

공기 및 산소 공급과 pH조절에 따른 rotifer의 성장과 고밀도 배양의 생산성

박흥기 · 이균우 · 김성구*
강릉대학교 해양생명공학부, *부경대학교 생물공학과

Growth of rotifer by the air, oxygen gas-supplied and the pH-adjusted and productivity of the high density culture

Huem Gi PARK, Kyun Woo LEE, Sung Koo 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

The growth of rotifer, *Brachionus rotundiformis* was evaluated at different culture conditions. Rotifer was fed on condensed freshwater *Chlorella*. The productivity of rotifer in the high density culture system was compared to that of rotifer in the batch culture system, in which rotifer was fed on baker's yeast. The growth rate of rotifer increased as temperature increased in the culture system supplied with air or oxygen gas. The maximum density of rotifer in the culture systems supplied with air was in range of 16,300~17,000 ind./ml at 24°C. In the culture systems supplied with oxygen gas, it ranged 26,300~30,500 ind./ml at 28°C. When the concentration of dissolved oxygen in the culture system supplied with air reached to below 1 ppm or when the concentration of undissolved ammonia in the culture system supplied with oxygen gas reached 16.6~22.6 ppm, the growth of rotifer decreased. When oxygen gas was supplied and pH was adjusted to 7, the maximum density of rotifer reached to 43,000 ind./ml at 32°C. The production costs for 10 billion rotifer in the high density culture and batch culture were 693,000 and 961,000 won, respectively. Therefore, it was concluded that the productivity of rotifer in the high density culture was higher than that in a batch culture.

Key words: rotifer, high density culture, dissolved oxygen, undissociated ammonia

서 론

해수산 rotifer, *Brachionus rotundiformis* (이전엔 S-type)과 *Brachionus plicatilis* (이전엔 L-type)는 해산 어류 및 갑각류의 종묘 생산시 자어나 유생의 먹이생물로 전 세계적으로 생산되고 있다. 최근, 우리나라에서는 많은 개인 해산 어류 종묘배양장과 국·도립 배양장이 있으며 이곳에서는 넙치와 조피볼락을 비롯하여 15 중요 어종과 4종의 갑각류 종묘생산 및 방류가 이루어지고 있다(배, 1998). 그러나 이들 어종의 종묘생산과 방류효과를 높이기 위해서는 건강한 종묘와 방류 개체수 증대가 절실히 요구되고 있으므로 종묘가 되는 치어를 생산하기 위해 난 부화 후 최초 먹이로써 rotifer의 양적인 확보와 더불어 안정적인 rotifer 생산은 매우 중요하다.

현재 많은 종묘 배양장에서 하루에 필요한 rotifer의 최대량은 50~100억 개체로 기존의 rotifer 배양 가능한 개체밀도가 수백 개체/ml이므로 그 양을 확보하기 위해서 수백 톤의 배양수조가 필요하며 이것은 높은 관리비와 시설비로 종묘생산원가를 높게 하는 원인이 될 수 있다. 따라서 이러한 rotifer 배양방법의 단점을 보완하고 많은 양의 rotifer를 확보하기 위해 소규모 배양수조에 배양밀도를 높일 수 있는 고밀도 배양이 필요하며 고밀도 배양을 위해서는 rotifer 성장저해 요인을 규명해야 한다. 따라서 Yoshimura et al. (1994, 1995)은 고밀도 배양에 있어서 배양수의 용존 산소와 이온화되지 않은 암모니아가 rotifer의 성장저해요인이라고 하였다. 이러한 관점에서 rotifer 밀도는 배양수에 공급되는 통기 공급(공기 혹은 산소)방법과 수온 및 pH에 따라서 달라질 수 있다고 판단된다.

따라서 본 연구는 고밀도 배양을 위해서 여러 수온조건하에 있어서 다양한 환경(공기 및 산소공급, pH제어)을 제공하였을 때 rotifer의 성장변화를 조사하였다. 또한 고밀도 배양은 일반 종묘 배양장에서 많이 이용하는 rotifer 배양(batch)보다 어느 정도의 생산성을 가지고 있는지 서로 비교 조사하였다.

재료 및 방법

공기 및 산소공급과 pH조절에 의한 rotifer, *B. rotundiformis*의 성장

실험에 사용된 rotifer는 *B. rotundiformis*이며 6ℓ 원형수조(배양용량 5ℓ)에 최초 rotifer 1,000개체/ml내외로 접종하였다. 공기공급 실험시 소형 공기 공급장치를 이용하여 공기조절기(Aqua Culture System, Japan)로 분당 1.5ℓ의 공기를 공급하였다. 산소공급 실험은 산소발생기(NIDEK Medical, Model Mark 5 plus, 산소농도 95% 이상)를 사용하였고 각 수조에서 DO가 5 ppm 이상 유지되도록 공급하였다. 배양수의 염분은 여과해수에 수돗물을 혼합하여 염분 23‰로 조정하였고, 수온은 24°C, 28°C, 32°C로 하였다. 또한 pH제어실험은 수온 32°C에서 자동pH조절장치(천세, Model P-808SE)를 이용하여 염산과 수산화나트륨을 정량펌프로 자동 첨가되게 하여 pH를 7로 고정하였다.

실험에 사용된 먹이는 담수산 농축 *Chlorella* (*Chlorella*, Ind. Co. Ltd., Japan; 세포수, 140×10⁹ cells/ml; 용적비<Packed cell volume>520 ml/ℓ)를 이용하여 냉장고(4°C)에 보관하면서 정량 펌프(Eyela, Model MP-N)를 이용하여 자동 연속 공급하였다.

먹이공급은 24시간 기준으로 rotifer 1,000개체당 24°C에서 4 μ l, 28°C에서 6 μ l, 32°C에서 8 μ l을 rotifer 밀도 측정 후 공급하였다. Rotifer 개체수는 입체현미경하에서 rotifer 개체밀도가 200개체/ml 전후로 되도록 희석한 후 3회 계수 하였으며 1일 2회 (9:00, 21:00) 실시하였다. 또한 수조내의 부유 물질을 제거하기 위해 nylon mat (10×15×0.5 cm, KS185N, Aqua Culture System, Japan)를 설치하여 1일 2회 세척하였다. 실험기간동안 배양수의 용존산소와 pH, NH₃-N을 측정하기 위해 산소측정기 (YSI, Model 57)와 pH와 NH₃-N 측정기 (Orion, Model 920A)를 이용하였다.

Rotifer의 배양방법에 따른 경제성 비교

일반적인 대량 (이하 batch) 배양에 따른 rotifer 생산성 실험은 경유 보일러를 이용하여 배양수온을 26~28°C로 유지하였고 rotifer를 총 20억개체를 2개 수조 (10 ton)에 100개체/ml로 접종한 후 각 수조마다 5~6일 경과후 rotifer 밀도가 200~250개체/ml로 되면 새로운 수조로 교체하였고 총 10개 (10 ton)의 수조를 이용하였다. 먹이는 빵효모를 rotifer 1억개체당 100 g을 일일 4회 나누어 공급하였다.

고밀도 배양에 따른 rotifer 생산성 실험은 500 l 배양용기 (배양수 350 l)에 rotifer 5,000개체/ml로 접종하였다. 1KW 전기히터로 수온은 28°C로 유지하였고 염분은 여과해수에 수돗물을 혼합하여 염분 23‰로 조정하였다. 또한 자동 pH조절장치를 이용하여 pH 6.85~7.12로 제어하였고 액화산소를 이용하여 배양수의 용존산소가 5 ppm 이상 되도록 유지하였다. Rotifer의 먹이공급은 정량펌프를 이용하여 담수산 농축 *Chlorella*를 일일 rotifer 1억개체당 300 ml를 연속적으로 공급하였다. 그리고 접종 24시간후 증가된 rotifer를 수확하고 감소한 배양수 만큼의 새로운 배양수를 보충하여 매일 접종밀도 5,000개체/ml를 유지하면서 14일간 실험하였다. 배양수내의 현탁부유물질을 제거하기 위해서 Yoshimura et al. (1997)가 이용한 부유물질제거장치를 1개 설치하였고 1회/day 세척해 주었다.

결 과

Rotifer 고밀도 배양에서 각 수온별로 공기를 공급한 실험에서 rotifer 성장 및 배양수의 환경변화를 Fig. 1에 나타내었다. 실험 I과 II에서 rotifer의 최고밀도는 24°C에서 16,300~17,000개체/ml로 가장 높게 나타났으며, 28°C에서 14,050~14,566개체/ml, 32°C에서 11,135~13,033개체/ml로, 성장은 수온이 높을수록 빠르게 나타났지만 rotifer의 최고밀도는 수온이 낮을수록 높게 나타났다. 배양수의 용존산소량의 변화를 보면 실험 I과 II에서 rotifer 개체수가 증가함에 따라 감소하였고 각 수온구의 최고밀도에 도달하였을 때 1 ppm 이하로 감소하였다. 배양기간 중 배양수의 pH는 각 수온구 접종초기에 8.19~8.29로 나타난 후 약간 감소하다가 배양종료시 rotifer 접종초기와 큰 차이는 보이지 않았다. 또한 배양수의 NH₃-N 변화를 보면 배양시간이 경과할수록 증가하였고, 수온이 높을수록 빠르게 증가하였다. 각 수온구의 rotifer 최고밀도시 NH₃-N 농도는 32°C에서 4.7 ppm, 28°C에서 3.8~5.1 ppm, 24°C에서 7.9~

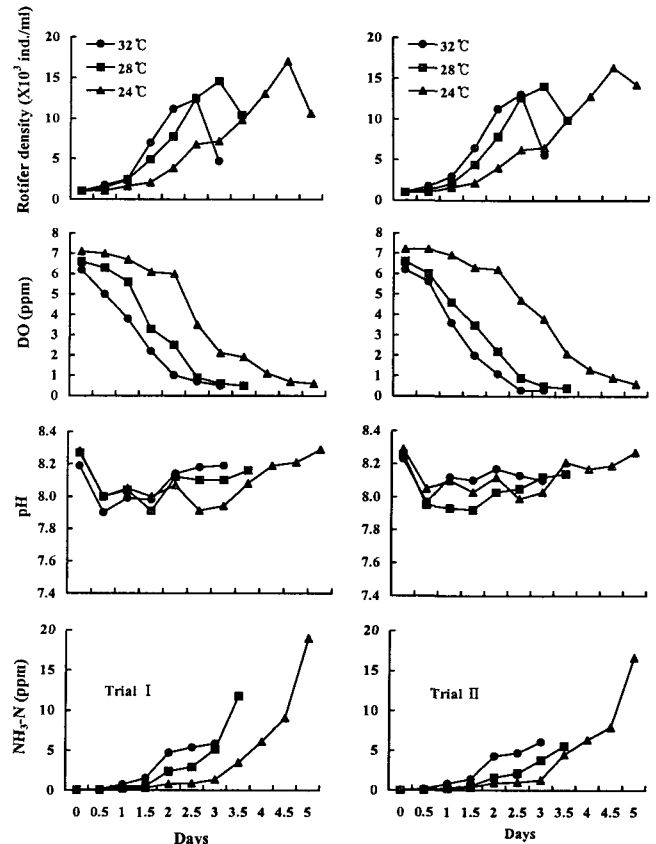


Fig. 1. Growth of rotifer in culture to which air was supplied at different temperatures.

9.1 ppm으로 밀도가 높을수록 높게 나타났다.

각 수온별로 산소를 공급한 rotifer 배양 실험에서 rotifer 성장 및 배양수의 환경변화는 Fig. 2와 같다. 실험 I과 II에서 rotifer의 최고밀도는 28°C에서 26,300~30,533개체/ml로 가장 높게 나타났으며, 32°C에서 20,880~22,600개체/ml, 24°C에서 25,450~26,400개체/ml로, 28°C가 32°C보다 높게 나타났지만 24°C와는 큰 차이는 보이지 않았고 수온이 높을수록 빠른 성장을 보였다. 배양기간 중 배양수의 pH는 8.03~8.35의 범위에서 개체수가 증가할수록 다소 증가하는 경향을 보였으나 각 수온에 따른 차이는 보이지 않았다. 배양수의 NH₃-N 변화를 보면 배양시간이 경과할수록 증가하였고, 수온이 높을수록 빠르게 증가하였다. 각 수온구의 rotifer 최고밀도시 NH₃-N 농도는 32°C에서 16.6~20.7 ppm, 28°C에서 19.8~22.6 ppm, 24°C에서 16.6~17.3 ppm으로 밀도가 가장 높은 28°C에서 가장 높게 나타났다.

32°C에서 산소공급과 동시에 pH조절을 한 배양 실험에서 rotifer의 성장과 배양수의 NH₃-N 변화는 Fig. 3에 나타내었다. 이 실험에서 rotifer의 개체수는 최초 접종 후 4일째에 43,000개체/ml로 증가하였다. 배양수의 NH₃-N 농도는 시간이 경과할수록 서서히 증가하여 배양 4일째 7.5 ppm으로 증가하였다.

Batch 대량배양 방법에 의한 rotifer의 성장은 비교적 완만하게 증가하였지만 배양 7일째 (배양중인 2개의 배양수조에서 급격히 개체수 감소) 개체수가 정체된 후 배양 11일째 총 126억 개체를

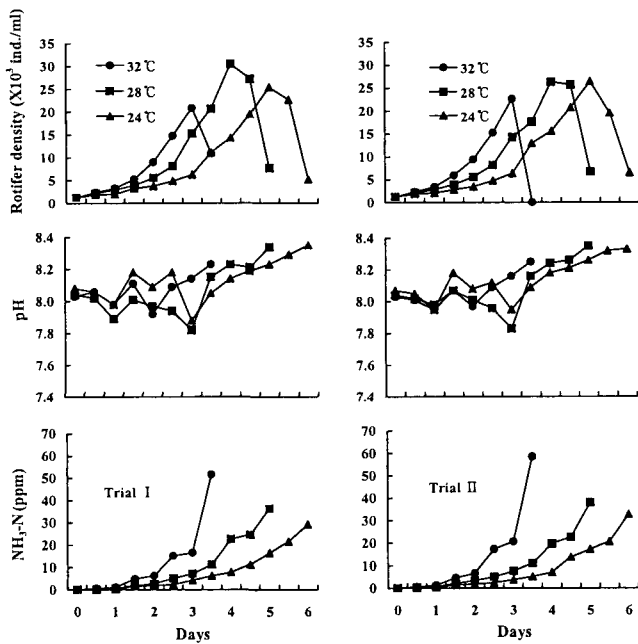


Fig. 2. Growth of rotifer in culture to which oxygen gas was supplied at different temperatures.

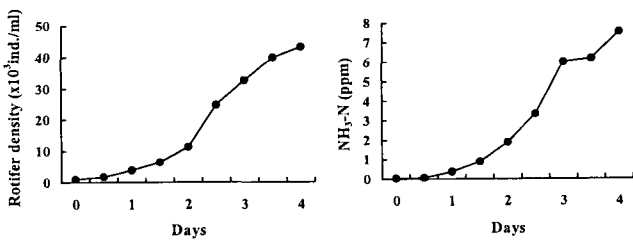


Fig. 3. Growth of rotifer in culture to which oxygen gas was supplied and pH was adjusted to 7 at 32°C.

생산하였다 (Fig. 4). 산소공급과 pH를 7로 제한한 고밀도 배양에서는 rotifer의 평균 개체밀도는 9,913개체/ml를 유지하였고 (Fig. 5) 매일 평균 17.1억개체의 rotifer를 생산하였다 (Fig. 6).

Batch 배양방법과 고밀도 배양방법의 생산성을 비교조사하면 (Fig. 7) rotifer 100억 개체생산시 batch 배양에서의 경비는 먹이 210천원 (22%), 인건비 363천원 (38%), 연료비 388천원 (40%)으로 총 961천원으로 인건비와 연료비가 대부분을 차지하였다. 그러나 고밀도 배양에서의 경비는 먹이 600천원 (87%), 인건비 33천원 (5%), 액화산소 60천원 (8%)으로 총 693천원중 먹이가 대부분을 차지하였고, batch 배양보다 총 경비에 있어서 낮게 나타났다.

고찰

Rotifer는 공기 및 산소를 공급한 각 수온구에서 수온이 높을수록 빠르게 성장하는 경향을 보였는데 이러한 결과는 Yoshimura et al. (1994)과 Park and Hur (1996)의 연구 결과와 일치하였다. 그러나 공기를 공급한 Yoshimura et al. (1994)의 실험에서 rotifer의 최고밀도는 3,000~4,000개체/ml로 수온 (24~32°C)에 따라서

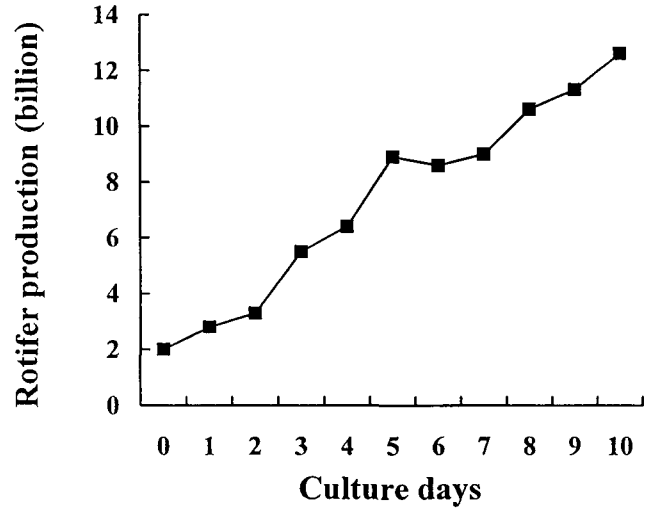


Fig. 4. Production of rotifer in a batch culture system.

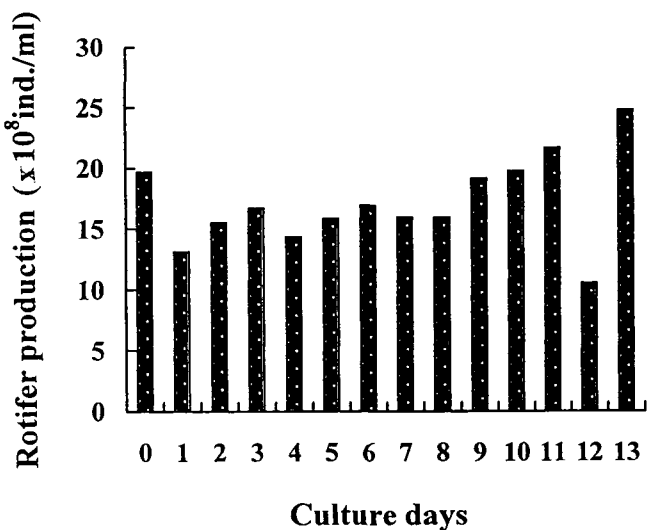
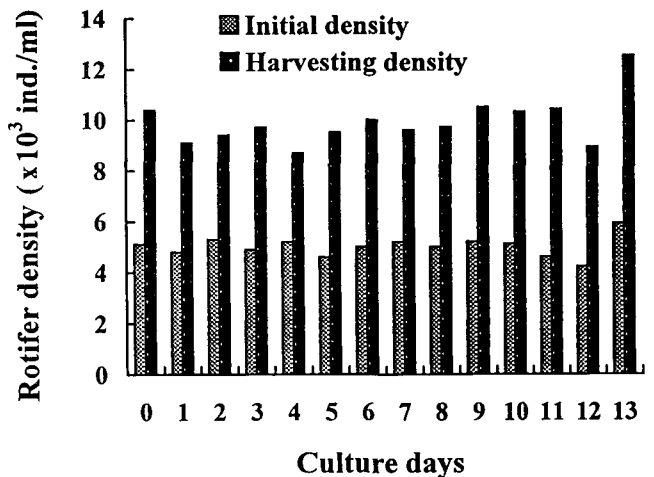


Fig. 5. Production of rotifer in the high density culture system (350-liter scale)

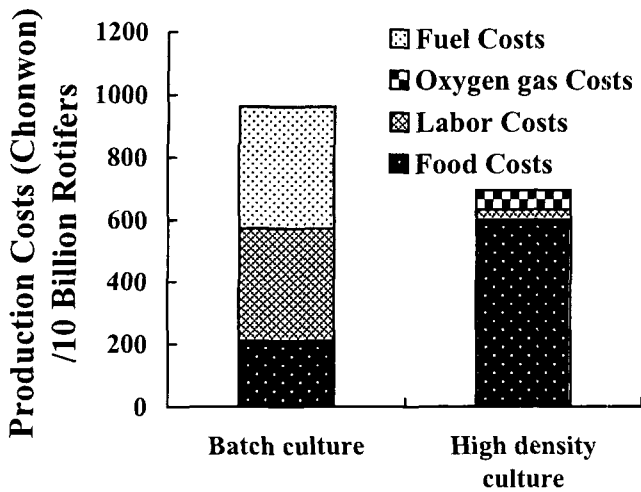


Fig. 6. Production cost of rotifer in a batch and high density culture system.

큰 차이는 보이지 않았지만 공기를 공급한 본 연구에 있어서 수온이 낮을수록 최고밀도는 높은 경향을 보였으며 수온 24°C에서 16,300~17,000개체/ml로 가장 높게 나타났다. 이러한 결과는 수온이 낮을수록 rotifer의 대사율이 낮아 이들의 산소소비율이 낮게 나타난 것으로 판단된다 (岡, 1989). 즉, 높은 수온보다 낮은 수온에서의 용존산소량 부족 현상은 낮기 때문에 rotifer 최고밀도가 높았던 것으로 판단된다. 또한 Yoshimura et al. (1994)의 최고밀도보다 상당히 높게 나타났는데 이러한 차이는 본 연구에서의 rotifer 초기 집중밀도가 1,000개체/ml로 Yoshimura et al. (1994)의 10개체/ml보다 높았기 때문인 것으로 판단된다.

Rotifer은 무산소 상태에서 강하지만 12시간이 지나면 모두 폐사한다고 보고하였다 (今田, 1983). 또한 Yoshimura et al. (1994)은 안정적인 rotifer 성장을 위해서는 용존산소가 2 ppm 이상을 유지하여야 하며 中尾·萩原 (1995)은 4 ppm 이상을 유지하여야 한다고 보고하였다. 공기를 공급한 본 실험에서도 rotifer 개체수가 감소하는 시점은 용존산소가 1 ppm 이하였을 때 나타났고 산소를 충분히 공급한 각 수온구에서 공기를 공급한 것보다 높은 개체수를 유지하였다. 따라서 rotifer의 성장은 용존산소에 많은 영향을 받기 때문에 rotifer 고밀도 배양에 있어서 용존산소는 1 ppm 이상 유지시켜야 안정적인 고밀도 배양을 할 수 있을 것으로 판단된다.

Yoshimura et al. (1995)은 담수산 농축 *Chlorella*를 먹이로 공급할 때 배양시간이 지날수록 pH값이 상승하여 8이상에서는 이온화되지 않은 암모니아 ($\text{NH}_3\text{-N}$) 증가로 독성을 유발하는 농도 20 ppm에 달하기 때문에 rotifer의 고밀도 배양을 수행하는데 저해요인이 된다고 보고하였다. Yu and Hirayama (1986)는 rotifer에 대한 이온화되지 않은 암모니아 급성 독성으로써 반수치사 농도는 17 ppm이고 만성독성은 2.1 ppm 이상이 되면 rotifer의 성장이 억제된다고 보고하였다. 따라서 본 실험에서 용존산소 부족에 대한 rotifer 개체수 감소를 줄이기 위해 산소가스를 공급했을 경우, 각 수온구에서의 rotifer 개체수 감소원인은 16.6~22.6 ppm의 높은 이온화되지 않은 암모니아 농도라고 판단된다. 이처럼 고밀

도 배양에서 rotifer의 성장저해요인인 이온화되지 않은 암모니아 농도는 수온과 pH에 의해서 조절될 수 있다 (中尾·萩原, 1995). 그러나 rotifer의 효율적인 생산을 위해서 낮은 수온에서의 rotifer 배양은 성장속도가 매우 느리기 때문에 (Fig. 2) pH 조절로 rotifer 배양수의 이온화되지 않은 암모니아 농도를 낮출 수 있다. 특히 염산과 수산화나트륨을 이용한 자동 pH 조절장치를 설치 (산소가스 공급)하여 pH 7로 유지할 경우, 최고 10,000~34,000개체/ml에 도달한다고 보고하였다 (Yoshimura et al., 1995). 본 실험에서도 32°C에서 산소가공급과 pH를 7로 조절한 결과 (Fig. 2), pH를 조절하지 않았을 경우 (Fig. 2, 32°C), 이온화되지 않은 암모니아 농도가 rotifer 성장저해농도인 16.6~20.6 ppm보다 낮은 7 ppm으로 나타나 rotifer의 개체수가 43,000개체/ml까지 도달하였다. 또한 이 이후 강한 산소가공급에 의한 거품 발생으로 배양수가 감소되어 실험을 중단하였지만 rotifer의 포란률과 활력이 양호하였기 때문에 43,000개체/ml이상도 가능할 것으로 판단된다.

이러한 결과로 rotifer의 고밀도 배양은 수온 32°C에서 산소가공급과 pH를 조절할 경우, rotifer의 안정적이면서 높은 개체밀도를 유지할 수 있다. 또한 수온이 낮은 24°C로 rotifer를 배양할 경우 성장은 다소 늦지만 충분한 양의 공기를 공급할 수 있다면 rotifer 밀도를 15,000개체/ml 전후로 유지할 수 있기 때문에 고밀도 배양이 가능할 것으로 판단된다.

수산생물의 중요생산시 자어의 초기 먹이생물인 rotifer의 안정적이고 경제적인 배양은 어류 자어를 건강하고 효율적으로 생산하는데 매우 중요하다고 할 수 있다. 본 실험에 있어서 산소가공급과 pH를 조절한 rotifer 고밀도 배양은 많은 공간을 차지하면서 배양이 불안정하고 생산단가가 높은 일반적인 batch 배양 방법보다 안정적이고 경제적인 대량배양 방법이라고 할 수 있다. 또한 고밀도 배양의 배양수량을 350~1,000 l로 조절하면 일일 17~50억개체의 rotifer를 생산할 수 있기 때문에 자어에 필요한 rotifer 양을 충분히 조절할 수 있고, 고밀도 배양에서 경비의 대부분을 차지하는 담수산 농축 *Chlorella*가 국내에서 생산되고 있으며 수입제품 (20 l에 300천원)보다 가격 (130천원)이 낮아 rotifer의 생산 경비를 더욱 낮출 수 있을 것으로 판단된다.

요 약

본 연구는 여러 수온 (24, 28 및 32°C)에서 공기 및 산소가공급과 32°C에서 pH를 7로 조절된 배양에서 rotifer의 성장을 평가하였다. Rotifer는 농축 *Chlorella*를 먹이로 공급하였다. 또한 농축 *Chlorella*와 산소 및 pH를 조절한 rotifer 배양 (고밀도 배양)방법과 빵효모와 경유 보일러를 이용한 rotifer 배양 (batch 배양)방법간의 생산성을 조사하였다.

공기와 산소를 공급한 배양방법에 있어서 수온이 증가할수록 rotifer의 성장률은 증가하였다. 공기를 공급한 배양에 있어서 rotifer의 최고밀도는 수온 24°C에서 16,300~17,000 개체/ml였고 산소를 공급한 배양에 있어서 rotifer의 최고밀도는 수온 28°C에서 26,300~30,500 개체/ml였다. 공기를 공급한 배양에 있어서 용존산소가 1 ppm이하로 감소하거나 산소를 공급하는 배양에서 이온화

되지 않은 암모니아의 농도가 16.6~22.6 ppm이상으로 증가할 때 rotifer의 성장은 감소된다. 산소공급 및 pH를 7로 조정할 때 rotifer의 최고밀도는 43,000개체/ml까지 도달한다. 고밀도 배양과 batch 배양방법에 따른 rotifer 100억개체당 생산비는 각각 693천원, 961천원이었다. 그러므로 고밀도 배양에서의 rotifer 생산성은 batch 배양한 것 보다 더 효율적이다.

감사의 글

본 연구는 부경대학교 해양산업개발연구센터를 통한 한국과학재단 우수연구센터 98년도 지원금(97K3-1506-01-01-3)에 의한 것이다.

참 고 문 헌

- Park, H.G. and S.B. Hur. 1996. Effect of temperature and salinity on production of resting egg in Korean rotifer, *Brachionus plicatilis* (L and S-type). J. Aquaculture, 9 (4), 321~327.
- 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.
- 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 semicontinuous culture, Suisan Zoshoku, 46 (2), 183~192.
- Yoshimura, K., K. Usuki, T. Yoshimatsu, K. Tanaka and A. Ishizaki. 1997. Quantitative determination and separation of wastes in high density culture medium for marine rotifer. Nippon Suisan Gakkaishi, 63 (6), 912~919.
- 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.
- Yu, J. and K. Hirayama. 1986. The effect of un-ionized ammonia on the population growth the rotifer in mass culture. Nippon Suisan Gakkaishi, 52, 1509~1513.
- 中尾 崇・萩原篤志. 1995. 空流通氣によるワムシの高密度培養と短時間營養強化. 水産の研究, 14 (9), 64~70.
- 今田 克, 1983. 大量培養における飼料および環境. シオミズツボワムシ-生物學と大量培養. 恒星社厚生閣, 東京, pp. 129~155.
- 岡 彬, 1989. 増殖環境. 初期飼料生物-シオミズツボワムシ. 恒星社厚生閣, 東京, pp. 28~38.
- 배평암, 1998. 자원증식학. 국립수산물진흥원, 부산, pp. 90.

1999년 8월 21일 접수

1999년 10월 23일 수리