

수산학석사 학위논문

치어기 넙치와 조피볼락에 있어서
대두박을 기초로한 사료내 phytase
첨가가 성장률과 인소화율에
미치는 영향



이 논문을 수산학석사 학위논문으로 제출함

2004년 2월

부경대학교 대학원

수 산 생 물 학 과

유 광 열

유광열의 수산학석사 학위논문을 인준함

2003년 12월

주 심 농 학 박 사 김 창 훈 

위 원 이 학 박 사 손 철 현 

위 원 영 양 학 박 사 배 승 철 

목 차

Abstract	i
I. 서론	1
II. 본론	3
1. 실험 1 : 치어기 넙치에 있어서 대두박을 기초로한 사료내 phytase 첨가가 성장률과 인소화율에 미치는 영향	
(1) 재료 및 방법	3
(2) 결과	9
(3) 고찰	18
(4) 요약	20
2. 실험 2 : 치어기 조피볼락에 있어서 대두박을 기초로 한 사료내 phytase 첨가가 성장률과 인소화율에 미치는 영향	
(1) 재료 및 방법	22
(2) 결과	28
(3) 고찰	37
(4) 요약	38
III. 감사의 글	40
IV. 참고문헌	41

**THE EFFECTS OF THE DIETARY MICROBIAL
PHYTASE SUPPLEMENTATION IN JUVENILE
OLIVE FLOUNDER, *Paralichthys olivaceus* AND
JUVENILE KOREAN ROCKFISH, *Sebastes schlegeli*
FED SOYBEAN MEAL-BASED DIETS**

Gwang yeol Yoo

*Department of Fisheries Biology Graduate School
Pukyong National University*

ABSTRACT

The present study was conducted to determine the effects of the dietary microbial phytase (P) supplementation in juvenile olive flounder, *Paralichthys olivaceus* and juvenile Korean rockfish, *Sebastes schlegeli* fed soybean meal-based diets. The first experiment was conducted to determine the effects of the dietary microbial phytase on growth performance and bioavailability of phosphorus in juvenile olive flounder fed soybean meal-based diets. The second experiment was conducted to determine the effects of the dietary microbial phytase on growth performance and bioavailability of phosphorus in juvenile Korean rockfish fed soybean meal-based diets.

Experiment 1 : Effects of the dietary microbial phytase on growth performance and bioavailability of phosphorus in juvenile olive flounder, *Paralichthys olivaceus* fed soybean meal-based diets

Nine experimental diets were formulated to be isonitrogenous and isocaloric to contain 50.0% crude protein (CP) and 16.7kJ, 48.6% crude protein (CP) and 16.0kJ available energy/g without the dietary phytase supplementation for olive flounder : D₁ ; 100% fish meal (FM), D₂ ; 70% FM + 30% soybean meal (SM), D₃ ; 70% FM + 30% SM + Phytase(P) 1000U/kg diet, D₄ ; 70% FM + 30% SM + P 2000U/kg diet, D₅ ; 70% FM + 30% SM with phytase-treated (Ptre) P 1000U/kg diet D₆ ; 60% FM + 40% SM, D₇ ; 60% FM + 40% SM + P 1000U/kg diet, D₈ ; 60% FM + 40% SM + P 2000U/kg diet, D₉ ; 60% FM + 40% SM with Ptre P 1000U/kg diet. After two weeks of the conditioning period, triplicate groups of 25 fish initially averaging 6.15±0.04g, was randomly distributed into the aquarium for olive flounder. After 8 weeks of feeding trial, there was no significant differences in weight gain (WG) among fish fed D₁, D₂, D₃, D₄ and D₅ diets. However, WG of fish fed D₁, D₂, D₃, D₄ and D₅ diets were significantly higher than that of fish fed D₆, D₇, D₈ and D₉ diets. Feed efficiency (FE), specific growth rate (SGR), protein efficiency ratio (PER) showed the same trend as WG. There was no significant differences in hepatosomatic index (HSI), condition factor (CF), hematocrit (PCV), hemoglobin (Hb) and survival among fish fed all of diets. Apparent phosphorus digestibility (ADPh) fish fed phytase supplemental diets were significantly higher than those of fish fed phytase non-supplemental diets. Therefore, these results indicated that pre-treated soybean meal with phytase 1000U could replace fishmeal up to 30% for the maximum growth of juvenile olive flounder.

Experiment 2 : Effects of the dietary microbial phytase on growth performance and bioavailability of phosphorus in juvenile Korean rockfish, *Sebastes schlegeli* fed soybean meal-based diets

Nine experimental diets were formulated to be isonitrogenous and isocaloric to contain 48.6%crude protein (CP) and 16.0kJ, 48.6%crude protein (CP) and 16.0kJ available energy/g without the dietary phytase supplementation for juvenile Korean rockfish, : D₁ ; 100% fish meal (FM), D₂ ; 70% FM + 30% soybean meal (SM), D₃ ; 70% FM + 30% SM + Phytase(P) 1000U/kg diet, D₄ ; 70% FM + 30% SM + P 2000U/kg diet, D₅ ; 70% FM + 30% SM with phytase-treated (Ptre) P 1000U/kg diet D₆ ; 60% FM + 40% SM, D₇ ; 60% FM + 40% SM + P 1000U/kg diet, D₈ ; 60% FM + 40% SM + P 2000U/kg diet, D₉ ; 60% FM + 40% SM with Ptre P 1000U/kg diet. After two weeks of the conditioning period, triplicate groups of 20 fish initially averaging 7.25±0.04g, was randomly distributed into the aquarium for Korean rockfish. After 8 weeks of feeding trial, there was no significant differences in weight gain (WG) among fish fed D₁, and D₃ diets. However, WG of fish fed D₁ and D₃ diets were significantly higher than that of fish fed D₂, D₄, D₅, D₆, D₇, D₈ and D₉ diets. Feed efficiency (FE) showed the same trend as protein efficiency ratio (PER). There was no significant differences in hepatosomatic index (HSI), condition factor (CF), hematocrit (PCV), hemoglobin (Hb) and survival among fish fed all of diets. Apparent phosphorus digestibility (ADPh) fish fed phytase supplemental diets were significantly higher than those of fish fed phytase non-supplemental diets. Therefore, these results indicated that pre-treated soybean meal with phytase 1000U could replace fishmeal up to 30% for the maximum growth of juvenile Korean rockfish.

I. 서 론

최근 우리나라 어류양식 기술의 비약적인 발전으로 천해양식 생산량에서 어류양식이 차지하는 비율이 점차 증가하고 있는 추세이다. 특히, 넙치와 조피볼락은 국내 주요 양식 대상어종으로서 매우 중요한 위치를 차지하고 있으며, 그 생산량에 있어서 2000년에 각각 36,174톤과 39,914톤으로 국내 해산어 양식생산량의 대부분을 차지하고 있다(해양수산부, 2001). 이러한 양식산업의 급진적인 양적 팽창은 주 양어사료원인 어분자원의 고갈과 수질오염으로 인한 환경 침해와의 연계문제 등으로 인하여 앞으로의 양식산업발전은 많은 부분이 환경친화적 양식기술 발전에 의존해야하는 상황에 이를 것이다.

하지만, 최근 양식 사료의 주단백질원인 어분은 어업 생산량 감소로 인한 가격상승 및 수급이 불안정 등의 문제가 대두 되어 어분을 대체 할 수 있는 동·식물성 사료원 개발에 관한 연구가 세계적으로 활발히 진행되고 있으며, 많은 연구자들이 여러 어종을 통해 혈분, 우모분, 육골분, 가금부산물등의 동물성 사료원들(Gallagher and Degani, 1988; Fowler et al., 1990; Watanabe and Pongmaneerat, 1991; Kikuchi et al., 1994; Luzier and Summerfelt, 1995; Rodriguez et al., 1996)과 대두박, 면실박, 밀, 콘글루텐밀, 채종박 등의 식물성 사료원들(Takii et al., 1989; Watanabe et al., 1991; Webster et al., 1992; Pongmaneerat et al., 1993; Belal and Assem, 1995; Kaushik, 1995)에 대한 연구들을 보고하였다. 이러한 식물성 사료원들 중 대두박은 단백질 함량과 아미노산의 조성이 어분에 뒤떨어지지 않으며, 공급의 안전성 및 낮은 가격등의 장점으로 인해 무지개송어, 잉어, 틸라피아, 차넬메기, 방어, 넙치 등 여러어종에 대한 어분대체 실험들이 많이 이루어졌다. 인(P)은 양식 어류에 있어서 주로 사료형태로 공급되며, 성장, 번식, 건강 등의 정상적인 생명활동과 호흡, 광합성, 근수축, 세포분할, 유전정보 전달 및 발효 등의 기본적인 생물화학적 반응에 있어서 중요한 역할을 담당하는 영양소이다. 반면, 조

류의 성장을 촉진하거나 수계내 용존산소의 고갈이나 부영양화 등의 현상을 유발하여 수중생물에 유해한 환경적 영향을 초래할 수 있으며 (Auer et al., 1986; Beveridge, 1987; Watanabe, 1991), 양어사료에 인 결핍 시에는 골격형성이 정상적으로 이루어지지 않아 척추만곡이나 두부기형이 발생할 수 있을 뿐만아니라 성장률이나 사료효율에 있어서 저하현상이 일어나기도 한다(NRC, 1993). 그러나 대두박에 함유되어 있는 인의 대부분은 유기태 형태의 피틴태 인(Ketola and Harland, 1993)이다. 어류나 단위동물에는 피틴태 인을 가수분해시키는 효소인 phytase가 존재하지 않아 피틴태 인의 이용성이 8~38% (NRC, 1993)로 매우 낮다. 이와 같이, 인의 중요성을 고려하여 영양학적 연구를 통한 인의 높은 생체내 이용성에 관한 연구가 필요하다. 그 결과, 피틴태 인의 이용성을 높이기 위해 여러 어종을 대상으로 phytase를 첨가 및 phytase를 전처리하여 많은 연구가 진행되고 있으며, 일부 어종에서는 phytase를 첨가 및 phytase를 전처리한 대두박을 사용한 결과 인의 이용성이 증가 하였고, 그 결과 배설량이 감소한다고 보고하였다(Schafer et al., 1995; Rodenhutscord and Pfeffer, 1995; Cain and Garling, 1995).

따라서 본 연구는 넙치와 조피볼락 치어를 대상으로 어분을 단백질원으로 한 기초사료를 대두박으로 대체하여 대체 수준에 따른 영향과 phytase의 첨가 형태에 따른 영향, 대체수준과 phytase의 첨가 농도별 영향을 종합적으로 평가하여 저오염 양어 배합사료 개발에 관한 기초 자료를 얻고자 하는데 목적이 있다.

II. 본 론

1. 실험 1 : 치어기 넙치에 있어서 대두박을 기초로한 사료내 phytase 첨가가 성장률과 인소화율에 미치는 영향

(1) 재료 및 방법

① 실험어 및 실험디자인

실험어는 경상남도 통영시 소재 부경수산에서 구입한 평균무게 약 6g의 넙치치어를 부경대학교 부설 수산과학연구소로 운반하여 3톤수조에 수용한 다음 넙치 치어용 상품사료를 공급하면서 2주간 예비사육을 실시하였다. 예비사육 후 평균무게 $6.15 \pm 0.04\text{g}$ 의 넙치 치어를 30ℓ PVC 사각수조에 25마리씩 9가지 실험구로 나누어 각 실험구당 3반복으로 무작위 배치하여 사육하였다. 사육수는 고속모래여과기(역여과방식)에 의해 여과된 해수를 사용하였으며, 각 실험수조는 유수식으로 유수량은 1ℓ/min으로 조절하였다. 실험기간동안의 수온은 $15 \pm 1^\circ\text{C}$ 로 전적으로 자연수온에 의존하였으며, 염분은 $32 \pm 1\text{‰}$, DO는 $6.5 \pm 0.5\text{ppm}$ 의 범위였다. 일일 사료공급량은 전실험기간동안 어체중의 3%(건물기준)로 1일 2회(오전 10시, 오후 4시) 공급하였으며, 총 사육실험기간은 8주간 실시하였다.

② 실험사료

실험에 사용된 실험사료의 조성표와 일반성분은 Table 1에 나타내었다. 실험사료는 어분 (white fish meal, FM)을 단백질원으로한 기초사료에 대두박 (soybean meal, SM) 대체수준을 3가지 수준 100:0, 70:30, 60:40으로 하여 3가지를 제작하였으며, 대두박 대체 수준 중 70:30과 60:40 2가지 수준에는 1가지의 대두박에 phytase를 1000U 전처리한 것과 2가지의 phytase 단순 첨가 수준 1000, 2000U을 포함하여 6가지의 사료를 제작하여 총 9가지의 실험사료가 제작되었다(D_1 : 100% FM; D_2 : 70% FM + 30% SM; D_3 :

70% FM + 30% SM + Pre 1000U; D₄ : 70% FM + 30% SM + 1000U; D₅ : 70% FM + 30% SM + 2000U; D₆ : 60% FM + 40% SM; D₇ : 60% FM + 40% SM + Pre 1000U; D₈ : 60% FM + 40% SM + 1000U; D₉ : 60% FM + 40% SM + 2000U). 실험사료의 조단백질 함량은 50.0%, 가용에너지는 16.7kJ/g(단백질, 16.7; 지질, 37.7kJ/g; 탄수화물, 16.7kJ/g)으로 조절하였다(NRC, 1993). 실험사료의 단백질원으로 북양어분(white fish meal), 대두박(soybean meal), 콘글루텐밀(corn gluten meal)을 사용하였으며, 탄수화물원으로 밀가루(wheat flour), 텍스트린(dextrin)을, 지질원으로는 오징어간유(squid liver oil)를 사용하였다. 그리고 각 실험 사료별 대두박 대체 수준에 따른 조단백질 함량과 가용에너지의 차이는 콘글루텐밀(corn gluten meal)과 텍스트린(dextrin)을 첨가하여 일정량으로 조절하였으며, 메티오닌(methionine)과 라이신(lysine)의 함량도 일정량이 되도록 조절하였다. 또한, 실험사료내 phytase의 효과적인 혼합을 위하여 셀룰로오스(cellulose), 글루타민(glutamin), phytase를 일정량이 되도록 혼합하여 사용하였다. 실험사료에 첨가한 Phytase는 (주)이지바이오에서 공급받은 Natuphos 5000TM을 사용하였으며, 전처리시 HCl을 사용하여 pH 5.5로 조절된 증류수 250ml에 phytase 1000U을 혼합하여, 대두박 1kg에 균일하게 분사한 후 55℃에서 2시간동안 배양하였다(Sugiura *et al*, 2001). Phytase 1U은 pH5.5, 37℃, sodium phytate(5.1mmol/ℓ)에서 1분간 무기인 1umole을 유리화 시킬 수 있는 효소의 양을 나타낸다. 실험사료의 소화율을 평가하기 위하여, 모든 실험사료에 Cr₂O₃을 0.5%씩 첨가하였다. 모든 실험사료는 원료를 혼합한 후 펠렛건조기로 압출·성형하였으며, 강제 통풍식 건조기로 건조(15℃, 24시간)시킨 다음 밀봉하여 -20℃에 냉동 보관하면서 사용하였다.

③ 어체측정 및 성분분석

a. 어체의 성장측정 및 일반성분 분석

실험종료 후, 증체율(weight gain, WG), 일간성장율(specific growth

rate, SGR), 사료효율(feed efficiency, FE), 단백질전환효율(protein efficiency ratio, PER), 간중량지수(hepatosomatic index, HSI), 비만도(condition factor, CF), 및 생존율(survival rate) 그리고 전어체의 일반성분을 조사하였다. 어체측정은 2주간격으로 실시하였으며, 성장률을 측정하기 위하여 24시간 절식시킨 후 MS 222(100ppm)로 마취시켜 전체무게를 측정하였다. 실험사료와 각 수조별로 5마리씩 무작위로 추출하여 분쇄한 전어체의 일반성분분석은 AOAC(1995)방법에 따라 수분은 상압가열건조법, 조단백질은 Kjeldahl 질소정량법($N \times 6.25$), 조회분은 직접회화법으로 분석하였다. 조지방은 샘플을 12시간 동결건조한 후 Soxtec system 1046(Tacator AB, Sweden)을 사용하여 soxhlet 추출법으로 분석하였다. 간중량지수(HSI)를 위해 각 수조별로 3마리씩 간의 무게를 측정하였다.

b. 어체의 혈액 분석

실험종료 후, 증체율 조사와 함께 혈액성분 분석을 위하여 실험어를 채혈하기 전까지 약 24시간 동안 절식시켰다. 실험어를 각 수조당 3마리씩 무작위로 추출하여 일회용 주사기를 이용하여 실험어의 미부정맥에서 혈액을 채혈한 후, micro-hematocrit 방법(Brown, 1980)에 의해 헤마토크리트(hematocrit, PCV)를 측정하고, 동시에 Drabkin's 용액을 사용하여 cyan-methemoglobin 방법(Sigma Chemical, St. Louis MO; total hemoglobin procedure No. 525)으로 헤모글로빈(hemoglobin, Hb)을 측정하였다.

c. 분수집 및 소화율 측정

실험 종료 2주전 분수집을 위하여 실험어를 자체 제작한 분수집 수조에 배치하여 분을 수집하였으며, 수집된 분은 밀봉하여 -20°C 에 냉동 보관하여 분석에 사용하였다.

외견상 건물 소화율(apparent digestibility of dry matter, AD), 외견상

단백질 소화율(apparent digestibility of protein, ADPr) 및 외견상 인 소화율(apparent digestibility of phosphorus, ADPh)은 다음과 같이 계산하였다.

$$AD = 100 - 100 \times \left(\frac{\text{사료 중 } Cr_2O_3 \%}{\text{분 중 } Cr_2O_3 \%} \right)$$

$$ADPh = 100 - 100 \times \left(\frac{\text{사료 중 } Cr_2O_3 \%}{\text{분 중 } Cr_2O_3 \%} \times \frac{\text{분 중 단백질 \%}}{\text{사료 중 단백질 \%}} \right)$$

$$ADPr = 100 - 100 \times \left(\frac{\text{사료 중 } Cr_2O_3 \%}{\text{분 중 } Cr_2O_3 \%} \times \frac{\text{분 중 인 \%}}{\text{사료 중 인 \%}} \right)$$

④ 통계처리

모든 자료의 통계처리는 Computer Program Statistix 3.1(Analytical Software, St. Paul MN. USA)로 분산분석(ANOVA test)을 실시하여 최소유의차검정(LSD : Least Significant Difference)으로 평균간의 유의성(P<0.05)을 검정하였다.

Table 1. Composition and proximate analysis of nine experimental diets (% of dry matter basis)

Ingredients	Diets ¹								
	D ₁	D ₂	D ₃	D ₄	D ₅	D ₆	D ₇	D ₈	D ₉
White fish meal ²	64	45	45	45	45	38	38	38	38
Corn gluten meal ³	4.0	3.8	3.8	3.8	3.8	3.7	3.7	3.7	3.7
Soybean meal ⁴	0	27	27	27	27	37	37	37	37
Wheat meal ⁵	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0
Dextrin ⁶	13.5	5.3	5.3	5.3	5.3	2.5	2.5	2.5	2.5
Methionine	0	0.06	0.06	0.06	0.06	0.08	0.08	0.08	0.08
L-Lysine · HCl ⁷	0	0.11	0.11	0.11	0.11	0.15	0.15	0.15	0.15
Squid oil ⁸	8.0	8.0	8.0	8.0	8.0	8.0	8.0	8.0	8.0
Vitamin premix ⁹	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
Mineral premix ¹⁰	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0
Cr ₂ O ₃	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
Attractant	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
Cellulose	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8
Glutamin	0.2	0.2	0.1	0.1	0	0.2	0.1	0.1	0
Phytase ¹¹	0	0	0.1	0.1	0.2	0	0.1	0.1	0.2
<i>Proximate analysis</i>									
Moisture	26.4	26.3	25.6	27.1	27.4	27.4	28.4	28.1	27.8
Crude protein	50.1	50.8	50.9	50.3	49.8	49.5	49.6	49.1	49.9
Crude lipid	11.8	11.7	11.9	11.8	11.6	11.5	11.4	11.5	11.6
Crude ash	11.8	11.4	11.5	10.9	11.3	11.7	10.7	11.2	10.8

¹ D₁, 100% fish meal (FM) ; D₂, 70% FM + 30% soybean meal (SM) ; D₃, 70% FM + 30% SM + pretreated phytase 1000unit ; D₄, 70% FM + 30% soybean meal (SM) + untreated phytase 1000unit; D₅, 70% FM + 30% SM + untreated phytase 2000unit ; D₆, 60% FM + 40% soybean meal (SM) ; D₇, 60% FM + 40% SM + pretreated phytase 1000unit ; D₈, 60% FM + 40% soybean meal (SM) + untreated phytase 1000unit; D₉, 60% FM + 40% SM + untreated phytase 2000unit

²³ Suhyup Co. Busan, Korea

⁴ American Soybean Association/ Korea

⁵ Young Nam Flourmills Co., Pusan, Korea

⁶ United States Biochemical, Cleveland, Ohio 44122

⁷ 0.5% L-lysine · HCl (0.4% lysine)

⁸ E-wha oil Co., Ltd., Pusan. Korea

⁹ Contains (as mg/kg in diets) : Ascorbic acid, 300; dl-Calcium pantothenate, 150 ; Choline bitartrate, 3000; Inositol, 150; menadione, 6; Niacin, 150; Pyridoxine · HCl, 15; Riboflavin, 30; Thiamine mononitarate, 15; dl- α -Tocopherol acetate, 201; Retinyl Rioboflavin acetate, 6; Biotin, 1.5; Folic acid, 5.4; B₁₂, 0.06

¹⁰ Contains (as mg/kg in diets) : NaCl, 437.4; MgSO₄ · 7H₂O, 1379.8; NaH₂P₄ · 2H₂O, 877.8; Ca(H₂PO₄)₂ · 2H₂O, 1366.7; KH₂PO₄, 2414; ZnSO₄ · 7H₂O, 226.4; Fe-Citrate, 299; Ca-lactate, 3004; MnSO₄, 0.016; FeSO₄, 0.0378; CuSO₄, 0.00033; Calcium iodate, 0.0006; MgO, 0.00135; MaSeO₃, 0.00025

¹¹ Natuphos 5000TM, BASF, NJ, USA

(2) 결 과

8주간의 성장실험 후 실험사료를 섭취한 넙치 치어의 성장실험 결과는 Table 2에 나타내었다. 증체율(weight gain, WG), 일간성장률(specific growth rate, SGR), 사료효율(feed efficiency, FE), 단백질전환효율(protein efficiency ratio, PER)에 있어서 대조구인 D₁과 비교했을때, phytase의 첨가와 관계없이 대두박 함량이 30%인 D₂, D₃, D₄, 및 D₅와는 유의차가 없었고, 대두박 함량이 40%인 D₆, D₇, D₈, 및 D₉는 유의적으로 낮게 나타났다(P<0.05). 반면에 헤모글로빈 함량(hemoglobin, Hb)은 다른 실험구에 비해 대조구인 D₁에서 유의적으로 낮게 나타났다(P<0.05). 간중량지수(hepatosomatic index, HSI), 비만도(condition factor, CF), 헤마토크리트(hematocrit, PCV) 및 생존율(survival rate)에 있어서는 모든 실험구에서 유의적인 차이를 보이지 않았다.

Table 3은 전어체 일반성분에 관한것으로, 전어체의 조단백질 함량에 있어서 대조구인 D₁와 비교했을때, D₉를 제외한 모든 실험구에서 유의적으로 높았으며(P<0.05), 전어체의 조지방 함량에 있어서는 모든 실험구에 비해 대조구인 D₁에서 유의적으로 가장 낮게 나타났다(P<0.05). 전어체의 조회분 함량은 모든 실험구에서 유의차가 나타나지 않았다.

Table 4는 외견상 소화율에 관한것으로, 외견상 건물소화율(apparent digestibility of dry matter, AD)에 있어서 대조구인 D₁와 비교했을때 대두박 대체수준이 30%인 D₂, D₃, D₄ 및 D₅와는 유의차가 나타나지 않았지만, 대두박 대체수준이 40%인 D₆, D₇, D₈ 및 D₉는 유의적으로 낮게 나타났다(P<0.05). 외견상 단백질 소화율(arent protein digestibility, ADPr)은 모든 실험구에서 유의차가 나타나지 않았다. 반면에 외견상 인 소화율(apparent phosphorus digestibility, ADPh)은 대두박 대체수준과는 관계없이 phytase가 첨가된 모든 실험구와 비교하였을 때 phytase가 첨가되지 않은 D₁, D₂ 및 D₆에서 유의적으로 낮게 나타났다(P<0.05).

Table 2. Weight gain (WG), specific growth rate (SGR), feed efficiency (FE), protein efficiency ratio (PER), hepatosomatic index (HSI), condition factor (CF) and survival rate of juvenile olive flounder fed nine experimental diets for 8 weeks¹

	Diets ²									Pooled SEM ³
	D ₁	D ₂	D ₃	D ₄	D ₅	D ₆	D ₇	D ₈	D ₉	
WG (%) ⁴	270 ^a	272 ^a	276 ^a	270 ^a	270 ^a	240 ^b	242 ^b	241 ^b	240 ^b	3.35
SGR (%) ⁵	2.38 ^a	2.35 ^a	2.36 ^a	2.34 ^a	2.34 ^a	2.19 ^b	2.20 ^b	2.19 ^b	2.19 ^b	0.02
FE (%) ⁶	107 ^a	105 ^{ab}	104 ^{ab}	101 ^{abc}	100 ^{abc}	93.7 ^c	97.1 ^{bc}	95.0 ^c	95.0 ^c	1.34
PER (%) ⁷	2.13 ^a	2.11 ^{ab}	2.08 ^{ab}	2.01 ^{abc}	2.01 ^{abc}	1.87 ^c	1.94 ^{bc}	1.90 ^c	1.90 ^c	0.02
HSI (%) ⁸	2.76 ^a	2.29 ^a	2.11 ^a	2.50 ^a	2.19 ^a	2.28 ^a	2.38 ^a	2.00 ^a	2.37 ^a	0.09
CF ⁹	1.04 ^a	1.17 ^a	1.09 ^a	1.11 ^a	1.09 ^a	1.09 ^a	1.00 ^a	1.02 ^a	1.04 ^a	0.02
PCV ¹⁰	19.2 ^a	21.5 ^a	22.6 ^a	23.8 ^a	22.2 ^a	22.7 ^a	22.3 ^a	22.1 ^a	22.8 ^a	0.02
Hb ¹¹	4.68 ^a	4.27 ^a	4.52 ^a	4.33 ^a	4.33 ^a	4.39 ^a	4.08 ^a	4.25 ^a	4.19 ^a	0.06
Survival rate (%)	100 ^a	100 ^a	98.7 ^a	96 ^a	96 ^a	94.6 ^a	100 ^a	97.3 ^a	98.7 ^a	0.78

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

² Refer to the table 1.

³ Pooled standard error of mean : $SD / \sqrt{n}$.

⁴ Weight gain : $[(\text{final wt.} - \text{initial wt.}) / \text{initial wt.}] \times 100$.

⁵ Specific growth rate : $[(\log_e \text{ final wt.} - \log_e \text{ initial wt.}) / \text{days}] \times 100$.

⁶ Feed efficiency : $(\text{wet wt. gain} / \text{dry feed intake}) \times 100$.

⁷ Protein efficiency ratio : $\text{wet wt gain} / \text{protein intake}$.

⁸ Hepatosomatic index : $(\text{liver wt.} / \text{body wt.}) \times 100$.

⁹ Condition factor : $[\text{wet wt. (g)} / \text{body length (cm)}^3] \times 100$.

¹⁰ Hematocrit (%).

¹¹ Hemoglobin (g/100ml).

Table 3. Whole body proximate composition (%) of juvenile olive flounder (*Paralichthys olivaceus*) fed experimental diets for 8 weeks (% of DM basis)¹

Diets ²	Moisture	Crude protein	Crude lipid	Ash
D ₁	76.4	17.0 ^c	2.7 ^b	5.5 ^a
D ₂	73.7	18.1 ^a	4.6 ^a	6.4 ^a
D ₃	74.4	17.6 ^{abc}	4.3 ^a	6.8 ^a
D ₄	74.5	17.5 ^{abc}	4.5 ^a	5.7 ^a
D ₅	74.0	18.1 ^a	4.4 ^a	6.0 ^a
D ₆	74.6	17.7 ^{abc}	4.0 ^a	6.7 ^a
D ₇	74.3	17.8 ^{ab}	4.2 ^a	6.2 ^a
D ₈	74.6	17.9 ^{ab}	3.8 ^a	5.5 ^a
D ₉	75.2	17.2 ^{bc}	3.9 ^a	5.9 ^a
Pooled SEM ³	0.19	0.1	0.13	0.16

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

² Refer to the table 1.

³ Pooled standard error of mean : SD / $\sqrt{n}$.

Table 4. Apparent digestibility of dry matter (AD), apparent protein digestibility (ADPr) and apparent phosphorus digestibility (ADPh) in juvenile olive flounder (*Paralichthys olivaceus*) diets¹

Diets ²	AD(%)	ADPr(%)	ADPh(%)
D ₁	83.8 ^a	83.1 ^a	52.8 ^c
D ₂	81.5 ^a	84.9 ^a	18.2 ^d
D ₃	80.9 ^a	85.8 ^a	93.2 ^a
D ₄	81.9 ^a	84.9 ^a	91.0 ^{ab}
D ₅	79.1 ^a	84.2 ^a	90.7 ^{ab}
D ₆	73.8 ^b	80.4 ^a	13.6 ^d
D ₇	74.0 ^b	82.2 ^a	91.2 ^{ab}
D ₈	71.8 ^b	78.4 ^a	90.7 ^{ab}
D ₉	73.0 ^b	79.2 ^a	89.3 ^b
Pooled SEM ³	1.07	1.06	7.6

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

² Refer to the table 1.

³ Pooled standard error of mean : SD / $\sqrt{n}$.

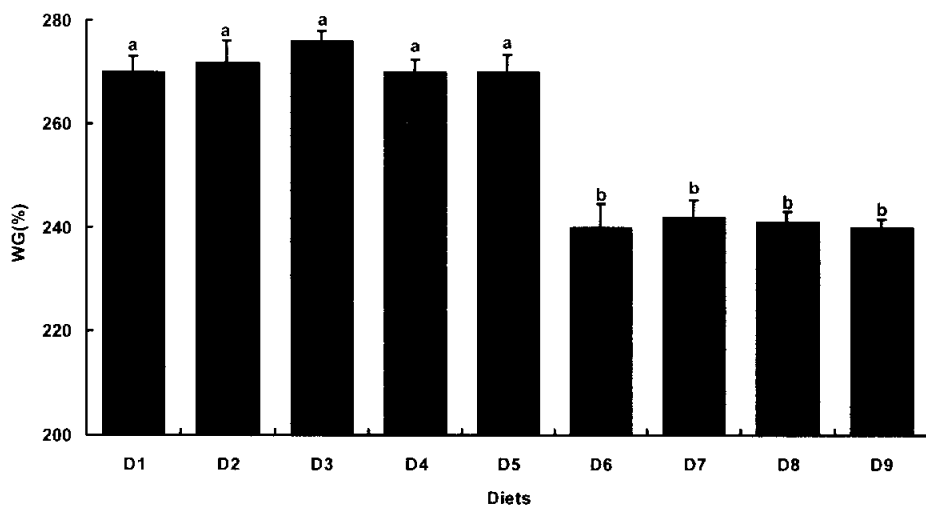


Fig. 1. Average weight gain (WG, %) from juvenile olive flounder fed 9 diets for the first 8 weeks. Values are means from triplicate groups where the bar have different superscript are significantly different ($P<0.05$).

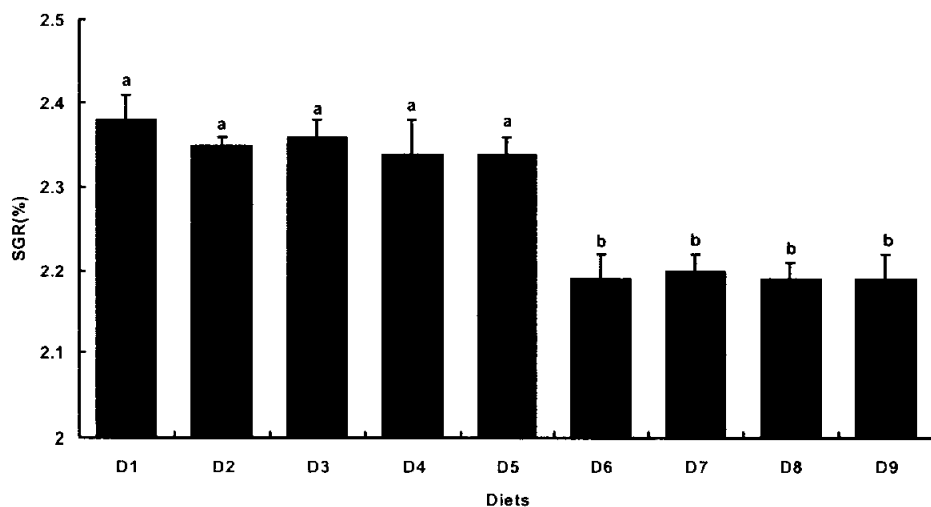


Fig. 2. Average specific growth rate (SGR, %) from juvenile olive flounder fed 9 diets for the first 8 weeks. Values are means from triplicate groups where the bar have different superscript are significantly different ($P<0.05$).

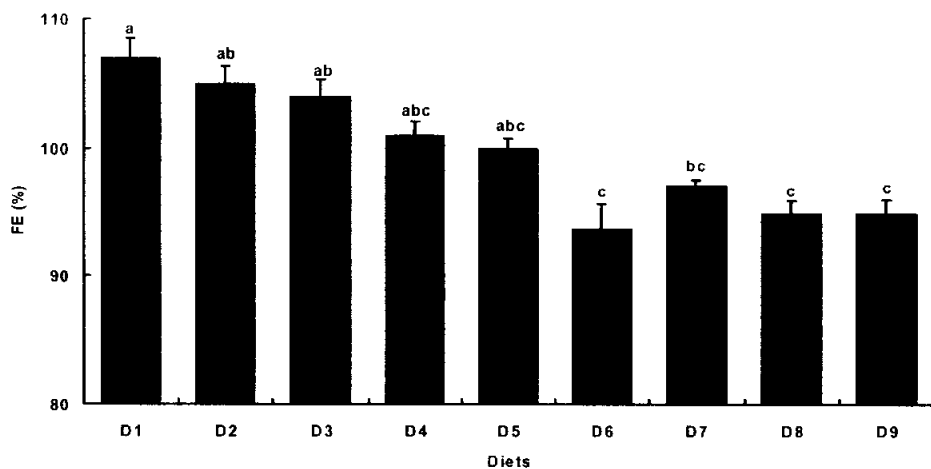


Fig. 3. Average feed efficiency (FE, %) from juvenile olive flounder fed 9 diets for the first 8 weeks. Values are means from triplicate groups where the bar have different superscript are significantly different ($P < 0.05$).

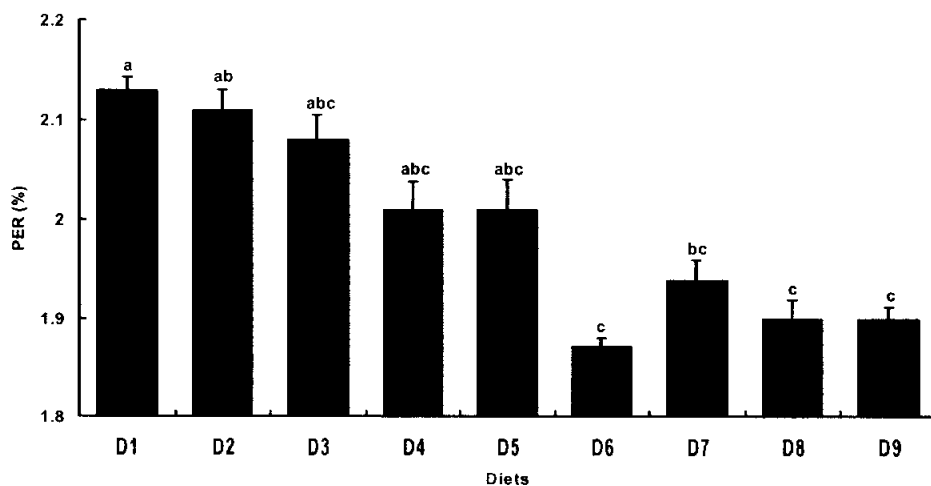


Fig. 4. Average protein efficiency ratio (PER, %) from juvenile olive flounder fed 9 diets for the first 8 weeks. Values are means from triplicate groups where the bar have different superscript are significantly different ($P < 0.05$).

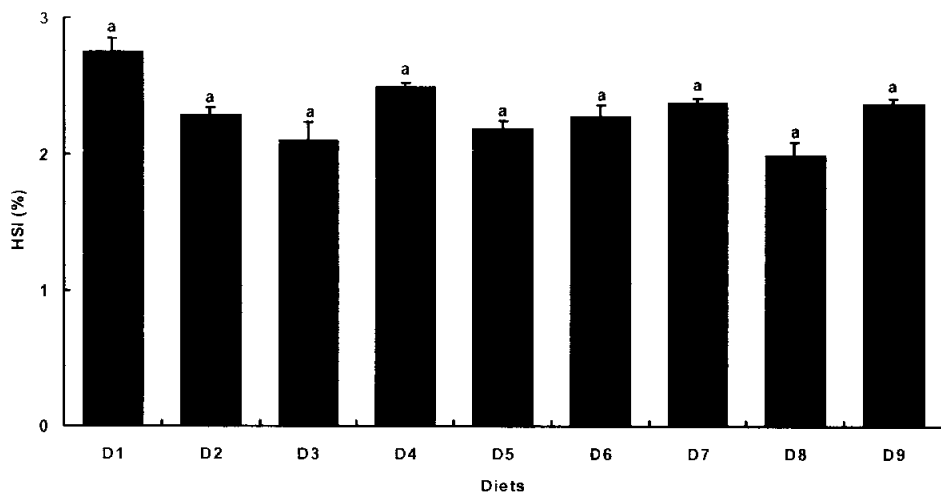


Fig. 5. Average hepatosomatic index (HSI, %) from juvenile olive flounder fed 9 diets for the first 8 weeks. Values are means from triplicate groups where the bar have different superscript are significantly different ($P < 0.05$).

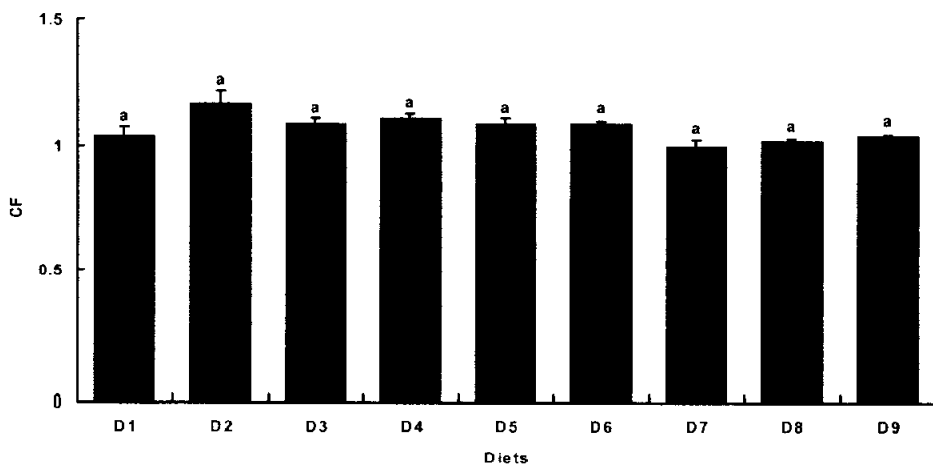


Fig. 6. Average condition factor (CF) from juvenile olive flounder fed 9 diets for the first 8 weeks. Values are means from triplicate groups where the bar have different superscript are significantly different ($P < 0.05$).

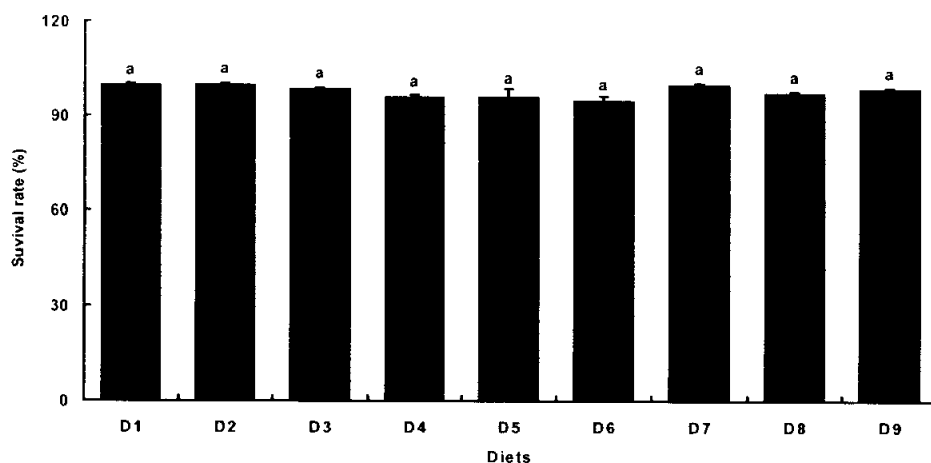


Fig. 7. Average survival rate (%) from juvenile olive flounder fed 9 diets for the first 8 weeks. Values are means from triplicate groups where the bar have different superscript are significantly different ($P < 0.05$).

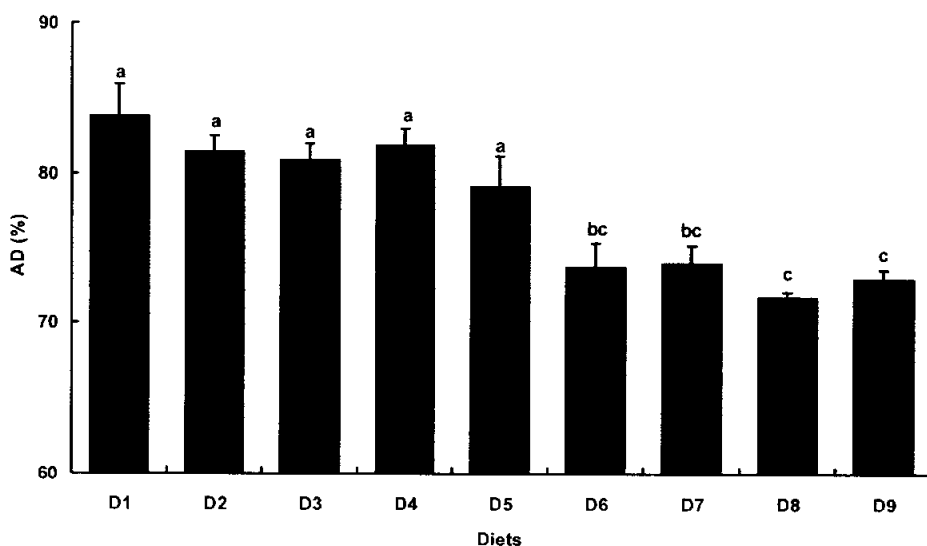


Fig. 8. Apparent digestibility of dry matter(AD, %) from juvenile olive flounder fed 9 diets for the last 2 weeks. Values are means from triplicate groups where the bar have different superscript are significantly different ($P < 0.05$).

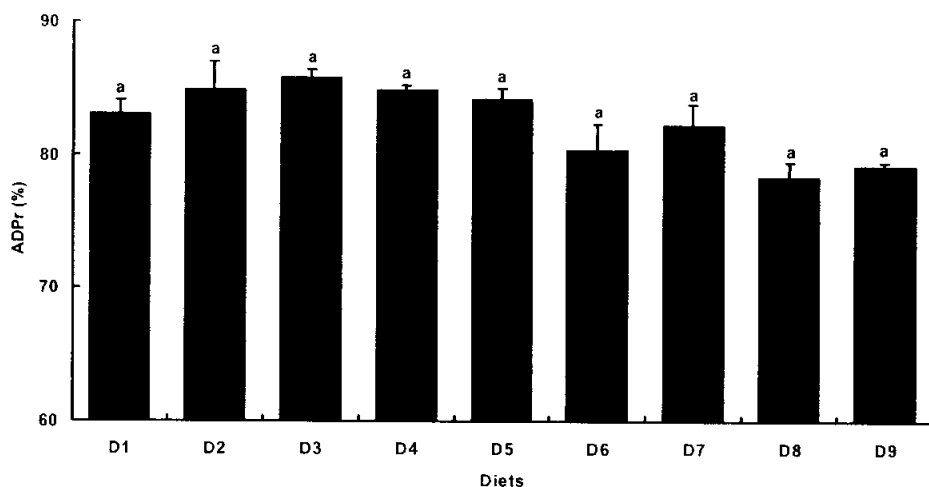


Fig. 9. Apparent digestibility of protein(ADPr, %) from juvenile olive flounder fed 9 diets for the last 2 weeks. Values are means from triplicate groups where the bar have different superscript are significantly different ($P < 0.05$).

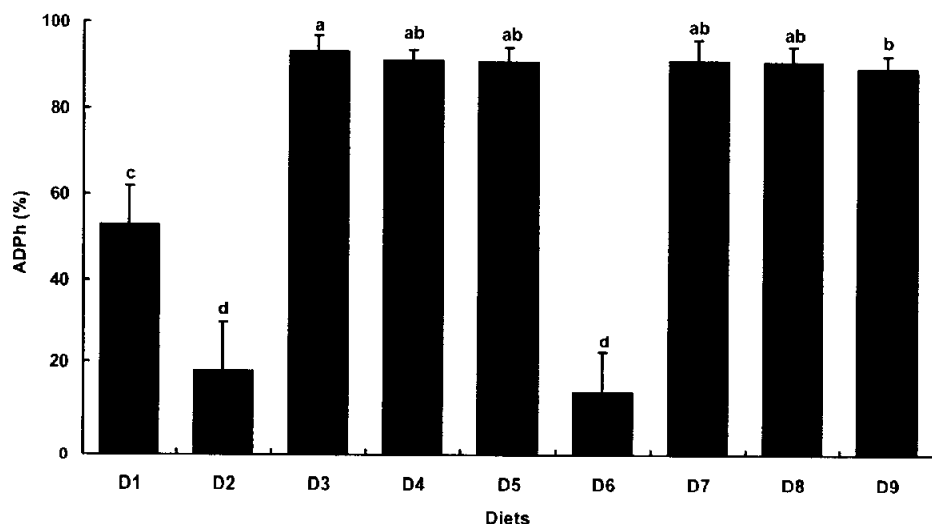


Fig. 10. Apparent digestibility of phosphorus(ADPh, %) from juvenile olive flounder fed 9 diets for the last 2 weeks. Values are means from triplicate groups where the bar have different superscript are significantly different ($P < 0.05$).

(3) 고 찰

최근, 환경오염 및 각국의 경계수역 설정으로 인한 어획량의 감소로 수산물 공급 대책의 일환으로 세계각국은 어류양식 기술과 양식 사료 개발에 역점을 두고 있다(Brown, 1983; Rumsey, 1993). 특히 사료 개발에 있어서는 사료의 주단백질 공급원인 어분을 대체할 수 있는 사료원의 개발과 수질 오염을 줄이기 위한 사료영양학적 관점에서 저오염 양어사료 개발을 위해 많은 연구와 노력을 기울이고 있다(Doughty and Mcphall, 1995).

본 실험에 사용된 대두박은 어분을 대체할 단백질원으로서 티라피아(Wee and Shu, 1989), 잉어(Murai et al., 1986), 메기(Wilson and Poe, 1985), 초어(Dabrowski and Kozak, 1979), 방어(Lee et al., 1991; Shimeno, Mima et al., 1993b), 홍민어(McGoogan and Gatlin, 1997), 터뷰트(Day and Gonzalez, 2000), 넙치(Kikuchi, 1999) 및 대서양연어(Carter and Hauler, 2000) 등 여러 어종에서 연구되었으며, 아울러 대두박에 함유되어있는 유기태 형태의 피틴태 인의 이용성을 높이기 위한 연구들도 잉어(Schafer et al., 1995), 송어(Rodenhutsord and Pfeffer, 1995) 및 연어(Cain and Garling, 1995)등을 대상으로 연구되었다.

본 실험에서 8주간 넙치 치어의 성장실험 결과, 증체율과 일간성장율, 사료효율 및 단백질전환효율에 있어서 사료내 phytase를 전처리하여 1000U를 공급한 실험구에서 가장 좋은 결과가 나타났다. 사료내 phytase의 첨가 효과는 넙치, 무지개송어, 줄무늬 농어(Toshiro Masumoto et al., 2001; Z. J. Cheng & R. W. Hardy, 2002; Jouni Velma et al., 1998; Papatryphon & Soares Jr, 2001)등 여러 어종에서 확인된바 있으며, 본 연구와 일치하는 결과를 보였다. 어분단백질의 대두박질로 대체 수준은 30%로 나타났으며, 이러한 결과는 Lim(2003)의 연구 결과와 일치하였다. 반면에 어분 단백질을 대두단백질로 30% 대체한 D₂, D₃, D₄ 및 D₅ 사이에 유의적인 차이가 나타나지 않았기 때문에 phytase의 전처리나 단순첨

가 넙치 치어의 성장에 영향을 미치지 않을 것으로 생각된다.

어류의 건강상태, 생리적인 활성 및 체내 대사장애를 진단하는 수단으로 혈액성분의 분석이 사용되고 있으며, 어종, 어체의 크기, 사료내 필수 영양소의 결핍, 서식하는 환경조건 및 어체의 상태 등에 따라 혈액성분의 변동이 심한 것으로 보고되고 있다(Chun et al., 1989; Chun and Oh, 1989; Kim and Choi, 1996; Jung and Sim, 1992; Sim et al., 1995, 1998; Lee et al., 1993). 본 실험에서 혈액성분의 분석에 있어 헤마토크리트치(PVC)의 경우 19.2~23.8%의 범위를 보여 Sim et al.(1998)이 보고한 건강한 넙치의 22%의 값과 유사한 수준을 보였다. 헤모글로빈농도(Hb)의 경우 모든 실험구에서 유의적인 차이를 보이지 않았다. PVC나 Hb와 같은 혈액성상의 변화로 어류의 건강상태를 구별하기에는 모순이 있을 만큼 그 변화폭이 크며, 환경조건이나 처리방법 등에 따라서도 아주 민감하게 변화된다고 Barham et al.(1980)은 보고하고 있어 이러한 혈액성분의 분석으로 어체의 건강상태를 판단할 때는 신중히 검토할 필요가 있을 것이다. 이와 같은 혈청 및 혈액성분의 분석결과 넙치치어에 있어서 어분단백질을 대두박으로 40%까지 대체하여도 어체에 영향을 미치지 않을 생각된다.

전어체의 일반성분 분석 결과(Table 3) 단백질과 조지방 함량의 경우 대조구인 D₁에서 유의적으로 낮게 나타났으며 회분함량은 전실험구에서 유의적인 차이가 나타나지 않았다. 어체에 대한 일반성분 조성은 환경조건, 종에 따른 계통차이, 증체량, 사료공급 및 사료배합등의 여러 가지 요소에 따라 영향을 받으며(Zeithner et al., 1984; Nandeesh, 1995), 성장함에 따라서는 조지방의 함량이 증가하나 조단백질과 조회분의 함량 변화는 적다고(Murai et al., 1985) 보고한 바와 같이 실험어의 조단백질, 조지방의 이용 효율이 성장단계에 따라 각기 다르기 때문에 보다 많은 연구가 이루어져야 할 것으로 생각된다.

양식산업의 발달과 함께 양어장으로부터의 배출수가 유입되는 수역에서의 부영양화가 심화되고 있기 때문에, 수질오염 감소를 위한 사료의

질적 개선노력이 두드러지고 있다(Cowey & Cho, 1991). 반면에, 양어 사료내 인은 어류에 있어서 가장 필수적인 광물질 중의 하나인 동시에 질소와 함께 수질을 오염시키는 원인물질이다(Watson et al., 1992). 양어장에서 배출되는 배출수에는 가용성 인 및 입자상 인이 함유되어 있으며, 영양학적 견지에서 볼 때 입자상 인은 어류에 의해 배설되는 인의 대부분(60% 이상)을 구성하고 있으며, 가용성 인은 인산염의 형태로 주로 오줌을 통해 배설된다(Lall, 1991). 어류는 수중의 인을 아가미를 통해 흡수할 수 있으나 수중내 인함량이 극히 낮기 때문에 인의 주요 공급원은 사료가 될 수 밖에 없다. 사료배합에 이용되는 인 공급원은 여러 가지가 있으나 어류에 따라 생리적 특성이 다르기 때문에 인의 이용성이 다르다. 일반적으로 양어용 사료에 단백질 공급원으로 사용되는 어분은 어류가 필요로 하는 인의 량보다 더 많은 인을 함유하고 있다(Lall, 1991). 본 실험에서는 인의 이용성을 증대시키기 위하여 사료내 phytase를 공급하여 실험한 결과, phytase를 공급하지 않은 실험구와 비교 하였을 때, phytase를 공급한 D₃, D₄, D₅, D₇, D₈ 및 D₉에서 유의적으로 높은 경향을 나타내었다. 그리고, 사료내 2000U의 phytase를 공급한 실험구들과 1000U의 phytase를 공급한 실험구들 간에 단백질소화율 과 인소화율 및 건물소화율에서 유의적인 차이를 나타내지 않는 것으로 보아 사료내 2000U의 phytase의 공급은 필요치 않을 것으로 생각된다.

따라서, 본 실험의 결과로 볼때, phytase의 형태와는 관계없이 사료내 1000U phytase의 공급은 넙치 치어의 성장과 사료효율을 향상시킬 뿐만 아니라, 생리적인 활성화와 어체의 조성에 긍정적인 효과를 줌으로써 기능성을 가진 사료첨가제로서 이용이 가능할 것으로 판단된다.

(4) 요 약

실험 1은 국내 주요 양식어종인 넙치에 있어서 어분 (white fish meal, FM)을 단백질원으로한 기초사료에 대두박 (soybean meal, SM) 대체수준을

3가지 수준 100:0, 70:30, 60:40으로 하여 3가지를 제작하였으며, 대두박 대체 수준 중 70:30과 60:40 2가지 수준에는 1가지의 대두박에 phytase를 1000U 전처리한 것과 2가지의 phytase 단순 첨가 수준 1000, 2000U을 포함하여 6가지의 사료를 제작하여 총 9가지의 실험사료를 공급하여 실험구당 25마리씩 3반복으로 무작위 배치하여 8주간 사육하였다. 실험 종료 후, 증체율(weight gain, WG), 일간성장률(specific growth rate, SGR), 사료효율(feed efficiency, FE), 단백질전환효율(protein efficiency ratio, PER)에 있어서 D₁과 비교했을때, phytase의 첨가와 관계없이 대두박 함량이 30%인 D₂, D₃, D₄, 및 D₅와는 유의차가 없었고, 대두박 함량이 40%인 D₆, D₇, D₈, 및 D₉는 유의적으로 낮게 나타났다(P<0.05). 반면에 헤모글로빈 함량(hemoglobin, Hb)은 다른 실험구에 비해 D₁에서 유의적으로 낮게 나타났다(P<0.05). 간중량지수(hepatosomatic index, HSI), 비만도(condition factor, CF), 헤마토크리트(hematocrit, PCV) 및 생존율(survival rate)에 있어서는 모든 실험구에서 유의적인 차이를 보이지 않았다. 전어체의 조단백질 함량에 있어서는 대조구인 D₀와 비교했을때, D₀를 제외한 모든 실험구에서 유의적으로 높았으며(P<0.05), 전어체의 조지방 함량에 있어서는 D₁에서 유의적으로 가장 낮게 나타났다(P<0.05). 전어체의 조화분 함량은 모든 실험구에서 유의차가 나타나지 않았다. 외견상 건물소화율(apparent dry matter digestibility, AD)에 있어서 D₁와 비교했을때 대두박 대체수준이 30%인 D₂, D₃, D₄ 및 D₅와는 유의차가 나타나지 않았지만, 대두박 대체수준이 40%인 D₆, D₇, D₈ 및 D₉는 유의적으로 낮게 나타났다(P<0.05). 외견상 단백질 소화율(arent protein digestibility, ADPr)은 모든 실험구에서 유의차가 나타나지 않았다. 반면에 외견상 인 소화율(apparent phosphorus digestibility, ADPh)은 대두박 대체수준과는 관계없이 phytase가 첨가되지 않은 D₁, D₂ 및 D₆에서 유의적으로 낮게 나타났다(P<0.05). 따라서, 본 실험 1의 결과 사료내 phytase 공급은 넙치 치어의 성장과 인소화율을 향상시켰으며, phytase의 형태와는 관계없이 사료내 적정 첨가수준은 1000U 정도가 적당할 것으로 판단된다

2. 실험 2 : 치어기 조피볼락 있어서 대두박을 기초로한 사료내 phytase 첨가가 성장률과 인소화율에 미치는 영향

(1) 재료 및 방법

① 실험어 및 실험디자인

실험어는 경상남도 거제시 소재 만성수산에서 구입한 평균무게 약 7g의 조피볼락치어를 부경대학교 부설 수산과학연구소로 운반하여 3톤수조에 수용한 다음 조피볼락 치어용 상품사료를 공급하면서 2주간 예비사육을 실시하였다. 예비사육 후 평균무게 $7.25 \pm 0.04\text{g}$ 의 조피볼락 치어를 30ℓ PVC 사각수조에 20마리씩 9가지 실험구로 나누어 각 실험구당 3반복으로 부작위 배치하여 사육하였다. 사육수는 고속모래여과기(역여과방식)에 의해 여과된 해수를 사용하였으며, 각 실험수조는 유수식으로 유수량은 1ℓ/min으로 조절하였다. 실험기간동안의 수온은 $19 \pm 1^\circ\text{C}$ 로 전적으로 자연수온에 의존하였으며, 염분은 $32 \pm 1\text{‰}$, DO는 $6.5 \pm 0.5\text{ppm}$ 의 범위였다. 일일 사료공급량은 전실험기간동안 어체중의 3%(건물기준)로 1일 2회(오전 10시, 오후 4시) 공급하였으며, 주 사육실험기간은 8주간 실시하였다.

② 실험사료

실험에 사용된 실험사료의 조성표와 일반성분은 Table 1에 나타내었다. 실험사료는 어분 (white fish meal, FM)을 단백질원으로한 기초사료에 대두박 (soybean meal, SM) 대체수준을 3가지 수준 100:0, 70:30, 60:40으로 하여 3가지를 제작하였으며, 대두박 대체 수준 중 70:30과 60:40 2가지 수준에는 1가지의 대두박에 phytase를 1000U 전처리한 것과 2가지의 phytase 단순 첨가 수준 1000, 2000U을 포함하여 6가지의 사료를 제작하여 총 9가지의 실험사료가 제작되었다(D₁ : 100% FM; D₂ : 70% FM + 30% SM; D₃ : 70% FM + 30% SM + Pre 1000U; D₄ : 70% FM + 30% SM + 1000U; D₅ :

70% FM + 30% SM + 2000U; D₆ : 60% FM + 40% SM; D₇ : 60% FM + 40% SM + Pre 1000U; D₈ : 60% FM + 40% SM + 1000U; D₉ : 60% FM + 40% SM + 2000U). 실험사료의 조단백질 함량은 50.0%, 가용에너지는 16.7kJ/g(단백질, 16.7; 지질, 37.7kJ/g; 탄수화물, 16.7kJ/g)으로 조절하였다(NRC, 1993). 실험사료의 단백질원으로 북양어분(white fish meal), 대두박(soybean meal), 콘글루텐밀(corn gluten meal)을 사용하였으며, 탄수화물원으로 밀가루(wheat flour), dextrin을, 지질원으로는 오징어간유(squid liver oil)을 사용하였다. 그리고 각 실험 사료별 대두박 대체 수준에 따른 조단백질 함량과 가용에너지의 차이는 콘글루텐밀(corn gluten meal)과 덱스트린(dextrin)을 첨가하여 일정량으로 조절하였으며, 메티오닌(methionine)과 라이신(lysine)의 함량도 일정량이 되도록 조절하였다. 또한, 실험사료내 phytase의 효과적인 혼합을 위하여 셀룰로오스(cellulose), 글루타민(glutamin), phytase를 일정량이 되도록 혼합하여 사용하였다. 실험사료에 첨가한 Phytase는 (주)이지바이오에서 공급받은 Natuphos 5000TM을 사용하였으며, 전처리시 HCl을 사용하여 pH 5.5로 조절된 증류수 250ml에 phytase 1000U을 혼합하여, 대두박 1kg에 균일하게 분사한 후 55℃에서 2시간동안 배양하였다(Sugiura *et al*, 2001). Phytase 1U은 pH5.5, 37℃, sodium phytate(5.1mmol/ℓ)에서 1분간 무기인 1umole을 유리화 시킬 수 있는 효소의 양을 나타낸다. 실험사료의 소화율을 평가하기 위하여, 모든 실험사료에 Cr₂O₃을 0.5%씩 첨가하였다. 모든 실험사료는 원료를 혼합한 후 펠렛건조기로 압출·성형하였으며, 강제 통풍식 건조기로 건조(15℃, 24시간)시킨 다음 밀봉하여 -20℃에 냉동 보관하면서 사용하였다.

③ 어체측정 및 성분분석

a. 어체의 성장측정 및 일반성분 분석

실험종료 후, 증체율(weight gain, WG), 일간성장율(specific growth rate, SGR), 사료효율(feed efficiency, FE), 단백질전환효율(protein

efficiency ratio, PER), 간중량지수(hepatosomatic index, HSI), 비만도(condition factor, CF), 및 생존율(survival rate) 그리고 전어체의 일반성분을 조사하였다. 어체측정은 2주간격으로 실시하였으며, 성장률을 측정하기 위하여 24시간 절식시킨 후 MS-222(100ppm)로 마취시켜 전체무게를 측정하였다. 실험사료와 각 수조별로 5마리씩 무작위로 추출하여 분쇄한 전어체의 일반성분분석은 AOAC(1995)방법에 따라 수분은 상압가열건조법, 조단백질은 Kjeldahl 질소정량법($N \times 6.25$), 조회분은 직접회화법으로 분석하였다. 조지방은 샘플을 12시간 동결건조한 후 Soxtec system 1046(Tacator AB, Sweden)을 사용하여 soxhlet 추출법으로 분석하였다. 간중량지수(HSI)를 위해 각 수조별로 3마리씩의 간의 무게를 측정하였다.

b. 어체의 혈액 분석

실험종료 후, 증체율 조사와 함께 혈액성분 분석을 위하여 실험어를 채혈하기 전까지 약 24시간 동안 절식시켰다. 실험어를 각 수조당 3마리씩 무작위로 추출하여 일회용 주사기를 이용하여 실험어의 미부정맥에서 혈액을 채혈한 후, micro-hematocrit 방법(Brown, 1980)에 의해 헤마토크리트(hematocrit, PCV)를 측정하고, 동시에 Drabkin's 용액을 사용하여 cyan-methemoglobin 방법(Sigma Chemical, St. Louis MO; total hemoglobin procedure No. 525)으로 헤모글로빈(hemoglobin, Hb)을 측정하였다.

c. 분수집 및 소화율 측정

실험 종료 2주전 분수집을 위하여 실험어를 자체 제작한 분수집 수조에 배치하여 분을 수집하였으며, 수집된 분은 밀봉하여 -20°C 에 냉동 보관하여 분석에 사용하였다.

외견상 건물 소화율(apparent digestibility of dry matter, AD), 외견상 단백질 소화율(apparent digestibility of protein, ADPr) 및 외견상 인 소화율(apparent digestibility of phosphorus, ADPh)은 다음과 같이 계산하였다.

$$AD = 100 - 100 \times \left(\frac{\text{사료 중 } Cr_2O_3 \%}{\text{분 중 } Cr_2O_3 \%} \right)$$

$$ADPr = 100 - 100 \times \left(\frac{\text{사료 중 } Cr_2O_3 \%}{\text{분 중 } Cr_2O_3 \%} \times \frac{\text{분 중 인 \%}}{\text{사료 중 인 \%}} \right)$$

$$ADPh = 100 - 100 \times \left(\frac{\text{사료 중 } Cr_2O_3 \%}{\text{분 중 } Cr_2O_3 \%} \times \frac{\text{분 중 단백질 \%}}{\text{사료 중 단백질 \%}} \right)$$

④ 통계처리

모든 자료의 통계처리는 Computer Program Statistix 3.1 (Analytical Software, St. Paul MN. USA)로 분산분석(ANOVA test)을 실시하여 최소유의차검정(LSD : Least Significant Difference)으로 평균간의 유의성 ($P < 0.05$)을 검정하였다.

Table 5. Composition and proximate analysis of nine experimental diets (% of dry matter basis)

Ingredients	Diets ¹								
	D ₁	D ₂	D ₃	D ₄	D ₅	D ₆	D ₇	D ₈	D ₉
White fish meal ²	60	42	42	42	42	36.0	36.0	36.0	36.0
Corn gluten meal ³	6.0	5.7	5.7	5.7	5.7	5.7	5.7	5.7	5.7
Soybean meal ⁴	0	25.8	25.8	25.8	25.8	34.4	34.4	34.4	34.4
Wheat meal ⁵	6.0	6.0	6.0	6.0	6.0	6.0	6.0	6.0	6.0
Dextrin ⁶	11.5	3.7	3.7	3.7	3.7	1.14	1.14	1.14	1.14
Methionine	0	0.06	0.06	0.06	0.06	0.08	0.08	0.08	0.08
L-Lysine · HCl ⁷	0	0.1	0.1	0.1	0.1	0.13	0.13	0.13	0.13
Squid oil ⁸	8.0	8.0	8.0	8.0	8.0	8.0	8.0	8.0	8.0
Vitamin premix ⁹	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
Mineral premix ¹⁰	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0
Cr ₂ O ₃	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
Attractant	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
Cellulose	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8
Glutamin	0.2	0.2	0.1	0.1	0	0.2	0.1	0.1	0
Phytase ¹¹	0	0	0.1	0.1	0.2	0	0.1	0.1	0.2
<i>Proximate analysis</i>									
Moisture									
Crude protein	47.1	46.8	46.8	46.6	46.8	46.5	46.1	46.1	46.9
Crude lipid	12.8	12.7	12.9	12.8	12.6	12.5	12.4	12.5	12.6
Crude ash	13.8	12.4	12.5	11.9	12.3	11.7	11.7	12.2	11.8

¹ D₁, 100% fish meal (FM) ; D₂, 70% FM + 30% soybean meal (SM) ; D₃, 70% FM + 30% SM + pretreated phytase 1000unit ; D₄, 70% FM + 30% soybean meal (SM) + untreated phytase 1000unit; D₅, 70% FM + 30% SM + untreated phytase 2000unit ; D₆, 60% FM + 40% soybean meal (SM) ; D₇, 60% FM + 40% SM + pretreated phytase 1000unit ; D₈, 60% FM + 40% soybean meal (SM) + untreated phytase 1000unit; D₉, 60% FM + 40% SM + untreated phytase 2000unit

^{2,3} Suhyup Co. Busan, Korea

⁴ American Soybean Association/ Korea

⁵ Young Nam Flourmills Co., Pusan, Korea

⁶ United States Biochemical, Cleveland, Ohio 44122

⁷ 0.5% L-lysine · HCl (0.4% lysine)

⁸ E-wha oil Co., Ltd., Pusan, Korea

⁹ Contains (as mg/kg in diets) : Ascorbic acid, 300; dl-Calcium pantothenate, 150 ; Choline bitartrate, 3000; Inositol, 150; menadione, 6; Niacin, 150; Pyridoxine · HCl, 15; Riboflavin, 30; Thiamine mononitrate, 15; dl- α -Tocopherol acetate, 201; Retinyl Rioboflavin acetate, 6; Biotin, 1.5; Folic acid, 5.4; B₁₂, 0.06

¹⁰ Contains (as mg/kg in diets) : NaCl, 437.4; MgSO₄ · 7H₂O, 1379.8; NaH₂P₄ · 2H₂O, 877.8; Ca(H₂PO₄)₂ · 2H₂O, 1366.7; KH₂PO₄, 2414; ZnSO₄ · 7H₂O, 226.4; Fe-Citrate, 299; Ca-lactate, 3004; MnSO₄, 0.016; FeSO₄, 0.0378; CuSO₄, 0.00033; Calcium iodate, 0.0006; MgO, 0.00135; MaSeO₃, 0.00025

¹¹ Natuphos 5000TM, BASF, NJ, USA

(2) 결 과

8주간의 성장실험 후 실험사료를 섭취한 조피볼락 치어의 성장실험 결과는 Table 6에 나타내었다. 증체율(weight gain, WG)과 일간성장률(specific growth rate, SGR)에 있어서 다른 실험구와 비교하였을때 대조구인 D₁에서 가장 좋은 결과를 보였으나($P<0.05$), 어분단백질을 대두단백질로 30% 대체한후 전처리된 phytase 1000U을 공급한 D₃와는 유의적인 차이를 보이지 않았다. 사료효율(feed efficiency, FE)과 단백질전환효율(protein efficiency ratio, PER)에 있어서는 대조구인 D₁과 비교했을때, phytase의 첨가와 관계없이 대두박 함량이 30%인 D₂, D₃, D₄ 및 D₅와는 유의차가 없었고, 대두박 함량이 40%인 D₆, D₇, D₈ 및 D₉는 유의적으로 낮게 나타났다($P<0.05$). 간중량지수(hepatosomatic index, HSI), 비만도(condition factor, CF), 헤마토크리트(hematocrit, PCV), 헤모글로빈 함량(hemoglobin, Hb) 및 생존율(survival rate)에 있어서는 모든 실험구에서 유의적인 차이를 보이지 않았다.

Table 7은 전어체 일반성분에 관한것으로, 지방 함량에 있어서 대조구인 D₁과 비교하였을때 모든 실험구에서 유의적으로 낮게 나타났으며($P<0.05$), 단백질, 회분은 모든 실험구에서 유의차가 나타나지 않았다.

Table 8는 외견상 소화율에 관한것으로, 외견상 건물소화율(apparent digestibility of dry matter, AD)과 외견상 단백질 소화율(arent protein digestibility, ADPr)에 있어서 다른 모든 실험구에 비해 D₉에서 유의적으로 낮게 나타났으며($P<0.05$), 반면에 외견상 인 소화율(apparent phosphorus digestibility, ADPh)은 대두박 대체수준과는 관계없이 phytase가 첨가되지 않은 D₁, D₂ 및 D₆에서 유의적으로 낮게 나타났다($P<0.05$).

Table 6. Effects of the experimental diets for the first 8 weeks in juvenile Korean rockfish(*Sebastes schlegeli*)¹

	Diets ²									Pooled SEM ³
	D ₁	D ₂	D ₃	D ₄	D ₅	D ₆	D ₇	D ₈	D ₉	
WG (%) ⁴	219 ^a	196 ^b	202 ^{ab}	192 ^b	188 ^b	142 ^c	151 ^c	141 ^c	136 ^c	6.02
SGR (%) ⁵	2.07 ^a	1.93 ^b	1.98 ^{ab}	1.91 ^b	1.89 ^b	1.58 ^c	1.64 ^c	1.57 ^c	1.54 ^c	0.04
FE (%) ⁶	77.4 ^a	72.1 ^a	73.7 ^a	72.0 ^a	71.5 ^a	55.8 ^b	56.3 ^b	54.3 ^b	56.9 ^b	1.91
PER (%) ⁷	1.59 ^a	1.48 ^a	1.52 ^a	1.48 ^a	1.47 ^a	1.15 ^b	1.16 ^b	1.12 ^b	1.17 ^b	0.04
HSI (%) ⁸	3.36 ^a	2.92 ^a	3.21 ^a	3.15 ^a	3.11 ^a	2.88 ^a	2.98 ^a	2.86 ^a	2.97 ^a	0.09
CF ⁹	1.82 ^a	1.80 ^a	1.77 ^a	1.77 ^a	1.73 ^a	1.69 ^a	1.75 ^a	1.78 ^a	1.72 ^a	0.02
PCV ¹⁰	46 ^a	43.3 ^a	43 ^a	42.7 ^a	44.2 ^a	42 ^a	41.2 ^a	42 ^a	41.7 ^a	0.52
Hb ¹¹	7.00 ^a	6.37 ^a	6.98 ^a	6.14 ^a	6.52 ^a	6.80 ^a	6.32 ^a	6.88 ^a	6.19 ^a	0.1
Survival rate (%)	100 ^a	96.7 ^a	98.3 ^a	96.7 ^a	95 ^a	100 ^a	98.3 ^a	96.7 ^a	86.7 ^a	1.03

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

² Refer to the table 1.

³ Pooled standard error of mean : SD / $\sqrt{n}$.

⁴ Weight gain : [(final wt. - initial wt.) / initial wt.] $\times$ 100.

⁵ Specific growth rate : [(log_e final wt. - log_e initial wt.) / days] $\times$ 100.

⁶ Feed efficiency : (wet wt. gain / dry feed intake) $\times$ 100.

⁷ Protein efficiency ratio : wet wt gain / protein intake.

⁸ Hepatosomatic index : (liver wt. / body wt.) $\times$ 100.

⁹ Condition factor : [wet wt. (g) / body length (cm)³] $\times$ 100.

¹⁰ Hematocrit (%).

¹¹ Hemoglobin (g/100ml).

Table 7. Whole body proximate composition (%) of juvenile Korean rockfish(*Sebastes schlegeli*) fed experimental diets for 8 weeks¹

Diets ²	Moisture	Crude protein	Crude lipid	Ash
D ₁	66.9 ^a	17.3 ^a	10.7 ^a	6.8 ^a
D ₂	68.7 ^a	17.4 ^a	8.7 ^b	7.0 ^a
D ₃	68.6 ^a	17.4 ^a	8.9 ^b	6.2 ^a
D ₄	68.9 ^a	17.1 ^a	8.6 ^b	5.4 ^a
D ₅	69.3 ^a	17.0 ^a	8.4 ^b	7.0 ^a
D ₆	69.7 ^a	17.1 ^a	8.1 ^b	6.6 ^a
D ₇	69.7 ^a	17.0 ^a	7.9 ^b	7.0 ^a
D ₈	70.5 ^a	17.0 ^a	7.8 ^b	5.9 ^a
D ₉	69.5 ^a	16.8 ^a	8.0 ^b	6.4 ^a
Pooled SEM ³	0.26	0.07	0.2	0.24

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

² Refer to the table 1.

³ Pooled standard error of mean : SD / $\sqrt{n}$.

Table 8. Apparent digestibility of dry matter (AD), apparent digestibility of protein (ADPr) and apparent digestibility of phosphorus (ADPh) in juvenile Korean rockfish(*Sebastes schlegeli*) diets¹

Diets ²	AD(%)	ADPr(%)	ADPh(%)
D ₁	65.9 ^a	90.9 ^a	62.4 ^b
D ₂	61.4 ^{ab}	87.1 ^{ab}	57.6 ^b
D ₃	64.5 ^{ab}	91.5 ^a	92.0 ^a
D ₄	62.1 ^{ab}	90.0 ^a	86.3 ^a
D ₅	62.8 ^{ab}	90.2 ^a	87.0 ^a
D ₆	57.1 ^{ab}	86.7 ^{ab}	61.8 ^b
D ₇	57.5 ^{ab}	86.9 ^{ab}	92.8 ^a
D ₈	56.8 ^{ab}	86.3 ^{ab}	89.5 ^a
D ₉	55.2 ^b	82.8 ^b	84.0 ^a
Pooled SEM ³	0.93	0.51	0.2

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

² Refer to the table 1.

³ Pooled standard error of mean : SD / $\sqrt{n}$.

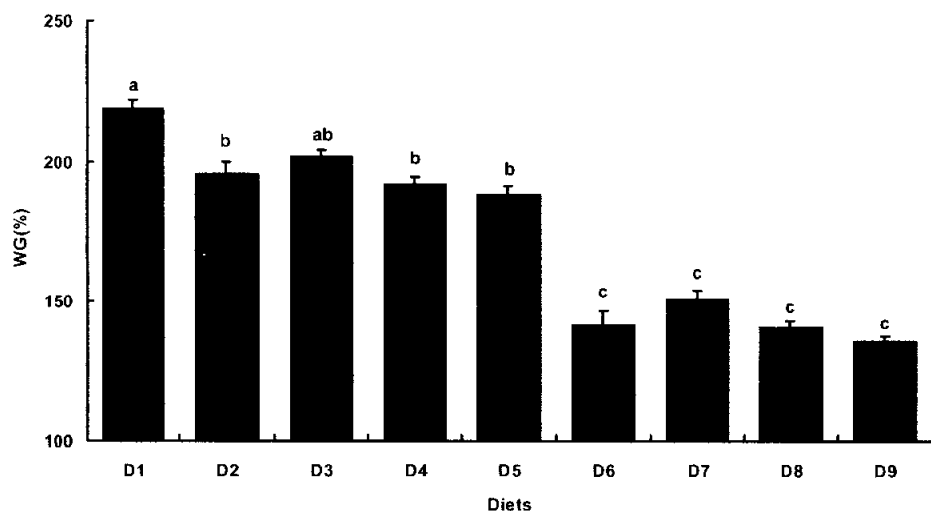


Fig. 11. Average weight gain (WG, %) from juvenile Korean rockfish fed 9 diets for the first 8 weeks. Values are means from triplicate groups where the bar have different superscript are significantly different ($P<0.05$).

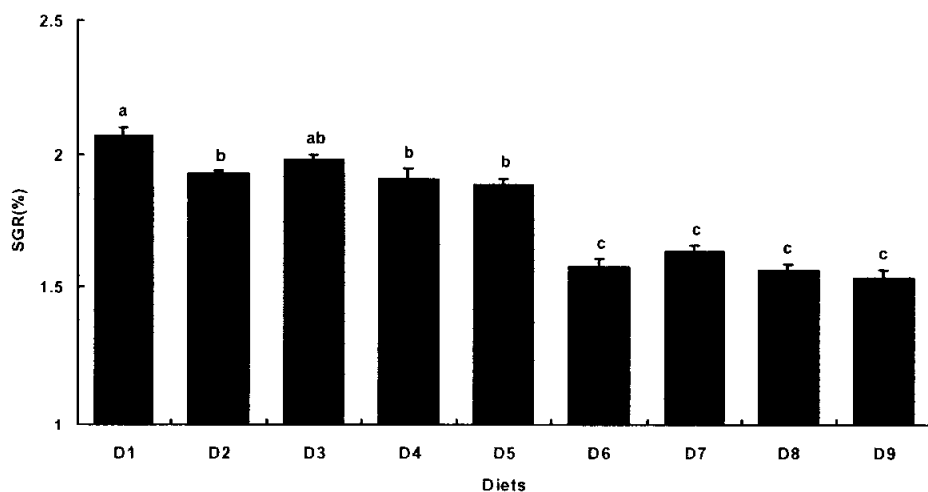


Fig. 12. Average specific growth rate (SGR, %) from juvenile Korean rockfish fed 9 diets for the first 8 weeks. Values are means from triplicate groups where the bar have different superscript are significantly different ($P<0.05$).

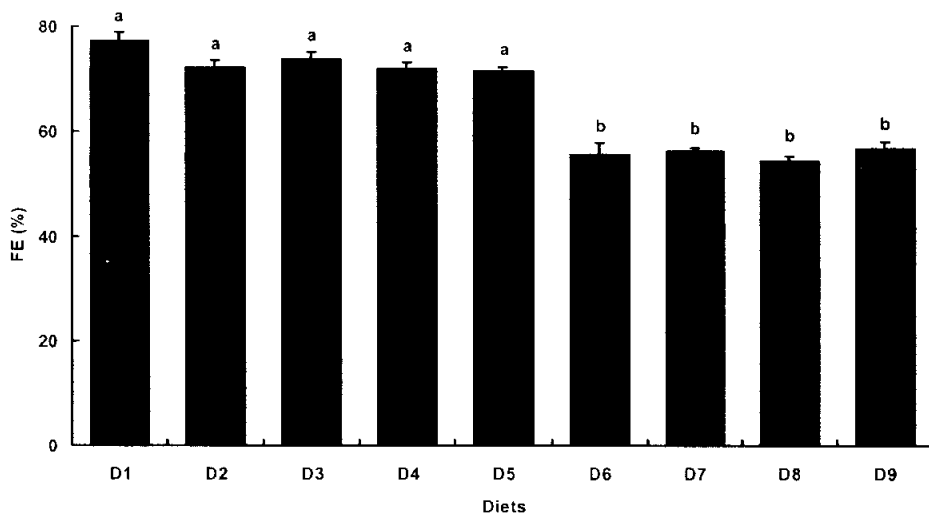


Fig. 13. Average feed efficiency (FE, %) from juvenile Korean rockfish fed 9 diets for the first 8 weeks. Values are means from triplicate groups where the bar have different superscript are significantly different ($P<0.05$).

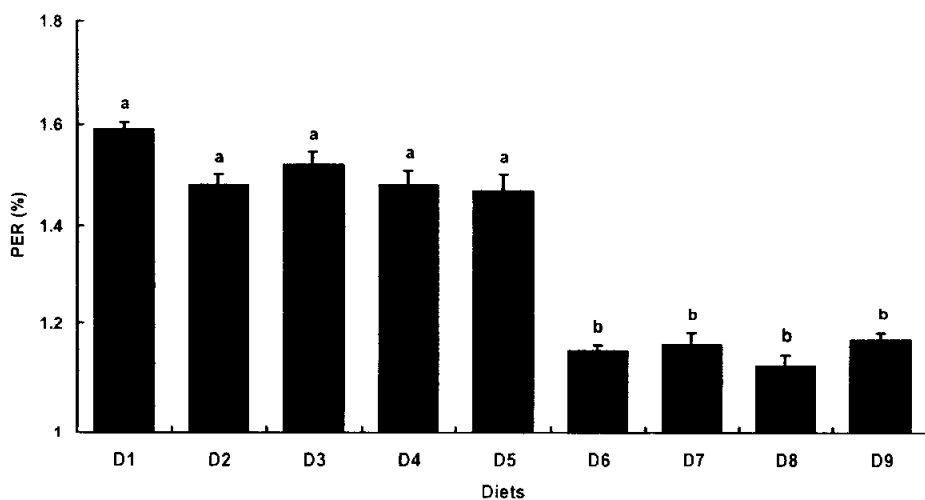


Fig. 14. Average protein efficiency ratio (PER, %) from juvenile Korean rockfish fed 9 diets for the first 8 weeks. Values are means from triplicate groups where the bar have different superscript are significantly different ($P<0.05$).

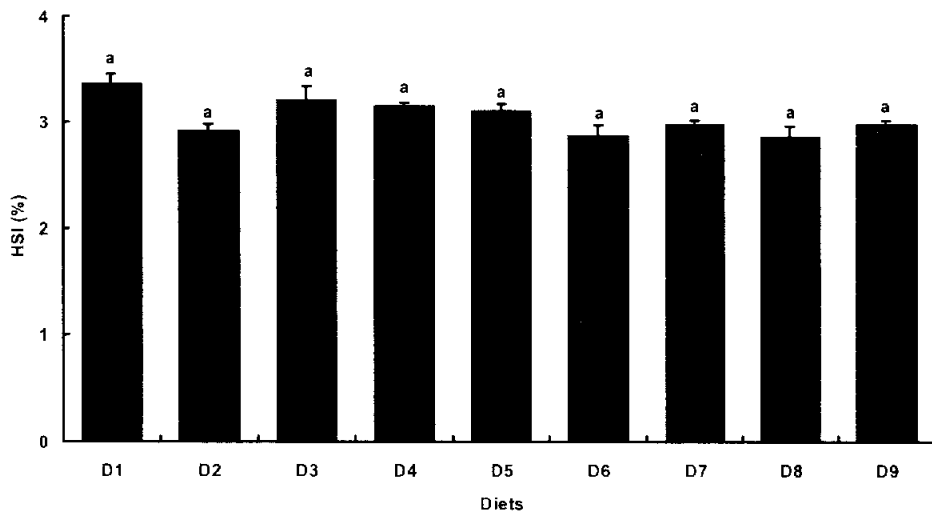


Fig. 15. Average hepatosomatic index (HSI, %) from juvenile Korean rockfish fed 9 diets for the first 8 weeks. Values are means from triplicate groups where the bar have different superscript are significantly different ($P < 0.05$).

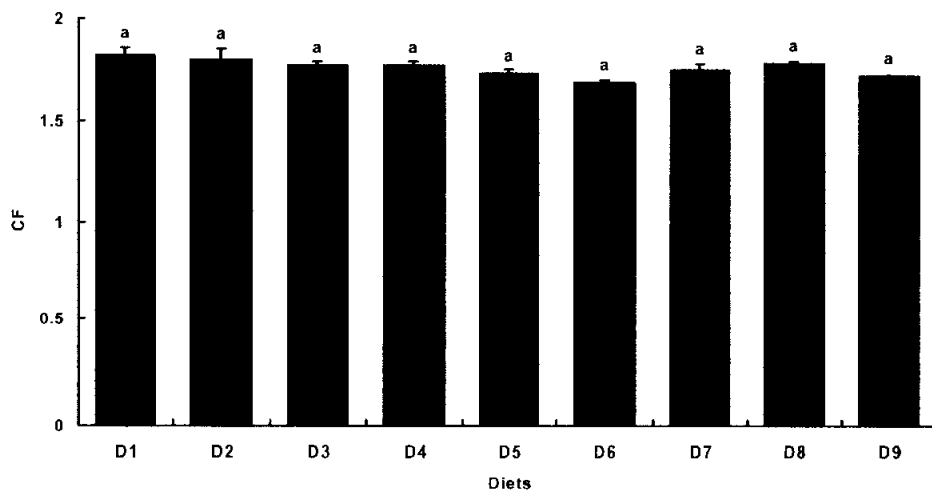


Fig. 16. Average condition factor (CF) from juvenile Korean rockfish fed 9 diets for the first 8 weeks. Values are means from triplicate groups where the bar have different superscript are significantly different ($P < 0.05$).

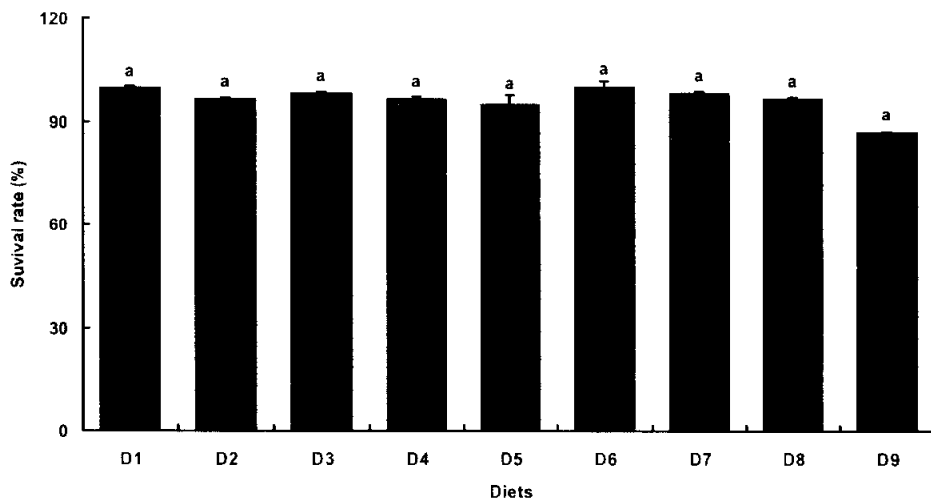


Fig. 17. Average survival rate (%) from juvenile Korean rockfish fed 9 diets for the first 8 weeks. Values are means from triplicate groups where the bar have different superscript are significantly different ($P < 0.05$).

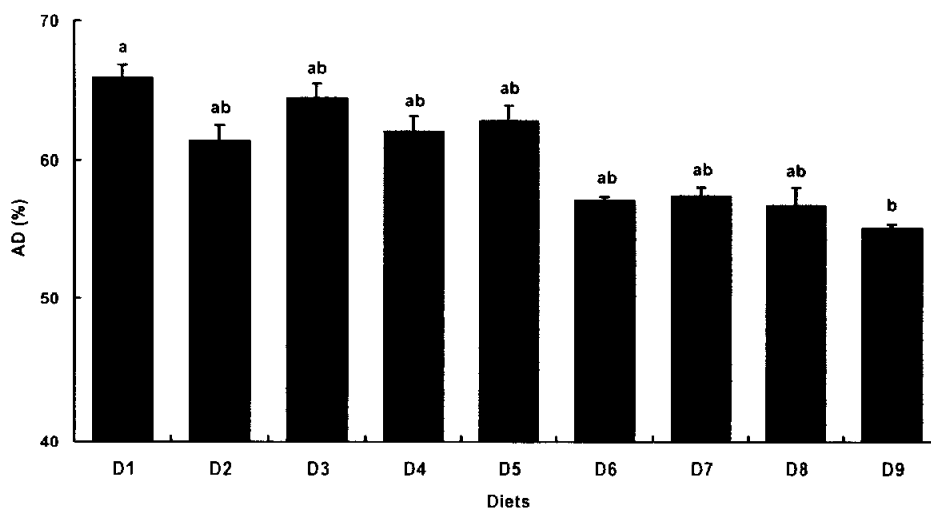


Fig. 18. Apparent digestibility of dry matter (AD, %) from juvenile Korean rockfish fed 9 diets for the last 2 weeks. Values are means from triplicate groups where the bar have different superscript are significantly different ($P < 0.05$).

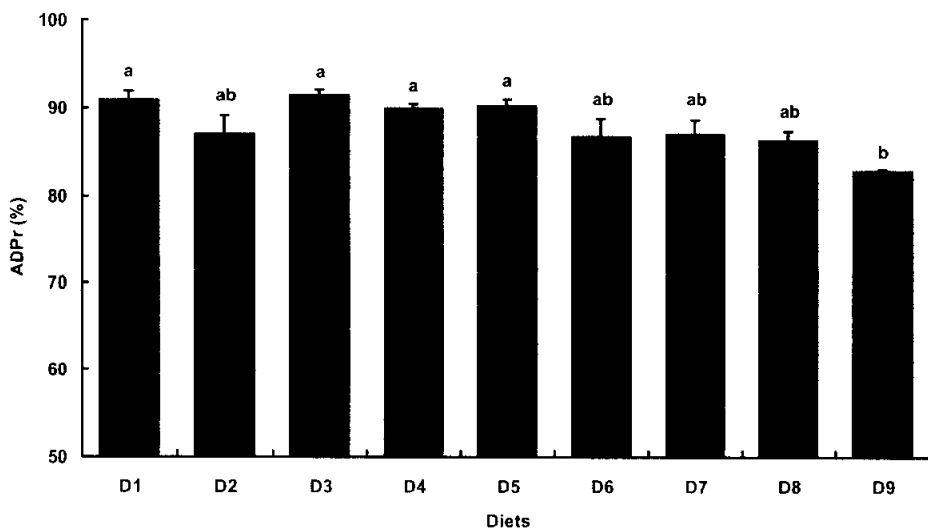


Fig. 19. Apparent digestibility of protein (ADPr, %) from juvenile Korean rockfish fed 9 diets for the last 2 weeks. Values are means from triplicate groups where the bar have different superscript are significantly different ($P < 0.05$).

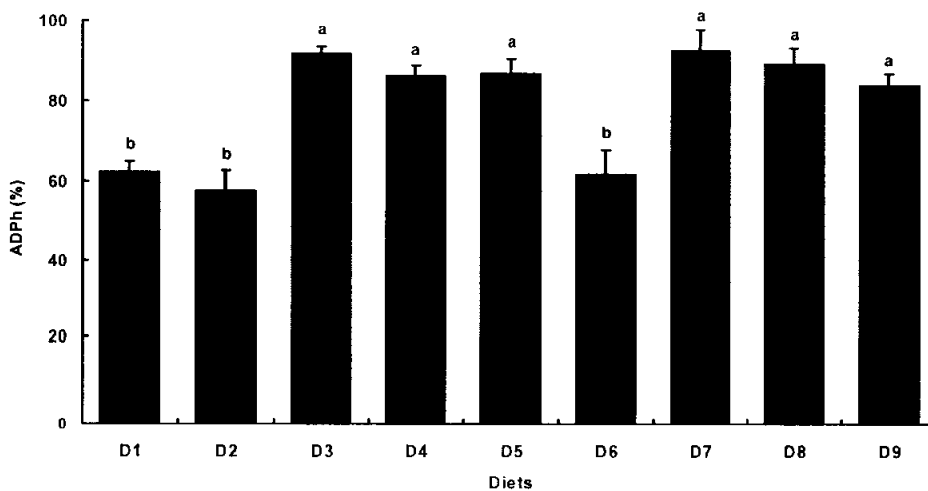


Fig. 20. Apparent digestibility of phosphorus (ADPh, %) from juvenile Korean rockfish fed 9 diets for the last 2 weeks. Values are means from triplicate groups where the bar have different superscript are significantly different ($P < 0.05$).

(3) 고 찰

어류양식에 의한 수질오염은 허실사료와 분에 의한 생물화학적 산소요구량, 질소 및 인의 수중부하에 의해 유발된다(Falke & Kautsky, 1989). 이들 수질오염 인자중 질소와 인은 조류의 성장을 촉진시켜 수중의 부영양화를 유발하는데 특히, 인은 조류의 제 1 성장 제한인자로 작용한다(Auer et al., 1986). 소화 및 대사과정을 통해 배설되는 질소의 양을 줄이기 위해서는 사료내 가소화 단백질과 에너지의 적정비율이 설정되어야 하며(Cho, 1993), 사료내 인은 가능한한 어류의 요구량 수준으로 낮춰야만 배설량의 감소를 유도할 수 있다(Lall, 1991).

본 실험에서 8주간 조피볼락 치어의 성장실험 결과, 대조사료를 공급한 D₁와 비교하였을때 증체율과 일간성장율, 사료효율 및 단백질전환효율에 있어서 사료내 phytase를 전처리하여 1000U를 공급한 D₃와는 유의적인 차이가 없었다. 이러한 결과는 동일한 어종을 대상으로 수행한 Lim(2003)의 연구한 대두박 대체 수준 보다 낮게 나타났다. Watanabe and Pongmaneerat(1993)는 대두박의 이용이 어종, 어류의 크기, 대두박의 형태에 따라 다르다고 보고하였으며, Jouni Vielma et al.,(1998)은 phytase의 의 이용은 어종, phytase의 형태 및 사료원에 따라 다르다고 보고하였다.

어류의 건강상태, 생리적인 활성 및 체내 대사장애를 진단하는 수단으로 혈액성분의 분석이 사용되고 있으며, 어종, 어체의 크기, 사료내 필수영양소의 결핍, 서식하는 환경조건 및 어체의 상태 등에 따라 혈액성분의 변동이 심한 것으로 보고되고 있다(Chun et al., 1989; Chun and Oh, 1989; Kim and Choi, 1996; Jung and Sim, 1992; Sim et al., 1995, 1998; Lee et al., 1993). 본 실험에서 혈액성분의 분석에 있어 헤마토크리트치(PVC)와 헤모글로빈농도(Hb)의 경우 모든 실험구에서 유의적인 차이를 보이지 않았다. PVC나 Hb와 같은 혈액성상의 변화로 어류의 건강상태를 구별하기에는 모순이 있을 만큼 그 변화폭이 크며, 환경조건이나 처

리방법 등에 따라서도 아주 민감하게 변화된다고 Barham et al.(1980)은 보고하고 있어 이러한 혈액성분의 분석으로 어체의 건강상태를 판단할 때는 신중히 검토할 필요가 있을 것이다. 이와 같은 혈청 및 혈액성분의 분석결과 조피볼락 치어에 있어서 어분단백질을 대두박으로 40%까지 대체하여도 어체에 영향을 미치지 않을 것으로 생각된다.

전어체의 일반성분 분석 결과(Table 3) 단백질과 회분 함량의 경우 모든 실험구에서 유의적인 차이는 나타나지 않았으며, 지방 함량의 경우 대조구인 D₀에 비교하였을때 어분 단백질을 대두단백질로 대체한 모든 실험구에서 유의적으로 낮게 나타났다. 어체에 대한 일반성분 조성은 환경조건, 종에 따른 계통차이, 증체량, 사료공급 및 사료배합등의 여러 가지 요소에 따라 영향을 받으며(Zeithner et al., 1984; Nandeesh, 1995), 성장함에 따라서는 조지방의 함량이 증가하나 조단백질과 조회분의 함량 변화는 적다고(Murai et al., 1985) 보고한 바와 같이 실험어의 조단백질, 조지방의 이용 효율이 성장단계에 따라 각기 다르기 때문에 보다 많은 연구가 이루어져야 할 것으로 생각된다.

소화율 평가 결과 건물 소화율과 단백질 소화율에 있어서는 모든 실험구간 유의적인 차이가 나타나지 않았으나, 인 소화율에 있어서 phytase의 형태에 관계 없이 phytase를 공급 하지 않은 실험구들과 비교하였을 때, phytase를 공급한 모든 실험구에서 유의적으로 높은 경향이 나타났다.

따라서, 본 실험의 결과로 볼때, 치어기 조피볼락에 있어 전처리한 phytase의 사료내 1000U 공급은 조피볼락 치어의 성장과 사료효율을 향상시킬 뿐만 아니라, 생리적인 활성화와 어체의 조성에 긍정적인 효과를 줌으로써 기능성을 가진 사료첨가제로서 이용이 가능할 것으로 판단된다.

(4) 요 약

실험 2는 국내 주요 양식어종인 조피볼락에 있어서 어분 (white fish

meal, FM)을 단백질원으로 한 기초사료에 대두박 (soybean meal, SM) 대체 수준을 3가지 수준 100:0, 70:30, 60:40으로 하여 3가지를 제작하였으며, 대두박 대체 수준 중 70:30과 60:40 2가지 수준에는 1가지의 대두박에 phytase를 1000U 전처리한 것과 2가지의 phytase 단순 첨가 수준 1000, 2000U을 포함하여 6가지의 사료를 제작하여 총 9가지의 실험사료를 공급하여 실험구당 20마리씩 3반복으로 무작위 배치하여 8주간 사육하였다. 실험 종료 후, 증체율 (weight gain, WG), 일간성장률(specific growth rate, SGR), 사료효율 (feed efficiency, FE), 단백질전환효율(protein efficiency ratio, PER)에 있어서 D₁과 비교했을때, 사료내 phytase를 전처리하여 공급한 D₃ 유의차가 없었고, 다른 모든 실험구에서는 유의적으로 낮게 나타났다(P<0.05). 반면에 헤모글로빈 함량(hemoglobin, Hb), 간중량지수(hepatosomatic index, HSI), 비만도(condition factor, CF), 헤마토크리트(hematocrit, PCV) 및 생존율(survival rate)에 있어서는 모든 실험구에서 유의적인 차이를 보이지 않았다. 전어체의 조단백질 함량에 있어서 D₀와 비교했을때, D₀를 제외한 모든 실험구에서 유의적으로 높았으며(P<0.05), 전어체 지방 함량에 있어서 D₁과 비교하였을때 모든 실험구에서 유의적으로 낮게 나타났으며(P<0.05), 단백질, 회분은 모든 실험구에서 유의차가 나타나지 않았다. 외견상 건물소화율(apparent dry matter digestibility, AD)과 외견상 단백질 소화율(aparent protein digestibility, ADPr)에 있어서 다른 모든 실험구에 비해 D₅에서 유의적으로 낮게 나타났으며(P<0.05), 반면에 외견상 인 소화율(apparent phosphorus digestibility, ADPh)은 대두박 대체수준과는 관계없이 phytase를 공급하지 않은 D₁, D₂ 및 D₆와 비교하였을 때 phytase를 공급한 모든 실험구에서 유의적으로 높은 경향이 나타났다.

따라서, 본 실험 2의 결과 치어기 조피볼락에 있어 전처리한 phytase의 사료내 1000U 공급은 조피볼락 치어의 성장과 인소화율을 증대시켰으며, 사료내 적정 첨가 수준은 phytase를 전처리하여 1000U을 공급하는 것이 적합할 것으로 판단된다.

Ⅲ. 감 사 의 글

석사과정의 미흡한 논문을 마무리하면서 여러 고마운 분들께 감사의 마음을 전하고 싶습니다. 먼저, 저에게 본 논문 디자인에서부터 전 실험 과정에 이르기까지의 지도는 물론, 학문하는 자세에 대해 끊임없이 강조하시고 가르쳐 주신 지도교수 배승철 교수님께 진심어린 존경과 감사의 말씀을 올리며, 아울러 바쁘신 와중에서도 부족한 논문의 심사를 맡아 주신 손철현 교수님과 김창훈 교수님께도 감사의 말씀을 드립니다. 그리고 학부과정 동안 양식이라는 학문의 길을 일깨워 주신 김용호 교수님, 이종화 교수님, 김종연 교수님, 이정열 교수님, 류동기 교수님께 감사드리며, 석사학위 과정동안 강의와 세미나를 통해 많은 가르침을 주신 허성범 교수님, 조재윤교수님, 장영진 교수님, 김동수 교수님, 남윤권 교수님께도 깊이 감사드립니다. 본 실험이 해양수산부 수산특정연구개발 과제로서 수행되었으며, 본 과제의 원활한 수행을 위해 도와주신 해양수산부, 해양수산부 한국해양수산개발원, (주)아쿠아피드, (주)조이엔텍, (주)이지바이오 관계자분들께도 깊은 감사를 드립니다.

대학원 생활에 있어 저를 따뜻한 사랑으로 베풀어 주신 김강웅 박사님, 왕소길 박사님과 실험전반에 걸쳐 아낌없는 관심과 조언을 쏟아주시고 때로는 형님처럼 이끌어 준 박철수, 최세민, 박건준, 임성률, 이정기, 김준형 선배님께도 감사드리며, 힘들고 지칠 때 같이 있어주고 힘이 되어 준 친구 준영, 영철, 민환, 최화에게도 고마운 마음을 전합니다. 또한 항상 곁에서 힘이 되어 주신 한경민 박사님을 비롯한 중점연구소와 사료영양연구소 가족들에게도 감사드립니다.

끝으로 오늘날이 있기까지 못난 자식의 뒷바라지에 고생하신 사랑하는 부모님, 부산에서 항상 신경써주신 할아버님과 작은아버님, 어려움 없이 공부할 수 있도록 신경써준 누님과 여동생 정화, 어느새 의젓해져버린 막내 열이에게 두손모아 감사드리며, 이 논문을 바칩니다.

IV. 참 고 문 헌

- AOAC (Association of Official Analytical Chemists). 1995. Official methods of analysis, 16th edition. AOAC International, Arlington, Virginia.
- Aoki T., K. Toyohara, and M. Sakaguchi. 1992 On the study of proximate composition, mineral, fatty acid, free amino acid, muscle hardness and color difference of six species of wild and cultured fishes. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 57:1927-1934.
- Auer, M.T., M.S. Kieseer, and R.P. Canale. 1986. Identification of critical nutrient levels through field verification of models for phosphorus and phytoplankton growth. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 43:379-388.
- Belal, I. E. H. and H. Assem, 1995. Substitution of soybean meal and oil for fish meal in practical diets fed to channel catfish, *Ictalurus punctatus*(Rafinesque) : effects on body composition. *Aquaculture Research*, 26:141-145.
- Bervridge, M.C.M., 1987. Cage aquaculture. Fishing News Books Ltd., England. 149-164.
- Brown, B.A. 1980. Routine hematology procedures. In *Hematology: Principles and Procedures*. pp. 71-112. Lea and Febiger, Philadelphia.
- Bull. Freshwater Fish. Res. Lab., 12:1-4.
- Brown, E. E. 1983. World fish farming: Cultivation and economics. 2nd ed. AVI Publishing company. Westport, Connecticut, pp. 516.
- Cain, K.D. and D.L. Garling. 1995. Pretreatment of soybean meal with phytase for salmonid diets to reduce phosphorus concentrations in hatchery effluents. *Prog. Fish Cult.* 57:114-119
- Chun, S. K., and M. J. Oh. 1989. Health assessment by hematological studies and blood chemistries in cultured carps. *Journal of Fish Pathology*, 2:19-30. (written in Korean with English abstract)
- Chun, S. K., and M. J. Oh, and J. K. Chung. 1989. The effects of Miyairi (*Clostridium butyricum* Miyairi II 588) on the hematology and growth of cultured fishes. *Journal of Fish Pathology*, 2:91-98.

(Written in Korean with English abstract)

- Cowey, C. B. and C. Y. Cho. editors. 1991. Nutritional strategies and aquaculture waste. University of Guelph, Guelph. Ontario
- Fowler, L. G. 1990. Feather meal as a dietary protein source during parr-smolt transformation in fall chinook salmon. *Aquaculture* 89:301-314.
- Gallagher, M.L. and G. Degani, 1988. Poultry meal and poultry oil as sources of protein and lipid in the diet of European eels (*Anguilla anguilla*). *Aquaculture*, 73:177-187
- Jouni Vielma et al., 1998. Effects of dietary phytase and cholecalciferol on phosphorus bioavailability in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Aquaculture*, 163:309-323
- Jouni Vielma et al., 2002. Dephytinization of two soy proteins increases phosphorus and protein utilization by rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Aquaculture*, 204:145-156
- Jung, S. H. and D. S. Sim. 1992. The hematological and hemochmical characteristics of cultured flounder, *Paralichthys olivaceus* naturally infected with pathogen bacteria. *Bulletin of National Fisheries Research and Development Agency*, 46:151-160. (written in Korean with English abstract)
- Kaushik, S. J., 1995. Nutrient requirement, supply and utilization in the context of carp culture. *Aquaculture*, 129:225-241.
- Ketola, H.G., and B.F. Harland. 1993. Influence of phosphorus in rainbow trout diets on phosphorus discharge in effluent water. *Trans. Am. Fish. Soc.* 122:1120-1126.
- Kikuchi, K, H. Honda, and M. Kiyono. 1994. Utilization of feather meal as a protein source in the diet of juvenile Japanese flounder. *Fisheries Sci.*, 60:203-306
- Kim, J. Y. and M. S. Choi. 1996. Effect of *Enteromorpha compressa* on growth and blood properties in Israeli strain of common carp (*Cyprinus carpio*). *Journal of Aquaculture*, 9:151-157. (written in

- Korean with English abstract)
- Kim, D. S., J. H. Kim, C. H. Jeong, S. M. Lee and Y. B. Moon, 1996. Effects of dietary hebs on growth and body composition in olive flounder, *Paralichthys olivaceus*. *Journal of Aquaculture*, 9:461-465. (written in Korean with English abstract)
- Lall, S. P. 1991. Digestibility, metabolism and wxcretion of dietary phosphorus in fish in: Cowey, C. B. & C. Y. Cho(Eds.). *Nutritional Strategies and Aquaculture Waste*. 21-36. Proc. 1st Int. Symp. on Nutr. Strategies in Manag. of Aquac. Waste. Ontario, Canada.
- Lall, S. P. and F. J. Bishop. 1997. Studies on mineral and protein utilization by Atlantic salmon grown in sea water. Tech. Rep. Fish. Mar. Serv. Res. Dev. 688:1-16
- Lee, S. M., J. Y. Lee, Y. J. Kang, and S. B. Hur. 1993. Effects of dietary n-3 Highly Unsturated fatty acid on growth and biochemical changes in the Korean rockfish, *Sebastes schlegli* I. Growth and body composithon. *Journal of Aquaculture*, 6:89-105. (written in Korean with English abstract)
- Luzier, J. M., Summerfelt, R. C. and Ketola H. G. 1995. Partial replacement of fish meal with spray-dried blood powder to reduce phosphorus concentrations in diets for juvenile rainbow trout, *Oncorhynvhus mykiss*(Walbaum) *Aquaculture Res.* 26:577-587.
- NRC (National Research Council). 1993. *Nutritional requirements of fish*. National Academy of Science, Washington. D. C. 114 pp.
- Papatryphon and Soares Jr, 2001. The effect of phytase on apparent diggestibility of four practical plant feedstuffs fed to striped bass, *Morone saxatilis*. *Aquaculture Nutrition*. 7:161-167
- Pongmaneerat, J., T. Watanabe, T. Takeuchi, and S. Satoh. 1993. Use of different protein meals as partial or total substitution for fish meal in carp diets. *Nippon Suisan Gakkaishi*. 59:1249-1257
- Rodehutsord, M. and E. Pfeffer. 1995. Effects of supplemental microbial phytase phosphorus digestibility and utilization in

- rainbow trout (*Oncorhynchus Mykiss*). Wat. Sci. Tech. 31:143-147.
- Schafer, A., W.M. Koppe, K.M. Meyer Burgdorff and K.D. Gunther. 1995. Effects of a microbial phytase on the utilization of native phosphorus by carp in a diet based on soybean meal. Wat. Sci. Tech. 31:149-155.
- S H Sugiura et al., 2001. Dietary microbial phytase supplementation and the utilization of phosphorus, trace minerals and protein by rainbow trout ,*Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). Aquaculture Research, 32(7):583-59
- Sim, D. S., S. H. Jung, and S. D. Lee. 1995. Changes of blood parameters of the cultured flounder *Paralichthys olivaceus* naturally infected with *Staphylococcus epidermidis*. *Bulletin of National Fisheries Research and Development Agency*, 49:149-155. (written in Korean with English abstract)
- Sim, D. S., S. H. Jung, and S. D. and M. J. Oh. 1998. Hematological studies on the live flounder, *Paralichthys olivaceus* reared in the landbase-seawater tank system. *Bulletin of Mational Fisheries Research and Development Institute*, 54:115-123
- Takii, K., M., S. Shimeno, M. Nakamura, Y. Itoh, A. Obatake, H. Kumai and M. Tekeda. 1989. Evaluation of soy protein as a partial substitute for fish meal protein partical diet for yellowtail. In M. takeda and T. Watanabe(editors), The current status of fish nutrition in aquaculture, The Proceedings of the Third international Symposium fo Feeding and nutrition in Fish, Aug. 28-Sep. 1., 1989, Toba, Japan, pp. 281-288
- TOSHIRO MASUMOTO. 2001. Effects of phytase on bioavailability of phosphorus in soybean meal-based diets for Japanese flounder *Paralichtys olivaceus*. FISHERIES SCIEMCE. 67:1075-1080
- Watanabe, T. 1991. Past and present approaches to aquaculture waste management in japan, In: Cowey, C.B. and C.Y. Cho (Eds.). Nutritional Strategies and Management of Aquaculture Waste. pp.

- 137-154. Fish Nutrition Research Lab., Ontario, Canada.
- Watson. S., E. McCauley, and J. A. Downing. 1992. Sigmoid relationships between phosphorus, mg biomass and algal community structure. Can. J. Fish. Aquat. Sci. 49:2605-2610.
- Webster, C.D., D.H. Yancey and J.H. Tidwell, 1992. Effect of partially or totally replacing fish meal with soybean meal on growth of blue catfish(*Ictalurus furcatus*). Aquaculture, 103, 141~152.
- 해양수산부통계연보, 2001. 해양수산부