

## 넙치(*Paralichthys olivaceus*) 사료 내 어유(Fish oil) 대체원으로서의 diacylglycerol 이용성 평가

오대한 · 김민기 · 윤관식<sup>1</sup> · 이경준\*

제주대학교 해양생명과학과, <sup>1</sup>㈜시너젠

### Evaluation of Diacylglycerol as an Alternative to Dietary Fish Oil in Diets for Juvenile Olive Flounder *Paralichthys olivaceus*

Dae-Han Oh, Min-Gi Kim, <sup>1</sup>Kawn-Sik Yun and Kyeong-Jun Lee\*

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

<sup>1</sup>Synergen Inc., Bucheon 14574, Korea

The objective of this study was to investigate the utilization of diacylglycerol (DAG) as a new dietary ingredient replacing fish oil in feed for juvenile olive flounder *Paralichthys olivaceus*. Fish oil based control diet (CON) was prepared and four other diets were formulated by replacing 50% of the fish oil in CON with one of five DAG: DAGL (1,3-lauryl glycerol) or DAGP (1,3-palmityl glycerol) in low or high concentrations (designated as DAGLL, DAGLH, DAGPL and DAGPH). Another diet was prepared replacing 100% of the fish oil in CON with a 1:1 mixture (DAGLP) of DAGL and DAGP. Olive flounder (13.4 g) were fed to apparent satiation, twice a day, for 12 weeks. Following the feeding trials, no significant differences were observed in growth performance, blood parameters and non-specific immune responses between CON and any of the DAG groups. Polyunsaturated fatty acid levels were not significantly affected by the inclusion of DAGs. Thus, DAGL or DAGP could be used to replace up to 50% of fish oil in fish feed without reducing growth performance, health or innate immunity. The replacement of up to 100% of dietary fish oil in olive flounder feed by DAGLP is also feasible.

Key words: Olive flounder, Diacylglycerol, Fish oil replacement, Growth, Immunity

## 서론

세계 수산양식 산업은 지속적으로 성장하고 있으며, 이미 전 세계 수산물 소비량의 절반 이상을 차지하고 있다(FAO 2016). 양식 생산에 있어 사료는 60% 이상의 비중을 차지하는 중요한 요소이며, 그 수요는 수산양식 산업의 발전 속도 보다 빠르게 증가될 것으로 예상된다(Tacon and Metian, 2015). 어유는 풍부한 필수지방산과 에너지를 가진 지질원으로서 양어사료에 널리 사용되고 있으며(Hertrampf and Piedad-Pascual, 2002), 값비싼 단백질을 대체하기 위한 에너지원으로 이용된다. 특히 DHA, EPA는 해산 어류의 성장과 사료효율에 직접적으로 영향을 미치는 필수 지방산이며, 면역기능 증강과 생리활성을 조절하는 역할을 하는 것으로 알려져 있다(NRC, 2011). 하지만 최

근 환경오염과 기후변화에 의한 어획량 감소로 인해 어분 및 어유의 생산과 공급이 불안정해지고 있으며, 가격 또한 상승하고 있다. 지속 가능한 어유 대체원료의 발굴은 향후 수산양식 산업 발전의 필수 요소로 간주된다(Tacon and Metian, 2008). 식물성 유지를 이용한 어유 대체효과는 유지의 종류, 지방산 조성, 어종 및 성장단계에 따라 상이하게 나타난다(Emery et al., 2016). 대표적인 어유 대체원료인 대두유의 경우, 해산 어류의 사료 내 어유를 50%이상 대체할 수 있는 것으로 보고되고 있다(Izquierdo et al., 2005; Martínez-Llorens et al., 2007; Piedcausa et al., 2007; Peng et al., 2008). Diacylglycerol (DAG)은 두개의 지방산 사슬이 결합된 화합물로서 유화제 역할을 하는 식품첨가물로 주로 사용되며, 인위적으로 합성하여 생산된다(Jiao et al., 2019). 일반적으로 지질은 triacylglycerol (TAG)

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

E-mail address: kjlee@jeju.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.2019.0366>

Korean J Fish Aquat Sci 52(4), 366-373, August 2019

Received 3 June 2019; Revised 1 July 2019; Accepted 1 August 2019

저자 직위: 오대한(연구원), 김민기(대학원생), 윤관식(대표), 이경준(교수)

형태(93-98%)로 섭취되며, lipase에 의해 2-monoacylglycerol (2-MAG)과 두 개의 지방산으로 분해되어 소장 용모를 통해 흡수된다(Birari and Bhutani, 2007). 흡수된 분해물은 중성지방 형태로 재구성된 후 phospholipid 및 cholesterol과 결합하여 lipoprotein의 일종인 chylomicron 상태로 혈중으로 방출된다(Bach and Babyan, 1982). 반면 DAG의 약 70%를 차지하는 1, 3-DAG는 lipase에 의해 1- 또는 3-MAG로 분해되어 용모로 흡수되며, 이때 TAG의 재구성은 2-MAG 없이는 쉽게 이루어지지 않는다(Ijiri et al., 2006; Takase, 2007). 따라서 혈중 지방산과 재결합하지 않고 간에 저장되는 대신 분해되어 에너지원으로 사용되는 특성을 가진다. 현재까지 양식사료 분야에서의 DAG와 관련된 연구는 전무한 실정이다.

넙치는 우리나라에서 가장 많이 생산되는 해산 양식 어종이다. 2018년도 넙치 생산량은 37,238톤으로 전체 양식생산량의 약 46.2%를 차지하고 있으며, 이 중 약 59.5%인 22,169톤이 제주도에서 생산되고 있다(KOSIS, 2018). 넙치는 육상수조식 양

식장에서 유수식 시스템을 이용하여 양식되고 있으며, 양식에 사용되는 사료의 약 85%가 생사료 형태로 공급되고 있는 실정이다(KOSIS, 2018). 조만간 국내에서도 전면 배합사료로의 전환이 실현될 경우, 양어용 배합사료 사용량은 매우 큰 폭으로 상승할 것으로 예상된다. 양어사료의 품질과 가격 안정화는 물론, 지속가능한 양식산업을 위해서는 어분 대체원료뿐만 아니라 새로운 어유 대체원료 개발이 시급한 실정이다. 따라서, 이 연구는 우리나라 주요 양식 어종인 넙치를 대상으로 새로운 원료 소재인 합성 DAG (1,3-lauriyl-glycerol or 1,3-palmityl-glycerol)의 어유 대체 가능성을 평가하기 위해 수행되었다.

## 재료 및 방법

### 실험사료

실험에 사용된 DAG는 (주)시너젠에서 제공되었다. 사료공급 실험은 총 4종류의 DAG (DAGLL, 저순도 1,3-lauryl glycerol;

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

Ingredients	Experimental diets					
	CON	DAGLL	DAGLH	DAGPL	DAGPH	DAGLP
Fish meal	55.0	55.0	55.0	55.0	55.0	55.0
Soybean meal	6.0	6.0	6.0	6.0	6.0	6.0
Corn gluten meal	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0
Wheat flour	26.5	26.5	26.5	26.5	26.5	26.5
Mineral mix <sup>1</sup>	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
Vitamin mix <sup>2</sup>	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
Fish oil	6.0	3.0	3.0	3.0	3.0	-
DAGLL <sup>3</sup>	-	3.0	-	-	-	-
DAGLH <sup>4</sup>	-	-	3.0	-	-	-
DAGPL <sup>5</sup>	-	-	-	3.0	-	-
DAGPH <sup>6</sup>	-	-	-	-	3.0	-
DAGLP <sup>7</sup>	-	-	-	-	-	3.0
Proximate composition (% of dry matter)						
Crude protein	48.9	48.6	48.9	48.2	48.8	48.7
Crude lipid	11.6	11.1	11.3	10.9	11.5	10.8
Crude ash	10.7	10.3	9.9	10.4	10.6	10.4
EPA+DHA	1.62	1.27	1.29	1.23	1.27	0.93

<sup>1</sup>MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O, 80.0; NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>·2H<sub>2</sub>O, 370.0; KCl, 130.0; Ferric citrate, 40.0; ZnSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O, 20.0; Ca-lactate, 356.5; CuCl<sub>2</sub>, 0.2; AlCl<sub>3</sub>·6H<sub>2</sub>O, 0.15; Na<sub>2</sub>Se<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, 0.01; MnSO<sub>4</sub>·H<sub>2</sub>O, 2.0; CoCl<sub>2</sub>·6H<sub>2</sub>O, 1.0. <sup>2</sup>L-ascorbic acid, 121.2; DL- $\alpha$  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. <sup>3</sup>DAGLL, low purity 1,3-lauryl glycerol. <sup>4</sup>DAGLH, high purity 1,3-lauryl glycerol. <sup>5</sup>DAGPL, low purity 1,3-palmityl glycerol. <sup>6</sup>DAGPH, high purity 1,3-palmityl glycerol. <sup>7</sup>DAGLP, 50% low purity 1,3-lauryl glycerol+50% low purity 1,3-palmityl glycerol. Con, control; EPA, eicosapentaenoic acid; DHA, docosa hexaenoic acid.

DAGLH, 고순도 1,3-lauryl glycerol; DAGPL, 저순도 1,3-palmityl glycerol; DAGPH, 고순도 1,3-palmityl glycerol)를 사용하여 진행하였다. 사료공급실험 디자인은 어유가 첨가된 대조구(CON)와 4종류의 DAG로 대조구의 어유를 각각 50% 대체한 4개의 실험구(DAGLL, DAGLH, DAGPL, DAGPH)와 DAGLL과 DAGPL을 1:1 (v:v)로 혼합하여 대조구 어유를 100% 대체한 1개의 실험구(DAGLP)로 총 6가지가 설정되었다. 실험사료 제작에 사용된 사료 조성표와 실험사료의 일반성분 및 지방산조성은 Table 1, 2에 나타내었다. 실험사료는 우선 사료원료들을 혼합기에 넣어 완전히 섞은 다음, 어유와 DAG를 첨가하였다. 고체상태의 DAG는 비커에 옮겨 약 60°C의 증류수에서 중탕하여 액체 형태로 만들어 첨가하였다. 그 후, 사료 원료 총량의 30%에 해당하는 증류수를 첨가하여 사료혼합기로 혼합, 반죽하였다. 혼합, 반죽물은 소형초파기(SMC-12, Kuposlice, Busan, Korea)를 이용하여 알맞은 크기로 성형하였다. 실험사료는 12 h 동안 건조기에서 25°C로 건조시킨 후, 사료공급 전까지 -20°C에 보관하면서 사용하였다.

#### 실험어 및 사육관리

실험에 사용된 넙치 치어는 제주도 내 종묘배양장에서 구입하여 제주대학교 해양과학연구소로 운송되었다. 실험어류는 2주 동안 시판 배합사료를 공급하면서 실험 환경에 적응할 수 있도록 순치 되었다. 예비사육 후 넙치(초기평균무게, 13.4 ± 0.1

g)는 총 18개의 150 L 원형 PP수조에 각 수조 당 40마리씩 무작위로 배치되었다. 사육수는 모래여과해수를 사용하여 2-3 L/min의 유수량이 공급되도록 조절하였고, 모든 실험수조에 용존산소 유지를 위하여 에어스톤을 설치하였다. 사육수온은 자연수온(15-21°C)에 의존하였으며 광주기는 형광등을 이용하여 12 h light/12 h dark로 유지되었다. 실험사료 공급은 1일 2회(08:00, 18:00) 반복공급을 하였으며 사료공급실험은 총 12주간 진행되었다.

#### 어체 측정 및 혈액 분석

사료공급실험 종료 후, 실험어의 무게, 개체 수, 사료공급량을 조사하여 증체율, 일간성장률, 사료전환효율, 단백질이용효율, 사료섭취량을 산출하였다. 최종무게 측정 후, 수조당 6마리의 어류를 무작위로 선별하여 2-phenoxyethanol (200 ppm) 용액으로 마취 시킨 후 6마리 중 3마리에서 헤파린 처리된 주사기를 이용하여 꼬리 미병부에서 채혈을 하였다. 채혈된 전혈은 hematocrit, hemoglobin 및 대식세포활성(nitrobluetetrazolium, NBT) 분석에 이용되었다. 분석 후, 남은 혈액은 alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST) 분석을 위해 원심분리기를 이용하여 5,000 g로 10분간 원심분리 후, 혈장(plasma)을 분리하였다. 나머지 3마리 어류의 혈액은 헤파린이 처리되지 않은 주사기를 이용하여 채혈되었으며 채혈된 전혈은 상온에서 60분 방치시킨 후 원심분리기로(5,000

Table 2. Fatty acid composition of the experimental diets (% total fatty acids)

Fatty acid	Experimental diets					
	CON	DAGLL	DAGLH	DAGPL	DAGPH	DAGLP
C12:0	0.08	10.63	11.06	0.09	0.10	10.6
C14:0	4.45	6.85	7.50	3.38	3.29	5.83
C16:0	18.6	16.8	17.0	25.1	25.3	22.9
C18:0	5.04	5.14	4.01	5.00	5.03	5.00
Total SFA	30.6	42.5	42.2	35.0	35.5	47.2
C16:1	5.61	3.69	3.75	3.75	1.84	2.04
C18:1n-9	26.9	23.8	24.1	29.6	31.4	26.8
C20:1	2.12	1.58	1.59	1.63	1.60	1.08
Total MUFA	36.8	30.4	30.9	36.3	36.2	30.4
C18:2n-6	13.9	11.8	11.7	13.6	13.5	11.3
C18:3n-3	1.57	1.16	1.16	1.16	1.15	0.83
C20:3n-6	0.42	0.28	0.29	0.28	0.27	0.17
C20:4n-6	0.62	0.43	0.41	0.42	0.41	0.29
C20:5n-3	6.38	4.91	4.92	4.89	4.75	3.41
C22:6n-3	7.63	6.51	6.45	6.41	6.23	5.19
Total PUFA	32.1	26.7	26.6	28.3	27.9	22.2
Total n-3	15.6	12.6	12.5	12.5	12.1	9.43

CON, control; DAGLL, low purity 1,3-lauryl glycerol; DAGLH, high purity 1,3-lauryl glycerol; DAGPL, low purity 1,3-palmityl glycerol; DAGPH, high purity 1,3-palmityl glycerol; DAGLP, 50% low purity 1,3-lauryl glycerol+50% low purity 1,3-palmityl glycerol..

g) 혈청을 분리하여 면역관련 분석에 사용되었다. Hematocrit은 microhematocrit technique 방법으로 분석하였으며, hemoglobin, AST, ALT 함량은 자동 생화학 분석기(Express plus system, Bayer, USA)를 이용하여 측정하였다. 대식세포 활성화(NBT)은 Anderson and Siwicki (1995)의 방법을 기초로 분석되었다. 혈청 내 MPO 활성은 Kumari and Sahoo (2005)의 방법으로 그리고 lysozyme 활성은 Hultmark et al. (1980)의 방법을 기초로 분석되었다.

**일반성분 및 지방산 분석**

실험사료의 일반성분분석은 AOAC (1995) 방법에 따라 수분은 상압가열건조법(125°C, 3 h), 조회분은 직접회화법(550°C, 6 h), 조단백질은 자동조단백질분석기(Kejltec system 2300,

Sweden)로 분석하였으며, 지방은 Folch et al. (1957)의 방법에 따라 Soxhlet 추출장치(Soxhlet heater system C-SH6, Korea)를 이용하여 분석하였다. 실험사료와 전어체에서의 지방산 분석은 Folch et al. (1957)의 방법에 따라 지방을 추출하여 Metcalfé and Schmitz (1961) 방법으로 methylation한 후 gas chromatography (Agilent technologies, 6890N, USA)를 이용하여 분석하였다.

**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≤0.05)로 비교되었다. 데이

Table 3. Growth performance of juvenile olive flounder *Paralichthys olivaceus* (mean initial body weight 13.4±0.1 g) fed the six experimental diets for 12 weeks

	FBM(g) <sup>1</sup>	WG(%) <sup>2</sup>	SGR(% <sup>3</sup> )	FCR <sup>4</sup>	PER <sup>5</sup>	FI <sup>6</sup>	Survival (%)
CON	47.2±0.2	256±3	1.49±0.01	1.23±0.07	1.68±0.09	41.8±2.3	89.2±9.0
DAGLL	48.0±3.1	254±25	1.49±0.08	1.17±0.04	1.77±0.06	40.1±2.5	88.2±7.8
DAGLH	48.7±5.3	265±41	1.52±0.13	1.19±0.16	1.75±0.24	41.5±0.6	87.3±6.8
DAGPL	47.1±1.4	252±13	1.48±0.04	1.19±0.07	1.76±0.10	39.9±0.6	97.1±2.9
DAGPH	45.6±1.7	242±13	1.45±0.05	1.28±0.08	1.63±0.10	41.1±0.5	87.3±12.2
DAGLP	48.4±2.6	258±20	1.50±0.07	1.12±0.07	1.86±0.12	39.1±0.5	96.1±3.4

Mean values of triplicate groups are presented as mean±SD. The lack of superscript letter indicates no significant differences among treatments. <sup>1</sup>Final mean body weight (g). <sup>2</sup>Weight gain (%)=(final body weight - initial body weight)/initial body weight×100. <sup>3</sup>Specific growth rate (%)=[(loge final body weight-loge initial body weight)/days]×100. <sup>4</sup>Feed conversion ratio=dry feed fed/wet weight gain. <sup>5</sup>Protein efficiency ratio=wet weight gain/total protein given. <sup>6</sup>Feed intake (g/fish)=dry feed fed/fish. CON, control; DAGLL, low purity 1,3-lauryl glycerol; DAGLH, high purity 1,3-lauryl glycerol; DAGPL, low purity 1,3-palmityl glycerol; DAGPH, high purity 1,3-palmityl glycerol; DAGLP, 50% low purity 1,3-lauryl glycerol+50% low purity 1,3-palmityl glycerol.

Table 4. Blood parameters of juvenile olive flounder *Paralichthys olivaceus* fed the six experimental diets for 12 weeks

	Hematocrit (%)	Hemoglobin (g/dL)	AST <sup>1</sup> (U/L)	ALT <sup>2</sup> (U/L)
CON	23.7±0.3	2.06±0.46	38.7±3.49	10.1±0.7
DAGLL	22.7±1.7	1.72±0.40	45.5±8.84	12.0±1.4
DAGLH	22.3±3.5	1.62±0.36	40.6±3.97	11.7±3.2
DAGPL	25.4±1.8	1.76±0.31	38.9±1.95	11.9±3.1
DAGPH	21.6±2.6	1.44±0.07	42.3±4.54	12.0±0.4
DAGLP	24.3±2.7	1.86±0.11	46.3±6.44	11.0±0.9

Mean values of triplicate groups are presented as mean±SD. The lack of superscript letter indicates no significant differences among treatments. <sup>1</sup>Aspartate aminotransferase (AST). <sup>2</sup>Alanine aminotransferase (ALT). CON, control; DAGLL, low purity 1,3-lauryl glycerol; DAGLH, high purity 1,3-lauryl glycerol; DAGPL, low purity 1,3-palmityl glycerol; DAGPH, high purity 1,3-palmityl glycerol; DAGLP, 50% low purity 1,3-lauryl glycerol+50% low purity 1,3-palmityl glycerol.

Table 5. Non-specific immune responses of juvenile olive flounder *Paralichthys olivaceus* fed the six experimental diets for 12 weeks

	NBT <sup>1</sup> (absorbance)	MPO <sup>2</sup> (absorbance)	Lysozyme (µg/mL)
CON	0.68±0.06	1.07±0.14	57.6±12.2
DAGLL	0.62±0.03	1.47±0.20	54.7±5.9
DAGLH	0.67±0.16	1.16±0.13	66.1±4.4
DAGPL	0.69±0.09	1.25±0.12	62.1±4.5
DAGPH	0.60±0.12	1.13±0.28	70.1±14.3
DAGLP	0.65±0.11	1.23±0.17	72.0±5.8

Mean values of triplicate groups are presented as mean ± SD. The lack of superscript letter indicates no significant differences among treatments. <sup>1</sup>Nitro blue-tetrazolium activity. <sup>2</sup>Myeloperoxidase activity. CON, control; DAGLL, low purity 1,3-lauryl glycerol; DAGLH, high purity 1,3-lauryl glycerol; DAGPL, low purity 1,3-palmityl glycerol; DAGPH, high purity 1,3-palmityl glycerol; DAGLP, 50% low purity 1,3-lauryl glycerol+50% low purity 1,3-palmityl glycerol.



터는 평균값±표준편차(mean±SD)로 나타내었다. 백분율 데이터는 arcsine 변형 값으로 계산하여 통계 분석하였다.

## 결과 및 고찰

성장 관련 결과는 Table 3에 나타내었다. 생존율은 모든 실험구에서 85% 이상의 양호한 생존율을 보여 사육환경 및 질병 등의 외부적 영향 없이 사료공급실험이 원활히 진행된 것을 확인할 수 있었다. 증체율, 일간성장률, 사료전환효율, 단백질이용효율 분석결과, DAG로 어유를 50% 대체한 DAGLL, DAGLH, DAGPL, DAGPH 실험구와 대조구간에 유의적인 차이가 없었으며, 어유를 100% 대체한 DAGLP 실험구도 대조구와 유의적인 차이를 보이지 않았다. 모든 실험구에서 넙치의 성장과 사료효율에 차이가 없었던 것은 실험사료의 필수지방산 함량이 넙치의 요구량에 충족되었기 때문인 것으로 판단된다(Kim and Lee, 2019). 넙치의 필수지방산(n-3 HUFA) 요구량은 0.8-1.4%로 알려져 있으며(NRC 2011), 다른 어종을 대상으로 한 연구에서도 필수지방산 요구량이 충족된 사료 공급 시 사료 내 지질의 종류가 성장과 사료계수에 영향을 주지 않는 것으로 보고되었다(Bell et al., 2003; Peiedecausa et al., 2007;

Aminikhoei et al., 2013). 사료 내 필수지방산 함량이 대상어종의 요구량을 충족할 경우, 경제적인 배합사료 제조를 위해 상대적으로 저렴한 지질 원료들을 사용하여도 무방할 것으로 판단된다(Kim and Lee 2019).

혈액분석 결과는 Table 4에 나타내었다. Hematocrit은 21.6-25.4%, hemogloibin은 1.44-2.06g/dL, AST는 38.7-46.3U/L, ALT는 10.1-12.0 U/L로 나타났으며, 모든 실험구 간에 유의적인 차이가 없었다. Hematocrit은 혈액 내 적혈구가 차지하는 비중을 백분율로 나타낸 것으로 hemoglobin, AST, ALT와 함께 어류의 일반적인 건강도를 가늠하는 간접 지표로 사용된다(Kristoffersson et al., 1974). 혈액 내 AST와 ALT는 체내 아미노산의 대사에 관여하는 효소로써, 어류의 간 또는 심장이 손상을 입을 경우 혈중으로 방출되어 수치가 증가하게 된다. 혈액분석 결과, 모든 실험구 간에 유의적인 차이가 없는 것으로 보아 DAG를 이용한 어유 대체에 따른 넙치의 건강에도 아무런 이상이 없을 것으로 판단된다.

비특이적 면역분석 결과는 Table 5에 나타내었다. NBT activity는 0.60-0.68, MPO는 1.07-1.47, lysozyme은 54.7-72.0 µg/mL로 나타났으며, 마찬가지로 모든 실험구 간에 유의적인 차이가 없었다. NBT activity는 호중구의 호흡폭발동반의

Table 6. Fatty acid composition (% of total fatty acids) of the whole body in juvenile olive flounder *Paralichthys olivaceus* fed the experimental diets for 12 weeks

Fatty acid	Experimental diets					
	Con	DAGLL	DAGLH	DAGPL	DAGPH	DAGLP
C12:0	0.00±0.00 <sup>b</sup>	2.81±0.08 <sup>ab</sup>	5.30±0.44 <sup>a</sup>	0.00±0.00 <sup>b</sup>	0.00±0.00 <sup>b</sup>	3.78±2.18 <sup>a</sup>
C14:0	4.29±0.11 <sup>b</sup>	4.98±0.09 <sup>ab</sup>	6.57±0.16 <sup>a</sup>	3.39±0.28 <sup>b</sup>	3.58±0.19 <sup>b</sup>	5.40±1.23 <sup>a</sup>
C16:0	18.2±0.24	19.0±0.88	17.78±0.15	20.9±0.31	20.0±1.66	19.0±0.32
C18:0	4.17±0.11	4.45±0.03	4.51±0.38	4.36±0.14	4.28±0.01	4.51±0.22
Total SFA	28.5±0.63 <sup>c</sup>	30.0±0.13 <sup>abc</sup>	29.4±1.17 <sup>bc</sup>	32.6±0.95 <sup>abc</sup>	35.6±0.96 <sup>a</sup>	34.2±2.91 <sup>ab</sup>
C16:1	7.15±0.34 <sup>a</sup>	3.68±1.66 <sup>b</sup>	5.21±0.21 <sup>ab</sup>	5.37±0.24 <sup>ab</sup>	5.53±0.66 <sup>ab</sup>	4.83±0.32 <sup>ab</sup>
C18:1n-9	25.4±2.33	28.0±0.36	25.1±1.29	28.9±0.16	28.4±1.16	26.3±0.26
C20:1	1.18±0.20	0.80±0.08	0.80±0.03	0.93±0.04	0.96±0.38	0.73±0.07
Total MUFA	34.7±1.23	35.8±0.21	35.7±0.44	33.7±2.15	31.9±1.15	32.8±0.92
C18:2n-6	12.3±1.48	13.2±0.78	12.1±0.17	13.1±0.15	13.5±1.22	12.7±0.65
C18:3n-3	1.83±0.17	1.74±0.03	1.72±0.03	1.83±0.08	1.74±0.14	1.72±0.04
C20:3n-6	1.26±0.13	1.08±0.02	1.08±0.06	1.04±0.03	1.18±0.15	1.05±0.10
C20:4n-6	7.18±1.88	5.12±0.14	5.10±0.14	5.44±0.05	5.84±1.06	5.05±0.36
C20:5n-3	2.68±0.13	2.27±0.10	2.31±0.01	2.38±0.12	2.41±0.25	2.23±0.17
C22:6n-3	8.93±0.16	8.60±0.19	8.51±0.31	8.56±0.04	8.67±0.07	8.35±0.70
Total PUFA	36.8±0.06	34.2±0.07	34.9±1.61	33.7±1.20	32.5±0.19	33.0±1.99
Total n-3	13.6±0.83	13.0±0.29	12.8±0.47	12.7±0.17	12.7±0.16	12.7±0.78

Mean values of triplicate groups are presented as mean±SD. The lack of superscript letter indicates no significant differences among treatments. Values in the same row having different superscript letters are significantly different (P<0.05). CON, control; DAGLL, low purity 1,3-lauryl glycerol; DAGLH, high purity 1,3-lauryl glycerol; DAGPL, low purity 1,3-palmityl glycerol; DAGPH, high purity 1,3-palmityl glycerol; DAGLP, 50% low purity 1,3-lauryl glycerol+50% low purity 1,3-palmityl glycerol.

oxidative radical 생성량을 측정하여 대식세포의 활성을 확인하는 방법이다(Kumari and Sahoo, 2005). MPO는 과산화소로써 hypochlorous acid를 만들어 병원체를 사멸시키는 기능을 하며, lysozyme은 세균 세포벽의 peptidoglycan의  $\beta$ -1,4-glucoside 결합을 가수분해하여 세균의 세포벽을 파괴하는 기능을 한다(Kim et al., 2011). 비특이적 면역분석 결과, 모든 실험구 간에 유의적인 차이가 없는 것으로 보아 DAG를 이용한 어유 대체에 따른 비특이적 면역에도 전혀 이상이 없을 것으로 사료된다.

전어체 지방산 분석결과는 Table 6에 나타내었다. 1,3-lauryl glycerol이 첨가된 DAGLL, DAGLH, DAGLP 실험구에서 lauric acid가 축적된 것을 확인할 수 있었다. Lauric acid는 12개의 탄소 축을 가진 포화 중쇄지방산(medium-chain fatty acid)으로 다양한 세균에 항균 효과를 갖는 것으로 보고되고 있다(Jensen, 2002; Nair et al., 2004a, 2004b; Thormar et al., 2006; Park et al., 2007). Lauric acid의 항균 활성 기작은 세균의 전자전달계와 인산화 작용을 방해함으로써 에너지 생성을 저해시켜 세균을 사멸시키는 것으로 추정되고 있다(Wieckowski and Wojtczak, 1998; Desbois and Smith, 2010). DAGLL, DAGLH, DAGLP 실험어의 체내에서 lauric acid가 축적된 것으로 보아 세균성 질병에 대한 저항 효과를 기대할 수 있을 것으로 판단되며, 이와 관련된 추가 연구가 요구된다. DHA, EPA, 고도불포화지방산(PUFA) 함량은 DAG가 첨가된 실험구가 대조구에 비해 다소 감소하는 경향을 보였으나, 실험구 간에 유의적인 차이는 없었다. 이러한 결과는 사료 내 DHA, EPA, 고도불포화지방산 함량과 유사한 경향을 나타낸다. 일반적으로 어체 지방산 조성은 공급되는 사료의 지방산 조성에 영향을 받으며, 이는 여러 어종을 대상으로 선행된 연구를 통해 알려져 있다(Montero et al., 2005; Martínez-Llorens et al., 2007; Fountoulaki et al., 2009). 또한 대상 어종의 필수지방산 요구량이 충족된 사료를 섭취한 어류의 일반성분은 사료의 지질원에 영향을 받지 않는다고 보고되고 있다(Ng et al., 2003; Kim et al., 2010; Aminikhoei et al., 2013).

따라서 DAG는 넙치 배합사료 내 6% 가량의 어유를 100%까지 대체할 수 있으며, 이러한 대체 수준은 넙치의 일반적인 건강도, 면역활성 및 필수 지방산 대사에 악 영향을 전혀 미치지 않는 것으로 판단된다. 추후 DAG의 대사 특성을 고려한 단백질 절약 효과 및 DAG에 함유된 lauric acid의 질병 저항 효과에 관한 연구가 추가적으로 요구된다.

## 사 사

이 연구는 (주)시너젠의 연구비 지원으로 수행된 연구이며 연구비 지원에 감사드립니다.

## References

- Aminikhoei Z, Choi J, Lee SM and Kim KD. 2013. Effects of different dietary lipid sources on growth performance, fatty acid composition and antioxidant enzyme activity of juvenile rockfish, *Sebastes schlegeli*. J World Aquacult Soc 44, 716-725. <https://doi.org/10.1111/jwas.12070>.
- Anderson DP and Siwicki AK. 1995. Basic hematology and serology for fish health programs. In: Shariff M, Arthur JR, Subasinghe RP (Eds.), Diseases in Asian aquaculture II. Philippines fish health section, Asian Fisheries Society, Manila, 185.
- AOAC (Association of Official Analytical Chemists). 1995. Official methods of analysis. 16th edn. Association of Official Analytical Chemists, Arlington, Virginia.
- Bach AC and Babayan VK. 1982. Medium-chain triglycerides: an update. Am J Clin Nutr 36, 950-962. <https://doi.org/10.1093/ajcn/36.5.950>.
- Bell JG, McGhee F, Campbell PJ and Sargent JR. 2003. Rapeseed oil as an alternative to marine fish oil in diets of post-smolt Atlantic salmon *Salmo salar*: changes in flesh fatty acid composition and effectiveness of subsequent fish oil "wash out". Aquaculture 218, 515-528. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(02\)00462-3](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(02)00462-3).
- Birari RB and Bhutani KK. 2007. Pancreatic lipase inhibitors from natural sources: unexplored potential. Drug Discov Today 12, 879-889. <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2007.07.024>.
- Desbois AP and Smith VJ. 2010. Antibacterial free fatty acids: activities, mechanisms of action and biotechnological potential. Appl Microbiol Biotechnol, 85, 1629-1642. <https://doi.org/10.1007/s00253-009-2355-3>.
- Emery JA, Norambuena F, Trushenski J and Turchini GM. 2016. Uncoupling EPA and DHA in fish nutrition: Dietary demand is limited in Atlantic salmon and effectively met by DHA alone. Lipids 51, 399-412. <https://doi.org/10.1007/s11745-016-4136-y>.
- FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations). 2016. The state of world fisheries and aquaculture. FAO Fisheries Report, Retrieved from <http://www.fao.org/3/a-i5555e.pdf> on Aug 15, 2019.
- Folch J, Lee M and Sloane-Stanley GH 1957. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. J Biol Chem 226, 497-509.
- Fountoulaki E, Vasilaki A, Hurtado R, Grigorakis K, Karacostas I, Nengas I, Rigos G, Kotzamanis Y, Venou B and Alexis MN. 2009. Fish oil substitution by vegetable oils in commercial diets for gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.); effects on growth performance, flesh quality and fillet fatty acid profile: recovery of fatty acid profiles by a fish oil finishing diet under fluctuating water temperatures. Aquaculture 289, 317-326. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2009.01.023>.

- Hultmark D, Steiner H, Rasmuson T and Boman HG. 1980. Insect immunity: purification and properties of three inducible bactericidal proteins from hemolymph of immunized pupae of *Hyalophora cecropia*. Eur J Biochem 106, 7-16. <https://doi.org/10.1111/j.1432-1033.1980.tb05991.x>.
- Hertrampf JW and Piedad-Pascual F. 2002. Handbook on ingredients for aquaculture feeds. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht.
- Ijiri Y, Naemura A, Yamashita T, Meguro S, Watanabe H, Tokimitsu I and Yamamoto J. 2006. Dietary diacylglycerol extenuates arterial thrombosis in apoE and LDLR deficient mice. Thromb Res 117, 441-417. <https://doi.org/10.1016/j.thromres.2005.04.001>.
- Izquierdo MS, Montero D, Robaina L, Caballero MJ, Rosenlund G and Ginés R. 2005. Alterations in fillet fatty acid profile and flesh quality in gilthead seabream (*Sparus aurata*) fed vegetable oils for a long term period. Recovery of fatty acid profiles by fish oil feeding. Aquaculture, 250, 431-444. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2004.12.001>.
- Jensen RG. 2002. The composition of bovine milk lipids: January 1995 to December 2000. J Dairy Sci 85, 295-350. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(02\)74079-4](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(02)74079-4).
- Jiao Y, Yun KS, Nyachoti M and Kim IH. 2019. Effect of dietary supplementation of diacylglycerol on growth performance, nutrient digestibility, and blood profiles in growing pigs fed corn-SBM based diet. Can J Anim Sci, 1-19. <https://doi.org/10.1139/CJAS-2018-0165>.
- Kim KD, Kim JD, Lim SG, Kang YJ and Son MH. 2010. Effects of dietary lipid sources on the growth and body composition of the far eastern catfish, *Silurus asotus*. Korean J Fish Aquat Sci 43, 445-450.
- Kim KW, Kim SS, Jeong JB, Jeon YJ, Kim KD, An CM and Lee KJ. 2011. Effects of dietary fluid on growth performance, immune responses, blood components, and disease resistance against *Edwardsiella tarda* and *streptococcus iniae* in olive flounder *Paralichthys olivaceus*. Korean J Fish Aquat Sci 44, 644-652. <https://doi.org/10.5657/KFAS.2011.0644>
- KOSIS (Korean Statistical Information Service). 2018. Survey on the status of fish culture. Retrieved from <http://kosis.kr/publication/publicationThema.do?pubcode=JL> on Mar 12, 2019.
- Kim E and Lee SM. 2019. Effect of different dietary composition of linoleic acid, eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid on the growth and fatty acid profile of olive flounder *Paralichthys olivaceus*. Korean J Fish Aquat Sci 52, 49-58. <https://doi.org/10.5657/KFAS.2019.0049>.
- Kristofferson R, Broberg S, Oskari A and Pekkarinen M. 1974. Effect of a sublethal concentration of phenol on some blood plasma enzyme activities in the pike (*Esox lucius* L.) in brackish water. Ann Zool Fennici 11, 220-223. <https://doi.org/10.1007/bf00677929>.
- Kumari J and Sahoo PK. 2005. Effects of cyclophosphamide on the immune system and disease resistance of Asian catfish *Clarias batrachus*. Fish Shellfish Immunol 19, 307-316.
- Martínez-Llorens S, Vidal AT, Moñino AV, Torres MP and Cerdá MJ. 2007. Effects of dietary soybean oil concentration on growth, nutrient utilization and muscle fatty acid composition of gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.). Aquac Res 38, 76-81. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2006.01636.x>.
- Metcalf LD and Schmitz AA. 1961. The rapid preparation of fatty acid esters for gas chromatographic analysis. Anal Chem 33, 363-364. <https://doi.org/10.1021/av60171a016>.
- Montero D, Robaina L, Calballero MJ, Ginés R and Izquierdo MS. 2005. Growth, feed utilization and flesh quality of European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) fed diets containing vegetable oils: A time-course study on the effect of a re-feeding period with a 100% fish oil diet. Aquaculture 248, 121-134. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2005.03.003>.
- Nair MKM, Joy J and Venkitanarayanan KS. 2004a. Inactivation of *Enterobacter sakazakii* in reconstituted infant formula by monocaprylin. J Food Prot 67, 2815-2819. <https://doi.org/10.4315/0362-028X-67.12.2815>.
- Nair MKM, Vasudevan P, Hoagland T and Venkitanarayanan K. 2004b. Inactivation of *Escherichia coli* O157: H7 and *Listeria monocytogenes* in milk by caprylic acid and monocaprylin. Food Microbiol 21, 611-616. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2004.01.003>.
- NRC (National Research Council). 2011. Nutrient requirements of fish and shrimp. The National Academy Press, Washington DC, U.S.A.
- Ng WK, Lim PK and Boey PL. 2003. Dietary lipid and palm oil source affects growth, fatty acid composition and muscle a-tocopherol concentration of African catfish, *Clarias gariepinus*. Aquaculture 215, 229-243. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(02\)00067-4](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(02)00067-4).
- Park YW, Juárez M, Ramos M and Haenlein GFW. 2007. Physico-chemical characteristics of goat and sheep milk. Small Rumin Res 68, 88-113. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2006.09.013>.
- Peng S, Chen L, Qin JG, Yu N, Long Z, Te J and Sun X. 2008. Effects of replacement of dietary fish oil by soybean oil on growth performance and liver biochemical composition in juvenile black seabream, *Acanthopagrus schlegeli*. Aquaculture 276, 154-161. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2008.01.035>.
- Piedecausa MA, Mazón MJ, García BG and Hernández MD. 2007. Effects of total replacement of fish oil by vegetable oils in the diets of sharp snout seabream (*Diplodus puntazzo*). Aquaculture 263, 211-219. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2006.09.039>.
- Tacon AGH and Metian M. 2008. Global overview on the use of fish meal and fish oil in industrially compounded aquafeeds: trends and future prospects. Aquaculture 285, 146-158. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2008.08.015>.

- Tacon AGH and Metian M. 2015. Feed matter: satisfying the feed demand of aquaculture. *Rev Fish Sci & Aquac* 23, 1-10. <https://doi.org/10.1080/23308249.2014.987209>.
- Takase H. 2007. Metabolism of diacylglycerol in humans. *Asia Pac J Clin Nutr* 16, 398-403. <https://doi.org/10.6133/apjcn.2007.16.s1.72>.
- Thormar H, Hilmarsson H and Bergsson G. 2006. Stable concentrated emulsions of the 1-monoglyceride of capric acid (monocaprin) with microbicidal activities against the food-borne bacteria *Campylobacter jejuni*, *Salmonella* spp., and *Escherichia coli*. *Appl Environ Microbiol* 72, 522-526. <https://doi.org/10.1128/AEM.72.1.522-526.2006>.
- Więckowski MR and Wojtczak L. 1998. Fatty acid-induced uncoupling of oxidative phosphorylation is partly due to opening of the mitochondrial permeability transition pore. *FEBS letters* 423, 339-342. [https://doi.org/10.1016/S0014-5793\(98\)00118-5](https://doi.org/10.1016/S0014-5793(98)00118-5).