

## 養殖 넙치, 참돔의 飼料 Carotenoids 代謝와 體色改善에 미치는 影響

河奉錫 · 姜東洙 · 金鍾鉉\* · 崔玉水 · 柳浩英\*\*

慶尙大學校 食品營養學科

\*昌原專門大學 食品營養學科

\*\*國立水產振興院 南海水產種苗培養場

## Metabolism of Dietary Carotenoids and Effects to Improve the Body Color of Cultured Flounder and Red sea bream

Bong-Seuk HA · Dong-Soo KANG · Jong-Hyun KIM\* · Ok-Soo CHOI and Ho-Young RYU\*\*

*Department of Food and Nutrition, Gyeongsang National University, Jinju 660-701, Korea*

*\*Department of Food and Nutrition, Changwon Junior College, Changwon 641-210, Korea*

*\*\*Namhae Fisheries Hatchery, National Fisheries Research and Development Agency, Namhae 668-820, Korea*

To investigate the effects on pigmentation and carotenoid metabolism of red sea breams *Pagrus major* and flounders *Paralichthys olivaceus* by the supplemented carotenoids, fishes were fed the diet each containing  $\beta$ -carotene, lutein ester, astaxanthin, astaxanthin monoester, astaxanthin diester and  $\beta$ -apo-8'-carotenal for 8 weeks. Carotenoids in the integuments were analyzed.

In cultured red sea breams with supplemented carotenoids, carotenoid deposition and pigmentation were higher in order of astaxanthin diester group,  $\beta$ -apo-8'-carotenal group and astaxanthin monoester group. The main carotenoids of red sea breams were astaxanthin diester, tunaxanthin and  $\beta$ -carotene. Difference in the content of astaxanthin diester and  $\beta$ -carotene was observed from natural and cultured red sea breams.

In cultured flounders with supplemented carotenoids, carotenoid deposition and pigmentation were higher in order of  $\beta$ -carotene group and lutein ester group. The main carotenoids of flounders were zeaxanthin and lutein. Difference in lutein and  $\beta$ -carotene contents was observed from the natural and cultured flounders.

Based on the contents and composition of carotenoids in each group after feeding experimental diet, carotenoid metabolism in red sea breams were presumed the reductive metabolic pathway, astaxanthin to tunaxanthin, and likewise, in flounders, lutein to tunaxanthin.

### 서 론

어류의 표피와 지느러미에는 lutein, tunaxanthin,

zeaxanthin 등의 xanthophyll류와 astaxanthin이 주요 carotenoids로 존재하며, 특히 astaxanthin을 많이 함유하는 어류는 대개 중요 양식어종에 속하며,

체색이 상품가치에 크게 영향을 준다(奏, 1973).

Carotenoids에 의한 어류의 체색은 섭취하는 carotenoid의 종류와 체내 대사 특이성에 의해서 결정되어진다. 그러나 어류의 carotenoids 대사경로는 대부분 밝혀져 있지 않은 상태이며, 다만 astaxanthin의 기원에 대해서는 어류에 따라 특이성이 있어, 생체내에서 생성할 수 있는 어류와 생성할 수 없는 어류로 대별되고 있다(Tanaka, 1978).

Carotenoids투여에 의한 어체내 대사에 관한 연구로는, Hata and Hata(1972), 그리고 松野 等(1981)이 금붕어에서 zeaxanthin은 4-ketozeaxanthin을 거쳐 astaxanthin으로 대사되나, lutein은 4-ketolutein( $\alpha$ -doradexanthin)까지 대사되고 astaxanthin으로는 대사되지 않는다고 하였으며, 또한 Hata and Hata(1975, 1976)는 비단잉어에서 zeaxanthin은 adonixanthin을 거쳐 astaxanthin으로 대사되나, lutein은  $\alpha$ -doradexanthin까지 밖에 대사되지 않는다고 보고하여 담수산 어류는 산화적 대사경로를 가진다고 하였다.

이에 반하여, Fujita *et al.*(1983)은 양식 방어에서 astaxanthin이 tunaxanthin으로 환원 대사된다고 처음으로 보고하였으며, 이를 양식 참돔(1983)에서도 확인 보고하였다. 또한 生野·松野(1987)는 눈다랭이에서 astaxanthin이  $\epsilon$ ,  $\epsilon$ -carotene-3,3'-dione을 거쳐 tanaxanthin으로 대사된다 하였으며, tilapia(1986)와 yellow-tail rocfish(1985)에서도 이를 확인하였다. 그리고 中添 等(1984)은  $\beta$ -carotene, zeaxanthin, lutein, canthaxanthin, astaxanthin ester 및 astaxanthin을 각각 투여하여 참돔은 astaxanthin을 생합성할 수 없다 하였다. 이와 같이 해산어류는 astaxanthin을 생합성하지 않으며, 주로 환원적 대사경로를 가진다고 하였다. 그러나 伊藤 等(1986)은 astaxanthin dipalmitate의 투여가 표피에 축적되어 양식 참돔에 대한 발색효과가 커다 하였으며, 또한 片山 等(1978)은 참돔에서 astaxanthin은 표피에 이행되며, 또한 astaxanthin이 tunaxanthin으로 대사되지 않는다고 상반된 보고를 하였다.

이외에 carotenoids투여에 의한 어류의 발색효과에 관한 연구로는, 平尾 等(1962)이  $\beta$ -apo-2-carotenal에 의해서 무지개송어의 체색에 영향을 주지 않았다 하였고, Schmidt and Baker(1969)는 canthaxanthin에 의해서 연어와 송어육에 발색효과가 있다 하였다. 또한 鹿山 等(1973)은 大蝦의 外皮에서 추출한 불건화물에 의해서 양식 참돔의 표피에 astaxanthin ester의 함량이 증가되어 체색이 현저히 개선된다는 보고를 하였다. 그러나 넙치의 carotenoids에 관한 보고는 찾아볼 수 없었다.

noids에 관한 보고는 찾아볼 수 없었다.

이에 본 실험에서는 양식 넙치와 참돔에 대한  $\beta$ -carotene, lutein ester, astaxanthin 및  $\beta$ -apo-8'-carotenal의 투여에 의한 carotenoids의 대사를 생화학적인 면에서 비교하며, 사료 carotenoids에 의한 체색 개선효과에 미치는 영향을 검토하였다.

## 재료 및 방법

### 1. Carotenoid 첨가사료에 의한 사육

#### 1) 사육어종

본 실험에 사용한 양식산 넙치(flounder, *Paralichthys olivaceus*)는 평균체장 9 cm, 평균체중 7 g의 것을 국립수산진흥원 남해종묘배양장에서, 참돔(red sea bream, *Pagrus major*)은 평균체장 9 cm, 평균체중 11 g의 것을 국립수산진흥원 여천종묘배양장에서 각각 분양받아 국립수산진흥원 남해종묘배양장으로 운반한 후, 1 ton 용량의 옥내원형수조에 여과천연해수를 주입하여 통기를 행하고, 각 구에 50마리씩 7구로 나누어 사육하였다. 그리고 사육어종을 천연산과 비교하기 위하여, 천연산 참돔은 평균체장 35 cm, 평균체중 850 g의 것을, 천연산 넙치는 평균체장 25 cm, 평균체중 180 g의 것을 경남 충무시 서호동 서호시장에서 구입하여 실험실에 운반한 후 표피만을 취하여 분석용 시료로 하였다.

#### 2) 사료첨가용 carotenoid

##### (1) $\beta$ -carotene 및 $\beta$ -apo-8'-carotenal의 조제

F. Hoffman-La Roche사(Switzerland)에서 조제한 것을 구입하여 투여하였다.

##### (2) Lutein ester의 조제(Philip, 1975; Quackenbush, 1972)

금잔화(marigold, *Tagetes electa*)의 꽃잎으로부터 추출한 carotenoid를 wakogel B-0 : celite 545(1 : 1)을 흡착제로 한 column chromatography 및 silicagel 60G를 흡착제로 하고 30% acetone/petroleum ether를 전개용매로 한 TLC로 분리 정제 결정화하였다.

##### (3) Astaxanthin, astaxanthin monoester 및 astaxanthin diester의 조제(Maoka, 1985; Yamaguchi, 1983)

크릴(krill, *Euphausia superba*)로 부터 추출한 carotenoid를 silicagel 60G를 흡착제로 하고, 20% acetone/petroleum ether를 전개용매로 한 TLC로

분리하여 sephadex LH-20 및 sucrose를 각각 흡착제로 한 column chromatography를 순차적으로 행하여 정제 결정화하였다.

3) 사료조제

기본사료 및 carotenoid첨가사료의 조성은 Table 1과 같으며, 기본사료는 Yone *et al.*(1974)의 방법에 준하여 조제하였고, carotenoid첨가사료는 기본사료에 대하여 각 첨가하는 순수 carotenoid가 10 mg%가 되도록 사료조제시에 가하였다.

사료는 원료를 충분히 혼합한 후 물을 가해 pellet상태로 하였으며, 시험사료의 양은 일주일분씩 조제하고 사료투여시까지 냉동실에 보관하여 변질을 방지하였다.

4) 사육방법

색소를 첨가하지 않은 구(대조구),  $\beta$ -carotene첨가구, lutein ester첨가구, astaxanthin첨가구, astaxanthin monoester첨가구, astaxanthin diester첨가구,  $\beta$ -apo-8'-carotenal첨가구로 나누어 시험개시전 2주간 기본사료로 하루에 오전, 오후 2회 급이 사육하여 순치한 후, carotenoid첨가 사료로서 8주간 사육하였다.

Carotenoid성분의 분석은 시험개시전, 시험개시 4주후(참돔: 평균체장 9.5 cm, 평균체중 14.1 g, 넙치: 평균체장 9.5 cm, 평균체중 8 g) 및 시험개시 8주후(참돔: 평균체장 10 cm, 평균체중 19.4 g, 넙치:

평균체장 10 cm, 평균체중 9.5 g)에 사육한 참돔과 넙치를 각 시험구에서 각각 15마리씩 임의 추출하여 표피의 carotenoid성분을 분리 동정 및 정량하였다.

2. Carotenoid의 분석

1) 용매, 흡착제 및 사용기기

실험에 사용한 각종 용매는 증류 정제한 것과 시판 특급시약이며, 특히 petroleum ether는 증류 온도범위 40~60°C의 것을 사용하였다. HPLC(high performance liquid chromatography)에는 HPLC급(Fisher chemical사) 용매를 사용하였다. 그리고 가시부 흡수 spectrum은 petroleum ether용액으로서 Gilford Response UV-spectrophotometer에 의하여 측정하였으며, HPLC는 Pharmacia LKB LCC 2252 complete system으로 각각 분석하였다.

2) 총carotenoid의 추출 및 정량

Carotenoid의 추출(하 등, 1989)은 표피와 지느러미만을 취하여 실온에서 acetone으로 3회 추출하여 합한 추출액을 petroleum ether: ether(1:1) 혼합액과 다량의 물로서 분리 조작하여 carotenoid를 petroleum ether: ether층으로 전용시킨 후, petroleum ether: ether층을 무수 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>로서 탈수시키고, 40°C 이하의 N<sub>2</sub>기류하에서 감압증류하여 총carotenoid로 하였다. 그러나 넙치는 60% KOH/

Table 1. Composition of basal diet for feeding red sea bream and flounder

(%)

Group Ingredients	Control	1	2	3	4	5	6
White fish meal	65.5	65.5	65.5	65.5	65.5	65.5	65.5
$\alpha$ -starch	15.0	15.0	15.0	15.0	15.0	15.0	15.0
Cellulose	5.5	5.5	5.5	5.5	5.5	5.5	5.5
Casein	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0
Mineral mixture	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0
Vitamin mixture	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0
Choline chloride	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
Alginic acid	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
Pollack liver oil	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0
Carotenoids(mg)	0	10	10	10	10	10	10

Control: Carotenoid free diet,  
2: Lutein ester supplemented diet,  
4: Astaxanthin monoester supplemented diet,  
6:  $\beta$ -apo-8'-carotenal supplemented diet

1:  $\beta$ -carotene supplemented diet,  
3: Astaxanthin supplemented diet,  
5: Astaxanthin diester supplemented diet,

MeOH 용액으로 검화하여 얻은 불검화물을 총carotenoid로 하였다.

총carotenoid의 정량은 petroleum ether중에서의 가시부 흡수 spectrum의 흡수극대치의 흡광도에 의하여 McBeth(1972)의 방법에 따라 흡광계수  $E_{1cm}^{1\%} = 2400$ 으로 하여 다음 식에 의하여 계산하였다.

$$mg\% = \frac{O. D. (\lambda_{max}) \times vol. \times 1000}{E_{1cm}^{1\%} (2400) \times weight\ of\ tissue (g)}$$

### 3) Carotenoid의 분리 및 정제

Preparative-TLC(p-TLC)는 silicagel 60G와 증류수 1:2의 비율로 혼합한 것을 20×20 cm의 glass plate에 0.3 mm의 두께로 도포하여 만든 plate를 110℃의 drying oven에서 2시간 활성화시킨후, 총 carotenoid를 line-spotting하여 petroleum ether: acetone(80:20)과 petroleum ether: acetone(70:30)의 전개용매로서 분리하였다. 그리고 분리된 각 carotenoid 분획이 단일성분임을 확인하기 위하여 총carotenoid를 HPLC에 의한 분리를 행하였으며, 분석조건(Ando, 1987)은 Table 2와 같다. 분리된 각 carotenoid의 동정은 각 분획에서 얻어진 carotenoid의 표품과의 co-HPLC 및 가시부 흡수 spectrum의 비교 그리고 I<sub>2</sub>에 의한 이성화반응에 의하여 동정하였다.

Table 2. Conditions for HPLC analysis of carotenoids in the integuments of red sea bream and flounder

Items	Conditions
Instrument	Pharmacia LKB LCC 2252 complete system LKB VWM 2141 detector(470nm) LKB 2221 integrator
Column	Sumichiral OA-2000(4mm i.d×250mm)
Mobile phase	Hexane: Dichloromethane: Ethanol(48:16:0.4) Hexane: Dichloromethane: Ethanol(50:20:0.5)
Flow rate	0.8ml/min
Chart speed	0.5cm/min

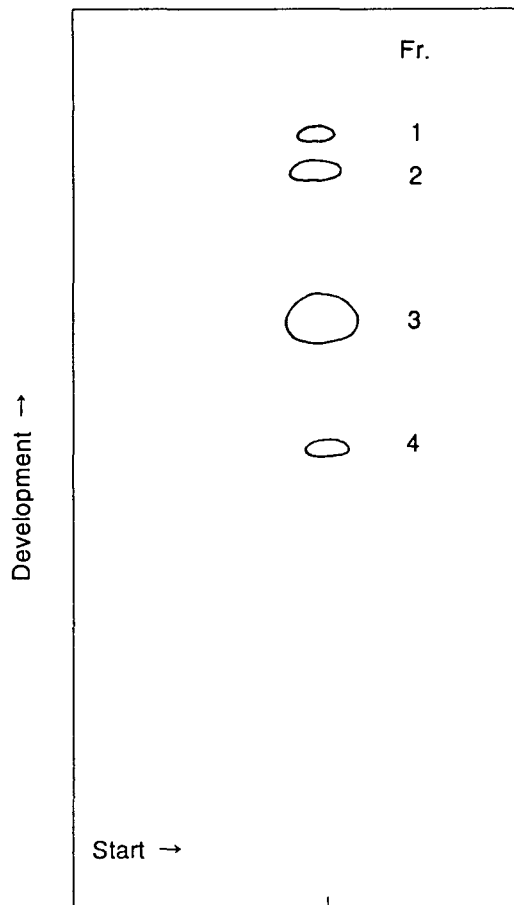
## 결과 및 고찰

### 1. 참돔의 carotenoid의 대사 및 체내축적

#### 1) 참돔 표피 carotenoid의 동정

참돔 표피로부터 추출한 총carotenoid를 p-TLC한 결과, Fig. 1에서와 같이 4개의 Fraction(Fr.)으로

Front



Before saponification

Fig. 1. Preparative thin-layer chromatogram of carotenoids in the integuments of red sea bream. Absorbent; silicagel 60G  
Developer; petroleum ether: acetone(80:20)

분리되어, 참돔의 carotenoid성분은 ester type으로 존재하면서도 검화하지 않는 상태에서 분리가 가능함을 볼 수 있었다. Carotenoid를 분리 정제하기 위하여 총carotenoid를 HPLC를 행한 결과, Fig. 2에서와 같이 4개의 peak로 분리되어 TLC의 pattern과 일치하였다.

Fr. 1: 황색의 Fr. 1은 가시부 흡수 spectrum의 측정결과 β-carotene type의 흡수 spectrum으로 나타났으며, 흡수극대치가 448, 475 nm로서 β-carotene과 일치하였고, 표품의 β-carotene(F. Hoffman-La Roche사제)과 co-HPLC한 결과 단일대가 얻어져 β-carotene으로 동정하였다.

Fr. 2: 황색의 Fr. 2는 가시부 흡수 spectrum의 측정결과  $\epsilon$ -carotene type의 흡수 spectrum으로 나타났다으며, 흡수극대치가 415, 438, 467 nm로서 tunaxanthin과 일치하였고, 방어(平尾, 1967; 松野, 1980)로부터 얻은 표품의 tunaxanthin과 co-HPLC한 결과 단일대가 얻어져 tunaxanthin으로 동정하였다.

Fr. 3: Pink색의 Fr. 3은 가시부 흡수 spectrum의 측정결과 keto carotenoid 특유의 single band로 나타났다으며, 흡수극대치가 468 nm로서 astaxanthin과 일치하였고, TLC에서의 Rf치가 0.65로 나타났으며, krill(Maoka, 1985; Yamaguchi, 1983)로부터 얻은 표품의 astaxanthin diester와 co-HPLC한 결과 단일대가 얻어져 astaxanthin diester로 동정하였다.

Fr. 4: Pink색의 Fr. 4는 가시부 흡수 spectrum의 측정결과 keto carotenoid 특유의 single band로 나타났다으며, 흡수극대치가 468 nm로서 astaxanthin과 일치하였고, TLC에서의 Rf치가 0.50으로 나타났으며, krill(Maoka, 1985; Yamaguchi, 1983)로부터 얻은 표품의 astaxanthin monoester와 co-HPLC한 결과 단일대가 얻어져 astaxanthin monoester로 동정하였다.

2) 천연산 및 양식산 참돔의 carotenoid 조성  
천연산 및 양식산(사육개시전) 참돔 표피의 총

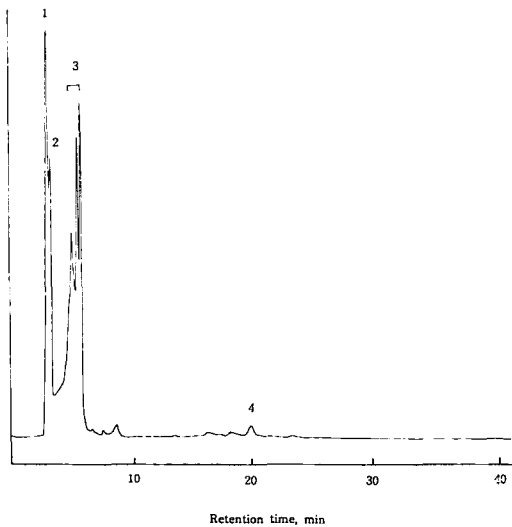


Fig. 2. High performance liquid chromatogram of carotenoids in the integuments of red sea bream.

- 1:  $\beta$ -carotene, 2: tunaxanthin,  
3: astaxanthin diester, 4: astaxanthin monoester

carotenoid함량과 분리 확인된 각 carotenoid의 조성비는 Table 3과 같다.

총carotenoid함량은 양식산 0.42 mg%로서 천연산 1.69 mg%보다 훨씬 낮은 함량치를 보였다.

Carotenoid조성은 천연산에서 astaxanthin diester 61.4%, tunaxanthin 26.8%로서 주성분으로 나타나 체내 축적형임을 알 수 있었고, 그 외  $\beta$ -carotene 9.2%, astaxanthin monoester 2.6% 순으로 함유하였고, 양식산에서는  $\beta$ -carotene 31.3%, tunaxanthin 29.7%로서 주성분을 이루며, 그 외 astaxanthin diester 5.4%, astaxanthin monoester 3.6% 순으로 함유하여 천연산은 양식산에 비하여 astaxanthin diester의 함량이 높은 반면  $\beta$ -carotene의 함량이 훨씬 낮은 경향을 보여 서로 차이를 보였다.

이러한 결과는, 平尾(1967)가 천연산 참돔의 carotenoid는 tunaxanthin과 astaxanthin이 주성분이라고 한 보고와 일치하였다. 한편, 松野 等(1974)이 천연산 은어는 양식산에 비하여 cryptoxanthin과 cynthiaxanthin의 함량이 높은 반면 lutein 및 zeaxanthin의 함량이 훨씬 낮게 나타났고, 松野·勝山(1979)가 천연산 tilapia는 양식산에 비하여 lutein과 cynthiaxanthin의 함량이 높은 반면 tunaxanthin A의 함량에서 낮게 나타났다고 보고하여 천연산과 양식산은 carotenoid조성에 있어서 큰 함량차이를 나타내고 있었다.

Table 3. Amounts and percentage composition of individual carotenoids in the integuments of wild and cultured red sea bream  
(% in total carotenoids)

Total carotenoids Composition	Wild	Cultured*
	1.69mg%	0.42mg%
$\beta$ -carotene	9.2	31.3
Tunaxanthin	26.8	29.7
Astaxanthin diester	61.4	5.4
Astaxanthin monoester	2.6	3.6

\* The samples were subjected to the experiment immediately before feeding carotenoids supplemented diet.

3) 사육 참돔의 carotenoid 조성의 변화  
사육 4주후와 사육 8주후의 각 구의 총carotenoid함량과 carotenoid조성비는 Table 4와 같다.

각 시험구의 총carotenoid함량을 보면, Carotenoid첨가구에서 carotenoid무첨가구인 대조구에 비

하여 높게 나타났으며, 특히 사육 4주후에는 astaxanthin diester첨가구에서 가장 높게 나타났고, 그 다음으로  $\beta$ -carotene첨가구, astaxanthin monoester 첨가구의 순으로 높게 나타났으나, 사육 8주후에는  $\beta$ -apo-8'-carotenal첨가구에서 가장 높게 나타났고, 그 다음으로 astaxanthin diester첨가구, astaxanthin monoester첨가구의 순으로 높게 나타나 carotenoid의 축적율은  $\beta$ -apo-8'-carotenal과 astaxanthin diester첨가구에서 높게 나타났다. 그리고 대조구의 총 carotenoid함량은 사육 4주후에 비해 사육 8주후가 감소하여, 사료중에 carotenoid색소를 첨가하지 않을 경우에는 표피의 carotenoid함량이 사육기간중 서서히 감소한다는 보고(鹿山, 1973)와 같은 경향을 보였다.

Carotenoid 조성에 있어서는, 대조구에서 사육 4주후에는  $\beta$ -carotene의 함량이 다른 구에 비해 높은 반면 tunaxanthin의 함량이 낮게 나타났으며, 사육 8주후에는  $\beta$ -carotene의 함량이 감소된 반면 tunaxanthin의 함량은 다른 구와 함께 증가하였다. 또한 사육 8주후에는 carotenoid축적율이 높았던 astaxanthin diester첨가구와  $\beta$ -apo-8'-carotenal첨가구에서 체내축적형인 astaxanthin diester의 함량이 다른

구에 비해 높게 나타나 이들의 체색개선 효과가 큰 것으로 사료된다.

이와 같이 사육시험후 총carotenoid함량 및 carotenoid조성의 변화로 보아 참돔의 carotenoid대사는 astaxanthin이 tunaxanthin으로 대사되는 것으로 추정되었다.

이러한 결과는, Fujita *et al.*(1983)이 참돔의 사료에 frozen krill, krill meal 그리고 krill oil로부터 분리 정제한 astaxanthin diester를 각각 첨가하여 8주간 사육한 결과, astaxanthin diester의 첨가가 체색선명화에 가장 높은 효과를 나타내었으며, astaxanthin이 tunaxanthin으로 대사된다 하였고, 中添等(1984)이 참돔 치어의 사료에  $\beta$ -carotene, zeaxanthin, lutein, canthaxanthin, astaxanthin ester 및 astaxanthin을 각각 첨가하여 60일간 사육한 결과, carotenoid축적율은 astaxanthin ester투여구에서 가장 높게 나타났다고 한 보고, 伊藤等(1986)이 참돔의 사료에 astaxanthin 및 astaxanthin dipalmitate를 각각 100 ppm씩 첨가하여 8주간 사육한 결과, 유리형의 astaxanthin보다 ester형인 astaxanthin dipalmitate가 발색효과가 더 커다고 한 보고와 비교하여 유사하였다.

Table 4. Amounts and percentage composition of individual carotenoids in the integuments of red sea bream after feeding experimental diet for 4 weeks and 8 weeks (% in total carotenoids)

Group	Control	1	2	3	4	5	6
After 4 weeks							
Total carotenoids(mg%)	0.34	0.56	0.38	0.43	0.43	0.60	0.32
$\beta$ -carotene	48.8	13.7	18.5	30.0	20.5	12.4	22.2
Tunaxanthin	36.4	68.8	65.6	57.7	68.4	68.4	64.0
Astaxanthin diester	14.7	17.3	15.9	12.3	11.1	15.8	11.7
Astaxanthin monoester	-	0.1	-	-	-	3.4	2.1
After 8 weeks							
Total carotenoids(mg%)	0.32	0.38	0.14	0.48	0.47	0.56	1.07
$\beta$ -carotene	18.7	24.1	22.0	19.4	17.7	16.4	24.4
Tunaxanthin	64.9	67.4	70.0	63.1	69.5	54.6	55.6
Astaxanthin diester	16.4	8.5	6.8	13.7	12.8	29.1	16.4
Astaxanthin monoester	-	-	1.3	3.8	-	-	3.6

Control: Carotenoid free diet, 1:  $\beta$ -carotene supplemented diet,  
 2: Lutein ester supplemented diet, 3: Astaxanthin supplemented diet,  
 4: Astaxanthin monoester supplemented diet, 5: Astaxanthin diester supplemented diet,  
 6:  $\beta$ -apo-8'-carotenal supplemented diet

2. 넙치의 carotenoid의 대사 및 체내축적

1) 넙치 표피 carotenoid의 동정

넙치 표피로부터 추출한 총carotenoid를 p-TLC한 결과, Fig. 3에서와 같이 검화전에는 단일 Fr.으로 나타났으나, 검화후에는 8개의 Fr.으로 분리되어 넙치의 carotenoid는 모두 ester type으로 존재하는 것을 알 수 있었다. 그리고 carotenoid를 분리 정제하기 위하여 검화한 후 총carotenoid를 HPLC를 행한 결과 Fig. 4에서와 같이 8개의 peak로 분리되어 TLC의 pattern과 일치하였다.

Fr. 1: 황색의 Fr. 1은 가시부 흡수 spectrum의 측정 및 표품과의 co-HPLC한 결과  $\beta$ -carotene으로 동정하였다.

Fr. 2: 황색의 Fr. 2는 가시부 흡수 spectrum의 측정결과  $\alpha$ -carotene type의 흡수 spectrum으로 나타났으며, 흡수극대치가 420, 443, 471 nm로서  $\alpha$ -cryptoxanthin과 일치하였고, 옥수수(Petzold, 1960)에서 얻은 표품의  $\alpha$ -cryptoxanthin과 co-HPLC한 결과 단일대가 얻어져  $\alpha$ -cryptoxanthin으로 동정하였다.

Fr. 3: Orange색의 Fr. 3은 가시부 흡수 spectrum의 측정결과  $\beta$ -carotene type의 흡수 spectrum으로 나타났으며, 흡수극대치가 448, 475 nm로서  $\beta$ -cryptoxanthin과 일치하였고, 소철열매(山口, 1954)에서 얻은 표품의  $\beta$ -cryptoxanthin과 co-HPLC한 결과 단일대가 얻어져  $\beta$ -cryptoxanthin으로 동정하였다.

Fr. 4: 황색의 Fr. 4는 가시부 흡수 spectrum의 측정 및 표품과의 co-HPLC한 결과 tunaxanthin으로 동정하였다.

Fr. 5: 황색의 Fr. 5는 가시부 흡수 spectrum의 측정결과  $\alpha$ -carotene type의 흡수 spectrum으로 나타났으며, 흡수극대치가 420, 444, 472 nm로서 lutein과 일치하였고, 난황(Kuhn, 1931)에서 얻은 표품의 lutein과 co-HPLC한 결과 단일대가 얻어져 lutein으로 동정하였다.

Fr. 6: 황색의 Fr. 6은 가시부 흡수 spectrum의 측정결과  $\beta$ -carotene type의 흡수 spectrum으로 나타났으며, 흡수극대치가 448, 475 nm로서 zeaxanthin과 일치하였고, 소철열매(山口, 1954)에서 얻은 표품의 zeaxanthin과 co-HPLC한 결과 단일대가 얻어져 zeaxanthin으로 동정하였다.

Fr. 7: 황색의 Fr. 7은 가시부 흡수 spectrum의 측정결과  $\beta$ -carotene type의 흡수 spectrum으로 나타났으며, 흡수극대치가 450, 478 nm로서 crythia-xanthin과 일치하였고, I<sub>2</sub>에 의한 이성화반응에서

흡수극대치가 439, 467 nm로서 11 nm blue shift하였으며, 진주담치(강·하, 1991)에서 얻은 표품의 cynthiaxanthin과 co-HPLC한 결과 단일대가 얻어져 cynthiaxanthin으로 동정하였다.

Fr. 8: 황색의 Fr. 8은 가시부 흡수 spectrum의

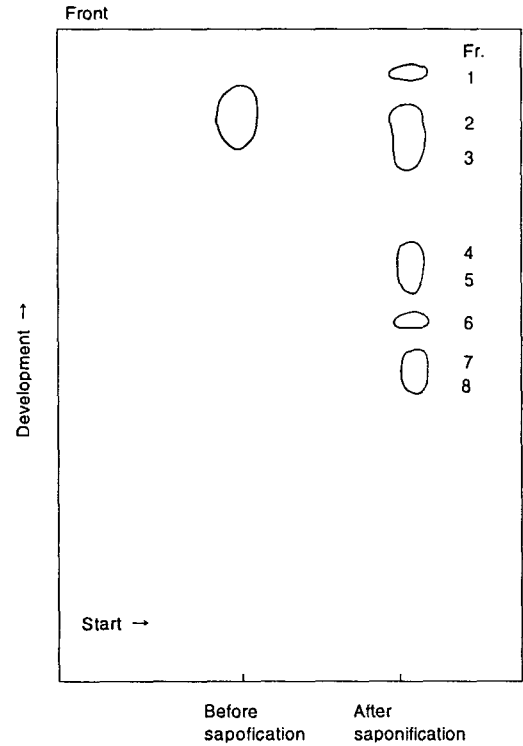


Fig. 3. Preparative thin-layer chromatogram of carotenoids in the integuments of flounder. Absorbent; silicagel 60G Developer; petroleum ether : acetone(70 : 30)

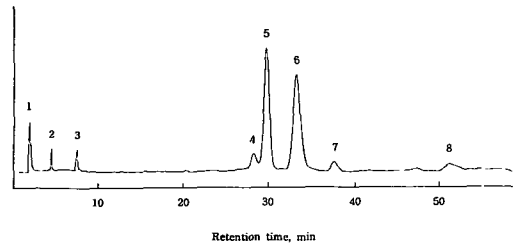


Fig. 4. High performance liquid chromatogram of carotenoids in the integuments of flounder.

- 1:  $\beta$ -carotene, 2:  $\alpha$ -cryptoxanthin,
- 3:  $\beta$ -cryptoxanthin, 4: tunaxanthin,
- 5: lutein, 6: zeaxanthin,
- 7: cynthiaxanthin, 8: triol( $\beta$ -carotene type)

측정결과  $\beta$ -carotene type의 흡수 spectrum으로 나타났으며, 흡수극대치가 447, 474 nm로서  $\beta$ -carotene type의 triol과 일치하여  $\beta$ -carotene type의 triol로 동정하였다.

2) 천연산 및 양식산 넙치의 carotenoid 조성 천연산 및 양식산(사육개시전) 넙치 표피의 총 carotenoid 함량과 분리 확인된 각 carotenoid의 조성비는 Table 5와 같다.

총 carotenoid 함량은 양식산 0.12 mg%로서 천연산 1.38 mg%보다 훨씬 낮은 함량치를 보였다.

Carotenoid 조성은 천연산에서 zeaxanthin 49.5%, lutein 23.4%,  $\beta$ -carotene 15.0%로서 주성분으로 나타나 체내 축적형임을 알 수 있었고, 그 외 triol 3.4%,  $\beta$ -cryptoxanthin 2.9%, tunaxanthin 2.9%, cynthiixanthin 2.4%,  $\alpha$ -cryptoxanthin 0.5% 순으로 함유하였고, 양식산에서는 zeaxanthin 48.2%, lutein 36.5%로서 주성분을 이루며, 그 외 tunaxanthin 8.0%,  $\beta$ -carotene 5.0%,  $\beta$ -cryptoxanthin 1.8%,  $\alpha$ -cryptoxanthin 0.5% 순으로 함유하여, 천연산은 양식산에 비하여  $\beta$ -carotene의 함량이 높은 반면 lutein과 tunaxanthin의 함량이 낮은 경향을 보여 서로 차이를 보였다.

이러한 결과는, 하 등(1992)이 넙치 표피의 carotenoid 조성은 천연산에서 zeaxanthin,  $\beta$ -carotene type의 triol, tunaxanthin 및 lutein이 주성분이며, 양식산에서는 lutein과 zeaxanthin이 주성분을 이루어, 천연산은 양식산에 비하여 tunaxanthin 및 triol의 함량이 높은 반면 lutein 및 zeaxanthin의 함량이 훨씬 낮은 경향을 보여 서로 차이가 있다고 한 보고와 비교하여 성분과 함량에서 차이가 있었다. 그러나 김(1993)이 양식산 넙치의 표피중의 carotenoid 조성은 zeaxanthin, lutein이 주성분을 이루며 그 외 tunaxanthin,  $\beta$ -cryptoxanthin, cynthiixanthin 및  $\beta$ -carotene 등이 소량성분으로 존재한다는 보고와 비교하여 서로 같은 경향을 보였다. 넙치 표피의 carotenoid 조성에서 주성분인 lutein과 zeaxanthin의 함량이 서로 일치하는 것은 동일한 어종에서는 같은 pattern의 carotenoid를 함유한다는 것을 입증한 것이며, 소량성분에서 차이를 나타내는 것은 먹이와 생육조건 등 서식환경에서 오는 결과로 보아진다.

3) 사육 넙치의 carotenoid 조성의 변화

사육 4주후와 사육 8주후의 각 구의 총 carotenoid 함량과 carotenoid 조성비는 Table 6과 같다.

각 시험구의 총 carotenoid 함량을 보면, 사육 4주

Table 5. Amounts and percentage composition of individual carotenoids in the integuments of wild and cultured flounder (% in total carotenoids)

Total carotenoids Composition	Wild	Cultured*
	1.38mg%	0.12mg%
$\beta$ -carotene	15.0	5.0
$\alpha$ -cryptoxanthin	0.5	0.5
$\beta$ -cryptoxanthin	2.9	1.8
Tunaxanthin	2.9	8.0
Lutein	23.4	36.5
Zeaxanthin	49.5	48.2
Cynthiixanthin	2.4	-
Triol( $\beta$ -carotene type)	3.4	-

\* The samples were subjected to the experiment immediately before feeding carotenoids supplemented diet.

후에는 대조구에 비하여  $\beta$ -apo-8'-carotenal 첨가구에서 가장 높게 나타났고, 그 외는 큰 함량 차이를 나타내지 않았으며, 사육 8주후에는 대조구를 비롯한 다른 시험구는 사육 4주후에 비해 감소하였다. 그러나  $\beta$ -carotene 첨가구만이 현저하게 증가하여 가장 높게 나타났고, 그 다음으로 lutein ester 첨가구에서 높게 나타나 carotenoid 축적율은  $\beta$ -carotene 과 lutein ester 첨가구에서 높게 나타나서 이들의 체색개선 및 체색황색화의 효과가 큰 것으로 본다.

Carotenoid 조성에 있어서는 사육 4주후와 사육 8주후 모두 carotenoid 축적율이 높았던  $\beta$ -carotene 첨가구에서  $\beta$ -carotene의 함량이 다른 구에 비해 높게 나타났고, zeaxanthin의 함량은 사육 4주후에 비해 사육 8주후에 증가하였다. 또한 lutein ester 첨가구에서는 사육 4주후와 8주후 모두 lutein의 함량이 다른 구에 비해 높게 나타났으며, 그리고 lutein의 함량은 사육 4주후에 비하여 사육 8주후에 감소한 반면 tunaxanthin의 함량은 증가하였다.

이와 같이 사육 시험후 총 carotenoid 함량 및 carotenoid 조성의 변화로 보아 넙치의 carotenoid 대사는 lutein이 tunaxanthin으로 대사되는 것으로 추정할 수 있었다. 그리고 astaxanthin 첨가구에서는 carotenoid 조성의 변화만을 보면 astaxanthin이 tunaxanthin으로 대사되는 가능성도 있는 것으로 추정되나, astaxanthin 첨가구의 총 carotenoid 함량이 사육 개시 직전에 비하여 사육 8주후에 오히려 크게 감소하기 때문에 astaxanthin의 이용률이 적은 것으로 추정



Table 6. Amounts and percentage composition of individual carotenoids in the integuments of flounder after feeding experimental diet for 4 weeks and 8 weeks (% in total carotenoids)

Composition	Group						
	Control	1	2	3	4	5	6
After 4 weeks							
Total carotenoids(mg%)	0.08	0.11	0.10	0.08	0.12	0.09	0.16
β-carotene	6.6	10.4	7.1	9.6	6.2	14.8	10.9
α-cryptoxanthin	8.0	4.6	2.2	6.5	6.1	2.6	4.9
β-cryptoxanthin	-	4.8	3.2	10.1	-	8.9	11.8
Tunaxanthin	4.7	13.8	13.8	12.6	14.8	12.3	9.7
Lutein	23.1	25.8	38.7	24.8	29.3	25.1	23.4
Zeaxanthin	54.5	39.6	35.0	32.1	42.7	36.3	38.8
Triol(β-carotene type)	3.1	1.0	-	4.4	1.0	-	0.6
After 8 weeks							
Total carotenoids(mg%)	0.06	0.26	0.11	0.03	0.02	0.03	0.07
β-carotene	11.5	8.2	3.8	3.7	1.8	1.3	3.5
α-cryptoxanthin	5.4	1.8	5.4	5.1	23.9	2.9	7.9
β-cryptoxanthin	0.6	2.7	0.6	7.5	21.5	7.0	4.1
Tunaxanthin	17.4	2.5	17.2	24.7	8.1	24.6	5.7
Lutein	31.7	16.2	32.9	26.5	13.8	18.8	26.3
Zeaxanthin	29.5	45.0	34.4	25.2	21.1	44.9	46.0
Triol(β-carotene type)	3.9	23.7	5.7	7.3	9.7	0.5	6.6

Control: Carotenoid free diet,  
 2: Lutein ester supplemented diet,  
 4: Astaxanthin monoester supplemented diet,  
 6: β-apo-8'-carotenal supplemented diet

1: β-carotene supplemented diet,  
 3: Astaxanthin supplemented diet,  
 5: Astaxanthin diester supplemented diet,

된다.

이러한 결과는, 松野(1989)가 tilapia에 있어서 carotenoid대사는 zeaxanthin이 lutein D를 거쳐 tunaxanthin A로 대사되고, lutein A가 lutein D와 tunaxanthin A, tunaxanthin F로 대사된다고 한 보고와 유사하였다. 한편, Fujita *et al.*(1983)이 astaxanthin ester가 대부분인 krill oil로서 방어를 10주간 사육한 결과 체색선명화효과가 있었으며, astaxanthin이 tunaxanthin으로 대사된다고 한 보고와는 차이가 있었다.

## 요 약

양식 참돔과 넙치에 대한 사료 carotenoid의 대사와 체색개선에 미치는 영향을 검토하기 위하여 β-carotene, lutein ester, astaxanthin 및 β-apo-8'-ca-

rotenal을 각각 첨가한 사료로서 8주간 사육한 결과는 다음과 같다.

1) 참돔에 있어서 carotenoid 축적율은 astaxanthin diester첨가구에서 가장 높게 나타나 체색개선 효과가 가장 컸었으며, β-apo-8'-carotenal, astaxanthin monoester첨가구의 순으로 효과가 컸었다.

2) 참돔의 carotenoid 대사경로는 astaxanthin이 tunaxanthin으로 되는 환원적 대사과정을 가지는 것으로 추정되었다.

3) 참돔 표피의 carotenoid 색소는 astaxanthin diester, tunaxanthin 및 β-carotene이 주성분을 이루고, 천연산과 양식산은 astaxanthin diester와 β-carotene의 함량에서 서로 차이가 있었다.

4) 넙치에 있어서 carotenoid 축적율은 β-carotene첨가구에서 가장 높게 나타나 체색개선 효과가 가장 컸었으며, 그 다음으로 lutein ester첨가구의 순으로 나타났다.

5) 넙치의 carotenoid 대사경로는 lutein이 tunaxanthin으로 환원대사되는 것으로 추정할 수 있었다.

6) 넙치 표피의 carotenoid 색소는 zeaxanthin, lutein이 주성분을 이루고, 천연산과 양식산은 lutein과  $\beta$ -carotene의 함량에서 서로 차이가 있었다.

## 사 사

본 연구는 1990년 문교부 학술진흥재단 자유공모과제 학술조성비로 수행되었으므로 이에 깊은 사의를 드립니다.

## 참 고 문 헌

- Ando, S. and M. Hatano. 1987. Metabolic pathways of carotenoids in chum salmon *Oncorhynchus keta* during spawning migration. *Comp. Biochem. Physiol.*, 87B, 411~416.
- Fujita, T., M. Satake, T. Watanabe, C. Kitajima, W. Miki, K. Yamaguchi and S. Konosu. 1983. Pigmentation of cultured red sea bream with astaxanthin diester purified from krill oil. *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.*, 49(12), 1855~1861.
- Fujita, T., M. Satake, S. Hikichi, M. Takeda, S. Shimeno, H. Kuwabara, W. Miki, K. Yamaguchi and S. Konosu. 1983. Pigmentation of cultured yellowtail with krill oil. *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.*, 49(10), 1595~1600.
- Hata, M. and M. Hata. 1972. Carotenoid pigments in goldfish-IV. Carotenoid metabolism. *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.*, 38(4), 331~338.
- Hata, M. and M. Hata. 1975. Carotenoid metabolism in fancy red carp, *Cyprinus carpio*-I. Administration of carotenoids. *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.*, 41(6), 653~655.
- Hata, M. and M. Hata. 1976. Carotenoid metabolism in fancy red carp, *Cyprinus carpio*-II. Metabolism of  $^{14}\text{C}$ -zeaxanthin. *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.*, 42(2), 203~205.
- Ikuno, Y., M. Shimizu, Y. Koshino, T. Maoka and T. Matsuno. 1985. Stereochemical investigation of carotenoids from yellow-tail rockfish *Sebastes flavidus*. *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.*, 51(12), 2033~2035.
- Kuhn, R., A. Winterstein und E. Lederer. 1931. Zerkennntnis der xanthophylle. *Z. Physiol. Chem.*, 197, 141~160.
- Maoka, T., M. Katsuyama, N. Kaneko and T. Matsuno. 1985. Stereochemical investigation of carotenoids in the antarctic krill *Euphausia superba*. *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.*, 51(10), 1671~1673.
- Matsuno, T., M. Katsuyama, T. Hirono, T. Maoka and T. Komori. 1986. The carotenoids of tilapia, *Tilapia nilotica*. *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.*, 52(1), 115~119.
- McBeth, J. W. 1972. Carotenoid from nudibranchs. *Comp. Biochem. Physiol.*, 41B, 55.
- Petzold, E. N. and F. W. Quackenbush. 1960. Zienoxanthin, a crystalline carotenol from corn gluten. *Arch. Biochem. Biophys.*, 86, 163~165.
- Philip, T. and J. W. Berry. 1975. Nature of lutein acylation in marigold (*Tagetes erecta*) flowers. *J. Food Sci.*, 40, 1089~1090.
- Quackenbush, F. W. and S. Miller. 1972. Composition and analysis of carotenoids in marigold petals. *J. A. O. A. C.*, 55, 617.
- Schmidt, P. J. and E. G. Baker. 1969. Indirect pigmentation of salmon and trout flesh with canthaxanthin. *J. Fish. Res. Bd. Canada*, 26(2), 357~360.
- Tanaka, Y., T. Katayama, K. L. Simpson and C. O. Chichester. 1976. The biosynthesis of astaxanthin-XIX. The distribution of  $\alpha$ -doradexanthin and the metabolism of carotenoids in goldfish. *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.*, 42(8), 885~891.
- Yamaguchi, K., W. Miki, N. Toriu, Y. Kondo, M. Murakami, S. Konosu, M. Satake and T. Fujita. 1983. The composition of carotenoid pigments in the antarctic krill *Euphausia superba*. *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.*, 49(9), 1411~1415.
- Yone, Y., S. Sakamoto and M. Furuichi. 1974. Studies on nutrition of red sea bream-IX. The basal diet for nutrition studies. Report of Fishery Research Laboratory, Kyushu Univ., 2, 13~24.
- 강동수·하봉석. 1991. 二枚貝의 carotenoid 색소 성분. 1. 홍합과 진주담치 근육의 carotenoid 색소 성분의 비교. *한국영양식량학회지*, 20(4), 369~

- 375.
- 김종현. 1993. 양식산 넙치의 백화현상에 따른 화학성분의 비교. 경상대학교 대학원 박사학위논문, 53~55.
- 하봉석·강동수·조영숙·박미연. 1992. 넙치와 방어의 carotenoid색소성분. 한국영양식량학회지, 21(4), 407~413.
- 하봉석·강동수·김용관·김귀식. 1989. 서식환경요인에 따른 피조개육의 carotenoid색소와 지질성분의 변화. 한국영양식량학회지, 18(1), 71~92.
- 平尾秀一. 1967. 魚類のカロチノイド. 日水誌, 33(9), 866~871.
- 平尾秀一·菊池 嶺·酒井壽惠·荒井君枝. 1962. ラットおよび ニジマスに對する  $\beta$ -アポカロテナールの投與成績. 日水誌, 28(7), 709~714.
- 生野芳博·松野隆男. 1987. 메바치 *Thunus obesus*의 카로테노이드 성분과 그들의代謝. 日水誌, 53(10), 1893~1896.
- 伊藤良仁·釜田 忠·田中淑人·鮫島宗雄. 1986. 아스타キサ란틴과 아스타キサ란틴지발미테이트による 마타이의 體色改善試驗. 水産増殖, 34(2), 77~80.
- 松野隆男. 1989. 動物의 카로테노이드와 그代謝. 營養學雜誌, 45(5), 219~232.
- 松野隆男·松高壽子·永田誠一. 1981. 킹ギョ *Carassius auratus* における lutein および zeaxanthin 의 케트카로테노이드への生體內代謝. 日水誌, 47(5), 605~611.
- 松野隆男·勝山政明. 1979. 魚類のカロテノイドに關する比較生化學的研究-XIV. テラピアのカロテノイド成分-I. 日水誌, 45(12), 1533~1538.
- 松野隆男·永田誠一·岩崎修久·勝山政明. 1974. アユのカロテノイド色素成分. 日水誌, 40(1), 73~77.
- 松野隆男·松高壽子·勝山政明·永田誠一. 1980. 魚類의 tunaxanthin 劃分より立體異性體 tunaxanthin A, tunaxanthin B および tunaxanthin C の分離. 日水誌, 46(3), 333~336.
- 中添純一·石井清之助·紙本洋志·竹内昌昭. 1984. 飼料カロテノ이드가 마다이 幼魚의 카로테노이드蓄積および體成分に及ぼす影響. 東海區水研報, 113, 29~41.
- 鹿山 光·中川平介·山田 久·村上 豊. 1973. 養殖 마타이의 體色改善에 關する研究. 1. 아메리카자리가니 甲殼카로테노이드의 投與效果. 廣島大學水畜産學部紀要, 12, 49~59.
- 山口 勝. 1954. 『そてつ』의 果實의 카로테노이드色素. 九大理(化學), 2, 31~33.
- 奏 正弘. 1973. 金魚及びにじます의 카로테노이드色素에 關する研究. 東北大學 博士學位論文, 234~249.
- 片山輝久. 1978. 水産動物의 카로테노이드. 日本水産學會編. 東京. 49.

1993년 2월 1일 접수

1993년 3월 5일 수리