

어류 혈액 성분의 저장 안정성

전중균 · 김병기 · 허형택
한국해양연구소 해양생물연구부

Storage Stability of Blood Constituents in Fish

Joong-Kyun JEON, Pyong Kih KIM and Hyung-Tack HUH

KORDI, Marine Biology Division, Ansan P.O.Box 29,
Seoul 425-600, Korea

An attempt was made to elucidate the stability of serum metabolites and enzyme activities in blood samples taken from rockfish (*Sebastes schlegeli*), Israeli carp (*Cyprinus carpio*) and rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) under different storing conditions.

The concentrations of total protein (TP), albumin (ALB), triglyceride (TG), cholesterol (CHOL), glucose (GLC), phosphorus (P) and sodium (Na), and the activities of alanine aminotransferase (ALT) and aspartate aminotransferase (AST) in serum were investigated for 16 days at 15°C (room temp.) and 4°C (refrigerative) condition, or frozen at -20°C for period of 30 days.

Though there was a little difference between fish species, the concentrations of TP, ALB, GLC, P, Na in serum were stable at all storing temperatures, while those of TG, CHOL, ALT and AST were not stable, particularly even at the normal temperature. In general, serum components were more stable at refrigerative and frozen conditions than at room temp. storing. However, it was noticeable that the stability of CHOL in rockfish serum was found to be more unstable at -20°C than kept at 15°C or 4°C.

Key words : rockfish, carp, rainbow trout, blood metabolite, storage temperature, stability

서 론

어류를 효율적으로 사육하기 위해서나 사육 중인 어류의 영양 상태를 정확하게 파악하기 위해서는 주로 어체의 물리적인 증가, 즉 어체중의 증가나 비만도 등을 기준삼아 판단하여 왔지만, 최근에는 어류의 실질적인 영양 상태를 살필 수 있는 방법이 점차 개발되고 있다. 곧 어류 혈액 중 각종 성분의 함량과 경시적 변화를 조사함으로써 어류의 영양 생리와 병리 상태를 파악하려는 시도가 이루어지고 있다. 하지만 이런 연구에서 가장 큰 걸림들은 사육 현장과 분석 시설이 일치하지 않는 경우가 많아, 현장에서 채혈 후 분석하기까지 짧게는 수 시간에서 길게는 몇 일 또는

그 이상 걸리는 수도 있다는 점이다. 그러므로 임상학적인 자료를 정확하게 확보하려면 무엇보다도 분석하기까지 채혈한 혈액 성분의 변화를 최소한으로 줄일 수 있는 조건에서 보존해야 할 것이다.

어류의 혈액 성분에 관해서는 약간의 연구 (Barnhart, 1969; Wedemeyer and Chatterton, 1970, 1971; Wedemeyer and Nelson, 1975)가 있기는 하지만, 이들은 대개 혈액 성분의 함량이나 생체내에서의 증감에 관한 것이고, 어류 혈액의 저장안정성 (shelf-time)에 관해서는 Warner et al. (1979)의 연구 정도가 있을 뿐이다. 따라서 어류의 혈액 성분이 보존 온도와 기간에 따라 얼마나 안정성을 유지하는지를 파악하기 위하여 본 연구를 수행하였다.

본 연구는 한국해양연구소, 과학기술처 및 한국전력의 연구비를 일부 지원받아 수행한 것 입니다.

재료 및 방법

실험 어류

실험에는 한국해양연구소 수조실에서 사육하던 무지개송어(*Oncorhynchus mykiss*)와 이스라엘계 잉어(*Cyprinus carpio*) 및 해산어인 조피볼락(*Sebastes schlegelii*)을 사용하였다.

채혈

어류는 채혈하기에 앞서 24시간 절식시켰으며, 적당량의 MS-222로 마취시킨 다음에 이들의 꼬리동맥에서 1마리당 3ml씩 뽑아 5마리분을 시험관에 함께 모았다. 모은 혈액을 상온에서 약 1시간 방치하여 응고시킨 다음에 원심분리(3,000rpm, 20분)하여 상등부의 혈청을 얻었고, 그 중 일부를 즉시 건식(dry type)의 혈액분석기(Ektachem DT II analyzer, Eastman Kodak Co., U. S. A.)로 Table 1의 각 항목을 분석하였으며, 남은 혈청은 100 μ l씩 나누어서 뚜껑달린 ependorf tube에 나누어 담아 상온(15 $^{\circ}$ C), 저온(4 $^{\circ}$ C) 및 냉동(-20 $^{\circ}$ C)으로 보관하면서 정해진 시일마다 분석하였다. 상온과 저온 보관한 것은 16일까지, 그리고 냉동 보관한 것은 30일까지 측정하였으며, 모든 측정값은 채혈 직후의 측정값을 100%로 하여 이에 대한 비율로 나타내었다.

결과 및 고찰

어류의 혈청중 보존 온도에 따른 총단백질(TP)의 농도 변화는 Fig. 1과 같다. 조피볼락, 잉어 및 무지개

송어의 채혈 직후 혈액중 농도는 각각 4.7, 3.4 및 4.3 g/dl 이었는데 이를 상온에 방치하면 시일이 경과함에 따라 어중에 상관없이 약간씩 증가하는 경향을 보이지만 약 12일까지는 채혈 직후에 비해 큰 변화가 없이 대체로 안정하였다. 저온에 보관하여도 약 12일까지는 각각 5.1, 3.7 및 4.1g/dl이었고, 무지개송어는 16일까지도 거의 변함이 없었다. 혈청을 냉동해 두면 안정성은 모든 어종이 검사 시한인 30일까지 거의 변화가 없이 안정하였다. 한편, 같은 단백질 성분인 알부민(ALB)의 농도 변화(Fig. 2)도 TP의 경우와 거의 같아서, 채혈 직후에 조피볼락, 잉어 및 무지개송어가 각각 1.6, 1.5 및 1.8g/dl이던 것이 보존 온도에 상관없이 모두 안정하였다.

어류에서 건강 진단이나 영양 상태, 질병 진단에 이용 가능(Ozaki, 1978)한 단백질 성분인 TP 와 ALB 은 보존시 농도 변화가 크지 않은 비교적 안정한 성분이었으며, Warner et al.(1979)도 무지개송어에서 확인한 바 있다. 사람의 혈액에서도 이 성분들은 저온 보존하면 수 일간, 그리고 냉동해 두면 1 년간은 안정하다고 한다(Henry et al., 1974;李와 金, 1988).

어류의 주요 에너지원인 지질 성분중 중성지방(TG)은 본 실험에서 시행한 세가지 보존 조건에서 매우 불안정하였고, 정도 차이가 있을 뿐 보존 시일이 길어짐에 따라 전반적으로 상승 경향을 나타내었다(Fig. 3). 조피볼락, 잉어 및 무지개송어는 채혈 직후 각각 114, 205 및 156mg/dl의 수준이었는데, 상온에 방치하면 조피볼락과 무지개송어는 2일만에 10~60%나 증가하였고, 잉어는 4일후까지도 4% 증가하는데 머물러 타 어중에 비하여 비교적 안정하였다. 그리고 저온 보존하면 조피볼락은 불안정하여 2일만에 27%

Table 1. Serum constituents examined (Eastman Kodak Co., 1991)

Constituent	Method	Wavelength(nm)
Alanine aminotransferase (ALT)	LDH method	340
Albumin (ALB)	BCG method	630
Aspartate aminotransferase (AST)	MDH method	340
Cholesterol (CHOL)	Cholesterol esterase method	555
Glucose (GLC)	GOP method	555
Phosphorus (P)	AM method	660
Triglyceride (TG)	GPO method	555
Total protein (TP)	Biuret method	555
Sodium (Na)	Potentiometry	--

어류 혈액 성분의 저장 안정성

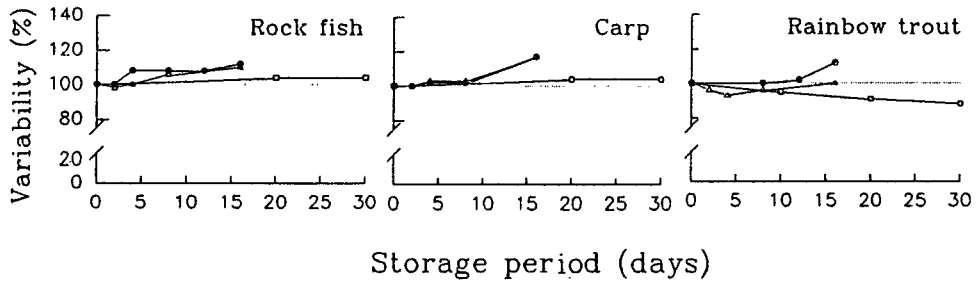


Fig. 1. Effects of storage temperature on the stability of total protein in some fish serum (• : 15°C ; Δ : 4°C ; □ : -20°C).

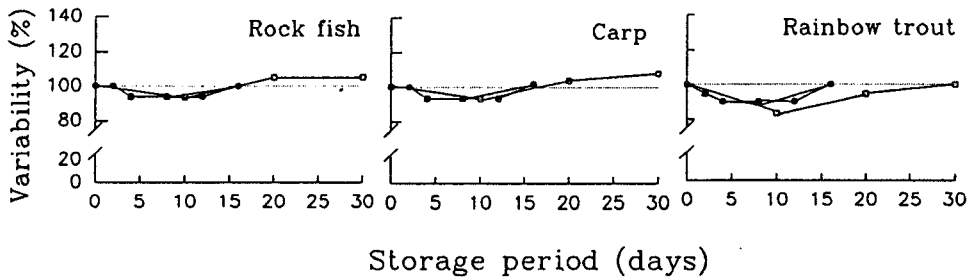


Fig. 2. Effects of storage temperature on the stability of albumin in some fish serum (• : 15°C ; Δ : 4°C ; □ : 120°C).

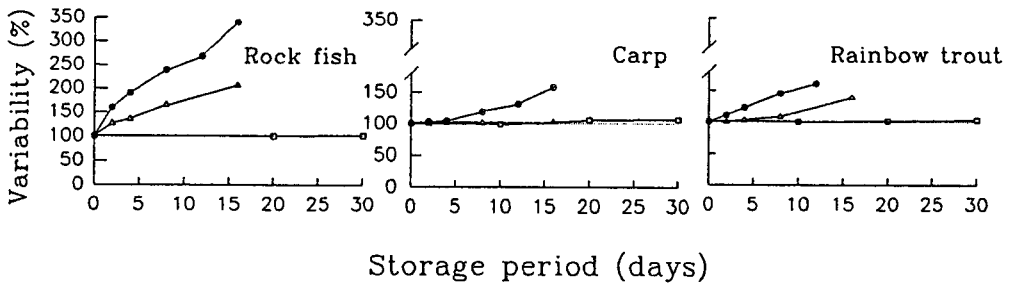


Fig. 3. Effects of storage temperature on the stability of triglyceride in some fish serum (• : 15°C ; Δ : 4°C ; □ : -20°C).

증가하였지만, 잉어와 무지개송어는 각각 8일후와 4일후에도 약 3% 증가하는 정도로 안정하였다. 냉동 보존하면 안정성은 더욱 향상되어 모든 어종이 검사 시한까지도 3~7% 증가하는데 머물렀다.

같은 지질 성분인 콜레스테롤(CHOL)도 TG와 마찬가지로 매우 불안정하여 보존중에는 어종에 상관없이 모두 증가 경향을 보였다 (Fig. 4). 조피볼락, 잉어 및 무지개송어는 채혈 직후 각각 284, 171 및 194mg/dl의 수준이던 것이, 상온에 방치하면 조피볼락과 무지개송어는 4일후까지, 잉어는 8일후까지도 2~4% 증가하는데 그쳐 안정하였지만, 그 이후에는 큰 폭으

로 변하여 16일후에는 9~21%나 증가하였다. 저온 보존하면 상온에서 보다는 다소 안정적이어서 8일후까지도 모두 1~4% 증가하는데 그쳤다. 그리고 냉동 보존하면 안정성은 대체로 높아져서 검사 시한까지 거의 변화가 없었지만, 조피볼락은 예외여서 10일후까지는 약 7% 증가하여 안정적이었고, 그 이후에는 급증하여 30일후에는 채혈 직후에 비해 약 35% 증가하였다.

이처럼 어류 혈청중 CHOL의 농도가 보존 중에 증가하는 것은 사람에서도 확인된 바 있다. 즉 사람의 경우에는 혈청 중의 유리형 CHOL이 LCAT(lecithin

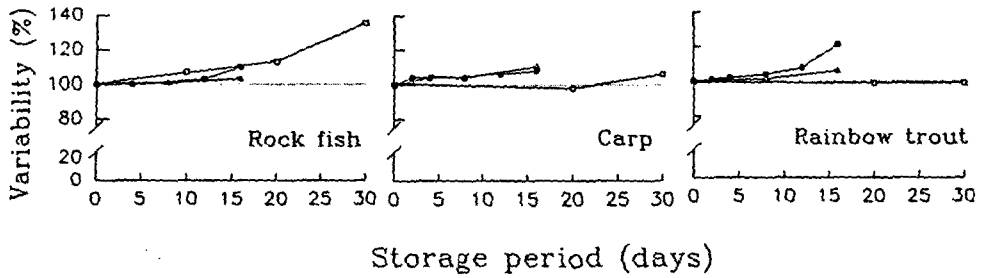


Fig 4. Effects of storage temperature on the stability of cholesterol in some fish serum (● : 15°C; ▲ : 4°C; □ : -20°C).

cholesterol acyltransferase)의 작용을 받아 cholesterol ester이 된다고 한다(李와 金, 1988). 그러나 조피볼락의 경우에는 타 어종이나 조류인 black kite chick (*Milvus milvus*)와 포유류인 red fox (*Vulpes vulpes*) (Bustamante and Travaini, 1994)와 달리 냉동 보존시 증가하는 경향이었는데, 이 차이가 동물종에 따른 차이인지에 관해서는 분명치 않다.

본 실험에서는 혈청중 지질 성분은 보존시 다른 성분에 비해 상당히 불안정하고 특히, TG가 CHOL 보다 더 불안정하지만, 잉어는 다른 두 어종에 비해 상온과 저온에서의 안정성이 비교적 높음을 알 수 있었다.

각 어종 혈청의 보존 온도에 따른 혈당(GLC)의 변화는 Fig. 5와 같다. 조피볼락, 잉어 및 무지개송어의 채혈 직후 GLC 농도는 각각 34, 38 및 93mg/dl로 Fukuda (1958)의 보고와 같이 냉수성이며 활동성이 강한 무지개송어가 타 어종에 비해 GLC가 높았다. 이들을 상온에 방치하면 세 어종의 것이 모두 처음에는 약간 감소 기미를 보이지만 대체로 안정하였다. 즉, 조피볼락과 무지개송어는 보존 16일후까지도 거의 변화가 없었고, 잉어는 4일후까지 3% 밖에 변하지 않

아 안정하였으나 16일후에는 26%나 변하여 매우 불안정하였다. 저온 보존시에는 모두 큰 변화가 없어 보존 16일후에도 2% 이하의 변동폭을 나타내는데 그쳤다. 냉동 보존하면 세 어종의 혈청은 모두 감소 경향을 나타내었고, 무지개송어의 감소폭이 타 어종보다 다소 크기는 했어도 대체로 2~7mg/dl 줄어드는데 불과하여 매우 안정적이었다. 이처럼 GLC 농도가 저장중에 약간 감소하는 것은 사람의 혈액에서도 마찬가지이며, 이는 혈구중의 해당계 효소가 혈당을 감소시키기 때문에 12시간 이내에 약 5% 감소한다(李와 金, 1988). 혈청의 냉동 보존중에 GLC 농도가 감소하는 것은 black kite chick와 red fox 에서도 확인할 수 있었다 (Bustamante and Travaini, 1994). 그러나 Warner et al. (1979)은 무지개송어의 혈청중 GLC의 농도가 매우 불안정하며, 25°C나 -10°C에서는 2일동안만 안정하고, 4°C에서는 6일동안만 안정하다고 하여, 본 결과와도 큰 차이를 보였다.

한편 어류 혈청 중의 Na와 무기인(P)의 보존 조건에 따른 변화를 조사하여 Fig. 6과 7에 나타내었다. 혈청중 P의 농도(Fig. 6)는 조피볼락, 잉어, 무지개

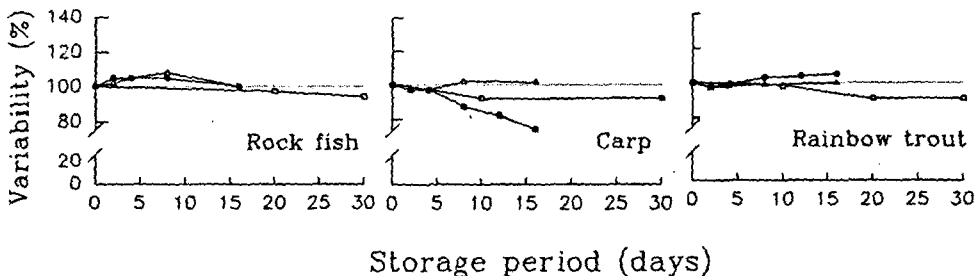


Fig 5. Effects of storage temperature on the stability of glucose in some fish serum (● : 15°C; ▲ : 4°C; □ : -20°C).

송어에서 각각 10.1, 5.3 및 10.4mg/dl이었고, 이들을 상온에 방치하면 4일후까지는 어종에 상관없이 4~7% 정도 증가하는데 머물러 안정하지만, 이보다 보존기간이 길어지면 큰 폭으로 증가하여 16일후에는 35~60%나 많아진다. 저온이나 냉동 보존하면 안정성은 많이 좋아져서 검사 시한까지도 10% 정도 밖에 변하지 않았다. 상온에서는 혈청중의 유기 P가 무기 P로 분해되므로 농도가 변한다는 것은 사람의 경우에 알려지고 있으며(李와 金, 1988), 이것은 본 실험에서 어류의 혈청에서도 확인할 수 있었다. 그리고 적혈구에는 인지질 외에 ester형인 피로인산염과 무기 P이 50%나 들어 있고, 인산 ester가 가수분해되어 무기 P이 유출할 수 있으므로 가능하다면 채혈 직후에 곧 혈청으로 분리하는게 바람직하다고 한다(李와 金, 1988).

한편, 채혈 직후의 혈청에는 Na의 농도(Fig. 7)가 조피볼락, 잉어 및 무지개송어에서 각각 157, 117 및 150mmol/l가 이었으며, 이들의 혈청을 상온에 방치하면 12일후까지는 3~8% 정도의 변화 밖에 없어 비교적 안정하며, 저온이나 냉동 보존하면 검사 시한까

지 소폭으로만 변할뿐 매우 안정적이었다.

이 밖에도 ALT 와 AST 의 변화도 조사하였지만 이들은 어종 또는 보존 조건과 상관없이 매우 불안정하여 어떠한 경향을 발견할 수 없었다 (미발표자료). 한편 사람의 경우, 혈청 중의 AST는 일반적으로 안정하여 저온 보존하면 약 일주간, 냉동 보존하면 약 3주간 안정하고, ALT는 불안정하여 저온 보존하여도 매일 5~10%씩 활성이 감소되며 냉동 보존하여도 이러한 감소 추세는 마찬가지로 하지만(李와 金, 1988), 본 실험에서는 잉어의 ALT 활성이 보존 중에 감소하는 경향을 보인 것 말고는 매우 불안정하여, 사람의 혈액과는 상당히 다른 경향을 보였다.

이상의 결과를 종합하면, 어류의 혈청 성분 중에는 보존 조건에 따라서 상당히 안정한 성분이 있는가 하면 반대로 매우 불안정한 것도 있음을 알 수 있었다. 특히 단백질 성분인 TP와 ALB은 보존 온도에 상관없이 매우 안정한데 반해 지질 성분인 TG와 CHOL은 상온 보존시에 특히 불안정하였다. 이 밖의 GLC나 무기질인 P나 Na도 대체로 안정적이었다. 이러한 결과를 고려한다면 어류 혈청을 분석코자 할 때에는

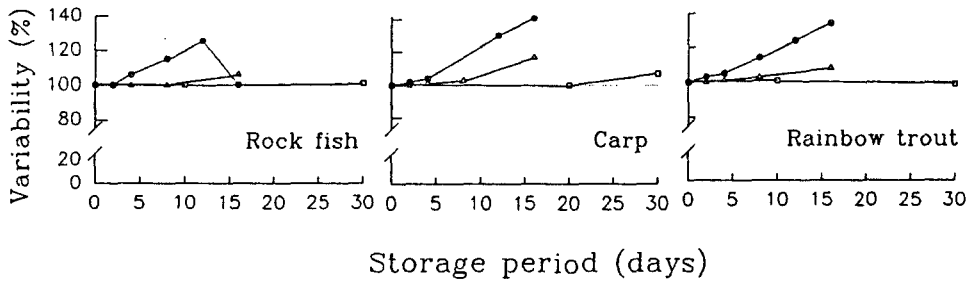


Fig 6. Effects of storage temperature on the stability of phosphorus in some fish serum (• : 15°C ; Δ : 4°C ; □ : -20°C).

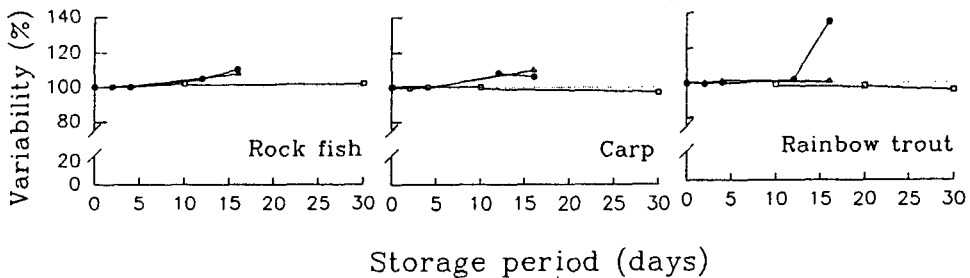


Fig 7. Effects of storage temperature on the stability of sodium in some fish serum (• : 15°C ; Δ : 4°C ; □ : -20°C).

대상 성분에 따라 온도 안정성이 매우 다르기때문에 채혈한 후에는 가능하면 빠른 시간내에 분석토록 하는 것이 정확한 값을 얻을 수가 있고, 어류의 상태를 파악하는데 도움이 될 것이라 여겨진다.

요 약

조피볼락, 잉어 및 무지개송어의 혈청을 상온(15°C), 저온(4°C), 냉동(-20°C)으로 보존하면서 총단백질(TP), 알부민(ALB), 중성지방(TG), 콜레스테롤(CHOL), 포도당(GLC), 인(P), 나트륨(Na), AST 및 ALT의 활성 변화를 상온과 저온에서는 16일까지, 냉동에서는 30일까지 조사하였다.

여중간에 다소의 차이가 있기는 하지만 대체로 단백질 성분인 TP, ALB과 당 성분인 GLC, 무기질인 P, Na의 농도는 안정하였고, 지방 성분인 TG와 CHOL, AST, ALT의 활성은 불안정하였다. 그리고 온도에 따른 혈액 성분의 안정성은 상온에서 보다는 저온과 냉동에서 대체로 안정하지만, 성분에 따라서는 냉동하여도 매우 불안정한 것이 있다.

참 고 문 헌

- Barnhart, R. A. 1969. Effects of certain variables on hematological characteristics of rainbow trout. Trans. Am. Fish. Soc., 3, 411~418.
- Bustamante J. and A. Travaini. 1994. Effect of keeping plasma frozen at -20°C on the concentration of blood metabolites. Comp. Biochem. Physiol., 107A, 661~664.
- Eastman Kodak Co. 1991. Kodak Ektachem DT II System Manual. Rochester, New York, U. S. A.
- Fukuda, H. 1958. On the blood sugar of fresh water fish. Bull. Jap. Soc. Sci. Fish, 23, 782~784 (in Japanese).
- Henry, R. J., D. C. Cannon and J. W. Winkelman. 1974. Clinical Chemistry Principles and Techniques. 2nd ed. Harper & Row, Hagerstown Maryland, 1629p.
- Ozaki, H. 1978. Physiology of fish, Vol. 1, Blood. Circulation. Midori-shobo, Tokyo, 326 pp.
- Warner, M. C., A. M. Tomb and S. A. Diehl. 1979. Variability and stability of selected components in rainbow trout *Salmo gairdneri* serum and the precision of automated analysis in measuring these components. J. Fish Biol., 15, 141~151.
- Warner, M. C., S. A. Diehl and A. M. Tomb. 1978. Effects of dilution and temperature of analysis on blood serum values in rainbow trout, *Salmo gairdneri*. J. Fish Biol., 13, 315~319.
- Wedemeyer, G. and K. Chatterton. 1970. Some blood chemistry values for the rainbow trout (*Salmo gairdneri*). J. Fish Res. Bd. Can., 27, 1162~1164.
- Wedemeyer, G. and K. Chatterton. 1971. Some blood chemistry values for the juvenile coho salmon(*Oncorhynchus kisutch*). J. Fish Res. Bd. Can., 28, 606~608.
- Wedemeyer, G. and N. C. Nelson. 1975. Statistical methods for estimating normal blood chemistry ranges and variance in rainbow trout(*Salmo gairdneri*), Shasta strain. J. Fish Res. Bd. Can., 32, 551~554.
- 李貴寧 · 金辰圭. 1988. 臨床化學, 의학문화사, 서울, 812 pp.

1994년 10월 11일 접수

1995년 1월 5일 수리