KFAS 한국수산과학회지 Korean Journal of Fisheries and Aquatic Sciences
한수지 49(2), 161-167, 2016

Original Article
Korean J Fish Aquat Sci 49(2),161-167,2016

육상어류양식장의 고형오물을 발효시켜 만든 사료를 급여한 해삼(*Apostichopus japonicus*)의 성장

Feng Jin · 최종국 · 정우철 · Anisuzzaman Md · 류충호[1] · 최병대 · 강석중*

경상대학교 해양식품생명의학과, [1]경상대학교 식품공학과

Effects of Fermented Fecal Solid Diets on Growth of the Sea Cucumber *Apostichopus japonicus*

Feng Jin, Jong- Kuk Choi, U-Cheol Jeong, Anisuzzaman Md, Chung-Ho Ryu[1], Byeong-Dae Choi and Seok-Joong Kang*

Department of Seafood and Aquaculture Science, Gyeongsang National University, Tongyeong 53064, Korea
[1]Department of Food Science and Techology, Gyeongsang National University Jinju 52828, Korea

The effects of fermented fecal solid diets on the growth of the sea cucumber *Apostichopus japonicus* was investigated in a recirculating aquaculture system (RAS) during a 90-day experiment at 16.5-17.5°C, 32±0.5 psu salinity, pH 7.9-8.2, and 5.2-7.1 mg/L dissolved oxygen. The aim was to determine the feasibility of RAS fecal solid waste as a renewable feed for *A. japonicus*. In this study, unfermented fecal solid (UF), fermented fecal solid (FF), and commercial feed (CF) diets were used. The results showed that the growth rate did not differ significantly (P>0.05) between *A. japonicus* fed FF and CF; however, the growth rates of *A. japonicus* fed FF and CF were ~50% higher than that of those fed UF. Thus, utilization of fecal solid by *A. japonicus* may overcome the problem regarding accumulation of RAS waste. Use of a fermentation process would improve utilization of fecal solid as a renewable food source for *A. japonicus*.

Key words: Fecal solids, Sea cucumber, *Apostichopus japonicus*, Fatty acid, Amino acid

서 론

최근 육상어류양식장에서 발생하는 배출수의 연안환경오염에 관한 문제는 전 세계적으로 심각한 사회문제로 대두되고 있다(Nordvarg and Johansson, 2002; Kang et al., 2004). 육상어류양식장에서 배출된 고형오물은 주로 어류의 배설물과 일부 잔여사료로 구성되어 있으며(Naylor, 2000; Brune et al., 2003), 이를 처리하기 위한 방안으로 유기질비료로 사용(Sharrer et al., 2007), 바이오가스로 활용(Luo et al., 2013), 식물환경복원(Ghaly et al., 2005) 등을 시도하였지만, 실용화되지 못하고 있다. 또한 고염과 고농도의 유기물 함량 때문에 도시폐수처리장에서 처리가 곤란할 뿐만 아니라(Mirzoyan et al., 2008), 2016년부터 해양투기가 금지되었기 때문에 이에 대한 대책이 절실하다.

해삼은 저서퇴적물식자(deposit feeder)로서 저서의 퇴적물을 이용하여 성장하는 바다의청소부로 잘 알려져 있다(Kang et al., 2012). 해삼의 이러한 식성을 활용하여 다영양입체양식(Integrated Multi-Trophic Aquaculture, IMTA)의 여과생물로서 이용하고 있을 뿐만 아니라(Kang et al., 2003; Zamora and Jeffs, 2011; Nelson et al., 2012; Hannah et al., 2013), IMTA에서 배출된 저층배설물로 상품크기까지 성장시키고 있다(Yokoyama, 2013; Yu et al., 2014). 최근에는 더욱 진전하여 육상어류양식장의 고형오물을 처리하기 위한 시도에서 희망적인 결과를 얻고 있다. Jeong et al. (2016)의 연구결과 육상고형오물의 이화학적 성질로서 사료 내 잔류 중금속과 항생물질의 안정성을 밝혔으며, 이를 해삼에게 급여했을 때 이들을 효율적으로 소화시키는 높은 소화흡수율을 밝히고 있다. Jin et al. (2016)은 고형오물을 해삼사료자원으로 활용하기 위한 실험으로 육상양

http://dx.doi.org/10.5657/KFAS.2016.0161

This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial Licens (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.

Korean J Fish Aquat Sci 49(2) 161-167, April 2016

Received 22 March 2016; **Revised** 12 April 2016; **Accepted** 13 April 2016

***Corresponding author:** Tel: +82. 55. 772. 9154 Fax: +82. 55. 648. 3089

E-mail address: sjkang@gnu.ac.kr

식장에서 배출된 고형오물을 해삼에게 급여했을 때 해삼의 에너지 수지 차원에서 이용가능성이 높다고 하였다. 그러나 성장에서는 고형오물을 그대로 급여했을 때는 상품사료의 60% 수준의 성장 효과를 나타내었기 때문에 고형오물에 대한 이용률 개선의 필요성을 제기하였다.

사료의 이용률을 높이는 방안으로 발효과정을 통하여 소화흡수율 개선하고 기능성물질을 증가시키는 방법은 이미 식품과 축산사료에서 널리 응용되고 있다(Kwak and Park, 2003; Song et al., 2011). 불소화 또는 난소화성 원료에 미생물을 접종 후 발효시켰을 때 고분자 물질을 저분자 물질로 변화시켜 소화성이 개선되고 또한 미생물 작용에 의한 악취 제거에도 뛰어난 효과를 가지고 있다(Anugwa et al., 1989; Wilfart et al., 2007).

따라서 본 연구는 해삼의 고형오물에 대한 이용성을 개선하는 목적으로 4단 발효공정을 거친 고형오물을 해삼에게 공급하는 사육실험을 통하여 육상어류양식장에서 배출되는 고형오물의 이용성을 높이고자 연구를 수행하였다.

재료 및 방법

실험사료

실험사료는 고형오물로 제조한 미발효고형오물사료(Unfermented fecal solid, UF)와 이를 발효시켜 제조한 발효고형오물사료(Fermented fecal solid) 및 시판중인 상품사료(Commercial feed, CF)를 포함한 3종류를 실험에 사용하였다. 고형오물사료는 충청북도 충주시 금가면 오석리에 소재하고 있는 무지개송어(*Oncorhynchus mykiss*)양어장의 배설물 침전조에 축적된 고형오물을 채취하여 실험실로 운반 후 해삼사료로 제조하여 사용하였으며 상품사료는 중국에서 수입한 해삼배합사료(DL CO., LTD, China)를 사용하였다.

발효사료 제조

발효사료의 제조공정은 4단계로 하였고, 발효사료와 미발효사료의 원료배합 비율은 Table 1에 나타낸 바와 같으며, 그 원료의 일반성분은 Table 2에 나타낸 바와 같다. 고형오물에 악취제거와 수분조절을 위하여 미강을 첨가하였고, 단백질 함량 조절을 위하여 대두박을 첨가하였다. 고형오물, 미강 및 대두박의 비율은 2:1:1로 혼합하여 이를 발효기질로 하였다. 제1단 발효는 미생물 증식에 필요한 영양원 즉 기질을 살균하기 위한 목적으로 항균물질 생산능력이 있는 유산균(*Lactococcus lacti* IFO 12007)을 이용하였고, 제2단과 제3단 발효과정은 고형오물 중 고분자 물질과 난분해성 물질을 분해하는 단계로서 제2단 황국균(*Aspergillus oryzae*)과 제3단 고초균(*Bacillus subtilis* GSK3580)을 이용하였으며, 제4단계는 고도불포화지방산 함량을 증가시키기 위하여 *Schizochytrium mangrovei* GNU226 배양액을 첨가하였다. 각 단계별 발효조건은 제1단계 *L lactis* IFO 12007과 2단계 *A. oryzae*를 각각 10^6 CFU/g과 10^6 spores/g을 분무 접종하여 30℃에서 48시간 동안 1단과 2단 발효를 연속으로 실시하였다. 다음으로 3단계는 증류수를 첨가하여 수분을 90%로 조절하고 *B. subtilis* GSK3580을 10^6 CFU/g 접종해서 43℃에서 24시간 동안 발효를 실시하였으며, 마지막 4단계로 해양미세조류 *S. mangrovei* GNU 226 발효액을 5%첨가하여 발효공정을 마쳤다. 모든 실험사료는 볼밀(Seojin SJB-250A, Korea)을 이용하여 45 μm 될 때까지 충분히 분쇄시켰다. 이 분쇄된 고형오물 입자에 Cr_2O_3 0.5%와 Cel-

Table 1. Formulation of experimental diets for *Apostichopus japonicus* (dry basis %)

Ingredient	Diets[1]		
	UF	FF	CF
Fecal solid	50.00	50.00	-
Rice bran	25.00	25.00	-
Soybean meal	25.00	25.00	-
Lactococcus. lacti IFO 12007	0.30	0.3	-
Aspergillus oryzae	0.15	0.15	-
Bacillus subtilis KFCC 11293	0.05	0.05	-
Schizochytrium mangrovei GNU226	1.00	1.00	-
Sea mud	-	-	CA[2]
Algae powder	-	-	CA
Wheat flour	-	-	CA
Peru fish meal	-	-	CA
Oyster shell powder	-	-	CA
Soybean lecithin	-	-	CA
Total	100.00	100.00	-

[1] UF, unfermented fecal solid diet; FF, fermented fecal solid diet; CF, commercial feed. [2]CA, certain amount.

Table 2. Proximate compositions of the experimental diets (%)

Diets[1]	Moisture (%)	Composition			
		Crude protein	Crude lipid	Carbohydrate	Ash
UF	5.50±0.23	21.55±1.23	4.75±0.04	24.84±0.26	48.86±0.50
FF	5.50±0.14	20.43±0.70	4.12±0.04	25.77±0.46	49.68±0.50
CF	5.40±0.17	21.81±0.93	1.73±0.03	26.52±0.37	49.94±0.85

[1]UF, unfermented fecal solid diet; FF, fermented fecal solid diet; CF, commercial feed diet.

lulose sodium alginate 0.5%를 완전하게 섞어 반죽한 후, 펠렛 제조기(Dongwen EP-C220, Korea)에서 펠렛 형태로 압출성형하였다. 성형된 고형오물을 65℃에서 건조시킨 후, 다시 분쇄시켜 입자크기가 350 μm인 크럼블 사료로 가공하였고 건조기에 건조시켜 수분함량을 5.4%로 조절하였으며 4℃에서 냉장 보관하여 실험에 사용하였다.

발효고형오물 일반 성분 분석

실험사료의 일반성분 분석은 일반성분은 AOAC (1995) 방법에 따라 조단백질은 Kjeldahl법으로 분석하였으며, 조지방은 choloroform과 methanol을 2:1 비율로 혼합한 용액을 용매로 한 Bligh and Dyer추출법(1959)에 준하였다. 수분은 상압가열 건조법으로 105℃의 건조기(Dongwon, dry oven, Korea)에서 6시간 동안 건조 후 측정하였으며, 조회분은 직접회화법으로 600℃ 회화로에서 4시간 동안 태운 후 정량 하였다. 탄수화물 함량은 시료의 수분, 단백질, 지질 및 회분의 함량을 뺀 값으로 하였다.

발효고형오물 아미노산 분석

총아미노산은 시료 100 mg에 6 N 염산 2 mL를 첨가하여 이를 heating block (HF21, Yamato Scientific Co., Japan)에서 110℃로, 24시간 가수분해한 후 glass filter로 여과 및 감압건조하였다. 건조물은 sodium citrate buffer (pH 2.2)로 100 mL 정용 플라스크에 정용한 후 아미노산 자동분석기(Biochrom 30, Amershame Parmacia Biotech, England)로 분석 및 정량 하였다.

발효고형오물 지방산 분석

총 지질 추출은 Bligh and Dyer (1959) 방법에 준수하여 Chloroform과 methanol을 2:1로 혼합한 용액을 이용하여 추출하였다. 추출된 총 지질 80 mg을 취하고, 0.5 N NaOH-methanol 용액을 이용하여 검화하였으며 BF_3-methanol (Sigma, USA)을 사용하여 fatty acid methyl ester로 methylation 시킨 후 capillary column (Omegawax™-320, 30 m × 0.32 mm × 0.25 μm, I.D., SUPELCO, USA)이 장착된 Gas Chromatography (Glarus 600, Perkin Elmer, USA)로 지방산을 분석하였다. Carrier gas는 헬륨을 사용하였고 injector 온도는 250℃, detector (FID) 온도는 270℃로 각각 설정하였다. 이때 column 온도는 180℃에서 8분간 유지하고 3℃/분 속도로 230℃까지 증가시킨 후 항온 상태에서 10분간 유지시켰다. 지방산의 동정은 GC-MS로 동정된 menhaden oil을 동일 조건으로 분석한 결과와 ECL (equivalent chain length) 값을 비교하여 동정하였다.

발효고형오물을 이용한 해삼 사육실험

실험에 사용한 돌기해삼(*Apostichopus japonicus*)은 경남 통영시 산양면에 위치하고 있는 해삼 종묘 생산업체에서 분양받아 경상대학교 어류양식 및 사료 실험실의 배양장으로 운반하여 1,000 L 수조에 수용하였다. 해삼 사육실험은 순환여과 시스템에서 수행하였으며, 보충수는 20%/일로 하였고 순환률은 1회전/일로 하였다. 이때의 실험 환경은 온도 17±1℃, 염분 32±1 psu, 용존산소 5.0-7.2 mg/L로서 인공 배합사료를 공급하면서 5 주간 예비 사육을 하였다.

예비 사육을 거친 해삼을 24시간 절식시킨 후 평균 체중 11.50 g인 개체를 180마리 선별하여 9개의 사육수조인 직사각형 아크릴 수조(45 × 60 × 50 cm, 수량 80 L)에 각각 20마리씩 무작위로 분배하여 3개의 실험구를 설정하였다. 각 실험구마다 각각 다른 실험 사료를 급여하여 총 3개 실험구를 3회 반복으로 실험을 수행하였다.

샘플 수집

해삼의 초기 체중은 실험 개시와 동시에 20마리를 채집하여 65℃에서 건조한 후 생체 중량과 건조중량을 측정하여 초기 샘플로 하였다. 변과 잔여 사료의 시료 채취는 사료를 급여하기 전에 사이펀을 이용하여 수조 바닥에 있는 잔여 사료와 변을 채집하였으며, 이를 증류수로 탈염하여 65℃에서 건조 한 후 무게를 측정하였다. 해삼의 최종 체중은 사육 실험이 종료되었을 때, 실험 해삼을 48시간 절식시킨 후에 초기 샘플과 동일한 방법으로 체중을 측정하였다.

성장 및 소화율

생존율(survival rate), 일일 성장률(specific growth rate, SGR), 사료 섭식률(ingestion rate, IR), 증체량(weight gain) 및 겉보기 소화흡수율(apparent digestibility AD)의 계산식은 다음과 같다.

$$\text{Survival rate SR (\%)} = 100 \times (N_2 / N_1)$$

위 식에서 N_2는 최종생존 개체 수, N_1은 최초 개체 수이다.

$$\text{SGR (\%/day)} = 100 (\ln W_2 - \ln W_1) / T$$

$$\text{IR (mg/g/day)} = C / [T \times (W_2 + W_1) / 2]$$

위 식에서 W_1과 W_2는 실험 전과 후 각 수조에 있는 해삼의 건조중량, T는 사육기간, C는 섭식한 사료의 건조중량이다.

$$\text{Weight gain (WG): WG (g/tank)} = W_F - W_I$$

위 식에서 W_I는 수조당 수용한 해삼의 최초 총 습중량, W_F는 최종 총 습중량이다.

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

Cr_2O_3 함량은 Furukawa (1966) 방법에 따랐으며, 광학식 플레이트에 150 μL씩 넣어 UV-Vis spectrometer을 이용하여 350 nm에서 3반복으로 분석하였다. 분석 후 결과 값과 Y=0.2089 X+0.0032 (Y = 흡광도, X = Cr_2O_3 mg/100 mL)공식을 이용해 Cr_2O_3값을 구하였다.

통계처리

모든 통계분석은 SPSS 16.0 프로그램을 사용하였고 One-way ANOVA test를 실시한 후 Duncan's multiple rang test (Duncan, 1955)로 평균 간의 유의성(P<0.05)을 검정하였다.

결 과

발효고형오물의 일반성분

4단 발효과정을 거친 발효고형오물의 일반성분은 Table 2에서 나타낸 바와 같이 조회분은 발효전의 48.86%에서 발효후 49.68%로 변화가 없었으며 조단백은 21.55%에서 20.43%로, 조지방은 4.75%에서 4.12%로 낮아졌다.

발효고형오물의 아미노산 조성

고형오물사료 발효 전과 후의 아미노산 분석결과는 Table 3에 나타낸 바와 같이 4단 발효과정을 통해 발효된 고형오물사료의 aspartic acid 함량은 2.17%에서 1.76%로 낮아 졌으며 glycine 함량은 0.68%에서 1.35%로 높아지는 것으로 나타났다. Threonine 함량은 0.79%에서 0.55%로 낮아졌으며 methionine함량은 0.28%에서 0.82%로 높아지는 것으로 나타났다. Phenylalanine 함량은 0.63%에서 0.55%로 낮아졌으며 lysine은 0.69%에서 1.27%로, arginine은 0.94%에서 1.16%로 높아지는 것으로 나타났다.

Table 3. Total amino acid composition of fecal solid diet in before and after fermentation (% of dry matter)

Amino acid	Diets[1]	
	UF	FF
Aspartic acid	2.17	1.76
Threonine	0.79	0.55
Serine	1.02	0.56
Glutamic acid	2.82	2.68
Proline	0.96	1.09
Glycine	0.68	1.35
Alanine	0.93	0.99
Valine	0.92	0.98
Methionine	0.28	0.82
Isoleucine	0.68	0.71
Leucine	1.44	1.42
Phenylalanine	0.63	0.55
Lysine	0.69	1.27
Histidine	0.49	0.51
Arginine	0.94	1.16

[1]UF, unfermented fecal solid diet; FF, fermented fecal solid diet.

발효고형오물의 지방산 조성

고형오물사료 발효 전과 후의 지방산조성은 Table 4에 나타낸 바와 같이 총 24종 지방산이 동정되었으며 동정되지 않은 peak의 총합이 각각 5.36%와 5.09%였다. 18:2n-6 함량은 21.28%에서 15.11%로 낮아졌으며 20:5n-3 (EPA)과 22:6n-3 (DHA) 함량은 각각 0.25%와 0.82에서 1.49%와 2.87%로 높아지는 것으로 나타났다. 포화지방산(SFA) 함량은 40.72%에서 37.77%로 낮아졌으며 *iso*-15, *anteiso*-15 및 *iso*-16을 포함한 분지지

Table 4. Total fatty acid composition of fecal solid diet in before and after fermentation (% of total lipid)[1]

Fatty acid	Diets[2]	
	UF	FF
14:0	6.04±0.06	5.67±0.04
i-15:0	0.12±0.02	1.56±0.02
a-15:0	0.09±0.01	2.41±0.02
15:0	0.55±0.03	0.55±0.01
i-16:0	1.87±0.07	5.60±0.15
16:0	31.58±0.61	29.39±0.65
16:1n-9	0.45±0.05	0.43±0.02
16:1n-7	0.93±0.03	0.87±0.06
17:0	0.68±0.03	0.66±0.01
18:0	8.68±0.05	8.14±0.03
18:1n-9	14.81±0.99	13.08±0.75
18:1n-7	1.21±0.03	1.19±0.06
18:2n-6	21.28±0.52	15.11±0.42
18:3n-3	1.64±0.07	2.52±0.09
20:0	1.01±0.07	1.05±0.03
20:1n-11	0.11±0.03	0.10±0.01
20:1n-9	0.20±0.03	0.26±0.06
20:4n-6	0.06±0.01	0.06±0.01
20:5n-3	0.25±0.01	1.49±0.04
22:0	0.86±0.02	0.46±0.06
22:1n-9	0.11±0.06	0.10±0.00
22:5n-6	0.04±0.00	0.21±0.01
22:5n-3	1.23±0.08	1.14±0.06
22:6n-3	0.82±0.03	2.87±0.02
∑ Unknown	5.36	5.09
∑ SFA	40.72	37.77
∑ BCFA	2.08	9.57
∑ MUFA	17.84	16.02
∑ PUFA	25.32	23.41

[1]Values are means of triplicate groups and values in the same row with different superscripts are significantly different (P<0.05). [2] UF, unfermented fecal solid diet; FF, fermented fecal solid diet.

Table 5. Initial and final wet weight and survival number of *Apostichopus japonicus* fed the three experimental diets (mean±SE)[1]

Parameters		UF	FF	CF
Initial	Total wt. (g)	230.01±3.71[a]	230.04±3.54[a]	230.07±.2.18[a]
	Number	20	20	20
	Individual wt. (g)	11.50±0.20[a]	11.50±0.16[a]	11.50±0.12[a]
Final	Total wt. (g)	506.42±63.73[a]	1,121.88±102.52[a]	1,108.39±113.72[b]
	Number	20	20	20
	Individual wt. (g)	25.32±6.2[b]	56.09±7.5[a]	55.42±5.7[a]
Culture period (day)		90	90	90
Survial rate (%)		100	100	100
Weight gain (g)		276.41±21.5[a]	891.84±45.2[b]	878.32±33.7[b]
Specific growth rate (%/d)		0.88±0.06[a]	1.76±0.04[b]	1.75±0.09[b]
Ingestion rate (g/g/d)		8.23±0.82[a]	11.71±0.89[b]	12.23±0.93[b]
Apparent digestibility (%)		15.26±0.57[a]	26.73±0.43[b]	27.48±0.71[b]

[1]Data values are means of triplicate groups and values in the same row with different superscripts are significantly different (P<0.05). [2]UF, unfermented fecal solid diet; FF, fermented fecal solid diet; CF, commercial feed.

방산(Branched chain fatty acid, BCFA) 함량은 2.08%에서 9.57%로 높아지는 것으로 나타났다.

발효고형오물을 이용한 기초사육실험

전 실험기간을 통한 해삼의 성장 결과는 Table 5에 나타낸 바와 같다. 미발효고형오물사료구(UF)구는 초기 11.50 g에서 25.32 g으로 성장하였으며, 발효고형오물사료(FF)구는 초기 11.50 g에서 56.09 g으로 성장하였다. 이 때 상품사료(CF)구는 초기 11.50 g에서 55.42 g으로 성장하였다. 미발효고형오물 사료 실험구는 발효 고형오물사료 실험구와 상품사료 실험구에 비하여 유의한 차이로 낮으며(P<0.05) 발효고형오물사료와 상품사료 실험구에서는 유의적 차이가 없었다(P<0.05).

증체량(WG)은 Table 5에 나타낸 바와 같이 미발효고형오물사료 실험구, 발효고형오물사료 실험구 및 상품사료 실험구는 각각 276.41 g, 891.84 g 및 878.32 g였다. 발효고형오물사료 실험구는 상품사료 실험구에 비하여 유의적 차이가 없었으나 미발효고형오물사료 실험구보다 유의한 차로 높게 나타났다(P<0.05). 일일성장률(SGR)에 있어 미발효고형오물사료 실험구, 발효고형오물사료 실험구 및 상품사료 실험구는 각각 0.88%/d, 1.76%/d 및 1.75%/d였다. 발효고형오물사료 실험구는 상품사료 실험구에 비하여 유의적 차이가 없었으나(P<0.05) 미발효고형오물 실험구보다 유의한 차로 높게 나타났다(P<0.05). 전 실험기간에 모든 실험구에서는 폐사한 개체가 없어 생존율 100%였다. 사료섭식률(IR)과 겉보기 소화율(AD)는 Table 5에 나타낸 바와 같다. 사료섭식률에 있어 미발효고형오물 실험구, 발효고형오물 실험구 및 상품사료 실험구는 각각 8.23 g/g/d, 11.71 g/g/d 및 12.23 g/g/d였다. 미발효고형오물사료 실험구는 발효고형오물 실험구와 상품사료 실험구에 비하여 유의한 차이로 낮게 나타냈으며(P<0.05) 발효고형오물 실험구와 상품사료 실험구에서는 유의적 차를 나타내지 않았다(P<0.05). 겉보기 소화율에 있어 미발효고형오물사료 실험구, 발효고형오물사료 실험구 및 상품사료 실험구는 각각 15.26%, 26.73% 및 27.48%였다. 미발효고형오물사료 실험구는 발효고형오물사료 실험구와 상품사료 실험구에 비하여 유의한 차이로 낮게 나타냈으며(P<0.05) 발효고형오물사료 실험구와 상품사료 실험구에서는 유의적 차를 나타내지 않았다(P<0.05).

고 찰

전 세계적으로 육상순환양식시스템(RAS)에서 배출되는 고형오물에 의한 환경오염 문제는 갈수록 그 정도가 심각해지고 있기 때문에 근본적인 해결책이 요구되고 있다. 2012년 국내 어류양식 생산량은 76,308톤 이고 이를 생산하기 위하여 소비된 생사료는 443,382 톤이고, 배합사료는 67,127톤이다(KOSIS, 2013). 공급한 사료의 약 36%가 고형오물로 배출되었을 때 연간 약 24,165톤의 고형오물이 발생될 것으로 추정된다. 고형오물은 어류가 소화하지 못한 잔여 영양소와 섭식하지 못한 잔여 사료로 구성되어 유기물 함량이 50-92% 차지한다(Piedrahita, 2003; Gebauer, 2004; Gebauer and Eikebrokk, 2006; Mirzoyan et al., 2008). 본 연구에서는 육상어류양식장에서 배출된 고형오물의 이러한 특성을 이용하여 농가부산물인 미강과 대두박을 보조원료로 첨가하여 미생물 발효를 통하여 해삼사료로 활용하는 시도를 하였다. 성장 결과를 보았을 때 Talbe 5에 나타낸 바와 같이 발효고형오물사료 실험구는 미발효고형오물 실험구보다 높은 성장 결과를 나타났고 상품사료와 동일한 해삼 성장을 나타내었다. 미발효고형오물 사료구에서 성장이 저조한 것은 해삼이 육상어류양식장에서 배출된 고형오물, 미강 및 대두박에 대한 소화흡수능력이 약한 점이 저조한 성장 결과에 반영

된 것으로 추정된다(Table 5). Anugwa et al. (1989) 및 Wilfart et al. (2007)의 연구에 의하면 불소화 또는 난소화성 원료를 발효시키면 고분자 물질을 저분자 물질로 변화시켜 소화성이 개선된다고 보고되어 있다. 본 연구에서 발효과정을 거친 고형오물사료는 겉보기 소화율이 15.26%에서 26.73%로 높아지는 점이 이와 유사하였다. 선행연구에서 해삼사료의 아미노산 조성에서 glutamic acid, methionine, lysine 및 arginine이 해삼의 성장에 중요한 역할을 한다고 보고된 바가 있다(Li et al., 2012). 본 연구에서 발효과정을 통한 고형오물사료의 아미노산조성에 있어 glutamic acid, methionine, lysine 및 arginine이 각각 2.0 배, 3.0 배, 1.8 배 및 1.2 배로 증가되었다. 이러한 특정 아미노산의 증가로 인해 해삼의 성장이 개선된 것으로 생각된다.

해삼은 20:1n-9, 22:1n-9, 20:3n-3, 20:4n-6 및 20:5n-3를 어느 정도로 합성할 가능성이 제시되고 있으나, 기타 해양동물처럼 사료에 20:5n-3 (EPA)와 22:6n-3 (DHA)이 결핍될 때 성장에 영향을 미친다(Hasegawa et al., 2014; Yu et al., 2015; Wen et al., 2016). 본 연구에서 발효과정을 거친 고형오물사료는 EPA와 DHA 함량이 각각 5.97 배와 3.48 배로 증가하였다. 이러한 고도불포화지방산의 증가로 인하여 발효 전과 후의 해삼사육효과의 차이를 나타나게 된 원인이 될 수 있을 것으로 생각된다. 발효 전과 후의 지방산 변화에 있어 또한 BCFA가 4.6 배 높아진 것을 발견하였다. 대다수 BCFA는 미생물에 의하여 합성되는 특이한 지방산이다(Leo and Patrick, 1966). 해삼은 BCFA을 합성할 수 없으나 먹이로부터 섭취하여 체내에 다량으로 축적하고 있다(Kaneniwa et al., 1986; Hasegawa et al., 2014). BCFA의 해삼에 대한 생리 기능이 아직 밝혀지지 않았으나, Hasegawa et al. (2014)의 연구에 의하면 사료의 BCFA 함량이 증가함에 따라 해삼의 빠른 성장률을 나타낸다고 보고된 바가 있다. 이러한 복합적인 요인의 작용에 의하여 고형오물사료가 발효과정을 통하여 해삼 사육 효과가 개선된 것으로 생각된다.

지충이(*Sargassum thunbergii*)는 해삼 배합사료에 널리 사용되고 있는 주요한 원료로서(Seo et al., 2011; xia et al., 2012; Yuan et al., 2006) 최근 해삼양식규모가 커짐에 따라 지충이의 가격이 급격하게 비싸지고 있으며 이로 인한 해조자원의 고갈이 우려되고 있다(Gao et al., 2011; Seo et al., 2011; Shi et al., 2013). 이런 문제를 해결하기 위하여 육상식물로 해삼사료 원료인 지충이를 20-40%를 대체하고 있다(Seo et al., 2011; Yu et al., 2015). 본 연구에서 해조분말을 사용하지 않고 육상어류양식장에서 배출된 고형오물과 가격이 저렴한 농가부산물 미강과 대두박을 첨가하여 발효시킨 후 해삼에게 급여하였을 때 상품사료와 동일수준인 성장효과를 얻었다. 이는 육상어류양식장에서 배출된 고형오물을 처리하는 동시에 해삼사육에 있어 사료비용 절감과 해조류의 대량 채집으로 인한 생태자원파괴를 개선하는데 기여될 수 있을 것으로 판단된다.

이상의 결과를 종합해 볼 때 지금까지 육상어류양식장에서 배출되는 고형오물을 처리하는데 마땅한 대한이 없는 상황에서 육상고형오물의 발효과정을 거쳐서 해삼사료 자원화를 시도했다는 점에서 본 연구의 의의는 크다고 생각한다.

사 사

이 논문은 2015년도 해양수산부 재원으로 한국해양과학기술진흥원의 지원을 받아 수행된 연구임 (수산실용화기술개발사업의 육상순환양식시스템에서 배출된 고형오물의 해삼사료 자원화).

References

Anugwa FOI, Varel VH, Dickson JS, Pond WG and Krook LP, 1989. Effects of dietary fiber and protein concentration on growth, feed efficiency, visceral organ weights and large intestine microbial populations of swine. J Nutr 119, 879-886.

AOAC (Association of Official Analytical Chemists). 1995. Official Methods of Analysis, vol. 4(16th ed.) Association of Official Analytical Chemists, Arlington, VA, U.S.A. (1984) 1-45.

Bligh EG and Dyer WJ. 1959. A rapid method of total lipid extraction and purification. Can J Biocami Physiolo 37, 911-917.

Duncan DB. 1955. Multiple range and multiple F tests. Biometrics 11, 1-42.

Furukawa A. 1966. On the acid digestion method for the determination of chromic oxide as an index substance in the study of digestibility of fish feed. Nippon Suisan Gakkaishi 32, 502-506.

Gao QF, Wang Y, Dong S, Sun Z and Wang F. 2011. Absorption of different food sources by sea cucumber *Apostichopus japonicus* (Selenka)(Echinodermata: Holothuroidea): evidence from carbon stable isotope. Aquaculture 319, 272-276.

Gebauer R. 2004. Mesophilic anaerobic treatment of sludge from saline fish farm effluents with biogas production. Bioresour Technol 93, 155-167.

Gebauer R. and Eikebrokk B. 2006. Mesophilic anaerobic treatment of sludge from salmon smolt hatching. Bioresour Technol 97, 2389-2401.

Ghaly A, Kamal M and Mahmoud N. 2005. Phytoremediation of aquaculture wastewater for water recycling and production of fish feed. Environ Int 31, 1-13.

Hannah L, Pearce CM and Cross SF. 2013. Growth and survival of California sea cucumbers (*Parastichopus californicus*) cultivated with sablefish (*Anoplopoma fimbria*) at an integrated multi-trophic aquaculture site. Aquaculture 406-407, 34-42. http://dx.doi.org/10.1016/j.aquaculture.2013.04.022.

Kaneniwa M, Itabashi Y, Endo S and Takagi T. 1986. Fatty acids in Holothuroidea: occurrence of cis-14-tricosenoic acid. Comp Biochem Phys B 84, 451-455.

Kang JC, Jee JH, Song SY, Moon SW, Kang JW, Lee YD and

Kim SJ. 2004. Effects of oral administration with fermented product from sewage in land-based seawater fish farm on haematological factors of olive flounder, *Paralichthys olivaceus*. J Fish Pathol 17, 57-66.

Kang KH, Kwon JY and Kim YM. 2003. A beneficial coculture: charm abalone *Haliotis discus* hannai and sea cucumber *Stichopus japonicus*. Aquaculture 216, 87-93. http://dx.doi.org/10.1016/S0044-8486(02)00203-X.

Kang SJ, Kang SW, Kang JH, Jung UC, Choi BD and Han JC. 2012. Sea cucumber aquaculture technology. Aqua info, Seoul, Korea, 32-36.

KOSIS (Korean Statistical Information Service). 2013. Survey on the Status of Fish Culture 2013. Statistics Korea, Daejeon, Korea.

Kwak W and Park J. 2003. Effects of molasses addition and (or) pelleting on nutritional characteristics of broiler litter processed by ensiling or deepstacking and palatability improvement by' Hanwoo'during the adjustment period. J Anim Sci Technol 45, 87-100.

Leo RF and Parker PL. 1966. Branched-chain Fatty acids in sediments. Science 152, 649-650.

Li SH, Ling MQ, SUN HL and YAN JP. 2012. Optimum dietary protein and amino acid levels for the growth of juvenile sea cucumber *Apostichopus japonicus*. Pr Fish Sci 33, 59-63.

Luo G, Li P, Tan H, Du J and Liang W. 2013. The start-up and saline adaptation of mesophilic anaerobic sequencing batch reactor treating sludge from recirculating aquaculture systems. Aquacult Eng 54, 9-15. http://dx.doi.org/10.1016/j.aquaeng.2012.10.004.

Mirzoyan N and Gross A. 2013. Use of UASB reactors for brackish aquaculture sludge digestion under different conditions. Water Res 47, 2843-2850. http://dx.doi.org/10.1016/j.watres.2013.02.050.

Naylor RL, Goldburg RJ, Primavera JH, Kautsky N, Beveridge MC, Clay J, Folke C, Lubchenco J, Mooney H and Troell M. 2000. Effect of aquaculture on world fish supplies. Nature 405, 1017-1024.

Nelson EJ, MacDonald BA and Robinson SMC. 2012. The absorption efficiency of the suspension-feeding sea cucumber, *Cucumaria frondosa* , and its potential as an extractive integrated multi-trophic aquaculture (IMTA) species. Aquaculture 370-371, 19-25. http://dx.doi.org/10.1016/j.aquaculture.2012.09.029.

Nordvarg L and Johansson T. 2002. The effects of fish farm effluents on the water quality in the Åland archipelago Baltic Sea. Aquacult Eng 25, 253-279.

Piedrahita RH. 2003. Reducing the potential environmental impact of tank aquaculture effluents through intensification and recirculation. Aquaculture 226, 35-44.

Seo J and Lee S. 2011. Optimum dietary protein and lipid levels for growth of juvenile sea cucumber *Apostichopus japonicus*. Aquacult Nutr 17, 56-61.

Shi C, Dong S, Wang F, Gao Q, Tian X. 2013. Effects of four fresh microalgae in diet on growth and energy budget of juvenile sea cucumber *Apostichopus japonicus* (Selenka). Aquaculture 416, 296-301. http://dx.doi.org/10.1016/j.aquaculture.2013.09.050.

Song Y, Chu G, Ha J, Lee H, Kim S and Kim H. 2011. Effects of fermented diet using probiotics from pine needle microbes on growth performance, blood characteristics, carcass traits and economy of pigs. J Agri Life Sci 45, 93-101.

Wen B, Gao Q, Dong S, Hou Y, Yu H and Li W. 2016. Effects of dietary inclusion of benthic matter on feed utilization, digestive and immune enzyme activities of sea cucumber *Apostichopus japonicus* (Selenka). Aquaculture 458, 1-7. http://dx.doi.org/10.1016/j.aquaculture.2016.01.028.

Wen B, Gao Q, Dong S, Hou Y, Yu H and Li W. 2016. Effects of different feed ingredients on growth, fatty acid profiles, lipid peroxidation and aminotransferases activities of sea cucumber *Apostichopus japonicus* (Selenka). Aquaculture 454, 176-183.

Wilfart A, Montagne LP, Simmins HV, Milgen J and Noblet J. 2007. Sites of nutrient digestion in growing pigs: Effect of dietary fiber. J Anim Sci 85, 976-983.

Xia S, Yang H, Li Y, Liu S, Zhou Y and Zhang L. 2012. Effects of different seaweed diets on growth, digestibility, and ammonia-nitrogen production of the sea cucumber *Apostichopus japonicus* (Selenka). Aquaculture 338, 304-308. http://dx.doi.org/10.1016/j.aquaculture.2012.01.010.

Yokoyama H. 2013. Growth and food source of the sea cucumber *Apostichopus japonicus* cultured below fish cages — Potential for integrated multi-trophic aquaculture. Aquaculture 372, 372–375. Aquaculture 372, 28-38. http://dx.doi.org/10.1016/j.aquaculture.2012.10.022.

Yu H, Gao Q, Dong S, Wen B, Hou Y and Ning L. 2015. Utilization of corn meal and extruded soybean meal by sea cucumber *Apostichopus japonicus* (Selenka): Insights from carbon stable isotope analysis. Aquaculture 435, 106-110.

Yu Z, Zhou Y, Yang H, Ma Y and Hu C. 2014. Survival, growth, food availability and assimilation efficiency of the sea cucumber *Apostichopus japonicus* bottom-cultured under a fish farm in southern China. Aquaculture 426, 426-427, http://dx.doi.org/10.1016/j.aquaculture.2014.02.013.

Yuan X, Yang H, Zhou Y, Mao Y, Zhang T and Liu Y. 2006. The influence of diets containing dried bivalve feces and/or powdered algae on growth and energy distribution in sea cucumber *Apostichopus japonicus* (Selenka) (Echinodermata: Holothuroidea). Aquaculture 256, 457-467. http://dx.doi.org/10.1016/j.aquaculture.2006.01.029.

Zamora LN and Jeffs AG. 2011. Feeding, selection, digestion and absorption of the organic matter from mussel waste by juveniles of the deposit-feeding sea cucumber, *Australostichopus mollis*. Aquaculture 317, 223-228. http://dx.doi.org/10.1016/j.aquaculture.2011.04.011.