

잉어(*Cyprinus carpio*) 사료 내 돈 분뇨 유래 Magnesium Hydrogen Phosphate (MgHPO₄)의 적정 첨가수준 및 인 요구량

윤태현 · 원승건¹ · 이동훈² · 정관식³ · 최정우 · 라창식 · 김정대*

강원대학교 동물자원과학대학, ¹대구대학교 동물자원학과, ²경기도해양자원연구소, ³전남대학교 수산해양대학

Phosphorus Requirement and Optimum Level of Dietary Supplementation with Magnesium Hydrogen Phosphate (MgHPO₄) Recovered from Swine Manure for Juvenile Carp *Cyprinus carpio*

Tae-Hyun Yoon, Seung-Gun Won¹, Dong-Hoon Lee², Gwan-Sik Jeong³, Jung-Woo Choi, Chang-Six Ra and Jeong-Dae Kim*

College of Animal Life Sciences, Kangwon National University, Chuncheon 24341, Korea

¹Department of Animal Resources, Daegu University, Gyeongsan 38453, Korea

²Gyeonnggi Province Maritime and Fisheries Research Institute, Yangpyeong 12513, Korea

³College of Fisheries and Ocean Science, Chonnam National University, Yeosu 59784, Korea

A growth trial was conducted to determine the optimal supplement of dietary magnesium hydrogen phosphate (MHP, MgHPO₄) which was manufactured from swine manure and phosphorus (P) requirements of juvenile carp *Cyprinus carpio*. Graded MHP of 0.5, 1.0, 1.5 and 2.0%, each was added to the basal diet (control) in lieu of cellulose to become the range of available P from 0.4 to 0.7%. The lowest weight gain (WG) and highest feed conversion ratio (FCR) were found in the control group ($P < 0.05$). The group fed a diet supplemented with 2.0% MHP showed the highest WG, which was not significantly different from those of fish groups that received 1.0% and 1.5% MHP ($P > 0.05$). The lowest FCR was observed in fish groups fed 1.5% and 2.0% MHP. Plasma inorganic P was significantly higher ($P < 0.05$) in all fish groups fed MHP-supplemented diets than in control group. A second-order regression analysis on WG revealed that the optimum dietary MHP level and the available P (AP) requirement were found to be 1.85 and 0.66%, respectively. Expressed in terms of 'g AP intake per kg BW^{0.8} per day', the AP requirement was found to be approximately 0.032 g/kg BW^{0.8}/d.

Key words: *Cyprinus carpio*, Magnesium hydrogen phosphate (MHP), Weight gain, Feed conversion ratio, Available P requirement

서 론

인(P)은 동물이나 식물의 성장, 번식 그리고 건강에 관련된 정상적인 생명현상 유지를 위한 필수 영양소의 하나이다. 인은 인산염의 형태로 호흡, 광합성, 근수축, 세포분할, 유전정보의 전달, 발효와 같은 근본적인 생화학 반응에 있어 중요한 역할을 한다(Lall, 1991). 어류와 같은 여러 수중 생명체는 환경수로부터 인을 흡수할 수 있으나, 담수나 해수내 인의 함량은 0.02-0.6 mg/L로 저농도로 존재하며 흡수율 또한 낮기 때문에(Lall,

1991) 인은 먹이 또는 사료를 통해 공급된다. 한편, 어류의 배설물이나 허실사료를 통한 인은 수중환경의 부영양화를 초래하며 조류의 성장을 촉진시킨다(Auer et al., 1986). 따라서 어류 사료내 총 인(total phosphorus) 함량은 인 요구량을 충족시키면서 적정량을 초과하지 않도록 유지해야 한다. 그러나 사료 원료의 인 함량은 각각 다르고 원료 별 이용률도 다르기 때문에 상업용 배합사료의 이용가능 인 함량을 요구량 수준에 맞추더라도 총 인의 수준은 훨씬 높게 존재할 수밖에 없다. NRC (2011)에 따르면 사육어류의 인 요구량은 0.3에서 0.9%로 어중

<http://dx.doi.org/10.5657/KFAS.2017.0146>



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.

Korean J Fish Aquat Sci 50(2) 146-152, April 2017

Received 5 December 2016; Revised 21 March 2017; Accepted 23 March 2017

*Corresponding author: Tel: +82. 33. 250. 8634 Fax: +82. 33. 259. 5570

E-mail address: menzang@gmail.com

에 따라 수준 차이를 보이고 있다. 위가 없는 잉어의 인 요구량(0.6-0.7%)은 Ogino and Takeda (1976)에 의해 최초로 보고되었으며, 후속적으로 여러 연구자들에 의해 이용가능 인(available phosphorus: AP) 요구량이 사료내 0.5-0.7%로 보고되었다(Schaefer et al., 1995; Kim et al., 1998; Sugiura et al., 2000; Nwana et al., 2010; Xie et al., 2011). 육상동물뿐 아니라 수중동물들은 동식물성 원료내 인을 효율적으로 이용할 수가 없기 때문에 그들의 최대 성장을 위해 일인산칼슘(monocalcium phosphate, MCP), 이인산칼슘(dicalcium phosphate, DCP) 또는 삼인산칼슘(tricalcium phosphate, TCP)과 같은 인산 공급제가 사료에 첨가된다. 그러나 인광석의 세계적 보유량은 점점 고갈되고 있다(Shu et al., 2006). 따라서 인을 재활용 하는 방안이 고려되고 있는데, 그 중 하나가 인과 질소가 풍부한 돈분뇨로부터 인을 추출하는 방안이다. 돈분뇨는 표층수의 오염원으로 적절한 처리가 이뤄지지 않고 수계 내로 방출할 경우 심각한 부영양화를 유발하게 된다. 따라서 돈분뇨 액상에 마그네슘을 처리하여 인 침전물을 얻을 수 있고, 침전을 유도하면 인을 효율적으로 수거할 수 있다(Liu et al., 2011). 만약, 이렇게 수거된 인을 수산양식뿐 아니라 지상가축 사육용 사료에 효율적으로 이용할 수 있다면 인산공급제의 수입대체 효과뿐 아니라 낭비자원의 재활용을 통한 환경보호 효과까지 이룰 수 있을 것이다. 메기를 이용한 사전 연구에서 Yoon et al. (2014, 2015)은 돈분뇨로부터 추출된 magnesium hydrogen phosphate (MHP, $MgHPO_4$)의 사료내 첨가가 인 대체 공급원으로서 MCP만큼 우수한 성장과 사료효율뿐 아니라 높은 인 이용성을 나타냈다고 보고하였다. 또한 잉어를 이용한 연구에서도 MHP 2.0% 첨가구는 동수준의 MCP 첨가구에 버금가는 우수한 성장효과를 보였다(Yoon et al., 2016). 따라서 본 연구는 잉어의 최대 성장을 위한 MHP의 사료내 적정 혼합수준을 평가하고 AP 요구량을 재확인하고자 수행되었다. 성장 외에 혈청내 무기태 인의 농도와 전어체 인 함량을 평가 척도로 이용하였다.

재료 및 방법

인산공급제의 제조

본 연구에 대한 실험계획안은 강원대학교 동물실험윤리위원회에 의해 승인을 받았다. 인 첨가제 시험을 위한 MHP는 강원대학교에서 설비한 근교 양돈농가 내의 인 회수공정으로부터 회수한 물질의 전처리 과정을 통해 공급받았다. 인 회수공정의 유효용적은 400 L로 Pilot규모의 시설이었으며 수리학적 체류 시간은 3시간으로 운전하였다. pH는 8-9범위로 유지하였고, 폭기장치를 활용한 CO_2 탈기를 활용하여 추가적인 pH 조절제는 사용하지 않았다. 돈분뇨 내 풍부한 암모늄, 인산과 추가적으로 공급된 마그네슘은 위의 조건에서 동일 몰비율(molar ratio)로 크리스탈 침전물(struvite)이 형성되었다. 추가적으로 공급된 마그네슘은 시중에 벌크로 판매되는 $MgCl_2$ 를 이용하여 Mg

와 P의 비율을 1.2:1로 유지하며 반응시켰다. 회수된 침전물의 확인을 위하여 X-ray 회절계(Rigaku, Model D/Max-2500V, Japan)로 struvite임을 확인하였다. 회수된 Struvite는 실험사료내 인 첨가제(MHP)로 사용하기 위해 550°C에서 30분간 회화시켜 암모니아성 질소를 제거한 후 분말형태로 분쇄하였다.

실험사료의 제조

대조구 사료는 어분 20%, 대두박 40%, 콘글루텐 5%, 소맥분 27.18%, 어유 2%, 대두유 2% 및 셀룰로스 2%를 기타 첨가제와 혼합하여 100%로 구성되었으며, MHP 첨가사료는 셀룰로스를 대신하여 MHP를 각각 0.5, 1.0, 1.5 및 2% 첨가하여 이용가능 인의 함량이 0.45-0.71%가 되도록 혼합하였다(Table 1). 사료배합에 앞서 주원료의 화학적 조성을 분석하여 실험사료의 조단백질 및 조지방 건물함량은 각각 42.5% 및 6.5%로 동일하게 유지되도록 하였다. 배합비에 따라 계량된 원료는 햄머밀을 이용하여 100 mesh 크기로 분쇄한 후 V-믹서(Hangjin Co., Korea)를 이용하여 각 실험사료 500 kg씩 혼합하였다. 그 후 각 실험사료 혼합물을 소형의 twin extruder (model ATX-2, Fesco Precision Co., Korea)를 이용하여 1.5 mm와 2.5 mm 크기의 침강펠렛으로 제조하였다. 대조구사료의 인 소화율 측정을 위해 펠렛제조 후 약 10 kg의 대조구사료를 분쇄하여 1.0%의 산화크롬과 혼합하였다. 이 혼합물에 20%의 증류수를 섞어 육세절기를 이용하여 펠렛팅한 후 60°C 열풍순환건조기를 이용하여 12시간 건조시켜 소화율 실험시까지 -20°C에 보관하였다.

성장실험 및 소화율 평가

약 5 g 전후의 잉어(*Cyprinus carpio*) 치어 5,000 마리를 경남대수면연구소에서 기증받아 강원대학교 부설 사육시험장으로 이동하여 3주간 대조구 사료를 급여하며 실험수조에 적응시켰다. 시험 당일 24시간 절식한 어류(개시평균 어체중 6.6 g)를 그룹당 3반복씩 5그룹으로 무작위로 15개 사육수조(0.4×0.6×0.36 cm, 수량 66 L)에 각각 30마리씩 배치하였다. 사육실험은 9주간 지속되었으며, 실험사료는 하루 두 번(08:30, 17:30) 어체중의 약 4% 수준으로 주당 6일간씩 반복 급여하였다. 순환여과식 사육장치 내 첫 번째, 두 번째 및 세 번째 3주간 평균 사육수온은 각각 26 ± 1.2 , 22 ± 1.2 and 18 ± 1.5 °C로 유지되었다. 용존산소량은 전실험기간 동안 5.5-6.4 mg O_2 /L로 유지되었으며, 사육조내 유입수의 흐름은 분당 5 L이었다. 9주간의 사양실험 기간 중 초기 6주간은 1.5 mm 크기의 펠렛을 급여하였으며, 후반 3주간은 2.5 mm 펠렛을 급여하였다. 개시어와 종료어의 체중은 3주마다 사육조내 전체무게를 측정하여 마리수로 나누어 계산하였다. 증체율(weight gain, WG), 일간 사료섭취율(daily feed intake, DFI), 사료계수(feed conversion ratio, FCR), 일간특이성장률(specific growth rate, SGR), 단백질 이용효율(protein efficiency ratio, PER) 및 생존율(survival rate, SR)을 조사하였다. 대조구 사료의 인 소화율 측정을 위해 종료어 60마리씩 분채집장치가 부착된 3개의 수조(130 L)에 일

주일간 적응시킨 후 7일간 분 시료를 수집하였다. 대조구 사료는 하루 두 번씩 (08:30, 16:30) 손으로 반복급여 하였으며, 두 번째 급여 후 배수 파이프와 분체집통을 깨끗이 청소하였다. 반복구당 7일간 수집된 분 시료는 동결 건조한 후, 분쇄한 후 분석 전까지 냉동보관(-20℃)하였다. 인 소화율은 Maynard and Loosli (1969)의 공식에 따라 구하여 대조구 사료의 총 인 함량에 곱하여 AP를 계산하였으며, MHP의 AP 함량(98%)은 Yoon et al. (2016)에 의해 측정된 값을 이용하였다.

시료채집 및 성분분석

실험어의 사료절식 24시간 후, 어체중 측정은 어류마취제인 AQUI-S (New Zealand Ltd., Lower Hutt, NZ)로 마취시킨 후 전체 무게로 측정하였다. 또한 혈액분석을 위해 각 수조당 2마리씩 무작위 추출하여 AQUI-S로 마취하였고, 어류의 미부정맥에서 헤파린 처리된 주사기를 이용하여 채혈하였다. 사료원료, 사료 및 분의 일반성분 분석은 AOAC (1995)의 방법에 따라 수분은 105℃의 dry oven에서 24시간 동안 건조 후 측정하였고, 조단백질은(N×6.25)은 Kjeldahl 질소정량법으로, 조지방은 Soxhlet 추출법(ether 추출법), 조섬유는 1.25% H₂SO₄와 1.25% NaOH로 소화한 후 그리고 조회분은 건식 회화법으로 550℃의 회화로에서 4시간 동안 태운 후 측정하였다. 인 소화율 측정을 위해 사료 및 분 내 Cr의 분석은 Bolin et al. (1952)의 방법에 따라 440 nm 파장에서 spectrophotometer (Shimadzu, UV-120-12)을 이용하여 측정하였다. 사료내 칼슘과 사료 및 전어체(반복구당 5마리)의 인은 미국 환경청의 방법 (USEPA, 1996)에 따라 시험 시료를 전처리 한 후, 유도결합 플라즈마 질량분석기(ICP-MS) (Perkin-Elmer, NexION 300D, Waltham, MA, U.S.A.)를 이용하여 측정하였다. 채혈된 전혈(whole blood)을 이용하여 헤마토크리트(PCV, %)는 microhematocrit method (Brown, 1980)로 측정하였고, 헤모글로빈(Hb, g/dL)은 Drabkin's 용액을 사용하여 cyan-methemoglobin 방법(Sigma Chemical, St. Louis, Missouri; total hemoglobin procedure No. 525)으로 측정하였다. 혈장(blood plasma)은 채혈한 전혈을 원심분리관에 넣고 원심분리(3,500 g, 5 min, 4℃)하여 상등액을 취한 후 분석 전까지 냉동보관(-80℃)하였다. 혈장 내 무기태 인(Inorganic phosphorous, Pi) 분석은 시판되고 있는 임상용 kit (Clinimate IP, Sekisui medical co. Ltd., Tokyo, Japan)와 혈액분석기(HITACHI 7600-210, Hitachi High-Technologies co. Ltd., Japan)를 이용하여 분석하였다.

통계처리

성장실험에서 보여지는 모든 자료(개시어체중, 종료어체중, 일간사료섭취율, 증체율, 사료계수, 일간특이성장률, 단백질 이용효율, 생존율), 전어체 인 및 혈액학적 자료의 모든 변수는 SPSS Version 10 (SPSS, 1999) 프로그램의 일원분산분석(one-way ANOVA)을 이용하여 분석하였다. 분석에 앞서 모든 자료의 변량의 동질성(homogeneity of variance)은 Cochran's

test (Sokal and Rohlf, 1994)를 이용하여 확인하였다. 실험구별 각 변수에 대한 유의차가 발견되었을 시, 사후검정은 Duncan's multiple range test 분석을 이용하였다(Duncan, 1955). 잉어 치어기의 증체율에 기반한 사료내 최적 MHP 수준과 인 요구량 분석은 2차 다항식 회귀분석을 이용하였으며 유의수준 5% ($P<0.05$)에서 결정되었다.

결 과

실험사료의 조단백질 및 조지방 함량은 의도한대로 각각 42.5% 및 6.5% 수준으로 유지되었다. 총 인 함량은 대조구가 1.08%로 가장 낮았으며, MHP의 첨가수준에 따라 1.16 (MHP0.5)에서 1.42% (MHP2.0)로 점진적인 증가를 보였다. 소화율 실험을 통한 대조구의 AP 함량은 0.38%로 나타났으며, MHP 첨가구의 AP함량은 0.45에서 0.71%로 계산되었다(Table 1). 실험사료를 9주간 섭취한 잉어의 성장능력, 생존율 및 전어체 인 함량은 Table 2에 나타난 바와 같다. 종료어체중은 대조구가 18.6 g으로 처리구중 가장 낮았으며($P<0.05$), MHP2.0 구가 22.5 g으로 가장 높았다. 마리당 건물사료 섭취량은 16.1 (대조구)에서 17.5 g (MHP2.0)으로 MHP 첨가구가 공히 대조구에 비해 유의적으로 높았으나($P<0.05$), MHP 첨가구간 유의성은 발견되지 않았다. 일간사료섭취율(DFI)은 1.90에서 2.03%로 MHP1.5 및 MHP2.0 구가 타처리구에 비해 유의적으로 낮았다($P<0.05$). 증체율(WG)은 185 (대조구)에서 237% (MHP2.0)의 범위를 보였으나 MHP 1.0% 이상 첨가구간에는 유의적인 차이가 없었다($P>0.05$). 사료계수(FCR)는 MHP1.5 및 MHP2.0 구가 공히 1.11로 처리구중 가장 낮았으며 대조구가 1.33으로 가장 높았다($P<0.05$). 단백질이용효율(PER) 또한 MHP1.5 및 MHP2.0 구가 2.12 및 2.16으로 처리구중 가장 높았으며, 대조구가 1.76으로 가장 낮았다. 일간특이성장률(SGR)은 MHP2.0 구가 1.93으로 가장 높았으나 MHP1.0 및 MHP1.5 구간에는 유의적인 차이가 없었다($P>0.05$). 9주간의 성장실험 기간중 처리구 공히 한마리의 폐사도 발생하지 않았다. 한편, 전어체내 인 함량은 대조구가 0.37%로 가장 낮았으며, MHP2.0 구가 0.45%로 가장 높았다. PCV 수치는 25.8 (대조구)에서 29.5% (MHP1.0)의 유의적 차이를 보였으나($P<0.05$), Hb의 경우 7.7 (대조구)에서 8.7 g/dL (MHP2.0)의 범위로 처리구간 유의적인 차이가 발견되지 않았다($P>0.05$). 혈청내 무기태 인 함량은 대조구(4.1 mg/dL)와 MHP2.0 (7.0 mg/dL) 구간 유의성이 있었으나 MHP 첨가구간에는 유의성이 발견되지 않았다($P>0.05$). 증체율에 기반하여 2차 다항식 회귀 분석을 이용한 사료내 적정 MHP 혼합수준은 1.85% (Fig. 1) 그리고 AP 요구량은 0.66% (Fig. 2)로 평가되었다.

고 찰

사양실험 9주간 종료 후 대조구는 WG, FCR, PER 및 FCR

Table 1. Ingredient and chemical composition of the experimental diets¹

Ingredient (%)	CON	MHP			
		0.5%	1.0%	1.5%	2.0%
Fish meal	20.00	20.00	20.00	20.00	20.00
Soybean meal	40.00	40.00	40.00	40.00	40.00
Corn gluten M	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00
Wheat flour	27.18	27.18	27.18	27.18	27.18
Soya oil	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00
Fish oil	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00
Vitamin mix. ²	0.70	0.70	0.70	0.70	0.70
Vitamin mix. ³	0.30	0.30	0.30	0.30	0.30
Lysine-HCl	0.30	0.30	0.30	0.30	0.30
DL-methionine	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20
Choline-HCl	0.30	0.30	0.30	0.30	0.30
Antioxidant	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02
Cellulose	2.00	1.50	1.00	0.50	-
MHP (Magnesium hydrogen phosphate)	-	0.50	1.00	1.50	2.00
Total	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
Composition (% DM) ⁴					
Crude protein	42.78	42.87	42.80	42.56	42.49
Crude lipid	6.77	6.59	6.53	6.45	6.57
Crude fiber	4.29	3.76	3.10	2.80	2.32
Crude ash	7.45	8.33	8.67	8.97	9.34
Ca	1.40	1.45	1.51	1.55	1.59
P	1.08	1.16	1.24	1.32	1.42
AP ⁵	0.38	0.45	0.53	0.61	0.71

¹MHP, magnesium hydrogen phosphate; DM, dry matter; AP, available P. ²Vitamin added to supply the following (per kg diet): vitamin A, 4,000 IU; vitamin D₃, 800 IU; vitamin E, 150 IU; vitamin K₃, 20 mg; thiamine HCl, 25 mg; riboflavin, 50 mg; D-Ca pantothenate, 100 mg; biotin, 1 mg; folic acid, 20 mg; vitamin B₁₂, 0.2 mg; niacin, 200 mg; pyridoxine HCl, 20 mg; ascorbic acid, 500 mg; inositol, 200 mg; BHT, 15 mg; BHA, 15 mg. ³Mineral added to supply the following (per kg diet): copper sulfate (25.4% Cu), 30.5 mg; zinc sulfate (22.7% Zn), 230 mg; manganous sulfate (32.5% Mn), 100 mg; cobalt chloride (24.8% Co), 20 mg; potassium iodide (76.4% I), 6.5 mg; sodium selenite (45.6% Se), 2.2 mg; sodium fluoride (45.2% F), 8 mg. ⁴Values are means of 2 determinations. ⁵Available phosphorus calculated based on P availabilities of control diet (35.2%) and MHP (98.0%).

에 있어 MHP 첨가구에 비해 유의적인 차이를 보였다. 그러나 사료내 MHP의 첨가수준이 1.0% 이상구는 WG와 SGR에 있어 유의적인 차이가 없었으며, FCR과 PER의 경우 MHP 1.5% 구와 2.0% 구에만 유의적인 차이가 인정되지 않았다. 본 연구결과는 메기를 이용한 유사한 실험에서 사료내 MHP의 첨가수준이 1.0% 이상일 때 성장률과 사료이용효율이 개선되었다 (Yoon et al., 2015)고 보고한 내용과 잘 부합된다. 특히, 잉어를 이용한 전 연구(Yoon et al., 2016)에서 MHP 2.0% 첨가구는 동수준의 MCP 첨가구에 버금가는 성장능력을 나타냈는데, 본 연구에서 MHP 1.5% 첨가구가 2.0% 첨가구와 모든 척도에서 유의적인 차이를 보이지 않았다는 사실은 효율적인 인 첨가제로

서의 이용가능성을 시사한다. 어류의 최대성장을 위해 실용사료내 인 첨가제의 사용은 필수적인 것이다. Kim et al. (1998)은 잉어(*Cyprinus carpio*) 사료내 MCP의 첨가수준을 0-5%로 등급화한 연구에서 성장과 사료이용효율 및 인 부하량의 반응척도에서 2% 첨가구가 가장 우수하였다고 보고하였다. 위가 존재하는 무지개 송어(*Oncorhynchus mykiss*)의 경우에도 사료내 인분함량이 감소할 경우 성장능력을 개선시키기 위해서는 0.5-1.0%의 MCP 첨가가 필요하다고 보고되었다(Hernandez et al., 2005). 한편, 인 분해효소가 첨가될 경우 붕어(*Carassius auratus*) 사료내 MCP 첨가수준은 2%에서 1%로 감소될 수 있다고 하였다(Liu et al., 2012). Nwana et al. (2009)은 아프리카

Table 2. Growth performance of carp *Cyprinus carpio* fed diets with graded levels of magnesium hydrogen phosphate (MHP) for 9 weeks¹

Parameters	Diet				
	CON	MHP0.5	MHP1.0	MHP1.5	MHP2.0
Initial wt (g/fish)	6.53±0.05 ^{ns}	6.61±0.10	6.49±0.04	6.62±0.08	6.68±0.06
Final wt (g/fish)	18.64±0.37 ^c	20.61±0.21 ^b	21.10±0.05 ^b	22.24±0.16 ^a	22.52±0.37 ^a
Feed intake (g DM/fish)	16.09±0.14 ^b	17.31±0.07 ^a	17.34±0.03 ^a	17.32±0.07 ^a	17.52±0.14 ^a
DFI ²	2.03±0.03 ^a	2.02±0.02 ^a	2.00±0.01 ^a	1.90±0.01 ^b	1.90±0.01 ^b
WG ³	185.44±8.02 ^c	211.79±2.95 ^b	225.18±1.98 ^a	235.98±6.39 ^a	237.31±7.13 ^a
FCR ⁴	1.33±0.05 ^a	1.24±0.01 ^b	1.19±0.01 ^b	1.11±0.02 ^c	1.11±0.02 ^c
PER ⁵	1.76±0.06 ^d	1.87±0.02 ^c	1.97±0.01 ^b	2.12±0.04 ^a	2.16±0.05 ^a
SGR ⁶	1.66±0.04 ^c	1.80±0.01 ^b	1.87±0.01 ^a	1.92±0.03 ^a	1.93±0.03 ^a
SR ⁷	100.00±0.00 ^{ns}	100.00±0.00	100.00±0.00	100.00±0.00	100.00±0.00
P in whole body (%)	0.37±0.02 ^b	0.39±0.02 ^b	0.43±0.02 ^{ab}	0.44±0.01 ^a	0.45±0.02 ^a

¹Values (means±SE of triplicates) with different superscripts in the same row are significantly different ($P<0.05$); ns=nonsignificant. ²Daily feed intake (%/av. wt/d)=dry feed intake (g/fish)/[(initial wt+final wt)/2]/experimental days×100. ³Weight gain (%)=(final weight (g)-initial weight (g))×100/initial weight (g). ⁴Feed conversion ratio=dry feed intake/wet weight gain. ⁵Protein efficiency ratio=wet weight gain (g)/protein intake. ⁶Specific growth rate (%)=[Ln final weight (g)-Ln initial weight (g)]/experimental days×100. ⁷Survival rate (%)=final fish number/initial fish number×100.

Table 3. Hematocrit (PCV), hemoglobin (Hb) and plasma inorganic phosphorus (Pi) levels of juvenile carp *Cyprinus carpio* fed the experimental diets for 9 weeks¹

Parameters	Diet				
	CON	MHP0.5	MHP1.0	MHP1.5	MHP2.0
PCV (%)	25.8±1.47 ^b	27.7±2.58 ^{ab}	29.5±1.87 ^a	27.0±2.37 ^{ab}	28.0±2.37 ^{ab}
Hb (g/dL)	7.7±0.66 ^{ns}	8.4±0.92	8.2±0.54	8.2±0.84	8.7±0.46
Pi (mg/dL) ²	4.1±0.93 ^b	5.9±1.17 ^a	5.5±0.54 ^a	6.9±0.78 ^a	7.0±1.83 ^a

¹Values (means±SE of triplicates, n=6) with different superscripts in the same row are significantly different ($P<0.05$); ns=nonsignificant. MHP, magnesium hydrogen phosphate.

카산 메기(*Clarias gariepinus*)의 성장능력은 사료내 DCP의 수준이 3-4%일 때 가장 우수하였다고 보고하였다. 비록 MCP가 높은 용해성에 기인해 잉어사료내 AP 함량을 높이기 위해 가장 널리 사용되는 인 첨가제이긴 하지만(Ogino et al., 1979), 가격이 비쌀뿐 아니라 언젠가 고갈될 제한적인 인 공급원이다. 따라서 돈분뇨와 같은 폐기자원에서 인을 수거하여 동물용 사료첨가제로서 재활용하는 것은 중요한 사안이다. 본 연구에서 성장률에 기반한 적정 MHP 첨가수준은 1.85%로 나타났는데(Fig. 1), 이것은 메기에서 밝혀진 1.62% (Yoon et al., 2015)보다 약간 더 높았다. 그 이유는 잉어는 위가 부재하여 염산의 분비가 일어나지 않는다는 사실에 기인할 것이다. 한편 사료내 MHP의 첨가수준이 증가함에 따라 전어체내 인 함량은 점진적으로 증가하였는데, 이것은 사료내 AP의 증가와 함께 혈청내 무기태인의 점진적 증가에 기인한 것으로 보인다(Table 3).

어류의 인 요구량은 Na_2HPO_4 또는 KH_2PO_4 와 같은 시약급의 인 공급원을 첨가한 정제 또는 반정제사료를 이용하여 설정되었는데, 반응척도로 WG, 전어체내 인, 척추내 인, 또는 혈청

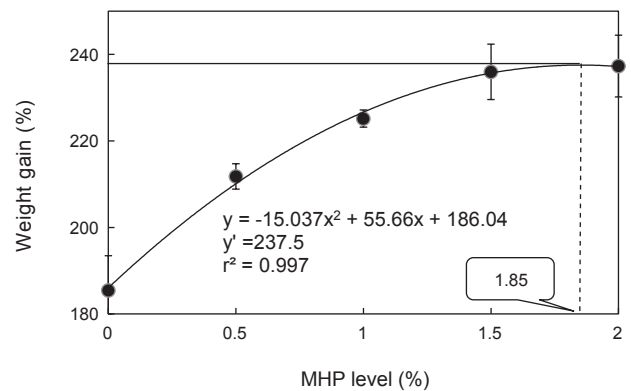


Fig. 1. Polynomial regression analysis on weight gain (WG, %) of juvenile carp *Cyprinus carpio* to dietary magnesium hydrogen phosphate (MHP) levels.

내 인이 사용되었다(Antony Jesu Prabhu et al., 2013). 그러나 실용사료의 배합시 이러한 자료를 활용하기 위해서는 먼저 투

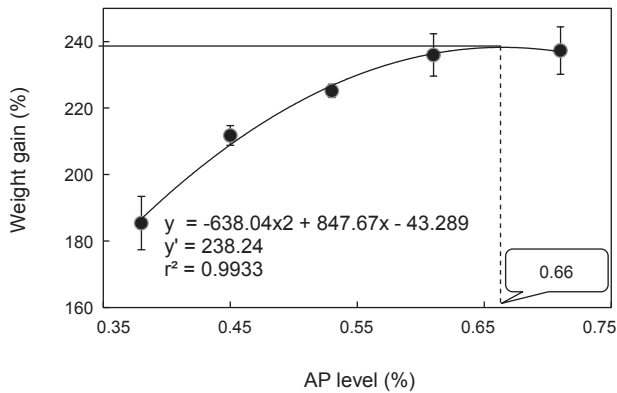


Fig. 2. Polynomial regression analysis on weight gain (WG, %) of juvenile carp *Cyprinus carpio* to dietary available phosphorus (AP) levels.

정어류를 위한 원료사료의 인 이용성이 평가되어야만 한다. 따라서 본 연구에 선행된 연구(Yoon et al., 2016)에서 실용사료내 MHP의 인 이용성을 평가하고 본 연구에서 대조구의 인 이용성을 측정하여 실험사료의 AP 함량을 계산하였다. 그리고 성장실험을 통하여 성장능력뿐 아니라 전어체내 인함량과 혈청내 무기태 인 함량을 측정하여 실용사료를 이용한 AP 요구량을 평가하고자 하였다. 실험사료내 원료사료의 차이는 MHP와 cellulose뿐이었다. 실험사료내 AP 수준은 0.38 (대조구)에서 0.71% (MHP2.0)로 비록 모든 반응척도에서 대조구가 유의적으로 낮은 성장능력을 보였으나 기형어의 발생이나 한마리의 폐사도 없을뿐 아니라 전어체내 인 함량에 있어 MHP0.5 및 MHP1.0 구와 유의적인 차이를 보이지 않았다($P>0.05$). 이러한 사실은 대조구의 이용가능 인 수준이 결핍증상을 예방하기 위한 최소한의 AP 요구량은 충족한 수준임을 암시한다고 볼 수 있다. 그러나 9주간의 성장실험 결과 WG와 SGR 그리고 전어체내 인 함량은 사료내 AP 수준이 0.53% 이상의 구간에는 유의적인 차이가 발견되지 않았으나, WG에 기반한 AP 요구량은 0.66%로 평가되었다(Fig. 2). 한편, 동일한 조건에서 동일한 어체중의 잉어로 진행된 선행 연구(Yoon et al., 2016)에서 나타난 WG는 278%로 본 연구(237%)보다 약 41% 포인트 높게 나타났는데, 이것은 실험사료내 어분 함량의 차이에서 기인한 것으로 보인다. 선행연구의 사료내 어분함량은 25%였으나, 본 연구의 사료내 어분함량은 20%로 유지되었다. 이러한 사실은 사료내 어분을 식물성 단백질원으로 대체할 경우 필수 아미노산 조성의 변화로 어류의 성장이 감소할 수 있다는 것을 시사한다(Gatlin et al., 2007). 어류의 AP요구량은 어종과 크기에 따라 달라지며 동일 어종일지라도 실험사료의 배합비율, 무기태 인 공급원의 형태 및 반응 척도에 따라 변이가 나타날 수 있다(Antony Jesu Prabhu et al., 2013). WG에 근거한 대서양 연어(*Salmo salar*)의 요구량은 0.6% (Ketola, 1975)인 반면, 전어체내 인 함량에 근거한 요구량은 0.9% (Asgard and Shearer, 1997)로 보고되었

다. 그러나 반정제사료를 급여하여 WG에 근거해 보고된 무기태 인의 요구량은 0.37에서 0.54%로 비슷한 수치를 보여주고 있다(Ketola and Richmond, 1994; Rodehutsord, 1996; Sugiura et al., 2007). 여러 연구자들(Schaefer et al., 1995; Kim et al., 1998; Nwana et al., 2010; Xie et al., 2011)에 의해 보고된 잉어의 WG에 근거한 요구량은 0.5-0.7%로 본 연구에서 밝혀진 수치와 잘 부합하고 있다. 관행적인 인 요구량 설정방법은 어체중이 큰 어류에는 적합하지 않아 Sugiura et al. (2000)은 노를 통한 무기태 인과 총 인의 배설량에 기반하여 설정한 203 및 400 g 무기태 인의 인 요구량은 각각 0.66 및 0.55%라고 보고하였다. 비록 인 요구량이 어종간 및 어체중간에 차이를 보일지라도 본 연구 결과는 잉어(Kim et al., 1998), *Melanogrammus aeglefinus* (Roy and Lall, 2003) 및 메기(Yoon et al., 2015)에서 보고된 수치와 잘 부합하고 있다. 최근 Antony Jesu Prabhu et al. (2013)은 어류의 인 요구량을 일일 절대치 AP섭취량(g AP intake per kg BW^{0.8} per day)로 표현할 것을 권장하면서 WG에 기반한 여러 어류의 평균 일일 절대치 요구량은 0.062 g/kg BW^{0.8}/d 이라고 보고하였다. 그러나 메기를 이용한 선행연구(Yoon et al., 2015)에서 보고된 0.045 g과 본 연구에서 나타난 0.032 g/kg BW^{0.8}/d을 참고할 때 어종별 및 어체중별 차이는 뚜렷한 것으로 보인다.

사 사

본 연구는 “2016년도 강원대학교 대학회계 연구비” 및 농림수산식품기술기획평가원 연구비(과제번호:316024-3)의 지원을 받아 수행하였습니다.

References

- Antony Jesu Prabhu P, Schrama JW and Kaushik SJ. 2013. Quantifying dietary phosphorus requirement of fish- A meta-analytic approach. *Aquac Nutr* 19, 233-249.
- AOAC (Association of Official Analytical Chemists). 1995. Official Methods of Analysis. 16th ed. Arlington, VA, U.S.A., 1298.
- Asgard T and Shearer KD. 1997. Dietary phosphorus requirement of juvenile Atlantic salmon, *Salmo salar* L. *Aquac Nutr* 3, 17-23.
- Auer MT, Kiessler MS and Canale RP. 1986. Identification of critical nutrient levels through field verification of models for phosphorus and phytoplankton growth. *Can J Fish Aquat Sci* 43, 379-388.
- Bolin DW, King RP and Klosrerman EW. 1952. A simplified method for the determination of chromic oxide (Cr₂O₃) when used as an inert substance. *Science* 116, 634-635.
- Duncan DB. 1955. Multiple range and multiple 'F' tests. *Biometrics* 11, 1-42.
- Gatlin DM, Barrows FT, Brown P, Dabrowski K, Gibson T,

- Hardy RW, Herman E, Hu G, Krogdahl A, Nelson R, Overturf K, Rust M, Sealey W, Skonberg D, Souza EJ, Stone D, Wilson R and Wurtele E. 2007. Expanding the utilization of sustainable plant protein products in aquafeeds: A review. *Aquac Res* 38, 551-579.
- Hernandez A, Satoh S and Kiron V. 2005. Effect of monocalcium phosphate supplementation in a low fish meal diet for rainbow trout based on growth, feed utilization, and total phosphorus loading. *Fish Sci* 71, 817-822.
- Ketola HG. 1975. Requirement of Atlantic salmon for dietary phosphorus. *Trans Am Fish Soc* 104, 548-551.
- Ketola HG and Richmond ME. 1994. Requirement of rainbow trout for dietary phosphorus and its relationship to the amount discharged in hatchery effluents. *Trans Am Fish Soc* 123, 587-594.
- Kim JD, Kim KS, Song JS, Lee JY and Jeong KS. 1998. Optimum level of dietary monocalcium phosphate based on growth and phosphorus excretion of mirror carp, *Cyprinus carpio*. *Aquaculture* 161, 337-344.
- Lall SP. 1991. Digestibility, metabolism and excretion of dietary phosphorus in fish. In: *Nutritional Strategies and Aquaculture Wastes*. Cowey CB and Cho CY, eds. University of Guelph, Ontario, Canada, 21-36.
- Liu LW, Su J and Luo Y. 2012. Effect of partial replacement of dietary monocalcium phosphate with neutral phytase on growth performance and phosphorus digestibility in gibel carp, *Carassius auratus gibelio* (Bloch). *Aquac Res* 43, 1404-1413.
- Liu YH, Kumar S, Kwag JH, Kim JH, Kim JD and Ra CS. 2011. Recycle of electrolytically dissolved struvite as an alternative to enhance phosphate and nitrogen recovery from swine wastewater. *J Hazard Mater* 195, 175-181.
- Maynard LA and Loosli JK. 1969. *Animal nutrition*. 6th ed. McGraw-Hill, New York, U.S.A., 613.
- NRC. 2011. *Nutrient Requirements of Fish*. National Academy Press, Washington, DC, U.S.A., 376 p.
- Nwanna LC, Kuehlwein H and Schwarz FJ. 2010. Phosphorus requirement of common carp (*Cyprinus carpio* L) based on growth and mineralization. *Aquac Res* 41, 401-410.
- Nwanna LC, Adebayo IA and Omitoyin BO. 2009. Phosphorus requirements of African catfish, *Clarias gariepinus*, based on broken-line regression analysis methods. *Sci Asia* 35, 227-233.
- Ogino C and Takeda H. 1976. Mineral requirements in fish-III calcium and phosphorus requirements in carp. *B Jpn Soc Sci Fish* 42, 793-799.
- Ogino C, Takeuchi L, Takeda H and Watanabe T. 1979. Availability of dietary phosphorus in carp and rainbow trout. *B Jpn Soc Sci Fish* 45, 1527-1532.
- Rodehutschord M. 1996. Response of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) growing from 50 to 200 g to supplements of dibasic sodium phosphate in a semipurified diet. *J Nutr* 126, 324-331.
- Roy PK and Lall SP. 2003. Dietary phosphorus requirement of juvenile haddock (*Melanogrammus aeglefinus* L.). *Aquaculture* 221, 451-468.
- Schaefer A, Koppe WM, Meyer-Burgdorff KH and Guenther KD. 1995. Effect of P-supply on growth and mineralization in mirror carp (*Cyprinus carpio* L.). *J Appl Ichthyol* 11, 397-400.
- Shu L, Schneider P, Jegatheesan V and Johson J. 2006. An economical evaluation of phosphorus as struvite from digester supernatant. *Bioresour Technol* 97, 2211-2216.
- Sokal RR and Rohlf FJ. 1994. *Biometry: The principles and practice of statistics in biological research*. WH Freeman & Company, New York, U.S.A., 272-342.
- Sugiura SH, Dong FM and Hardy RW. 2000. A new approach to estimating the minimum dietary requirement of phosphorus for large rainbow trout based on nonfecal excretions of phosphorus and nitrogen. *J Nutr* 130, 865-872.
- USEPA (US Environmental protection agency). 1996. Acid digestion of sediments, sludge, and solids, Method 3050B, Revision 2 (December 1996)[Internet]. Retrieved from <https://www.epa.gov/sites/production/files/2015-06/documents/3050b.pdf> on March 15, 2016.
- Xie NB, Feng L, Liu Y, Jiang J, Jiang WD, Hu K, Li SH and Zhou XQ. 2011. Growth, body composition, intestinal enzyme activities and microflora of juvenile Jian carp (*Cyprinus carpio* var. Jian) fed graded levels of dietary phosphorus. *Aquac Nutr* 17, 645-656.
- Yoon TH, Lee DH, Won SG, Ra CS and Kim JD. 2014. Effects of dietary supplementation of magnesium hydrogen phosphate (MgHPO₄) as an alternative phosphorus source on growth and feed utilization of juvenile far eastern catfish (*Silurus asotus*). *Asian Australas J Anim Sci* 27, 1141-1149.
- Yoon TH, Lee DH, Won SG, Ra CS and Kim JD. 2015. Optimal incorporation level of dietary alternative phosphate (MgHPO₄) and requirement for phosphorus in juvenile far eastern catfish (*Silurus asotus*). *Asian Australas J Anim Sci* 28, 111-119.
- Yoon TH, Won SG, Lee DH, Choi JW, Ra CS and Kim JD. 2016. Effect of a new phosphorus source, magnesium hydrogen phosphate (MHP) on growth, utilization of phosphorus and physiological responses in Carp (*Cyprinus carpio*). *Fish Aquat Sci* 19:39. <http://dx.doi.org/10.1186/s41240-016-0038-4>.