

넙치 배합사료에 고추냉이 추출물, 키토산 및 김 분말 첨가 효과

서주영 · 김경덕¹ · 신일식 · 최규덕 · 이상민*
강릉원주대학교 해양생명공학부, ¹국립수산과학원 양식사료연구센터

Effects of Supplemental Dietary Wasabi Extract, Chitosan and *Pophyra* on Growth and Body Composition of Juvenile Flounder, *Paralichthys olivaceus*

Joo-Young SEO, Kyoung-Duck KIM¹, Il-Shik SHIN, Kyoo-Duck CHOI and Sang-Min LEE*
Faculty of Marine Bioscience and Technology, Kangnung-Wonju National University,
Gangneung 210-702, Korea
¹Aquafeed Research Center, National Fisheries Research and Development Institute,
Pohang 791-923, Korea

Two feeding trials were conducted to investigate the effects of several dietary additives on growth and feed utilization of juvenile flounder. In the first experiment, three replicate groups of juveniles (average weight 1.5 g) were fed diets with or without wasabi extract and chitosan for 7 weeks. Survival rate, weight gain, protein efficiency ratio, hepatosomatic index and condition factor were not affected by the different dietary additives ($P>0.05$). Feed efficiency of fish fed the wasabi extract diet was significantly higher than that of fish fed the control diet ($P<0.05$). Daily feed intake of fish fed the wasabi extract diet was significantly lower than that of fish fed the other diets ($P<0.05$). In the second experiment, three replicate groups of juveniles (average weight 1.4 g) were fed diets with or without *Pophyra* powder for 7 weeks. Survival rate and weight gain were not significantly affected by dietary *Pophyra* powder ($P>0.05$). Feed efficiency and protein efficiency ratio of fish fed the *Pophyra* diet were significantly lower than those of fish fed the control diet ($P<0.05$). The results of these experiments suggest that feed efficiency of juvenile flounder may be improved by dietary supplementation with wasabi extract.

Key words: Flounder, Dietary additives, Wasabi extract, Chitosan, *Pophyra* powder

서 론

최근에 우리 나라의 해수어류 생산량은 매년 급격히 증가되고 있는 실정이며, 이 중에서 넙치의 양식 생산량이 가장 현저히 증가되어 해산어류의 주요 양식 대상종으로 자리를 잡고 있다. 그동안 넙치용 배합사료를 개발하기 위하여 영양소 요구 및 사료원료 이용에 대해 많은 연구들이 수행되어 왔다 (Lee and Kim, 2005; Cho et al., 2006; Kim et al., 2006; Lee et al., 2009).

양식 대상종에 배합사료 조성비가 연구되었다 하더라도 그 조성비를 계속 개선하여 성장효과를 더 높이는 한편, 값비싼 영양소의 과다 첨가를 최소화하여 사료원가를 줄이는 연구와 양식 어종의 품질을 개선시키기 위한 노력은 계속 이어져야 할 것이다. 양식 대상 종의 성장을 증진시키거나 어체의 품질을 개선시키는 미지의 성장 인자를 구명하는 것은 매우 어렵지만, 먹이 식성 등을 고려하여 사료에 유인효과가 있는 물질이나 성장개선 효과가 있을 것으로 생각되는 원료를 첨가하여 사료 효율을 개선하려는 연구(Kim et al., 1998; Lee et al., 1998)가 진행되고 있다.

고추냉이는 항균성, 비특이적 면역활성 및 과산화지질 억제 등의 여러 가지 생리적 활성이 있는 것으로 알려져 있고 (Hur et al., 1998; Shin, 2001; Park et al., 2003), 키토산은 항균성 (Rhoades and Roller, 2000), 항산화작용 (Xue et al., 1998) 그리고 면역력 증강 (Gopalakannan and Arul, 2006) 등의 효능으로 의약품 및 기능성 식품으로 사용되고 있다. 그리고 미역과 파래 등의 해조류 또한 비특이적 면역활성 효과가 증명된 바 있어 (Satoh et al., 1987; Park et al., 2003) 배합사료 첨가제로서 어류의 성장 및 사료이용성 개선에 대한 효능도 기대할 수 있을 것이다. 하지만, 지금까지 수행된 대부분의 연구들은 이 첨가물들에 대한 면역성 및 생리활성에 대한 효과에 초점을 맞추어 수행되었으며, 넙치의 성장과 사료이용성 개선을 위한 연구는 미비한 실정이다. 그래서 본 연구는 고추냉이 추출물, 키토산 및 김 분말을 배합사료에 첨가하여 넙치 치어의 성장 및 사료이용성에 미치는 영향을 조사하였다.

재료 및 방법

실험사료

실험 1에서는 실험사료 (Table 1)의 단백질원으로 청어분을

*Corresponding author: smlee@unkw.ac.kr

Table 1. Ingredients and nutrients contents of the experimental diets (exp-1)

	Diets		
	Control	Wasabi extract	Chitosan
Ingredients (%)			
Herring fish meal	64.0	64.0	64.0
α -starch	15.0	15.0	14.0
Wheat flour	15.0	14.95	15.0
Wasabi ¹ extract		0.05	
Chitosan ¹			1.0
Squid liver oil	2.0	2.0	2.0
Vitamin premix ²	1.5	1.5	1.5
Mineral premix ³	2.0	2.0	2.0
Choline salt (50%)	0.5	0.5	0.5
Nutrient contents (%, dry matter basis)			
Crude protein	49.9	50.1	49.1
Crude lipid	7.0	7.0	7.1
Ash	9.8	9.7	9.9

¹ Provided by Biocoats Co., Seoul, Korea.

² Vitamin 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; cyanocobalamin, 0.003.

³ Mineral premix contained the following ingredients (g/kg premix): MgSO₄·7H₂O, 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; KI, 0.15; Na₂Se₂O₃, 0.01; MnSO₄·H₂O, 2.0; CoCl₂·6H₂O, 1.0.

사용하였으며, 지질원으로 오징어간유를, 탄수화물원으로 α -전분과 소맥분을 각각 사용하여 넙치의 영양소 요구량을 충족시켰다 (Kim et al., 2004; Lee and Kim, 2005). 고추냉이 (*Wasabia japonica*) 추출물 및 키토산 첨가효과를 조사하기 위하여 대조사료의 소맥분과 전분 대신 수증기 추출법으로 추출한 고추냉이 추출액 (농도 10,000 ppm) 0.05%와 키토산 분말 1%를 각각 첨가하였다.

실험 2에서는 실험사료 (Table 2)의 단백질원으로 청어분을, 지질원으로 오징어 간유와 대두유를, 탄수화물원으로는 α -전분과 소맥분을 각각 사용하였다. 김 분말 첨가효과를 조사하기 위하여 김분말 1%를 대조사료의 소맥분 대신 첨가하였다.

위와 같이 설계된 원료들을 분말형태로 잘 혼합한 후, 원료 100 g 당 물 30 g을 첨가하여 moist pellet 제조기로 압출 성형하였다. 성형된 사료는 실온에서 24시간 건조한 후 -30°C에 보관하면서 사료 공급시 마다 사용하였다.

실험어 및 사육관리

사육실험은 평균체중 1.5 g (실험 1) 및 1.4 g (실험 2)의 넙치 치어를 260 L FRP 수조 (수용적 180 L)에 35마리씩 실험사료 마다 각각 3반복으로 수용하였으며, 실험사료를 1일 3회

Table 2. Ingredients and nutrients contents of the experimental diets (exp-2)

	Diets	
	Control	Porphyra powder
Ingredients (%)		
Casein	1.0	1.0
Herring meal	65.0	65.0
α -starch	15.0	15.0
Wheat flour	8.5	7.5
Porphyra powder		1.0
Squid liver oil	1.0	1.0
Soybean oil	4.0	4.0
Vitamin premix ¹	2.0	2.0
Mineral premix ¹	3.0	3.0
Choline salt (50%)	0.5	0.5
Nutrient contents (%, dry matter basis)		
Crude protein	47.3	46.9
Crude lipid	10.6	10.2
Ash	10.2	10.5

¹ Refer to Table 1.

(0800, 1300, 1700) 실험어가 먹을 때까지 손으로 던져주며 7주간 사육하였다. 사육수로 여과해수를 각 실험수조마다 분당 4 L로 조정하여 흘려주었다. 사육기간 동안의 수온은 20.6±1.50°C (평균±표준편차)였고, 비중은 1.024±0.0013 이었다. 그리고 사육실험 시작시와 종료시에는 측정 전일 절식 시킨 후 MS222 100 ppm (Tricaine methanesulfonate, Sigma, USA) 수용액에 마취하여 각 실험수조에 수용된 실험어의 전체무게를 측정하였다.

시료수집 및 성분분석

실험 종료시 각 실험수조에 생존한 모든 실험어를 분석용 시료로 취하여 냉동 (-75°C) 보관하였다. 실험사료와 어체의 일반성분은 AOAC (1990)의 방법에 따라 분석하였는데, 조단백질 (N×6.25)은 Auto Kjeldahl System (Buchi B-324/435/412, Switzerland)을 사용하여 분석하였고, 조지방은 ether를 사용하여 추출하였으며, 수분은 105°C의 dry oven에서 6시간 동안 건조 후 측정하였다. 회분은 600°C의 회화로에서 4시간 동안 태운 후 정량하였다.

통계처리

실험 1에서 결과의 통계 처리는 SPSS Version 10 (SPSS, Michigan Avenue, Chicago, IL, USA) program의 One-way ANOVA-test를 실시하여 Duncan's multiple range test (Duncan, 1955)로 평균간의 유의성을 검정하였다. 그리고 실험 2에서는 t-test로 평균간의 유의성을 검정하였다.

결과 및 고찰

고추냉이 추출물과 키토산을 첨가한 사료로 평균체중 1.5 g의 넙치 치어를 7주간 사육 실험한 결과 (Table 3), 생존율은 93-95%로 모두 양호하였으며, 증중량은 모든 실험구에서 유의한 차이가 없었다 ($P>0.05$). 사료효율은 고추냉이 추출물

Table 3. Growth performance of juvenile flounder fed different additive for 7 weeks (exp-1)¹

	Diets		
	Control	Wasabi extract	Chitosan
Initial mean weight (g)	1.5±0.01	1.5±0.01	1.5±0.01
Weight gain (g/fish)	12.3±0.58	14.3±1.42	14.0±0.70
Feed efficiency (%) ²	93±1.6 ^a	101±2.0 ^b	96±2.8 ^{ab}
Daily feed intake ³	3.51±0.045 ^b	3.30±0.020 ^a	3.49±0.068 ^b
Protein efficiency ratio ⁴	86±0.03	2.02±0.03	2.00±0.061
Survival (%)	93±5.2	95±2.6	94±4.2
Hepatosomatic index ⁵	0.9±0.02	0.9±0.06	0.9±0.06
Condition factor ⁶	1.1±0.02	1.1±0.04	1.0±0.06

¹ Values (mean±SE of replication groups) in the same row not sharing a common superscript are significantly different (P<0.05).

² Fish wet weight gain×100/feed intake (dry matter).

³ Feed intake (dry matter)×100/[(initial fish wt.+final fish wt.+dead fish wt.)×days fed/2].

⁴ Fish wet weight gain×100/protein intake.

⁵ Liver weight×/body weight.

⁶ Body weight×/total body length³.

첨가구가 대조구에 비해 유의하게 높았지만 (P<0.05), 키토산 첨가구는 대조구와 유의한 차이가 없었다. 일일사료섭취율은 대조구 및 키토산 첨가구가 고추냉이 추출물 첨가구보다 유의하게 높았지만 (P<0.05), 단백질효율, 간중량지수 및 비만도는 모든 실험구간에 유의한 차이가 없었다.

사육 실험 종료시, 전어체의 성분 분석 결과를 Table 4에 나타내었다. 전어체의 수분 함량은 대조구가 고추냉이 추출물 및 키토산 첨가구들 보다 유의하게 낮은 값을 보였지만 (P<0.05), 단백질, 지질 및 회분 함량은 모든 실험구에서 유의한 차이가 없었다.

김 분말 첨가 효과를 조사하기 위하여 평균체중 1.4 g의 넙치 치어를 7주간 사육 실험한 결과 (Table 5), 생존율은 김 분말 첨가구가 81%로 대조구의 96%에 비해 낮은 값을 보였지만 유의적인 차이는 없었다 (P>0.05). 증중량은 대조구와 김 분말 첨가구간에 유의한 차이가 없었지만 (P>0.05), 사료효율과 단백질효율은 대조구가 김 분말 첨가구보다 유의하게 높았으며 (P<0.05), 일일 사료 섭취율은 대조구가 김 분말 첨가구에 비해 유의하게 낮았다 (P<0.001). 사육 실험 종료시, 전어체의 수분, 단백질, 지질 및 회분 함량은 두 실험구간에 유의한 차이가 없었다 (Table 6).

양식 어류의 성장 및 품질 개선 뿐 만 아니라 생리적인 기능 강화를 위한 각종 첨가제들의 효능은 많은 연구자들에 의하여 조사되어져 왔다 (Sato et al., 1987; Kim et al., 1998). 본 연구에서 첨가된 고추냉이 추출물, 키토산 및 김 분말 중에서 고추냉이 추출물은 넙치 치어의 사료효율 개선에 효능을 나타내었는데, 이러한 결과는 고추냉이가 가지는 특정 성분이 넙치의 생리적 기능을 향상시켜 사료 영양소를 효율적으로 이용하였기 때문으로 판단된다. 고추냉이는 정유의 휘발성분인 ally isothiocyanate를 함유하여 소화촉진 작용 또는 병원미생

Table 4. Proximate composition (%) of whole body in juvenile flounder fed experimental diets for 7 weeks (exp-1)¹

	Diets		
	Control	Wasabi extract	Chitosan
Moisture	75.3±0.26 ^a	76.0±0.21 ^b	76.2±0.06 ^b
Crude protein	17.7±0.44	17.5±0.40	16.9±0.10
Crude lipid	2.4±0.32	1.6±0.47	1.7±0.10
Ash	3.5±0.04	3.3±0.14	3.2±0.10

¹ Values (mean±SE of replication groups) in the same row not sharing a common superscript are significantly different (P<0.05).

Table 5. Growth performance of juvenile flounder fed experimental diets for 7 weeks (exp-2)¹

	Diets		P-value
	Control	Porphyra	
Initial mean weight (g/fish)	1.4±0.04	1.4±0.07	
Weight gain (g/fish)	11.6±1.01	10.4±0.27	0.4
Feed efficiency (%) ²	109±2.5	97±1.4	0.03
Daily feed intake ³	1.40±0.001	1.58±0.003	0.001
Protein efficiency ratio ⁴	2.31±0.053	1.94±0.296	0.02
Survival (%)	96±2.6	81±6.4	0.1

¹ Values (mean±SE of replication groups) in the same row not sharing a common superscript are significantly different (P<0.05).

²⁻⁴ Refer to Table 3.

Table 6. Proximate composition (%) of whole body in juvenile flounder fed experimental diets for 7 weeks (exp-2)

	Diets		P-value
	Control	Porphyra	
Moisture	75.7±0.44	75.0±0.27	0.1
Crude protein	17.2±0.18	17.2±0.17	0.1
Crude lipid	1.5±0.16	2.6±0.19	0.07
Ash	3.7±0.09	3.8±0.21	0.3

¹ Values are mean±SE of replication groups.

물의 증식을 저해하는 효과가 있는 것으로 알려져 있으며 (Seo et al., 1995; Shin, 2001), 서양고추냉이 (*Armoracia rusticana*)의 McOH 추출물과 이 식물에서 분리한 kaempferol 배당체들은 흰쥐의 간에서 과산화지질생성 억제효과 (in vitro)를 나타내었다 (Hur et al., 1998). 그리고 이미 넙치를 대상으로 한 기존의 연구에서도 배합사료에 고추냉이 분말을 첨가함으로써 비특이적 면역계 활성화 효과가 있는 것으로 보고된 바 있다 (Park et al., 2003). 하지만, 본 연구에서는 고추냉이가 함유하고 있는 특정 성분과 넙치의 사료이용성 사이의 상호작용에 관한 조사가 이루어지지 않았으므로, 앞으로 이에 대한 상세한 연구가 수행되어야 할 것이다.

사료에 해조류 첨가는 어류의 성장, 생리적 기능 그리고 영양소 이용효율을 향상시킬 수 있는 것으로 보고되고 있다 (Nakagawa and Kasahara, 1986; Yone et al., 1986a, b; Yi and Chang, 1994). 사료에 5-10%의 미역 분말 첨가는 참돔의 성장

및 영양소 이용효율을 증가시켰으며 (Yone et al., 1986a; b), EP (extruded pellet) 사료에 김분말 첨가는 넙치 치어의 사료효율을 향상시키는 것으로 연구되어 있다 (unpublished). 그러나 본 연구에서 1% 김 분말 첨가는 성장 및 사료효율에 대한 개선 효과를 보이지 않아 이전 연구결과들과 차이를 보였다. 그리고 Gopalakannan and Arul (2006)은 사료에 키토산 1% 첨가가 잉어의 성장 향상에 도움이 된다고 보고하였으나 본 연구에서 키토산 첨가구의 성장 개선 효과는 나타나지 않았다. 이러한 차이는 실험 어종 및 사용된 사료의 원료나 조성비와 관련이 있을 것으로 판단된다 (Lindsay et al., 1984; Shiau and Yu, 1999). 이상의 결과로 볼 때, 배합사료에 고추냉이 추출물의 첨가는 넙치 치어의 사료효율 개선에 도움이 될 것으로 판단된다.

사 사

본 연구는 수산특정연구개발사업 및 한국 Sea Grant 사업의 연구비 지원에 의한 것이며, 이에 감사드립니다.

참 고 문 헌

- AOAC. 1990. Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists, 15th ed. Arlington, Virginia, 1298 pp.
- Cho, S.H., S.M. Lee, B.H. Park and S.M. Lee. 2006. Effect of feeding ratio on growth and body composition of juvenile olive flounder *Paralichthys olivaceus* fed extruded pellets during the summer season. *Aquaculture*, 251, 78-84.
- Duncan, D.B. 1955. Multiple-range and multiple F tests. *Biometrics*, 11, 1-42.
- Gopalakannan, A. and V. Arul. 2006. Immunomodulatory effects of dietary intake of chitin, chitosan and levamisole on the immune system of *Cyprinus carpio* and control of *Aeromonas hydrophila* infection in ponds. *Aquaculture*, 255, 179-187.
- Hur, J.M., J.H. Lee, J.W. Choi, G.W. Hwang, S.K. Chung, M.S. Kim and J.C. Park. 1998. Effect of methanol extract and kaempferol glycosides from *Armoracia rusticana* on the formation of lipid peroxide in bromobenzene-treated rats in vitro. *Kor. J. Pharm.*, 29, 231-236.
- Kim, D.S., J.H. Kim, C.H. Jong, S.Y. Lee, S.M. Lee and Y.B. Moon. 1998. Utilization of obosan (dietary herbs) I. Effects on survival, growth, feed conversion ratio and condition factor in olive flounder, *Paralichthys olivaceus*. *J. Fish. Pathol.*, 11, 213-221.
- Kim, K.D., K.M. Kim, K.W. Kim, Y.J. Kang and S.M. Lee. 2006. Influence of lipid level and supplemental lecithin in diet on growth, feed utilization and body composition of juvenile flounder (*Paralichthys olivaceus*) in suboptimal water temperatures. *Aquaculture*, 251, 484-490.
- Kim, K.W., X. Wang, S.M. Choi, G.J. Park and S.C. Bai. 2004. Evaluation of optimum dietary protein-to-energy ratio in juvenile olive flounder *Paralichthys olivaceus*. *Aquacult. Res.*, 35, 350-255.
- Lee, B.J., K.J. Lee, S.J. Lim and S.M. Lee. 2009. Dietary myo-inositol requirement for olive flounder, *Paralichthys olivaceus* (Temminch et Schlegel). *Aquacult. Res.*, 40, 83-90.
- Lee, K.H., Y.S. Lee, J.H. Kim and D.S. Kim. 1998. Utilization of obosan (dietary herbs) II. Muscle quality of olive flounder, *Paralichthys olivaceus* fed with diet containing obosan. *J. Aquacult.*, 11, 319-325.
- Lee, S.M. and K.D. Kim. 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, 435-442.
- Lindsay, G.J.H., M.J. Walton, J.W. Adron, T.C. Fletcher, C.Y. Cho and C.B. Cowey. 1984. The growth of rainbow trout (*Salmo gairdneri*) given diets containing chitin and its relationship to chitinolytic enzymes and chitin digestibility. *Aquaculture*, 37, 315-334.
- Nakagawa, H. and S. Kasahara. 1986. Effect of *Ulva*-meal supplement to diet on the lipid metabolism of red sea bream. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.*, 52, 1887-1893.
- Park, S.U., M.G. Kwon, Y.H. Lee, K.D. Kim, I.S. Shin and S.M. Lee. 2003. Effects of supplemental *Undaria*, Obosan and wasabi in the diets on growth, body composition, blood chemistry and non-specific immune response of juvenile flounder, *Paralichthys olivaceus*. *J. Aquacult.*, 16, 210-215.
- Rhoades, J. and S. Roller. 2000. Antimicrobial actions of degraded and native chitosan against spoilage organisms in laboratory media and foods. *Appl. Environ. Microbiol.*, 66, 80-86.
- Satoh, K.I., H. Nakagawa and S. Kasahara. 1987. Effect of *Ulva* meal supplementation on disease resistance of red sea bream. *Nipp. Suisan Gakka.*, 53, 1115-1120.
- Seo, K.L., D. Kim and S.I. Yang. 1995. Studies on the antimicrobial effect of wasabi extracts. *Kor. J. Nutr.*, 28, 1073-1077.
- Shiau, S.Y. and Y.P. Yu. 1999. Dietary supplementation of chitin and chitosan depress growth in tilapia, *Oreochromis niloticus*×*O. aureus*. *Aquaculture*, 179, 439-446.
- Shin I.S. 2001. Bactericidal activity of Sawa-wasabi

- (*Wasabia japonica*) against the fish pathogenic bacteria. J. Fish. Sci. Tech., 4, 252-256.
- Xue, C., G. Yu, T. Hirata, J. Terao and H. Lin. 1998. Antioxidative activities of several marine polysaccharides evaluated in a phosphatidylcholine-liposomal suspension and organic solvents. Biosci. Biotechnol. Biochem., 62, 206-209.
- Yi, Y.H. and Y.J. Chang. 1994. Physiological effects of seamustard supplement diet on the growth and body composition of young rockfish, *Sebastes schlegeli*. Bull. Kor. Fish. Soc., 27, 69-82.
- Yone, Y., M. Furuichi and K. Urano. 1986a. Effects of dietary wakame *Undaria penatifida* and *Ascophyllum nodosum* supplements on growth, feed efficiency, and proximate compositions of liver and muscle for red sea bream. Nipp. Suisan Gakka., 52, 1465-1468.
- Yone, Y., M. Furuichi and K. Urano. 1986b. Effects of wakame *Undaria pinnatifida* and *Ascophyllum nodosum* on absorption of dietary nutrients, and blood sugar and plasma free amino-N levels of red sea bream. Nipp. Suisan Gakka., 52, 1817-1819.

2009년 2월 2일 접수

2009년 4월 2일 수정

2009년 6월 8일 수리