

익스트루전 압력과 사료원료의 입자크기를 조절한 배합사료가 치어기 넙치 (*Paralichthys olivaceus*)의 성장에 미치는 영향

조정현 · 이봉주* · 허상우 · 이승형 · 김강웅¹ · 임상구 · 손맹현

국립수산과학원 사료연구센터, ¹국립수산과학원 양식관리과

Effects of Extrusion Pressure and Feed Ingredient Particle Size on Growth Performance in Olive Flounder *Paralichthys olivaceus*

Jeong-Hyeon Cho, Bong-Joo Lee*, Sang-Woo Hur, Seunghyung Lee, Kang-Woong Kim¹, Sang-Gu Lim and Maeng-Hyun Son

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

¹Aquaculture Management Division, National Institute of Fisheries Science, Busan 46083, Korea

This study was conducted to investigate the effects of extrusion pressure and particle size of feed ingredients on the growth performance and plasma hormone activity in juvenile olive flounder *Paralichthys olivaceus*. Experimental diets were prepared with extrusion pressure manipulated by screw speed [low pressure (LP), 885 rpm/min; high pressure (HP), 708 rpm/min] and different dietary particle sizes [specific surface area: small (SS), 169.9 m²/kg; large (LS), 67.4 m²/kg] in a two-level factorial design. Four experimental diets (LP+SS, LP+LS, HP+SS, and HP+LS) were randomly assigned to 12 tanks (3 replicates) stocked with 20 fish (initial weight, 57 g) per tank. After a 4-week feeding trial, the observable trends of the main effects of extrusion pressure and particle size on growth performance showed that LP and SS enhanced fish weight gain. The plasma insulin-like growth factor-I level was significantly higher in fish fed the LP+SS diet than in fish fed the HP+SS diet. These results indicate that manipulation of the physical qualities of feed through adjustment of extrusion pressure and feed ingredient particle size may influence the growth performance of juvenile olive flounder, which should be considered in feed manufacture.

Key words: Olive flounder, Extrusion pressure, Particle size, Growth performance, Plasma hormone

서론

국내 수산업은 1980년대를 기점으로 연근해 어획량이 정체 또는 감소한 반면, 양식업은 80년대 후반에 넙치 완전양식기술이 개발되면서 해산어류를 중심으로 어류양식 생산량은 증가하였다(FAO, 2018). 2017년 기준 국내 어류양식 생산량은 109,732톤이며, 이중 해산어류 양식생산량이 86,399톤으로 79%를 차지하고 있다. 넙치의 생산량은 2017년에 41,207톤으로 해산어류 양식생산량의 47%에 해당되며(Statistics Korea, 2018), 넙치는 국가 전략품종으로 육성하기 위한 선발육종(Min et al., 2010), 사료 및 백신 개발(Sohn et al., 2002; Kwon et al., 2014) 등 많은 연구들이 국가기관 및 학계의 연구기관에

서 수행되고 있다. 특히 사료 분야는 정부에서 지속 가능한 양식 산업 발전을 위해 2004년부터 배합사료 사용 활성화 정책을 추진하고 있으며, 지난 15년간 연구개발을 통한 배합사료의 품질이 대폭 개선되었다. 이와 같이 배합사료의 품질이 개선되었음에도 불구하고 양식용 생사료의 사용률은 2017년 기준 75.8%에 비하여 배합사료의 사용률은 24.2%이며, 넙치용 배합사료의 사용률은 약 9%에 머물고 있다.

넙치용 배합사료의 품질개선에 관한 연구는 기초영양소 요구량 구명, 사료원료 탐색 및 배합비 개발 위주로 수행되었다(Lee et al., 2000; Kim et al., 2002; Lee and Kim, 2005). 그러나 양식 배합사료의 품질을 향상시키기 위해서는 사료영양 관련 기초연구와 함께 사료가공 및 물성조절도 중요하게 고려되어야

*Corresponding author: Tel: +82. 54. 230. 3625 Fax: +82. 54. 232. 3697

E-mail address: bonglee@korea.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.2019.0247>

Korean J Fish Aquat Sci 52(3), 247-255, June 2019

Received 15 April 2019; Revised 2 May 2019; Accepted 13 May 2019

저자 직위: 조정현(박사 후 연구원), 이봉주(연구사), 허상우(연구사), 이승형(연구사), 김강웅(연구관), 임상구(연구관), 손맹현(연구관)

한다. 특히, 익스트루더(extruder) 공정 조건에 따라 사료의 물리적 특성이 달라지며, 이는 대상 양식어종의 사료 기호성, 섭취량 및 소화율에 영향을 주기 때문에 양식어류의 성장 및 생산성에 직접적인 원인이 될 수 있다(Behnke, 1996; Refstie et al., 2006; Sørensen et al., 2009, 2010, 2011; Glencross et al., 2011a; Draganovic et al., 2011; Kraugerud and Svihus, 2011; Kraugerud et al., 2011). 익스트루더와 관련한 사료공정 및 물성조절 연구는 장비에 대한 접근성이 힘들며, 사료 제조를 위한 비용이 많이 발생하기 때문에 실험규모로 제한적인 연구결과만 보고되고 있다. 국내에서도 관련된 연구가 일부 보고되었을 뿐이다(Lee, 2011; Kim et al., 2014). 따라서, 넙치용 배합사료의 품질개선을 위해서는 익스트루더를 이용한 사료가공 및 물성조절 연구를 수행할 필요성이 있다.

익스트루더 압출성형 기술은 약 1세기 동안 양어용 사료제조 산업에서 이용되어 왔으며(Hardy and Barrows, 2000), 국내의 양어용 배합사료 제조도 익스트루더를 이용하여 생산되고 있다. 익스트루더는 생산 과정 중 가열과 함께 수분함량, 압력, 온도 및 기계적 전단과정을 동반하기 때문에(Hardy and Barrows, 2000), 가공조건을 조절하여 사료의 품질 개선이 가능하다(Barrows et al., 2007). 익스트루더 기술을 응용한 양어용 배합사료(extruded pellet, EP)의 품질 개선연구는 온도조절에 의한 원료의 이용성 향상 연구(Bangoula et al., 1993; Satoh et al., 1997, 1998, 2002)가 일부 수행 되었다. 그러나 넙치 EP사료의 사료원료 입자크기와 익스트루전 압력 조절의 상호관계에 관한 선행연구는 보고된 바가 없다. 또한 사료 단백질이 어류의 대사에 미치는 영향에 관한 연구가 일부 수행되었으나(Nam et al., 2001; An et al., 2012), 사료 물성 조절에 의한 성장호르몬 활성에 관한 연구는 전무한 실정이다. 따라서 이 연구는 원료 입자크기와 익스트루더 압출 압력을 조절하여 제조한 배합사료가 넙치의 성장 및 성장호르몬에 미치는 영향을 조사하기 위하여 수행하였다.

재료 및 방법

실험사료

실험사료의 배합비를 Table 1에 나타내었다. 실험사료는 주 단백질원으로 칠레산 멸치어분 및 지질원으로 어유를 사용하였다. 실험 배합사료의 조단백질 함량은 건물기준으로 54.7%, 조지방 함량은 건물기준으로 9.1%이었다(Table 1). 실험사료의 압력조절은 익스트루더(twin-screw extruder, ATX-II, Fresco, Korea)의 베럴 온도(barrel temperature, 115-130°C), 컨디셔너 온도(conditioner temperature, 80°C), 스팀(steam, 31.6 kg/h) 및 원료 공급량(feed rate, 50 kg/h)을 동일하게 유지하고 스크류속도(rpm/min)만을 이용하여 조절하였다[저압력: low pressure (LP), 885 rpm/min; 고압력: high pressure (HP), 708 rpm/min]. 원료의 입자도는 분체기(Air Classifier Mill, XP 50, KM

teck, Korea)의 디스크(disk, rpm/min)와 로터(rotor, rpm/min)의 속도를 조절하여, 소입자(small size, SS; 비표면적 169.9 m²/kg) 및 대입자(large size, LS; 67.4 m²/kg)로 분체한 총 4종의 실험사료(LP+SS, 저압력+소입자; LP+LS, 저압력+대입자; HP+SS, 고압력+소입자; HP+LS, 고압력+대입자)를 제조하였다(Table 2). 실험사료의 유리아미노산 함량을 Table 3에 나타내었다.

실험사료 물성측정

용적중(bulk density)은 실험사료를 1 L 용량의 플라스틱 용기에 채우고 무게를 측정하여 단위 부피당 무게로 계산하였다. 부상시간(floating time)은 실험사료를 해수면에 부상시켜 1시간 동안의 표류시간을 측정하였다. 수분흡착도(water absorption)는 사육실험에 사용된 동일한 수조 환경에서 실험사료를 사육수에 노출시키고, 10분이 경과한 시점에서 실험사료를 수거하여 사료 공급 전, 후의 무게 차이를 백분율로 나타내었다(Table

Table 1. Formulation of the test diet and its nutrient composition

| | Diet |
|------------------------------------|------|
| Ingredients (%) | |
| Chilean anchovy meal | 55.0 |
| Krill meal | 5.0 |
| Defatted soybean meal | 6.0 |
| Wheat gluten | 5.0 |
| Wheat flour | 21.4 |
| Choline chloride | 0.5 |
| Stay-C | 0.1 |
| Mineral mixture ¹ | 2.0 |
| Vitamin mixture ² | 2.0 |
| Fish oil | 3.0 |
| Proximate composition (dry-matter) | |
| Moisture | 6.1 |
| Crude protein | 54.7 |
| Crude lipid | 9.1 |
| Crude ash | 14.6 |
| Gross energy (kJ g ⁻¹) | 20.1 |

¹Mineral premix contained the following ingredients (g/kg premix): NaCl, 43.3; MgSO₄·7H₂O, 136.5; NaH₂PO₄·2H₂O, 86.9; KH₂PO₄, 239; CaHPO₄, 135.3; Ferric citrate, 29.6; ZnSO₄·7H₂O, 21.9; Ca-lactate, 304; CuCl, 0.2; AlCl₃·6H₂O, 0.15; KI, 0.15; MnSO₄·H₂O, 2.0; CoCl₂·6H₂O, 1.0. ²Vitamin premix contained the following amount which were diluted in cellulose (g/ kg premix): 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.

Table 2. Air classifier mill and extruder operating conditions of test diets

| | LP+SS | LP+LS | HP+SS | HP+LS |
|--|---------|---------|---------|---------|
| Air classifier mill conditions | | | | |
| Disk (rpm/min) | 3000 | 1200 | 3000 | 1200 |
| Blower (rpm/min) | 3500 | 3500 | 3500 | 3500 |
| Rotor (rpm/min) | 1500 | 700 | 1500 | 700 |
| Feeder (rpm/min) | 180 | 180 | 180 | 180 |
| Specific surface area (m ² /kg) | 169.9 | 67.4 | 169.9 | 67.4 |
| Extruder conditions | | | | |
| Barrel temperature (°C) | 115-130 | 115-130 | 115-130 | 115-130 |
| Conditioner temperature (°C) | 80 | 80 | 80 | 80 |
| Steam (kg/h) | 31.6 | 31.6 | 31.6 | 31.6 |
| Feed rate (kg/h) | 50 | 50 | 50 | 50 |
| Screw speed (rpm/min) | 885 | 885 | 708 | 708 |

LP, low pressure; HP, high pressure; SS, small size; LS, large size.

Table 3. Free amino acid contents of the test diets (g/100 g, dry-weight)

| | LP+SS | LP+LS | HP+SS | HP+LS |
|---------------------------|------------------|-------|-------|-------|
| Essential amino acids | | | | |
| Arginine | 0.103 | 0.097 | 0.115 | 0.110 |
| Lysine | 0.097 | 0.092 | 0.099 | 0.104 |
| Histidine | 0.179 | 0.172 | 0.196 | 0.191 |
| Phenylalanine | 0.097 | 0.091 | 0.099 | 0.092 |
| Leucine | 0.216 | 0.221 | 0.237 | 0.220 |
| Isoleucine | 0.125 | 0.130 | 0.136 | 0.130 |
| Methionine | 0.009 | 0.006 | 0.009 | 0.007 |
| Valine | 0.203 | 0.212 | 0.221 | 0.214 |
| Threonine | 0.124 | 0.130 | 0.129 | 0.136 |
| Tryptophan | N/D ¹ | N/D | N/D | N/D |
| Non-essential amino acids | | | | |
| Taurine | 0.928 | 0.852 | 0.895 | 0.828 |
| Alanine | 0.382 | 0.387 | 0.401 | 0.397 |
| Tyrosine | 0.084 | 0.078 | 0.084 | 0.081 |
| Glycine | 0.111 | 0.117 | 0.119 | 0.120 |
| Glutamic acid | 0.165 | 0.148 | 0.154 | 0.178 |
| Serine | 0.038 | 0.050 | 0.046 | 0.053 |
| Aspartic acid | N/D | N/D | N/D | N/D |
| Proline | 0.100 | 0.144 | 0.095 | 0.108 |
| Total | 2.961 | 2.907 | 3.035 | 2.969 |

¹N/D, Not detected (detection limit: 0.01 g/100g, dry-matter). LP, low pressure; HP, high pressure; SS, small size; LS, large size.

4). 용적중과 수분흡착도의 상관관계를 조사하기 위해 상관그 래프를 Fig. 1에 나타내었다. 실험사료의 물성측정 계산식은 아

래와 같다.

$$\text{Bulk density} = \text{weight of diet (g) in container (L)}$$

$$\text{Water absorption (\%)} = \frac{\text{weight of diet in seawater per unit min (g)}}{\text{weight of diet (g)}} \times 100$$

실험어 및 사육관리

실험 어류의 사육관리 및 시료 채취는 국립수산물과학원 동물 실험계획(2018-동물실험-09)에 따라 사료연구센터에서 수행 되었다. 사육실험은 자연해수를 이용한 유수식 시스템에서 사 육 수를 분당 10 L로 공급하였고 각 수조마다 에어스톤을 설치 하여 포화농도 수준까지 용존 산소를 공급하였다. 실험에 사용 된 넙치(평균무게 57.2±0.1 g)는 0.3톤 PVC 원형수조 12개 에 20미씩 3반복구로 완전 임의 배치하였다. 사육실험 기간 동 안 사육수온은 평균 27.0±2.1°C이었으며, 사료공급은 1일 2회 (09:00, 17:00) 만복 공급하여 4주간 실시하였다.

어체측정 및 성분분석

어체 무게 측정은 24시간 절식 후 전체무게를 측정하였고, 증 체율(weight gain, WG), 열성장계수(thermo-growth coeffi- cient, TGC), 사료계수(feed conversion ratio, FCR) 및 생존율 (survival rate)을 각각 아래와 같이 계산하였다.

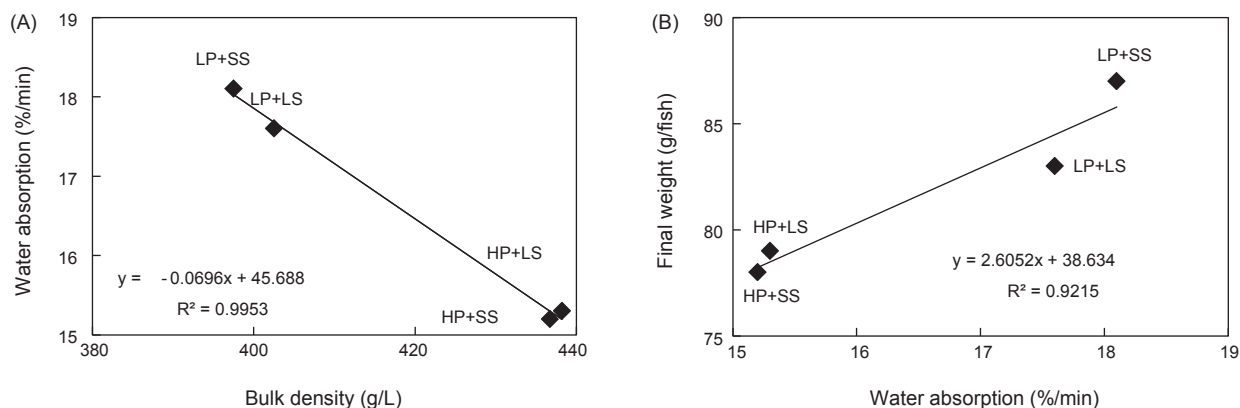


Fig. 1. Correlation between bulk density and water absorption (left) and correlation between water absorption and final weight (right). LP, low pressure; HP, high pressure; SS, small size; LS, large size.

$$\text{WG (\%)} = \frac{[\text{final wet weight (g)} - \text{initial wet weight (g)}]}{\text{initial wet weight (g)}} \times 100$$

$$\text{TGC} = \frac{(\text{final wet weight}^{1/3} \text{ (g)} - \text{initial wet weight}^{1/3} \text{ (g)})}{(\sum \text{degrees Celsius})^{-1}} \times 1000$$

$$\text{FCR} = \text{dry feed intake (g)} / \text{wet weight gain (g)}$$

$$\text{Survival rate (\%)} = \frac{\text{number of fish at 4}^{\text{th}} \text{ week}}{\text{number of fish at initial stocking density}} \times 100$$

생물학적 지표로서 비만도(condition factor, CF), 간중량지수(hepatosomatic index, HSI), 내장중량지수(viscerosomatic index, VSI)를 아래와 같이 계산하였고, Table 5에 결과 값을 나타내었다.

$$\text{CF} = \frac{\text{wet weight (g)}}{\text{total length}^3 \text{ (cm)}} \times 100$$

$$\text{HSI (\%)} = \frac{\text{wet weight of liver (g)}}{\text{wet weight (g)}} \times 100$$

$$\text{VSI (\%)} = \frac{\text{wet weight of viscera (g)}}{\text{wet weight (g)}} \times 100$$

일반성분분석은 AOAC (2000) 방법에 따라 분석하였다. 수분은 상압가열건조법(135°C, 2시간), 조단백질은 Auto Kjehl-

dahl System (Gerhardt VAP500T/TT125, KG, Germany) 질소정량법(N×6.25)을 사용하여 분석하였고, 조회분은 550°C에서 6시간 동안 회화 후 측정 하였다. 조지질은 조지질 추출기(VELP SER 148 Solvent Extractors, Italy)를 사용하여 ether로 추출한 후, 측정하여 결과값을 Table 5에 나타내었다. 유리아미노산은 Cho et al. (2011)의 분석방법을 응용하여, 99% ethanol과 70% ethanol로 추출한 시료를 diethyl ether로 탈지시킨 후 농축 수기를 이용하여 농축 하였다. 농축 후 lithium citrate loading buffer와 5-sulfosalicylic acid hydrate를 첨가하여 아미노산 자동분석기(Biochrom 30, Amersham Biosciences, Ltd., England)를 이용하여 분석하였다.

혈중 성장호르몬 활성

혈중 fish growth hormone (GH)과 fish insulin-like growth factor-I (IGF-I) 활성은 GH ELISA Kit (CSB-E1212Fh, CUSABIO, Belgium)와 IGF-I ELISA Kit (CSB-E1212Fh, CUSABIO, Belgium)의 방법으로 분석 하였다. GH은 GH pre-coated 96-well plate에 standard와 혈장을 50 µL 첨가 후, conjugate를 50 µL 첨가하여, 37°C 명반응 조건 하에 1시간 반응시켰다. 반응이 완료되면 wash buffer (1X)로 세척한 후에 HRP-avidin을 50 µL 첨가하여, 37°C 명반응 조건 하에 1시간

Table 4. Physical characteristics of test diets

| | LP+SS | LP+LS | HP+SS | HP+LS | P | | |
|--------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|----------|-------|-------------|
| | | | | | Pressure | Size | Interaction |
| Bulk density (g/L) | 397.5±1.9 ^b | 402.5±2.6 ^b | 436.7±3.9 ^a | 438.2±2.5 ^a | 0.000 | 0.262 | 0.542 |
| Water absorption (%/min) | 18.1±0.0 ^a | 17.6±0.1 ^b | 15.2±0.1 ^c | 15.3±0.1 ^c | 0.009 | 0.321 | 0.663 |
| Floating time (h) | > 1 | > 1 | > 1 | > 1 | - | - | - |

Values are means±SE of 10 replication (n=10). Values within the same row with different superscript letters are significantly different (Duncan, P<0.05). Pressure, low- and high-pressure; Size, small- and large-particle size (two-way ANOVA, P<0.05). LP, low pressure; HP, high pressure; SS, small size; LS, large size.

반응시켰다. 반응이 완료되면 wash buffer (1X)로 세척한 후에 substrate A와 substrate B를 50 µL씩 첨가 후, 37°C에서 암반응 조건 하에 15분 반응 후, stop solution을 첨가하여 450 nm에서 흡광도를 측정된 결과값을 백분율로 환산하였다. IGF-I은 IGF-I pre-coated 96-well plate에 standard와 혈장을 50 µL 첨가 후, HRP-conjugate와 antibody를 각각 50 µL 첨가하여, 37°C에서 명반응 조건 하에 1시간 반응시켰다. 반응이 완료되면 wash buffer (1X)로 세척한 후에 substrate A와 substrate B를 50 µL씩 첨가 후, 37°C에서 암반응 조건 하에 15분 반응 후, stop solution을 첨가하여 450 nm에서 흡광도를 측정된 결과값을 백분율로 환산하였다.

통계처리

결과값의 통계분석은 IBM SPSS 19 software package를 이용하여 일원분산분석 후 Duncan의 방법으로 평균간의 통계적 유의성을 결정하였고(Duncan, 1955; P<0.05), 입자도(소입자 및 대입자)와 압력(저압력 및 고압력)의 효과는 이원분산분석을 사용하여 95% 수준에서 통계적 유의성을 검정하였다(P<0.05).

결과 및 고찰

사료원료의 입자 크기 및 익스트루더 공정의 압력조건을 다르게 하여 제조한 실험사료는 일반성분 함량에 영향을 주지 않

는 것으로 나타났다(Table 1). 먹이 섭취 유인 효과가 있는 유리아미노산(Fyhn and Serigstad, 1987; Fyhn 1989)은 어류의 사료 섭취량을 증가시키는 것으로 보고되고 있지만(Cho et al., 2018), 이번 실험의 사료 내 유리아미노산 함량은 실험사료 간 차이가 없었으며(Table 3), 사료섭취량 결과에서도 유의적인 차이가 없었다(P>0.05). 원료 분체에 의한 저입자화는 유리아미노산 함량에 영향을 주지 않으며, 분체에 의한 먹이 섭취 유인 효과도 없는 것으로 판단된다. 이상의 결과로부터 배합사료의 입자도와 압력 조절은 사료의 영양성분에 영향을 미치지 않으며 안정적으로 제조가 가능하다는 것을 시사한다.

실험사료의 용적중은 고압력 사료(HP+SS, 436.7g/L; HP+LS, 438.2g/L)가 저압력 사료(LP+SS, 397.5g/L; LP+LS, 402.5g/L)보다 유의하게 높았다(P<0.05). 부피 밀도는 사료의 부상력(floatability) 및 침강 속도(sinking velocity)를 결정하는 중요한 물리적 특성으로(Chevanan et al., 2007, 2009), 압출 과정에서 사료의 팽창도(expansion)와 직접적인 관련성이 있다(Glencross et al., 2011b). 부상사료는 침강사료보다 용적중이 낮으며, 배합사료의 용적중은 대상 종의 먹이습성에 따른 조절이 필요하다(Glencross et al, 2011b). 일반적으로 배합사료는 525 g/L 이하의 용적중에서 부상한다(Glencross et al, 2011b). 이번 실험에 사용된 실험사료의 용적중은 397.5-438.2 g/L였으며, 부상시간은 모든 실험사료에서 1시간 이상 수면에 부상하였고, 실험사료 간 유의적인 차이는 없었다(P>0.05). 그러나 수분흡착도는 저압력 사료(LP+SS, 18.1%/min; LP+LS, 17.6%/

Table 5. Growth performance and proximate composition of carcass of juvenile olive flounder *Paralichthys olivaceus* fed the test diets for 4 weeks

| | LP+SS | LP+LS | HP+SS | HP+LS | P | | |
|---|-----------------------|----------------------|----------------------|-----------------------|----------|-------|-------------|
| | | | | | Pressure | Size | Interaction |
| Growth performance | | | | | | | |
| WG (%) ¹ | 52.7±13.3 | 44.7±3.0 | 36.6±10.6 | 37.7±9.2 | 0.275 | 0.736 | 0.655 |
| TGC ² | 16.2±4.1 | 13.7±0.9 | 11.2±3.2 | 11.6±2.8 | 0.275 | 0.741 | 0.655 |
| FCR ³ | 1.30±0.24 | 1.38±0.14 | 1.41±0.23 | 1.32±0.18 | 0.740 | 1.000 | 0.621 |
| Survival (%) | 78.3±4.4 | 69.5±8.7 | 83.3±6.7 | 75.6±7.2 | 0.444 | 0.264 | 0.937 |
| CF ⁴ | 0.90±0.03 | 0.91±0.01 | 0.93±0.01 | 0.94±0.02 | 0.580 | 0.580 | 0.580 |
| HSI (%) ⁵ | 1.77±0.16 | 1.85±0.05 | 2.02±0.20 | 1.78±0.09 | 0.584 | 0.741 | 0.335 |
| VSI (%) ⁶ | 2.82±0.07 | 3.26±0.10 | 3.37±0.33 | 3.23±0.37 | 0.338 | 0.542 | 0.338 |
| Proximate composition (% wet matter) | | | | | | | |
| Moisture | 74.0±0.1 | 74.7±0.1 | 73.5±0.7 | 73.5±0.2 | 0.064 | 0.416 | 0.416 |
| Crude protein | 17.4±0.1 | 17.1±0.2 | 17.4±0.2 | 18.0±0.3 | 0.069 | 0.444 | 0.054 |
| Crude lipid | 3.4±0.1 | 3.4±0.2 | 3.1±0.5 | 3.4±0.1 | 0.696 | 0.696 | 0.696 |
| Crude ash | 3.7±0.1 ^{ab} | 3.4±0.1 ^b | 4.1±0.2 ^a | 3.8±0.1 ^{ab} | 0.022 | 0.094 | 0.818 |

Values are means±SE of 3 groups of fish (n=3). Values within the same row with different letter are significantly different (Duncan, P<0.05). Pressure, low- and high-pressure; Size, small- and large-particle size (two-way ANOVA, P<0.05). ¹WG, Weight gain. ²TGC, Thermo-growth coefficient. ³FCR, Feed conversion ratio. ⁴CF, Condition factor. ⁵HSI, Hepatosomatic index. ⁶VSI, Viscerosomatic index. LP, low pressure; HP, high pressure; SS, small size; LS, large size.

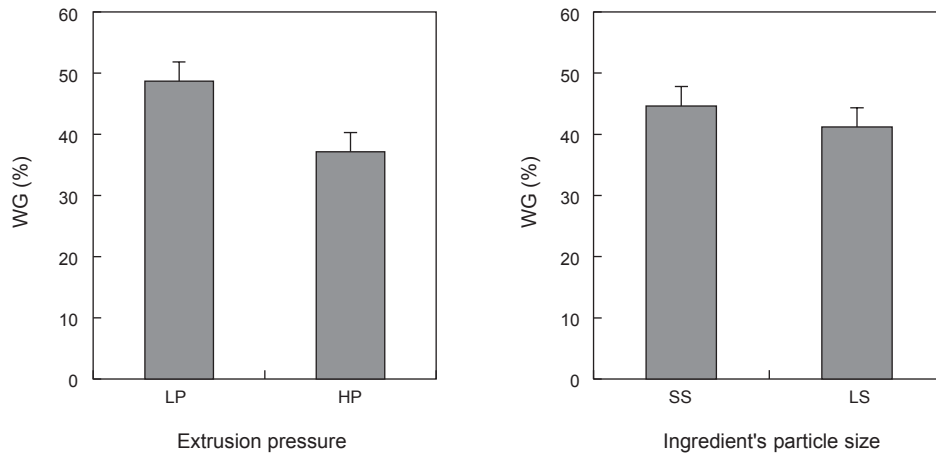


Fig. 2. Main effects means of WG in response to extrusion pressure and ingredient's particle size in juvenile olive flounder *Paralichthys olivaceus* fed the test diets for 4 weeks. Data was expressed as mean±SE. WG, weight gain; LP, low pressure; HP, high pressure; SS, small size; LS, large size.

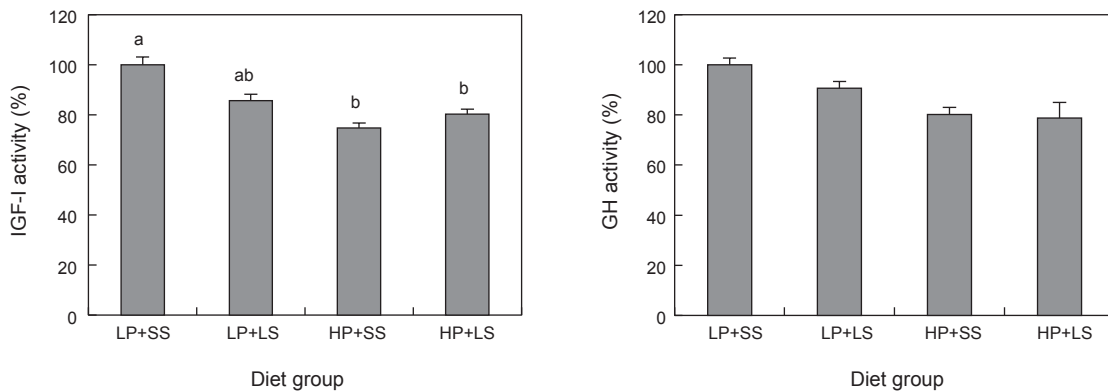


Fig. 3. Interaction effect means of plasma IGF-I and GH levels in response to extrusion pressure and ingredient's particle size in juvenile olive flounder *Paralichthys olivaceus* fed the test diets for 4 weeks. Data was expressed as mean±SE. Left, P-value of two-way ANOVA analysis on plasma IGF-I levels as extrusion pressure=0.005, ingredient's particle size=0.378 and interaction = 0.053. Right, P-value of two-way ANOVA analysis on plasma GH levels as extrusion pressure=0.058, ingredient's particle size=0.503 and interaction=0.619. IGF-I, insulin-like growth factor-I; GH, growth hormone; LP, low pressure; HP, high pressure; SS, small size; LS, large size.

min)가 고압력 사료(HP+SS, 15.2%/min; HP+LS, 15.3%/min)보다 유의적으로 높은 값을 보였다(Fig. 1, $P < 0.05$).

실험사료의 압력 조절은 용적중과 수분흡착도 등 사료물성에 직접적인 영향을 미쳤으나, 입자크기 조절은 사료물성에 영향을 주지 않는 것으로 나타났다(Table 4, $P < 0.05$). 특히 실험사료의 용적중이 낮을수록(LP+SS 및 LP+LS) 상대적으로 수분흡착도가 증가하였고, 용적중과 수분흡착도 간에 부적 상관관계를 보였다(Table 4 및 Fig. 1A). 익스트루더 스크류의 회전속도 증가에 따른 배합사료의 압력 감소와 밀도 저하는 Lee (2011) 및 Kim et al. (2014)의 연구에서 보고되었으며, 이번 실험의 결과에서도 이와 유사한 결과를 보였다. 따라서, 사료의 용적중은 수분흡착도를 조절할 수 있는 직접 요인이며, 익스트루더 스크

류의 회전속도를 조절하여 용적중을 감소시킬수록 수분흡착도를 증가시킬 수 있을 것으로 판단된다.

4주간의 사육실험에 따른 넙치의 성장결과를 Table 5에 나타내었다. 증체율 및 열성장계수는 실험기간 유의적인 차이를 보이지 않았으나, 저압력 사료(LP+SS 및 LP+LS)를 섭취한 실험어류는 고압력 사료(HP+SS 및 HP+LS)를 섭취한 실험어류보다 높은 성장의 경향을 보여 EP사료의 압력조절은 어체 성장에 영향을 미칠 수 있는 요인으로 사료된다(Table 5 및 Fig. 2). 특히 소입자 및 저압력 사료구(LP+SS)에서 가장 높은 성장결과를 확인할 수 있었다. 사료계수는 입자도 및 압력에 의해 영향을 받지 않는 것으로 나타났다(Table 5). 이와 유사한 결과는 혈중 성장호르몬 활성에서도 나타났으며(Fig. 3), 저압력 사료구에

서 높은 GH 및 IGF-I의 활성을 보였다. GH는 간에서 IGF-I의 분비를 자극하고 포도당과 유리지방산의 농도를 높이는 호르몬으로서(Greenwood and Landon, 1966; Ranabir and Reetu, 2011), 생성된 IGF-I는 단백질의 합성을 유도하며(Bornfeldt et al., 1988), 세포분화 촉진 등 어류에서 성장인자의 생화학적 지표로 보고되고 있다(Clemmons et al., 1998). 이번 실험에서 저압력 사료를 공급한 어체의 혈중 IGF-I의 활성이 유의하게 높았다(Fig. 3, $P < 0.05$). 위의 결과로부터 판단할 때 사료 물성 조절은 실험어류의 성장호르몬 활성을 높이고 어체 성장 촉진에 영향을 미치는 것으로 보인다.

익스트루더 스크류 회전속도의 증가는 수중 안정성(water stability), 수분 활성(water activity) (Fallahi and Rosentrater, 2013) 및 내구성(pellet durability) (Chevanan et al., 2008)을 향상시킨다. 이 실험에서 저압력 사료는 수중 사료영양소의 유실을 최소화하며, 경도(hardness)를 낮추어 어체 내 사료 이용성을 향상시키는 것으로 판단된다. 또한 높은 수분 흡착도를 보인 저압력 사료는 어체 성장과 정적 상관관계를 보이기 때문에 사료의 품질을 판단할 수 있는 지표로 사용할 수 있을 것으로 판단된다(Fig. 1). 따라서, 익스트루더 스크류 회전속도를 높인 저압력 사료는 실험어류의 소화기관에서 수분 흡수를 용이하게 하여 소화효소의 작용을 높일 수 있을 것으로 판단된다.

실험어의 내장을 제외한 전어체 및 생물학적 지표에서는 조회분을 제외한 모든 항목에서 유의적인 차이가 없었으며, 입자도 및 압력 조건에 영향을 받지 않았다(Table 5). 이번 실험에 사용한 모든 실험사료는 동일한 원료와 배합비로 제조하였으며, 그 결과 유사한 조단백질 및 조지질 함량을 나타내었다(Table 1). 또한 사료섭취량은 실험구간 유의한 차이가 없었기 때문에 사료 물성이 어체 일반성분 구성에 미치는 영향은 낮다고 판단된다. 생물학적 지표의 경우 간중량지수는 간 내의 에너지 저장 정도를 측정하는 척도로 사용되며(N'Da and Déniel, 1993; Garcia-Dias et al., 2006), 섭취된 조지질의 영향을 많이 받는다(Wang et al., 2005; Valente et al., 2011). 이 실험에서 사료 물성변화는 어체 일반성분에 영향을 주지 않았고, 간중량지수 및 내장중량지수에서도 유의적인 차이가 없는 것으로 나타났다.

상기의 연구결과로 판단하면, 익스트루더의 압출압력 및 원료 입자크기에 의한 사료의 물성조절은 실험사료 및 어체의 일반성분 구성에 영향을 주지 않는 것으로 보인다. 그러나 실험사료를 저압력 및 소입자로 물성을 조절할 경우 성장호르몬 활성을 높여 넙치의 성장속도에서 영향을 주는 것으로 판단된다. 따라서, 익스트루더의 압력과 원료의 입자크기 조절은 EP사료의 물성을 조절할 수 있는 직접적인 요인이며, 넙치용 배합사료의 품질을 향상시킬 수 있을 것으로 판단된다.

사 사

본 연구는 국립수산물과학원(R2019013)의 지원에 의해 수행되었다.

References

- An CM, Kim KW, Kim KD, Kim YM, Kim IH, Park SJ, Choi YH and Nam TJ. 2012. Effect of supplementing the diet of olive flounder *Paralichthys olivaceus* with sea mustard *Undaria pinnatifida* glycoprotein on growth and the immune system. Korean J Fish Aquat Sci 45, 423-429. <https://doi.org/10.5657/KFAS.2012.0423>.
- AOAC (Association of Official Analytical Chemists). 2000. Official methods of analysis of AOAC International (17th ed.). Gaithersburg, MD, U.S.A.
- Bangoula D, Parent JP and Vellas F. 1993. Nutritive value of white lupin (*Lupinus albus* var *Lutop*) in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Effect of extrusion cooking. Reprod Nutr Dev 33, 325-334.
- Barrows FT, David DAJ and Hardy RW. 2007. The effects of extrusion conditions on the nutritional value of soybean meal for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Aquaculture 265, 244-252. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2007.01.017>.
- Behnke KC. 1996. Feed manufacturing technology: current issues and challenges. Anim Feed Sci Technol 62, 49-57. [https://doi.org/10.1016/S0377-8401\(96\)01005-X](https://doi.org/10.1016/S0377-8401(96)01005-X).
- Bornfeldt KE, Arnqvist HJ, Dahlkvist HH, Skottner A and Wikberg JE. 1988. Receptors for insulin-like growth factor-I in plasma membranes isolated from bovine mesenteric arteries. Acta Endocrinol 117, 428-434. <https://doi.org/10.1530/acta.0.1170428>.
- Chevanan N, Muthukumarappan K and Rosentrater KA. 2009. Extrusion studies of aquaculture feed using distillers dried grains with solubles and whey. Food Bioprocess Technol 2, 177-185. <https://doi.org/10.1007/s11947-007-0036-8>.
- Chevanan N, Muthukumarappan K, Rosentrater KA and Julson JL. 2007. Effect of die dimensions on extrusion processing parameters and properties of DDGS-based aquaculture feeds. Cereal Chem 84, 389-398. <https://doi.org/10.1094/CCHEM-84-4-0389>.
- Chevanan N, Rosentrater KA and Muthukumarappan K. 2008. Effect of DDGS, moisture content, and screw speed on physical properties of extrudates in single-screw extrusion. Cereal Chem 85, 132-139. <https://doi.org/10.1094/CCHEM-85-2-0132>.
- Cho JH, Haga Y, Masuda R and Satoh S. 2018. Periodic changes in the growth performance and biochemical composition of juvenile red sea bream *Pagrus major* fed non-heated and heated squid and krill meal-based diets. Fish Sci 84, 699-713. <https://doi.org/10.1007/s12562-018-1205-6>.
- Cho JY, Park YJ, Oh DM, Rhyu DY, Kim YS, Chon SU, Kang SS and Heo BG. 2011. Amino acid contents and various physiological activities of *Allium victorialis*. Korean J Plant Res 24, 150-159. <http://doi.org/10.7732/kjpr.2011.24.2.150>.
- Clemmons DR, Busby W, Clarke JB, Parker A, Duan C and Nam TJ. 1998. Modifications of insulin-like growth factor

- binding proteins and their role in controlling IGF actions. *Endocrine J* 45, S1-S8. https://doi.org/10.1507/endocrj.45.Supp_S1.
- 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>.
- Duncan DB. 1955. Multiple-range and multiple F tests. *Biometrics* 11, 1-42. <https://doi.org/10.2307/3001478>.
- Fallahi P and Rosentrater KA. 2013. Effects of steam, moisture, and screw speed on physical properties of DDGS-based extrudates. *Cereal Chem* 90, 186-197. <https://doi.org/10.1094/CCHEM-08-12-0102-R>.
- FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations). 2018. The state of world fisheries and aquaculture 2018. Retrieved from <http://www.fao.org/3/i9540en/i9540en.pdf> on Jul 20, 2018.
- Fyhn HJ. 1989. First feeding of marine fish larvae: are free amino acids the source of energy?. *Aquaculture* 80, 111-120. [https://doi.org/10.1016/0044-8486\(89\)90277-93](https://doi.org/10.1016/0044-8486(89)90277-93).
- Fyhn HJ and Serigstad B. 1987. Free amino acids as energy substrate in developing eggs and larvae of the cod *Gadus morhua*. *Mar Biol* 96, 335-341. <https://doi.org/10.1007/BF00412514>.
- Garcia-Diaz M, González JA, Lorente MJ and Tuset VM. 2006. Spawning season, maturity sizes and fecundity in Hacktail comber (*Serranus atricauda*) (*Serranidae*) from the eastern-central atlantic. *Fish Bull* 104, 159-166.
- Glencross B, Hawkins W, Evans D, Rutherford N, McCafferty P, Dods K and Hauler R. 2011a. A comparison of the effect of diet extrusion or screw-press pelleting on the digestibility of grain protein product when fed to rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture* 312, 154-161. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2010.12.025>.
- Glencross B, Rutherford N and Hawkins W. 2011b. A comparison of the growth performance of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) when fed soybean, narrow-leaf or yellow lupin meals in extruded diets. *Aquacult Nutr* 17, e317-e325. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2095.2010.00765.x>.
- Greenwood FC and Landon J. 1966. Growth hormone secretion in response to stress in man. *Nature* 210, 540-541. <https://doi.org/10.1038/210540a0>.
- Hardy RW and Barrows FT. 2000. Diet formulation and manufacturing In: Halver JE and Hardy RW. (Eds.), *Fish Nutrition*, 3rd edition. Academic Press Inc, New York, NY, U.S.A., 506-600. <https://doi.org/10.1016/B978-012319652-1/50010-0>.
- Kim KD, Kim KW, Lee BJ, Bae KM, An CM and Han HS. 2014. Effects of feed rate and screw speed of extruded diets on growth and body composition of olive flounder *Paralichthys olivaceus*. *Korean J Aquat Sci* 47, 577-581. <https://doi.org/10.5657/KFAS.2014.0577>.
- Kim KD, Lee SM, Park HG, Bai SC and Lee YH. 2002. Essentiality of dietary n-3 highly unsaturated fatty acids in juvenile Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*). *J World Aquacult Soc* 33, 432-440. <https://doi.org/10.1111/j.1749-7345.2002.tb00022.x>.
- Statistics Korea. 2018. Fishery production survey. Statistics Korea, Daejeon, Korea. Retrieved from <http://kostat.go.kr> on Mar 15, 2018.
- Kraugerud OF and Svihus B. 2011. Effects of online pretreatment of plant ingredients on processing responses and physical properties in extruded fish feed. *Anim Feed Sci Technol* 168, 250-256. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2011.04.089>.
- Kraugerud OF, Jørgensen HY and Svihus B. 2011. Physical properties of extruded fish feed with inclusion of different plant (legumes, oilseeds, or cereals) meals. *Anim Feed Sci Technol* 163, 244-254. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2010.11.010>.
- Kwon MG, Hwang JY and Jung SH. 2014. The efficacy and safety on combination vaccines : *Edwardsiella tarda*, *Streptococcus iniae* and *S. parauberis*, in olive flounder, *Paralichthys olivaceus*. *JFMSE* 26, 1193-1200. <https://doi.org/10.13000/JFMSE.2014.26.6.1193>.
- Lee GH. 2011. Extrusion characteristics for the snack of corn flour using twin-screw extruder. *J Agricult Life Environ Sci* 23, 47-52. <https://waset.org/publications/10002204/>.
- Lee SM, Cho SH and Kim KD. 2000. Effects of dietary protein and energy levels on growth and body composition of juvenile flounder *Paralichthys olivaceus*. *J World Aquacult Soc* 31, 306-315. <https://doi.org/10.1111/j.1749-7345.2000.tb00882.x>.
- Lee SM and Kim KD. 2005. Effect of various levels of lipid exchanged with dextrin at different protein level in diet on growth and body composition of juvenile flounder *Paralichthys olivaceus*. *Aquacult Nutr* 11, 1-8. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2095.2005.00372.x>.
- Min BH, Kim HC, Lee JH, Noh JK, An HS, Park CJ, Choi SJ and Myeong JI. 2010. Comparison of growth parameters in selected and unselected strains of olive flounder *Paralichthys olivaceus*. *Korean J Fish Aquat Sci* 43, 457-461. <https://doi.org/10.5657/kfas.2010.43.5.457>.
- Nam TJ, Kwon MJ, Lee SM, Park KY, Kim Y, Park SR and Pyeon JH. 2001. Effect of dietary proteins on serum insulin-like growth factor-I (IGF-I) and IGF-binding protein-3 in Korean rockfish, *Sebastes schlegeli*. *J Korean Fish Soc* 34, 550-555.
- N'Da K and Déniel C. 1993. Sexual cycle and seasonal changes in the ovary of the red mullet, *Mullus surmuletus*, from the southern coast of Brittany. *J Fish Biol* 43, 229-244. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.1993.tb00425.x>.

- Ranabir S and Reetu K. 2011. Stress and hormones. *Indian J Endocrinol Metab* 15, 18-22. <https://doi.org/10.4103/2230-8210.77573>.
- Refstie S, Glencross B, Landsverk T, Sørensen M, Lilleeng E, Hawkins W and Krogdahl A. 2006. Digestive function and intestinal integrity in atlantic salmon (*Salmo salar*) fed kernel meals and protein concentrates made from yellow or narrow-leafed lupins. *Aquaculture* 261, 1382-1395. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2006.07.046>.
- Satoh S, Higgs DA, Dosanjh BS, Hardy RW, Eales JG and Deacon G. 1998. Effect of extrusion processing on the nutritive value of canola meal for chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*) in sea water. *Aquacult Nutr* 4, 115-122. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2095.1998.00056.x>.
- Satoh S, Porn-Ngam N, Akimoto A, Takeuchi T and Watanabe T. 1997. Effect of substitution of white fish meal with extruded soybean meal in diets on zinc and manganese availability to rainbow trout. *Aquacult Sci* 45, 275-284. <https://doi.org/10.11233/aquaculturesci1953.45.275>.
- Satoh S, Takanezawa M, Akimoto A, Kiron V and Watanabe T. 2002. Changes of phosphorus absorption from several feed ingredients in rainbow trout during growing stages and effect of extrusion of soybean meal. *Fish Sci* 68, 325-331. <https://doi.org/10.1046/j.1444-2906.2002.00429.x>.
- Sohn SG, Kim MS, Park J-H, Yoo MH and Jeong HD. 2002. Bacterins to prevent the contamination of *Vibrio vulnificus* in the flounder, *Paralichthys olivaceus*. *Korean J Fish Aquatic Sci* 35, 1-7. <https://doi.org/10.5657/kfas.2002.35.1.001>.
- Sørensen M, Luyen GQN, Storebakken T and Øverland M. 2010. Starch source, screw configuration and injection of steam into the barrel affect physical quality of extruded fish feed. *Aquac Res* 41, 419-432. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2009.02346.x>.
- Sørensen M, Morken T, Kosanovic M and Øverland M. 2011. Pea and wheat starch possess different processing characteristics and affect physical quality and viscosity of extruded feed for Atlantic salmon. *Aquac Nutr* 17, e326-e336. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2095.2010.00767.x>.
- Sørensen M, Stjepanovic N, Romarheim OH, Krekling T and Storebakken T. 2009. Soybean meal improves the physical quality of extruded fish feed. *Anim Feed Sci Technol* 149, 149-161. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2008.05.010>.
- Valente LMP, Linares F, Villanueva JLR, Silva JMG, Espe M, Escórcio C, Pires MA, Saaverda MJ, Borges P, Medale F, Alváree-Blázquez B and Peleteiro JB. 2011. Dietary protein source or energy levels have no major impact on growth performance, nutrient utilization or flesh fatty acids composition of market-sized Senegalese sole. *Aquaculture* 318, 128-137. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2011.05.026>.
- Wang JT, Liu YJ, Tian LX, Mai KS, Du ZY, Wang Y and Yang HJ. 2005. Effect of dietary lipid levels on growth performance, lipid deposition, hepatic lipogenesis in juvenile co-
bia (*Rachycentron canadum*). *Aquaculture* 249, 439-447. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2005.04.038>.