

飼料의 n-3系 高度不飽和脂肪酸 含量에 따른 조피볼락
*Sebastes schlegeli*의 成長 및 生化學的 變化
I. 成長效果 및 體成分의 變化

李尚旻 · 李鍾允 · 姜龍珍 · 許聖範*

國立水產振興院 魚類養殖科 · 釜山水產大學校 養殖學科*

Effects of Dietary n-3 Highly Unsaturated Fatty Acids on Growth and
Biochemical Changes in the Korean Rockfish *Sebastes schlegeli*
I. Growth and Body Composition

Sang-Min LEE, Joung Yun LEE, Young Jin KANG, and Sung Bum HUR*

Fish Culture Division, National Fisheries Research
and Development Agency, Yangsan-gun,
Kyongsangnam-do 626-900, Korea

*Department of Aquaculture, National Fisheries University of Pusan,
Nam-gu, Pusan 608-737, Korea

ABSTRACT

In order to investigate the effects of dietary n-3 highly unsaturated fatty acids (n-3HUFA) levels on growth and body composition of the Korean rockfish, six experimental diets with various levels of n-3HUFA, which were adjusted by adding squid liver oil and/or soybean oil at 8% dietary lipid level, were fed to the Korean rockfish (6.2 g in mean body weight) for 10 weeks.

Daily weight gain, feed efficiency and nutrient retention efficiency were the lowest in the fish fed a diet containing 0% n-3HUFA. These parameters were effectively improved by supplementation with n-3HUFA, and showed linear increase up to 1.2% dietary n-3HUFA level ($P < 0.01$). There was no additional response above this level.

A higher concentration of nonpolar lipids in the liver was observed for the fish fed insufficient levels of n-3HUFA in the diets. However the liver glycogen content and hepatosomatic index were slightly decreased. The lipid contents of the whole body and viscera showed significantly higher in the fish fed sufficient levels of n-3HUFA in the diets ($P < 0.05$).

The fatty acid compositions of polar lipids in the whole body and liver were affected by dietary fatty acid compositions. The contents of n-3HUFA and 18:1 in the liver increased with increasing the n-3HUFA level in the diets, while the 18:2n-6 and 18:3n-3 decreased.

These results suggest that n-3HUFA plays an essential role for normal growth of the Korean rockfish, and the requirement of n-3HUFA is around 1.2% of the diet.

緒 論

飼料의 脂質은 에너지源으로서 蛋白質이나 炭水化合物보다 에너지價가 높아 값비싼 飼料蛋白質을 절약할 수 있을 뿐 아니라, 어류의 必須脂肪酸(Essential fatty acid, EFA) 供給源으로서 成長과 體內代謝에 必須의인 역할을 하는 중요한 營養素이다. 魚類는 魚種과 棲息環境에 따라 EFA로 작용하는 脂肪酸의 種類와 量이 다르다고 보고되어 있다. 즉, 같은 淡水魚에 있어서도 무지개송어(Castell et al. 1972a, b; Watanabe et al. 1974a, b; Takeuchi and Watanabe 1977a)는 linolenic acid를 EFA로 요구하지만 잉어(Takeuchi and Watanabe 1977b; Watanabe et al. 1975)와 뱀장어(Takeuchi et al. 1980)는 linolenic acid와 linoleic acid를 모두 필요로 하며, Tilapia (Kanazawa et al. 1980; Takeuchi et al. 1983a, b)의 경우에는 linolenic acid보다 linoleic acid가 EFA로서 더 중요하다고 알려져 있다. 이와는 대조적으로 참돔(Yone and Fujii 1975a, b; Fujii and Yone 1976; Fujii et al. 1976)과 방어(De-shimaru et al. 1982a, b) 등의 海産魚에 있어서는 EPA 및 DHA와 같은 n-3系 高度不飽和脂肪酸(n-3 highly unsaturated fatty acids, n-3HUFA)이 成長에 必須의인 역할을 한다고 보고되어 있다.

한편, [^{14}C] linolenic acid를 淡水魚와 海産魚에 경구 투여하여 체내의 脂肪酸 轉換能力을 조사한 결과, 淡水魚는 linolenic acid를 n-3HUFA로 轉換할 수 있지만 海産魚의 轉換能力은 淡水魚에 비해 현저히 낮게 나타나(Owen et al. 1975; Yamada et al. 1980; Kissil et al. 1987), 이러한 脂肪酸 轉換能力의 차이가 각 魚種의 EFA 種類와 要求量에 직접적인 영향을 미치는 요인으로 생각되고 있다. 따라서, 魚種이나 棲息環境에 따른 脂肪酸 要求量의 차이를 밝혀 이를 충족시킬 수 있도록 飼料를 설계하는 것이 양식에 있어 대단히 중요하다.

우리 나라 주요 沿岸 養殖魚種으로 생산량이 해마다 증가하고 있는 조피볼락에 대해서는 최근 營養要求에 관한 研究가 본격적으로 시작되어 李 等(1993a, b)에 의해 蛋白質要求量 및 適正 에너지/蛋白質 比에 관한 研究結果가 보고되었다. 계속해서 營養要求에 관한 研究의 일환으로, 本研究는 n-3HUFA 含量에 따른 조피볼락의 成長 및 生化學的 變化를 구명하기 위해, 脂質源인 오징어 肝油와 大豆油로 飼料中의 n-3HUFA 含量을 조절한 實驗飼料를 이용하여 n-3HUFA가 魚體의 成長과 體成分에 미치는 영향을 검토하였다.

材料 및 方法

實驗飼料

基本飼料는 李 等(1993a, b)의 研究結果를 토대로 蛋白質, 脂質 및 可消化 에너지 含量이 조피볼락의 要求量에 맞도록 설계하였다. 脫脂 北洋魚粉을 主蛋白質源으로 한 基本飼料(Table 1)에 脂質源으로 大豆油와 오징어 肝油를 8% 範圍에서 添加比를 조절하여 飼料中 n-3HUFA 含量을 0~1.5%가 되도록 모두 6 種류의 實驗飼料를 제조하였다. 脂質源의 脂肪酸組成은 Table 2에서 보는 바와 같이 大豆油에는 18:2n-6이, 오징어 肝油에는 n-3HUFA가 다량 함유되어 있으며, 實驗飼料의 脂肪酸組成은 Table 3과 같다. 복양 어분의 脫脂는 Folch et al. (1957)의 방법에 따랐는데, chloroform : methanol (2:1, v/v) 혼합 용액을 試料에 3 배가량 첨가하여 3 회 이상에 걸쳐 어분에 포함된 脂質을 완전히 제거한 후, 건조시켜 0.5 mm의 철망이 부착된 분쇄기로 분쇄하여 實驗飼料 原料로 사용하였다. 大豆油와 오징어 肝油는 Table 3의 組成대로 미리 배합하여 脂溶性 비타민(Vitamin A, D, K)을 添加한 후, 질소 gas로 충전시켜 冷凍保管(-30℃)하면서 飼料製造時마다 사용하였다. 實驗飼料는 飼料原料를 잘 혼합한 후, 원료 100 g당 물 40 g을 첨가하여 모이스트펠렛 제조기로 제조하였으며(水分含量 약 33%), -30℃

冷凍庫에 保管하면서 먹이로 공급하였다.

Table 1. Composition of basal diet for the test of n-3HUFA in the diet on the growth and body compositions of the Korean rockfish *Sebastes schlegeli*

Ingredient	%
White fish meal ¹	54.0
Dextrin	20.0
Dietary lipids ²	8.0
Vitamin mixture ³	3.0
Mineral mixture ⁴	4.0
Sodium alginate	3.0
Kaolin	4.0
Alpha cellulose	4.0
Nutrient content in dry matter	
Protein	45.1
Lipid	8.9
Digestible carbohydrate	14.3
Ash	16.7
Gross energy (kcal/100 g)	444.0

¹ Defatted with chloroform-methanol mixture (2:1, v/v).

² See Table 2 and 3.

³ Halver (1957).

⁴ H-440 premix NO. 5 (mineral) (NAS, 1973).

Table 2. Fatty acid compositions (area %) of dietary lipids for the test of n-3HUFA in the diet on the growth and body compositions of the Korean rockfish *Sebastes schlegeli*

	Soybean oil	Squid liver oil
Fatty acids		
14:0	0.2	12.8
16:0	11.7	28.0
16:1n-7	0.2	2.5
18:0	3.9	1.7
18:1n-(7+9)	21.9	13.5
18:2n-6	53.7	1.5
18:3n-3	8.4	1.2
18:4n-3	—	1.2
20:1n-9	—	7.2
20:2n-6	—	0.5
20:4n-6	—	0.6
20:4n-3	—	0.4
20:5n-3	—	6.8
22:1n-9	—	5.7
22:5n-3	—	0.9
22:6n-3	—	12.2
24:1n-9	—	2.2
n-3HUFA ¹	0.0	20.3

¹ Highly unsaturated fatty acids (C≥20).

Table 3. The compositions (% of diet) of dietary lipids and fatty acids in the test diets which were mixed with various ratios of soybean oil and squid liver oil for the test of n-3HUFA in the diet on the growth and body compositions of the Korean rockfish *Sebastes schlegeli*

Diet	1	2	3	4	5	6
Soybean oil	8.0	6.6	5.2	3.8	2.3	0.9
Squid liver oil	0.0	1.4	2.8	4.2	5.7	7.1
Fatty acids						
14:0	0.01	0.19	0.38	0.56	0.76	0.95
16:0	1.30	1.18	1.46	1.70	2.11	2.30
16:1n-7	—	0.05	0.09	0.11	0.10	0.19
18:0	0.39	0.28	0.26	0.22	0.20	0.17
18:1n-(7+9)	2.03	1.64	1.52	1.44	1.30	1.22
18:2n-6	4.54	3.57	2.87	2.16	1.38	0.62
18:3n-3	0.63	0.57	0.48	0.38	0.26	0.16
18:4n-3	—	0.02	0.04	0.05	0.08	0.09
20:1n-9	—	0.10	0.20	0.29	0.40	0.53
20:2n-6	—	0.01	0.01	0.02	0.03	0.04
20:4n-6	—	0.01	0.02	0.02	0.02	0.04
20:4n-3	—	0.01	0.01	0.02	0.02	0.03
20:5n-3	—	0.10	0.21	0.30	0.41	0.51
22:1n-9	—	0.08	0.17	0.25	0.33	0.42
22:5n-3	—	0.01	0.02	0.04	0.05	0.06
22:6n-3	—	0.17	0.35	0.54	0.72	0.90
24:1n-9	—	0.03	0.07	0.10	0.10	0.17
n-3HUFA ¹	0.0	0.3	0.6	0.9	1.2	1.5
EPA+DHA	0.0	0.3	0.6	0.8	1.1	1.4

¹ Highly unsaturated fatty acids (C≥20).

實驗魚 및 飼育管理

實驗에 사용한 實驗魚는 遺傳的인 개체 차이에서 오는 實驗誤差를 피하기 위해 같은 친어에서 산출된 한배 새끼를 사용하였는데, 實驗始作 2週前부터 實驗水槽에 수용하여 實驗飼料 3(대두유:오징어간유=5.2:2.8)으로 예비 사육한 후, 중간 크기(平均體重 6.2g 전후)의 어체를 選別하여 1991년 8월 10일부터 10주간 本實驗을 실시하였다. 먹이는 처음 4週間은 1日 3回, 그 후는 1日 2回 반복 급여하였다.

實驗水槽로는 150ℓ들이 FRP 圓形水槽(수용적 100ℓ) 18개를 사용하였으며, 한 수조 당 實驗魚 35마리씩을 수용하여 3반복이 되도록 完全任意配置하였다. 주수량은 분당 2ℓ로 조절하였고, 各水槽마다 약하게 포기시켜 산소를 공급하였다. 實驗期間 중의 水溫은 環境 조절 장치(Koito, Japan)로 조절되어 23.2±0.04℃(平均±標準誤差)로 유지하였고, 비중은 1.024±0.0001, 용존산소는 6.03±0.004 ppm, pH는 8.11±0.003였다.

魚體 測定

魚體測定은 4주마다 하였는데 測定前日 飼料를 給與하지 않은 상태로 MS222 100 ppm 농도로

마취시켜 각 수조의 실험어 전체 무게를 測定하였다. 魚體分析用으로 實驗始作時 50 마리, 實驗終了時 각 수조에서 15 마리씩 추출하여 冷凍保管(-30℃)한 다음 분석에 이용하였다.

成分分析

水分은 常壓加熱乾燥法, 粗蛋白質은 Kjeldahl 窒素定量法($N \times 6.25$), 粗脂肪은 Soxhlet 抽出法(ether 抽出法), 粗灰分은 直接灰化法으로 각각 分析하였다(AOAC 1984). 飼料의 可消化 炭水化合物은 李等(1993b)의 결과를 토대로 dextrin 含量으로써 계산하였으며, 총에너지는 adiabatic bomb calorimeter (Parr, USA)로 測定하였다. 肝 glycogen은 Murat and Serfaty (1974)의 방법으로 분석하였는데, 간의 glycogen을 amyloglucosidase (Fluka)로 반응시킨 후, 分解된 glucose와 분해되기 전의 glucose를 酵素法(Alexander et al. 1985)으로 定量하여 total glucose와 free glucose의 차로써 glycogen 量을 계산하였다.

脂質 및 脂肪酸 分析을 위한 總脂質의 추출은 Folch et al. (1957)의 방법에 준하여 하였고, Juaneda and Rocquelin (1985)의 방법에 따라 SEP-PAK silica cartridge (Waters Associates, Milford, MA)를 사용하여, 약 50~80 mg의 總脂質을 chloroform과 methanol로 비극성 지질과 극성 지질로 분리하여 定量하였다. 또한, 위의 방법으로 분리한 극성 지질 10~20 mg에 benzene 2 ml와 14% BF_3 -methanol 2 ml를 加하고 80℃ water bath에서 30 분간 가열하여 methylation시킨 후, gas chromatography (Varian 3400)로 脂肪酸을 分析하였으며 分析條件은 Table 4와 같다. 標準脂肪酸으로는 14:0, 16:0, 18:0, 20:0, 22:0, 16:1n-7, 18:1n-9, 18:1n-7, 18:1n-12, 18:3n-3, 18:3n-6, 20:1n-9, 20:2n-6, 20:4n-6, 20:5n-3, 22:1n-9, 22:6n-3와 24:1n-9 (Sigma, 순도 99% 이상)를 사용하였다.

Table 4. Operating conditions of gas chromatography for fatty acid analysis

Gas chromatography	Varian 3400
Column	30 m×0.25 mm ID., 0.25 μm DB-FFAP capillary column (J & W chromatography, Folson, CA)
Carrier gas	Nitrogen (30 ml/min)
Column temperature	200℃ isothermal
Injector	Split 50:1, 220℃
Detector	FID, 250℃
Chart speed	10 mm/min
Intergrator	Varian 4270

統計處理

實驗結果는 ANOVA-test를 실시하여 Duncan's Multiple Range Test (Duncan 1955)로 平均間의 有意性을 검정하였다. 또한, broken line model (Robbins et al. 1979)을 이용하여 n-3HUFA 要求量을 추정하였다.

結 果

成長 및 營養素 蓄積效率

成長 및 營養素 蓄積效率은 Table 5와 Fig. 1 및 2에 표시된 것과 같다. 사육 기간이 경과함에 따라

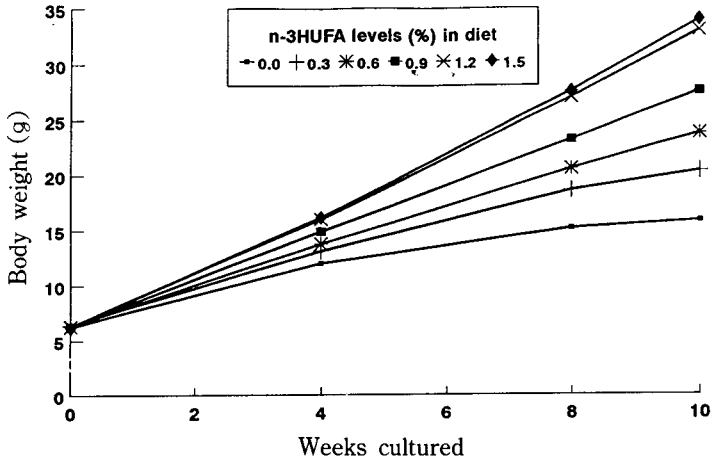


Fig. 1. Growth of the Korean rockfish fed diet with 6 different levels on n-3HUFA

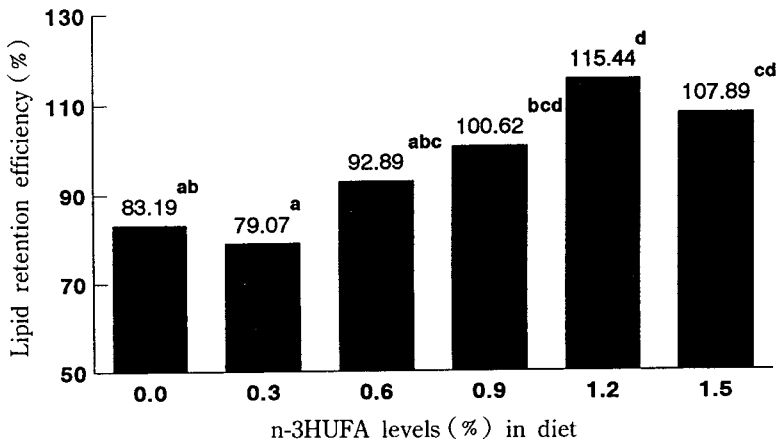
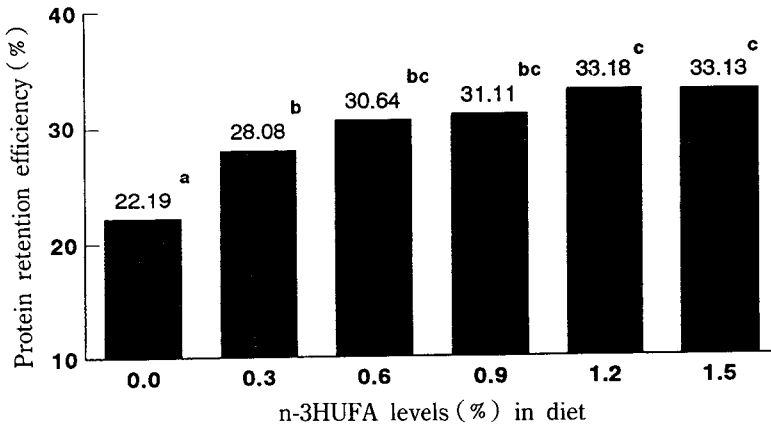


Fig. 2. Protein and lipid retention efficiency of the Korean rockfish fed diet with 6 different levels of n-3HUFA.

平均體重에 뚜렷한 차이가 나타나 n-3HUFA 함량이 1.2%와 1.5%인 實驗區는 다른 實驗區보다 월등히 좋은 성장상을 보였고, n-3HUFA 함량이 감소할수록 成長이 둔화되었다 (Fig. 1). 특히, n-3HUFA 0% 實驗區는 實驗期間이 길어질수록 다른 實驗區에 비해 成長이 현저히 둔화되어 實驗終了前 2週間은 거의 정지되었다. 實驗終了時의 日間增重率과 飼料效率은 각각 1.36~2.16% 및 55.9~85.6%의 범위로 n-3HUFA 함량이 증가할수록 증가하다가 n-3HUFA 1.2% 이상에서는 더 이상 증가하지 않았다. 日間飼料攝取率은 2.5% 전후로 飼料의 n-3HUFA 함량 차이에 의한 변화는 없었다. 肥滿度 (condition factor)의 경우는 각 實驗區間에 유의적인 차이는 없었으나 ($p \geq 0.01$), 飼料 n-3HUFA 함량 증가에 따라 다소 증가하는 경향을 나타내었다.

한편, 蛋白質 및 脂質 蓄積效率 (Fig. 2)에 있어서도 飼料의 n-3HUFA 함량의 증가와 더불어 증가하는 경향을 보였으며, 이들 모두 n-3HUFA 1.2% 이상에서는 더 이상의 증가가 없었다.

Table 5. Performance of the Korean rockfish fed diets with 6 different levels of n-3HUFA¹

Diet	1	2	3	4	5	6	SEM ⁷
n-3HUFA level (%)	0.0	0.3	0.6	0.9	1.2	1.5	
Initial mean weight (g)	6.22 ^a	6.38 ^a	6.31 ^a	6.25 ^a	6.28 ^a	6.16 ^a	0.063
Final mean weight (g)	15.84 ^a	20.36 ^b	23.78 ^c	27.56 ^d	32.96 ^e	33.94 ^e	0.461
Mean weight gain (g)	9.62 ^a	13.99 ^b	17.47 ^c	21.30 ^d	26.67 ^e	27.77 ^e	0.452
Daily weight gain ^{2, 3}	1.36 ^a	1.63 ^b	1.81 ^c	1.97 ^d	2.12 ^e	2.16 ^e	0.031
Feed efficiency (%) ⁴	55.93 ^a	67.82 ^b	76.57 ^b	80.69 ^c	85.59 ^d	85.34 ^d	2.027
Daily feed intake ^{2, 5}	2.43 ^a	2.41 ^a	2.37 ^a	2.44 ^a	2.48 ^a	2.54 ^a	0.053
Condition factor ⁶	1.51 ^a	1.52 ^a	1.53 ^a	1.62 ^a	1.63 ^a	1.70 ^a	0.058

¹ Values are means from replicate groups of fish, and the means in each row with a different superscript are significantly different ($p < 0.01$).

² g/(100 g fish weight gain × day).

³ $\frac{\text{Fish weight gain} \times 100}{[(\text{Initial fish weight} + \text{Final fish weight})/2] \times \text{day fed}}$

⁴ $(\text{Fish weight gain} \times 100) / [\text{Feed intake (dry weight)}]$

⁵ $[\text{Feed intake (dry weight)} \times 100] / [(\text{Initial fish weight} + \text{Final fish weight}) \times \text{day fed} / 2]$.

⁶ $(\text{Body weight} / \text{Total body length}^3) \times 100$.

⁷ Standard error of the mean, n=3.

體成分

分析結果 (Table 6)를 살펴보면, 全魚體에서는 脂質 함량만이 實驗區間에 유의적인 차이를 나타내어 ($p < 0.05$), 飼料의 n-3HUFA 함량이 높은 1.2% 및 1.5% 實驗區에서 각각 9.8% 및 9.2%로 다른 實驗區의 7.7~8.6%보다 높았다. 등 근육의 一般成分은 飼料中の n-3HUFA 함량에 영향을 받지 않았다.

肝의 脂質 함량은 實驗區間에 有意的인 차이는 없었으나 ($p \geq 0.05$), n-3HUFA 함량이 낮은 實驗區 (n-3HUFA 0~0.6%)가 34.5~36.4%로서 n-3HUFA 함량이 높은 實驗區 (n-3HUFA 0.9~1.5%)의 31.5~32.3%보다 약간 높은 수치를 보였다. 이와는 반대로 간의 glycogen 함량은 n-3HUFA 함량이 높은 1.2%와 1.5% 實驗區쪽이 각각 7.7% 및 8.3%로 다른 實驗區의 6.1~6.7%보다 有意的으로 높게 나

타났다 ($p < 0.05$). 肝重量比 (HSI)도 肝 glycogen 함량과 유사한 경향을 나타내어 飼料의 n-3HUFA 함량이 낮은 實驗區(n-3HUFA 0~0.3%)가 다른 實驗區에 비해 낮았다.

한편, 內臟(肝, 心臟 제외)의 水分과 蛋白質 含量은 각각 53.6~63.9% 및 11.2~13.7%의 범위로 飼料의 n-3HUFA 含量이 증가할수록 약간씩 감소한 반면, 脂質含量은 20.2~31.5% 범위에서 점차 增加하였으며, 內臟重量比 (VSI, 9.46~10.51%)에서는 有意인 차이가 없었다 ($p \geq 0.05$).

Table 6. Chemical compositions (%) of the Korean rockfish fed diets with 6 different levels of n-3HUFA¹

	Initial	Final						SEM ⁴
		Diet n-3HUFA level (%)	1 0.0	2 0.3	3 0.6	4 0.9	5 1.2	
Whole body								
Moisture	72.7	69.6 ^a	69.8 ^a	69.5 ^a	69.9 ^a	69.0 ^a	68.9 ^a	0.41
Protein	16.6	17.4 ^a	17.7 ^a	17.7 ^a	17.2 ^a	17.3 ^a	17.3 ^a	0.33
Lipid	6.6	8.1 ^{ab}	7.7 ^a	8.0 ^{ab}	8.6 ^{bc}	9.8 ^c	9.2 ^{bc}	0.31
Dorsal muscle								
Moisture		77.4 ^a	77.5 ^a	77.2 ^a	76.7 ^a	76.4 ^a	76.6 ^a	0.49
Protein		20.7 ^a	20.6 ^a	20.6 ^a	20.4 ^a	20.8 ^a	21.1 ^a	0.20
Lipid		1.5 ^a	1.4 ^a	1.3 ^a	1.8 ^a	1.8 ^a	1.6 ^a	0.54
Liver								
Moisture	55.6	48.0 ^a	47.9 ^a	47.6 ^a	49.8 ^a	48.5 ^a	49.1 ^a	1.16
Protein	12.3	9.3 ^a	9.3 ^a	9.0 ^a	9.3 ^a	8.8 ^a	8.9 ^a	0.29
Lipid	25.7	34.5 ^a	34.5 ^a	36.4 ^a	32.3 ^a	32.3 ^a	31.5 ^a	1.26
Glycogen	2.4	6.7 ^b	6.1 ^a	6.1 ^a	6.6 ^{ab}	8.3 ^d	7.7 ^c	0.15
HSI ²		2.78 ^{ab}	2.67 ^a	3.17 ^c	3.07 ^{bc}	3.23 ^c	3.03 ^{abc}	0.118
Viscera								
Moisture		62.9 ^{ab}	63.9 ^a	59.4 ^{abc}	58.3 ^{abc}	56.2 ^{bc}	53.6 ^c	1.97
Protein		13.7 ^a	12.3 ^{ab}	11.5 ^b	11.4 ^b	11.2 ^b	11.3 ^b	0.44
Lipid		20.2 ^a	22.7 ^{ab}	28.9 ^{bc}	28.7 ^{bc}	30.8 ^{bc}	31.5 ^c	2.36
VSI ³		9.46 ^a	9.48 ^a	10.23 ^a	10.06 ^a	10.51 ^a	9.76 ^a	0.430

¹ Values are means from replicate groups of fish, and the means in each row with a different superscript are significantly different ($p < 0.05$).

² Hepatosomatic index: (Liver wet weight/Fish wet weight) × 100.

³ Viceralsomatic index: (Viscera wet weight/Fish wet weight) × 100.

⁴ Standard error of the mean, n=3.

脂質 및 脂肪酸 組成

實驗終了時 體成分의 脂質組成의 變化는 Fig. 3~6에 표시하였다. 全魚體, 肝 및 등 근육의 극성 지질은 飼料의 n-3HUFA 含量이 증가함에 따라 점차 증가하여 n-3HUFA 1.2%에서 최대값을 보인

조피볼락의 脂肪酸 함량에 따른 成長 및 體成分 變化

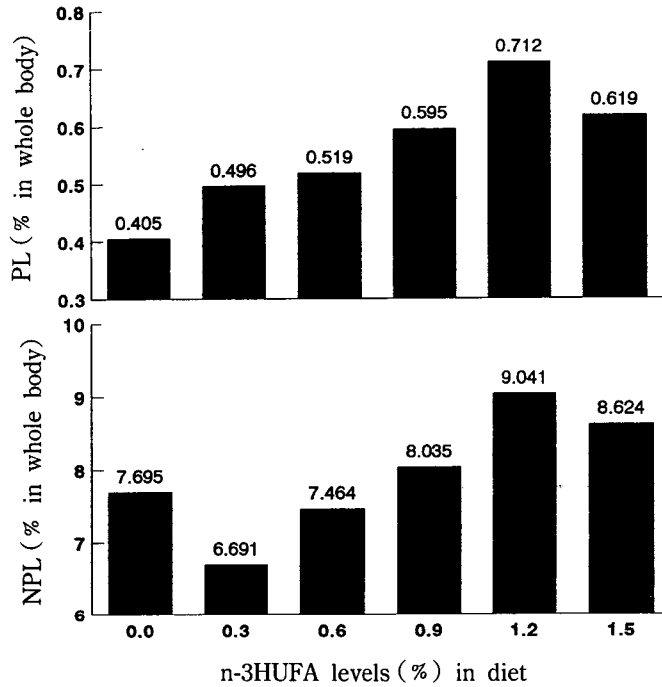


Fig. 3. Polar lipid (PL) and nonpolar lipid (NPL) contents of the whole body of the Korean rockfish fed diet with 6 different levels of n-3HUFA.

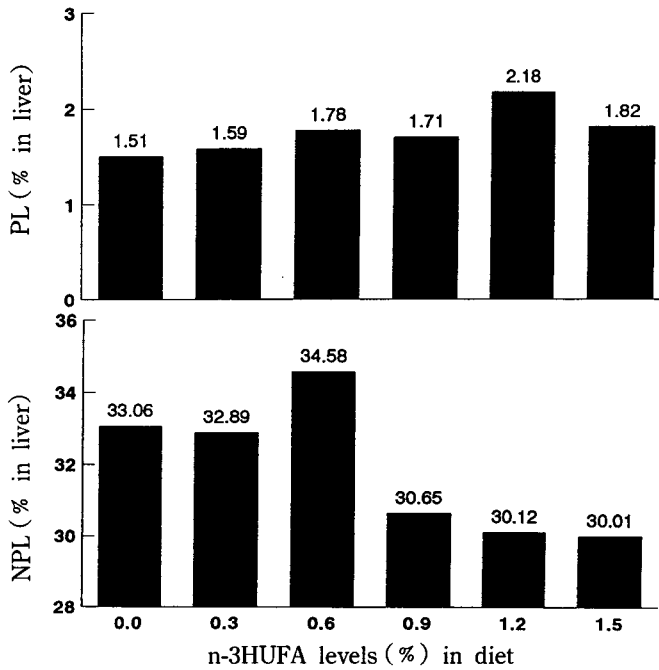


Fig. 4. Polar lipid (PL) and nonpolar lipid (NPL) contents of the liver of the Korean rockfish fed diet with 6 different levels of n-3HUFA.

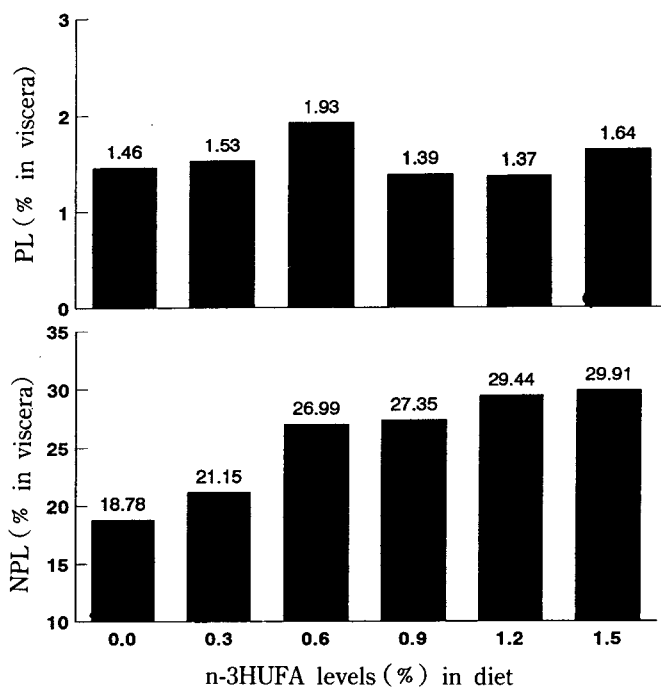


Fig. 5. Polar lipid (PL) and nonpolar lipid (NPL) contents of the viscera of the Korean rockfish fed diet with 6 different levels of n-3HUFA.

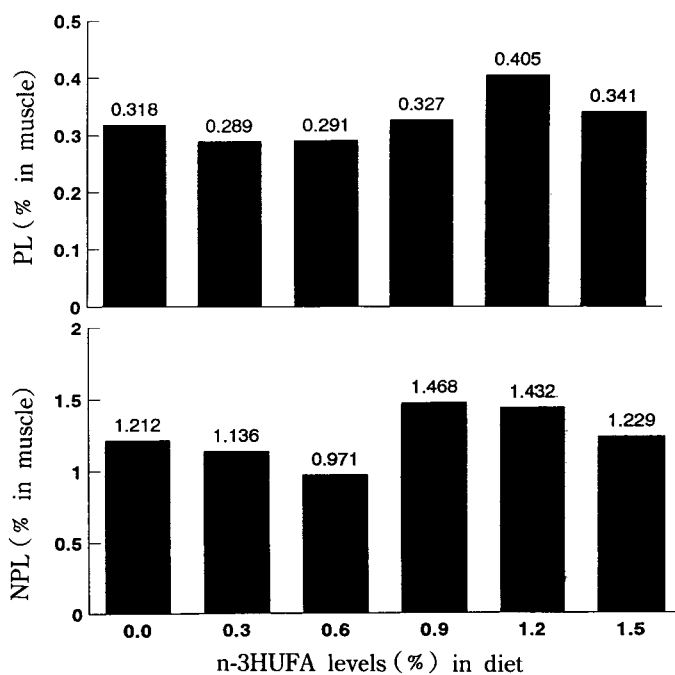


Fig. 6. Polar lipid (PL) and nonpolar lipid (NPL) contents of the dorsal muscle of the Korean rockfish fed diet with 6 different levels of n-3HUFA.

반면, 內臟의 극성 지질은 n-3HUFA 0.6% 實驗區에서 약간 높은 값을 나타낸 외에는 各 實驗區間에 차이가 없었다. 비극성 지질의 경우에 全魚體, 內臟 및 등 근육의 비극성 지질 함량은 飼料의 n-3 HUFA가 증가함에 따라 증가하였으나, 肝에 있어서는 飼料의 n-3HUFA 含量이 낮은 實驗區(n-3HUFA 0~0.6%)가 n-3HUFA 含量이 높은 實驗區(n-3HUFA 0.9~1.5%)보다 높게 나타났다.

實驗終了時 全魚體 및 肝의 脂肪酸組成 變化를 Table 7과 8에 표시하였다. 全魚體 및 肝 극성 지질의 n-3HUFA는 飼料의 n-3HUFA 含量이 증가할수록 증가하였으며, 특히 肝에서는 飼料 n-3HUFA 1.2 %에서 제일 높은 값을 나타내었다. 肝의 monoene 酸(16:1, 18:1)도 飼料의 n-3HUFA 含量이 증가할수록 증가한 반면에 全魚體의 경우는 특별한 변화 경향이 없었고, 全魚體와 肝의 18:2n-6은 급격히 감소하는 경향을 보였다.

Table 7. Fatty acid compositions (area %) of the polar lipid fractions in the whole bodies

Diet	1	2	3	4	5	6
n-3HUFA level (%)	0.0	0.3	0.6	0.9	1.2	1.5
14:0	2.8	2.4	2.9	7.3	7.2	4.8
16:0	14.3	27.4	29.5	15.6	19.2	16.7
16:1n-7	5.9	1.9	3.2	8.3	7.9	6.0
18:0	5.1	2.6	3.1	5.2	5.8	5.9
18:1n-(7+9)	24.6	22.2	19.5	19.7	20.2	20.7
18:2n-6	24.7	26.3	19.3	14.6	8.7	11.1
18:3n-3	6.8	4.4	4.7	10.8	8.8	8.0
18:4n-3	1.1	0.4	0.7	0.9	—	2.2
20:1n-9	1.1	0.8	—	0.5	2.2	1.6
20:2n-6	0.7	0.7	—	1.8	0.9	1.6
20:4n-6	0.6	0.2	0.9	—	0.6	0.5
20:4n-3	1.8	0.7	1.1	1.8	0.8	1.8
20:5n-3	1.7	2.5	4.1	2.3	4.1	4.9
22:1n-9	—	0.5	—	—	—	0.9
22:4n-6	1.3	0.4	1.8	0.7	0.7	0.5
22:5n-6	2.6	1.3	—	4.3	3.1	3.6
22:6n-3	2.4	4.5	6.5	5.2	8.8	7.8
24:0	0.6	0.6	2.8	1.3	1.1	1.6
Total (n-3)	13.8	12.5	17.1	21.0	22.5	24.7
Total (n-6)	29.9	28.9	22.0	21.4	14.0	17.3
n-3HUFA ¹	5.9	7.7	11.7	9.3	13.7	14.5
18:n-(7+9)/n-3HUFA	4.2	2.9	1.7	2.1	1.5	1.4

¹ Highly unsaturated fatty acids (C≥20).

考 察

n-3HUFA가 전혀 함유되어 있지 않은 大豆油만을 첨가한 飼料(飼料 1)를 급여한 實驗區는 飼育

Table 8. Fatty acid compositions (area %) of the polar lipid fractions in the livers

Diet	1	2	3	4	5	6
n-3HUFA level (%)	0.0	0.3	0.6	0.9	1.2	1.5
14:0	2.9	2.3	3.4	3.5	5.3	3.7
16:0	10.8	12.6	5.4	12.2	15.8	9.5
16:1n-7	6.5	5.2	12.0	9.0	15.6	28.2
18:0	3.0	3.7	3.2	3.2	2.6	1.6
18:1n-(7+9)	28.5	31.4	35.5	35.5	34.5	41.6
18:2n-6	38.6	34.0	21.8	18.0	9.1	2.5
18:3n-3	5.8	4.2	5.0	4.8	4.7	2.5
18:4n-3	—	—	0.7	0.7	0.8	0.5
20:1n-9	0.5	0.9	0.9	2.6	1.9	1.4
20:2n-6	—	—	1.3	0.6	0.9	0.3
20:4n-6	0.4	—	2.0	0.6	—	0.5
20:4n-3	—	—	—	0.5	0.9	0.8
20:5n-3	1.2	1.6	2.9	3.3	3.3	2.1
22:1n-9	—	—	0.7	0.9	—	0.3
22:5n-6	0.5	0.7	0.9	1.0	1.1	0.9
22:6n-3	1.5	2.4	2.5	3.3	3.6	3.0
Total (n-3)	8.5	8.2	11.1	12.6	13.3	8.9
Total (n-6)	39.5	34.7	26.0	20.2	11.1	4.2
n-3HUFA ¹	2.7	4.0	5.4	7.1	7.8	5.9
18:n-(7+9)/n-3HUFA	10.6	7.9	6.6	5.0	4.4	7.1

¹ Highly unsaturated fatty acids (C≥20).

期間이 경과함에 따라 成長이 점차 둔화되어 實驗 終了前 2주간은 成長이 거의 정지된 것(Fig. 1)으로 미루어보아 조피볼락의 경우, 大豆油에 많이 함유된 18:2n-6이나 18:3n-3은 EFA로서 역할을 못하는 것으로 생각된다. 반면, 大豆油를 오징어 肝油로 대체함으로써 成長이 점차 개선된 것으로 보아 오징어 肝油에 다량 함유되어 있는 n-3HUFA가 조피볼락의 EFA로 작용했음을 알 수 있다. 한편, n-3HUFA가 부족한 實驗區에서는 n-3HUFA가 충분한 實驗區에 비해 肝이 퇴색되어 있어 飼料中の n-3HUFA가 肝機能에 영향을 미침을 시사하고 있다. 이와 관련하여 EFA가 부족한 飼料를 먹인 송어(Castell et al. 1972a; Higashi et al. 1966)의 경우 成長 및 飼料效率의 저하와 더불어 피부의 탈색이나 지느러미 부식과 같은 缺乏症狀이 나타났고, n-3HUFA가 부족한 turbot (Bell et al. 1985)와 은어(Kanazawa et al. 1982)에서도 폐사율이 높았다는 보고가 있으나, 本實驗의 조피볼락에 있어서는 成長, 飼料效率 및 營養素 蓄積效率의 감소 외에 폐사나 외적인 缺乏症狀은 관찰되지 않아 타어종에 비해 EFA 결핍에 비교적 민감하지 않은 것으로 생각된다.

飼料의 n-3HUFA 1.2%까지는 n-3HUFA 含量이 증가함에 따라 成長 및 飼料效率이 개선되다가 n-3HUFA 1.5% 飼料에서는 더 이상의 개선 효과 없이 n-3HUFA 1.2% 飼料와 같은 수준을 유지하였으며 營養素 蓄積效率도 같은 경향을 보였다. 이것으로 보아 本實驗에서와 같이 脂質源으로 大豆油와 오징어 肝油를 혼합하여 사용했을 경우에는 飼料의 n-3HUFA 含量 1.2% 정도가 조피볼락의 適正成長에 필요할

것으로 판단되며, 日間增重率을 지표로 broken line model (Robbins et al. 1979)을 이용하여 n-3HUFA 要求量을 추정해 본 結果(1.2%)와도 일치하였다. 다른 海産魚의 n-3HUFA 要求量을 살펴보면 참돔은 0.5% (Fujii et al. 1976 ; Izquierdo et al. 1989), 방어는 2.0% (Deshimaru et al. 1982b), turbot은 0.6% (Gatesoupe et al. 1977 ; Leger et al. 1979), 황줄전갱이는 1.8% (Watanabe et al. 1989b) 그리고 gilthead bream은 0.9% (Kalogeropoulos et al. 1992)로 보고되어 魚種에 따라서 要求量이 달라지는데, 本實驗에서 나타난 조피볼락의 適正成長에 필요한 飼料의 n-3HUFA 含量은 참돔보다는 높고 방어보다는 낮았으며 gilthead bream과 비슷하였다.

肝脂質 含量은 飼料 n-3HUFA 含量의 감소와 더불어 약간 증가하는 경향을 나타내었으며 (Table 6), 이는 무지개송어(Watanabe et al. 1974a ; Watanabe and Takeuchi, 1976), 연어(Takeuchi et al. 1979), 은어(Kanazawa et al. 1982), 참돔(Fujii et al. 1976 ; Takeuchi et al. 1990) 및 gilthead bream (Kalogeropoulos et al. 1992)의 EFA 缺乏飼料에서도 肝脂質 含量이 증가되었다는 보고와 일치하고 있다. 이와 같은 현상은 肝細胞 代謝에 중요한 역할을 담당하는 n-3HUFA의 부족으로 인해 脂質代謝 障礙가 초래된 것에 원인이 있는 것으로 보인다. Fukuzawa et al. (1970, 1971)은 육상동물의 肝에 脂質이 비정상적으로 높게 蓄積된 것을 lipoprotein의 合成이 저해된 것에 원인을 두고 있으며, Rogie and Skinner (1985)는 무지개송어의 lipoprotein 合成이 肝에서 이루어 진다고 하였다. 그리고 肝에 축적되었던 脂質이나 腸에서 흡수된 飼料脂質은 lipoprotein에 의해 운반된 후 lipoprotein lipase에 의해 분해되어 貯藏組織에 축적되거나 에너지源으로 이용된다고 알려져 있다. 따라서, 肝細胞의 代謝障礙로 lipoprotein의 合成이 저해될 경우에는 脂質이 貯藏組織에 효과적으로 축적되거나 에너지源으로 이용되지 못한 채 肝組織에 비극성 지질 형태로 축적되는 것으로 판단된다. 本實驗에서 肝의 극성 지질 함량은 飼料의 n-3HUFA가 많은 實驗區에서 감소한 것(Fig. 4)도 n-3HUFA가 충족된 實驗區에서는 肝의 代謝障礙가 없이 脂質代謝가 효과적으로 이루어지고 있음을 보여주는 것으로 생각된다. 이 때 여분의 비극성 지질은 內臟의 脂肪組織에 주로 축적된 것(Fig. 5)으로 보이며, 이로 인해 全魚體의 脂質含量이 增加한 것(Table 5)으로 생각된다. 이와 같이 n-3HUFA 充足區의 全魚體 脂質含量이 增加하는 것은 무지개송어(Watanabe et al. 1974a ; Watanabe and Takeuchi 1976)나 gilthead bream (Kalogeropoulos et al. 1992) 등 대부분의 다른 魚種에서도 보고되고 있다.

한편, EFA가 缺乏되면 肝脂質 含量의 증가와 더불어 HSI도 높아지는 것이 많은 研究者들에 의해 보고되고 있다(Takeuchi and Watanabe 1977a ; Takeuchi et al. 1979 ; Takeuchi et al. 1990 ; Kalogeropoulos et al. 1992). 그러나 本實驗에서는 HSI가 오히려 약간 감소하여, 위의 연구와는 상반된 결과를 나타내었다. 이러한 현상은 本實驗의 n-3HUFA 缺乏區에서 肝脂質 含量이 증가하였으나, 그 증가 폭이 그리 크지 않을 뿐 아니라 HSI에 영향을 미치는 다른 요인인 glycogen 含量이 감소하였기 때문으로 생각되며, corn oil을 基本脂質로 하여 實驗한 참돔(Yone and Fujii 1975b)의 경우에도 本實驗과 유사한 경향을 보였다.

魚體의 脂肪酸組成을 살펴보면(Table 7과 8), 飼料의 n-3HUFA 증가와 더불어 全魚體와 肝 극성 지질의 n-3HUFA 함량은 증가하였는데, n-3HUFA 1.2% 飼料까지 증가하다가 그 후로는 더 이상 증가하지 않았다. 이와 같이 飼料의 適正 EFA 含量 이상에서 魚體 n-3HUFA가 일정한 수준을 나타내는 것은 잉어(Csengeri et al. 1979)나 gilthead bream (Kalogeropoulos et al. 1992)과 같은 타어종의 경우에도 공통된 현상으로서, Kalogeropoulos et al. (1992)은 이를 細胞膜을 구성하는 극성 지질의 脂肪酸組成이 적정수준에 이르러 要求量이 만족됨으로써 나타나는 현상이라고 해석하였다. 또한, 肝 극성 지질의 18:2n-6은 飼料의 18:2n-6 含量이 감소함에 따라 현저히 감소한데 비해 n-6HUFA는 특별한 변화없이 아주 적었으며, 18:3n-3도 사료중의 함량과 아주 비슷한 수준으로 조성되어 있다.

이것으로 보아 조피볼락의 體內 脂肪酸組成은 飼料脂質源의 脂肪酸組成에 직접적인 영향을 받는 것으로 나타났으며, 다른 어종에 비해 조피볼락은 n-3系나 n-6系 高度不飽和脂肪酸으로의 轉換能力이 극도로 낮은 것으로 생각된다. 이는 조피볼락과 같은 볼락亞科(Sebastinae)에 속하는 쏜뱅이의 경우 18:3n-3을 n-3HUFA로 轉換할 수 있는 능력이 淡水魚(무지개송어, 은어, 뱀장어)나 다른 海產魚(참돔, 복어)보다 현저히 낮음을 보고한 Kanazawa (1985)의 연구 결과와도 일치한다.

EFA 缺乏飼料를 먹인 어류에서는 肝 극성지질의 18:1이 증가하는 것이 일반적인 경향으로 알려져 있으나, 本實驗에서는 이와 반대의 결과를 나타내었다. 반면, 조피볼락을 대상으로 牛脂를 基本脂質源으로 사용한 다른 실험(미발표)에서는 EFA 缺乏區의 18:1이 증가하는 경향을 나타내어 동일 어종에서도 다른 결과를 보이고 있다. 이들 두 實驗의 상반된 결과에 대해 현재로서는 그 원인을 명확히 밝힐 수는 없으나 사용한 脂質源의 차이 즉, 飼料 脂質源의 지방산 중 18:1으로 전환가능한 18:1 이하의 脂肪酸組成 차이에 의한 것이 아닌가 생각되나 좀 더 구체적인 검토가 필요할 것으로 여겨진다.

한편, 淡水魚(Watanabe et al. 1975 ; Takeuchi and Watanabe, 1977a, b, 1982 ; Takeuchi et al. 1979 ; Takeuchi et al. 1980 ; Satoh et al. 1989)의 경우, 飼料에 EFA가 부족하면 魚體 극성 지질 중의 20:3n-9가 증가하여 20:3n-9/22:6n-3의 비가 높아지지만, EFA가 충족될수록 이 비가 감소되는 것을 고려하여 20:3n-9/22:6n-3 비를 EFA 充足度 指標(EFA index)로 사용하고 있다. 반면, Owen et al. (1975)은 海產魚인 turbot에서는 18:1이 20:3n-9로 轉換되지 않음을 밝혀 20:3n-9/22:6n-3 비가 turbot의 EFA index로 적합하지 않다고 주장하고, 대신 18:1/n-3HUFA 비를 index로 사용할 것을 제안하였다. 또한, Fujii et al. (1976)도 turbot에서와 같은 이유로 참돔의 EFA index로서는 18:1n-9/n-3HUFA 비가 적합하다고 주장하였다. 그러나 위에서 언급한 바와 같이 이러한 研究結果와는 상반되게 本實驗에서는 n-3HUFA 缺乏區에서 肝 극성 지질의 18:1 함량이 낮았고, 飼料의 n-3HUFA 증가와 더불어 18:1도 증가하고 있으므로, 참돔과 turbot의 EFA index로 사용되고 있는 18:1/n-3HUFA 비를 本實驗에 적용할 수는 없을 것으로 판단된다. 조피볼락의 EFA index에 대해서는 魚體脂質 중 18:1 증감의 원인 구명과 함께 금후 재검토가 필요하다고 생각된다.

이상의 결과로 보아, n-3HUFA는 다른 海產魚에서와 마찬가지로 飼料脂質로부터 공급 되어야 하는 조피볼락의 EFA로 나타났으며, n-3HUFA가 부족하면 成長, 飼料效率 및 營養素 蓄積效率이 저하되고 體內 脂質代謝에 障礙가 초래됨을 확인하였다. 本實驗에서와 같이 飼料脂質 8% 범위에서 脂質源으로 大豆油와 오징어 肝油를 병행 첨가하였을 경우에는 n-3HUFA 1.2%(EPA+DHA:1.1%) 정도가 適正成長에 필요한 量으로 추정된다. 本實驗 結果를 토대로 EFA 種類와 그 要求量을 보다 정확히 究明하기 위해 정제된 脂肪酸를 사용하여 實驗中에 있다.

要 約

n-3HUFA가 조피볼락의 成長, 營養素蓄積效率 및 體成分에 미치는 영향을 究明하기 위해 오징어 肝油 및 大豆油를 脂質源으로 飼料에 添加하여 飼料의 n-3HUFA 含量이 0~1.5%가 되도록 조정하여 사육한 結果는 다음과 같다.

成長, 飼料效率 및 營養素 蓄積效率 모두 n-3HUFA 無添加 飼料에서 가장 낮은 값을 나타내었으며, 飼料의 n-3HUFA 含量의 증가와 더불어 그 효과가 현저히 개선되다가 1.2% 이후에는 더이상 改善效果가 없었다.

n-3HUFA 含量이 높은 實驗區의 肝脂質(비극성 지질) 含量은 감소한 경향을 보였으나 肝의 glycogen 含量은 증가하였으며, HSI 값도 다소 증가하였다. 全魚體의 脂質含量 및 內臟의 脂

質含量은 모두 飼料의 n-3HUFA 含量이 높은 實驗區에서 높게 나타났으며, 이러한 증가는 비극성 지질의 변화 경향과 일치하였다.

肝 극성 지질 중의 脂肪酸組成은 飼料의 脂肪酸組成에 따라 변화하여, 飼料의 n-3HUFA가 증가함에 따라 n-3HUFA와 18:1은 증가하였고, 18:2n-6과 18:3n-3은 감소하였다.

參 考 文 獻

- Alexander R. R., J. M. Griffiths and M. L. Wilkinson. 1985. Basic biochemical methods, Wiley, New York, 241 pp.
- AOAC. 1984. Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemicals, 14th edition. Arlington. AV, 1141 pp.
- Bell, M. V., R. J. Henderson, B. J. S. Pirie and J. R. Sargent. 1985. Effects of dietary polyunsaturated fatty acid deficiencies on mortality, growth and gill structure in the turbot, *scophthalmus maximus*. J. Fish Biol., 26: 181~191.
- Castell, J. D., R. O. Sinnhuber, J. H. Wales and D. J. Lee. 1972a. Essential fatty acids in the diet of rainbow trout (*Salmo gairdneri*): growth, feed conversion and some gross deficiency symptoms. J. Nutr., 102: 77~86.
- Castell, J. D., R. O. Sinnhuber, D. J. Lee and J. H. Wales. 1972b. Essential fatty acids in the diet of rainbow trout (*Salmo gairdneri*): physiological symptoms of EFA deficiency. J. Nutr., 102: 87~92.
- Csengeri, I., F. Majoros, J. Olah and T. Farkas. 1979. Investigations on the essential fatty acid requirements of carp (*Cyprinus carpio L.*). In: J. E. Halver and K. Tiews (Editors), Finfish Nutrition and Fishfeed Technology, Vol. I. Heeneman, Berlin, pp. 151~174.
- Deshimaru, O., K. Kuroki and Y. Yone. 1982a. Nutritive values of various oils for yellowtail. Bull. Jap. Soc. Sci. Fish., 48: 1155~1157.
- Deshimaru, O., K. Kuroki and Y. Yone. 1982b. Suitable Levels of Lipids and Ursodesoxycholic Acid in Diet for Yellowtail. Bull. Jap. Soc. Sci. Fish., 48: 1265~1270.
- Duncan, D. B. 1955. Multiple-range and multiple F tests. Biometrics, 11: 1~42.
- Folch, J., M. Lees and G. H. S. Stanley. 1957. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues, J. Biol. Chem., 226: 497~509.
- Fujii, M. and Y. Yone. 1976. Studies on nutrition of red sea bream- XIII. Effect of dietary linolenic acid and ω 3 polyunsaturated fatty acids on growth and feed efficiency. Bull. Jap. Soc. Sci. Fish., 42: 583~588.
- Fujii, M., H. Nakayama and Y. Yone. 1976. Effect of ω 3 fatty acids on growth, feed efficiency and fatty acid composition of red sea bream (*Chrysophrys major*). Report of Fishery Research Laboratory, Kyushu University, 3: 65~86.
- Fukuzawa, T., O. S. Privett and Y. Takahashi. 1970. Effect of essential fatty acid deficiency on release of triglycerides by the perfused rat liver. J. Lipid Res., 11: 522~527.
- Fukuzawa, T., O. S. Privett and Y. Takahashi. 1971. Effect of essential fatty acid deficiency on lipid transport from liver. Lipids, 6: 388~393.

- Gatesoupe F., C. Leger., R. Metailler and P. Luquet. 1977. Alimentation lipidique du turbot (*Scophthalmus maximus L.*) I. Influence de la longueur de chaine des acides gras de la serie $\omega 3$. Ann. hydrobiol., 8:89~97.
- Halver, J. E. 1957. Nutrition of salmonoid fishes. III. Water-soluble vitamin requirements of chinook salmon. J. Nutr., 62:225~243.
- Higashi, H., T. Kaneko, S. Ishii, M. Ushiyama and T. Sugihashi. 1966. Effect of ethyl linoleate, ethyl linolenate and ethyl esters of highly unsaturated fatty acids on essential fatty acid deficiency in rainbow trout. J. Vitaminol., 12:74.
- Izquierdo M. S., T. Watanabe, T. Tacheuch, T. Arakawa and C. Kitajima. 1989. Requirement of larval red seabream *Pagrus majoar* for essential fatty acids. Nippon Suisan Gakkaishi, 55:859~867.
- Juaneda, P. and G. Rocquelin. 1985. Rapid and convenient separation of phospholipids and nonphosphorous lipids from rat heart using silica cartridges. Lipids, 21:40~41.
- Kalogeropoulos N., M. N. Alexis and R. J. Henderson. 1992. Effect of dietary soybean and cod-liver oil levels on growth and body composition of gilthead bream (*Sparus aurata*). Aquaculture, 104:293~308.
- Kanazawa, A., S. I. Teshima, M. Sakamoto and Md. A. Awal. 1980. Requirements of *Tilapia zillii* for essential fatty acids. Bull. Jap. Soc. Sci. Fish., 46:1353~1356.
- Kanazawa, A., S. I. Teshima and M. Sakamoto. 1982. Requirements of for essential fatty acids for larval ayu. Bull. Jap. Soc. Sci. Fish., 48:587~590.
- Kanazawa, A. 1985. Essential fatty acid and lipid requirement of fish. In: C. B. Cowey, A. M. Mackie and J. G. Bell (Editors), Nutrition and Feeding in Fish, pp. 281~298.
- Kissil, G., A. Uoungson and C. B. Cowey. 1987. Capacity of the European eel (*Anguilla anguilla*) to elongate and desaturate dietary linoleic acid. J. Nutr., 117:1379~1384.
- Murat, J. C. and A. Serfaty. 1974. Simple enzymatic determination of poly-saccharide (glycogen) content of animal tissues. Clin. Chem., 20:1576~1577.
- NAS (National Academy of Sciences). 1973. Nutrient requirements of trout, salmon and catfish. NAS, Washington, D. C., 50 pp.
- Owen, J. M., J. W. Adron, C. Middleton, and C. B. Cowey. 1975. Elongation and desaturation of dietary fatty acids in tubot, *Scophthalmus maximus L.*, and rainbow trout, *Salmo gairdnerii* Rich. Lipids, 10:528~531.
- Robbins, K. R., H. R. Norton and D. H. Baker. 1979. Estimation of nutrient requirements from growth data. J. Nutr., 109:1710~1714.
- Rogie, A. and E. R. Skinner. 1985. The roles of the intestine and liver in the biosynthesis of plasma lipoproteins in the rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson. Comp. Biochem. Physiol., 81B:285~289.
- Satoh, S., W. E. Poe and R. P. Wilson. 1989. Effect of dietary n-3 fatty acids on weight gain and liver polar lipid fatty acid composition of fingerling channel catfish. J. Nutr., 119:23~28.
- Takeuchi, T. and T. Watanabe. 1977a. Dietary levels of methyl laurate and essential fatty acid

- requirement of rainbow trout. Bull. Jap. Soc. Sci. Fish., 43:893~898.
- Takeuchi, T. and T. Watanabe. 1977b. Requirement of carp for essential fatty acids. Bull. Jap. Soc. Sci. Fish., 43:541~551.
- Takeuchi, T., T. Watanabe and T. Nose. 1979. Requirement for essential fatty acids of chum salmon (*Onchorhynchus keta*) in freshwater environment. Bull. Jap. Soc. Sci. Fish., 45:1319~1323.
- Takeuchi, T., S. Arai, T. Watanabe and Y. Shimma. 1980. Requirement of eel *Anguilla japonica*, for essential fatty acids. Bull. Jap. Soc. Sci. Fish., 46:345~353.
- Takeuchi, T. and T. Watanabe. 1982. Effects of various polyunsaturated fatty acids on growth and fatty acid compositions of rainbow trout *Salmo gairdneri*, coho salmon *Onchorhynchus kisutch*, and chum salmo *Onchorhynchus keta*. Bull. Jap. Soc. Sci. Fish., 48:1745~1752.
- Takeuchi, T., S. Satoh and T. Watanabe. 1983a. Requirement of *Tilapia nilotica* for essential fatty acids. Bull. Jap. Soc. Sci. Fish., 49:1127~1134.
- Takeuchi, T., S. Satoh and T. Watanabe. 1983b. Dietary lipids suitable for the practical feed of *Tilapia nilotica*. Bull. Jap. Soc. Sci. Fish., 49:1361~1365.
- Takeuchi, T., M. Toyota, S. Satoh and T. Watanabe. 1990. Requirement of juvenile red seabream *Pagrus major* for eicosapentaenoic and docosahexaenoic acids. Bull. Jap. Soc. Sci. Fish., 56:1263~1269.
- Watanabe, T., F. Takashima and C. Ogino. 1974a. Effect of dietary methyl linolenate on growth of rainbow trout. Bull. Jap. Soc. Sci. Fish., 40:181~188.
- Watanabe, T., C. Ogino, Y. Koshishi and T. Matsunaga. 1974b. Requirement of rainbow trout for essential fatty acids. Bull. Jap. Soc. Sci. Fish., 40:493~499.
- Watanabe, T., T. Takeuchi and C. Ogino. 1975. Effect of dietary methyl linoleate and linolenate on growth of carp-II. Bull. Jap. Soc. Sci. Fish., 41:263~269.
- Watanabe, T. and T. Takeuchi. 1976. Evaluation of pollock liver oil as a supplement to diets for rainbow trout. Bull. Jap. Soc. Sci. Fish., 42:893~906.
- Watanabe, T., T. Takeuchi, T. Arakawa, K. Imaizumi, S. Sekiya and c. Kitajima. 1989. Requirement of juvenile striped jack *Longirostris delicatissimus* for n-3 highly unsaturated fatty acids. Nippon Suisan Gakkaishi, 55:1111~1117.
- Yamada, K., K. Kobayashi and Y. Yone. 1980. Conversion of linolenic acid to w3-highly unsaturated fatty acids in marine fishes and rainbow trout. Bull. Jap. Soc. Sci. Fish., 46:1231~1233.
- Yone, Y. and M. Fujii. 1975a. Studies on nutrition of red sea bream-XI. Effect of ω 3 fatty acid supplement in a corn oil diet on growth rate and feed efficiency. Bull. Jap. Soc. Sci. Fish., 41:73~77.
- Yone, Y. and M. Fujii. 1975b. Studies on nutrition of red sea bream-XIII. Effect of ω 3 fatty acid supplement in a corn oil diet on fatty acid composition of fish. Bull. Jap. Soc. Sci. Fish., 41:79~86.
- 李鍾允·姜龍珍·李尚旻·金仁培. 1993a. 조피볼락 *Sebastes schlegeli*의 蛋白質 要求量. 韓國養殖學會誌, 6:13~27.
- 李鍾允·姜龍珍·李尚旻·金仁培. 1993b. 조피볼락 *Sebastes schlegeli* 飼料의 適正 에너지/蛋白質 比. 韓國養殖學會誌, 6:29~46.