

저수온기 참돔(*Pagrus major*) EP사료 내 동·식물성단백질 혼합물의 어분 대체

임종호 · 김민기 · 임현운 · 이봉주¹ · 이승형¹ · 허상우¹ · 김강웅¹ · 이경준^{2*}

제주대학교 해양생명과학과, ¹국립수산과학원 사료연구센터, ²제주대학교 해양과학연구소

Fish Meal Replacement with a Mixture of Plant and Animal Protein Sources in Extruded Pellet (EP) Diet for Red Seabream *Pagrus major* at Low Water Temperature

Jongho Lim, Min-Gi Kim, Hyunwoon Lim, Bong-Joo Lee¹, Seunghyung Lee¹, Sang-Woo Hur¹, Kang-Woong Kim¹ and Kyeong-Jun Lee^{2*}

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

¹Aquafeed Research Center, National Institute of Fisheries Science, Pohang 37517, Korea

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

This study aimed to evaluate how fish meal (FM) replacement in diets with a mixture of animal and plant protein sources affect growth performance, feed utilization, hematological parameters and innate immunity of red seabream *Pagrus major*. A control FM diet was formulated to contain 65% FM (Con). Two other diets were prepared replacing FM in the control diet with a mixture of protein sources (wheat gluten, soy-protein concentrate, tankage meal, and poultry by-product meal) by 30 and 40% (FM30 and FM40, respectively). Total 300 red seabream (body weight, 77.6±0.3g) were distributed to 12 tanks (300 L) in 4 replicates per diet. The fish were fed the diets to apparent satiation for 19 weeks. After the feeding trial, no significant differences could be observed in growth performance, feed utilization, hematological parameters, innate immunity, and survivals among all the dietary treatments. This long-term feeding trial at low water temperature (13.8-17.5°C) indicates that a proper mixture ratio of wheat gluten, soy protein concentrate, tankage meal, and poultry by-product meal can replace FM up to 40% in red seabream diets.

Keywords: Red seabream, Fish meal, Animal and plant protein, Replacement, Low water temperature

서 론

세계 어류양식 생산량은 지난 50년간 급속하게 증가하였고, 연간 소비되는 어류의 절반가량이 어류 양식을 통해 공급되고 있다(Galkanda-Arachchige et al., 2020; FAO, 2021). 양식 산업이 발전함에 따라 양식 경비의 50% 이상을 차지하는 배합사료의 주 원료인 어분(fish meal, FM)의 수요가 꾸준히 증가하고 있지만, 어획량의 감소와 생산국의 어분 소비 변화에 의해 어분의 공급이 불안정한 상황이다(Abdul-Halim et al., 2014; Hua et al., 2019). 어분은 단백질과 아미노산의 균형이 좋으며 지질의 함량이 높아 참돔 배합사료의 주 단백질원으로 사용되어 왔다.

참돔은 우리나라에서 2019년 5,502톤 생산되었으며, 전체 어류양식 생산량의 약 6%를 차지한다(KOSIS, 2021). 지속가능하고 안정적인 참돔 양식을 위해서는 사료 내 어분대체의 연구가 시급한 실정이다. 식물성 단백질원료는 어분에 비해 저렴하고 안정적으로 수급이 가능하여 어분의 대체 단백질원으로 주로 사용되고 있다(Gisbert et al., 2016; Lim et al., 2020). 대두박(soybean meal)은 단백질의 함량(약 45%)이 높고, 수급이 용이하여 어분대체를 위한 대표적인 식물성 원료로 이용되고 있다(Kim et al., 2020). 대두박은 제한아미노산(Met, Thr, Lys)으로 인해 육식성 해산어류 사료에서는 어분의 대체율이 낮다고 보고되었다(Cheng et al., 2010; Dawood et al., 2015). 또한, 대

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

E-mail address: kjlee@jeju.ac.kr



This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

<https://doi.org/10.5657/KFAS.2021.0350>

Korean J Fish Aquat Sci 54(3), 350-357, June 2021

Received 1 April 2021; Revised 4 May 2021; Accepted 24 May 2021

저자 직위: 임종호(대학원생), 김민기(인턴연구원), 임현운(대학원생), 이봉주(연구사), 이승형(연구사), 허상우(연구사), 김강웅(연구관), 이경준(교수)

두박에 존재하는 soy-saponin, tannin과 같은 항영양인자(anti-nutritional factors)는 어류의 소화를 방해하여 어분을 대체하는데 있어서 한계가 있는 것으로 보고되었다(Krogdahl et al., 2010). 이러한 문제를 해결하기 위해 대두박을 2차로 가공한 대두농축단백(soy protein concentrate, SPC)이나 대두분리단백(soy protein isolate, SPI)을 이용한 연구가 수행되었다(Chou et al., 2004; Glencross et al., 2005). SPC는 대두박에 비해 대부분의 어류에서 그 이용성이 높은 것으로 보고되었다(Ao, 2011). SPC는 60-65%의 조단백질을 함유하고 있는 고단백질 가공 식물성 원료로서 무지개송어(*Oncorhynchus mykiss*), Atlantic halibut *Hippoglossus hippoglossus*, 대서양연어(*Salmo salar*) 사료 내 어분대체 원료로 주목받았다(Berge et al., 1999; Storebakken et al., 2000; Burr et al., 2012). 밀글루텐(wheat gluten meal)은 조단백질 함량이 높고(약 80%), 섬유소와 항영양인자의 함량이 대부분의 식물성 단백질원료에 비해 낮아서 많은 어종에서 어분 대체원료로 연구되었다(Apper-Bossard et al., 2013; Arnason et al., 2018; Daniel, 2018; Lim et al., 2020).

동물성 단백질원료는 일반적으로 단백질의 함량이 높고(50-80%) 식물성 단백질원료에 비해 아미노산 조성이 우수하다(NRC, 2011). 가금부산물분(poultry by-product meal)은 도축된 가금류의 내장을 제외한 머리, 목, 발 등으로 구성되며, 조단백질의 함량이 높고, 필수지방산의 조성이 균등하여 어류 사료 내 어분대체 단백질원료로 적합한 것으로 보고되었다(Cruz-Suarez et al., 2007; Galkanda-Arachchige et al., 2020). 수지박(tankage meal)은 가축의 부산물로 생산되는데, 영양성분은 대부분의 동물성 단백질원료와 크게 다르지 않다(Choi et al., 2020). 동물성 단백질원료의 구성, 온도, 보관 방법은 동물성 단백질원료의 품질에 직접적인 영향을 준다(Cruz-Suarez et al., 2007). 동물성 단백질원료는 현대식 가공시설의 발전과 대량 생산 설비의 확충으로 품질과 수급의 안정성이 점차 개선되고 있어, 새로운 어분대체원료로서 주목받고 있다(Najafabadi et al., 2007).

한 가지 원료를 사용하여 어분을 대체할 경우, 제한아미노산, 항영양인자와 같은 여러 제한요소로 인해 어분 대체율이 낮은 것으로 보고되었다(Cheng et al., 2010; Krogdahl et al., 2010). 반면, 다양한 단백질원료를 혼합하여 어분을 대체할 경우 각 원료의 부족한 영양소를 서로 보충할 수 있어서 단일 원료를 이용한 어분대체보다도 대체율이 증가하는 것으로 보고되었다(Kim et al., 2019a; Kim et al., 2020; Lim et al., 2020). 특히, 동·식물성 단백질원료의 혼합은 다량의 어분을 대체할 수 있는 최적의 방법으로 알려져 있다(Kissinger et al., 2016; Scerra et al., 2016). 넙치를 대상으로 한 최근의 연구(Kim et al., 2019a, 2020)에서는 동·식물성 단백질원료 혼합물(가금부산물분, 수지박, SPC, 밀글루텐)로 사료 내 어분을 40-50%까지 대체 가능하다고 보고되었다.

수온은 어류의 직접적인 스트레스를 주는 요인으로서, 성장

과 사료의 섭취에 영향을 준다. 특히, 참돔의 경우에는 저수온기(10°C 내외)에서 활동량과 사료의 섭취량이 급격히 감소하는 것으로 보고되었다(Barton and Lwama, 1991; Song et al., 2013). Kim et al. (2019a)은 넙치 사료에서 동·식물성 단백질원료의 혼합물로 어분을 대체했을 때, 적정 수온(약 24°C)에서는 50%까지, 저수온(18.5°C 이하)에서는 40%까지 대체 가능하다고 보고하였다. 참돔을 대상으로 동·식물성 원료를 이용한 어분 대체 연구는 아직까지 미흡한 실정이다.

이번 연구에서는 어분의 대체원료로서 동·식물성 단백질 혼합물(가금부산물분, 수지박, 밀글루텐, SPC)의 이용가능성을 평가하고자 참돔을 대상으로 저수온기에 장기간의 사육실험을 하였다. 특히, 산업현장에서의 적용가능성을 높이고자 extruded pellet (EP) 사료로 실험사료를 제작하여 연구를 수행하였다.

재료 및 방법

실험사료 조성표는 Table 1에 나타내었다. 대조사료(control, Con) 내 어분(sardine, anchovy, 1:1)의 함량은 65%가 되도록 설정하였고, 2종의 저어분 사료(FM30, FM40)는 밀글루텐, 대두농축단백, 수지박 및 가금부산물분으로 대조사료 내 어분을 각각 30, 40% 대체하도록 조성하였다. 실험사료는 국립수산물학원 사료연구센터에서 압출성형기(ATX-2; Fesco, Pohang, Korea)로 EP 형태의 부상사료로 제작하여 사용하였다. 사육실험은 제주대학교 동물생명윤리위원회의 윤리규정(2020-0035)을 준수하며 총 19주간의 장기간 진행되었다. 실험사료의 아미노산과 지방산 조성은 Table 2와 Table 3에 각각 나타내었다. 사육실험에 사용된 참돔은 전남 고흥군 두원면에 위치한 정석수산에서 구입하였다. 실험어는 운송 후 실험환경 적응을 위해 2주간 순치하였다. 예비사육 후, 참돔(77.6 ± 0.3 g)은 총 12개의 원형 polypropylene 수조(300 L)에 수조 당 25마리씩, 실험구 당 4반복으로 무작위 배치되었다. 실험사료는 1일 2회(09:00, 17:30) 반복 공급하였다. 사육수는 저수온기 자연해수(13.8-17.5°C)를 모래여과하여 사용하였으며 각 수조별 유수량이 3-4 L/min이 되도록 조절하였다. 용존산소의 유지를 위해 에어스톤을 설치하여 충분한 용존산소를 공급하였다. 광주기는 형광등을 이용하여 12 light:12 dark로 조절되었다. 사육실험 중 실험어의 무게는 3주마다 측정하였으며 스트레스를 최소화하기 위해 측정 전 24시간 동안 절식하였다. 사육실험 종료 후에는 성장률(weight gain, WG), 일간성장률(specific growth rate, SGR), 사료섭취량(feed intake, FI), 사료계수(feed conversion ratio, FCR), 단백질전환효율(protein efficiency ratio, PER), 생존율(survival)을 계산하였다.

최종무게 측정 후, 각 수조 당 6마리의 어류를 무작위로 선별하여 2-phenoxyethanol (200 ppm)로 마취시켰다. 혈액은 미부동맥에서 채혈하였으며 6마리중 3마리의 혈액은 헤파린을 30 µL 처리하여 hemoglobin 측정에 사용하였으며, 채혈된 전혈은 원심분리(5,000 rpm, 10 min, Micre17TR; Hanil Science,

Gimpo, Korea) 후 상층액을 분리하여 aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT) 분석 전까지 초저온냉동고에 보관(-70°C)하였다. 전어체(whole-body)는 냉동(-20°C) 후, 믹서기로 분쇄하여 일반성분분석을 진행하였다. 실험사료와 전어체 일반성분 분석은 AOAC (2005) 방법에 따라 분석되었다. Hemoglobin, AST, ALT는 시판 Kit를 이용하여, 혈액생화학분석기(ch 100^{plus}; RADIM company, Fi-

Table 1. Dietary formulation and proximate composition of the three experimental diets for red seabream *Pagrus major* (% dry matter). The fish meal in diets was replaced with animal-plant protein mixture by 30 and 40% (Con, FM30 and FM40)

Ingredients (%)	Experimental diets		
	Con	FM30	FM40
Fish meal, sardine ¹	32.50	22.75	19.50
Fish meal, anchovy ²	32.50	22.75	19.50
Soybean meal ³	12.0	12.0	12.0
Wheat flour	14.9	13.0	12.6
Wheat gluten ⁴	1.00	4.50	5.50
Soy protein concentration ⁵	0.00	5.25	7.00
Tankage meal ⁶	0.00	6.25	9.00
Poultry by-product meal ⁷	0.00	4.00	4.50
Fish oil ⁸	3.40	4.30	5.10
Betaine	0.00	1.00	1.00
Taurine	0.00	0.50	0.60
Lecithin	0.50	0.50	0.50
Mono-calcium phosphate	0.50	0.50	0.50
Mineral Mix	1.00	1.00	1.00
Vitamin Mix	0.80	0.80	0.80
Vitamin C ⁹	0.30	0.30	0.30
Vitamin E ⁹	0.30	0.30	0.30
Choline	0.30	0.30	0.30
Proximate composition (%)			
Moisture	6.31	6.89	6.96
Crude protein	58.4	60.3	60.2
Crude lipid	10.4	10.9	11.9
Crude ash	14.3	11.6	10.9

¹Fish meal, sardine (crude protein 68.0%, crude lipid 8.6%, ash 17.1%). ²fish meal, anchovy (crude protein 69.4%, crude lipid 8.3%, ash 17.8%). ³Soybean meal (crude protein 52.7%, crude lipid 1.8%, ash 6.8%). ⁴Wheat gluten (crude protein 83.2%, crude lipid 3.69%, ash 1.3%). ⁵Soy protein concentrate (crude protein 68.9%, crude lipid 0.5%, ash 7.1%). ⁶Tankage meal (crude protein 86.3%, crude lipid 9.0%, ash 7.5%). ⁷Poultry by-product meal (crude protein 71.6%, crude lipid 13.5%, ash 10.5%) were by The Feed Co., Ltd., Seoul, Korea. ⁸Fish oil was by E-wha oil Co., Ltd., Busan, Korea. ⁹AlphaAqua Co., Busan, Korea. Con, control.

renze, Italy)를 통해 분석되었다. Myeloperoxidase (MPO) 분석은 Kumari and Sahoo (2005)의 방법을, lysozyme 활성은 Mohammed et al. (2018)의 방법을, anti-protease 활성은 Ellis (1990)의 방법을 기초로 분석하였다. 혈장(plasma) 내 total immunoglobulin (Ig) 수치는 Siwicki and Anderson (1993)의 방법을 바탕으로 분석하였다. 지방산은 Metcalfe and Schmitz (1961)의 방법에 따라 추출되었다. 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, Santa Clara, CA, USA)를 통해 분석되었다. 아미노산 분석은 HPLC 4 (Ultimate 3000; Thermo dionex, Waltham, MA, USA)를 통해 분석되었다. 실험사료의 배치는 완전확률계획법 (completely randomized design)을 실시하였다. 모든 데이터는 SPSS (version 24.0; International Business Machines Co., New York, NY, USA)를 이용하여 one-way ANOVA로 통계 분석하였으며 데이터 값의 유의차는 Tukey's HSD로 평균 간의 유의성(P<0.05)으로 분석되었다. 데이터는 평균값±표준편차(mean±SD)로 나타내었으며, 백분율 데이터는 arcsine 변형값으로 계산한 후 분석되었다.

Table 2. Essential and non-essential amino acid composition of the experimental diets for red seabream *Pagrus major* (% of protein)

AAs	Con	FM30	FM40
EAA ¹			
Arginine	8.77	8.69	8.73
Histidine	2.15	1.89	1.82
Isoleucine	3.99	3.69	3.62
Leucine	5.46	5.25	5.16
Lysine	10.16	9.06	8.70
Methionine	1.99	1.69	1.65
Phenylalanine	3.79	3.75	3.68
Threonine	3.06	2.82	2.74
Valine	7.58	7.05	6.93
NEAA ²			
Alanine	5.28	5.07	5.02
Aspartic acid	6.92	6.50	6.40
Glycine	8.47	9.77	10.11
Glutamic acid	24.16	26.13	26.57
Proline	2.12	2.09	2.26
Serine	3.66	3.72	3.71
Taurine	0.56	1.04	1.07
Tyrosine	1.88	1.79	1.85
Total	100	100	100

¹Essential amino acids. ²Non-essential amino acids. Con, control.

결과 및 고찰

19주간의 장기간 사육실험 결과, 최종평균무게, 사료섭취량, 사료계수, 단백질전환효율, 생존율에서 대조구와 저어분구 사이에 유의적인 차이는 없었다(Table 4). Biswas et al. (2017)은 SPC 및 대두 펩타이드로 참돔 사료 내 어분의 57-77%까지 대체 가능하다고 보고하였다. Lim et al. (2020)은 육성기 넙치를 대상으로 대두박, 밀글루텐, SPC 혼합물과 아미노산 3종(Met, Thr, Lys)을 혼합 사용하여 어분을 최대 40%까지 대체할 수 있었다고 보고하였다. Kim et al. (2019b)은 치어기 넙치를 대상으로 대두박, 밀글루텐, SPC를 혼합하여 사료 내 어분을 30%까지 대체할 수 있었다. 밀글루텐, 콘글루텐밀(corn gluten meal), 대두박을 적절히 혼합하여 사용하면 무지개송어 사료 내 어분을 40%까지 대체할 수 있다고 보고되었다(Jalili et al., 2013). 밀글루텐은 Atlantic halibut 사료 내 어분을 20%까지 대체할 수 있다고 알려져 있다(Helland and Grisdale-Helland, 2006). 완두콩박, SPC, 밀글루텐, 콘글루텐밀, 감자농축단백을 혼합하여 사용하면 Senegal sole *Solea senegalensis* 사료 내 어분을 75%까지 대체할 수 있다고 보고되었다(Valente et al., 2016). 또한, SPC, 밀글루텐, 대두박을 혼합 사용하면 송어(*Mugil cephalus*) 사료 내 어분의 75%까지 대체가능하다고 보고되었다(Gisbert et al., 2016).

대부분의 육식성 어류는 섬유소의 소화능력이 부족하여 식물성 원료를 섭취할 경우 소화율이 낮아지며(Apper-Bossard et al., 2013), 어분을 다량 대체할 경우에는 일부 아미노산이 결핍되어 아미노산을 별도로 첨가해 줄 필요가 있다(Ahmed et al., 2019). 수지박, 육골분, 가금부산물분과 같은 가공된 동물 부산물은 가격이 저렴하여 어분대체 원료로서의 잠재력이 크다고 보고되었다(Hertrampf and Piedad-Pascual, 2000; Rossi and Davis, 2014; Galkanda-Arachchige et al., 2020). Ye et al. (2011)은 동물성과 식물성 단백질원료의 적절한 혼합사용이 어

분대체에 더 효율적이라고 보고하였다. Kikuchi (1999)은 대두박, 건조 홍합살, 혈분, 콘글루텐밀을 혼합사용하여 넙치 사료 내 어분을 46%까지 대체할 수 있었다. Kim et al. (2019a)은 육성기 넙치(200-1,000 g) 사료에 밀글루텐, SPC, 수지박, 가금부산물분을 혼합(20:27:37:16, w:w:w:w) 사용하여 어분의 50%까지 대체 가능하였지만, 저수온(18.5°C 이하)에서는 소화율을 고려하여 40%까지 어분대체가 가능할 것으로 제안하였다. 또한, Kim et al. (2020)은 밀글루텐, SPC, 수지박, 가금부산물을 혼합하여 치어기 넙치(5-70 g) 사료 내 어분의 50%까지 대체하는데 성공하였다. 유럽농어(*Dicentrarchus labrax*)를 대상으로 한 연구에서 Scerra et al. (2016)은 녹두박, 우모분, 혈분을 혼합하여 사료 내 어분의 50%까지 대체하였으며, Torrecillas et al. (2017)은 밀글루텐, SPC, 콘글루텐밀, 채종박, 혈분을 혼합 사용하여 어분을 82%까지 대체하였다. 따라서 이번 연구에서는 네가지 동·식물성 단백질원료를 적절히 혼합 사용하면서 아미노산을 별도로 추가하지 않아도 사료 내 아미노산의 함량에 큰 변화가 없었다(Table 2). 또한, 혼합물로 어분을 대체하면

Table 3. Fatty acid composition of the experimental diets for red seabream *Pagrus major* (% of lipid)

Fatty acids	Con	FM30	FM40
14:0	4.37 ^a	2.93 ^b	2.48 ^b
16:0	26.15 ^a	23.69 ^b	22.50 ^c
18:0	9.15	9.70	8.78
18:1n9	17.15 ^c	22.32 ^b	24.59 ^a
18:2n6	19.62 ^c	23.88 ^b	26.07 ^a
18:3n3	3.91 ^c	4.32 ^b	4.70 ^a
20:5n3	6.86 ^a	4.49 ^b	3.88 ^c
22:6n3	7.90 ^a	4.84 ^b	3.80 ^c

Con, control. Values are mean of triplicate groups and presented as mean±SD. Values with different superscripts in the same row are significantly different (P<0.05).

Table 4. Growth performance, feed utilization and whole body proximate composition of red seabream *Pagrus major* fed experimental diets for 19 weeks (% of wet basis). The fish meal in diets was replaced with animal-plant protein mixture by 30 and 40% (Con, FM30 and FM40)

Dietary treatment	Con	FM30	FM40
IBW ¹	77.4±1.09	78.0±0.97	77.5±0.84
FBW ²	197±4.04	201±7.27	199±14.06
WG ³	154±6.82	157±6.99	156±16.65
FI ⁴	189±9.67	179±5.52	177±1.38
FCR ⁵	1.58±0.09	1.46±0.11	1.47±0.19
PER ⁶	1.11±0.07	1.18±0.09	1.18±0.14
SGR ⁷	0.71±0.02	0.72±0.02	0.71±0.05
Survival (%)	70.0±12.44	90.0±4.00	78.0±21.04
Proximate composition (%)			
Moisture	65.8±0.90	67.5±0.65	65.1±0.17
Crude protein	17.7±1.78	17.6±0.14	19.0±0.16
Crude lipid	9.97±5.46	12.0±3.06	9.73±3.36
Crude ash	6.73±0.91	4.46±3.44	5.12±0.13

¹Initial body weight (g). ²Final body weight (g). ³Weight gain (%)=[(final body weight-initial body weight)/initial body weight]×100. ⁴Feed intake (g/fish)=dry feed consumed (g)/fish. 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. Con, control. Values are mean of triplicate groups and presented as mean±SD. Values with different superscripts in the same column are significantly different (P<0.05). The lack of superscript letter indicates no significant differences among treatments.

서 조건부 필수아미노산으로 여겨지는 taurine을 보충 첨가하여(Table 1) 대조구보다 어분구사료에서의 함량을 더 높임으로써(Table 2), 장기간(19주)의 어분 대체에 따른 참돔의 성장과 사료효율의 감소를 막을 수 있었던 것으로 사료된다.

전어체 일반성분은 대조구와 저어분구 사이에 유의적인 차이가 없었다(Table 4). 참돔에서도 SPC 단독으로(Biswas et al., 2019) 혹은 SPC와 krill meal, squid meal의 혼합물(Kader et al., 2010)로 어분을 대체하였을 경우, 전어체 일반성분의 조성에서 유의적인 차이가 없었다고 보고되었다. 육성기 넙치에서도 대두박, SPC, 밀글루텐을 혼합 사용했을 때 전어체 일반성분 조성에는 유의적인 차이가 없었다고 보고되었다(Lim et al., 2020). 일반적으로 어분대체 연구에서는 모든 실험사료의 조단백질과 조지방의 함량을 동일하게 조성한다. 성장결과에서 유의적인 차이가 없는 한, 대부분 전어체 일반성분 조성에서도 유의적인 차이가 발견되지 않는다(Kader et al., 2010; Biswas et al., 2019; Lim et al., 2020). 이번 연구의 사료 내 지방산 조성(Table 3)에서는 어분을 대체할수록 EPA (eicosapentaenoic acid)와 DHA (docosahexaenoic acid) 함량이 유의적으로 감소하였지만, 참돔의 EPA 요구량(Takeuchi et al., 1990; Furuita et al., 1996)인 1.0-2.25%와 DHA 요구량인 0.5-0.95%를 훨씬 초과하였기에 성장, 사료효율, 비특이적 면역력에서 문제가 없었던 것으로 판단된다.

비특이적 면역력과 혈액학적 분석결과는 Table 5에 나타내었다. Lysozyme, MPO, hemoglobin, AST, ALT, anti-protease, Ig는 대조구와 어분구 사이에 유의적인 차이가 없었다. 혈액학

Table 5. Hematological parameters and non-specific immune responses of red seabream *Pagrus major* (initial body weight, 77.6±0.3g) fed the experimental diets for 19 weeks. The fish meal in diets was replaced with animal-plant protein mixture by 30 and 40% (Con, FM30 and FM40)

Dietary treatment	Con	FM30	FM40
Lysozyme ¹	6.22±0.43	6.33±0.54	6.43±0.12
Ig ²	66.4±7.64	63.3±14.2	68.5±11.4
MPO ³	3.55±1.36	3.47±1.09	3.32±1.45
Anti-protease ⁴	54.6±1.54	48.3±2.15	47.0±0.81
Hb ⁵	7.21±0.69	6.88±0.42	6.93±0.54
AST ⁶	23.5±9.14	22.3±3.73	23.3±11.9
ALT ⁷	3.55±1.36	3.47±1.09	3.53±1.72

¹Lysozyme (µg/mL). ²Total immunoglobulin (mg/mL). ³Myeloperoxidase (absorbance). ⁴Anti-protease (% inhibition). ⁵Hemoglobin (g/dL). ⁶aspartate aminotransferase (U/L). ⁷alanine aminotransferase (U/L). Con, control. Values are mean of quadruplicate groups and presented as mean±SD. Values with different superscripts in the same column are significantly different (P<0.05). The lack of superscript letter indicates no significant differences among treatments.

적 분석은 어류의 기초건강도를 판단하는 지표로 이용된다(Pedro et al., 2005). 혈액 내 혈장의 성분은 사료의 영양소, 사육 환경, 실험동물의 건강도 등에 따라 달라질 수 있다(Lee et al., 1993). 넙치에서 사료 내 산(acid) 가수분해 농축대두박(Kim et al., 2014)으로 어분을 대체하거나 대두박과 면실박의 혼합물로(Lim et al., 2011) 어분을 대체했을 경우, 어분대체율이 증가할수록 hemoglobin의 농도가 감소하는 것으로 나타났다. AST와 ALT는 주로 어류에서 아미노산의 대사에 관여하는 효소로써 조직에 물리적, 병리적 손상을 입을 경우에 혈액 내 농도가 증가하기 때문에 어류의 건강도와 스트레스를 조사하는 지표로 사용된다(Jiang et al., 2015). Lysozyme은 항균효소의 하나로 특정세균에 대한 항균작용이 아닌 비특이적으로 다양한 균에 대해 항균작용을 나타내는 효소이며, MPO는 백혈구로부터 방출되어 hypochlorous acid를 생성해 병원체를 사멸시킨다(Kim et al., 2011). Ig는 선천적, 후천적 면역에서 중요한 역할을 한다(Magnadóttir, 2006). Kim et al. (2019b)은 넙치 사료 내 어분을 대두박, SPC, 밀글루텐 혼합물로 대체했을 때 혈액의 hemoglobin과 hematocrit에는 영향이 없었다고 보고하였다. Lim et al. (2020)도 넙치 사료 내 어분을 대두박, SPC, 밀글루텐 혼합물과 3종의 필수아미노산(Lys, Met, Thr)을 사용하여 어분을 40%까지 대체했을 때 AST, ALT, lysozyme 활성에서 유의적인 차이가 없었다고 보고하였다. 참돔에서도 SPC 단독(Biswas et al., 2019) 혹은 SPC, krill meal, squid meal의 혼합물(Kader et al., 2010)로 대체하였을 경우, 혈액의 hemoglobin과 hematocrit에는 유의적인 차이가 없었다. Bui et al. (2014)은 참돔 사료 내 어분의 5%를 krill hydrolysate, shrimp hydrolysate, tilapia hydrolysate으로 대체하였을 때 성장, 사료효율, 소화율, 비특이적 면역력과 질병저항성이 향상된다고 보고하였다. 따라서 이번 연구에서처럼 밀글루텐, SPC, 수지박, 가금부산물분의 적절한 혼합으로 어분을 대체할 경우, 참돔의 건강도와 비특이적 면역력에는 영향이 없을 것으로 판단된다.

식물성 단백질원료만으로 어분을 대체할 경우 특정 영양소의 결핍으로 어분대체에 한계가 있을 수 있다. 하지만 이번 연구에서는 동·식물성 단백질원료의 적절한 혼합물을 사용함으로써 결핍되기 쉬운 영양소를 서로 보완해 주었기 때문에 어분을 40%까지 대체하여도 참돔의 성장, 사료효율, 생존율, 건강도, 비특이적 면역력에 문제가 없었던 것으로 판단된다. 이번 연구의 저수온기(13.8-17.5°C) 외에 적수온, 고수온기에서의 추가 연구를 통해 참돔 사료에서 동·식물성 단백질원료 혼합물의 최대 이용율을 조사할 필요가 있을 것으로 사료된다.

사 사

이 논문은 국립수산물과학원(R2021016), 해양수산부 및 정부(교육부)의 재원으로 한국연구재단의 지원을 받아 수행된 기초연구사업(2019R1A6A1A03033553)입니다.

References

- Abdul-Halim HH, Aliyu-Paiko M and Hashim R. 2014. Partial replacement of fish meal with poultry by-product meal in diets for snakehead *Channa striata* (Bloch, 1793), fingerlings. *J World Aquac Soc* 45, 233-241. <https://doi.org/10.1111/jwas.12112>.
- Ahmed M, Liang H, Kasiya HC, Ji K, Ge X, Ren M, Liu B, Zhu X and Sun A. 2019. Complete replacement of fish meal by plant protein ingredients with dietary essential amino acids supplementation for juvenile blunt snout bream *Megalobrama amblycephala*. *Aquac Nutr* 25, 205-214. <https://doi.org/10.1111/anu.12844>.
- AOAC (Association of Official Analytical Chemists). 2005. Official methods of analysis. Association of Official Analytical Chemists, Arlington, VA, U.S.A. <https://doi.org/10.1002/0471740039.vec0284>.
- Ao T. 2011. Using exogenous enzymes to increase the nutritional value of soybean meal in poultry diet. In: El-Shemy H, Ed. Soybean and Nutrition. In Tech, New York, NY, U.S.A., 201-214.
- Apper-Bossard E, Feneuil A, Wagner A and Respondek F. 2013. Use of vital wheat gluten in aquaculture feeds. *Aquat Biosyst* 9, 9-21. <https://doi.org/10.1186/2046-9063-9-21>.
- Arnason J, Imsland AKD, Helmig T, Gunnarsson S and Kristjansson GO. 2018. Fishmeal replacement by mixed plant proteins and effect on growth and sensory attributes in on-growing turbot. *Aquac Nutr* 24, 1041-1047. <https://doi.org/10.1111/anu.12642>.
- Barton BA and Lwama GK. 1991. Physiological changes in fish from stress in aquaculture with emphasis on the response and effects of corticosteroids. *Annu Rev Fish Dis* 1, 3-26. [https://doi.org/10.1016/0959-8030\(91\)90019-G](https://doi.org/10.1016/0959-8030(91)90019-G).
- Berge GM, Grisdale-Helland B and Helland SJ. 1999. Soy protein concentrate in diets for Atlantic halibut *Hippoglossus hippoglossus*. *Aquaculture* 178, 139-148. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(99\)00127-1](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(99)00127-1).
- Biswas A, Araki H, Sakata T, Nakamori T, Kato K and Takii K. 2017. Fish meal replacement by soy protein from soymilk in the diets of red seabream *Pagrus major*. *Aquac Nutr* 23, 1379-1389. <https://doi.org/10.1111/anu.12513>.
- Biswas A, Araki H, Sakata T, Nakamori T and Takii K. 2019. Optimum fish meal replacement by soy protein concentrate from soymilk and phytase supplementation in diet of red seabream *Pagrus major*. *Aquaculture* 506, 51-59. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.03.023>.
- 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. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2011.12.044>.
- Bui HTD, Khosravi S, Fournier V, Herault M and Lee KJ. 2014. Growth performance, feed utilization, innate immunity, digestibility and disease resistance of juvenile red seabream *Pagrus major* fed diets supplemented with protein hydrolysates. *Aquaculture* 418-419, 11-16. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2013.09.046>.
- Cheng Z, Ai Q, Mai K, Xu W, Ma H, Li Y and Zhang J. 2010. Effects of dietary canola meal on growth performance, digestion and metabolism of Japanese seabass *Lateolabrax japonicus*. *Aquaculture* 305, 102-108. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2010.03.031>.
- Choi W, Hamidoghli A, Bae J, Won S, Choi YH, Kim KW, Lee BJ, Hur SW, Han H and Bai SC. 2020. On-farm evaluation of dietary animal and plant proteins to replace fishmeal in subadult olive flounder *Paralichthys olivaceus*. *Fish Aquatic Sci* 23, 22. <https://doi.org/10.1186/s41240-020-00169-4>.
- Chou RL, Her BY, Su MS, Hwang G, Wu YH and Chen HY. 2004. Substituting fish meal with soybean meal in diets of juvenile cobia *Rachycentron canadum*. *Aquaculture* 229, 325-333. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(03\)00395-8](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(03)00395-8).
- Cruz-Suarez LE, Nieto-Lopez M, Guajardo-Barbosa C, Tapia-Salazar M, Scholz U and Ricque-Marie D. 2007. Replacement of fish meal with poultry by-product meal in practical diets for *Litopenaeus vannamei*, and digestibility of the tested ingredients and diets. *Aquaculture* 272, 466-476. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2007.04.084>.
- Dawood MAO, Koshio S, Ishikawa M and Yokoyama S. 2015. Effects of partial substitution of fish meal by soybean meal with or without heat-killed *Latobacillus plantarum* (LP20) on growth performance, digestibility, and immune response of amberjack *Seriola dumerili* juveniles. *Biomed Res Int* 2015, 132-135. <https://doi.org/10.1155/2015/514196>.
- Daniel N. 2018. A review on replacing fish meal in aqua feeds using plant protein sources. *Int J Fish Aquat Stud* 6, 164-179.
- Ellis AE. 1990. Serum antiprotease in fish. In: Techniques in fish immunology, (ed. by JS Stolen, TC Fletcher, DP Anderson, WB Roberson and WB Van Muiswinkel), SOS Publication, Fair Haven, CT, U.S.A., 95-99.
- FAO (Food and Agriculture Organization). 2021. Global aquaculture production (online query). Retrieved from <http://www.fao.org/fishery/statistics/global-aquaculture-production/en> on Mar 03, 2021.
- Furuita H, Takeuchi T, Toyota M and Watanabe T. 1996. EPA and DHA requirements in early juvenile red seabream using HUFA enriched artemia nauplii. *Fish Sci* 62, 246-251. <http://doi.org/10.2331/fishsci.62.246>.
- Galkanda-Arachchige HSC, Wilson AE and Davis DA. 2020. Success of fishmeal replacement through poultry by-product meal in aquaculture feed formulations: a meta-analysis. *Rev Aquac* 12, 1624-1636. <https://doi.org/10.1111/raq.12401>.
- Gisbert E, Mozanzadeh MT, Kotzamanis Y and Estévez A.

2016. Weaning wild flathead grey mullet *Mugil cephalus* fry with diets with different levels of fish meal substitution. *Aquaculture* 462, 92-100. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2016.04.035>.
- Glencross B, Evans D, Dods K, McCafferty P, Hawkins W, Maas R and Sipsas S. 2005. Evaluation of the digestible value of lupin and soybean protein concentrates and isolates when fed to rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*, using either stripping or settlement faecal collection methods. *Aquaculture* 245, 211-220. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2004.11.033>.
- Helland SJ and Grisdale-Helland B. 2006. Replacement of fish meal with wheat gluten in diets for Atlantic halibut *Hippoglossus hippoglossus*: Effect on whole-body amino acid concentrations. *Aquaculture* 261, 1363-1370. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2006.09.025>.
- Hertrampf JW and Piedad-Pascual F. 2000. Meat by-product meals. In: *Handbook on Ingredients for Aquaculture Feeds*. Springer, Dordrecht, Nederland, 291-301.
- Hua K, Cobcroft JM, Cole A, Condon K, Jerry DR, Mangott A, Praeger C, Vucko MJ, Zeng C, Zenger K and Strugnell JM. 2019. The future of aquatic protein: implications for protein sources in aquaculture diets. *One Earth* 1, 316-329. <https://doi.org/10.1016/j.oneear.2019.10.018>.
- Jalili R, Tukmechi A, Agh N, Noori F and Ghasemi A. 2013. Replacement of dietary fish meal with plant protein sources in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*; effect on growth performance, immune responses, blood indices and disease resistance. *Iran J Fish Sci* 12, 577-591. <http://aquaticcommons.org/id/eprint/22624>.
- Jiang J, Feng L, Tang L, Liu Y, Jiang W and Zhou X. 2015. Growth rate, body composition, digestive enzymes and transaminase activities, and plasma ammonia concentration of different weight Jian carp (*Cyprinus carpio* var. *Jian*). *Anim Nutr* 1, 373-377. <https://doi.org/10.1016/j.aninu.2015.12.006>.
- Kader MA, Koshio S, Ishikawa M, Yokoyama S and Buldul M. 2010. Supplemental effects of some crude ingredients in improving nutritive values of low fishmeal diets for red seabream *Pagrus major*. *Aquaculture* 308, 136-144. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2010.07.037>.
- Kikuchi K. 1999. Use of defatted soybean meal as a substitute for fish meal in diets of Japanese flounder *Paralichthys olivaceus*. *Aquaculture* 179, 3-11. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(99\)00147-7](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(99)00147-7).
- Kim KW, Kim SS, Jeong JB, Jeon YJ, Kim KD, An CM and Lee KJ. 2011. Effects of dietary fluid on growth performance, immune responses, blood components, and disease resistance against *Edwardsiella tarda* and *Streptococcus iniae* in olive flounder *Paralichthys olivaceus*. *Korean J Fish Aquat Sci* 44, 644-652. <https://doi.org/10.5657/KFAS.2011.0644>.
- Kim SS, Oh DH, Cho SJ, Seo SH, Han HS and Lee KJ. 2014. Evaluation of acid-concentrated soybean meal as a fishmeal replacement and its digestibility in diets for juvenile olive flounder *Paralichthys olivaceus*. *Korean J Fish Aquat Sci* 47, 824-831. <http://dx.doi.org/10.5657/KFAS.2014.0824>.
- Kim MG, Lee CR, Shin JH, Lee BJ, Kim KW and Lee KJ. 2019a. 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>.
- Kim MG, Shin JH, Lee CR, Lee BJ, Hur SW, Lim SG and Lee KJ. 2019b. Evaluation of a mixture of plant protein source as a partial fish meal replacement in diets for juvenile olive flounder *Paralichthys olivaceus*. *Korean J Fish Aquat Sci* 52, 374-381. <https://doi.org/10.5657/KFAS.2019.0374>.
- Kim MG, Lim HW, Lee BJ, Hur SW, Lee SH, Kim KW and Lee KJ. 2020. Replacing fish meal with a mixture of plant and animal protein source in the diets of juvenile olive flounder *Paralichthys olivaceus*. *Korean J Fish Aquat Sci* 53, 577-582. <https://doi.org/10.5657/KFAS.2020.0577>.
- Kissinger KR, Garcia-Ortega A and Trushenski JT. 2016. Partial fish meal replacement by soy protein concentrate, squid and algal meals in low fish-oil diets containing *Schizochytrium limacinum* for longfin yellowtail *Seriola rivoliana*. *Aquaculture* 452, 37-44. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2015.10.022>.
- KOSIS (Korean Statistical Information Service). 2021. Expenditure per aquaculture. Retrieved from http://kosis.kr/statisticsList/statisticsListIndex.do?menuId=M_01_01&vwcd=MT_ZTITLE&parmTabId=M_01_01#SelectStatsBoxDiv on Jun 25, 2021.
- Krogdahl A, Penn M, Thorsen J, Resfstie S and Bakke AM. 2010. Important antinutrients in plant feedstuffs for aquaculture: an update on recent findings regarding responses in salmonids. *Aquac Nutr* 41, 333-344. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2009.02426.x>.
- Kumari J and Sahoo PK. 2005. Effects of cyclophosphamide on the immune system and disease resistance of asian catfish *Clarias batrachus*. *Fish Shellfish Immunol* 19, 307-316. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2005.01.008>.
- Lee SM, Lee Jy, Kang YJ and Hur SB. 1993. Effects of dietary n-3 highly unsaturated fatty acids on growth and biochemical changes in the Korean rockfish *Sebastes schlegelii* II. Changes of blood chemistry and properties of liver cells. *J Aquac* 6, 107-123.
- Lim HW, Kim MG, Shin JH, Shin JB, Hur SW, Lee BJ and Lee KJ. 2020. Evaluation of three plant proteins for fish meal replacement in diet for growing olive flounder *Paralichthys olivaceus*. *Korean J Fish Aquat Sci* 53, 464-470. <https://doi.org/10.5657/KFAS.2020.0464>.
- Lim SJ, Kim SS, Ko GY, Song JW, Oh DH, Kim JD, Kim JU and Lee KJ. 2011. Fish meal replacement by soybean meal in diets for tiger puffer, *Takijugu rubripes*. *Aquaculture* 313,

- 165-170. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2011.01.007>.
- Magnadóttir B. 2006. Innate immunity of fish (overview). *Fish shellfish Immunol* 20, 137-151. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2004.09.006>.
- Mohammed HH, Brown TL, Beck BH, Yildirim-Aksoy M, El-jack RM and Peatman E. 2018. The effects of dietary inclusion of a *Saccharomyces cerevisiae* fermentation product in a commercial catfish ration on growth, immune readiness, and columnaris disease susceptibility. *J Appl Aquac* 31, 193-209. <https://doi.org/10.1080/10454438.2018.1499576>.
- Metcalfe 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>.
- Najafabadi HJ, Moghaddam HN, Pourreza J, Shahroudi FE and Golian A. 2007. Determination of chemical composition, mineral contents, and protein quality of poultry by-product meal. *Int J Poult Sci* 6, 875-882. <https://doi.org/10.3923/ijps.2007.875.882>.
- NRC (National Research Council). 2011. Nutrient requirements of fish and shrimp. The National Academy Press, Washington DC, U.S.A.
- Pedro ND, Guijarro AI, López-Patiño MA, Martínez-Álvarez R and Delgado MJ. 2005. Daily and seasonal variations in haematological and blood biochemical parameters in the tench *Tinca tinca* Linnaeus, 1758. *Aquac Res* 36, 1185-1196. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2005.01338.x>.
- Rossi W and Davis DA. 2014. Meat and bone meal as an alternative for fish meal in soybean meal-based diets for Florida pompano, *Trachinotus carolinus* L. *J World Aquacult Soc* 45, 613-624. <https://doi.org/10.1111/jwas.12155>.
- Scerra M, Foti F, Caparra P, Cilione C, Lutra B, Lamanna P and Chies L. 2016. Influence of partial substitution of dietary marine origin feed stuffs by a mixture of extruded pea seed meal and animal origin feedstuffs on fatty acid composition of fillet in sea bass *Dicentrarchus labrax*. *Ital J Anim Sci* 15, 696-700. <https://doi.org/10.1080/1828051X.2016.1229586>.
- Siwicki AK and Anderson DP. 1993. Nonspecific defense mechanisms assay in fish: II. Potential killing activity of neutrophils and macrophages, lysozyme activity in serum and organs and total immunoglobulin level in serum. In: *Fish disease diagnosis and prevention methods*. Wydawnictwo Instytutu Rybactwa Strodładowego, Olsztyn, Poland, 105-112.
- Song JW, Park SH, Lee CR and Lee KJ. 2013. Effects of dietary supplementation of a citrus by-product on growth performance, innate immunity and tolerance of low water temperature in red seabream *Pagrus major*. *Korean J Fish Aquat Sci* 46, 399-406. <http://dx.doi.org/10.5657/KFAS.2013.0399>.
- Storebakken T, Shearer KD and Roem AJ. 2000. Growth, uptake and retention of nitrogen and phosphorus, and absorption of other minerals in Atlantic salmon *Salmo salar* fed diets with fish meal and soy-protein concentrate as the main sources of protein. *Aquac Nutr* 6, 103-108. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2095.2000.00135.x>.
- Takeuchi T, Toyota M, Satoh S and Watanabe T. 1990. Requirement of juvenile red seabream *Pagrus major* for eicosapentaenoic and docosahexaenoic acids. *Nippon Suisan Gakkai Shi* 56, 1263-1269. <https://doi.org/10.2331/suisan.56.1263>.
- Torrecillas S, Mompel D, Caballero MJ, Montero D, Merrifield D, Rodiles A, Robaina L, Zamorano MJ, Karalazos V, Kaushik S and Izquierdo M. 2017. Effect of fishmeal and fish oil replacement by vegetable meals and oils on gut health of European sea bass *Dicentrarchus labrax*. *Aquaculture* 468, 386-398. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2016.11.005>.
- Valente LMP, Cabral EM, Sousa V, Cunha LM and Fernandes JMO. 2016. Plant protein blends in diets for senegalese sole affect skeletal muscle growth, flesh texture and the expression of related genes. *Aquaculture* 453, 77-85. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2015.11.034>.
- Ye JD, Wang K, Li FD, Sun YZ and Liu XH. 2011. Incorporation of a mixture of meat and bone meal, poultry by-product meal, blood meal and corn gluten meal as a replacement for fish meal in practical diets of Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* at two dietary protein levels. *Aquac Nutr* 17, e337-e347. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2095.2010.00768.x>.