

## 고밀도 배양에 있어서 영양강화 방법 및 종류에 따른 rotifer의 지방산 조성의 변화

박흥기 · 이균우 · 이상민 · 김성구\* · 김형선\*\*  
강릉대학교 해양생명공학부, \*부경대학교 생물공학과, \*\*한국해양연구소

### Change of fatty acid compositions of rotifer according to enrichment diets and methods in the high density culture

Heum Gi PARK, Kyun Woo LEE, Sang-Min LEE, Sung Koo KIM\*, Hyung Sun KIM  
Faculty of Marine Bioscience & Technology, Kangnung National University, Kangnung 210-702, Korea  
\*Department of Biotechnology and Bioengineering, Pukyong National University, Pusan 608-737, Korea  
\*\*Korean Ocean Research and Development Institute, Ansan, P.O. Box 29, Ansan 425-600, Korea

This study was carried out to compare the growth and fatty acids composition of the rotifer (*Brachionus rotundiformis*) cultured in high density by the various enrichments and culture methods. The rotifer fed on condensed freshwater *Chlorella* was enriched with  $\omega$ -yeast, Algamac, Super Selco and marine *Chlorella*. In another culture method, the rotifer was cultured with enrichment supplements for 6 hours after feeding with condensed freshwater *Chlorella* supplement for 18 hour. The rotifer fed with condensed marine *Chlorella* for 24 hours without freshwater *Chlorella* was used as a control group. Culture tanks (5 l working volume) was immersed in a water bath (28°C). The density of rotifer and dissolved oxygen level in water was stable in control group of rotifer cultured with condensed marine *Chlorella* for 24 hours and the n-3 HUFA content of rotifer was the highest among the rotifer culture methods. However, the density of rotifer and dissolved oxygen level in the groups of rotifers enriched with  $\omega$ -yeast, Algamac and Super Selco by methods were drastically decreased. The n-3 HUFA contents of rotifers enriched by Super Selco were higher than those of rotifer enriched by either  $\omega$ -yeast or Algamac in both methods. The results from this experiment indicated that supplementation of condensed marine *Chlorella* for 24 hour by the semi-continuous culture was effective for the improvement of the nutritional value of rotifer and it could provide the stable growth condition for rotifer culture in high density.

Key words: high density culture, rotifer, *Chlorella*, enrichment, essential fatty acids

### 서 론

해산어류 종묘생산시 자어의 초기 먹이생물인 rotifer의 질적 및 양적인 중요성은 증대되고 있으며 이들을 효율적으로 생산하기 위해서 많은 연구가 수행되었다 (Fernandez-Reiriz et al., 1993; Rainuzzo et al., 1989; Yoshimura et al., 1994). 최근 경제적이고 안정적인 rotifer 배양방법으로 담수산 농축 *Chlorella*를 이용한 고밀도 배양이 수행되었고 이러한 배양방법은 rotifer의 양적확보에 매우 효과적인 것으로 나타났다 (Yoshimura et al., 1995, 1998; 吉村, 1995a, b, 1998).

해산자치어의 정상적인 성장과 생존을 위해서는 필수 지방산으로 EPA (eicosapentaenoic acid)와 DHA (docosahexaenoic acid)를 포함하는 고도불포화지방산 (n-3 HUFA, highly unsaturated fatty acid)이 필수적이며 (Lee et al., 1993a, b, 1994; Rainuzzo et al., 1997; Watanabe et al., 1983; Watanabe 1993), 이 함량은 먹이생물이 섭취하는 먹이중의 n-3 HUFA 함량에 따라서 차이가 날 수 있다 (Rainuzzo et al., 1989). 따라서 rotifer 고밀도 배양에 있어서 n-3 HUFA 함량이 낮은 담수산 농축 *Chlorella*를 섭취한 rotifer는 n-3 HUFA 함량이 낮게 나타나 해산어류 자어에게 먹이로 공급하는데 질적인 문제점이 잠재되어 있다 (吉松·林, 1997a, b; Park et al., 1999).

본 연구는 담수산 농축 *Chlorella*를 이용한 rotifer 고밀도 배

양시 rotifer의 n-3 HUFA 함량을 높일 수 있는 여러 종류의 영양강화제를 이용하여 rotifer의 안정적인 성장과 질적 개선을 위한 효율적인 방법을 조사하였다.

### 재료 및 방법

실험에 사용된 rotifer는 *B. rotundiformis*이며 6 l 원형수조 (배양용량 5 l)를 이용하였고 산소공급은 소형 산소발생기 (NIDEX Medical, Model Mark 5 plus, 산소농도 95% 이상)를 이용하여 1.5 l/분으로 공급하였다. Rotifer 배양수의 염분은 자연해수에 수돗물을 혼합하여 23 ‰로 조정하였고 수온은 28°C로 유지하였다. Rotifer 개체수는 입체현미경하에서 rotifer 개체밀도가 200개체/ml 전후로 되도록 희석한 후 3회 측정하였다. 실험기간동안 배양수의 용존산소를 측정하기 위해 산소측정기 (YSI, Model 57)를 이용하였다.

Rotifer는 지방산 분석을 위해 담수로 깨끗이 세척한 후 -75°C에 보관하였다. 이렇게 냉동된 시료를 진공동결건조시켜, Folch et al. (1957)의 방법에 따라 지질을 추출하여 Lee (1997)의 방법으로 14% BF<sub>3</sub>-methanol (Sigma, USA)로 지방산을 methylation시킨 후, capillary column (HP-INNOWax, 30 m×0.32 mm×0.5 μm, USA)이 장착된 gas chromatography (Shimadzu, GC-17A, Japan)

로 지방산을 분석하였다. 표준지방산으로 12:0, 13:0, 14:0, 14:1, 16:0, 16:1, 17:0, 17:1, 18:0, 18:1, 18:2n-6, 18:3n-6, 18:3n-3, 18:4n-3, 18:4 n-6, 20:0, 20:1, 20:2n-6, 20:3n-6, 20:4n-3, 20:5n-3, 22:0, 22:1, 22:4n-3, 22:5n-3, 22:6n-3 및 24:1 (Sigma, USA)을 사용하였다. Carrier gas는 helium (30 ml/min)을 사용하였으며, oven 온도는 170°C에서 225°C까지 1°C/min 증가시켰고, injector의 온도는 250°C, detector (FID) 온도는 270°C로 설정하였다. Rotifer의 건조중량당 지방산 함량은 Yoshimatsu et al. (1997)의 방식으로 계산하였다 (건조중량당 지방산 함량 % = 건조중량의 총 지질 % × 지방산 % × 0.892).

담수산 *Chlorella*로 배양한 후 rotifer의 2차 영양강화 효과

실험초기 rotifer는 담수산 *Chlorella*로 배양한 후 8,000개체/ml로 접종하였고 이때 영양강화제인 유지효모 (EPA; 9.6%, DHA; 9.5%, 주식회사 이화유지공업), Super Selco (EPA; 12.3%, DHA; 15.4%, Artemia System SA, USA), Algamac (EPA; 0.6%, DHA; 24.0%, Aquafauna, USA), 해수산 농축 *Chlorella* (EPA; 19.7%, DHA; 0%, 주식회사 이화유지공업)를 공급하였다. 영양강화제 공급량은 해수산 농축 *Chlorella*의 경우, 건조중량 15.726 g을 공급하였고, 나머지 영양강화제는 건조중량 1.808 g을 공급하였다. 배양 8, 16시간째 영양강화제에 따른 rotifer의 개체수, n-3 HUFA의 함량 및 배양수의 용존산소량을 조사하였다.

반 연속 고밀도 배양중 rotifer 영양강화 효과

담수산 *Chlorella*로 배양한 rotifer를 각 배양수조에 5,000개체/ml로 접종하였고 담수산 농축 *Chlorella* (*Chlorella*, Ind. Co. Ltd., Japan; 세포수, 140 × 10<sup>9</sup> cells/ml; 용적비 (Packed cell volume, 520 ml/l) 100 ml (건조중량 15.726 g)를 냉장고 (4°C)에 보관하면서 정량펌프 (Eyela, Model MP-N)를 이용하여 18시간 동안 자동 연속 공급하였다. 배양 18시간째부터 6시간 동안 각 영양강화제 (건조중량 1.808 g)을 공급하였고, 해수산 농축 *Chlorella*의 경우, 건조중량 5.242g을 공급하였다. 또한 대조구로 담수산 농축 *Chlorella*를 공급하지 않고 24시간 동안 해수산 농축 *Chlorella* (건조중량 20.968 g)만 공급하였다.

배양 24시간 후 각 수조에 rotifer가 5,000개체/ml가 되도록 나머지 rotifer는 수확하고 수확한 배양수 만큼의 새로운 배양수를 보충하였다. 또한 수조내의 부유물질을 제거하기 위해 nylon mat (10 × 15 × 0.5 cm, KS185N, Aqua Culture System, Japan)를 설치하여 1일 1회 세척하였다. 영양강화제에 따른 rotifer의 개체수, n-3 HUFA의 함량 및 배양수의 용존산소량을 조사하였고 실험은 3일동안 계속하였다.

결 과

담수산 *Chlorella*로 배양한 rotifer의 2차 영양강화 시간별 rotifer 개체수와 용존산소량 변화는 Table 1과 같다. 2차 영양강화시 rotifer의 개체수는 시간이 지날수록 높게 나타나는 경향을 보였지만 Super Selco는 8시간째보다 오히려 16시간째 감소하였다. Rotifer

개체수는 해수산 *Chlorella*가 18시간째 13,500개체/ml로 가장 높게 나타났고 Super Selco가 가장 낮은 9,100개체/ml로 나타났다. 유지효모와 Algamac은 각각 11,700~10,100개체/ml로 비슷한 경향을 보였다. 배양수조의 용존산소량 변화는 시간이 지날수록 낮아지는 경향을 보였고 Super Selco와 Algamac이 18시간째 1.5와 3.2 ppm으로 가장 낮게 나타났다. 그러나 해수산 *Chlorella*는 16.4 ppm으로 다른 실험구보다 비교적 높게 나타났다.

Rotifer의 2차 영양강화시 rotifer 건조중량에 대한 n-3 HUFA의 함량은 Fig. 1과 Table 2에 나타내었다. 초기 담수산 농축 *Chlorella*에 있어서 linoleic acid (18:2n-6)는 상대적으로 높게 나타났지만 n-3 HUFA의 함량은 낮게 나타났다. 영양강화제를 공급한 후 8시간째 rotifer의 n-3 HUFA의 함량은 모든 실험구에서 초기 담수산 농축 *Chlorella*보다 증가 하였지만 영양강화 시간에 따라서는 큰 차이는 보이지 않았다. Rotifer의 n-3 HUFA의 함량은 Super Selco가 4.1%로 가장 높게 나타났고 Algamac이 2.3%로 나타났다. 그러나 유지효모와 해수산 농축 *Chlorella*는 초기 담수산 농축 *Chlorella* 보다 약간 높게 나타났다.

Table 1. Growth of rotifer fed on the different enrichments during the secondary culture

Enrichment	Enrichments time (hour)					
	0 h		8 h		16 h	
	Dissolved oxygen (ppm)	Rotifer density (ind./ml)	Dissolved oxygen (ppm)	Rotifer density (ind./ml)	Dissolved oxygen (ppm)	Rotifer density (ind./ml)
$\omega$ -yeast	30	8,000	158	9,500	9.7	11,700
Algamac	30	8,000	42	8,200	3.2	10,100
Super Selco	30	8,000	67	10,200	1.5	9,100
Marine <i>Chlorella</i>	30	8,000	255	10,100	16.4	13,500

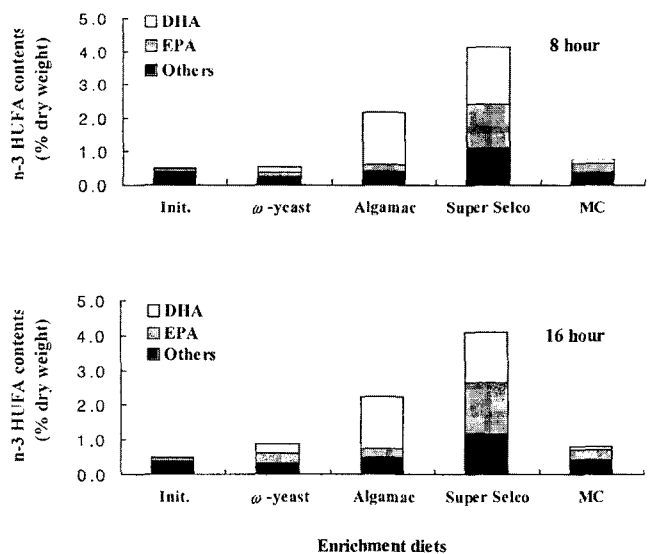


Fig. 1. Changes in n-3HUFA contents (% dry weight) of rotifers cultured with the different enrichments during the secondary culture for 8 and 16 hours (MC, marine *Chlorella*).

**Table 2.** Fatty acid compositions (area %) of rotifer fed on the different enrichments during the secondary culture

Fatty acids	Enrichment time (hour)									
	Initial	8 h				16 h				
		$\omega$ -yeast	Algamac	Super Selco	MC*	$\omega$ -yeast	Algamac	Super Selco	MC*	
14:0	1.1	1.7	7.7	0.6	2.2	2.6	6.0	0.8	1.8	
16:0	21.4	21.0	34.9	10.9	23.8	18.0	35.8	12.8	19.5	
16:1	0.7	5.5	1.4	0.7	3.6	5.1	1.4	1.0	2.4	
18:0	4.3	5.9	3.7	3.6	6.3	5.9	4.7	4.2	6.8	
18:1	2.5	10.3	2.0	5.9	4.7	9.8	1.4	9.2	6.8	
18:2n-6	47.5	33.1	19.1	18.0	41.6	29.4	20.9	19.1	40.1	
18:3n-6	-	-	-	-	-	-	-	0.1	-	
18:3n-3	8.5	5.2	3.0	2.7	-	6.4	3.0	2.6	0.5	
18:4n-3	1.6	-	-	-	-	-	-	0.4	0.5	
20:0	-	2.6	1.2	1.3	2.9	3.4	1.9	1.8	3.9	
20:1	0.9	1.7	-	1.5	-	2.0	-	2.5	1.1	
20:2n-6	-	-	-	-	-	-	-	0.2	-	
20:3n-6	0.7	-	-	-	-	0.7	-	0.7	-	
20:3n-3	4.8	2.5	1.4	1.3	3.3	2.4	1.6	2.0	3.0	
20:4n-6	1.3	2.0	1.8	1.5	2.8	2.4	2.1	2.0	3.7	
20:4n-3	1.2	2.0	1.3	1.8	2.1	-	1.7	1.9	2.3	
20:5n-3	0.9	2.6	1.7	12.5	4.4	2.9	1.9	12.8	3.7	
22:0	0.7	0.9	-	6.0	-	1.4	-	3.5	1.3	
22:1	0.4	-	-	0.7	-	0.8	-	1.2	0.5	
22:4n-6	1.0	-	-	1.1	-	1.1	-	1.0	-	
22:4n-3	-	-	-	0.6	-	0.5	-	0.5	-	
22:5n-3	-	-	1.1	6.7	0.8	1.0	1.0	5.4	-	
22:5n-6	-	-	4.7	1.1	-	0.6	4.1	-	-	
22:6n-3	0.4	3.1	14.0	16.3	1.4	3.0	12.5	12.2	1.3	
24:0	-	-	1.0	-	-	0.7	-	0.3	0.5	
24:1	-	-	-	5.2	-	-	-	1.7	0.3	
Total lipid	7.8	6.2	12.5	11.8	7.1	9.8	13.6	13.1	8.7	
n-3 HUFA**	7.3	10.1	19.5	39.3	12.0	9.8	18.6	35.0	10.5	

\*MC; marine *Chlorella*.

\*\*HUFA; highly unsaturated fatty acid (C $\geq$ 20).

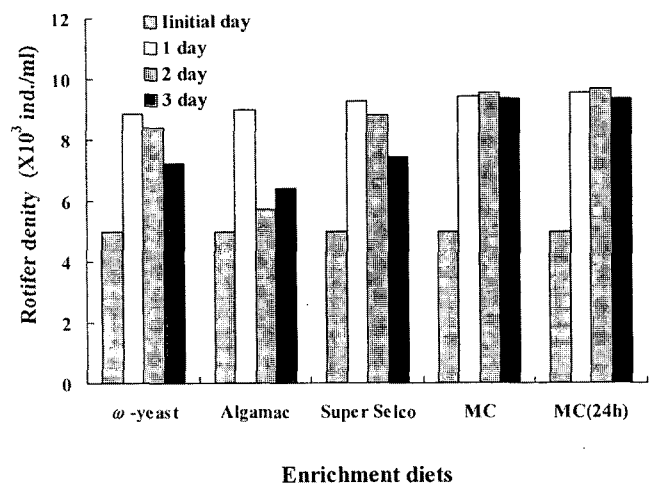
-; trace amount ( $\leq$ 0.05).

반 연속 고밀도 배양시 영양강화제 첨가에 따른 rotifer 개체수와 용존산소량 변화는 Fig. 2와 3에 나타내었다. Rotifer 개체수는 유지효모, Algamac 및 Super Selco로 영양강화하였을 경우, 시간이 지날수록 감소하는 경향을 보였지만 해수산 *Chlorella*를 6시간 및 24시간 공급한 실험구에서는 3일 동안 9,300개체/ml 이상 유지되었다. 배양수의 용존산소량의 변화를 보면 Algamac과 Super Selco의 경우, 배양 1일째부터 용존산소량이 급격히 감소하여 배양 3일째 각각 1.63, 3.52 ppm까지 감소하였다. 그러나 해수산 *Chlorella*를 6시간 및 24시간 공급한 실험구는 배양 1일째 전혀 용존산소가 감소하지 않았고 배양 2, 3일째 약 10 ppm을 유지하였다. 반 연속 고밀도 배양시 영양강화제를 첨가한 실험구의 n-3 HUFA 함량은 초기 담수산 농축 *Chlorella*보다 높게 나타났고 대조구인 해수산 농축 *Chlorella*를 24시간 동안 공급하였을 때 가장 높은 4.2%를 보였다 (Fig. 4와 Table 3). 그리고 Super Selco가 다른 실험구보다 비교적 높은 3.2%로 나타났다.

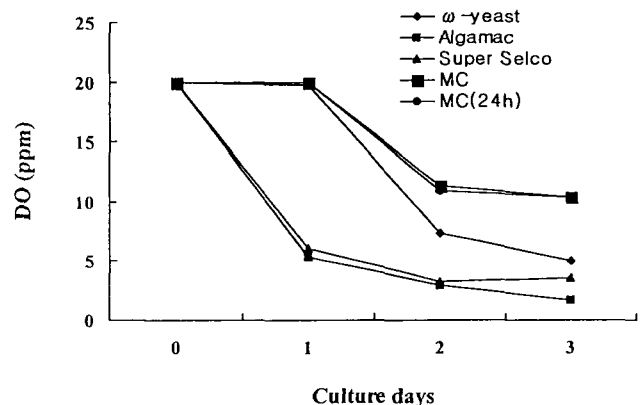
고찰

먹이로 담수산 농축 *Chlorella*를 이용하여 rotifer를 고밀도로 배양할 경우, rotifer의 n-3 HUFA 함량이 낮아 해산어류 자어에게 먹이로 공급하는데 많은 문제점이 있다 (吉松·林, 1997a, b).

따라서 Yoshimatsu et al. (1997)는 rotifer 고밀도 배양에서 영양강화 방법으로 담수산 *Chlorella*를 공급하면서 영양강화제인 유화오일을 첨가한 결과, 영양강화제 담수산 *Chlorella* 공급량에 따라 rotifer의 n-3 HUFA의 함량에 차이가 있으며 이것은 rotifer의 먹이선택이 먼저 살아있는 담수산 *Chlorella*를 섭취하고 다음으로 불활성인 인공먹이(유화오일)를 섭취하기 때문에 담수산



**Fig. 2.** Growth of rotifer cultured with the different enrichment supplements for 6 hours after cultured with freshwater *Chlorella* supplement for 18 hours during the semi-continuous high density culture (MC, marine *Chlorella*; MC 24h, cultured with marine *Chlorella* for 24 hours without freshwater *Chlorella* supplement).



**Fig. 3.** Changes of dissolved oxygen concentration in the rotifer cultured tank water according to the different enrichment supplements for 6 hours after cultured with freshwater *Chlorella* supplement for 18 hours during the semi-continuous high density culture (MC, marine *Chlorella*; MC 24h, cultured with marine *Chlorella* for 24 hours without freshwater *Chlorella* supplement).

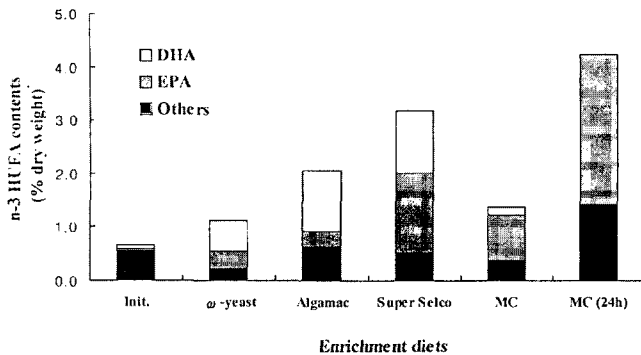


Fig. 4. Changes in n-3 HUFA contents (% dry weight) of rotifer cultured with the different enrichments supplement for 6 hours after cultured with freshwater *Chlorella* supplement for 18 hours during the semi-continuous high density culture (MC, Marine *Chlorella*; MC 24h, cultured with marine *Chlorella* for 24 hours without freshwater *Chlorella* supplement).

Table 3. Fatty acid compositions (area %) of rotifer cultured with the different enrichment supplements for 6 hours after cultured with freshwater *Chlorella* supplement for 18 hours during the semi-continuous high density culture

Fatty acids	Enrichment diets					
	Initial	ω-yeast	Algamac	Super Selco	MC*	MC** (24h)
14:0	1.3	—	3.7	1.0	2.2	2.8
16:0	21.6	25.1	28.7	19.7	24.7	19.6
16:1	0.9	5.2	1.4	1.3	4.2	14.7
18:0	4.5	5.5	4.4	5.0	5.6	3.0
18:1	5.3	6.9	2.6	6.8	4.7	7.8
18:2n-6	54.6	36.3	30.6	31.0	36.6	5.0
18:3n-3	4.5	—	4.3	—	4.7	0.2
18:4n-3	—	—	0.2	1.2	—	0.2
18:4n-6	—	—	0.1	1.7	—	—
20:0	1.0	3.7	1.6	1.9	2.3	—
20:1	1.0	1.9	0.2	0.5	—	0.3
20:2n-6	—	—	—	—	—	0.1
20:3n-6	—	—	0.1	0.4	—	0.2
20:3n-3	4.2	2.0	2.3	2.2	—	0.5
20:4n-6	1.4	—	1.7	—	—	4.2
20:4n-3	0.9	—	1.3	1.9	1.4	1.2
20:5n-3	0.5	3.1	2.1	12.2	8.1	27.0
22:0	—	—	0.4	2.1	1.1	—
22:1	0.5	—	0.0	—	—	0.8
22:4n-6	0.6	—	0.5	—	0.8	—
22:4n-3	0.4	—	0.6	0.3	0.7	1.9
22:5n-3	0.2	—	0.9	—	1.3	10.1
22:5n-6	—	—	3.5	—	—	—
22:6n-3	0.7	5.1	9.0	9.7	1.5	0.4
24:1	—	5.4	—	1.2	—	—
Total lipid	10.9	12.4	14.4	13.6	12.0	11.5
n-3 HUFA***	6.8	10.1	16.1	26.3	13.0	41.2

\*MC; marine *Chlorella*.

\*\*MC 24h; cultured with marine *Chlorella* for 24 hour without freshwater *Chlorella* supplement.

\*\*\*HUFA; highly unsaturated fatty acid (C<sub>≥</sub>20).

—; trace amount (≤0.05).

*Chlorella*의 공급량이 많을수록 n-3 HUFA의 함량은 낮아진다고 보고하였다. 이러한 결과는 담수산 *Chlorella*를 이용하는 rotifer 고밀도 배양에서 배양된 rotifer를 수확한 후 *Chlorella*가 없는 수조에서 2차 영양강화하는 방법만이 rotifer의 n-3 HUFA의 함량을 증가시킬 수 있다는 것으로 rotifer 생산관리를 불편하게 할 수 있는 단점이 있다. 따라서 고밀도 배양에 있어서 rotifer를 자어에게 먹이로 공급하기 전에 rotifer의 질적 개선을 위한 가장 좋은 방법은 고밀도 배양 수조내에서 rotifer의 n-3 HUFA 함량을 개선시키는 것으로 이 방법은 rotifer 생산관리를 아주 효율적으로 할 수 있다.

이처럼 rotifer 고밀도 배양 관리상의 장점과 해산어류 자어의 정상적인 성장 위해서 필요한 먹이생물의 3~4% n-3 HUFA의 함량 (Yoshimatsu et al., 1997)에 충족될 수 있는 영양강화제는 반 연속 배양에서 18시간 담수산 *Chlorella*를 공급한 후 6시간 Super selco (3.2%)를 공급한 실험구와 24시간 해수산 *Chlorella* (4.2%)를 공급한 실험구라고 판단된다. 특히, Yoshimatsu et al. (1997)의 결과와 반대로 본 실험에서 담수산 *Chlorella*를 공급하면서 Super Selco를 공급하더라도 n-3 HUFA의 함량이 높게 나타났는데 이것은 영양강화 시간 (6시간 동안)에는 *Chlorella*를 공급하지 않아 배양수내의 여분의 *Chlorella*가 적어 n-3 HUFA가 높았던 것으로 판단된다. 그러나 18시간 담수산 *Chlorella*를 공급한 후 6시간 Super Selco를 공급한 실험구에서의 배양환경과 rotifer의 개체밀도 변화를 보면 시간이 지날수록 배양수의 용존 산소와 개체밀도가 급격히 감소하였는 경향을 보였다. 이러한 용존 산소 감소 원인은 유화오일의 첨가로 배양수내의 지방 산화과 정중 산소를 다량 소비하는 것과 산화된 지방산을 bacteria가 분해하는데 소비하는 산소에 의한 것으로 생각되어지며, rotifer 개체밀도의 감소 원인은 고밀도 배양시 기름성분이 rotifer를 서로 흡착시켜 rotifer 성장에 악영향을 미친다고 보고 (吉村, 1998; Park et al., 1999)하였는데 본 실험에서도 시간이 지날수록 기름성분이 rotifer를 서로 흡착시켜 배양수 표면위에 묻혀있는 것을 관찰하였다. 이러한 현상은 유지효모 및 Algamac의 실험구에서도 관찰되었다.

본 실험에 있어서 유지효모와 Algamac으로 영양강화시 rotifer의 n-3 HUFA의 함량이 낮게 나타났는데 이것은 rotifer 개체수에 따른 영양강화제 공급량 부족에 의한 것으로 판단된다 (北島, 1989). 그러나 공급량의 과다한 증가는 rotifer의 흡착율을 증가시킬 수 있으므로 앞으로 rotifer 개체수에 따른 적정 영양강화제의 공급량 규명도 필요할 것으로 판단된다.

한편 해수산 *Chlorella*로 2차 영양강화시 24시간 연속으로 공급한 해수산 *Chlorella*보다 n-3 HUFA의 함량이 낮게 나타났는데 이러한 원인은 2차 영양강화시 rotifer 개체수 (13,500개체/ml)가 매우 높게 나타나 먹이인 *Chlorella* 공급량 부족으로 생각되며 충분한 양을 공급하였을 때 n-3 HUFA의 함량은 증대될 것으로 판단된다. 그리고 본 실험에서 경제적인 문제점을 고려하여 담수산 농축 *Chlorella*를 18시간 배양후 6시간 해수산 농축 *Chlorella*로 배양하였을 때 높은 rotifer 개체밀도와 양호한 배양환경을 유지하였다. 그러나 초기 담수산 농축 *Chlorella*만으로 공급한 rotifer의 n-3 HUFA의 함량보다 높게 나타났지만 어류자어에 필요한 3~4% n-3 HUFA 함량보다는 낮은 1.4%로 나타났다.

본 실험을 종합해 볼 때, 고밀도 배양에 있어서 rotifer의 n-3

HUFA 함량과 양적인 확보를 위해서 오일을 이용한 영양강화제는 안정적인 rotifer 고밀도 배양을 수행하는데 많은 문제점이 있기 때문에 해수산 *Chlorella*를 24시간 연속으로 공급하는 것이 현재로서 가장 효율적인 것으로 판단된다. 다만 해수산 농축 *Chlorella* 생산량은 수요량에 비하여 매우 부족한 실정이기 때문에 Super Selco를 이용할 경우, rotifer 배양수 관리에 세심한 주의가 필요할 것으로 판단된다. 또한 rotifer 고밀도 배양의 장점의 하나인 생산 관리의 문제점을 감수할 경우, Super Selco로 2차 영양강화하는 것도 고려해 볼 수 있을 것으로 판단된다 (Yoshimatsu et al, 1997). 그러나 시간에 따른 rotifer의 질적 개선 효과는 시간의 효율성을 고려할 때 16시간 영양강화시켜도 rotifer의 n-3 HUFA의 함량의 변화가 8시간짜리보다 큰 차이는 보이지 않아 짧은 시간 (8시간)을 선택하는 것이 좋을 것으로 판단된다.

## 요 약

본 연구는 고밀도 배양시 rotifer의 영양강화 방법 및 영양강화제에 따른 rotifer의 개체밀도와 지방산 조성을 조사하였다. 첫째 방법은 담수산 *Chlorella*로 rotifer를 고밀도로 배양한 후 영양강화제인 유지효모, Algamac, Super Selco, 해수산 *Chlorella*로 2차 영양강화 하였다. 두 번째 방법은 rotifer 반 연속 고밀도 배양중 18시간 동안 담수산 *Chlorella*를 공급한 후 6시간동안 영양강화제를 공급하였고 대조구로 담수산 *Chlorella*을 공급하지 않고 24시간 동안 해수산 *Chlorella*를 공급하였다. 배양수조는 5ℓ를 이용하여 수온 28℃를 유지하였고 산소가스를 공급하였다.

반 연속 고밀도 배양 방법에서 24시간 동안 해수산 *Chlorella*를 공급하였을 때 rotifer 밀도와 용존산소는 안정적으로 유지되었고 rotifer의 n-3 HUFA의 함량이 다른 실험구보다 가장 높게 나타났다. 그러나 2차 영양강화 방법과 반 연속 고밀도 배양 방법에서 유지효모, Algamac 및 Super Selco로 영양강화하였을 때 rotifer의 밀도와 용존산소는 급격히 감소하는 경향을 보였고 이들 영양강화제 가운데 Super Selco가 비교적 높은 n-3 HUFA의 함량을 보였다. 따라서 본 실험을 통해서 rotifer 고밀도 배양시 안정적인 rotifer 성장과 rotifer의 질적 개선을 위해서는 24시간 해수산 *Chlorella*를 공급하는 것이 효율적인 것으로 판단된다.

## 감사의 글

본 연구는 부경대학교 해양산업개발연구센터를 통한 한국과학재단 우수연구센터 99년도 지원금 (97K3-1506-01-01-3)에 의한 것이다.

## 참 고 문 헌

- Fernandez-Reiriz, M.J., U. Labarta and M.J. Ferreira. 1993. Effects of commercial enrichment diets on the nutritional value of the rotifer (*Brachionus plicatilis*). *Aquaculture*, 112, 195~206.
- 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.
- Lee, S.M. 1997. Effects of dietary lipid source and water temperature on nutrient digestibilities in juvenile and adult Korean rockfish (*Sebastes schlegeli*). *Kor. J. Anim. Nutr. Feed.*, 21, 381~390.
- Lee, S.M., J.Y. Lee, Y.J. Kang and S.B. Hur. 1993a. Effects of n-3 highly unsaturated fatty acids on growth and biochemical changes in the Korean rockfish *Sebastes schlegeli* II. changes of blood chemistry and properties of liver cells. *J. Aquaculture*, 6(2), 107~123.
- Lee, S.M., J.Y. Lee, Y.J. Kang, H.D. Yoon and S.B. Hur. 1993b. N-3 highly unsaturated fatty acid requirement of the Korean rockfish *Sebastes schlegeli*. *J. Korean Fish. Soc.*, 26(5), 477~492.
- Lee, S.M., J.Y. Lee and S.B. Hur. 1994. Essentiality of dietary eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid in Korean Rockfish, *Sebastes schlegeli*. *J. Korean Fish. Soc.* 27, 721~726.
- Park, H.G., S.K. Kim, K.Y. Park and Y.J. Park. 1999. High density cultivation of rotifer, *Brachionus rotundiformis* in the different diets. *J. Korean Fish. Soc.*, 32(2), 280~283.
- Rainuzzo, J.R., Y. Olsen and G. Rosenlund. 1989. The effect of enrichment diets on the fatty acid composition of the rotifer *Brachionus plicatilis*. *Aquaculture*, 79, 157~161.
- Rainuzzo, J.R., K.I. Retain and Y. Olsen. 1997. The significance of lipids at early stages of marine fish: a review. *Aquaculture*, 155, 103~115.
- Watanabe, T. 1993. Importance of docosahexaenoic acid in marine larval fish. *J. World Aquacul. Soc.*, 24(2), 152~161.
- Watanabe, T., C.K. Kitajima and S. Fujita. 1983. Nutritional values of live organisms used in Japan for mass propagation of fish; a review. *Aquaculture*, 34, 115~143.
- Yoshimatsu, T., H. Imoto, M. Hayashi, K. Toda and K. Yoshimura. 1997. Preliminary results in improving essential fatty acids enrichment of rotifer cultured in high density. *Hydrobiologia*, 358, 153~157.
- Yoshimura, K., K. Usuki, T. Yoshimatsu, K. Tanaka, A. Ishizaki and H. Kamimura. 1998. Changes in the concentrations of ammonia and particulate organic matter and rotifer biomass in high density semi-continuous culture, *Suisan Zoshoku*, 46(2), 183~192.
- Yoshimura, K., T. Iwata, K. Tanaka, C. Kitajima and F. Ishizaki. 1995. A high density cultivation of rotifer in an acidified medium for reducing undissociated ammonia. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 61(4), 602~607.
- Yoshimura, K., C. Kitajima, Y. Miyamoto and G. Kishimoto. 1994. Factors inhibiting growth of the rotifer *Brachionus plicatilis* in high density cultivation by feeding condensed *Chlorella*. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 60(2), 207~213.
- 吉松隆夫 · 林雅弘, 1997a. 高密度培養ワムシの栄養強化技術(上). *日本養殖誌*, 34(6), 76~78
- 吉松隆夫 · 林雅弘, 1997b. 高密度培養ワムシの栄養強化技術(上). *日本養殖誌*, 34(7), 119~121.
- 吉村研治, 1998. ワムシ培養の最新技術と今後の展望について. *日本養殖誌*, 35(10), 42~47.
- 吉村研治, 1995a. シオミズツボワムシの高密度培養システム(上). *日本養殖誌*, 32(6), 114~118.
- 吉村研治, 1995b. シオミズツボワムシの高密度培養システム(下). *日本養殖誌*, 32(7), 116~118.
- 北島 力, 1989. 栄養欠陥ワムシとその改善法. 初期餌料生物-シオミズツボワムシ(福所邦彦 · 平山和次). 恒星社厚生閣, 東京, pp. 158~166.

1999년 8월 21일 접수

1999년 10월 23일 수리