

Linoleic acid, EPA 및 DHA 조성이 다른 배합사료 공급에 따른 넙치 (*Paralichthys olivaceus*)의 성장 및 어체 지방산 조성

김에스더 · 이상민*

강릉원주대학교 해양생물공학과

Effect of Different Dietary Composition of Linoleic Acid, Eicosapentaenoic Acid and Docosahexaenoic Acid on the Growth and Fatty Acid Profile of Olive Flounder *Paralichthys olivaceus*

Esther Kim and Sang-Min Lee*

Department of Marine Biotechnology Gangneung-Wonju National University, Gangneung 25457, Korea

This study was conducted to investigate the effects of different dietary lipid sources on the growth, feed utilization, body composition and tissue fatty acid profile of olive flounder *Paralichthys olivaceus*. Five isonitrogenous and isocaloric diets were formulated by adding various lipid sources including soybean oil (SO), eicosapentaenoic acid triglyceride (EPATG) and ethyl ester (EPAEE) forms, docosahexaenoic acid triglycerides (DHATG) and a 1:1 blend of soybean oil and DHATG. Triplicate groups of fish (6.8 ± 0.01 g) were fed one of the experimental diets to apparent satiation twice daily for 8 weeks. Fish fed the DHATG diet had the highest growth, protein efficiency ratio and feed efficiency values which were significantly higher than those fed the SO and EPAEE diets. Whole body proximate composition and somatic parameters were not influenced by the dietary treatments. Muscle of fish fed with SO diets were rich in 18:1n-9, 18:2n-6 and 18:3n-3, whereas those of fish fed with EPATG, EPAEE and DHATG diets were rich in n-3 highly unsaturated fatty acids (HUFA). These findings indicated that the inclusion of n-3HUFA oils in olive flounder feed could be beneficial for the fish while simultaneously increasing the concentration of beneficial n-3HUFA in fish fillets destined for the human consumer.

Key words: *Paralichthys olivaceus*, Flounder, Lipid, Fatty acid

서론

넙치(*Paralichthys olivaceus*)는 우리나라의 대표적인 양식어종으로 1980년대부터 양식 생산량이 증가되어 최근에는 국내 해수어류양식 생산량의 40%전후를 차지하고 있다(Kim et al., 2012; Jee et al., 2014). 또한, 넙치는 국내 소비자들에게 회나 매운탕으로 기호도가 높아서 어체 품질 향상에 관한 지속적인 연구가 필요한 어종이다. 양식 어류의 생산성과 어체의 품질은 공급되는 사료의 영양성분과 기능성 영양소로 조절이 가능한 것으로 보고되고 있다(Aminikhoei et al., 2013; Pham et al., 2014).

사료 영양소 중 지질은 어류의 에너지원으로서 중요할 뿐만

아니라 에너지가(value)가 높아 값비싼 사료 단백질을 절감시킬 수 있는 중요한 영양소이다(Lee and Kim, 2009; Rahimnejad et al., 2015). 사료 단가를 절감시키기 위한 단백질 절약 효과 차원에서 사료 지질 함량에 관한 연구와 다양한 지질원료에 따른 어류의 성장 및 체성분 변화에 대한 효과를 조사한 연구가 계속 수행되고 있다(Mugrditchian et al., 1981; Beamish and Medland, 1986; Greene and Selivonchick, 1990; De Silva et al., 1991). 이러한 연구들은 그 어종이 요구하는 지방산의 종류와 함량이 사료에 함유된 지질에서 충족되는가에 초점을 두었다. 어류의 정상적인 성장과 생존을 위해 사료 내 필수적으로 공급해 주어야 하는 지방산을 필수지방산이라 하는데, 어종 및 서식 환경에 따라 필수지방산의 종류 및 요구량이 다른 것으로 알려

*Corresponding author: Tel: +82. 33. 640. 2414 Fax: +82. 33. 640. 2955

E-mail address: smlee@gwnu.ac.kr



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

<https://doi.org/10.5657/KFAS.2019.0049>

Korean J Fish Aquat Sci 52(1), 49-58, February 2019

Received 9 January 2019; Revised 24 January 2019; Accepted 13 February 2019

저자 직위: 김에스더(연구원), 이상민(교수)

져 있다. 일반적으로 담수어류는 사료 내 linoleic acid (18:2n-6)와 linolenic acid (18:3n-3)를 단독 또는 두 가지 모두를 필요로 하며, 해산어류는 사료내에 EPA (eicosapentaenoic acid, 20:5n-3) 또는 DHA (docosahexaenoic acid, 22:6n-3)와 같은 n-3계 고도불포화지방산(n-3 highly unsaturated fatty acids, n-3HUFA)을 필요로 한다(Webster and Lovell, 1990; Ruyter et al., 2000; Lee et al., 2003; Fonseca-Madrigal et al., 2005; Kim and Lee, 2005; Mourente et al., 2005). 넙치의 경우 EPA와 DHA가 사료에 부족하면 여러 가지 결핍증상이 초래되고, 요구량 이상의 EPA와 DHA 공급은 어류의 성장을 더 이상 개선시키지 못한다고 보고된 바 있다(Bell et al., 2003; Kim and Lee, 2004; Piedecausa et al., 2007; Aminikhoei et al., 2013). 어류에는 해산어류가 요구하는 EPA와 DHA와 같은 n-3HUFA가 다

량 함유되어 있을 뿐 아니라 EPA/DHA 비가 적절히 함유되어 있으므로 어류의 n-3HUFA 요구를 충족시켜 주기 위해 그들의 사료 지질원으로 어유를 많이 사용하고 있다(Kalogeropoulos et al., 1992; Lee, 2001).

지질의 주 성분인 지방산은 주로 ethyl ester (EE) 또는 triglyceride (TG) 형태이며, 어유의 경우 가공공정에 따라 서로 다른 형태로 결합된다. 어유의 제조 공정 중 오염원을 제거하기 위한 가장 효과적인 방법 중의 하나는 증류공정(distillation process)이다. 증류공정은 원유(crude fish oil)를 에탄올과 반응시켜 구조적으로 변화시킨 후 감압 하에서 분자증류(molecular distillation)하여 오염원을 제거하는 방법으로, 이 공정에서 EE형의 지방산이 농축된다. 농축 오메가-3 제품의 경우, EE를 함유하는 원료를 직접 제품화 했거나, triglyceride로 재조합(re-esterified

Table 1. Ingredients and proximate composition of experimental diets

	Diets				
	SO	EPA90TG	EPA70EE	DHA85TG	SO+DHA85TG
Ingredients (%)					
Herring meal	50.0	50.0	50.0	50.0	50.0
Soybean meal	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0
Wheat flour	19.3	19.3	19.3	19.3	19.3
Corn gluten meal	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0
Potato-starch	5.0	5.0	2.7	5.0	5.0
Soybean oil	8.0				4.0
EPA90TG ¹		8.0			
EPA70EE ²			10.3		
DHA85TG ³				8.0	4.0
Vitamin premix ⁴	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
Mineral premix ⁵	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
Vitamin C (50%)	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3
Vitamin E (25%)	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
Choline (50%)	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
Nutrient content (% dry matter basis)					
Crude protein	49.5	48.8	49.6	46.5	48.0
Crude lipid	14.7	15.0	16.9	14.3	14.7
Ash	10.2	10.1	10.2	9.6	9.3
Linolenic acid	3.8	0.9	0.8	1.0	2.1
EPA	0.5	7.2	6.8	0.9	0.0
DHA	0.7	0.7	0.5	5.8	4.1
n-3HUFA ⁶	1.8	8.5	8.4	7.0	4.4

^{1,2,3}EPA90TG, EPA70EE, DHA85TG: provided by Chemport, Seoul, Korea. ⁴Vitamin mix contained the following amount which were diluted in cellulose (g/kg mix): DL- α -tocopheryl acetate, 20; thiamin hydrochloride, 5; riboflavin, 8; pyridoxine hydrochloride, 2; nicin, 40; Ca-D-pantothenate, 12; myo-inositol, 200; D-biotin, 0.4; folic acid (98%), 1.5; p-aminobenzoic acid, 20; menadione, 4; retinyl acetate, 1.5; cholecalciferol, 0.003; cyanocobalamin, 0.003. ⁵Mineral mix contained the following ingredients (g/kg mix): NaCl, 10, MgSO₄·7H₂O, 150; NaH₂PO₄·2H₂O, 250; KH₂PO₄, 320; CaH₄(PO₄)₂·H₂O, 200; Ferric citrate, 25; ZnSO₄·7H₂O, 4; Ca-lactate, 38.5; CuCl, 0.3; AlCl₃·6H₂O, 0.15; KIO₃, 0.03; Na₂Se₂O₃, 0.01; MnSO₄·H₂O, 2; CoCl₂·6H₂O, 0.1. ⁶Highly unsaturated fatty acids (C₂₀).

triglyceride, rTG)한 것이다(Jiankang et al., 2010). 이 두 유형에 대한 인체의 안전성 및 흡수성 등에 관련한 연구에 따르면 EE형보다는 TG형이 인체에 더 유용하고 안전성 면에서 장점이 있지만, 가격이 비싸다는 단점이 있다(Arne et al., 1991).

본 연구는 넙치에 적합한 배합사료 개발을 위한 영양연구와 어체의 품질 향상에 관한 연구의 일환으로 지방산 조성이 다른 사료 지질원으로 대두유 및 농축된 오메가-3계 지방산 첨가가

넙치 치어의 성장, 체조성 및 어체 지방산 조성에 미치는 영향을 조사하였다.

재료 및 방법

실험사료

실험사료의 원료 조성물과 영양성분을 Table 1에 나타내었다. 실험사료의 단백질원으로 칠레산 청어분을 사용하였으며, 지질원으로 대두유(SO), triglyceride 형태의 EPA (EPATG), ethyl ester 형태의 EPA (EPAEE) 및 triglyceride 형태의 DHA (DHATG)를 사용하였다. TG형 및 EE형의 EPA 및 DHA는 (주)캠포트(Seoul, Korea)에서 분리, 정제한 것을 사용하였다. 각각의 지질원을 첨가한 배합사료(SO, EPA90TG, EPA70EE 및 DHA85TG)와 DHA와 대두유를 1:1 비율로 혼합한 배합사료(SO+DHA85TG)를 설계한 총 5가지의 실험사료를 준비하였다. 이와 같이 설계된 원료들을 실험구별로 정량하여 잘 혼합한 후, 원료 1 kg 당 물 300 g을 첨가하여 펠릿 제조기로 압출 성형 한 후, 실온에서 24시간 건조 한 후 -30℃ 냉동고에 보관하면서 사용하였다. 지질원으로 사용된 원료의 지방산 조성은 Table 2에 나타내었으며, 실험사료 지방산 조성은 Table 3에 나타내었다.

실험어 및 사육관리

실험어류는 통영에 위치한 개인 양식장에서 구입한 넙치 치어를 사용하였으며, 상품사료를 2주간 공급하면서 예비사육 하였다. 외형적으로 건강한 평균체중 6.8 g 전후의 넙치 치어를 50 L 사각수조에 각각 30마리씩 3반복으로 수용하여 8주간 사육실험을 진행하였다. 실험 사료는 1일 2회(09:00, 17:00) 만복으로 공급하였으며, 매일 실험 수조를 청소하여 배설물 및 찌꺼기를 제거해 주었다. 실험수조 내에 여과된 해수를 2 L/min 공급하였

Table 2. Major fatty acid composition (% of total fatty acids) of dietary lipid sources

Fatty acids	Lipid sources			
	Soybean oil	EPA90TG ¹	DHA85TG ²	EPA70EE ³
C16:0	11.9			
C18:0	4.1			
C18:1n-9	26.1			5.8
C18:2n-6	48.2			15.4
C18:3n-3	0.8			1.1
C20:0				0.8
C21:0		0.2		0.8
C20:2		2.6		3.5
C22:0	0.3	0.4		
C22:2		1.1	1.1	0.3
C20:4n-6			0.6	
C24:0		2.5		1.7
C20:5n-3		90.1	4.2	70.2
C22:3n-3			0.3	
C22:5n-3		1.3	8.1	
C22:6n-3		0.4	85.0	

^{1,2,3}EPA90TG, EPA70EE, DHA85TG. provided by Chemport, Seoul, Korea.

Table 3. Fatty acid composition (% of total fatty acids) of the experimental diets

Fatty acids	Diets				
	SO	EPA90TG	EPA70EE	DHA85TG	SO+ DHA85TG
C14:0	2.10	1.41	1.04	1.84	2.10
C16:0	20.23	10.25	6.90	13.31	15.88
C16:1	3.26	1.87	1.93	2.87	3.17
C18:0	3.18	1.78	6.02	1.72	2.19
C18:1n-9	21.02	10.32	16.38	12.03	14.95
C18:2n-6	29.03	6.60	5.18	8.11	15.76
C18:3n-3	1.94	1.16	2.16	1.55	1.54
C20:4n-6	2.26	4.14	7.17	1.60	1.57
C20:5n-3	3.97	53.47	44.69	6.82	0.09
C22:5n-3	7.19	0.28	0.17	0.91	0.68
C22:6n-3	0.21	5.23	3.29	44.96	30.82

으며, 사육기간 동안 평균 수온은 $17.1 \pm 2.71^\circ\text{C}$ 였다.

어체 측정 및 성분분석

어체 측정은 사육실험 시작시와 종료시에 측정 전일 절식시킨 후 tricaine methanesulfonate (MS 222, Sigma, St. Louis, MO, USA) 100 ppm 수용액에 마취시켜 실험어의 무게를 측정하였다. 어체 성분분석을 위하여 실험 종료시 각 실험수조에서 어체 성분 분석용으로 10마리를 샘플로 취하여 냉동보관(-25°C)하였다. 실험사료 및 어체의 일반성분은 AOAC (1995) 방법에 따라 조단백질($N \times 6.25$)은 auto Kjeldahl system (Buchi B-324/435/412, Switzerland)을 사용하여 분석하였고, 조지질은 ether를 사용하여 추출하였다. 수분은 105°C dry oven에서 6시간 동안 건조 후 측정하였고, 회분은 600°C 회화로에서 4시간 동안 태운 후 정량하였다.

지방산은 Folch et al. (1957)의 방법에 따라 클로로포름과 메탄올 혼합액(2:1)으로 총 지질을 추출하여 14% BF₃-methanol (Sigma, USA) 용액으로 지방산을 methylation 시킨 후, capillary column (SPTM-2560, 100 m $\times$ 0.25 mm i.d., film thickness 0.20 μm , USA)이 장착된 gas chromatography (Perkin Elmer, Clarus 600, USA)로 지방산을 분석하였다. Carrier gas는 헬륨을 사용하였으며, oven 온도는 최초 140°C 에서 240°C 까지 $4^\circ\text{C}/\text{min}$ 증가시켰다. 이때, injector 온도는 240°C , detector (FID) 온도는 240°C 로 각각 설정하였으며, 표준 지방산으로

37개 지방산 혼합물(PUFA 37 Component FAME Mix, USA)을 사용하였다.

통계처리

결과의 통계처리는 SPSS version 20.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA)을 사용하여 one-way ANOVA-test를 실시한 후, Duncan's multiple range test (Duncan, 1955)로 평균간의 유의성($P < 0.05$)을 검정하였다.

결 과

대두유 및 농축 오메가-3계열 지방산 첨가 배합사료로 넘치 치어를 8주간 사육한 후의 성장 및 사료이용효율을 Table 4와 Table 5에 각각 나타내었다. 어류의 생존율은 사료 지질원에 영향을 받지 않았으며($P > 0.05$), 증체율, 일간성장률, 사료효율 및 단백질효율은 사료에 혼합된 지질원의 종류에 영향을 받았다($P < 0.05$). 증체율 및 일간성장률은 DHA85TG 실험구가 다른 실험구보다 유의적으로 높았으며($P < 0.05$), 사료효율은 DHA85TG 실험구가 SO 및 EPA70EE 실험구보다 높았으나($P < 0.05$), EPA90TG 및 SO+DHA85TG 실험구와는 유의차가 없었다($P > 0.05$). 일일사료섭취율 및 일일단백질섭취율은 사료 지질원에 영향을 받지 않았다($P > 0.05$). 단백질효율은 DHA85TG 실험구가 다른 실험구보다 유의적으로 높았다

Table 4. Growth performance of juvenile flounder *Paralichthys olivaceus* fed the experimental diets for 8 weeks¹

Diets	Initial wt (g/fish)	Survival (%)	WG (%) ²	SGR (%) ³
SO	6.8 $\pm$ 0.03	89 $\pm$ 5.7 ^{ns}	134 $\pm$ 11.9 ^a	1.21 $\pm$ 0.07 ^a
EPA90TG	6.9 $\pm$ 0.05	90 $\pm$ 4.0	152 $\pm$ 3.4 ^a	1.32 $\pm$ 0.02 ^a
EPA70EE	6.8 $\pm$ 0.03	87 $\pm$ 6.7	125 $\pm$ 5.1 ^a	1.16 $\pm$ 0.03 ^a
DHA85TG	6.8 $\pm$ 0.02	87 $\pm$ 11.8	203 $\pm$ 13.8 ^b	1.58 $\pm$ 0.06 ^b
SO+DHA85TG	6.9 $\pm$ 0.03	88 $\pm$ 6.2	154 $\pm$ 9.5 ^a	1.33 $\pm$ 0.05 ^a

¹Values (means $\pm$ SE of three replications) in the same column not having a common superscript are significantly different ($P < 0.05$). ²Weight gain=(final fish wt.-initial fish wt.) $\times$ 100/initial fish weight. ³Specific growth rate=[(ln (final fish wt.)-ln (initial fish wt.)) $\times$ 100/days of feeding. ^{ns}Not significant ($P > 0.05$).

Table 5. Feed utilization of juvenile flounder *Paralichthys olivaceus* fed the experimental diets for 8 weeks¹

Diets	FE (%) ²	DFI (%) ³	DPI (%) ⁴	PER (%) ⁵
SO	73 $\pm$ 7.1 ^a	1.51 $\pm$ 0.06 ^{ns}	0.76 $\pm$ 0.03 ^{ns}	1.46 $\pm$ 0.14 ^a
EPA90TG	84 $\pm$ 2.5 ^{ab}	1.43 $\pm$ 0.02	0.70 $\pm$ 0.01	1.72 $\pm$ 0.05 ^a
EPA70EE	74 $\pm$ 5.4 ^a	1.45 $\pm$ 0.09	0.72 $\pm$ 0.05	1.49 $\pm$ 0.11 ^a
DHA85TG	96 $\pm$ 3.9 ^b	1.45 $\pm$ 0.15	0.68 $\pm$ 0.07	2.01 $\pm$ 0.08 ^b
SO+DHA85TG	83 $\pm$ 0.3 ^{ab}	1.47 $\pm$ 0.07	0.70 $\pm$ 0.03	1.72 $\pm$ 0.01 ^a

¹Values (means $\pm$ SE of three replications) in the same column not having a common superscript are significantly different ($P < 0.05$). ²Feed efficiency=wet weight gain $\times$ 100/feed intake. ³Daily feed intake=feed intake $\times$ 100/[(initial fish wt.+final fish wt.+dead fish wt.) $\times$ days reared/2]. ⁴Daily protein intake=protein intake $\times$ 100/[(initial fish wt.+final fish wt.+dead fish wt.) $\times$ days reared/2]. ⁵Protein efficiency ratio=(wet weight gain/protein intake) $\times$ 100. ^{ns} Not significant ($P > 0.05$).

($P<0.05$).

어체의 비만도, 간 중량지수 및 내장 중량지수를 Table 6에 나타내었다. 어체의 비만도, 간 중량지수 및 내장 중량지수는 사료 지질원의 종류에 영향을 받지 않아 모든 실험구에서 유의차가 나타나지 않았다($P>0.05$).

사육실험 종료 후, 등근육 및 전어체의 일반성분 분석결과를 Table 7에 나타내었다. 등근육 및 전어체의 수분, 조단백질, 조지질 및 회분은 사료 지질원에 영향을 받지 않아 모든 실험구에서 유의차가 나타나지 않았다($P>0.05$).

실험 종료시 넙치의 등근육 지방산 조성을 Table 8에 나타내었다. 등근육의 지방산 조성은 사료의 지질원에 영향을 받았다. 18:2n-6 및 18:3n-3은 대두유 첨가 실험구에서, 20:5n-3은 EPA 첨가 실험구에서, 22:6n-3은 DHA 첨가 실험구에서 다른 실험구보다 유의하게 높은 값을 나타내었다($P<0.05$). 등근육의 20:5n-3은 EPA90TG 및 EPA70EE 실험구가 다른 실험구보다 유의적으로 높은 값을 나타내었으며($P<0.05$), EPA90TG 실험구가 EPA70EE 실험구보다 유의하게 높았다($P<0.05$).

고 찰

본 연구의 성장 및 사료이용효율 결과에서 DHA85TG 실험구가 가장 좋았는데, 이는 넙치 체내에 축적된 DHA에 의한 생체 기능 향상에 따른 것으로 생각된다. Kim and Lee (2004)는 EPA를 단독으로 사용한 것보다 EPA와 DHA를 혼합하여 사용했을 때 넙치 치어의 성장에 더 효과적이었다고 보고하고 있으며, 다른 어종에서도 비슷한 경향을 보였다(Watanabe, 1993; Bell et al., 1995; Rodriguez et al., 1997; Furuita et al., 1999; Lee, 2001). DHA는 망막과 뇌의 주요 구성성분이며, 특히 치어기 때에 성장과 생존에 매우 중요한 역할을 담당하는 영양소이다(Navarro et al., 1988; Mourente et al., 1991; Mourente and Tocher, 1992; Bell et al., 1995). Kim and Lee (2004)는 DHA가 세포막의 효소활성과 생리학적 균형을 유지하는데 EPA보다 더 중요한 역할을 한다고 추측했으며, red seabream 및 striped jack에서도 유사한 결과가 보고되었다(Kanazawa, 1985; Watanabe et al., 1989a; Watanabe et al., 1989b; Takeu-

Table 6. Morphological parameters of juvenile flounder *Paralichthys olivaceus* fed the experimental diets for 8 weeks¹

Diets	CF ²	HSI ³	VSI ⁴
SO	0.9±0.08 ^{ns}	1.26±0.06 ^{ns}	5.17±0.25 ^{ns}
EPA90TG	0.9±0.06	1.15±0.11	4.50±0.47
EPA70EE	0.9±0.02	1.31±0.10	4.86±0.13
DHA85TG	0.9±0.06	1.24±0.12	4.68±0.41
SO+DHA85TG	1.0±0.01	1.59±0.07	5.01±0.39

¹Values are mean±SE of three replications. ²Condition factor=100×[fish weight/fish length (cm)³]. ³Hepatosomatic index=100×(liver weight/body weight). ⁴Visceralomatic index=100×(viscera weight/body weight). ^{ns}Not significant ($P>0.05$).

Table 7. Proximate composition (%) of the dorsal muscle and whole body of juvenile flounder *Paralichthys olivaceus* fed the experimental diets for 8 weeks¹

Diets	Proximate composition (%)			
	Moisture	Crude protein	Crude lipid	Ash
Dorsal muscle				
SO	75.4±2.11 ^{ns}	21.0±0.54 ^{ns}	1.2±0.24 ^{ns}	1.3±0.06 ^{ns}
EPA90TG	77.1±1.05	20.5±1.31	1.6±0.28	1.2±0.15
EPA70EE	76.4±0.43	20.5±0.21	1.1±0.14	1.1±0.21
DHA85TG	76.3±1.01	19.6±0.49	1.8±0.47	1.3±0.05
SO+DHA85TG	76.3±0.61	20.9±0.24	0.9±0.15	1.2±0.25
Whole body				
SO	72.9±0.86 ^{ns}	16.6±0.51 ^{ns}	4.1±0.80 ^{ns}	4.8±0.54 ^{ns}
EPA90TG	72.5±0.78	17.5±0.22	4.1±0.42	4.6±0.22
EPA70EE	74.7±0.64	16.7±0.73	3.4±0.77	4.5±0.30
DHA85TG	72.3±0.67	16.4±0.71	5.5±0.09	4.2±0.55
SO+DHA85TG	69.9±2.04	17.1±0.76	4.9±0.17	5.2±0.52

¹Values are mean±SE of three replications. ^{ns}Not significant ($P>0.05$).

chi et al., 1990). 이러한 결과들은 EPA와 DHA가 해양어류의 생체막에서 각각 다른 기능을 가지고 있음을 의미하고 있으며, DHA가 EPA보다 어류의 성장과 발달에 더 중요한 역할을 담당하는 것으로 생각된다.

DHA85TG 실험구를 제외하고 다른 모든 실험구간들의 성장과 사료이용효율이 차이가 없는 것은 실험사료에 함유된 필수지방산의 종류(EPA, DHA)와 요구량이 넙치의 요구에 만족되었기 때문으로 판단된다. 넙치와 가자미류의 필수지방산으로 n-3HUFA 요구량은 0.8-1.0%로 알려져 있는데(Gatesoupe et al., 1977; Lee et al., 2003; Kim and Lee, 2004), 타 어종에서도 필수지방산 요구량이 만족된 사료를 섭취하면 본 연구와 비슷하게 성장 및 사료이용효율이 사료 지질의 종류에 영향을 받지 않는 것으로 보고되었다(Bell et al., 2003; Peiedecausa et al., 2007; Aminikhoei et al., 2013).

반면 n-3HUFA를 과잉으로 공급해주었을 경우 넙치 치어의 성장이 저하되었다는 보고가 있는데(Kim and Lee, 2004), 이와 비슷한 현상은 다른 연구에서도 관찰된다(Stickney and Andrews, 1972; Takeuchi and Watanabe, 1979; Satoh et al., 1989; Lochman and Gatlin, 1993; Furuita et al., 2002). 그러나 본 실험에서 n-3HUFA 과잉공급으로 생각되는 실험구들(4.4-8.5% n-3 HUFA)에서 성장 저하는 나타나지 않았다. 해산어류인 조피볼락(Lee, 2001)과 강도다리(Lee et al., 2003)의 필수지방산에 관한 연구에서도 사료의 n-3HUFA 과잉으로 인한 어류의 성장이나 체형에 부정적인 징후는 관찰되지 않았다. 필수지방산으로 n-3HUFA가 과잉으로 공급된 어류들에서 각각 다르게 반응하는 것에 대한 이유는 명확하지 않지만, 사료의 지질 종류나 결합형태, 지질 산화 정도 또는 사육 환경의 차이에

서 기인될 수 있으며, 이에 대한 연구가 추가적으로 필요하다고 판단된다.

이러한 결과들을 종합하여 판단하여 보면, 대상어종에 공급되는 사료의 필수지방산 요구량이 만족되는 경우에는 값싼 지질원료들을 사료에 혼합하여 사용할 수 있을 것으로 판단되며, 이는 경제적인 사료 제조에 좋은 정보가 될 것으로 전망된다.

등근육과 전어체의 일반성분 분석결과를 살펴보면, 사료 지질원에 영향을 받지 않아 모든 실험구에서 유의차가 나타나지 않았는데, 일반적으로 필수지방산 함량이 충족된 사료를 섭취한 실험어류의 일반성분은 사료의 지질원에 영향을 받지 않는다고 알려져 있다(Aminikhoei et al., 2013). African catfish (Ng et al., 2003), channel catfish (Gatlin and Stickney, 1982)와 far eastern catfish (Kim et al., 2010)를 대상으로 사료 지질원을 달리하여 사육한 어류의 일반성분은 모든 실험구에서 차이를 보이지 않아 본 연구와 유사한 결과를 보였다.

본 연구에서 어체의 지방산 조성은 사료 지질의 지방산 조성 과 유사한 경향을 보였다. 일반적으로 사료 지질의 지방산 조성은 대상 생물의 지방산 조성에 영향을 미친다고 보고되어 있다(Geurden et al., 1997; Lee and Lim, 2005). 비단잉어, 뱀장어, 자주복, 돔, Channel catfish, Atlantic halibut 등의 다양한 어종에서도 사료 지방산 조성이 어체 지방산 조성에 영향을 미친다고 보고된 바 있다(Ibeas et al., 1996; Bae et al., 2004; Bowden et al., 2004; Piedecausa et al., 2007; Aksoy et al., 2009; Koizumi and Hiratsuka, 2009; Kikuchi et al., 2011; Kim and Lee, 2016). 본 연구에서 등근육의 oleic acid (18:1n-9) 함량은 대두유 첨가 실험구가 다른 실험구보다 높게 나타났다. Oleic acid는 단일 불포화지방산으로서 다량 섭취 시 혈중 중성지방이나

Table 8. Fatty acid composition (% of total fatty acids) of the dorsal muscle in juvenile flounder *Paralichthys olivaceus* fed the experimental diets for 8 weeks¹

Fatty acids	Diets				
	SO	EPA90TG	EPA70EE	DHA85TG	SO+ DHA85TG
C14:0	1.1±0.04 ^a	1.5±0.04 ^{bc}	1.2±0.16 ^{ab}	1.7±0.10 ^c	1.2±0.08 ^a
C16:0	17.4±0.85 ^{ns}	15.3±0.90	15.7±1.23	16.0±1.24	17.3±2.51
C16:1	1.5±0.04 ^{ns}	2.0±0.44	1.5±0.07	2.5±0.17	1.8±0.50
C18:0	5.4±0.30 ^{ab}	3.6±0.62 ^a	6.3±0.76 ^b	3.5±0.15 ^a	5.4±0.74 ^{ab}
C18:1n-9	15.7±0.56 ^b	9.0±0.12 ^a	9.2±0.59 ^a	9.2±0.17 ^a	9.7±1.34 ^a
C18:2n-6	34.9±0.32 ^c	6.1±0.25 ^a	5.4±0.25 ^a	6.1±0.47 ^a	18.5±0.50 ^b
C18:3n-3	4.2±0.30 ^c	2.7±0.13 ^a	2.9±0.22 ^{ab}	2.5±0.04 ^a	3.3±0.07 ^b
C20:4n-6	1.2±0.04 ^a	2.9±0.71 ^c	4.1±0.54 ^c	1.5±0.05 ^b	1.3±0.11 ^b
C20:5n-3	3.3±0.13 ^a	41.3±0.81 ^c	28.0±3.81 ^b	4.6±0.29 ^a	3.2±0.28 ^a
C22:5n-3	1.1±0.03 ^a	2.1±0.12 ^b	2.5±0.19 ^b	1.0±0.07 ^a	0.7±0.06 ^a
C22:6n-3	14.5±0.26 ^b	12.2±0.08 ^a	16.5±0.42 ^c	50.4±0.30 ^e	34.0±0.99 ^d
n-3HUFA ²	20.0±0.35 ^a	58.5±1.29 ^d	51.1±4.00 ^c	57.4±0.61 ^d	39.2±0.90 ^b

¹Values (means±SE of three replications) in the same row not having a common superscript are significantly different (P<0.05). ²Highly unsaturated fatty acids (C≥20). ^{ns}Not significant (P>0.05).

콜레스테롤을 낮춤으로서 동맥경화증과 같은 성인병에 유익한 효과가 있는 것으로 보고되었으며(Grundy, 1986), oleic acid의 함량이 높으면 식육의 맛을 좋게 한다고 보고되어 있다(Lunt and Smith, 1991).

본 연구에서 등근육의 18:2n-6, 18:3n-3, 20:5n-3 및 22:6n-3과 같은 탄소수 18개 이상의 다불포화지방산들의 조성이 사료의 지방산 조성에 직접적인 영향을 받았는데, 다른 연구에서도 유사한 경향을 보였다(Kim et al., 2012; Kim and Lee, 2016). 이는 어체내 지방산 전환 능력과 관련된 것으로 생각되는데, 포화지방산과 단일불포화지방산들은 체내에서 신장되거나 불포화되어 생성될 수 있지만, 대부분의 해산어류들은 고도불포화지방산을 자체적으로 합성할 수 있는 능력이 매우 낮다. 이러한 이유로 인하여 EPA 함유 사료를 섭취한 어류의 체내에 EPA로부터 합성되는 DHA 함량이 상대적으로 낮게 나타나고 있다. 또한 체내에서 DHA를 EPA로 역으로 전환하는 능력도 매우 제한적이라는 것을 알 수 있는데, DHA가 함유된 사료를 섭취한 넙치의 생체내에 EPA 함량이 증가되지 않은 것으로부터 이를 증명하고 있다.

EPA는 혈액 중의 콜레스테롤 및 중성지질의 농도를 현저히 저하시키고, 혈전증, 동맥경화증 등의 순환기 계통 질환방지 및 특정한 종양의 발육 억제 기능을 가지는 것으로 알려져 있으며, EPA를 주요성분으로 하는 각종 제품이 건강기능 식품으로 널리 시판되고 있다(Yoon, 1993). 본 연구에서 등근육의 지방산 분석 결과에서 EPA 함량은 TG 실험구가 EE 실험구보다 유의적으로 높은 값을 나타내었다. EE형 및 TG형 건강기능성 제품에 대한 인체의 안전성, 흡수성 등에 관련한 연구에 따르면 EE형의 제품보다는 TG형의 제품이 인체에 더 유용하고 안전하다는 보고가 있다(Arne et al., 1991). 또한 고도불포화지방산의 생체 이용률, 생리작용의 지속성 및 새로운 기능의 발현 또한 TG 구조가 EE 구조보다 생체 이용률에 더 우수하다고 보고되어 있다(Yasuhiro and Keiichi 2002). 본 연구에서 넙치의 EPA 함량이 지방산 형태에 따라 다르게 나타난 것은 넙치 체내에서 EPA의 흡수성 및 이용성이 EE보다는 TG구조에서 더 우수하기 때문으로 추측되며, 넙치를 대상으로 지방산 형태에 따른 지질 이용성에 관한 상세한 연구는 추후 계속되어야 할 것이다.

이상의 결과에서, 사료에 혼합되는 지질원은 넙치의 성장 및 사료이용율에 영향을 미쳤으며, TG 형태의 DHA 첨가 실험구가 성장에 가장 좋은 효과가 있었다. 또한 사료에 사용하는 지질원의 종류나 지방산 결합 형태에 따라 어체의 지방산 조성이 달라짐을 알 수 있다. 이러한 결과들은 추후 기능성을 가지는 특정 지방산이 축적된 어류 생산에 중요한 정보가 될 것으로 전망된다.

사 사

이 연구는 정부(해양수산부)의 재원으로 해양수산과학기술진흥원에서 지원하는 해양바이오지역특화선도기술개발사업(동

해안 해양생물자원 유래의 기능성 생물소재 개발)의 지원을 받아 수행되었으며(No.20140441), 이에 감사 드립니다.

References

- Aminikhoei Z, Choi J, Lee SM and Kim KD. 2013. Effects of different dietary lipid sources on growth performance, fatty acid composition and antioxidant enzyme activity of juvenile rockfish, *Sebastes schlegeli*. J World Aquacult Soc 44, 716-725. <https://doi.org/10.1111/jwas.12070>.
- AOAC (Association of Official Analytical Chemists). 1995. Official methods of analysis of the association 16th ed. Association of Official Analytical Chemists Arlington, VA, U.S.A.
- Arne N, Louise B, William EC and Lauren H. 1991. Absorption of the n-3 eicosapentaenoic and docosahexaenoic acids as ethyl esters and triglycerides by humans. Am J Clin Nutr 53, 1185-1190. <https://doi.org/10.1093/ajcn/53.5.1185>.
- Aksoy MY, Lim C, Shelby R and Klesius PH. 2009. Increasing fish oil levels in commercial diets influences hematological and immunological responses of channel catfish, *Ictalurus punctatus*. J World Aquacult Soc 40, 76-86. <https://doi.org/10.1111/j.1749-7345.2008.00228.x>.
- Bae JY, Han KM, Park GJ and Bai SC. 2004. Studies on requirements of optimum dietary essential fatty acids in juvenile eel, *Anguilla japonica*. J Aquaculture 17, 275-281.
- Beamish FWH and Medland TE. 1986. Protein sparing effects in large rainbow trout, *Salmo gairdneri*. Aquaculture 55, 35-42. [https://doi.org/10.1016/0044-8486\(86\)90053-0](https://doi.org/10.1016/0044-8486(86)90053-0).
- Bell MV, Batty RS, Dick JR, Fretwell K, Navarro JC and Sargent JR. 1995. Dietary deficiency of docosahexaenoic acid impairs vision at low light intensities in juvenile herring (*Clupea harengus* L.). Lipids 30, 443-449. <https://doi.org/10.1007/BF02536303>.
- Bell JG, McGhee F, Campbell PJ and Sargent JR. 2003. Rape-seed oil as an alternative to marine fish oil in diets of post-smolt Atlantic salmon *Salmo salar*: changes in flesh fatty acid composition and effectiveness of subsequent fish oil "wash out". Aquaculture 218, 515-528. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(02\)00462-3](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(02)00462-3).
- Bowden LA, Weitzel B, Ashton IP, Secombes CJ, Restall CJ, Walton TJ, Bell JG, Henderson RJ, Tocher DR and Sargent JR. 2004. Replacement of dietary fish oil with increasing levels of linseed oil: modification of flesh fatty acid compositions in Atlantic salmon *Salmo salar* using a fish oil finishing diet. Lipids 39, 223-232. <https://doi.org/10.1007/s11745-004-1223-5>.
- De Silva SS, Gunasekera RM and Shim KF. 1991. Interactions of varying dietary protein and lipid levels in young red tilapia: evidence of protein sparing. Aquaculture 95, 305-318. [https://doi.org/10.1016/0044-8486\(91\)90096-P](https://doi.org/10.1016/0044-8486(91)90096-P).
- Duncan DB. 1955. Multiple-range and multiple F tests. Biometrics 11, 1-42. <https://www.jstor.org/stable/3001478>.

- Folch J, Lees M and Stanley GHS. 1957. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J Biol Chem* 226, 497-509.
- Fonseca-Madrigal J, Karalazos V, Campbell PJ, Bell JG and Tocher DR. 2005. Influence of dietary palm oil on growth, tissue fatty acid compositions, and fatty acid metabolism in liver and intestine in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquacult Nutr* 11, 241-250. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2095.2005.00346.x>.
- Furuta H, Konishi K and Takeuchi T. 1999. Effects of different levels of eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid in *Artemia* nauplii on growth, survival and salinity tolerance of larvae of the Japanese flounder, *Paralichthys olivaceus*. *Aquaculture* 170, 59-69. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(98\)00386-x](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(98)00386-x).
- Furuta H, Tanaka H, Yamamoto Y, Suzuki N and Takeuchi T. 2002. Effects of high levels of n-3 HUFA in broodstock diet on egg quality and egg fatty acid composition of Japanese flounder, *Paralichthys olivaceus*. *Aquaculture* 210, 323-333. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(01\)00855-9](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(01)00855-9).
- Gatesoupe FJ, Leger C, Boudon M, Metailler R and Luquet P. 1977. Lipid feeding of turbot (*Scophthalmus maximus* L.): 2. Influence on growth of supplementation with methyl esters of linolenic acid and fatty acids of the w 9 series. *Ann Hydrobiol* 8, 247-254.
- Gatlin DM and Stickney RR. 1982. Fall-winter growth of young channel catfish in response to quantity and source of dietary lipid. *Amer Fish Soc* 111, 90-93. [https://doi.org/10.1577/1548-8659\(1982\)111<90:FGOYCC>2.0.CO;2](https://doi.org/10.1577/1548-8659(1982)111<90:FGOYCC>2.0.CO;2).
- Geurden I, Coutteau P and Sorgeloos P. 1997. Effect of a dietary phospholipid supplementation on growth and fatty acid composition of European sea bass *Dicentrarchus labrax* L. and turbot *Scophthalmus maximus* L. juveniles from weaning onwards. *Fish Phy Biochem* 16, 259-272.
- Greene DH and Selivonchick DP. 1990. Effects of dietary vegetable, animal and marine lipids on muscle lipid and hematology of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture* 89, 165-182. [https://doi.org/10.1016/0044-8486\(90\)90308-A](https://doi.org/10.1016/0044-8486(90)90308-A).
- Grundy SM. 1986. Comparison of monounsaturated fatty acids and carbohydrates for lowering plasma cholesterol. *N Engl J Med* 314, 2855-2856.
- Ibeas C, Cejas J, Gomez T, Jerez S and Lorenze A. 1996. Influence of dietary n-3 highly unsaturated fatty acids levels on juvenile gilthead seabream (*Sparus aurata*) growth and tissue fatty acid composition. *Aquaculture* 142, 221-235. [https://doi.org/10.1016/0044-8486\(96\)01251-3](https://doi.org/10.1016/0044-8486(96)01251-3).
- Jee BY, Shin KW, Lee DW, Kim YJ and Lee MK. 2014. Monitoring of the mortalities and medications in the inland farms of olive flounder *Paralichthys olivaceus*, in South Korea. *J Fish Pathol* 27, 77-83. <https://doi.org/10.7847/jfp.2014.27.1.077>.
- Jiankang W, Erick RS, Jaroslay K and Fereidoon S. 2010. Effect of chemical randomization on positional distribution and stability of omega-3 oil triacylglycerol. *J Agri Food Chem* 58, 8842-8847.
- Kalogeropoulos N, Alexis MN and Henderson RJ. 1992. Effects of dietary soybean and cod-liver oil levels on growth and body composition of gilthead bream (*Sparus aurata*). *Aquaculture* 104, 293-308. [https://doi.org/10.1016/0044-8486\(92\)90211-3](https://doi.org/10.1016/0044-8486(92)90211-3).
- Kanazawa A. 1985. Essential fatty acid and lipid requirement of fish. In: C. B. Cowey, A. M. Mackie and J.G. Bell (Eds), *Nutrition and Feeding in Fish*, Academic Press. New York, NY, U.S.A., 281-298.
- Kikuchi K, Furuta T, Iwata N, Onuki K, Noguchi T and Sugita H. 2011. Effect of dietary fatty acid composition on the growth of the tiger puffer *Takifugu rubripes*. *Fish Sci* 77, 829-837. <https://doi.org/10.1007/s12562-011-0393-0>.
- Kim DK, Kim KD, Seo JY and SM Lee. 2012. Effects of dietary lipid source and level on growth performance, blood parameters and flesh quality of sub-adult olive flounder (*Paralichthys olivaceus*). *Asian-Aust J Anim Sci* 25, 869-879. <https://doi.org/10.5713/ajas.2011.11470>.
- Kim KD and Lee SM. 2004. Requirement of dietary n-3 highly unsaturated fatty acids for juvenile flounder (*Paralichthys olivaceus*). *Aquaculture* 229, 315-323. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(03\)00356-9](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(03)00356-9).
- Kim IO and Lee SM. 2005. Effects of the dietary protein and lipid levels on growth and body composition of bagrid catfish, *Pseudobagrus fulvidraco*. *Aquaculture* 243, 323-329. <https://doi.org/j.aquaculture.2004.11.003>.
- Kim IO and Lee SM. 2016. Influences of different dietary lipid sources on the growth, body composition, and fatty acid profiles of juvenile fancy carp, *Cyprinus carpio* var. koi. *Korean J Fish Aquat Sci* 49, 317-322. <https://doi.org/10.5657/KFAS.2016.0317>.
- Kim KD, Lee SM, Park HG, Bai SC and Lee YH. 2002. Essentiality of dietary n-3 highly unsaturated fatty acids in juvenile Japanese flounder *Paralichthys olivaceus*. *J World Aquacult Soc* 33, 432-440. <https://doi.org/10.1111/j.1749-7345.2002.tb00022.x>.
- Kim KD, Kim JD, Lim SG, Kang YJ and Son MH. 2010. Effects of dietary lipid sources on the growth and body composition of the far eastern catfish, *Silurus asotus*. *Korean J Fish Aquat Sci* 43, 445-450.
- Koizumi K and Hiratsuka S. 2009. Fatty acid compositions in muscles of wild and cultured ocellate puffer *Takifugu rubripes*. *Fish Sci* 75, 1323-1328. <https://doi.org/10.1007/s12562-009-0151-8>.
- Lee SM. 2001. Review of the lipid and essential fatty acid requirements of rockfish (*Sebastes schlegeli*). *Aquac Res* 32, 8-17. <https://doi.org/10.1046/j.1355-557x.2001.00047.x>.

- Lee SM, Lee JH and Kim KD. 2003. Effect of dietary essential fatty acids on growth, body composition and blood chemistry of juvenile starry flounder (*Platichthys stellatus*). *Aquaculture* 225, 269-281. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(03\)00295-3](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(03)00295-3).
- Lee SM and Kim KD. 2009. Effects of dietary carbohydrate to lipid ratios on growth and body composition of juvenile and grower rockfish, *Sebastes schlegeli*. *Aqua Res* 40, 1830-1837. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2009.02288.x>.
- Lee SM and Lim TJ. 2005. Effects of dietary protein and energy levels on growth and lipid composition of juvenile snail *Semisulcospira gottschei*. *J Shell Res* 24, 99-102. [https://doi.org/10.2983/0730-8000\(2005\)24\[99:EODPAE\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.2983/0730-8000(2005)24[99:EODPAE]2.0.CO;2).
- Lochman RT and Gatlin DM. 1993. Essential fatty acid requirement of juvenile red drum (*Sciaenops ocellatus*). *Fish Physiol Biochem* 12, 221-235.
- Lunt DK and Smith SB. 1991. Wagyu beefs holds profit potential for U.S. feed lot. *Feedstuffs* 19, 18-26.
- Mourente G, Dick JR, Bell JG and Tocher DR. 2005. Effect of partial substitution of dietary fish oil by vegetable oil on desaturation and β -oxidation of [1- 14 C]18:3n-3 (LNA) and [1- 14 C]20:5n-3 (EPA) in hepatocytes and enterocytes of European sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.). *Aquaculture* 248, 173-186. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2005.04.023>.
- Mourente G and Tocher DR. 1992. Effects of weaning onto a pelleted diet on docosahexaenoic acid (22:6n-3) levels in brain of developing turbot (*Scophthalmus maximus* L.). *Aquaculture* 105, 363- 377. [https://doi.org/10.1016/0044-8486\(92\)90100-Y](https://doi.org/10.1016/0044-8486(92)90100-Y).
- Mourente G, Tocher DR and Sargent JR. 1991. Specific accumulation of docosahexaenoic acid (22:6n-3) in brain lipids during development of juvenile turbot *Scophthalmus maximus* L. *Lipids* 26, 871-877.
- Mugrditchian DS, Hardy RW and Iwaoka WT. 1981. Linseed oil and animal fat as alternative lipid sources in dry diets for Chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*). *Aquaculture* 25, 161-172. [https://doi.org/10.1016/0044-8486\(81\)90178-2](https://doi.org/10.1016/0044-8486(81)90178-2).
- Navarro JC, Hontoria F, Varo I and Amat F. 1988. Effect of alternate feeding with a poor longchain polyunsaturated fatty acid *Artemia* strain and a rich one for sea bass (*Dicentrarchus labrax*) and prawn (*Penaeus kerathurus*) larvae. *Aquaculture* 74, 307-317. [https://doi.org/10.1016/0044-8486\(88\)90375-4](https://doi.org/10.1016/0044-8486(88)90375-4).
- Ng WK, Lim PK and Boey PL. 2003. Dietary lipid and palm oil source affects growth, fatty acid composition and muscle a-tocopherol concentration of African catfish, *Clarias gariepinus*. *Aquaculture* 215, 229-243. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(02\)00067-4](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(02)00067-4).
- Pham MA, Byun HG, Kim KD and Lee SM. 2014. Effects of dietary carotenoid source and level on growth, skin pigmentation, antioxidant activity and chemical composition of juvenile olive flounder *Paralichthys olivaceus*. *Aquaculture* 431, 65-72. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2014.04.019>.
- Piedecausa MA, Mazón MJ, García B and Hernández MD. 2007. Effects of total replacement of fish oil by vegetable oils in the diets of sharp snout sea bream (*Diplodus puntazzo*). *Aquaculture* 263, 211-219. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2006.09.039>.
- Rahimnejad S, Bang IC, Park JY, Sade A, Choi J and Lee SM. 2015. Effects of dietary protein and lipid levels on growth performance, feed utilization and body composition of juvenile hybrid grouper, *Epinephelus fuscoguttatus* $\times$ *E. lanceolatus*. *Aquaculture* 446, 283-289. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2015.05.019>.
- Rodriguez C, Perez JA, Diaz M, Izquierdo MS, Fernandez-Palacios H and Lorenzo A. 1997. Influence of the DHA/EPA ratio in rotifers on gilthead seabream (*Sparus aurata*) larval development. *Aquaculture* 150, 77- 89. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(96\)01472-X](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(96)01472-X).
- Ruyter B, Rosjo C, Einen O and Thomassen MS. 2000. Essential fatty acids in Atlantic salmon: Effects of increasing dietary doses of n-3 and n-6 fatty acids on growth, survival and fatty acid composition of liver, blood and carcass. *Aquacult Nutr* 6, 119-127. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2095-2000.00137.x>.
- Satoh S, Poe WE and Wilson RP. 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. <https://doi.org/10.1093/jn/119.1.23>.
- Stickney RR and Andrews JW. 1972. Effect of dietary lipids on growth, food conversion, lipid and fatty acid composition of channel catfish. *J Nutr* 102, 249-258. <https://doi.org/10.1093/jn/102.2.249>.
- Takeuchi T and Watanabe T. 1979. Effect of excess amounts of essential fatty acids on growth of rainbow trout. *Nippon Suisan Gakkaishi* 45, 1517-1519.
- Takeuchi T, Toyota M, Satoh S and Watanabe T. 1990. Requirement of juvenile red seabream *Pagrus major* for eicosapentaenoic and docosahexaenoic acids. *Bull Jap Soc Sci Fish* 56, 1263-1269. <https://doi.org/10.2331/suisan.56.1263>.
- Watanabe T. 1993. Importance of docosahexaenoic acid in marine larval fish. *J World Aquac Soc* 24, 152-161. <https://doi.org/10.1111/j.1749-7345.1993.tb00004.x>.
- Watanabe T, Takeuchi T, Arakawa T, Imaizumi K, Sekiya S and Kitajima C. 1989a. Requirement of juvenile striped jack *Longirostris delicatissimus* for n-3 highly unsaturated fatty acids. *Nippon Suisan Gakkaishi* 55, 1111-1117. <https://doi.org/10.2331/suisan.55.1111>.
- Watanabe T, Izquierdo MS, Takeuchi T, Satoh S and Kitajima C. 1989b. Comparison between eicosapentaenoic and docosahexaenoic acids in terms of essential fatty acid efficacy in larval red seabream. *Nippon Suisan Gakkaishi* 55, 1635-1640. <https://doi.org/10.2331/suisan.55.1635>.

- Webster CD and Lovell RT. 1990. Response of striped bass larvae fed brine shrimp from different sources containing different fatty acid compositions. *Aquaculture* 90, 49-61. [https://doi.org/10.1016/0044-8486\(90\)90282-R](https://doi.org/10.1016/0044-8486(90)90282-R).
- Yasuhiro A and Keiichi N. 2002. Regiospecific distribution of highly unsaturated fatty acids in triacylglycerols of *Artemia nauplii* enriched with marine oils. *J Oleo Sci* 51, 615-620.
- Yoon JG. 1993. Extraction of EPA and DHA from tuna oil using supercritical carbon dioxide. *Korean J Food Sci Technol* 25, 288-294.