving silage diets. *J Agric Sci Camb* 1983; 101: 47-58.
2. Clark RTJ. Methods for studying gut microbes. In *Microbial ecology of the gut*, New York, Academic Press, 1977; 1-33.
3. Coleman GS. The interrelationships between rumen ciliate protozoa and bacteria. In *Digestion and Metabolism in Ruminant*, The University of New England Publishing Unit, 1975; 149-164.
4. Coleman GS. Rumen entodiniomorphid protozoa. *In vitro* methods for parasite cultivation, London: Academic Press, 1987; 29-51.
5. Eadie JM. Inter-relationships between certain rumen ciliate protozoa. *J Gen Microbiol* 1962; 29: 579-588.
6. Hungate RE. *Rumen and its Microbes*. New York: Academic Press, 1966; 533.
7. Jouany JP, Demeyer DI, Grain J. Effect of defaunating the rumen. *Anim Feed Sci Technol* 1988; 21: 229-265.
8. Jung HG, Varel VH. Influence of forage type on ruminal bacterial population and subsequent *in vitro* fiber digestion. *J Dairy Sci* 1988; 71: 1526-1535.
10. Kafuku T, Ikenoue H. II. Freshwater Aquaculture, In *Modern Methods of Aquaculture in Japan*, Tokyo:Kodansha Ltd, 1983; 7-105.
11. Levine ND. Ciliophora. In *Veterinary Protozoology*, Ames: Iowa State University Press, 1985; 414.

12. Ogimoto K, Imai S. Atlas of Rumen Microbiology, Tokyo: Japan Scientific Societies Press, 1981; 231.
13. Russell JB, Wilson DB. Protential opportunities and problems for genetically altered rumen microorganisms. *Brit J Nutr* 1988; 118: 271-279.
14. Williams AGand Harford CG. Factors affecting the uptake and metabolism of soluble carbohydrate by the rumen ciliate *Dasytricha* ruminantium isolated from ovine rumen contents by filtration. *J Gen Microbiol* 1976; 96: 125-136.
15. 이영순, 허강준, 박재학. 어류질병학. 서울: 신광종합출판, 1993; 251-505.
16. 池次昊. 人工唾液이 第1胃内 醱酵 및 纖毛蟲의 分布에 미치는 影響. 忠北大 農科研 1991; 9(2): 65- 85.
17. 한인규, 맹원재. 반추동물영양학. 서울: 향문사, 1991; 534.
18. 허강준. 어류의 영양성 질병. 대한수의사회지 1992; 28(10): 583-593.
19. 米康夫. 養魚飼料 - 基礎と應用. 東京: 恒星社厚生閣, 1985; 150.
20. 神立誠, 須藤恒二. ル \_ メンの 世界. 東京: 農山魚村文化協會, 1985; 813.
21. 荻野珍吉. 魚類の營養と飼料. 東京: 恒星社厚生閣, 1980; 335.