

치어기 대서양참다랑어(*Thunnus thynnus*) 사료 내 아마인유의 이용성 평가

지승철[†] · 임종호^{1†} · 신재형¹ · 이경준^{2*}

국립수산과학원 아열대수산연구소, ¹제주대학교 해양생명과학과, ²제주대학교 해양과학연구소

Evaluation of Dietary Supplementation with Linseed Oil for Juvenile Atlantic Bluefin Tuna *Thunnus thynnus*

Seung-Cheol Ji[†], Jongho Lim^{1†}, Jaehyeong Shin¹ and Kyeong-Jun Lee^{2*}

Subtropical Fisheries Research Institute, National Institute of Fisheries Science, Jeju 63068, Republic of Korea

¹Department of Marine Life Science, Jeju National University, Jeju 63243, Republic of Korea

²Marine Science Institute, Jeju National University, Jeju 63333, Republic of Korea

This study evaluated the supplemental effects of linseed oil (LO) as a substitute for docosahexaenoic acid oil (DHAO) in the diet of juvenile Atlantic bluefin tuna. A control diet (DHA) was formulated to contain 65% enzyme-treated fish meal and 3% of DHAO. A LO diet was formulated to contain 1% LO replacing 1% DHAO in DHA diet. In a feeding trial, 300 juvenile bluefin tuna (initial body weight 1.15 g) were randomly divided into two concrete tanks (70 ton capacity) and fed one of the experimental diets for 13 days. Weight gain was higher in the LO group (519%) than in the control (443%) while survival and protein digestibility were similar between groups. The biological assessment of the tuna digestive organs did not differ between the DHA and LO groups. The fatty acid composition of the carcass showed that α -linolenic acid was only observed in the LO group, and there was no difference in the composition of eicosapentaenoic acid and docosapentaenoic acid between the groups. These results indicate that LO could be a dietary good oil source for Atlantic bluefin tuna without apparent negative effects.

Keywords: Atlantic bluefin tuna, DHA oil, Linseed oil, Diets, Replacement

서론

대서양참다랑어(*Thunnus thynnus*)는 최대 650 kg 이상까지 빠르게 성장하는 대형어종이며, 아한대에서 아열대 지역에 이르는 광범위한 환경에서 서식한다(Block et al., 2005). 2021년 도 세계 참다랑어의 어획량은 약 48,000톤이다(SSF, 2023). 참다랑어는 주로 어획을 통해 공급되고 있다. 향후 참다랑어의 어획량은 증가하지 않을 것으로 예상되며(Benetti et al., 2016), 안정적인 참다랑어의 공급을 위해서는 양식기술 개발이 필요하다. 어분(fish meal)은 양어 배합사료 내 주 단백질 원료로 널리 사용된다(Kim et al., 2019). 대서양 참다랑어와 남방참다랑어(*Thunnus maccoyii*)는 어분의 소화율이 55-57%로 다른 어류에 비해 낮다(Carter et al., 1999; Shin et al., 2020). 이는 어분의 가공과정(가열, 건조, 분쇄) 과정에서 발생하는 단백질의 변성

이 원인인 것으로 알려져 있다(Takii et al., 2007a). 참다랑어 전용 배합사료의 개발을 위해서는 우선적으로 어분을 대체할 수 있는 고급 단백질의 개발이 필요하다. 국내에서는 자체적으로 참다랑어용 배합사료를 개발하기 위한 연구가 일부 수행되었다. 효소처리어분(enzyme-treated fish meal, EFM)은 생선뼈를 분리하여 제거한 뒤 papain, pepsin, trypsin 등의 효소를 처리하여 제작되며(Hsu, 2010), 저분자 단백질을 다량 함유하고 있어 체내 이용효율이 어분에 비해 높은 것으로 보고되었다(Aguila et al., 2007). Ji et al. (2019)은 EFM이 사료 내 주단백질원으로 사용가능하다고 보고하였다. 또한, 치어기 참다랑어는 EFM에 대한 소화율이 어분보다 높으며, 성장함에 따라 어분의 이용효율이 높아진다고 보고되었다(Biswas et al., 2016; Shin et al., 2020). 어류 사료에서는 주 지질원으로 어유(fish oil)를 사용하는데, 참다랑어는 회유성 어종으로 에너지 소모량이 많아

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

E-mail address: kjlee@jeju.ac.kr †Contributed equally.



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.2023.0741>

Korean J Fish Aquat Sci 56(5), 741-748, October 2023

Received 19 July 2023; Revised 7 August 2023; Accepted 23 October 2023

저자 직위: 지승철(연구소), 임종호(대학원생), 신재형(대학원생), 이경준(교수)

사료 내 지질 요구량이 약 18%로 높은 편이다(Biswas et al., 2016). 어유는 해양어류의 성장과 건강에 중요한 역할을 하는 eicosapentaenoic acid (EPA)와 docosahexaenoic acid (DHA) 같은 long chain poly unsaturated fatty acid (LC-PUFA)를 다량 함유하고 있다. DHA는 해산 어류의 필수지방산으로 성장과 생존율에 직접적으로 영향을 주기 때문에 필수적으로 공급받아야 한다(NRC, 2011). 참다랑어는 다른 어종에 비해 DHA의 요구량이 매우 높기 때문에 사료 내 지질원으로 어유만 사용할 경우 DHA가 결핍된다(Sawada et al., 1993). 따라서 참다랑어의 DHA 결핍을 예방하기 위해서는 일반적으로 DHA농축유 또는 DHA의 함량이 높은 연어난유(salmon egg oil)와 가다랑어유(bonito oil)가 사용된다(Ji et al., 2008). DHA 농축유는 매우 고가의 원료로 배합사료 내 지질원으로 이용되는 대구간유(cod liver oil)보다 약 100배 정도 비싸기 때문에, 소량의 첨가로도 사료의 가격을 크게 증가시킬 수 있다(Ji et al., 2020). 대서양참다랑어 배합사료 내 DHA 함량이 2.7%이상일 경우 생사료(까나리)를 공급한 실험구와 성장이 유사하다고 보고되었다(Ji et al., 2019, 2020). 하지만 대서양참다랑어의 정확한 DHA 요구량에 관한 연구는 미흡한 실정이다.

Linseed oil (LO)은 식물성 지질원으로 어류 사료에서는 주로 어유를 일부 대체하기 위해서 사용된다(Li et al., 2016). LO는 omega-3 지방산인 α -linolenic acid (LNA)를 50%이상 함유하고 있다(Popa et al., 2012). 담수 어류는 fatty acyl-CoA desaturase (FAD)에 의한 생합성을 통해 LNA를 arachidonic acid (ARA)로, ARA에서 EPA로, 그리고 EPA에서 DHA로 전환시키는 능력이 있다(Caballero et al., 2002; Bell et al., 2003). 해산 어류의 경우 일부 어종에서 제한적이지만 FAD에 의한 LC-PUFA의 생합성이 가능하다고 알려져 있다(Galindo et al., 2021; Xie et al., 2021). 대서양참다랑어의 경우 체내 생합성을 통한 LC-PUFA의 보충은 제한적이라고 보고되었다(Betancor et al., 2017, 2019).

사료원료는 소화율 측정을 통해 원료의 질을 평가한다(Lee, 2002). 참다랑어의 소화율에 관한 연구는 단백질 원료를 대상으로만 진행되었으며(Shin et al., 2020), 다양한 지질원의 첨가에 따른 소화율 연구는 미흡한 실정이다. 따라서, 본 연구는 참다랑어 사료 내 DHA 농축유의 33% (사료 내 1%)를 LO로 대체함에 따른 성장, 어체 지방산 분석, 소화율, 소화효소활성에 미치는 영향을 조사하고자 수행되었다.

재료 및 방법

실험사료

실험사료의 배합비는 Ji et al. (2020)의 연구결과를 토대로 조성되었으며, vitamin과 mineral premixture는 Shin et al. (2020)의 연구결과를 토대로 조성되었다. 실험사료는 선행연구를 통해 사육효능이 검증된 DHA구와 DHA구 사료 내 DHA농축

유의 33% (사료 내 1%)를 LO로 대체한 LO구로 조성되었다(Table 1). 실험사료는 각 원료를 혼합한 후, 증류수(10%)를 혼합하였다. 사료제작기(SP-50; Gungang Engineering, Daegu, Korea)를 이용하여 총 3가지 크기(직경 1, 1.5, 2 mm)로 성형되었다. 실험사료는 건조(24°C, 12 h) 되어 -24°C 냉동고에 보관 후, 실험에 이용되었다. 실험사료의 지방산 조성은 Table 2에 각각 나타내었다.

실험어와 사육관리

사육실험은 국립수산과학원 아열대수산연구소 내 참다랑

Table 1. Diet formulation and proximate composition of the experimental diets for juvenile Atlantic bluefin tuna *Thunnus thynnus* (% of dry matter)

| Ingredients | Experimental diets | |
|---------------------------------------|--------------------|------|
| | DHA | LO |
| Enzyme treated fish meal ¹ | 65.0 | 65.0 |
| Fish meal, sardine ² | 10.0 | 10.0 |
| Soy protein concentrate ³ | 8.00 | 8.00 |
| DHA oil ⁴ | 3.00 | 2.00 |
| Linseed oil ⁵ | - | 1.00 |
| Cod liver oil ⁶ | 5.00 | 5.00 |
| Mineral premix ⁷ | 1.00 | 1.00 |
| Vitamin premix ⁸ | 1.00 | 1.00 |
| Taurine | 1.50 | 1.50 |
| Wheat flour | 4.50 | 4.50 |
| Lecithin | 1.00 | 1.00 |
| Proximate composition | | |
| Crude protein | 63.2 | 62.7 |
| Crude lipid | 20.7 | 19.7 |
| DHA | 5.18 | 3.86 |
| EPA | 1.63 | 1.51 |
| Ash | 6.49 | 7.21 |
| Moisture | 5.81 | 6.47 |

¹CPSP, Sopropeche, France. ²Orizon S.A., Las Condes, Chile.

³Koreaflavor, Corp., Cheongju, Korea. ⁴DHA Concentrate oil, corp. Chemport, Korea. ⁵Alligga™, Richmond, Canada. ⁶E-wha oil, Corp., Incheon, Korea. ⁷Mineral premixture (g/kg of mixture): MgSo4.7H2O, 60; Nah2PO4.2H2O, 600; KCL, 250; ferric citrate, 19.90; ZnSo4.7H2O, 3.00 Ca-lactate, 650; CuCL, 0.350; KI, 0.085; Na2Se2O3, 0.0265; MnSO4.H2O, 1.300; CoCL2, 0.0525. ⁸Vitamin mixture (g/ kg, mixture): L-ascorbic acid, 222; DL- α tocopheryl acetate, 114.8; thiamin hydrochloride, 3.63; riboflavin, 5.1; pyridoxine hydrochloride, 4.005; niacin, 28.05; Ca-D-pantothenate, 12.135; myo-inositol, 115.95; D-biotin, 0.391; folic acid, 1.38; menadione, 1.5; retinyl acetate, 1.704; cholecalciferol, 5; cyanocobalamin, 0.011. DHA, Docosahexaenoic acid; LO, Linseed oil.

어 전용 사육시설에서 진행되었으며, 몰타(Malta)에서 수정란을 제공받아 인공부화된 후 35일간 사육된 대서양참다랑어 치어를 사용하였다. 참다랑어는 분쇄 후 냉동된 생사료(까나리, sand lance)와 Ji et al. (2020)을 참고하여 자체 제작된 배합사료(CP:58, CL:17)를 교차로 2일간 공급하여 실험환경에 순치하였으며, 사육실험은 제주대학교 동물실험윤리위원회의 윤리 규정(2019-0032)을 준수하며 실시되었다. 예비사육 후, 초기 평균무게 1.15 ± 0.03 g ($n=50$)의 대서양참다랑어는 총 2개의 원형 콘크리트 수조(70 ton)에 각 150마리씩 배치되었다. 수조 내 용존산소(dissolved oxygen, DO)는 산소발생기(aeration)와 액화산소 주입기를 통해 조절되었으며 수온과 DO는 Pro20 Dissolved Oxygen Instrument (YSI, Yellow Springs, OH, USA)를 이용하여 1일 1회 측정되었다. 사육기간 동안 수온은 $26.8 \pm 0.05^\circ\text{C}$, DO는 10.6 ± 0.51 ppm으로 유지되었다. 실험사료는 1일 4회(08:00, 11:00, 14:00, 17:00 h)에 나누어 총 13일간 반복 공급하였다. 수조 바닥의 이물질은 4일 1회 siphon을 사용하여 제거되었다.

Table 2. Fatty acid composition of the experimental diets, protein sources and carcass for juvenile Atlantic bluefin tuna *Thunnus thynnus* (% of lipid)

| Fatty acids | Experimental diets | | Protein sources | | Carcass | |
|---------------------|--------------------|------|------------------|-----------|---------|------|
| | DHA | LO | EFM ¹ | Fish meal | DHA | LO |
| 14:0 | 3.51 | 3.50 | 3.82 | 5.71 | 3.45 | 3.29 |
| 16:0 | 13.8 | 14.0 | 16.3 | 28.6 | 27.6 | 26.3 |
| 16:1 | 5.40 | 5.40 | 5.69 | 6.42 | 6.04 | 5.87 |
| 18:0 | 3.41 | 3.59 | 4.58 | 8.15 | 10.4 | 10.0 |
| 18:1n9 ² | 22.2 | 23.2 | 27.4 | 14.7 | 31.4 | 30.4 |
| 18:2n6 ³ | 8.55 | 9.42 | 8.22 | 3.64 | 5.17 | 5.90 |
| 18:3n3 ⁴ | 2.65 | 5.86 | 12.2 | 5.47 | - | 1.32 |
| 20:1 | 4.76 | 4.82 | - | - | 5.20 | 4.99 |
| 20:4n6 ⁵ | 0.81 | 0.77 | 8.16 | 2.81 | - | 0.52 |
| 20:5n3 ⁶ | 7.87 | 7.65 | 4.91 | 12.7 | 1.49 | 1.82 |
| 22:1n9 | 0.79 | 0.79 | - | - | 1.06 | 1.02 |
| 22:6n3 ⁷ | 25.0 | 19.6 | 7.27 | 11.8 | 6.12 | 6.60 |
| DHA/EPA | 3.18 | 2.56 | 1.48 | 0.92 | 4.11 | 3.63 |
| Σn-3 ⁸ | 35.5 | 33.1 | 24.3 | 29.9 | 7.61 | 9.74 |
| Σn-6 ⁹ | 9.36 | 10.2 | 16.4 | 6.45 | 5.17 | 6.42 |
| n-3/n-6 | 3.16 | 3.24 | 1.48 | 4.63 | 1.47 | 1.51 |
| Total | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 |

¹Enzyme treated fish meal. ²Oleic acid. ³Linoleic acid. ⁴Linolenic acid. ⁵Arachidonic acid. ⁶Eicosapentaenoic acid. ⁷Docosahexaenoic acid. ⁸Omega-3 fatty acid; 18:3n3, 20:5n3, 22:6n3. ⁹Omega-6 fatty acid; 18:2n6, 20n:3n6, 20:4n6. DHA, Docosahexaenoic acid; LO, Linseed oil.

Sampling과 분석

사육실험 종료 후 최종무게(final body weight, FBW)를 측정하여 성장률(weight gain, WG), 일간성장률(specific growth rate, SGR), 사료전환효율(feed conversion ratio, FCR), 단백질 이용효율(protein efficiency ratio, PER), 생존율(survival)을 계산하였다. FBW 측정을 위해 12시간 전부터 사료 공급을 중단하였다. 실험어의 소화기관은 10마리의 참다랑어를 무작위로 선별하여 얼음물에 마취시킨 후 적출되었다. 적출된 각 소화기관(간, 위, 장)은 무게를 측정하여 간중량지수(hepato-somatic index, HSI), 위중량지수(stomach-somatic index, SSI), 장중량지수(intestine-somatic index, ISI), 비만도(condition factor, CF)를 계산하였으며, 5가지 소화효소(pepsin, trypsin, chymotrypsin, amylase, lipase) 분석에 사용되었다. 적출된 장기는 증류수와 혼합 후, 조직균질기(tissue grinder)를 이용하여 분쇄되었다. 분쇄된 샘플은 원심분리(4°C, 10,000 g, 15 min)후, 상층액을 분리하여 분석에 사용되었다. 각 샘플의 단백질 총량(total protein)은 Bradford (1976)의 방법에 따라 분석되었다. Pepsin과 amylase활성은 Worthington (1991)의 방법에 따라, trypsin과 chymotrypsin활성은 Erlanger et al. (1961)의 방법에 따라 분석되었으며, lipase의 활성은 Borlongan (1990)의 방법에 따라 분석되었다. 소화기관이 적출된 어체(carccass)는 일반성분분석과 지방산 분석에 사용되었다.

실험사료, 어체(각 수조 당 5마리)에 대한 일반성분분석은 AOAC (2005)의 방법에 따라 수분은 상압가열건조법(125°C, 3 h), 조회분은 직접회화로법(550°C, 4 h), 단백질은 조단백질 분석기(Kjeltec™2300; FOSS analytical, Hillerød, Denmark)로 분석되었으며, 지방은 Folch et al. (1957)의 방법에 따라 분석되었다.

실험사료, 실험어체, 어분 그리고 EFM의 지방산 조성이 분석되었다. 지방산은 Metcalfe and Schmitz (1961)의 방법에 따라 추출되었으며, 분리된 지방산은 capillary column (112-88A7, 100 m × 0.25 mm, film thickness 0.20 μm; Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA)이 장착된 gas chromatography (Gas Agilent 6800GC, Agilent Technologies)를 통해 분석되었다. Carrier gas는 수소를 사용하였고, oven의 온도는 140°C에서 240°C까지 4°C/min으로 증가시켰다. Inject와 detector의 온도는 240°C로 설정하였다. Standard sample은 37 component FAME Mix (Supelco, Saint Louis, MO, USA)를 사용하였다.

소화율 평가

소화율 측정을 위한 지시제는 chromium oxide (Cr₂O₃, Daejung, Siheung-si, Korea)을 사용하였으며, 실험사료 내 1%가 되도록 첨가하였다. 실험사료는 각 원료를 혼합한 후, 증류수(10%)를 혼합하였다. 실험사료는 사료제작기(SP-50; Gumgang Engineering)를 이용하여 2 mm로 성형되었다. 실험사료는 건조(24°C, 12 h) 되어 -24°C 냉동고에 보관 후, 실험에 이용

되었다. 소화율 실험사료는 사육실험 무계측정(사육실험 13일차, 부화 후 48일) 종료 후 동일한 실험구의 참다랑어(부화 후 49일)에 1일간 만복공급 되었다. 마지막 사료 공급 후 7시간 뒤에 얼음물에 넣어 기절시킨 실험어의 장(항문 끝에서부터 전체 장 길이의 2/3 부위)을 절개하여 전장에서 항문방향으로 눌러 분을 수집하였다. 공복시간은 Shin et al. (2020)의 연구결과를 토대로 진행하였다. 분 샘플은 초저온냉동고(-80°C)에 보관 후 동결건조 하였다. 실험사료와 분의 chromium oxide 함량은 Divakaran et al. (2002)의 방법을 토대로 분석되었으며, 실험사료에 대한 외관상소화율(apparent digestibility coefficient, ADC) 계산식은 다음과 같다.

ADC of protein (%)=

$$100-100 \times (\% \text{ of } Cr_2O_3 \text{ in diet} / \% \text{ of } Cr_2O_3 \text{ in feces}) \times (\% \text{ of protein in feces} / \% \text{ of protein in diet})$$

Apparent digestibility coefficient of dry matter (%)=

$$100-100 \times (\% \text{ of } Cr_2O_3 \text{ in diet} / \% \text{ of } Cr_2O_3 \text{ in feces})$$

통계분석

분석결과는 SPSS (Version 24.0) 프로그램을 이용하여 independent T-test로 통계 분석되어 데이터 값의 평균 간의 유의성($P < 0.05$)을 비교하였다. 데이터는 평균값±표준편차(mean±standard deviation)로 나타내었으며, 백분율 데이터는 arcsine 변형 값으로 계산하여 통계분석 되었다.

결 과

어체의 지방산 조성(% of lipid)은 Table 2에 나타내었다. Oleic acid와 linoleic acid의 함량은 DHA구와 LO구 사이에 차이가 없었다. LNA와 ARA는 DHA구에는 함유되어 있지 않았으며, LO구에서 각각 1.32%, 0.52% 함유되어 있었다. DHA구와 LO구의 EPA함량은 1.49%, 1.82%, DHA 함량은 6.12%, 6.60%로 나타났다. 실험어의 FBW과 WG은 각각 DHA구가 6.25 g, 443%, LO구가 7.12 g, 519%로 나타났다(Table 3). SGR은 DHA구가 11.3%, LO구가 12.2%로 나타났다. FCR과 PER은 LO구와 DHA구 간에 차이가 없었다. FI는 LO구가 DHA구보다 높았다. 개체 별 DHA 섭취량은 DHA구가 0.12 g, LO구가 0.11g으로 나타났다. 생존율은 DHA구와 LO구에서 각각 64.3%, 62.7%로 나타났다. 어체 조단백질, 조회분, 수분 함량은 DHA구와 LO구 사이에 유의적인 차이가 없었으나 조지질 함량에서는 LO구(3.66%)가 DHA구(1.59)보다 높았다.

실험어의 VSI는 DHA구(6.5%)가 LO구(5.1%)보다 높았다(Table 3). ISI는 DHA구(1.76%)가 LO구(0.92%)보다 유의적으로 높았다. HSI, SSI, CF는 DHA구와 LO구 사이에 유의적인 차이가 없었다.

실험사료의 단백질 소화율은 DHA구가 83.2%, LO구가 80.1%로 나타났다. 건물 소화율은 DHA구(68.3%)와 LO(66.1%)구 사이에 유의적인 차이는 없었다(Table 4). 실험어 소화기관의 효소활성(pepsin, trypsin, chymotrypsin, amylase, lipase)은 DHA구와 LO구 사이에 유의적인 차이가 없었다(Table 4).

Table 3. Growth performance, feed utilization, survival, proximate composition of fish carcass and biological assessment of digestive organs of juvenile Atlantic bluefin tuna *Thunnus thynnus* fed the experimental diets for 13 days

| Dietary treatment | DHA | LO | One-way ANOVA |
|--|------------------------|------------------------|---------------|
| Growth performance and feed utilization | | | |
| FBW ¹ (g) | 6.25 | 7.12 | |
| WG ² (%) | 443 | 519 | |
| FI ³ (g) | 2.49 | 2.95 | |
| DI ⁴ (g) | 0.12 | 0.11 | |
| FCR ⁵ | 0.49 | 0.49 | |
| PER ⁶ | 3.25 | 3.21 | |
| SGR ⁷ (%) | 11.3 | 12.2 | |
| Survival (%) | 64.3 | 62.7 | |
| Proximate composition of fish carcass (% of wet basis, PC) | | | |
| Crude protein | 14.2±0.32 | 13.6±2.57 | 0.064 |
| Crude lipid | 1.59±0.47 ^b | 3.66±0.80 ^a | 0.028 |
| Crude ash | 1.40±0.40 | 1.33±0.12 | 0.833 |
| Moisture | 80.2±0.24 | 80.6±1.03 | 0.649 |
| Biological assessment of digestive organs (BA) | | | |
| CF ⁸ | 1.01±0.10 | 1.00±0.08 | 0.688 |
| VSI ⁹ | 6.51±1.53 | 5.10±1.18 | 0.072 |
| HSI ¹⁰ | 2.35±0.99 | 2.21±0.90 | 0.779 |
| SSI ¹¹ | 2.13±0.74 | 1.97±0.43 | 0.590 |
| ISI ¹² | 1.76±0.78 ^a | 0.92±0.60 ^b | 0.009 |

¹Final body weight. ²Weight gain (%)=[(final body weight-initial body weight)/initial body weight]×100. ³Feed intake (g)=dry feed consumed (g)/fish. ⁴Docosahexaenoic acid intake (g)=[feed intake (g)×lipid content of diet (%)×100]×DHA content of diet (%)×100.

⁵Feed conversion ratio=dry feed fed/wet weight gain. ⁶Protein efficiency ratio=fish weight gain (g)/protein. ⁷Specific growth ratio (%)=[(log_e final body weight-log_e initial body weight)/days]×100.

⁸Condition factor=(fish body weight/fish body length³)×100.

⁹Viscerasomatic index=(viscera weight×100)/fish body weight.

¹⁰Hepatosomatic index=(liver weight×100)/fish body weight.

¹¹Stomachsomatic index=(stomach weight×100)/fish body weight.

¹²Intestinesomatic index=(intestine weight×100)/fish body weight.

DHA, Docosahexaenoic acid; LO, Linseed oil. Mean values of PC, BA are presented as mean±standard deviation (n=3). Values with different superscripts in the same row are significantly different ($P < 0.05$).

고찰

본 사육실험의 생존율은 62–64%로 나타났다. 참다랑어는 빛, 진동 등의 외부자극에 극히 민감하여 사육실험 기간 중 생존율이 다른 어류에 비해 낮다(Ji et al., 2020). 참다랑어를 대상으로 진행된 선행연구에서는 실험초기 3일 이내에 실험어의 14–19%가 폐사하였는데, 이는 실험어를 실험용 수조로 옮기는 동안에 발생하는 스트레스가 원인인 것으로 보고되었다(Biswas et al., 2009, 2016). 또한 참다랑어는 성장함에 따라 유영속도가 빠르게 발달하기 때문에 수조에 충돌하여 폐사가 발생한다고 보고되었다(Ishibashi et al., 2009). 본 연구와 유사한 크기의 참다랑어(3.18–7.8 g)를 이용한 사육실험에서도 낮은 생존율(48–71%)이 보고되었다(Ji et al., 2008; Biswas et al., 2009). 본 사육실험에서 질병에 의한 폐사는 관찰되지 않았으며, 대부분의 폐사는 수조와 충돌하여 발생하였다. 참다랑어의 특수성을 고려하였을 때, 본 사육실험의 생존율에는 문제가 없었던 것으로 판단된다.

Betancor et al. (2019)은 치어기 대서양참다랑어를 대상으로 DHA 함량이 각각 3.2%, 2.3%인 배합사료를 공급한 결과, 성장 차이가 없었다고 보고하였으며 Ji et al. (2020)은 사료 내 DHA 함량이 2.7%인 배합사료를 공급할 경우 생사료를 공급한 실험구와 성장이 유사하다고 보고하였다. 해양 어류의 필수지방산은 주로 먹이를 통해 공급된다(Sargent and Tacon, 1999). Seoka et al. (2008)은 해양 어류 유생과 치어의 정상적인 성장을 위해서는 사료 내 DHA/EPA의 비율이 1.0 이상이라 되어야 한다고 보고하였다. 해양 어류가 주로 섭취하는 먹이인 생사료

의 DHA/EPA 비율은 2 이상인 것으로 보고되었다(Biswas et al., 2009). 본 연구의 사료 내 DHA 함량은 모두 3%이상 함유되었다. DHA구와 LO구의 DHA/EPA 비율은 각각 3.18, 2.56으로 높았으며 각 실험구의 개체별 DHA 섭취량은 차이가 없었다. 본 연구결과 DHA구의 WG는 443%, LO구는 519%로 DHA 결핍에 의한 성장저하는 나타나지 않았다. 이를 통해 참다랑어 사료 내 DHA함량이 3%이상이고 DHA/EPA 비율이 2.5 이상일 경우 LO는 지질원으로써 1%를 사용하여도 성장에 부정적인 영향이 없을 것으로 판단된다.

Betancor et al. (2019)은 대조구 사료에 DHA농축유(70%)를 2% 첨가하고 식물성 지질원인 rapeseed oil을 사료 내 4.7%까지 첨가한 배합사료를 공급하여도 성장에 부정적인 영향이 문제가 없었으며, 대조구에 비해 간의 지질 함량이 31% 증가하였다고 보고하였다. 참다랑어 어체 내 지질 함량은 섭취하는 먹이의 지질 함량이 증가함에 따라 증가하며, 지방산 조성은 섭취한 사료의 지방산 조성에 영향을 받는다고 보고되었다(Biswas et al., 2009; Betancor et al., 2019). 대서양참다랑어는 사료 내 LC-PUFA의 함량이 높을 경우 체내 LC-PUFA의 축적량이 증가하며, 그 중에서도 DHA를 선택적으로 축적하여 다른 해양 어류에 비해 어체의 DHA 함량이 높다고 보고되었다(Ishihara and Saito, 1996; Betancor et al., 2017, 2019). LNA가 LO구 어체에서만 축적된 것은 사료 내 LO 첨가에 따라 LNA가 보충되었기 때문으로 판단된다.

참다랑어의 생물학적 지표는 사료의 영양소 조성에 영향을 받는다. 참다랑어는 지질 함량이 높은 사료를 섭취하였을 경우 VSI와 HSI가 증가하며, 이는 소화기관이 생사료에 비해 소화율이 낮은 사료를 소화하기 위해 적응하였기 때문이라고 보고되었다(Takii et al., 2007a, 2007b, Ji et al., 2008; Biswas et al., 2009). Takii et al. (2007b)은 어분을 53–73% 함유한 배합사료를 공급한 참다랑어의 SSI는 생사료를 공급한 참다랑어보다 높다고 보고하였다. Shin et al. (2020)은 대서양참다랑어 치어를 대상으로 생사료와 배합사료를 공급할 경우, 장에서 각각 최대 8시간, 12시간까지 잔류한다고 보고하였다. DHA구와 LO구는 모두 배합사료를 공급하였으며 영양소 조성은 동일하였다.

어류의 소화율은 소화기관 내 소화효소의 활성화에 영향을 받는다(Li et al., 2014). 치어기 참다랑어(0.68–600 g)는 성장함에 따라 소화효소 활성이 증가된다고 보고되었다(Ji et al., 2019; Shin et al., 2020). Ji et al. (2020)은 생사료와 배합사료를 공급한 대서양참다랑어의 소화효소 활성에서는 차이가 있었으나 성장에서는 유의적인 차이가 없었으며, 이는 성장에 필요한 최소한의 소화효소 활성이 충족되었기 때문이라고 보고하였다. 참다랑어를 포함해 육식성 어류는 소화율이 낮은 사료를 섭취할 경우 충분한 소화를 위해 소화효소의 활성이 증가한다고 보고되었다(Takii et al., 2007b). 치어기 태평양참다랑어(1.68 g)는 소화율이 낮은 어분을 다량 섭취할 경우 trypsin이 과도하게 분비된다고 보고되었다(Takii et al., 2007a). 본 연구의 사육실험

Table 4. Apparent digestibility coefficients (ADC) of protein and dry matter in the experimental diets by dissection fecal collection method (% of ADC) and digestive enzyme activities of juvenile Atlantic bluefin tuna fed the experimental diets for 13 days (U/mg protein)

| Dietary treatment | DHA | LO | One-way ANOVA |
|--|-----------|-----------|---------------|
| Apparent digestibility coefficients (% of ADC) | | | |
| ADC of protein | 83.2±0.91 | 80.1±0.07 | 0.136 |
| ADC of dry matter | 68.3±2.13 | 66.1±0.52 | 0.376 |
| Digestive enzyme activities (U/mg protein) | | | |
| Pepsin | 0.78±0.15 | 0.71±0.09 | 0.479 |
| Trypsin | 1.37±0.14 | 1.03±0.29 | 0.081 |
| Chymotrypsin | 0.24±0.08 | 0.28±0.06 | 0.398 |
| Amylase | 1.06±0.04 | 0.85±0.12 | 0.623 |
| Lipase | 8.33±1.08 | 8.93±0.91 | 0.502 |

DHA, Docosahexaenoic acid; LO, Linseed oil. Mean values of ADC and digestive enzyme activities are presented as mean±standard deviation (n=3). Values with different superscripts in the same row are significantly different (P<0.05).

결과 치어기 대서양참다랑어 사료 내 DHA농축유의 33% (사료 내 1%)를 LO로 대체할 경우 DHA구와 LO구의 단백질 소화율, 건물소화율, 소화효소 활성은 유의적인 차이가 나타나지 않았다. 하지만, LO구의 어체 내 지질 함량이 DHA구 대비 유의적으로 높게 나타나고, LO구의 ISI 수치가 DHA구에 비해 유의적으로 낮게 나타난 것은 LO가 DHA농축유보다 치어기 대서양참다랑어의 체내에서 소화율이 더 높았기 때문인 것으로 사료된다.

결론적으로, 대서양참다랑어 사료 내 DHA의 함량이 3% 이상이고 DHA/EPA 비율이 2.5를 충족할 경우 LO를 사용하여 DHA농축유의 33% (사료 내 1%) 대체하여도 DHA 결핍에 의한 성장저하는 나타나지 않는 것으로 판단된다. LO의 사용은 소화율과 소화효소 활성에 유의미한 영향을 보이지 않았다. 하지만 어체 내 지질함량과 ISI에 미치는 영향으로 보아 LO는 DHA농축유에 비해 체내 소화율이 높을 것으로 사료되며, 어체 LNA축적에 직접적으로 관여하는 것으로 판단된다. 따라서 LO는 대서양참다랑어 사료 내 지질원으로써 이용가능성이 충분한 것으로 판단된다.

사 사

본 연구는 국립수산물품질관리원(R2023025)에 의해 지원되었습니다.

References

- Aguila J, Cuzon G, Pascual C, Domingues PM, Gaxiola G, Sánchez A and Rosas C. 2007. The effects of fish hydrolysate (CPSP) level on *Octopus maya* (Voss and Solis) diet: digestive enzyme activity, blood metabolites, and energy balance. *Aquaculture* 273, 641-655. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2007.07.010>.
- AOAC (Association of Official Analytical Chemists). 2005. Official Methods of Analysis. Arlington, VA, U.S.A., 1298. <https://doi.org/10.1002/0471740039.vec0284>.
- Benetti D, Partridge GJ and Buentello A. 2016. Chapter 8. Tuna farming in Japan and Mexico In: *Advances in Tuna Aquaculture*. Zohar Y, ed. Academic Press, Cambridge, MA, U.S.A., 189-215.
- Betancor MB, Ortega A, Gandara FDL, Tocher DR and Mourente G. 2017. Lipid metabolism-related gene expression pattern of Atlantic bluefin tuna (*Thunnus thynnus* L.) larvae fed on live prey. *Fish Physiol Biochem* 43, 493-516. <https://doi.org/10.1007/s10695-016-0305-4>.
- Betancor MB, Ortega A, de la Gándara F, Tocher DR and Mourente G. 2019. Performance, feed utilization, and hepatic metabolic response of weaned juvenile Atlantic bluefin tuna (*Thunnus thynnus* L.): Effects of dietary lipid level and source. *Fish Physiol Biochem* 45, 697-718. <https://doi.org/10.1007/s10695-018-0587-9>.
- Bell JG, Tocher DR, Henderson RJ, Dick JD and Crampton VO. 2003. Altered fatty acid compositions in Atlantic salmon (*Salmo salar*) fed diets containing linseed and rapeseed oils can be partially restored by a subsequent fish oil finishing diet. *J Nutr* 133, 2793-2801. <https://doi.org/10.1093/jn/133.9.2793>.
- Biswas A, Nakajima M, Nakao T, Takaoka O and Takii K. 2016. Determination of suitable protein and lipid levels in diets for Pacific bluefin tuna, *Thunnus orientalis* at grow-out stage. *Aquacult Sci* 64, 281-288. <https://doi.org/10.1123/aquaculturesci.64.281>.
- Biswas BK, Ji SC, Biswas AK, Seoka M, Kim YS and Takii K. 2009. A suitable dietary sugar level for juvenile Pacific bluefin tuna, *Thunnus orientalis*. *Aquacult Sci* 57, 99-108. <https://doi.org/10.1123/aquaculturesci.57.99>.
- Block BA, Teo SLH, Walli A, Boustany A, Micheal JW, Stokesbury, Farwell CJ, Weng KC, Dewar H and Williams TD. 2005. Electronic tagging and population structure of Atlantic bluefin tuna. *Nature* 434, 111-1127. <https://doi.org/10.1038/nature03463>.
- Borlongan IG. 1990. Studies on the digestive lipases of milkfish, *Chanos chanos*. *Aquaculture* 89, 315-325. [https://doi.org/10.1016/0044-8486\(90\)90135-a](https://doi.org/10.1016/0044-8486(90)90135-a).
- Bradford MM. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem* 72, 248-254. <https://doi.org/10.1006/abio.1976.9999>.
- Caballero MJ, Obach A, Rosenlund G, Montero D, Gisvold M and Lzquierdo MS. 2002. Impact of different dietary lipid sources on growth, lipid digestibility, tissue fatty acid composition and histology of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Aquaculture* 214, 253-271. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(01\)00852-3](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(01)00852-3).
- Carter CG, Bransden MP, Van Barneveld RJ and Clarke SM. 1999. Alternative methods for nutrition research on the southern bluefin tuna, *Thunnus maccoyii*: *In vitro* digestibility. *Aquaculture* 179, 57-70. [https://doi.org/10.1016/s0044-8486\(99\)00152-0](https://doi.org/10.1016/s0044-8486(99)00152-0).
- Divakaran S, Obaldo, LG and Forster IP. 2002. Note on the methods for determination of chromic oxide in shrimp feeds. *J Agric Food Chem* 50, 464-467. <https://doi.org/10.1021/jf011112s>.
- Erlanger B, Kokowsky N and Cohen W. 1961. The preparation and properties of two new chromogenic substrates of trypsin. *Arch Biochem Biophys* 95, 271-278. [https://doi.org/10.1016/0003-9861\(61\)90145-x](https://doi.org/10.1016/0003-9861(61)90145-x).
- 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.
- Galindo A, Garrido D, Monroig O, Perez JA, Betancor MB, Acosta NG, Kabeya N, Marrero MA, Bolanos A and Rodriguez C. 2021. Polyunsaturated fatty acid metabolism in three

- fish species with different trophic level. *Aquaculture* 530, 735761. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.735761>.
- Hsu KC. 2010. Purification of antioxidative peptides prepared from enzymatic hydrolysates of tuna dark muscle by-product. *Food Chem* 122, 42-48. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.02.013>.
- Ishibashi YT, Honryo K, Saida A, Hagiwara S, Miyashita Y, Sawada TO and Murata M. 2009. Artificial lighting prevents high night-time mortality of juvenile Pacific bluefin tuna, *Thunnus orientalis*, caused by poor scotopic vision. *Aquaculture* 293, 157-163. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2009.04.029>.
- Ishihara K and Saito H. 1996. The Docosahexaenoic acid content of the lipid of juvenile bluefin tuna *Thunnus thynnus* caught in the sea off Japanese coast. *Fish Sci* 62, 840-841. <https://doi.org/10.2331/fishsci.62.840>.
- ISSF (International seafood sustainability foundation). 2023. ISSF Report: 85% of Global Tuna Catch Comes from Stocks at Healthy Levels; 11% Requires Stronger Management. Retrieved from <https://www.issf-foundation.org/blog/2023/03/08/issf-report-85-of-global-tuna-catch-comes-from-stocks-at-healthy-levels-11-requires-stronger-management/> on Aug 10, 2023.
- Ji SC, Shin JH, Kim DJ, Yang SG, Jeong MH, Kim JH and Lee KJ. 2019. Dietary utilization of enzyme treated fish meal as the main protein source for juvenile atlantic bluefin tuna *Thunnus thynnus*. *JFMSE* 31, 741-755. <https://doi.org/10.13000/JFMSE.2019.6.31.3.741>.
- Ji SC, Shin JH, Kim DJ, Yang SG, Jeong MH, Kim JH and Lee KJ. 2019. Effects of dietary utilization enzyme treated fish meal for juvenile Pacific bluefin tuna *Thunnus orientalis*. *JFMSE* 29, 1365-1372. <https://doi.org/10.13000/JFMSE.2017.29.5.1365>.
- Ji SC, Shin JH, Kim DJ, Jeong MH, Kim JH and Lee KJ. 2020. Utilization of enzyme-treated fish meal and DHA oil in diets for juvenile Atlantic bluefin tuna *Thunnus thynnus*. *Korean J Fish Aquat Sci* 53, 181-190. <https://doi.org/10.5657/KFAS.2020.0181>.
- Ji SC, Takaoka O, Biswas AK, Seoka M, Ozaki K, Kohbara J and Takii K. 2008. Dietary utility of enzyme-treated fish meal for juvenile Pacific bluefin tuna *Thunnus orientalis*. *Fish Sci* 74, 54-61. <https://doi.org/10.1111/j.1444-2906.2007.01475.x>.
- Kim MG, Lee CR, Shin JH, Lee BJ, Kim KW and Lee KJ. 2019. Effects of fish meal replacement in extruded pellet diet on growth feed utilization and digestibility in olive flounder *Paralichthys olivaceus*. *Korean J Fish Aquat Sci* 52, 149-158. <https://doi.org/10.5657/KFAS.2019.0149>.
- Lee SM. 2002. Apparent digestibility coefficients of various feed ingredients for juvenile and grower rockfish (*Sebastes schlegeli*). *Aquaculture* 207, 79-95. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(01\)00751-7](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(01)00751-7).
- Li Y, Ai Q, Mai K, Xu W, Deng J and Cheng Z. 2014. Comparison of high-protein soybean meal and commercial soybean meal partly replacing fish meal on the activities of digestive enzymes and aminotransferases in juvenile Japanese seabass, *Lateolabrax japonicus* (Cuvier, 1828). *Aquac Res* 45, 1051-1060. <https://doi.org/10.1111/are.12042>.
- Li FJ, Lin X, Lin SM, Chen WY and Guan Y. 2016. Effects of dietary fish oil substitution with linseed oil on growth, muscle fatty acid and metabolism of tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquac Nutr* 22, 499-508. <https://doi.org/10.1111/anu.12270>.
- 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/ac60171a016>.
- NRC (National Research Council). 2011. Nutrient Requirements of Fish and Shrimp. The National Academies Press, Washington D.C., U.S.A. <https://doi.org/10.17226/13039>.
- Popa VM, Gruia A, Raba DN, Dumbrava D, Moldovan C, Borden D and Mateescu. 2012. Fatty acids composition and oil characteristics of linseed (*Linum Usitatissimum* L.) from Romania. *J Agroalim Processes Technol* 18, 136-140.
- Refstie S, Olli JJ and Standal H. 2004. Feed intake, growth, and protein utilization by post-smolt Atlantic salmon (*Salmo salar*) in response to graded levels of fish protein hydrolysate in the diet. *Aquaculture* 239, 331-349. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2004.06.015>.
- Sargent JR and Tacon AGJ. 1999. Development of farmed fish: A nutritionally necessary alternative to meat. *Proc Nutr Soc*, 377-383. <https://doi.org/10.1017/S0029665199001366>.
- Sawada T, Takahashi K and Hatano M. 1993. Molecular species analysis of fish oil triglyceride by light scattering mass detector equipped liquid chromatograph II, triglyceride composition of tuna and bonito orbital fats. *Nippon Suisan Gakkaishi* 56, 285-290. <https://doi.org/10.2331/suisan.59.285>.
- Shin JH, Ji SC and Lee KJ. 2020. *In vivo* and *in vitro* digestibility of enzyme-treated fish meal for juvenile Atlantic bluefin tuna *thunnus thynnus*. *Korean J Fish Aquat Sci* 53, 423-431. <https://doi.org/10.5657/KFAS.2020.0423>.
- Seoka M, Kurata M, Tamagawa R, Biswas AK, Biswas BK, Yong ASK, Kim YS, Ji SC, Takii K and Kumai H. 2008. Dietary supplementation of salmon rophospholipid enhances the growth and survival of Pacific bluefin tuna *Thunnus orientalis* larvae and juveniles. *Aquaculture* 275, 225-234. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2007.12.027>.
- Takii K, Seoka M, Izumi M, Hosokawa H, Shimeno S, Ukaawa M and Kohbara J. 2007a. Apparent digestibility coefficient and energy partition of juvenile Pacific bluefin tuna, *Thunnus orientalis* and chub mackerel, *Scomber japonicus*. *Aquacult Sci* 55, 571-577. <https://doi.org/10.11233/aquaculturesci1953.55.571>.
- Takii K, Seoka M, Ohara N, Nasu T, Oda S, Miyashita S, Ukaawa M, Shimeno S and Hosokawa H. 2007b. Dietary utility of Chilean fish meal and pollack liver oil for juvenile

- Pacific bluefin tuna. *Aquacult Sci* 55, 579-585. <https://doi.org/10.11233/aquaculturesci1953.55.579>.
- Worthington CC. 1991. *Worthington Enzyme Manual Related Biochemical*. Worthington Biochemical Corporation, Freehold Township, NJ, U.S.A.
- Xie D, Chen C, Dong Y, You C, Wang S, Monroig O, Tocher D and Li Y. 2021. Regulation of long-chain polyunsaturated fatty acid biosynthesis in teleost fish. *Prog Lipid Res* 82, 101095. <https://doi.org/10.1016/j.plipres.2021.101095>.