

## 조피볼락(*Sebastes schlegeli*)의 사료내 비타민 C 요구량 설정을 위한 기초연구

배승철 · 이경준 · 장혜경

부산수산대학교 양식학과

### Development of an Experimental Model for Vitamin C Requirement Study in Korean Rockfish, *Sebastes schlegeli*

Sungchul C. Bai, Kyeong-Jun Lee and Hye-Kyung Jang

Department of Aquaculture, National Fisheries University of Pusan,  
Pusan 608-737, Korea

This experiment was conducted to develop an experimental model and a semipurified diet for vitamin C requirement study in juvenile Korean rockfish, *Sebastes schlegeli*. Prior to the start of the feeding trial, fish were fed the control diet for four weeks to deplete their body reserves of vitamin C. Then fish were divided into six groups and given one of the laboratory developed semipurified diets supplementing either 0 (control), 25, 50, 75, 150, or 1500 mg L-ascorbic acid (AA)/kg diet for eight weeks. Fish fed control diet had lower hematocrit than did fish from groups fed the other diets ( $P<0.05$ ). Also these fish had significantly lower percent weight gain (WG), feed conversion ratio (FCR) and muscle AA than did fish fed diets containing 150 and 1500 mg AA/kg diet ( $P<0.05$ ). Diet analysis of vitamin C showed that the control diet had 39.7 mg AA/kg diet. Therefore, these findings suggest that the experimental model and the semipurified diet can be useful for vitamin C requirement study, and the dietary vitamin C requirement is greater than 40 mg AA/kg diet, but 150 mg AA/kg diet is adequate for the maximum growth in juvenile Korean rockfish.

Key words : Semipurified diet, L-ascorbic acid, Vitamin C requirement

#### 서 론

비타민과 같은 미량 영양소의 요구량을 설정하기 위해서는 먼저 그 어종을 위한 적당한 실험모델과 실험사료의 개발이 필수적이라 하겠다. 국내에서 중요한 해산 양식어종인 조피볼락의 실용 배합사료 개발을 위한 일련의 실험들(李 등, 1993a, b, c, d)이 이루어졌는데, 본 실험은 비타민 C의 요구량 설정을 위한 실험모델과 실험사료의 개발을 위한 기초실험으로 시도되었다.

비타민 C는 collagen 형성에 중요한 hydroxyproline과 hydroxylysine을 생성시키는데 있어서의 보조인자로 작용하므로 collagen 형성에 필수적인 영양소이며(Sandel and Daniel, 1988), 철의 흡수를 도와 빈혈을 예방하고 비타민 E와 함께 천연 항산화제의 역할을 한다(Heikkila and Manzino, 1987). 또한 *in vitro* 상태에서는 산화된 비타민 E를 재활성시키므로(Niki, 1987) 이것이 *in vivo* 상태에서도 기능을 한다면 사료내 비타민 E의 요구량에도 영향을 끼칠 것이다(Ha-

mre and Lie, 1995). 대부분의 척추동물들과는 달리 과일을 먹는 박쥐, 기니아피그, 물모트 등은 외부로부터 비타민 C 첨가가 필요한 것으로 알려져 있는데, 그 이유는 다른 척추동물들과는 달리 glucose로 부터 비타민 C를 합성하는 생화학적 과정중의 한 효소인 L-gulonolactone oxidase가 존재하지 않기 때문이다. 현재까지 알려진 어류들도 이러한 L-gulonolactone oxidase가 없기 때문에 체내 합성이 불가능하여 반드시 외부로부터 비타민 C가 공급되어야 하는 것으로 알려져 있다(Kitamura et al., 1965 ; Poston, 1967 ; Halver et al., 1969 ; Wilson, 1973 ; Dabrowski, 1990).

비타민 C는 세포호흡으로부터 발생하는 oxygen radical을 줄이고(Hurst and Barrette, 1989), 상처에 있어서의 growth activator로, steroid 합성의 조절자로, hepatic microsomal hydroxylase의 불활성인자로(Panush and Delafuente, 1985), 그리고 질병에 대한 저항성도 증가시킨다고 보고되었다(Hardie et al., 1991 ; Wahli et al., 1986 ; Navarre and Halver, 1989 ; Durve and Lovell, 1982). 또한 vitamin C는 스트레스시에도 그 기능을 발휘하는데, 즉 불포화지방산들의 과산화를 통해 일어나는 steroidogenesis에 제동 역할을 하여 cortisol의 중요한 성분인 cholesterol로의 전환을 방지함으로써 경골어류의 면역체계에 중요한 역할을 한다고 알려졌다(Mazik et al., 1987 ; Robertson et al., 1987 ; Pickering and pottinger, 1985 ; Thomas and Neff, 1984 ; Blazer, 1992).

이처럼 비타민 C는 없어서는 안될 중요한 미량 영양소로써 현재까지 여러 어종에서 그 요구량이 연구·보고되고 있지만(NRC, 1993), 국내에서 넘치 다음으로 중요하게 양식되고 있는 조피볼락(*Sebastes schlegeli*)에 있어서의 비타민 C에 관한 연구는 전무한 상태이다. 본 실험은 조피볼락의 비타민 요구량 설정을 위한 실험모델과 실험사료 개발 그리고 요구량 설정을 위한 최초의

실험으로서 의의가 크며, 앞으로 여러 해산어종의 비타민 요구량 실험에 기초적인 자료가 되었으면 한다. 따라서 본연구는 조피볼락의 비타민 C 요구량 설정을 위한 실험모델과 반정제 실험사료를 제시하고, 그에 따른 가능한 요구량을 제시하는데 그 목적이 있다. 또한 사료내 첨가함량에 따른 각 조직내의 비타민 C 축적량을 조사하여 조직내에서의 비타민 C 영양의 특성을 추정해 보고자 실시 되었다.

## 재료 및 방법

### 1. 실험사료

실험에 사용된 기초사료의 조성표와 실험사료의 일반성분은 각각 Table 1과 2에 나타내었다. 실험사료는 단백질원으로 vitamin free casein과 gelatin을 사용하였으며, 탄수화물원으로는 dextrin을, 지질원으로는 대구유(Pollack oil)와 옥수수유를 각각 5.0%, 4.9% 그리고 25% 짜리 DHA+EPA mixture(이화유지, 부산)를 0.1% 첨가 하였다. 그리고 필수아미노산중 arginine, lysine, methionine을 각각 0.5% 씩 첨가하였다. 실험사료의 비타민 C 첨가농도는 0 (control, C<sub>0</sub>), 25 (C<sub>25</sub>), 50 (C<sub>50</sub>), 75 (C<sub>75</sub>), 150 (C<sub>150</sub>), 1500 (C<sub>1500</sub>) mg L-ascorbic acid/kg diet의 6가지 수준으로 제조하였으며, 실험사료별로 비타민 C의 첨가량에 따른 함량 차이는 cellulose로 조절하였다. 또한 사료섭취율을 높이기 위해 탈지어분을 10% 씩 첨가하여 펠릿(직경; 3mm)으로 성형하였다. 어분의 탈지방법은 chloroform : methanol (2/1, v/v) 혼합용매를 시료의 3배 가량 첨가하여 2 회 이상 어분에 포함된 지질을 제거하였으며, 이를 건조시켜 mesh size가 1 mm인 sieve로 걸러 입자를 고르게 하여 사용하였다. 사료 제조 후 -35°C에 6개월간 냉동보관한 다음 vitamin C 농도를 분석해 본 결과, 비타민 C의 활성도가 70% 이상 남아있는 것으로 판명되었다.

Table 1. Composition of the basal diet (dry matter basis)

Ingredient	%
Casein, vitamin free <sup>1</sup>	30.0
Gelatin <sup>1</sup>	10.0
White fish meal (defatted) <sup>2</sup>	10.0
Dextrin <sup>1</sup>	27.0
L-Arginine <sup>3</sup>	0.5
L-lysine · HCl <sup>2</sup>	0.5
DL-methionine <sup>2</sup>	0.5
Pollack oil	5.0
Corn oil <sup>4</sup>	5.0
Carboxymethylcellulose	2.0
Cellulose	2.5
Vitamin premix <sup>5</sup>	3.0
Mineral premix <sup>6</sup>	4.0

<sup>1</sup> United States Biochemical, Cleveland, Ohio 44122<sup>2</sup> Kum Sung Feed Co., Pusan, Korea<sup>3</sup> Myeng Sung Science Co., Pusan, Korea<sup>4</sup> Corn oil 4.9% + DHA, EPA 0.1% (25% DHA + EPA mixture)<sup>5</sup> Contains (as g/100 g premix) : dl-calcium pantothenate, 0.5 ; choline bitartrate, 10 ; inositol, 0.5 ; menadione, 0.02 ; niacin, 0.5 ; pyridoxine · HCl, 0.05 ; riboflavin, 0.1 ; thiamine mononitrate, 0.05 ; dl- $\alpha$ -tocopheryl acetate, 0.2 ; retinyl acetate, 0.02 ; biotin, 0.005 ; folic acid, 0.018 ; B<sub>12</sub>, 0.0002<sup>6</sup> H-440 premix NO. 5 (mineral) (NAS, 1973)Table 2. Proximate analysis and vitamin C concentrations of the experimental diets (dry matter basis)<sup>1</sup>

	Diets					
	C <sub>0</sub>	C <sub>25</sub>	C <sub>50</sub>	C <sub>75</sub>	C <sub>150</sub>	C <sub>1500</sub> <sup>2</sup>
Moisture (%)	30.1	29.4	30.0	32.2	32.7	30.9
Crude protein (%)	49.4	50.9	51.4	50.9	50.0	49.7
Crude lipid (%)	9.2	8.6	7.8	9.2	10.2	9.6
Ash (%)	7.2	6.3	5.7	8.2	7.6	6.9
Vitamin C con. (mg/kg)	39.7	64.5	88.4	98.7	144.6	1542.1

<sup>1</sup> Values are means of duplicate samples.<sup>2</sup> C<sub>0</sub>, C<sub>25</sub>, C<sub>50</sub>, C<sub>75</sub>, C<sub>150</sub> and C<sub>1500</sub> : 0, 25, 50, 75, 150 and 1500 mg ascorbic acid supplementation per kg diet

## 2. 실험어 및 실험 설계

실험어는 조피볼락(*Sebastes shlegeli*) 치어를 사용하였으며, 40 1 수조에 25 마리씩(평균무게 : 12.6 g) 수용하여 각 실험사료구당 3 반복으로 무작위 배치하였다. 각 수조당 평균 무게는 316.3 ± 0.58 g (평균무게 ± sem)이었으며, 실험수조는 유수식으로 유수량은 실험 시작시에 2 l/min 이었고, 실험어류가 성장함에 따라 실험종료시에는 4 l/min 까지 되도록 조절하였다. 각 수조당 에어 스톤을 설치하여 산소를 보충하였고, 수온

은 실험시작시 17°C에서 실험종료시 15°C로 전 실험기간동안 자연 수온에 의존하였다. 예비사육 기간은 4주간 실시하였으며, 그 기간 동안 대조 사료(control)를 공급하였다. 예비사육 기간 중 3주간은 1000 1 수조에서, 나머지 1주간은 각 실험수조에 배치하여 실험환경에 적응이 될 수 있도록 예비사육 하였다. 일일 사료 공급량은 어체중의 2% (건물 기준) 기준으로 1일 2회(9 : 00, 16 : 00 h) 공급하였다. 주사육 실험기간은 8주간 이었으며, 4주 마다 성장율을 조사하기

위해 tricaine (MS-222) 100 ppm에 실험어를 마취시켜 각 수조의 실험어 전체 무게를 측정하였다.

### 3. 분석 및 통계처리

사료 및 어체의 수분은 상압가열건조법, 조단 백질은 Kjeldahl 질소정량법(N×6.25), 조회분은 직접회화법으로(AOAC, 1995) 그리고 조지방은 Folch et al. (1957) 방법으로 각각 분석되었다. 혈액분석은 8주간의 주사육실험 종료시에 수조별로 2마리씩 임의로 추출하여 미부정맥에서 혈액을 채혈한 다음, hematocrit은 micro-hematocrit 방법(Brown, 1980)으로, hemoglobin은 Drabkin 용액을 사용하여 cyan-methemoglobin 방법(Sigma Chemical, St. Louis MO; total hemoglobin procedure No. 525)으로 측정되었다.

실험사료내의 비타민 C 분석은 사료제조후 -35°C에 6 개월간 보관된 다음 분석되었다(Table 2). 실험사료 및 실험어류의 각 조직내 비타민 C 분석을 위한 방법은 Bai and Gatlin (1992)이 사용한 방법과 동일하게 하였으며, 실험종료시에 각 탱크별로 5마리씩 무작위로 선별하여 근육,

간, 아가미, 그리고 뇌의 4가지 조직에서 실시되었으며 비타민 C 농도는 각 조직의 wet sample을 기준으로 계산하였다.

통계처리는 Computer Program Statistix 3.1 (Analytical Software, St. Paul, MN, USA)로 ANOVA test를 실시하여 최소유의차검정(LSD : Least Significant Difference)으로 평균간의 유의성(P<0.05)을 검정하였다.

## 결 과

본 실험의 사육실험 결과는 Table 3에 나타내었다. 대조구(비타민 C 결핍사료, C<sub>0</sub>)의 증중율은 C<sub>25</sub>, C<sub>50</sub>, C<sub>75</sub>, 실험구들에 비해서는 유의적인 차이가 없었지만, C<sub>150</sub> 실험구와 C<sub>1500</sub> 실험구에 비해서는 유의적으로 낮게 나타났다(P<0.05). 사료전환효율(FCR)에서도 대조구가 C<sub>25</sub>, C<sub>50</sub>, C<sub>75</sub>, 실험구들에 비해서는 유의적인 차이가 없었지만, C<sub>150</sub>과 C<sub>1500</sub> 실험구에 비해서는 유의적으로 낮게 나타났다(P<0.05).

혈액성상중 hematocrit은 대조구에서 유의적으로 가장 낮게 나타났으며(P<0.05), 다른 실험구들간에는 유의적인 차이를 보이지 않았다.

Table 3. Percent weight gain, feed conversion ratio (FCR), hematocrit, hemoglobin, and condition factor (CF) in Korean rockfish (*Sebastes schulegeli*) fed the experimental diets for 8 weeks<sup>1</sup>

	Diets					
	C <sub>0</sub>	C <sub>25</sub>	C <sub>50</sub>	C <sub>75</sub>	C <sub>150</sub>	C <sub>1500</sub>
Weight gain (%) <sup>2</sup>	73.3 <sup>b</sup>	82.64 <sup>ab</sup>	81.85 <sup>ab</sup>	77.52 <sup>ab</sup>	84.35 <sup>a</sup>	87.09 <sup>a</sup>
	± 1.87	± 3.84	± 0.75	± 2.76	± 4.39	± 1.59
FCR (%) <sup>3</sup>	86.1 <sup>b</sup>	94.3 <sup>ab</sup>	90.2 <sup>ab</sup>	94.9 <sup>ab</sup>	100.4 <sup>a</sup>	103.8 <sup>a</sup>
	± 2.1	± 3.7	± 2.8	± 0.5	± 2.0	± 2.8
Hematocrit (%)	34.7 <sup>b</sup>	41.3 <sup>a</sup>	42.0 <sup>ab</sup>	41.4 <sup>a</sup>	41.3 <sup>a</sup>	42.3 <sup>a</sup>
	± 0.77	± 1.79	± 0.24	± 0.92	± 0.80	± 0.65
Hemoglobin (g/dl)	8.00 <sup>a</sup>	8.34 <sup>a</sup>	8.01 <sup>a</sup>	8.08 <sup>a</sup>	8.28 <sup>a</sup>	8.23 <sup>a</sup>
	± 0.23	± 0.26	± 0.31	± 0.23	± 0.17	± 0.14
CF <sup>4</sup>	1.79 <sup>a</sup>	1.84 <sup>a</sup>	1.80 <sup>a</sup>	1.80 <sup>a</sup>	1.81 <sup>a</sup>	1.81 <sup>a</sup>
	± 0.02	± 0.02	± 0.03	± 0.02	± 0.03	± 0.03

<sup>1</sup> Values are means ± sem from triplicate groups of fish the means in each row with a different superscript are significantly different (P<0.05).

<sup>2</sup> Percent weight gain : (final wt. - initial wt.)×100 / initial wt.

<sup>3</sup> Feed conversion ratio : (wet weight gain / feed intake)× 100

<sup>4</sup> Condition factor : (wet weight / total length<sup>3</sup>)×100

Table 4. Four different tissue concentrations of vitamin C (mg/kg) in Korean rockfish fed six different levels of vitamin C for 8 weeks<sup>1</sup>

	Diets						Pooled SEM <sup>2</sup>
	C <sub>0</sub>	C <sub>25</sub>	C <sub>50</sub>	C <sub>75</sub>	C <sub>150</sub>	C <sub>1500</sub>	
Muscle	4.84 <sup>c</sup>	10.70 <sup>bc</sup>	10.37 <sup>bc</sup>	12.36 <sup>bc</sup>	13.73 <sup>b</sup>	63.15 <sup>a</sup>	5.46
Liver	32.56 <sup>b</sup>	41.15 <sup>b</sup>	46.66 <sup>b</sup>	58.21 <sup>b</sup>	76.12 <sup>b</sup>	179.74 <sup>a</sup>	13.16
Gill	21.62 <sup>b</sup>	18.60 <sup>b</sup>	23.97 <sup>b</sup>	23.98 <sup>b</sup>	39.79 <sup>b</sup>	139.50 <sup>a</sup>	8.78
Brain	181.76 <sup>b</sup>	233.01 <sup>b</sup>	203.94 <sup>b</sup>	221.48 <sup>b</sup>	244.47 <sup>b</sup>	394.58 <sup>a</sup>	9.22

<sup>1</sup> Values are means from triplicate groups of fish, and the values in a row with different superscripts are significantly different (P<0.05).

<sup>2</sup> Pooled standard error of mean

Table 5. Whole body composition after 8 weeks (dry matter basis)<sup>1</sup>

	Diets						Pooled SEM <sup>2</sup>
	C <sub>0</sub>	C <sub>25</sub>	C <sub>50</sub>	C <sub>75</sub>	C <sub>150</sub>	C <sub>1500</sub>	
Protein	54.7	53.7	55.5	53.9	54.1	54.9	0.45
Lipid	26.5	27.3	24.9	25.4	25.3	25.6	0.63
Ash	12.3	12.2	12.5	12.0	13.7	12.2	0.24
Moisture	66.9	67.6	68.4	67.4	67.7	68.1	0.20

<sup>1</sup> Values are means from triplicate groups of fish and the values in a row with different superscripts are significantly different (P<0.05).

<sup>2</sup> Pooled standard error of mean

Hemoglobin과 비만도(CF)는 모든 실험구들에서 유의적인 차이를 보이지 않았고(P>0.05), 생존율 또한 모든 실험구에서 100%로 차이가 없었다.

조직내의 비타민 C 축적 결과는 Table 4에 나타내었다. 근육에 있어서의 비타민 C 축적은 대조구가 C<sub>150</sub>과 C<sub>1500</sub> 실험구함에 비해 유의적으로 낮게 나타났으며, 고농도 첨가구인 C<sub>1500</sub> 실험구가 C<sub>25</sub>~C<sub>150</sub> 실험구들에 비해 유의적으로 높게 나타났었다(P<0.05). 그러나 간, 아가미, 뇌에 있어서는 C<sub>1500</sub> 실험구에서만 유의적으로 높았으며(P<0.05), 대조구를 포함한 다른 실험구들에서는 유의적인 차이를 보이지 않았었다(P>0.05). 전이체 분석결과(Table 5)에서는 단백질, 지방, 수분 그리고 회분의 모든 경우에서 유의적인 차이를 보이지 않았었다(P>0.05).

## 논 의

예비사육기간 4 주동안 비타민 C 결핍사료를 공급한 후 8 주간에 걸친 여러 수준의 비타민

C 첨가사료에 따른 실험 결과는 대조구가 증중율과 사료전환효율 그리고 근육의 비타민 C 농도에서 C<sub>150</sub>과 C<sub>1500</sub> 실험구에 비하여 유의적으로 저조한 결과를 보였다. 이 결과, 조피볼락의 비타민 C 요구량은 대조구에 함유된 약 40 mg AA/kg 보다는 높으며, 150 mg AA/kg 정도면 충분할 것으로 추정할 수 있겠다. 무지개송어(Skelbaek et al., 1990)와 차넬메기(Lim and Lovell, 1978)의 8 주간 실험 결과, 비타민 C가 결핍된 사료를 먹인 실험구와 비타민 C가 첨가된 사료를 먹인 실험구간에 성장에 유의적인 차이가 없었다는 보고가 있었는데, 본 실험에서도 주사육 기간이 짧았던 것으로 생각된다.

또한, Hardie et al. (1991)은 대서양연어에서 비타민 C가 50 mg/kg 이상 첨가된 실험구간에는 성장 차이가 없었다고 보고한 바 있다. 그러나 지금까지의 많은 연구결과를 보면, 대부분의 어류는 비타민 C를 요구한다고 알려져 있다(Andrews and Murai, 1975; Lim and Lovell, 1978; Murai et al., 1978; Durve and Lovell, 1982; Li and Lovell, 1985; Soliman,

1985 ; Jauncey et al., 1985). 특히 Li and Lovell (1985)은 어린 차넬메기(실험시작 평균 무게 : 3 g)에서는 결핍증상 예방에 30 mg/kg, 최대성장에는 60 mg/kg의 비타민 C가 필요하지만, 조금 더 큰 어류(실험시작 평균무게 : 9.7 g)에서는 30 mg/kg이면 결핍증상 예방과 최적 성장에 충분한 양이라고 보고하였다.

본 실험의 성장결과는 현재까지 진행되어 온 조피볼락 사육실험들과 비교하여 대조구를 제외하고는 조피볼락에 있어서의 이전의 다른 성장 실험(李와 李, 1994)과 비교하여 큰 차이는 없었으므로 실험사료로써의 근본적인 문제는 제기 되지 않았다. 따라서 실험에 사용된 반정제사료는 조피볼락에 있어서의 비타민 C와 같은 미량 원소의 요구량 설정에 적절하다고 생각되며 앞으로 가능하다면 어분내의 비타민을 최소화 하는 방법을 제안하는 것이 중요할 것으로 사료된다.

어체조직내의 AA 농도는 그 어류의 비타민 C 영양상태를 나타내는데, 지금까지 간(liver)과 전신(anterior kidney)의 AA농도가 주로 사용되었다. Halver et al. (1975)은 어체조직내 비타민 C의 농도 중 전신의 AA농도를 중요시 하였고, Thompon et al. (1993)은 대서양연어에서 간과 신장의 AA농도를 사용하였다. 그러나 Lim and Lovell (1978)은 차넬메기에서 전신의 AA농도는 사료내 비타민 C 농도의 차이를 반영하지 못하고, 또한 그 양이 적고 전신을 분리해 내기 힘든점을 고려하여 비타민 C의 영양상태를 표시하는 중요한 지표로 간의 AA농도를 사용하였으며, 많은 연구자들(Murai et al., 1978 ; Hilton et al., 1977b ; Skelbaek et al., 1990 ; Hardie et al., 1991)에 의해 간의 AA 농도가 사료내 비타민 C 첨가농도와 서로 상관관계가 높다고 보고되었다.

본 실험의 각 조직내 비타민 C 분석결과, 네가지 조직 중 근육의 AA농도가 성장율과 사료효율의 결과와 가장 유사하게 사료내 비타민 C 농도를 잘 반영하였다. 따라서 근육내 비타민 C 농도가 4.8 mg/kg 이하이면 성장율, 사료효율 그리고

hematocrit에서의 결핍증상을 보일 수 있으며, 앞으로 조피볼락에 있어서 비타민 C의 영양상태를 표시하는 지표로는 근육이 손쉽게 이용될 수 있을 것으로 생각된다.

사료내에 비타민 C가 부족하면 여러가지 결핍 증상을 보이게 되는데 차넬메기(Andrew and Murai, 1975 ; Lim and Lovell, 1978 ; Murai et al., 1978 ; Wilson and Poe, 1973)에서는 성장감소, 척추만곡 그리고 질병에 대한 저항성 약화를, 연어와 무지개송어(Halver et al., 1969 ; Hilton et al., 1978 ; Tsujimura et al., 1978 ; Sato et al., 1983)에서는 척추만곡, 눈, 아가미, 지느러미의 기형현상, 복수병과 출혈성 안구등출 증상을 보였으며, 이와 유사한 결핍증상이 잉어(Agrawal and Mahaja, 1980), 틸라피아(Stickney et al., 1984 ; Soliman et al., 1986a, b), 방어(Sakaguchi et al., 1969)에서도 보고 되었다. 또한 이러한 결핍증상은 성어기 보다 어린 자어기에서 더 명백히 나타나기 때문에 어린 치어가 성어보다 비타민 C의 요구량이 많다는 보고가 있었다(Dabrowski et al., 1988 ; Dabrowski, 1990).

Skelbaek et al. (1990)은 무지개송어에서 부레의 팽창 및 내장의 염증과 출혈을 관찰하였고, 이러한 결핍증상을 보이는 간(liver)내의 비타민 C 농도는 37 ppm (range=25~68 ppm) 정도라고 보고하였다. Hilton et al. (1977b)은 무지개송어에서 빈혈증과 출혈이 16~20 주 사이에 보였는데, 이때 간내의 비타민 C 농도는 20 ppm 이하라고 보고하였으며, Lim and Lovell (1978)은 차넬메기에서는 간내의 비타민 C 농도가 30 ppm 이하가 되는 8~12 주 사이에 결핍증상을 보였다고 보고하기도 하였다. 대서양 연어에서는 간의 비타민 C 농도가 50 ppm 이하일 때 결핍증상을 보인다는 보고가 있었다(Lall et al., 1989). 그러나 Tompson et al. (1993)은 대서양연어에서 간과 신장에서의 비타민 C 농도가 50 ppm 이하일때도 척추만곡, 식욕감퇴 현상과 같은 결핍증상을 관찰하지 못했다고 보고하였는

데, 이러한 결과의 차이는 실험기간이나 어류의 크기 그리고 어종에 따라서 차이가 날 수 있다고 고찰하고 있다. 본 실험에서는 비타민 C 결핍 사료의 공급기간이 12 주였는데, 만약 조금 더 연장되었다면 간내의 비타민 C 농도가 다른 실험구에 비하여 유의적으로 감소하였을 가능성이 있다.

비타민 C 요구량과 결핍증상은 큰 어류에서보다 어린 치어기에 더 높고, 더 뚜렷이 잘 나타난다는 이전의 연구결과(Dabrowski et al., 1988 ; Dabrowski, 1990)로 미루어 보아, 본실험에서 병리적 결핍증상(척추만곡, 안구돌출 등)이 나타나지 않은 것은 평균 어체무게가 12 g 이상인 큰 치어를 사용하였고, 무엇보다도 실험기간이 짧았기 때문이라 여겨진다. 또한 Hilton et al. (1977 b)은 무지개송어에서 20 주간의 사육실험 결과, 간(liver)내의 비타민 C 농도가 20 mg/kg 이하일때 결핍증상을 관찰할 수 있었다고 보고한 것을 고려한다면 본실험에서 병리적 결핍증상이 나타나지 않은 것은 당연한 결과로서, 대서양연어에서 간의 축적이 50 mg/kg 이하일때 결핍증상을 찾지 못한 Tompson et al. (1993)의 연구결과와 일치하고 있다.

비타민 C는 열, 공기 그리고 빛에 매우 불안정하기 때문에 사료제조시에 약 30~40% 가량 파괴가 일어나며, 6주간의 실온 보관시에는 약 90% 가량 손실이 일어난다고 알려져 있으며(Steffens, 1989 ; Skelbaek et al., 1990), Hilton et al. (1977a)은 펠렛 제조과정의 차이가 비타민 C의 안정성에 큰 영향을 미친다고 보고하기도 하였다. 본실험에서는 사료제조 후 6개월간 -35℃에 냉동보관한 다음 비타민 C를 측정할 결과, 약 30%미만의 손실이 있었음을 알 수 있었다.

본 실험에서 실시한 4가지 조직에서의 비타민 C 축적농도 분석결과, 조피볼락에서 비타민 C를 가장 많이 축적하고 있는 조직은 근육이며, 단위 무게당 축적농도가 가장 높은 조직은 뇌로서 어류의 뇌가 비타민 C를 많이 소비한다고 추정할 수 있겠다. 이러한 사실은 티라피아(Al-Amoudi

et al., 1992)에서도 보고되었는데, 본 실험결과와 일치하고 있다.

따라서 본 실험결과, 조직내의 축적농도는 근육에서 4.8 mg/kg 이하이면 성장, 사료효율, hematocrit에서의 결핍증상을 발견할 수 있을 것으로 판단되며, 어체내에 비타민 C가 부족하게 되면 우선적으로 어류는 근육내의 비타민 C를 가장 빨리 소모하는 것으로 추측할 수 있겠다. 또한 평균 약 12 g 정도의 조피볼락 치어에 있어서 비타민 C 요구량은 40 mg AA/kg diet 이상이며, 150 mg AA/kg diet이면 충분할 것으로 판단된다. 그러나 어류의 크기, 사료제조 과정과 보관시의 손실, 사료공급시 물속에 누출되는 여러 조건을 감안한다면 이보다 많은 사료내 첨가량이 필요하다고 사료되며, 조피볼락에 있어서 비타민 C의 병리적 결핍증상을 정확히 파악하기 위해서는 장기간의 사육실험이 요구되고, 아울러 사료가공 과정등의 여러 단계에 있어서의 비타민 C 파괴 정도와 관련된 더 정확한 요구량 설정과 첨가량에 관한 실험이 필요하다고 생각된다.

## 요 약

본 실험은 조피볼락의 비타민 C 요구량 설정을 위한 실험모델과 실험사료를 개발하고 각 조직내의 비타민 C 축적량에 따른 영양특성 그리고 그에 따른 요구량을 제시하고자 실시되었다. 실험어는 실험시작 평균체중이 12.6 g인 조피볼락 치어를 사용하였으며, 6개 실험구로 나누어 3반복으로 비타민 C 첨가 농도를 달리한 6개의 반정제 실험사료를 공급하였다. 4주간의 예비사육(대조구사료 공급)후 8주간의 사육 실험을 실시하였으며, 6가지 실험사료의 비타민 C 농도는 다음과 같다; 0 (대조구), 25, 50, 75, 150 and 1500 mg L-ascorbic acid/kg diet (C<sub>0</sub>, C<sub>25</sub>, C<sub>30</sub>, C<sub>75</sub>, C<sub>150</sub>, and C<sub>1500</sub>).

증중율과 사료전환효율은 대조구사료를 공급한 실험구가 C<sub>150</sub>과 C<sub>1500</sub> 사료를 공급한 실험구보다 유의적으로 낮게 나타났다(P<0.05). Hematoc-

rit은 대조구사료를 공급한 실험구가 다른 실험구들에 비해 유의적으로 낮게 나타났다( $P < 0.05$ ). 근육 조직내의 비타민 C 농도는 대조구가 가장 낮아서  $C_{150}$ 과  $C_{1500}$  실험구와 유의차를 보였고, 고농도 첨가구인  $C_{1500}$  실험구가 다른 모든 실험구들에 비해서 유의적으로 높게 나타났다( $P < 0.05$ ). 그러나 간, 아가미, 뇌조직의 비타민 C 농도는  $C_{1500}$  실험구만 다른 실험구에 비해 유의적으로 높을뿐( $P < 0.05$ ), 다른 실험구들간에는 유의적인 차이를 보이지 않았다( $P > 0.05$ ).

따라서 조직내의 농도로는 근육에서 4.8 mg AA/kg 이하이면 성장, 사료효율, hematocrit에서의 결핍증상을 발견할 수 있을 것으로 판단되며, 사료내 비타민 C 요구량은 40 mg AA/kg diet 이상이고, 150 mg AA/kg diet이면 충분할 것으로 생각된다.

## 참 고 문 헌

- Agrawal, N. S. and C. L. Mahajan, 1980. Nutritional deficiency in an Indian major carp, *Cirrhina mrigala*, due to a vitaminosis C during early growth. *J. Fish Dis.*, 3 : 231-248.
- Al-Amoudi, M. M., A. M. N. El-Nakkadi and B. M. El-Nouman, 1992. Evaluation of optimum dietary requirement of vitamin C for the growth of *Oreochromis spilurus* fingerlings in water from the Red Sea. *Aquaculture*, 105 : 165-173.
- Andrews, J. W. and T. Murai, 1975. Studies on the vitamin requirements of channel catfish (*Ictalurus punctatus*). *J. Nutr.*, 105 : 557-561.
- Association of Official Analytical Chemists. 1995. Official Methods of Analysis, 16th edition. AOAC International, Arlington, VA.
- Bai, S. C. and D. M. Gatlin III. 1992. Dietary rutin has limited synergistic effects on vitamin C nutrition of fingerling channel catfish (*Ictalurus punctatus*). *Fish Physiol. Biochem.*, 10 : 183-188.
- Blazer, V. S., 1992. Nutrition and disease resistance in fish. *Annu. Rev. Fish Dis.*, 2 : 309-323.
- Brown, B. A., 1980. Routine hematology procedures. In *Hematology: Principles and Procedures*. pp. 71-112. Lea and Febiger, Philadelphia.
- Dabrowski, K., S. Hinterleitner, C. Sturmbauer, N. El-Fiky and W. Wisner, 1988. Do carp larvae require vitamin C? *Aquaculture*, 72 : 295-306.
- Dabrowski, K., 1990. Gulonolactone oxidase is missing in teleost fish. The direct spectrophotometric assay. *Chem. Hoppe-Seyler*, 371 : 207-214.
- Durve, V. S. and R. T. Lovell, 1982. Vitamin C and disease resistance in channel catfish (*Ictalurus punctatus*). *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 39 : 948-951.
- Folch, J., M. Lees and G. H. Sloane-Stanley. 1957. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J. Biol. Chem.*, 226 : 497-509.
- Halver, J. E., L. M. Ashley and R. R. Smith, 1969. Ascorbic acid requirements of coho salmon and rainbow trout. *Trans Am. Fish. Soc.*, 90 : 762-771.
- Halver, J. E., R. R. Smith, B. M. Tolbert and E. M. Baker, 1975. Utilisation of ascorbic acid in fish. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 258 : 81-102.
- Hamre, K. and O. Lie, 1995. Minimum requirement of vitamin E for Atlantic salmon, *Salmo salar* L., at first feeding. *Aquacult. Res.*, 26 : 175-184.
- Hardie, L. J., T. C. Fletcher and C. J. Secombes, 1991. The effect of dietary vitamin C on the immune response of the Atlantic salmon. *Aquaculture*, 95 : 201-214.
- Heikkila, R. E. and L. Manzano, 1987. Ascorbic acid, redox cycling, lipid peroxidation, and the binding of dopamine receptor antagonists. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 498 : 63-76.
- Hilton, J. W., C. Y. Cho and S. J. Slinger, 1977a. Factors affecting the stability of supplemental ascorbic acid in practical trout diets. *J. Fish. Res. Bd. Can.*, 34 : 683-687.
- Hilton, J. E., C. Y. Cho and S. J. Slinger, 1977b. Evaluation of ascorbic acid status of rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *J. Fish.*



- Res. Bd. Can., 35 : 431-436.
- Hilton, J. W., C. Y. Cho and S. J. Slinger. 1978. Effect of graded levels of supplemental ascorbic acid in practical diets fed to rainbow trout (*Salmo gairdneri*). J. Fish. Res. Bd. Can., 35 : 431-436.
- Hurst, J. K. and W. C. Barrette, 1989. Leukocytic oxygen activation and microbicidal oxidative toxins. Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol., 24 : 271-328.
- Jauncey, K., A. Soliman and R. J. Roberts, 1985. Ascorbic acid requirement in relation to wound healing in the cultured tilapia, *Oreochromis niloticus* (Trewavas). J. Fish. Manage, 16 : 139-149.
- Kitamura, S., T. Suwa, S. Ohara and K. Nakamura, 1965. Studies on vitamin requirements of rainbow trout, *Salmo gairdneri*. I. On the ascorbic acid. Bull. Jpn., Soc. Sci. Fish, 33 : 1120-1125.
- Lall, S. P., G. Olivier, D. E. M. Weerakoon and J. A. Hines, 1989. The effect of vitamin C deficiency and excess on immune response in Atlantic salmon (*Salmo salar L.*). In : M. Takeda and T. Watanabe (Editors), Proceedings of the Third interantional Symposium on Feeding and Nutrition in Fish. Distributed by Laboratory of Fish Nutrition, Tokyo University of Fisheries, Konai, Minato, Tokyo 108, pp.427-441.
- Li, Y and R. T. Lovell, 1985. Elevated levels of dietary ascorbic acid increase immune response in channel catfish. J. Nutr., 115 : 123-131.
- Lim, C. and R. T. Lovell, 1978. pathology of the vitamin C deficiency syndrome in channel catfish (*Ictalurus punctatus*). J. Nutr, 108 : 1137-1146.
- Mazik, P. M., T. M. Brandt, J. R. Tomasso, 1987. Effects of dietary vitamin C on growth, caudalfin development, and tolerance of aquaculture-related stressors in channel catfish. Prog. Fish-Cult., 49 : 13-16.
- Murai, T. and J. W. Andrews and J. C. Bauernefeind, 1978. Use of L-ascorbic acid, ethocel coated ascorbic acid and ascorbate 2-sulphate in diets for channel catfish (*Ictalurus punctatus*). J. Nutr., 108 : 1761-1766.
- NAS (National Academy of Sciences). 1973. Nutrient requirements of trout, salmon and catfish. NAS, Washington, D. C., 50 pp.
- National Research Council. 1993. Nutrient Requirements of Warmwater Fishes and Shellfishes. National Academy Press, Washington, D. C., 102 pp.
- Navarre, O. and J. E. Halver, 1989. Disease resistance and humoral antibody production in rainbow trout fed high levels of vitamin C. Aquaculture, 79 : 207-221.
- Niki E, 1987. Antioxidants in relation to lipid peroxidation. Chemistry and Physics of Lipids, 44 : 227-253.
- Paunsh, R. S. and J. C. Delafuente, 1985. Vitamins and immunocompetence. World Rev. Nutr. Diet, 45 : 97-123.
- Pickering, A. D. and T. G. Pottinger, 1985. Cortisol can increase the susceptibility of brown trout, *Salmo trutta L.*, to disease without reducing the white blood cell count. J. Fish Biol., 27 : 611-619.
- Poston, H. A. 1967. Effect of dietary L-ascorbic acid on immature brook trout. New York State Cons. Dept., Fish. Res. Bull., 30 : 46-51.
- Robertson, L., P. Thomas. C. R. Arnold and J. M. Trant, 1987. Plasma cortisol and secondary stress responses of red drum to handling, transport, rearing density, and a disease outbreak. Prog. Fish-Cult., 49 : 1-12.
- Sakaguchi, H., F. Takeda and K. Tange. 1969. Studies on vitamin requirements by yellow-tail. 1. Vitamin B<sub>6</sub> and C deficiency symptoms. Bull. Jpn. Soc. Sci., Fish 44 : 1029-1035.
- Sandel, L. J. and J. C. Daniel, 1988. Effect of ascorbic acid on collagen in RNA levels in short term chondrocyte cultures. Connect. Tissue Res., 17 : 11-22.
- Sato, M., T. Kondo, R. Yoshinake and S. Ikeda, 1983. Effect of water temperature on the skeletal deformity in ascorbic acid deficient rainbow trout. Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish., 49 : 443-446.
- Skelbaek, T., N. G. Andersen, M. Winning and S. Westergaard, 1990. Stability in Fish Feed and Bioavailability to Rainbow Trout of two Ascorbic Acid Forms. Aquaculture, 84 : 335-343.

- Soliman, A. K., K. Jauncey and R. H. Roberts, 1986a. The effect of varying forms of dietary ascorbic acid on the nutrition of juvenile tilapias (*Oreochromis niloticus*). *Aquaculture*, 52 : 1-10.
- Soliman, A. K., K. Jauncey and R. H. Roberts, 1986b. The effect of dietary ascorbic acid supplementation on hatchability, survival rate and fry performance in *Oreochromis mossambicus* (Peters). *Aquaculture*, 59 : 197-208.
- Soliman, A. K., 1985. Aspects of ascorbic acid (vitamin C) nutrition in *Oreochromis niloticus* and *O. mossambicus*. Ph. D. Thesis, Institute of Aquaculture, University of Stirling.
- Steffens, W. 1989. Principles of Fish Nutrition. Ellis Horwood, Chichester, 384 pp.
- Stickney, R. R., R. B. McGeachin, D. H. Lewis, J. Marks, R. Riggs, F. Sis, E. H. Robinson and W. Wurts, 1984. Response of *Tilapia aurea* to dietary vitamin C. *J. World Maricult. Soc.*, 15 : 179-185.
- Thomas, P. and J. M. Neff, 1984. Effects of a pollutant and other environmental variables on the ascorbic acid content of fish tissues. *Mar. Environ. Res.*, 14 : 489-491.
- Tompson, I., A. White, T. C. Fletcher, D. F. Houlihan and C. J. Secombes, 1993. The effect of stress on the immune response of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) fed diets containing different amounts of vitamin C. *Aquaculture*, 114 : 1-18.
- Tsujimura, M., H. Yoshikawa, T. Hasagawa, T. Suzuki, T. Kaisai, T. Suwa and S. Kitamura, 1978. Studies on the vitamin C activity of ascorbic acid 2-sulfate on the feeding test of new born rainbow trout. *Vitamins (Japan)* 52 : 35-44.
- Wahli, T., W. Meier and K. Pfister, 1986. Ascorbic acid induced immune-mediated decrease in mortality in *Ichthyophthirius multifiliis* infected rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Acta Trop.*, 43 : 287-289.
- Wilson, R. P., 1973. Absence of ascorbic acid synthesis in channel catfish, *Ictalurus punctatus* and blue catfish, *Ictalurus frucatus*. *Comp. Biochem. Physiol.*, 46B : 636-638.
- Wilson, R. P. and W. E. Poe, 1973. Impaired collagen formation in the scorbutic channel catfish. *J. Nutr.*, 103 : 1359-1367.
- 이상민 · 이종윤 · 강용진 · 허성범, 1993a. 사료의 n-3계 고도불포화지방산 함량에 따른 조피볼락 *Sebastes schlegeli*의 성장 및 생화학적 변화 I. 성장효과 및 체성분의 변화. *한국양식학회지*, 6 : 89-105.
- 이상민 · 이종윤 · 강용진 · 허성범, 1993b. 사료의 n-3계 고도불포화지방산 함량에 따른 조피볼락 *Sebastes schlegeli*의 성장 및 생화학적 변화 II. 혈액성분 변화 및 간세포 성장. *한국양식학회지*, 6 : 107-123.
- 이종윤 · 강용진 · 이상민 · 김인배, 1993c. 조피볼락 *Sebastes schlegeli* 사료의 적정 에너지/단백질 비. *한국양식학회지*, 6 : 29-46.
- 이종윤 · 강용진 · 이상민 · 김인배, 1993d. 조피볼락 *Sebastes schlegeli*의 단백질 요구량. *한국양식학회지*, 6 : 13-27.
- 이상민 · 이종윤, 1994. 사료의  $\beta$ -cellulose 함량이 조피볼락 *Sebastes schlegeli*의 성장, 사료 효율 및 체성분에 미치는 영향. *한국양식학회지*, 7 : 97-107.