

치어기 넙치(*Paralichthys olivaceus*) 사료내 어분 대체원으로서 발효 대두박 이용성

김강웅* · 김경덕 · 이봉주 · 이진혁 · 한현섭 · 구자완¹ · 최윤희² · 배승철³

국립수산과학원 사료연구센터, ¹수협사료, ²부경대 수산과학연구원,
³부경대학교 해양바이오신소재화학/사료영양연구소

Dietary Fermented Soybean Meal as a Replacement for Fish Meal in Juvenile Olive Flounder *Paralichthys olivaceus*

Kang-Woong Kim*, Kyoung-Duck Kim, Bong-Joo Lee, Jin-Hyeok Lee, Hyon-Sob Han, Ja-Wan Koo¹, Youn Hee Choi² and Sungchul C. Bai³

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

¹National Federation of Fisheries Cooperatives Feed, Uiryeong, 636-801, Korea

²Institute of Fisheries Sciences, Pukyong National University, Busan, 619-911, Korea

³Department of Marine Bio-Materials and Aquaculture / FFNRC, Pukyong National University, Busan 608-737, Korea

This study evaluated fermented soybean meal (FSM) as a fish meal (FM) replacement and determined the appropriate amount of FSM in juvenile olive flounder diet. Twenty-four aquaria with a flowing-water system were stocked with fish averaging 20.9 g at a density of 25 fish/tank. Five experimental diets were prepared replacing FM with 0, 10, 20, 30, or 40% FSM based on FM protein (designated FSM₀, FM₁₀, FSM₂₀, FSM₃₀, and FSM₄₀, respectively). Two additional diets were prepared that replaced 30 or 40% of the FM with FSM with added amino acids (methionine and lysine) (designated FSM_{30+AA} and FSM_{40+AA}, respectively). Fish (triplicates) were fed one of the eight experimental diets (50% crude protein and 16.7 kJ available energy g⁻¹ diet) for 8 weeks. Survival did not differ among the treatments during the feeding experiment. There were no significant differences in weight gain (WG) or specific growth rate (SGR) among the fish fed diets with up to 30% of the FM replaced. However, fish fed FSM₄₀ or FSM_{40+AA} had a reduced WG and SGR, as compared to FSM₀ (control) ($P < 0.05$). The feed efficiency and apparent digestibility showed a similar trend ($P < 0.05$). The proximate composition in the whole body of fish differed only between the control and FSM₄₀ for the crude protein level and between the control and FSM_{30+AA} for the crude lipid level. The whole-body amino acid composition did not differ among treatments. No significant differences were found between the diet groups with and without amino acid supplementation, indicating that amino acid supplementation had no effect. The major finding of this study is that fermented soybean meal may replace up to 30% of fish meal without amino acid supplementation for normal growth of juvenile olive flounder.

Key words: *Paralichthys olivaceus*, Olive flounder, Fermented soybean meal, Replacement, Fish mea

서 론

해산어는 담수어나 육상동물과 비교하여 탄수화물에 대한 생리적 이용성이 낮아 단백질을 많이 이용하며 이에 대한 의존도가 높다. 또한, 양식사료에서 단백질 원료의 비용이 차지하는 비율은 약 40-70%로 높기 때문에 단백질 사료원료의 선택은 사

료단가에 큰 영향을 미친다. 단백질 사료 원료 중에서 어분은 높은 단백질 함량과 기호성으로 양식 사료에서 가장 많이 사용되어 왔다. 우리나라 주 양식어종인 넙치의 경우 배합사료내 약 60% 정도의 어분이 사용되고 있다. 최근 국제 어분의 가격은 10년 전 대비 3배 가량 상승하였으며, 어분의 수급 부족 및 가격 상승으로 인해 어분에 의존한 양어용 배합사료의 생산은 지

Article history;

Received 26 August; Revised 22 October 2013; Accepted 1 November 2013

*Corresponding author: Tel: +82. 54. 230. 3620 Fax: +82. 54. 230. 3699

E-mail address: kangwoongkim@korea.kr

Kor J Fish Aquat Sci 46(6) 769-776, December 2013

<http://dx.doi.org/10.5657/KFAS.2013.0769>

pISSN:0374-8111, eISSN:2287-8815

© The Korean Society of Fishereis and Aquatic Science. All rights reserved

Table 1. Diet composition and proximate analysis of the experimental diets

Ingredients ¹ (g/100 g diet)	Diets						
	FSM ₀	FSM ₁₀	FSM ₂₀	FSM ₃₀	FSM ₄₀	FSM _{30+AA}	FSM _{40+AA}
Fish meal ²	60.0	54.0	48.0	42.0	36.0	42.0	36.0
Fermented soybean meal ²	0.0	8.04	16.08	24.12	32.16	24.12	32.16
Squid liver powder ²	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0
Wheat gluten ²	4.5	4.9	5.2	5.6	5.9	5.3	5.6
Wheat flour ²	25.70	22.86	20.02	17.18	14.44	17.18	14.34
Fish oil	3.3	3.7	4.2	4.6	5.0	4.6	5.1
Soy lecithin	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
Vitamin premix ³	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
Mineral premix ³	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
Lysine	-	-	-	-	-	0.15	0.2
Methionine	-	-	-	-	-	0.15	0.2
Cr ₂ O ₃	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
<i>Proximate analyses (% dry matter basis)</i>							
Moisture	10.0	9.87	10.2	10.2	10.3	10.0	9.5
Crude protein	49.9	48.9	50.8	51.2	50.3	51.1	51.2
Crude lipid	10.7	10.8	10.9	10.9	11.1	11.1	11.2
Crude ash	11.2	10.9	10.5	10.0	9.6	10.1	9.7

¹ Feed stuffs not mentioned here are the same feed stuffs as the domestic aquaculture feed companies are using currently.

² Provided by Suhyup Feed Co., Kyong-Nam, Korea.

³ Premix (mg/kg) : KI 250, MnSO₄·H₂O 2800, ZnSO₄·H₂O 2350, vitamin K 225, biotin (2%) 3500, niacin 4850, calcium pantothenate 11000, folic acid 2000, vitamin B₁ 1500, vitamin B₂ 2000, vitamin B₆ 2000 and vitamin C 50000.

속되기 어려운 상황이다(Olsen and Hasan, 2012). 대부분의 어분을 수입에 의존하고 있는 우리나라로서는 큰 위기가 아닐 수 없으며, 어분을 대체할 수 있는 단백질 원료에 대한 연구가 시급한 상태이다. 세계적으로 이러한 문제점을 해결하기 위해 식물성 및 동물성 대체 사료원료 개발에 대한 연구를 활발히 진행해 오고 있다(Burr et al., 2012; Collins et al., 2012; Deng et al., 2006; Luzier et al., 1995).

특히, 사료원료들 중 대두박은 식물성 단백질원으로 단백질 함량이 40% 이상이고, 아미노산 조성이 비교적 양호할 뿐 아니라 가격이 싸며 공급이 안정적이어서 많은 연구가 수행되었다. 그러나, 대두박의 경우 필수아미노산 조성의 불균형 및 phytic acid 및 trypsin inhibitor 등의 항영양인자가 성장을 저하시킨다고 밝혀지면서 대두박의 생물학적 이용성을 높이기 위한 연구가 다양하게 이루어지고 있다(Watanabe et al., 1988; Dabrowski et al., 1989; Murai et al., 1989; Pongmaneerat and

Watanabe, 1993). 식물성 원료내 항영양인자의 함량을 낮추기 위한 방법으로 발효를 통한 원료 이용성 향상 연구들이 수행되고 있다(Gatlin et al., 2007). Yamamoto et al. (2010)의 연구에서는 무지개 송어용 사료에서 어분을 발효대두박과 콘글루테밀로 완전대체 하였을 때 대조군과 비슷한 성장결과를 나타내었다고 보고하였다. Lactic acid 발효는 대두박내 함유되어있는 trypsin inhibitor 활성을 낮추고 sucrose와 비전분다당류인 raffinose 함량을 떨어뜨리는 것으로 보고되었다(Refstie et al., 2005). 그러나, 국내 넙치를 대상으로 한 발효 대두박 연구는 거의 없는 실정이며, 이와 관련된 연구가 시급한 실정이다.

본 연구에서는 식물성 단백질원의 생물학적 이용률을 극대화하고자 발효시킨 대두박(발효대두박)을 사용하였으며, 또한 치어기 넙치 사료내 발효대두박 함량을 달리하여 실용배합사료에 어느 정도까지 어분을 대체할 수 있는지 규명하고자 수행하였다.

Table 2. Amino acids composition (g/100 g amino acids) of the experimental diets

Amino acids (g/100g amino acids)	Diets						
	FSM ₀	FSM ₁₀	FSM ₂₀	FSM ₃₀	FSM ₄₀	FSM _{30+AA}	FSM _{40+AA}
Alanine	6.1	5.7	5.2	5.4	5.2	5.4	5.0
Arginine	6.0	5.9	5.6	6.0	6.2	6.1	5.9
Aspartic acid	9.3	9.4	9.0	9.7	10.0	9.8	9.7
Glutamic acid	16.7	16.8	16.7	17.6	18.1	17.5	17.3
Glycine	6.0	5.6	5.1	5.3	5.1	5.3	4.9
Histidine	3.5	3.3	3.0	3.1	3.0	3.1	2.9
Isoleucine	4.5	4.4	4.2	4.5	4.5	4.5	4.4
Leucine	7.9	7.7	7.3	7.8	7.8	7.7	7.6
Lysine	8.0	7.7	7.1	7.1	7.0	7.4	7.1
Methionine	2.8	2.5	2.0	2.1	2.0	2.4	2.2
Phenylalanine	4.5	4.5	4.3	4.7	4.8	4.7	4.7
Serine	4.2	4.2	4.0	4.4	4.5	4.3	4.2
Threonine	4.5	4.3	4.0	4.1	4.1	4.1	3.9
Tyrosine	3.2	3.1	2.9	3.2	3.3	3.2	3.1
Valine	2.4	5.0	4.7	5.0	5.0	5.0	4.8

재료 및 방법

실험사료

넙치 실험에 사용된 실험사료의 사료원료와 일반성분 조성 및 구성 아미노산은 Table 1과 2에 나타내었다. 실험사료의 단백질원으로 갈색어분(칠레산), 발효대두박(대만) 및 오징어간분을 사용하였으며, 지질원으로 어유를 사용하였으며, 수협사료에서 자사 제품생산을 위해 사용하는 원료를 구매하여 사용하였다. 이 외에 사료 첨가제로서 대두레시틴, 비타민 및 미네랄 혼합물을 사용하였다. 모든 실험사료의 영양소 함량은 조단백질 50%, 조지질 10% 전후가 되도록 설계하였다. 본 실험의 사료원료인 발효대두박(DaBomb-P, DaBomb Protein Corp, Taiwan)은 *Lactobacillus acidophilus* 발효 균주로 가공 처리되었으며, 조단백질 함량 52%, 주요 항영양인자(anti-nutritional factor) 함량의 경우, 트립신 저해인자(trypsin inhibitor) 1 mg/g 이하, 렉틴(lectin) 41 ppm, 글라이시닌(glycinine) 7.9 g/100 g, 베타-콘글라이시닌(beta-conglycinin) 1.4 g/100 g, 유기산 3.0%로 나타났다(DaBomb Protein Corp, Taiwan). 발효 대두박(Fermented soybean meal, FSM)을 이용한 어분 대체 효과를 조사하기 위하여 총 7종류의 실험사료를 제조하였다. 대조구(FSM₀)와 어분 단백질을 발효대두박(FSM)으로 10%, 20%, 30%, 40% 대체한 실험사료 4종(FSM₁₀, FSM₂₀, FSM₃₀,

FSM₄₀)과 30%, 40% 발효대두박 대체실험구(FSM₃₀, FSM₄₀)에 합성 아미노산(methionine and lysine)을 첨가한 실험사료 2종(FSM_{30+AA}, FSM_{40+AA})인 총 7종류의 실험사료를 익스트루더(Twin extruder, ATX- II, Fesco, Korea)를 사용하여 EP사료 형태로 제조하여 본 실험에 사용하였다.

실험어 및 사육관리

실험어는 평균무게 20.9 ± 1.8 g (mean ± SD)의 넙치 치어를 24개의 400 L polypropylene 원형수조에 25마리씩 실험구별로 3반복으로 무작위 배치하였다. 각 실험수조는 유수식 사육장치로 사육수가 분당 20 L가 되도록 흘러주었으며, 수조마다 에어를 공급하였다. 사료공급은 1일 2회 반복 공급하였으며, 사육기간 중 평균수온은 22.3 ± 1.8 °C (17.7-25.0 °C)였다.

소화율 측정

본 샘플은 실험실에서 자체 고안한 분 수집 장치를 이용하여 수집하였다. 6가지 사료의 외견상 건물 및 단백질 소화율 측정에는 산화크롬(Cr₂O₃) 방법(Hanley, 1987)을 사용하였으며 Cho and Slinger (1979)와 Sugiura et al. (1998)의 방법에 의해서 계산하였다. 각 영양소의 소화율 측정은 간접방법으로 지표물질인 산화크롬(Cr₂O₃)을 이용하여 사료와 분의 단백질을 측정할 후 사료와 분내의 산화크롬 양을 측정하여 다음 식에 의하여 각

Table 3. Growth performance of olive flounder *Paralichthys olivaceus* fed the experimental diets for 8 weeks¹

	Diets							Pooled SEM ¹⁰
	FSM ₀	FSM ₁₀	FSM ₂₀	FSM ₃₀	FSM ₄₀	FSM _{30+AA}	FSM _{40+AA}	
IW ²	21.0	20.9	20.9	21.0	20.9	21.0	20.8	0.81
FW ³	98.9 ^{ab}	109 ^a	98.6 ^{ab}	99.8 ^{ab}	85.6 ^c	93.8 ^b	84.6 ^c	2.11
WG ⁴	372 ^{ab}	421 ^a	371 ^{ab}	377 ^{ab}	309 ^c	347 ^{ab}	306 ^c	6.68
SGR ⁵	2.59 ^{ab}	2.74 ^a	2.58 ^{ab}	2.60 ^{ab}	2.34 ^c	2.49 ^b	2.34 ^c	0.09
FE ⁶	120 ^a	114 ^{ab}	114 ^{ab}	106 ^b	96.4 ^c	107 ^b	98.7 ^c	1.45
PER ⁷	2.41 ^a	2.34 ^a	2.23 ^{ab}	2.07 ^b	1.91 ^c	2.09 ^{bc}	1.93 ^c	0.09
DFI ⁸	2.16	2.40	2.27	2.45	2.42	2.33	2.37	0.05
Survival ⁹	100	97.3	98.7	93.3	94.0	97.3	97.3	1.26

¹ Means of triplicate groups; Values in the same row with different superscripts are significantly different ($P < 0.05$).

²IW: Initial weight (g/fish)

³FW: Final weight (g/fish)

⁴WG: Weight gain (%) = (final wt - initial wt) × 100 / initial wt

⁵SGR: Specific growth rate (%/day) = [(log_e final wt - log_e initial wt) / days] × 100

⁶FE: Feed efficiency (%) = (wet weight gain / dry feed intake) × 100

⁷PER: Protein efficiency ratio = wet weight gain / protein intake

⁸DFI: Daily feed intake (%) = Total dry feed intake × 100 / {(initial wt. + final wt. + dead fish wt.) / 2} × days fed.

⁹Survival (%) = Number of fish at end of experiment / Number of fish stocked × 100

¹⁰ Pooled standard error of mean: SD/√n.

사료의 단백질소화율을 측정하였다.

$$\begin{aligned} \text{건물 소화율(\%)} &= 100 \times (\text{사료 중의 Cr}_2\text{O}_3\text{ \%} / \text{분 중의 Cr}_2\text{O}_3\text{ \%}) \\ \text{단백질 소화율(\%)} &= 100 \times (\text{사료 중의 Cr}_2\text{O}_3\text{ \%} / \text{분 중의 Cr}_2\text{O}_3\text{ \%}) \\ &\times (\text{분 중의 단백질, \%} / \text{사료 중의 단백질, \%}) \end{aligned}$$

여체측정 및 성분분석

여체 측정은 사육실험 시작과 종료 시에 측정 전 48시간 절식 시킨 후 MS-222 100 ppm 수용액으로 마취시켜 수조에 수용된 모든 실험어의 전체무게를 측정하였다. 실험종료 후 생존율, 증체율, 일간성장률, 사료효율, 일간사료섭취율 등을 조사하였다. 일반성분은 실험사료와 각 수조별로 실험어 5마리씩 무작위로 샘플하여 전어체를 분석하였으며, AOAC (1995) 방법에 따라 수분은 상압가열건조법(135℃, 2시간), 조단백질은 kjeldahl 질소정량법(N×6.25), 조회분은 직접회화법으로 분석하였다. 조지질은 조지질추출기(Velp SER148, Italy)를 사용하여 ether로 추출한 후, 측정하였다. 구성아미노산 분석은 시료 0.5 g을 정량하여 시험관에 넣고 6 N-HCl 15 mL를 가하여 감압 밀봉한 후 110℃의 dry oven에서 24시간 이상 동안 산 가수 분해시켰다. Glass filter로 분해액을 여과하고 얻은 여액을 55℃에서 감압 농축하여 염산과 물을 완전히 증발시킨 다음, 농축된 시료

를 sodium citrate buffer (pH 2.20)로 25 mL 정용플라스크에 정용하여 0.45 μm membrane filter로 여과 한 시료액을 아미노산 자동 분석기(Biochrom 30, Biochrom Ltd., England)를 사용하여 다음과 같은 조건으로 분석하였다. Cation separation column (oxidised feedstuff column, 4.6 mm×200 mm)을 사용하였고 0.2 M sodium citrate buffer (pH 3.20, 4.25)와 1.2 M sodium citrate buffer (pH 6.45) 및 0.4 M sodium hydroxide solution을 이동상으로 사용하였다. 이동상의 유속은 0.42 mL/min, ninhydrin 용액의 유속은 0.33 mL/min, column 온도는 48-95℃, 반응온도는 135℃로 조절하여 분석하였다.

통계처리

결과의 통계처리는 SPSS program (Version 11.0)을 사용하여 One-way ANOVA test를 실시한 후, Duncan's multiple range test (Duncan, 1955)로 평균간의 유의성을 검정하였다(유의수준, $P < 0.05$).

결과 및 고찰

치어기 넘치 사료의 조단백질 함량 및 아미노산 조성은 대조구와 비교하여 유사한 수준을 보였으며(Table 1 and 2), 이는

Table 4. Apparent dry matter digestibility (AD) and apparent protein digestibility (APD) of olive flounder *Paralichthys olivaceus* fed the experimental diets for 8 weeks¹

Diets	AD (%)	APD (%)
FSM ₀	85.0 ^a	94.2 ^a
FSM ₁₀	84.2 ^a	93.6 ^a
FSM ₂₀	83.1 ^a	93.1 ^a
FSM ₃₀	82.2 ^{ab}	92.5 ^{ab}
FSM ₄₀	78.7 ^c	90.9 ^b
FSM _{30+AA}	82.6 ^{ab}	92.8 ^{ab}
FSM _{40+AA}	80.5 ^b	91.3 ^b
Pooled SEM ²	0.66	0.68

¹ Values (mean of triplicates) in the same column with different superscripts are significantly different ($P < 0.05$).

² Pooled standard error of mean: SD/ \sqrt{n} .

사료내 발효대두박으로 인한 성장이나 아미노산 중 한 가지 또는 그 이상이 결핍되었을 때 나타나는 증상은 없는 것으로 판단된다.

치어기 넙치를 대상으로 8주 동안 사료내 어분 대체원으로 발효대두박의 사육효과 실험 결과는 Table 3에 나타내었다. 생존율은 93-100%로 높은 생존율을 보였으며, 모든 실험구에서 유의한 차이가 없었다($P > 0.05$). 증체율, 일간성장률 및 사료효율은 FSM₁₀, FSM₂₀, FSM₃₀ 및 FSM_{30+AA} 실험구가 대조구와 비교하여 유의적인 차이를 보이지 않았으며, FSM₄₀ 및 FSM_{40+AA} 실험구는 대조구 보다 유의하게 낮은 값을 나타내었다($P < 0.05$). 단백질전환효율은 FSM₁₀ 및 FSM₂₀ 실험구가 대조구와 비교하여 유의적인 차이가 없었으며, 발효대두박 FSM₃₀ 및 FSM_{30+AA}, FSM₄₀ 및 FSM_{40+AA} 실험구는 대조구에 비해 유의하게 낮았다($P < 0.05$). 일일사료섭취율은 모든 실험구에서 유의한 차이가 보이지 않았다($P > 0.05$). 발효대두박 첨가 수준에 따라 합성아미노산을 보충한 실험구들(FSM₃₀ 및 FSM_{30+AA}, FSM₄₀ 및 FSM_{40+AA})의 비교에 있어서도 증체율, 일간성장률 및 사료효율 등의 유의적인 차이는 없었다($P > 0.05$). 이상의 성장결과를 바탕으로 판단하였을 때, 넙치 치어용 사료에서 어분의 30%까지 발효대두박으로 대체 가능할 것으로 보이며, 합성 아미노산 첨가에 따른 성장 및 사료효율 개선효과는 없는 것으로 나타났다.

일반적으로 식물성보다는 육식성 어류에서 사료내 식물성 원료의 이용성이 낮은 것으로 보고되었다(Olsen and Hasan, 2012). 이는 육식성 어류가 식물성원료에 존재하는 항영양인자에 보다 민감하게 반응하는 것을 나타내고 있으며, 영양소 흡수와 이용성을 저하시키는 것으로 보고되고 있다(Wee and Shu,

Table 5. Proximate composition of whole body in flounder *Paralichthys olivaceus* fed the experimental diets for 8 weeks¹

Diets	Moisture (%)	Crude protein (%)	Crude lipid (%)	Ash (%)
FSM ₀	74.9	18.5 ^a	3.1 ^a	3.3
FSM ₁₀	74.9	18.3 ^a	3.2 ^a	3.3
FSM ₂₀	75.1	18.5 ^a	3.3 ^a	3.4
FSM ₃₀	74.3	18.2 ^a	3.0 ^a	3.5
FSM ₄₀	74.2	17.5 ^b	2.9 ^a	3.3
FSM _{30+AA}	75.3	18.3 ^a	2.5 ^b	3.3
FSM _{40+AA}	75.2	18.1 ^{ab}	3.0 ^a	3.3
Pooled SEM ²	0.15	0.11	0.07	0.04

¹ Values (mean of triplicates) in the same column with different superscripts are significantly different ($P < 0.05$).

² Pooled standard error of mean: SD/ \sqrt{n} .

1989). 이전의 연구에서 대두박에 의한 어분 대체율은 조피볼락(Lim et al., 2004), 방어(Shimeno et al., 1993), 쥐노래미(Lee and Lee, 1998)에서 10-30% 범위였으며, 넙치 치어용 사료에서는 사료내 어분 단백질의 20%까지 탈피대두박으로 대체할 수 있었다(Choi et al., 2004). 식물성 원료의 이용성을 높이기 위한 방안으로 발효를 포함한 사료가공법이 있으며 (Gatlin et al., 2007), 국내 양식용 어류를 대상으로 한 연구는 많지 않은 편이다. Lim et al. (2010)의 연구에서는 30%의 어분 단백질을 *Aspergillus oryzae*로 발효시킨 면실박과 대두박으로 대체할 경우 넙치의 성장이 떨어진다고 보고하였다. 반면 본 연구에서는 어분단백질 30% 대체(*Lactobacillus acidophilus* 발효대두박) 수준에서도 유의적인 성장 감소가 나타나지 않았다. 따라서, 적정 발효균주의 선택은 식물성단백질 원료의 이용성을 향상시킬 수 있을 것으로 보이며, 발효과정 중 항영양인자의 유의적인 감소에 의해 영양소 흡수 및 이용성이 향상된 것으로 판단된다. 특히 본 연구에서 사용한 발효대두박은 항영양인자인 trypsin inhibitor (TI)가 1 mg/g이하로 나타났으며, 이는 양어용 배합사료로 사용하는 탈지 대두박의 TI 수준인 1-3 mg/g보다도 낮은 값을 보여 본 연구의 결과를 뒷받침하고 있다.

대두박을 어분대체 단백질원으로 사용할 때 고려해야 할 것은 제한적인 필수아미노산 조성을 들 수 있는데(NRC, 1993), 대두박의 대체 수준이 높을수록 사료내 특정 아미노산(제한 아미노산)의 불균형으로 어류의 성장이 저하된다고 보고되고 있다(Jackson et al., 1982; Murai et al., 1989). 최근 많은 어종을 대상으로 식물성 단백질에 의한 어분대체 연구가 활발히 이루어지고 있으며, 식물성 원료의 이용성을 높이기 위한 방안으로 제한 아미노산인 methionine 및 lysine을 보충하여 대체할

Table 6. Amino acid contents of whole body in flounder *Paralichthys olivaceus* fed the experimental diets for 8 weeks¹

Amino acids (g/100g amino acids)	Diets							Pooled SEM
	FSM ₀	FSM ₁₀	FSM ₂₀	FSM ₃₀	FSM ₄₀	FSM _{30+AA}	FSM _{40+AA}	
Alanine	7.0	7.3	7.2	7.1	7.1	7.2	7.3	0.03
Arginine	6.7	6.8	6.6	6.5	6.5	6.7	6.7	0.04
Aspartic acid	10.3	9.9	10.0	10.2	9.9	10.1	9.9	0.07
Glutamic acid	14.6	14.6	14.6	14.7	14.2	14.6	14.5	0.01
Glycine	7.5	8.1	7.6	7.2	7.4	7.7	7.9	0.06
Histidine	2.2	2.2	2.3	2.3	2.2	2.3	2.4	0.02
Isoleucine	4.3	4.3	4.3	4.4	4.2	4.3	4.3	0.05
Leucine	7.8	7.7	7.7	7.9	7.7	7.8	7.7	0.06
Lysine	9.3	9.3	9.3	9.3	9.0	9.2	9.2	0.04
Methionine	2.7	2.8	2.9	2.8	2.8	2.8	2.7	0.02
Phenylalanine	4.3	4.3	4.2	4.3	4.2	4.2	4.2	0.02
Serine	4.5	4.5	4.5	4.6	4.7	4.5	4.5	0.02
Threonine	4.5	4.4	4.4	4.5	4.3	4.4	4.5	0.06
Tyrosine	3.4	3.4	3.4	3.4	3.3	3.4	3.3	0.06
Valine	5.0	5.0	5.1	5.0	4.8	5.0	5.1	0.04
Total AA	94.1	94.6	94.1	94.2	92.3	94.2	94.2	

¹ Values (mean of triplicates) in the same column with different superscripts are significantly different ($P < 0.05$).

² Pooled standard error of mean: SD/\sqrt{n}

상 연구들이 수행되고 있다(Collins et al., 2012; Cheng et al., 2013; Deng et al., 2006; Murai et al., 1982; Shiao et al., 1988). 치어기 넙치를 대상으로 사료 내 탈피대두박을 사용하여 어분 단백질의 20%까지 대체하고, 합성 아미노산(methionine and lysine)을 첨가할 경우 어분 단백질의 30%까지 대체할 수 있다고 보고되었다(Choi et al., 2004). 그러나 사료내 제한 아미노산을 보충하여도 성장 개선 효과가 없다는 연구보고도 있다(Murai et al., 1982; Andrew and Page, 1974; Lim and Dominy, 1989).

실험사료의 외견상 소화율(AD)과 외견상 단백질 소화율(ADP)은 Table 4에 나타내었다. 외견상 소화율 및 단백질 소화율은 각각 78.7-85.0% 과 90.9-94.2% 범위였으며, FSM₁₀, FSM₂₀, FSM₃₀ 및 FSM_{30+AA} 실험구는 대조구와 비교하여 유의적 차이가 없는 반면에 FSM₄₀ 및 FSM_{40+AA} 실험구는 대조구 보다 유의적으로 낮은 소화율을 나타내었다($P < 0.05$). 실험사료의 소화율은 사료내 발효대두박 함량이 증가함에 따라 낮아지는 경향을 보였으며, 합성 아미노산의 첨가에 따른 소화율 증가는 나타나지 않았다. 본 연구에서 단백질 소화율은 90.9-94.2% 범위였으며, Choi et al. (2004)의 연구에서 보고된 단백

질 소화율(86.3%-93.7%) 보다 높은 값을 보였다. 이 결과는 실험에 사용된 대두박 원료에 의한 것으로 보이며, 본 연구에서 사용된 대두박의 발효과정 중 미생물에 의한 이용 및 효소작용을 통해 고분자 단백질이 저 분자의 폴리펩티드 형태로 분해되어 원료내 단백질 소화율이 높아진 것으로 사료된다(Ong et al., 2006).

사육실험 종료 후, 실험사료를 섭취한 치어기 넙치의 전어체 일반분석 결과는 Table 5에 나타내었다. 조단백질 함량은 FSM₄₀ 실험구를 제외한 모든 실험구에서 대조구와 비교하여 유의적인 차이를 나타내지 않았다. 조지질 함량은 FSM_{30+AA} 실험구를 제외한 모든 실험구에서 유의적인 차이를 나타내지 않았다.

실험사료를 섭취한 치어기 넙치의 구성아미노산 분석 결과는 Table 6에 나타내었다. 본 실험에서 전어체 구성 아미노산 함량은 92.4-94.6 g/100 g amino acids로 나타났으며, 각 실험구들 사이의 구성 아미노산 사이에는 유의차가 나타나지 않았다($P > 0.05$). 따라서, 아미노산의 결핍에 의한 성장 저해 등의 여러 요소들을 배제할 수 있을 것으로 생각된다.

따라서 본 실험의 결과를 토대로 치어기 넙치에 있어서 어분

대체원으로서 발효대두박은 합성 아미노산의 보충 없이 어분단백질의 30%까지 대체가 가능할 것으로 보이며, 앞으로 발효효소의 가공처리 조건에 따른 발효대두박의 이용성에 대한 연구가 추가적으로 진행되어야 할 것이다.

사 사

이 연구는 국립수산물연구원 (친환경 실용 배합사료 개발 및 품질관리 연구, RP-2013-AQ-159)의 지원에 의해 수행되었으며, 이에 감사 드립니다.

References

- Andrews JW and Page JW. 1974. Growth factors in the fishmeal component of catfish diets. *J Nutr* 104, 1091-1096.
- AOAC (Association of Official Analytical Chemists). 1995. Official methods of analysis. 16th ed. Association of Official Analytical Chemists. Arlington, VA.
- Burr GS, Wolters WR, Barrows FT and Hardy RW. 2012. Replacing fishmeal with blends of alternative proteins on growth performance of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*), and early or late stage juvenile Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Aquaculture* 334-337, 110-116. <http://dx.doi.org/10.1016/j.aquaculture.2011.12.044>.
- Cheng ZJ, Hardy RW and Ustry JL. 2003. Effects of lysine supplementation in plant protein-based diets on the performance of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and apparent digestibility coefficients of nutrients. *Aquaculture* 215, 255-265.
- Cho CY and Slinger SJ. 1979. Apparent digestibility measurement in feedstuffs for rainbow trout. In: Halver, JH, Tiews K, (Eds.), *Finfish Nutrition and Fishfeed Technology*, Vol. II. Heenemann, Berlin, 239-247.
- Choi SM, Wang XJ, Park GJ, Lim SR, Kim KW, Bai SC and Shin IS. 2004. Dietary dehulled soybean meal as a replacement for fish meal in fingerling and growing olive flounder, *Paralichthys olivaceus*. *Aquac Res* 35, 410-418.
- Collins SA, Desai AR, Mansfield GS, Hill JE, Kessel AGV and Drew MD. 2012. The effect of increasing inclusion rates of soybean, pea and canola meals and their protein concentrates on the growth of rainbow trout: Concepts in diet formulation and experimental design for ingredient evaluation. *Aquaculture* 344-349, 90-99. <http://dx.doi.org/10.1016/j.aquaculture.2012.02.018>.
- Dabrowski K, Poczyczynski P, Kock G and Berger B. 1989. Effect of partially or totally replacing fish meal protein by soybean meal protein on growth, food utilization and proteolytic enzyme activities in rainbow trout (*Salmo gairdneri*). New in vivo test exocrine pancreatic secretion. *Aquaculture* 77, 29-49.
- Deng J, Mai K, Ai Q, Zhang W, Wang X, Xu W and Liufu Z. 2006. Effects of replacing fish meal with soy protein concentrate on feed intake and growth of juvenile Japanese flounder, *Paralichthys olivaceus*. *Aquaculture* 258, 503-513.
- Gatlin DM, Barrows FT, Brown P, Dabrowski K, Gaylord TG, Hardy RW, Herman E, Hu G, Krogdahl A, Nelson R, Overturn K, Rust M, Sealey W, Skonberg D, Souza EJ, Stone D, Wilson R and Wurtele E. 2007. Expanding the utilization of sustainable plant products in aquafeeds: A review. *Aquac Res* 38, 551-579. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2109.2007.01704.x>.
- Hanley F. 1987. The digestibility of foodstuffs and the effects of feeding selectivity on digestibility determinations in Tilapia (*Oreochromis niloticus* L.). *Aquaculture* 66, 163-179.
- Jackson AJ, Capper BS and Matty AJ. 1982. Evaluation of some plant proteins in complete diets for the tilapia *Sarotherodon massambicus*. *Aquaculture* 27, 97-109.
- Lee JK and Lee SM. 1998. Evaluation of soybean meal or feather meal as a partial substitute for fish meal in formulated diets for fat cod. *J Aquacult* 11, 421-428.
- Lim C and Dominy W. 1989. Utilization of plant proteins by warm water fish. *Proceedings of world congress on Vegetable Protein Utilization in human food and animal feedstuffs: 2445-251*. American Oil Chemists Society, Champaign, Illinois.
- Lim SJ, Kim SS, Pham MA, Song JW, Cha JH, Kim JD, Kim JU and Lee KJ. 2010. Effects of fermented cottonseed and soybean meal with phytase supplementation on gossypol degradation, phosphorus availability, and growth performance of olive flounder (*Paralichthys olivaceus*). *Fish Aquat Sci* 13, 284-293.
- Lim SR, Choi SM, Wang XJ, Kim KW, Shin IS, Min TS and Bai SC. 2004. Effects of dehulled soybean meal as a fish meal replacer in diets for fingerling and growing Korean rockfish, *Sebastes schlegeli*. *Aquaculture* 231, 457-468.
- Luzier JM, Summerfelt RC and Ketola HG. 1995. Partial replacement of fish meal with spray-dried blood powder to reduce phosphorus concentrations in diets for juvenile rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum) *Aquac Res* 26, 577-587.
- Murai T, Ogata H and Nose T. 1982. Methionine coated with various materials supplemented to soybean meal diet for fingerling carp *Cyprinus carpio* and channel catfish *Ictalurus punctatus*. *B Jpn Soc Sci Fish* 48, 85-88.
- Murai T, Ogata H, Villaneda A and Watanabe T. 1989. Utilization of soy flour by fingerling rainbow trout having different body size. *Nippon Suisan Gakk* 55, 1067-1073.
- NRC (National Research Council). 1993. *Nutrient requirements of warm water fishes and shellfishes*. National Academy Press, Washington, DC, USA.
- Olsen RL and Hasan M. 2012. A limited supply of fishmeal: Impact on future increases in global aquaculture production. *Trends Food Sci Tech* 27, 120-128. <http://dx.doi.org/10.1016/j.tfs.2012.02.018>.

org/10.1016/j.tifs.2012.06.003.

- Ong L, Henriksson A and Shah NP. 2006. Development of probiotic Cheddar cheese containing *Lactobacillus acidophilus*, *Lb. casei*, *Lb. paracasei* and *Bifidobacterium* spp. and the influence of these bacteria on proteolytic patterns and production of organic acid. *Int Dairy J* 16, 446-456.
- Pongmaneerat J and Watanabe T. 1993. Effect of extrusion processing on the utilization of soybean meal diets for rainbow trout. *Nippon Suisan Gakk* 59, 1407-1414.
- Refstie S, Sahlstrom S, Brathen E, Baeverfjord G and Krogedal P. 2005. Lactic acid fermentation eliminates indigestible carbohydrates and antinutritional factors in soybean meal for Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Aquaculture* 246, 331-345.
- Shiau SY, Pan BS, Chen S, Yu HL and Lin SL. 1988. Successful use of soybean meal with a methionine supplement to replace fish meal in diets fed to milkfish *Chanos chanos* Forskal. *J World Aquacult Soc* 19, 14-19.
- Shimeno S, Mima T, Yamamoto O and Ando Y. 1993. Effects of fermented defatted soybean meal in diet on the growth, feed conversion, and body composition of juvenile yellowtail. *Nippon Suisan Gakk* 59, 1883-1888.
- Watanabe T, Shuichi S and Toshio T. 1988. Availability of mineral in fish meal to fish. *Asian Fish Sci* 1, 175-195.
- Wee KL and Shu SW. 1989. The nutritive value of boiled full-fat soybean in pelleted feed for Nile tilapia. *Aquaculture* 81, 303-312.
- Yamamoto T, Iwashita Y, Matsunari H, Sugita T, Sugita T, Furuita H, Akimoto A, Okamatsu K and Suzuki N. 2010. Influence of fermentation conditions for soybean meal in a non-fish meal diet on the growth performance and physiological condition of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. *Aquaculture* 309, 173-180. <http://dx.doi.org/10.1016/j.aquaculture.2010.09.021>.