

넙치(*Paralichthys olivaceus*) 치어 사료에서 산 가수분해 농축대두박 (Acid-concentrated soybean meal)의 어분대체효과 및 소화율 평가

김성삼 · 오대한¹ · 조성준² · 서상현² · 한현섭 · 이경준^{3*}

국립수산과학원 사료연구센터, ¹CJ 제일제당 생물자원연구소, ²CJ 제일제당 소재연구소, ³제주대학교 해양생명과학과

Evaluation of Acid-concentrated Soybean Meal as a Fishmeal Replacement and its Digestibility in Diets for Juvenile Olive Flounder *Paralichthys olivaceus*

Sung-Sam Kim, Dae-Han Oh¹, Seong-Jun Cho², Sang-Hyun Seo², Hyon-Sob Han and Kyeong-Jun Lee^{3*}

Aquafeed Research Center, National Fisheries Research and Development Institute, Pohang 791-923, Korea

¹Animal Bioscience Research Institute, CJ CheilJedang Corporation, Incheon 400-103, Korea

²Food Ingredients R&D Center, CJ CheilJedang Corporation, Seoul 152-866, Korea

³Department of Marine Life Sciences, Jeju National University, Jeju 690-756, Korea

This study was conducted to investigate the effects of fishmeal replacement with acid-concentrated soybean meal (ACSBM) on growth performance, blood biochemistry, and ingredient digestibility in juvenile olive flounder *Paralichthys olivaceus*. Six experimental diets were formulated to replace fishmeal protein with ACSBM at 0%, 20%, 30%, 40%, 50%, and 60% (designated ACSBM0, ACSBM20, ACSBM30, ACSBM40, ACSBM50, and ACSBM60, respectively). Triplicate groups of fish (initial fish mean weight: 14.3±0.03 g) were fed the experimental diets to apparent satiation (twice daily at 08:00 and 18:00 h). After a 12-week feeding trial, a total of 180 healthy fish were randomly distributed into three Guelph system tanks at a density of 60 fish/tank (initial fish mean weight : 50.6±2.4 g) to test the apparent digestibility coefficients of the ingredients (ACSBM, fishmeal, and soybean meal). Although negative effects were observed with ACSBM40, ACSBM50 and ACSBM60 after 12 weeks of feeding, up to 20% of the fishmeal protein could be successfully replaced with ACSBM without significant growth depression. Hemoglobin and hematocrit values of fish fed the ACSBM50 and ACSBM60 diets were significantly lower than those of fish fed the ACSBM0 diet. Glucose values of fish fed the ACSBM60 diet were significantly higher than those of fish fed the ACSBM0 and ACSBM20 diets. Digestibility of protein in ACSBM and soybean meal was 85.9% and 82.5%, respectively. Results indicated that at least 20% of fishmeal protein can be replaced by ACSBM in diets of juvenile olive flounder without supplementation of limiting amino acids.

Key words: Olive flounder, Fish meal, Acid-concentrated soybean meal, Digestibility, Replacement

서론

양어사료에서 단백질원료의 사용 비율은 매우 높으며, 이는 양어사료의 품질과 가격을 결정짓는 중요한 요인으로 작용한다. 어분은 높은 수준의 단백질과 우수한 아미노산 조성을 가지

고 있는 주요 단백질 사료원료로 특히 육식성 해산어류의 사료 내 첨가 비율(50-70%)이 매우 높다. 따라서 어획량 감소에 의한 가격상승으로 양어사료 내 어분을 대체할 수 있는 사료원료 개발에 대한 관심이 부각되고 있다(Yang et al., 2011; Song et al., 2014). 대두박은 다른 식물성원료와 비교하여 상대적으로 높은

<http://dx.doi.org/10.5657/KFAS.2014.0824>



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.

Kor J Fish Aquat Sci 47(6) 824-831, December 2014

Received 22 October 2014; Revised 4 November 2014; Accepted 13 November 2014

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

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

단백질 함량과 우수한 아미노산 조성을 가지고 있으며 어분에 비해 가격이 저렴하여 가장 효율적으로 어분을 대체할 수 있는 것으로 알려져 있다(Storebakken et al., 2000; Leenhouders et al., 2006; Gatlin et al., 2007). 하지만 대두박에는 영양소의 소화와 흡수를 저해시키는 protease inhibitor, tannins, lectins 및 non-starch polysaccharides와 같은 항영양인자(antinutritional factors, ANF)를 포함하고 있어 어류의 성장에 부정적인 영향을 미침으로써 양어사료원료로서의 사용에 많은 제약이 따른다(Francis et al., 2001). ANF는 열처리, 용매추출 또는 생물학적처리(bioprocess) 등을 통해 함량을 낮추고 제거하거나 불활성화시킬 수 있다(Rumsey et al., 1994; Buttle et al., 2001; Refstie et al., 1998, 2005). 최근에는 대두박의 어분대체 효율을 높이기 위해 대두박에 별도의 가공처리를 하여 이용성을 높이는 연구가 수행되고 있다. 분리대두단백(soy protein isolates, SPI), 농축대두단백(soy protein concentrates, SPC), 고단백대두박(high protein soybean meal, HSB)은 주요 대두가공품(soy products)으로 주목 받고 있다(Chou et al., 2004; Glencross et al., 2005). 이와 같은 대두가공품은 상대적으로 높은 단백질과 낮은 탄수화물 및 섬유소를 함유하고 있어 다른 식물성 사료원료에 비해 이용성이 높은 것으로 알려져 있다(Ao, 2011; Cavins et al., 1972).

산 가수분해 농축대두박(acid-concentrated soybean meal, ACSBM)은 어분대체 효율 및 생체 내 이용성을 높이기 위해 탈지대두박(defatted soybean meal)을 산 가수분해 방법을 통

해 가공처리하여 생산되었다. 일반적으로 대두박을 열처리(steaming 및 roasting) 및 산과 알코올을 이용하여 가공처리하면 oligosaccharides, lectins, soya antigens, phytase 및 trypsin inhibitors와 같은 ANF의 함량이 감소하는 것으로 보고되고 있다(Refstie et al., 1998; Watson et al., 2014). 본 연구는 넙치 치어를 대상으로 가공처리 시킨 산 가수분해 농축대두박이 일반 대두박과 비교하여 이용성이 향상되었는지를 *in vivo* 소화율 시험을 통해 검증하고, 사료 내 어분 단백질의 대체 가능성을 알아 보고자 수행되었다.

재료 및 방법

산 가수분해 농축대두박 제조 공정

실험에 사용된 산 가수분해 농축대두박(단백질 67.0%, 지방 3.4%, 회분 3.5%)은 CJ 제일제당에서 제공받았다. 탈지대두박 중량에 5배의 증류수를 가수한다. 그 후 혼합하면서 1 N HCl을 첨가하여 pH 4.5 수준으로 조성하였다. 조성물을 30분간 실온에서 교반한 후 원심분리기를 이용하여 5,000 g에서 20분간 원심분리하여 상등액을 제거하였으며, 회수된 침전물을 동결건조하여 산 가수분해 농축대두박(ACSBM) 분말을 제조하였다.

실험사료

실험에 사용된 산 가수분해 농축대두박(단백질 67.0%, 지방 3.4%, 회분 3.5%)은 CJ 제일제당으로부터 제공되었다. 실험사

Table 1. Formulation and proximate composition of the experimental diets for olive flounder *Paralichthys olivaceus*

| Ingredients | Diets | | | | | |
|------------------------------|--------|---------|---------|---------|---------|---------|
| | ACSBM0 | ACSBM20 | ACSBM30 | ACSBM40 | ACSBM50 | ACSBM60 |
| Fish meal | 50.0 | 40.0 | 35.0 | 30.0 | 25.0 | 20.0 |
| ACSBM ¹ | 0.0 | 10.0 | 15.0 | 20.0 | 25.0 | 30.0 |
| Soybean meal | 6.0 | 6.0 | 6.0 | 6.0 | 6.0 | 6.0 |
| Corn gluten meal | 6.0 | 6.2 | 6.4 | 6.6 | 6.7 | 6.9 |
| Wheat flour | 25.5 | 24.7 | 24.0 | 23.4 | 23.0 | 22.4 |
| Fish oil | 10.0 | 10.6 | 11.1 | 11.5 | 11.8 | 12.2 |
| Mineral mix ² | 1.0 | 1.0 | 1.0 | 1.0 | 1.0 | 1.0 |
| Vitamin mix ³ | 1.0 | 1.0 | 1.0 | 1.0 | 1.0 | 1.0 |
| Choline chloride | 0.5 | 0.5 | 0.5 | 0.5 | 0.5 | 0.5 |
| <i>Proximate composition</i> | | | | | | |
| Protein (% DM) | 49.6 | 49.6 | 49.1 | 49.1 | 49.3 | 49.3 |
| Lipid (% DM) | 15.7 | 16.1 | 15.3 | 16.1 | 15.7 | 16.5 |
| Ash (% DM) | 9.5 | 8.1 | 7.6 | 6.8 | 6.3 | 5.6 |

¹Acid-concentrated soybean meal (ACSBM) was provided by CJ CheilJedang Corp. ²MgSO₄·7H₂O, 80.0; NaH₂PO₄·2H₂O, 370.0; KCl, 130.0; Ferric citrate, 40.0; ZnSO₄·7H₂O, 20.0; Ca-lactate, 356.5; CuCl, 0.2; AlCl₃·6H₂O, 0.15; Na₂Se₂O₃, 0.01; MnSO₄·H₂O, 2.0; CoCl₂·6H₂O, 1.0. ³L-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-D₃-pantothenate, 12.7; myo-inositol, 181.8; D₃-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.

료제작에 사용된 사료조성표와 실험사료의 일반성분은 Table 1에 나타내었으며 실험사료의 아미노산 조성은 Table 2에 나타내었다. 실험사료는 어분을 기초로 한 사료를 대조구로 하였으며 ACSBM으로 어분단백질을 20%, 30%, 40%, 50% 및 60% 대체하여 총 6개의 실험사료를 제작하였다(ACSBM0, ACSBM20, ACSBM30, ACSBM40, ACSBM50 및 ACSBM60). 실험사료는 우선 사료원들을 혼합기에 넣어 완전히 섞은 다음, 어유를 첨가한 뒤 사료원 총량의 30%에 해당하는 증류수를 첨가하여 사료혼합기(NVM-14-2P, Daeyoung, Korea)로 혼합, 반죽하였다. 혼합반죽물은 소형초파기(SMC-12, Kuposlice, Busan, Korea)를 이용하여 알맞은 크기로 뽑아내었다. 실험사료는 건조기를 이용하여 24 h 동안 건조시켜 사료 공급 전까지 -20°C에 보관하면서 사용하였다.

실험어 및 사육관리

실험에 사용된 넙치치어는 제주도내에 위치한 종묘배양장 우도수산에서 구입하여 제주대학교 소속 해양과환경연구소로 이송하였다. 실험어류는 2주 동안 시판 배합사료를 공급하면서 실험환경에 적응할 수 있도록 순치되었다. 예비사육 후 넙치(초기 평균무게: 14.3 ± 0.03 g)는 총 18개의 150 L 원형 플라스틱 수조에 각 수조 당 40마리씩 무작위로 선택하여 배치되었다. 사육수는 모래여과해수를 사용하여 2-3 L/min의 유수량이 공급되도록 조절하였고 모든 실험수조에 용존산소 유지를 위하여 에어스톤을 설치하였다. 사육수온은 자연수온(15-22°C)에 의존

하였으며 광주기는 형광등을 이용하여 12-h light/12-h dark로 유지되었으며 실험사료 공급은 1일 2회(08:00 h 및 18:00 h)만 복공급을 하였다. 어류무게측정은 매 3주마다 실시하였으며 측정 24 h 전에 실험어류의 스트레스를 줄이기 위해 모든 실험어류를 절식시켰다. 사료공급실험은 총 12주간 진행되었다.

샘플수집 및 분석

실험종료 후 실험어류의 최종 무게를 측정하여 증체율(weight gain), 일간성장률(specific growth rate), 사료전환효율(feed conversion ratio), 단백질이용효율(protein efficiency ratio) 및 생존율(survival)을 산출하였다. 최종무게 측정 후 수조당 3마리의 어류를 무작위로 선별하여 2-phenoxyethanol (200 ppm)용액으로 마취 시킨 후 헤파린 처리된 주사기를 이용하여 미부동맥에서 채혈을 하였다. 채혈된 전혈은 hematocrit, hemoglobin 분석에 사용되었다. 분석 후 남은 혈액은 원심분리기를 이용하여 혈장을 분리한 후 alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST) 분석을 실시하였다. Hematocrit은 microhematocrit technique 방법으로 분석하였으며, hemoglobin, ALT, AST, protein 및 glucose 함량은 자동생화학 분석기(Express plus system, Bayer, USA)를 이용하여 측정하였다.

실험사료의 일반성분 분석은 AOAC (1995) 방법에 따라 수분은 상압가열건조법(125°C, 3 h), 회분은 직접회화법(550°C, 6 h), 조단백질은 자동조단백질 분석기(Kjeltec system 2300,

Table 2. Amino acid composition (% protein) of the experimental diets for olive flounder *Paralichthys olivaceus*

| Amino acids | Diets | | | | | |
|---------------|--------|---------|---------|---------|---------|---------|
| | ACSBM0 | ACSBM20 | ACSBM30 | ACSBM40 | ACSBM50 | ACSBM60 |
| Arginine | 6.07 | 6.53 | 6.21 | 6.08 | 6.52 | 5.94 |
| Histidine | 2.45 | 2.72 | 2.75 | 2.52 | 2.83 | 1.25 |
| Isoleucine | 4.61 | 4.97 | 4.71 | 4.77 | 5.27 | 4.44 |
| Leucine | 8.08 | 7.81 | 7.32 | 7.63 | 7.43 | 8.56 |
| Lysine | 5.40 | 5.00 | 5.06 | 4.71 | 4.42 | 5.59 |
| Methionine | 0.94 | 0.76 | 0.68 | 0.61 | 0.53 | 0.48 |
| Phenylalanine | 4.72 | 5.36 | 5.15 | 5.11 | 5.83 | 4.99 |
| Threonine | 4.60 | 4.72 | 4.62 | 4.46 | 4.84 | 3.67 |
| Valine | 5.02 | 4.95 | 4.61 | 4.77 | 4.72 | 4.73 |
| Aspartic acid | 9.83 | 9.30 | 9.02 | 9.17 | 9.44 | 11.0 |
| Glutamic acid | 13.9 | 12.9 | 12.8 | 13.4 | 13.1 | 17.7 |
| Serine | 4.91 | 4.61 | 4.69 | 4.97 | 4.85 | 5.37 |
| Proline | 12.6 | 13.7 | 17.5 | 16.4 | 15.6 | 12.2 |
| Glycine | 6.22 | 5.78 | 5.30 | 5.22 | 5.13 | 5.11 |
| Alanine | 7.07 | 6.67 | 6.19 | 6.26 | 6.03 | 5.78 |
| Tyrosine | 2.69 | 2.98 | 2.82 | 2.75 | 3.24 | 2.68 |
| Cystine | 0.86 | 1.13 | 0.55 | 1.17 | 0.21 | 0.53 |

Sweden)로 분석하였으며, 조지방은 Folch et al. (1959)의 방법에 따라 Soxhlet 추출장치(Soxhlet heater system C-SH6, Korea)를 이용하여 분석하였다. 실험사료의 아미노산 분석은 Sycom S-433D automatic amino acid analyzer (Sykam, Eresing, Germany)를 이용하여 분석되었다.

사료원료의 외관상소화율 측정

실험사료원료(산 가수분해 농축대두박, 어분, 대두박)의 외관상소화율을 조사하기 위해 실험사료원을 기초로 참고사료(reference diet)와 실험사료(test diets)를 제작하여 사용하였다. 참고사료 조성표는 Table 5에 나타내었다. 실험사료는 참고사료와 실험사료원료를 7:3의 비율로 혼합하여 제작되었다. 소화율을 분석하기 위한 지시제(indicator)로 chromium oxide (Cr_2O_3 , Sigma-Aldrich)를 사용하였으며 참고사료와 실험사료에 각각 1.0%가 포함되도록 설계되었다.

실험어류는 2주 동안 분 수집장치(Guelph system)수조에서 참고사료를 공급하면서 실험환경에 적응할 수 있도록 순치시킨 후 소화율실험에 사용하였다. 넙치 치어(초기평균무게: 50.6 ± 2.4 g)는 총 6개의 400 L Guelph system 분 수집장치 수조에 각 수조 당 60마리씩 무작위로 선택하여 배치하였다. 사육수는 1차적으로 모래 여과된 해수를 다시 카트리지필터가 장착된 하우징을 설치하여 2차 여과기를 통과시키면서 1 L/min의 유수량이 되도록 조절하였다. 사료공급은 매일 17:00 h에 반복 공급 하였으며 사료공급 후 수조 내 이물질 제거를 위해 환수를 실시하였다. 익일 09:00 h에 분(feces) 수집장치에 모인 분을 채집하였다. 채집된 분은 여과지(110 mm, F1093-110, Chmlab)를 이용하여 해수를 제거하여 $-70^\circ C$ 에 보관한 뒤 동결건조하여 분석에 사용되었다. 분 채집은 총 10일 간 실시하였으며 사육수 온은 자연수온($19-22^\circ C$)에 의존하였다.

실험사료와 분에서 지시제로 사용된 chromium oxide 함량은 Divakaran et al. (2002)의 방법을 토대로 분석되었다. 샘플을 회화로($550^\circ C$)에서 3 h 동안 회화시킨 후 얻어진 시료를 분석에 사용하였다. 먼저 chromium oxide를 mono-chromate 형태로 산화시키기 위해 샘플 5-10 mg을 측정하여 glass test tube에 옮긴다. 시료가 담긴 glass test tube에 perchloric reagent 4 mL를 첨가한다. Perchloric reagent는 100 mL의 증류수에 200 mL의 질산을 혼합한 후, 냉각시킨 다음 70% perchloric acid 200 mL을 혼합하여 만든다. 시료와 perchloric reagent가 첨가된 glass test tube를 가열판에 넣고 $300^\circ C$ 에서 20분간 가열한 후 실온에서 방냉시킨다. 전처리가 끝난 샘플은 50 mL 유리플라스크에 옮긴 후 3차 증류수로 25 mL가 되도록 정량한다. 그 후 분광광도계(Beckman DU-730, USA)를 이용하여 350 nm에서 흡광도를 측정하였다. 측정된 흡광도는 시료분석과 같이 전처리된 Standard 용액으로 만들어진 standard 방정식을 이용하여 시료의 Chromium oxide 함량을 계산하였다.

사료원료 소화율은 다음과 같은 방법으로 계산되었다.

참고사료 및 실험사료의 영양소 소화율(%)

$$=100 \times [1 - (\text{사료내 지시제 \%} / \text{분내 지시제 \%}) \times (\text{분내 영양소 \%} / \text{사료내 영양소 \%})]$$

실험원료의 영양소 소화율(%)

$$= [(\text{사료내 영양소 함량} \times \text{실험사료의 영양소 소화율}) - (0.7 \times \text{참고사료의 영양소 함량} \times \text{참고사료의 영양소 소화율})] / [(1 - 0.7) \times \text{실험원료의 영양소 함량}]$$

통계학적 분석

실험사료의 배치는 완전확률계획법(Completely randomized design)을 실시하고, 성장 및 분석결과는 SPSS (Version 12.0) 프로그램을 이용하여 One-way ANOVA로 통계 분석된다. 데이터 값의 유의차는 Tukey's test ($P \leq 0.05$)로 비교되었다 데이터는 평균값 \pm 표준편차(mean \pm SD)로 나타내었다. 백분율 데이터는 arcsine 변형값으로 계산하여 통계 분석하였다.

결과 및 고찰

12주간 수행된 사료공급실험의 성장결과는 Table 3에 나타내었다. 증체율과 일간성장률 분석결과 어분 단백질을 20%에서 30%까지 대체한 ACSBM20, ACSBM30 실험구는 대조구인 ACSBMS0 실험구와 유의적인 차이를 보이지 않았으나, 40% 이상 실험구인 ACSBM40, ACSBM50 및 ACSBM60 실험구는 대체 함량이 증가함에 따라 ACSBM0 실험구에 비해 유의적으로 감소하였다. 단백질전환효율 역시 증체율과 같은 경향을 보였다. 사료전환효율의 경우 ACSBM20 실험구는 ACSBM0 실험구와 유의적인 차이를 보이지 않았으나 ACSBM30, ACSBM40, ACSBM50, ACSBM60 실험구는 ACSBM0 실험구에 비해 유의적으로 낮은 효율을 보였다. 사료섭취율은 ACSBM20과 ACSBM30이 대조구와 유의적인 차이를 보이지 않았으며, ACSBM40, ACSBM50, ACSBM60 실험구는 대조구 및 ACSBM20에 비해 유의적으로 낮은 섭취율을 보였다. 생존율은 모든 실험구에서 유의적인 차이를 보이지 않았다. 이상의 성장결과를 종합해 보면, 산 가수분해 농축 대두박을 이용하여 넙치 사료 내 어분단백질을 40%까지 대체하여도 성장에 대한 유의적인 차이가 없는 것으로 사료된다. 하지만 어분을 30% 이상 대체한 실험구의 성장이 경향적으로 감소되는 것으로 보아 장기간 실험이 진행될 경우 30% 이상 어분을 대체한 실험구의 성장이 유의적으로 감소될 것으로 예상된다. 대두박은 육식성 어류의 사료 내 어분을 20-30% 대체할 수 있는 것으로 보고되고 있다(Chou et al., 2004; Hernandez et al., 2007; Lim and Lee, 2008). Soy protein hydrolysates의 경우 강도다리 사료 내 어분을 85%까지 대체 할 수 있었으며(Song et al., 2014), Soy protein concentrate (SPC)의 경우 대서양 넙치(Atlantic halibut, Berge et al., 1999), 대서양 연어(Atlantic salmon, Refstie et al., 2001), 잉어(Common carp, Escaffre et al., 1997), 무지개송어(Rainbow trout, Médale et al., 1998; Mambrini et al.,

Table 3. Growth performance of olive flounder *Paralichthys olivaceus* fed the six experimental diets for 12 weeks¹

| | Diets | | | | | |
|----------------------|------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|------------------------|
| | ACSBM0 | ACSBM20 | ACSBM30 | ACSBM40 | ACSBM50 | ACSBM60 |
| IBW (g) ² | 14.2±0.1 | 14.3±0.0 | 14.2±0.0 | 14.3±0.0 | 14.3±0.1 | 14.2±0.0 |
| FBW (g) ³ | 49.7±0.5 ^c | 49.4±1.1 ^c | 45.6±1.7 ^{bc} | 44.7±0.9 ^b | 40.0±3.3 ^a | 36.1±0.9 ^a |
| WG (%) ⁴ | 249±3 ^c | 246±8 ^{bc} | 222±12 ^{bc} | 213±6 ^b | 180±24 ^a | 153±7 ^a |
| FCR ⁵ | 1.35±0.03 ^c | 1.36±0.10 ^{bc} | 1.42±0.08 ^{ab} | 1.45±0.04 ^{ab} | 1.71±0.20 ^a | 1.97±0.11 ^a |
| PER ⁶ | 1.48±0.04 ^c | 1.49±0.11 ^c | 1.44±0.08 ^c | 1.40±0.04 ^{bc} | 1.20±0.14 ^{ab} | 1.03±0.06 ^a |
| SGR (%) ⁷ | 1.69±0.01 ^b | 1.66±0.02 ^b | 1.61±0.01 ^b | 1.54±0.02 ^b | 1.39±0.11 ^a | 1.25±0.04 ^a |
| FI (g) ⁸ | 47.9±0.7 ^b | 47.7±2.4 ^b | 44.5±1.6 ^{ab} | 44.0±0.3 ^a | 43.4±0.6 ^a | 42.8±0.6 ^a |
| Survival (%) | 95.8±1.4 | 97.5±0.0 | 95.8±3.8 | 95.0±2.5 | 93.3±6.3 | 89.2±5.2 |

¹Mean values of triplicate groups, values are presented as mean ± SD. Values in the same row having different superscript letters are significantly different ($P < 0.05$). ²Initial mean body weight. ³Final mean body weight. ⁴Weight gain (%) = $100 \times (\text{final mean body weight} - \text{initial mean body weight}) / \text{initial mean body weight}$. ⁵Feed conversion ratio = dry feed fed/wet weight gain. ⁶Protein efficiency ratio = wet weight gain/total protein given. ⁷Specific growth rate (%) = $[(\log_e \text{ final body weight} - \log_e \text{ initial body weight}) / \text{days}] \times 100$. ⁸Feed intake (g) = dry feed fed/fish.

1999) 및 세네갈 서대(Senegalese sole, Aragão et al., 2003)의 사료 내 어분을 완전 또는 부분적(40-75%)으로 대체할 수 있는 것으로 보고되었다. 하지만 넙치와 Turbot에서 사료 내 SPC의 어분대체 비율은 본 연구결과와 유사한 25%로 상대적으로 낮은 것을 알 수 있었다(Day et al., 2000; Deng et al., 2006). 식물성사료원료의 어분대체 비율은 제한아미노산(methionine, lysine)의 첨가 여부, 실험사료조성 및 어중에 따라 다르게 나타날 수 있다(Deng et al., 2006). 본 연구는 별도의 제한아미노산(methionine)을 첨가하지 않은 실험사료를 사용하여 실험을 진행하였으며 어분대체 비율이 증가함에 따라 실험사료의 methionine 함량이 감소되는 것을 확인할 수 있었다(Table 2). 이러한 필수아미노산 함량의 변화에 따른 사료 내 추가 보충이 없어서 20% 이상 대체하였을 때 성장률이 감소된 것으로 판단된다. 따라서 산 가수분해 농축 대두박은 넙치 치어 사료 내 어분을 20%까지 안정적으로 대체할 수 있을 것으로 판단되며, 제한아미노산(methionine, lysine 등), 철, 인, phytase 등 첨가 시 20% 이상의 어분대체가 가능한지에 대한 추가 연구가 필요할

것으로 사료된다.

실험어류의 일반적인 건강도를 알아보기 위한 혈액학적 분석결과는 Table 4에 나타내었다. Hematocrit 분석결과 ACSBM20, ACSBM30 및 ACSBM40 실험구는 ACSBM0 실험구와 유의적인 차이를 보이지 않았으나 ACSBM50과 ACSBM60 실험구는 ACSBM0 실험구에 비해 유의적으로 감소하였다. Hemoglobin의 경우 ACSBM20과 ACSBM30 실험구는 ACSBM0 실험구와 유의적인 차이가 없었으며, ACSBM40, ACSBM50 및 ACSBM60 실험구는 ACSBM0 실험구에 비해 유의적으로 감소하였다. Glucose 수치는 ACSBM60 실험구가 ACSBM0과 ACSBM20 실험구에 비해 유의적으로 높았다. ALT, AST, protein 수치는 모든 실험구에서 유의적인 차이를 보이지 않았다. 혈액성분 분석은 어류의 건강도와 체내대사를 알아보기 위한 지표로 사용된다. ACSBM으로 어분대체 함량이 증가할수록 hematocrit, hemoglobin 수치는 유의적으로 감소하였으며, 이와 반대로 glucose 함량은 어분대체 함량이 증가함에 따라 유의적으로 증가하였다. ACSBM으로 어분

Table 4. Serological characteristics of olive flounder *Paralichthys olivaceus* fed the six experimental diets for 12 weeks¹

| | Diets | | | | | |
|-------------------|------------------------|------------------------|------------------------|-------------------------|-------------------------|------------------------|
| | ACSBM0 | ACSBM20 | ACSBM30 | ACSBM40 | ACSBM50 | ACSBM60 |
| Hematocrit (%) | 21.3±0.6 ^c | 20.1±1.2 ^c | 21.3±2.1 ^c | 19.1±0.2 ^{bc} | 16.8±0.7 ^{ab} | 15.7±1.2 ^a |
| Hemoglobin (g/dL) | 4.54±0.03 ^c | 4.60±0.20 ^c | 4.46±0.29 ^c | 4.29±0.35 ^{bc} | 3.74±0.21 ^{ab} | 3.52±0.35 ^a |
| ALT (U/L) | 32.9±5.5 | 34.3±3.6 | 41.0±8.4 | 38.2±7.7 | 34.0±8.7 | 29.7±6.4 |
| AST (U/L) | 11.5±1.8 | 13.0±1.4 | 12.6±1.1 | 10.1±1.5 | 10.5±1.3 | 10.7±3.3 |
| Protein (g/dL) | 4.23±0.12 | 3.76±4.08 | 4.08±0.46 | 4.20±0.91 | 4.76±0.25 | 4.49±0.23 |
| Glucose (mg/dL) | 18.5±0.7 ^a | 18.7±1.5 ^a | 22.8±4.7 ^{ab} | 22.6±2.6 ^{ab} | 26.8±3.5 ^{ab} | 29.5±6.6 ^b |

¹Mean values of triplicate groups, values are presented as mean ± SD. Values in the same row having different superscript letters are significantly different ($P < 0.05$).

Table 5. Formulation of the reference diet for digestibility test (% of DM basis)

| Ingredients | Contents |
|-----------------------------|----------|
| White fish meal | 42.5 |
| Soybean meal | 6.0 |
| Corn gluten meal | 6.0 |
| Wheat flour | 30.0 |
| Mineral mix ¹ | 1.0 |
| Vitamin mix ² | 1.0 |
| Yeast | 1.0 |
| Fish oil | 10.0 |
| Choline chloride | 0.5 |
| CMC | 1.0 |
| Chromium oxide ³ | 1.0 |
| Test ingredient | 0 |

¹MgSO₄·7H₂O, 80.0; NaH₂PO₄·2H₂O, 370.0; KCl, 130.0; Ferric citrate, 40.0; ZnSO₄·7H₂O, 20.0; Ca-lactate, 356.5; CuCl, 0.2; AlCl₃·6H₂O, 0.15; Na₂Se₂O₃, 0.01; MnSO₄·H₂O, 2.0; CoCl₂·6H₂O, 1.0.

²L-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.

을 대체하게 되면 어분과 비교하여 대두박에서 부족하기 쉬운 methionine 및 lysine 등 필수아미노산 등이 제한 아미노산으로 작용하고, 식물성단백질원이 가지고 있는 항영양인자의 함량이 증가하기 때문에 대체 함량이 증가함에 따라 유의적으로 낮은 hematocrit 및 hemoglobin 수치를 보인 것으로 판단된다. 또한 대체 함량이 증가함에 따라 사료섭취율 역시 유의적으로 감소하는 것을 알 수 있었다. 식물성 원료인 ACSBM의 함량이 증가함에 따라 기호성이 떨어져 결국 사료섭취량이 감소한 것도 영향을 미친 것으로 판단된다. 이와 반대로 ACSBM50과 ACSBM60 실험구에서는 유의적으로 높은 glucose수치를 보였다. Glucose는 어류의 체내 대사가 원활할 때 그 값이 감소한다고 보고되고 있으며(Gordon, 1968), 스트레스를 받으면 그 값이 증가하여 스트레스의 지표로도 활용되기도 한다. 이 결과 역시 ACSBM으로 어분의 대체함량이 증가함에 따라 사료섭취량이 감소하고, 필수아미노산의 함량이 감소함에 따라 영양대사 불균형으로부터 기인한 것으로 사료된다.

사료원료의 외관상 소화율 분석결과 Table 6에 나타내었다. 건물 소화율은 어분이 대두박과 ACSBM에 비해 유의적으로 높은 값을 보였다. 단백질 소화율의 경우 어분이 91.5%로 가장 높았으며 ACSBM은 85.9%로 일반 대두박(82.5%)에 비해 다소 높은 값을 나타내었다. 따라서 산 처리를 통한 가수분해 방

Table 6. Apparent digestibility coefficient (% ADC) of dry matter and protein in the test ingredient determined by fecal collection method (Guelph system) for olive flounder *Paralichthys olivaceus*¹

| Test ingredient | Acid-concentrated soybean meal | Fish meal | Soybean meal |
|--------------------------------|--------------------------------|------------------------|------------------------|
| <i>ADC of test ingredients</i> | | | |
| Dry matter (%) | 57.7±8.0 ^a | 82.0±14.6 ^b | 58.3±17.6 ^a |
| Protein (%) | 85.9±1.3 | 91.5±7.7 | 82.5±7.8 |

¹Mean values of triplicate groups, values are presented as mean ± SD. Values in the same row having different superscript letters are significantly different (P< 0.05).

법으로 농축시킨 가공처리 방법은 일반 탈피대두박의 소화율을 향상시켜 그 이용성을 높일 수 있는 가공처리 방법이라 판단된다.

연구결과를 종합해 보면, 산 가수분해 농축 대두박은 넙치 치어 사료 내 어분을 20%까지 대체할 수 있을 것으로 판단되며, 산 가수분해 방법은 일반 대두박의 이용성을 보다 더 향상시킬 수 있는 가공방법으로 판단된다. 향후 제한아미노산 등을 첨가하여 어분을 보다 더 대체할 수 있는 추가 연구가 수행되어야 할 것으로 판단된다.

사 사

이 연구는 국립수산물연구원(친환경 실용배합사료 개발 및 품질관리 연구, RP-2014-AQ-126) 및 CJ 제일제당의 지원에 의해 연구되었습니다. 실험원료의 소재인 산 가수분해 농축대두박 원료를 제공해 준 CJ 제일제당 소재연구소의 지원에 감사드립니다.

References

Ao T. 2011. Using exogenous enzymes to increase the nutritional value of soybean meal in poultry diet. In: El-Shemy H, Ed. Soybean and Nutrition. InTech, New York, USA, 201-214.

AOAC (Association of Official Analytical Chemists), 1995. Official Methods of Analysis. 16th edn. Association of Official Analytical Chemists, Arlington, Virginia, USA.

Aragão C, Conceição LEC, Dias J, Marques AC, Gomes E and Dinis MT. 2003. Soy protein concentrate as a protein source for Senegalese sole (*Solea senegalensis* Kaup 1858) diets: effects on growth and amino acid metabolism of postlarvae. Aquac Res 34, 1443-1452. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2109.2003.00971.x>.

Berge GM, Grisdale-Helland B and Helland SJ. 1999. Soy protein concentrate in diets for Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*). Aquaculture 178, 139-148. [http://dx.doi.org/10.1016/S0044-8486\(99\)00127-1](http://dx.doi.org/10.1016/S0044-8486(99)00127-1).

- Buttle LG, Burrells AC, Good JE, Williams PD, Southgate PJ and Burrells C. 2001. The binding of soybean agglutinin (SBA) to the intestinal epithelium of Atlantic salmon, *Salmo salar* and Rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, fed high levels of soybean meal. *Vet Immunol Immunopathol* 80, 237-244. [http://dx.doi.org/10.1016/S0165-2427\(01\)00269-0](http://dx.doi.org/10.1016/S0165-2427(01)00269-0).
- Cavins JF, Kwolek WF, Inglett GE and Cowan JC. 1972. Amino acid analysis of soybean meal: interlaboratory study. *J Assoc Off Anal Chem* 55, 686-691.
- Chou RL, Her BY, Su MS, Hwang G, Wu YH and Chen HY. 2004. Substituting fish meal with soybean meal in diets of juvenile cobia *Rachycentron canadum*. *Aquaculture* 229, 325-333. [http://dx.doi.org/10.1016/S0044-8486\(03\)00395-8](http://dx.doi.org/10.1016/S0044-8486(03)00395-8).
- Day OJ and Plascencia González HG. 2000. Soybean protein concentrate as a protein source for turbot *Scophthalmus maximus* L. *Aquacult Nutr* 6, 221-228. <http://dx.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. <http://dx.doi.org/10.1016/j.aquaculture.2006.04.004>.
- Divakaran S, Leonard GO, and Ian PF. 2002. Note on the methods for determination of chromic oxide in shrimp feeds. *J Agric Food Chem* 50, 464-467. <http://dx.doi.org/10.1021/jf011112s>.
- Escaffre AM, Zambonino Infante JL, Cahu CL, Mambrini M, Bergot P and Kaushik SJ. 1997. Nutritional value of soy protein concentrate for larvae of common carp (*Cyprinus carpio*) based on growth performance and digestive enzyme activities. *Aquaculture* 153, 63-80. [http://dx.doi.org/10.1016/S0044-8486\(97\)00010-0](http://dx.doi.org/10.1016/S0044-8486(97)00010-0).
- 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.
- Francis G, Makkar HPS and Becker K. 2001. Antinutritional factors present in plant-derived alternate fish feed ingredients and their effects in fish. *Aquaculture* 199, 197-227. [http://dx.doi.org/10.1016/S0044-8486\(01\)00526-9](http://dx.doi.org/10.1016/S0044-8486(01)00526-9).
- Gatlin III DM, Barrows FT, Brown P, Dabrowski K, Gaylord TG, Hardy RW, Hermen E, Hu G, Kroghdahl A, Nelson R, Overturf 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. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2109.2007.01704.x>.
- Glencross B, Evans D, Dods K, McCafferty P, Hawkins W, Maas R and Sipsas S. 2005. Evaluation of the digestible value of lupin and soybean protein concentrates and isolates when fed to rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, using either stripping or settlement faecal collection methods. *Aquaculture* 245, 211-220. <http://dx.doi.org/10.1016/j.aquaculture.2004.11.033>.
- Bell GR. 1968. Distribution of transaminase (Aminotransferases) in the tissues of the pacific salmon (*Oncorhynchus*), with emphasis on the properties and diagnostic use of glutamic oxaloacetic transaminase. *J Fish Res Bd Can* 25, 1247-1268. <http://dx.doi.org/10.1139/f68-108>.
- Hernandez MD, Martínez FJ, Jover M and Garcia Garcia B. 2007. Effects of partial replacement of fish meal by soybean meal in sharpnose seabream (*Diplodus puntazzo*) diet. *Aquaculture* 263, 159-167. <http://dx.doi.org/10.1016/j.aquaculture.2006.07.040>.
- Leenhouders JI, Adjei-Boateng D, Verreth JAJ and Schrama JW. 2006. Digesta viscosity, nutrient digestibility and organ weights in African catfish (*Clarias gariepinus*) fed diets supplemented with different levels of a soluble non-starch polysaccharide. *Aquacult Nutr* 12, 111-116. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2095.2006.00389.x>.
- Lim SJ and Lee KJ. 2008. Supplemental iron and phosphorus increase dietary inclusion of cottonseed and soybean meal in olive flounder (*Paralichthys olivaceus*). *Aquacult Nutr* 14, 423-430. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2095.2007.00546.x>.
- Mambrini M, Roem AJ, Cravèdi JP, Lallès JP and Kaushik SJ. 1999. Effects of replacing fishmeal with soy protein concentrate and of DL-methionine supplementation in high-energy, extruded diets on the growth and nutrient utilization of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *J Anim Sci* 77, 2990-2999.
- Médale F, Boujard T, Vallée F, Blanc D, Mambrini M, Roem A and Kaushik SJ. 1998. Voluntary feed intake, nitrogen and phosphorus losses in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed increasing dietary levels of soy protein concentrate. *Aquat Living Resour* 11, 239-246. [http://dx.doi.org/10.1016/S0990-7440\(98\)89006-2](http://dx.doi.org/10.1016/S0990-7440(98)89006-2).
- Refstie S, Sahlström S, Bråthen E, Baeverfjord G and Krogedal P. 2005. Lactic acid fermentation eliminates indigestible carbohydrates and antinutritional factors in soybean meal for Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Aquaculture* 246, 331-345. <http://dx.doi.org/10.1016/j.aquaculture.2005.01.001>.
- Refstie S, Storebakken T, Baeverfjord G and Roem AJ. 2001. Long-term protein and lipid growth of Atlantic salmon (*Salmo salar*) fed diets with partial replacement of fish meal by soy protein products at medium or high lipid level. *Aquaculture* 193, 91-106. [http://dx.doi.org/10.1016/S0044-8486\(00\)00473-7](http://dx.doi.org/10.1016/S0044-8486(00)00473-7).
- Refstie S, Storebakken T and Roem AJ. 1998. Feed consumption and conversion in Atlantic salmon (*Salmo salar*) fed diets with fish meal, extracted soybean meal or soybean meal with reduced content of oligosaccharides, trypsin inhibitors, lectins and soya antigens. *Aquaculture* 162, 301-312. [http://dx.doi.org/10.1016/S0044-8486\(98\)00222-1](http://dx.doi.org/10.1016/S0044-8486(98)00222-1).

- Rumsey GL, Siwicki AK, Anderson DP and Bowser PR. 1994. Effect of soybean protein on serological response, non-specific defense mechanisms, growth, and protein utilization in rainbow trout. *Vet Immunol Immunopathol* 41, 323-339. [http://dx.doi.org/10.1016/0165-2427\(94\)90105-8](http://dx.doi.org/10.1016/0165-2427(94)90105-8).
- Song Z, Li H, Wang J, Li P, Sun Y and Zhang L. 2014. Effects of fishmeal replacement with soy protein hydrolysates on growth performance, blood biochemistry, gastrointestinal digestion and muscle composition of juvenile starry flounder (*Platichthys stellatus*). *Aquaculture* 427, 96-104. <http://dx.doi.org/10.1016/j.aquaculture.2014.01.002>.
- Storebakken T, Refstie S and Ruyter B. 2000. Soy products as fat and protein sources in fish diets for intensive aquaculture. In: Drackley, J. K, Ed. *Soy in Animal Nutrition*. Federation of Animal Science Societies, Savoy, IL, 127-170.
- Watson AM, Buentello A and Place AR. 2014. Partial replacement of fishmeal, poultry by-product meal and soy protein concentrate with two non-genetically modified soybean cultivars in diets for juvenile cobia, *Rachycentron canadum*. *Aquaculture* 434, 129-136. <http://dx.doi.org/10.1016/j.aquaculture.2014.08.003>.
- Yang YH, Wang YY, Lu Y and Li QZ. 2011. Effect of replacing fish meal with soybean meal on growth, feed utilization and nitrogen and phosphorus excretion on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquacult Int* 19, 405-419. <http://dx.doi.org/10.1007/s10499-010-9359-y>.