

해양오염의 진단을 위한 생화학적 오염지표에 관한 연구

I. 황해산 넙치(*Paralichthys olivaceus*)의 지질성분의 변화

최진호[†] · 김동우 · 문영실 · 박청길* · 김재일** · 양동범***

부경대학교 식품생명과학과 생화학교실

*부경대학교 공과대학 환경공학과

**한림대학교 환경생명과학연구소

***한국해양연구소 해양화학연구부

Study on Biochemical Pollutant Markers for Diagnosis of Marine Pollution

I. Changes in Lipid Components of Flounder (*Paralichthys olivaceus*) in the Yellow Sea

Jin-Ho Choi[†], Dong-Woo Kim, Young-Sil Moon, Chung-Kil Park*, Jae-Il Kim**, Dong-Beom Yang***

Department of Food and Life Science, Pukyong National University

*Department of Environmental Engineering, Pukyong National University

**Institute of Environment & Life Science, Hallym University

***Korea Ocean Research and Development Institute

Abstract

For the recent years, considerable efforts have been made to rationalize the techniques of research and monitoring of biological effects of marine pollutants such as heavy metals, polychlorinated biphenyls (PCBs), organochlorine pesticides, polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs), organophosphorus pesticides. This study was designed as a part of efforts to investigate the biochemical pollutant markers for diagnosis of marine pollutions by the changes in lipid components of the flounder (*Paralichthys olivaceus*) in Yellow Sea of Korea.

Hemoglobin levels in serum of cultured and wild flounders in Yellow Sea were significantly lower (5-15% and 20-25%, respectively) than those of wild flounder in Pohang. Triglyceride (TG) contents in serum of cultured flounders in Yellow Sea were 10-40% higher than those of wild flounder in Pohang. Total and low density lipoprotein (LDL)-cholesterol contents in serum of flounders in Yellow Sea were significantly 10-15% and 30-35% (cultured), and 10-20% and 20-25% (wild), respectively, higher than those of wild flounder in Pohang. Atherogenic index (AI) and T-Chol/PL ratios in serum of cultured and wild flounders in Yellow Sea were significantly 20-45% and 10-15%, 6-35% and 15-35%, respectively, higher than those of wild flounder in Pohang. These results suggest that near-coastal waters as well as neritic waters of the Yellow Sea might be affected by pollutant input.

Key words : Flounder(*Paralichthys olivaceus*), heavy metals, organophosphorus and carbamate pesticides, Yellow Sea, triglyceride(TG), LDL and HDL-cholesterol

[†] Corresponding author

서 론

최근의 급속한 공업화에 따른 산업발전으로 인한 공업단지의 조성, 도시의 육상오수의 유입, 농약의 과다 사용, 그 밖에 양축 및 양식 등에 의한 해양 환경오염이 심화되어 해양오염에 따른 수산생물의 오염문제가 심각하게 대두되고 있다. 해수중의 오염물질로서 유해 중금속이나 PCB 등의 유기염소체 농약 및 방사능 물질 등은 수산생물에 영향을 미치거나 체내에 농축될 가능성이 점증되고 있다. 최근 남해안에서는 적조 현상으로 인한 넙치의 폐죽음과 유류의 유출사고로 심각한 피해를 입고 있고, 특히 서해안에서는 자정 능력이 약한 황해의 특성으로 인하여 해양의 오염상태가 크게 우려되고 있다. 따라서 어장이 황폐화 및 해양 생태계의 파괴 가능성성이 높아져서 수산생물의 안정적 확보가 크게 위협을 받고 있다.

해양 오염에 의한 해양 생태계의 파괴에 영향을 주는 인자는 무엇이며 해양의 오염연구에 있어서 적절한 오염지표로서 무엇을 삼을 것인가에 대한 많은 연구들이 진행되고 있다. 오염의 지표로 사용되기 위해서는 분석·측정이 용이하고 특정 오염물질에 대한 반응도가 크며, 또 대상을 원하는 해역에서 쉽게 포획할 수 있어야 한다. 현재 널리 연구되고 있는 것으로서는 아세틸콜린에스테라제(acetylcholinesterase : AChE)나 부틸릴콜린에스테라제(butyryl-cholinesterase : BChE), 그리고 메탈로치오네인(metallothionein), MFO(mixed function oxidase), 시토크롬 P-450 모노옥시게나아제(cytochrome P-450 monooxygenase) 등이 보고되어 있다¹⁻¹⁰⁾. AChE는 생화학적으로 가장 중요한 신경 전달물질인 아세틸콜린(acetylcholine)을 가수분해하는 효소로서 유기인제(organophosphorus pesticides) 또는 카아바메이트(carbamate)에 의해서 그 활성이 유의적으로 억제되기 때문에 해양오염의 지표로서 사용되어 왔다¹¹⁻¹⁶⁾.

본 연구는 해양오염의 진단을 위한 생화학적 오염지표 설정을 위한 기초연구로서, 황해산 넙치(*Paralichthys olivaceus*)의 혈액을 분리하여 해모글로빈(hemoglobin)의 함량을 측정하고 혈청을 분리하여 혈청중의 단백질 함량을 측정하고 지질성분으로서 중성지질(triglyceride : TG), 인지질(phospholipid : PL), 저밀도리포단백(low density lipoprotein : LDL) 및 고밀도리포단백(high density lipoprotein

: HDL) – 콜레스테롤의 함량을 평가하고 사람의 질병의 진단에 활용되는 동맥경화지수(atherogenic index)를 평가하며, 노화의 지표로 활용되는 인지질에 대한 콜레스테롤의 비(Chol/PL ratio) 등을 분석하여 오염도와의 관계를 비교·평가하고자 한다.

재료 및 방법

1. 넙치 시료

본 실험에 사용한 넙치 시료(*Paralichthys olivaceus*)는 Fig. 1에서 보는 바와 같이 시험군은 서해안의 서산(Sosan), 보령(Poryong), 부안(Puan), 영광(Yonggwang)에서 채집한 양식산 넙치(체장 22.5–31.0cm, 체중 350–550g)과 영광(Yonggwang), 격포(Kyongpo)에서 채집한 자연산 넙치(체장 32.5–36.5cm, 체중 600–800g)을, 그리고 대조군은 오염도가 비교적 적은 동해안의 포항(Pohang)에서 채집한 자연산 넙치(체장 24.5–32.0cm, 체중 370–650g)을 각각 1995년 5월~7월사이에 7마리씩 구입하여 사용하였다.



Fig. 1. Sampling stations of the flounders in May-July 1995.

2. 시료 및 조직의 분획

1) 혈액의 채취 및 분리

혈액은 채취하기전 12시간 절식시킨 상태에서 마취제

(benzocaine : 4-aminobenzoic acid ethylester)를 에탄올에 용해하여 마취시킨 다음, 넙치의 꼬리부분(尾部)에서 5cm지점의 등뼈밑 동맥에서 일회용 주사기로 채혈하였다. 채혈한 혈액은 실온에 일정시간 방치한 후 700×g에서 10분간 원심분리하여 상층액을 항응고제(sodium heparin, 100,000 units)을 혈액 1ml당 0.05ml 처리한 CBC법(complete blood cell count, 녹십자사)에 넣어 -70°C에 동결·보존하면서 분석에 사용하였다.

2) 뇌 및 근육조직의 분획

뇌 및 근육의 일정량을 분취하여 완충용액(1.15% KCl/10 mM phosphate buffer+5mM EDTA, pH 7.4)에 넣어 -70°C에 동결 보존하였다. 이들 조직 획분은 Galgani 등(1992)의 방법⁶⁾으로 분획하였다. 즉 각 조직 1g씩을 분취한 다음, 균질 인산완충용액(0.1M TRIS buffer, pH 8.0)에 2배량의 완충용액으로 1분간 균질화한 다음, 10,000×g에서 20분간 원심분리하였다. 이 때 잔사는 버리고 상층액을 사용하였다.

3. 단백질 함량의 측정

혈청 및 조직획분의 단백질 함량은 Lowry 등(1951)의 방법¹⁷⁾에 따라 표준 단백질로서 BSA(bovine serum albumin)를 사용하여 분광광도계를 사용하여 525nm에서 흡광도를 측정하여 표준검량선에 의하여 단백질의 함량을 정량하였다.

4. 헤모글로빈 함량의 측정

혈액중의 헤모글로빈의 함량은 헤모글로빈 측정용 커트시약(Sigma, Co.)을 사용하여 CMG법(cyammethemoglobin)에 의해 측정하였다. 먼저 시험관에 Drabkin's용액을 각 시험관에 5ml씩 넣은 다음, 탈이온수 및 혈액 20μl을 각각 첨가한 후, 15분간 실온에서 방치하였다. 헤모글로빈 커트시약의 표준용액은 CMG 표준용액을 0, 2, 4, 6ml을 각각 시험관에 넣고 Darbkin's용액을 반대로 6, 4, 2, 0ml을 첨가한 후, 혈액과 같이 15분간 실온에 방치하였다. 이 때 혈액 헤모글로빈의 함량은 0, 6, 12, 18(g/dl)가 된다. 그 후 헤모글로빈 커트시약의 표준용액과 혈액을 Drabkin's용액을 대조군으로 하여 540nm에서 흡광도를 측정하여 표준 검량선에 의하여 헤모글로빈의 함량을 정량하였다.

5. 중성 및 인지질의 측정

혈청중의 중성지질로서 트리글리세리드(triglyceride :

TG)의 함량은 TG컷트시약(Sigma, Co.)을 사용하였다. 먼저 혈청 10μl, 표준용액(300mg/dl) 10μl와 대조(blank)로서 탈이온수 10μl에 TG컷트시약 1.0ml씩을 첨가하여 잘 혼합한 후 37°C 수조상에서 5분간 반응하여, 540nm에서 흡광도를 측정하여 다음 식에 따라 트리글리세리드(TG)의 함량을 정량하였다.

또한 인지질(phospholipid : PL)의 함량은 Ames(1966)의 방법¹⁸⁾에 따라 무기인을 정량하고, 여기에 12.5를 곱하여 인지질의 함량으로 계산하였다. 인지질에 대한 콜레스테롤 함량의 비(Ch/PL molar ratio)는 Calderini 등(1983)의 방법¹⁹⁾에 따라 계산하였다.

$$\text{TG의 함량(mg/dl)} = (\text{검체의 흡광도}/\text{표준용액의 흡광도}) \times 300^*$$

*트리글리세리드(TG) 표준용액의 농도

6. 콜레스테롤 함량의 측정

1) 총콜레스테롤 함량

혈청중의 총콜레스테롤 함량은 Rudel 등(1973)의 방법²⁰⁾에 따라 o-phthalaldehyde법으로 측정하였다.

2) 리포단백-콜레스테롤 함량

혈청중의 저밀도리포단백(low density lipoprotein : LDL) 및 고단백리포단백(high density lipoprotein : HDL)-콜레스테롤의 함량 측정은 LDL-콜레스테롤(BLF Eiken Co.) 및 HDL-콜레스테롤(HDL-555 Eiken Co.) 측정용 커트시약을 사용하여 측정하였다. 먼저 LDL-콜레스테롤의 함량은 혈청 0.1ml, 표준혈청 0.1ml를 시험관에 넣고, 여기에 BLF컷트시약 I, II, III을 각각 4.0ml씩 넣어 5초간 잘 혼합한 다음, 실온에서 25분간 방치후 10분 이내에 종류수를 대조로 하여 650nm에서 흡광도를 측정하여 다음 식에 따라 LDL-콜레스테롤의 함량을 정량하였다.

$$\text{LDL-콜레스테롤(mg/dl)} = \text{O.D I} - \text{O.D II}/\text{O.D A} - \text{O.D B} \times \text{표준 혈청농도(LDL+VLDL)}**$$

*표준혈청에 BLF컷트시약 I, II을 섞은 후 흡광도를 측정후 나타난 O.D치를 표시함. I = O.D A III = O.D B

** *의 수치를 사용, 표준 검량곡선에 의거 계산

한편 HDL-콜레스테롤의 함량도 혈청 0.3ml를 시험관에 넣고 여기서 침전시약 0.3ml를 넣어 잘 혼합한 다음, 실온에서 10분간 방치한 후 700×g에서 10분간 원심분리

하였다. 그 후 상층액 50μl, 표준용액(100mg/dl) 50μl, 대조로서 중류수 50μl에 HDL발색시약 3.0ml씩을 첨가하고 잘 섞은 후, 37°C 항온 수조상에서 5분간 가온하여 555 nm에서 흡광도를 측정하여 다음 식에 따라 HDL-콜레스테롤의 함량을 정량하였다.

$$\text{HDL-콜레스테롤(mg/dl serum)} = (\text{시료의 흡광도}/\text{표준용액의 흡광도}) \times 100^*$$

*HDL-콜레스테롤 표준용액의 농도

7. 동맥경화지수(AI)의 계산

동맥경화지수(atherogenic index ; AI)는 Haglund 등(1991)의 방법²¹⁾에 따라 다음 식에 따라 계산하였다. 총 콜레스테롤의 함량에서 HDL-콜레스테롤의 함량을 제하고, 이 값을 HDL-콜레스테롤의 함량으로 나눈 값을 동맥경화지수로 하였다.

$$\text{동맥경화지수(AI)} = (\text{T. cholesterol-HDL-cholesterol})/\text{HDL-cholesterol}$$

8. 분석결과의 통계처리

모든 실험결과는 통계 처리하여 평균치와 표준편차를 계산하였고, 각 군간의 유의성 검정은 Student's t-test (Steel 등, 1960)²²⁾로 실시하였다.

결과 및 고찰

1. 혈모글로빈 함량의 비교

혈액은 영양소나 산소의 운반 및 노폐물과 탄산가스의 배설 등에 중요한 역할을 하고 있다. 혈액의 주성분인 혈모글로빈(hemoglobin)은 혈색소로서 매우 중요한 역할을 담당하고 있다. 따라서 혈액중의 혈모글로빈의 함량에 미치는 해양오염의 영향을 평가하기 위하여 비교적 오염도가 낮은 동해안 포항의 자연산 넙치를 대조군으로 하여 서해안의 양식 및 자연산 넙치의 혈액중의 혈모글로빈의 함량을 분석 비교하여 보았다(Fig. 2).

Fig. 2에서 보는 바와 같이 서해안의 영광, 격포 등의 자연산 넙치의 혈액중의 혈모글로빈의 함량이 대조군인 포항산 자연산 넙치의 혈액중의 혈모글로빈의 함량에 비해 유의적으로 낮았다. 부안 양식장을 제외하고 서해안의 양식산 넙치의 혈액중의 혈모글로빈의 함량($3.78 \pm 0.94 - 4.19 \pm 0.72$ g/dl serum) 및 자연산 넙치의 혈액중의 혈모글로빈

의 함량($3.21 \pm 0.23 - 3.45 \pm 0.41$ g/dl serum)이 대조군으로 사용한 동해안 포항의 자연산 넙치의 혈액중의 혈모글로빈의 함량(4.34 ± 0.58 g/dl serum ; 100%) 대비 양식산 넙치는 5-15%, 자연산 넙치는 20-25%의 감소로 나타났다.

서해안의 보령, 부안, 서산, 영광 등의 양식산의 혈모글로빈의 함량사이에 큰 차이가 없다는 것은 육지에서 가까운 연안해역의 육상하수에 의한 오염이외에도 균해역의 오염도 문제가 될 수 있다는 사실을 알 수 있다. 한편 포항의 자연산의 혈모글로빈의 파괴가 없는 것은 그만큼 동해의 균해역이 오염되어 있지 않다는 사실을 알 수 있다.

또한 서해안(영광, 격포)의 자연산 넙치의 혈액중의 혈모글로빈의 함량이 동해안(포항)의 자연산 넙치의 혈액중의 혈모글로빈의 함량보다 유의적으로 낮다는 사실은 사료보다는 균해역의 해양오염에 기인하는 바가 클 것으로 판단된다. 그러므로 이 문제는 모델실험을 통해서 구명할 필요가 있다고 판단된다.

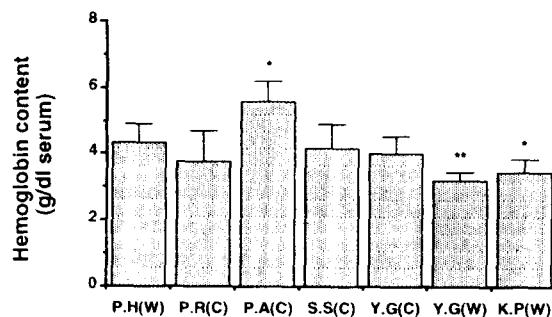


Fig. 2. Comparisons of hemoglobin levels in serum of cultured and wild flounders in May-July 1995.

*p<0.05 ; **p<0.01 compared with wild flounder in Pohang.

2. 중성지질 함량의 비교

혈청중의 중성지질로서 트리글리세리드(triglyceride : TG)의 함량은 생체내의 대표적인 지질성분로서 스쿠아렌이나 콜레스테롤의 합성의 원료로서, 그리고 성인병의 하나로 알려진 고지혈증의 원인으로서 작용하고 있기 때문에 혈청중의 트리글리세리드(TG)의 함량은 중요한 의미를 갖고 있다. 오염도가 비교적 낮은 동해안의 포항의 자연산 넙치를 대조군으로 하여 서해안의 양식 및 자연산 넙치의 혈청중의 트리

글리세리드(TG)의 함량을 비교하여 보면 Fig. 3과 같다.

Fig. 3에서 보는 바와 같이 동해안의 포항산 넘치의 TG 함량에 비해 서해안의 부안, 서산, 영광 등의 양식산 넘치의 혈액중의 TG의 함량이 유의적($p<0.01-0.001$)으로 높았을 뿐만 아니라 이들 양식산 넘치의 TG의 함량은 서해안의 격포나 영광 등의 자연산 넘치의 TG의 함량보다 역시 유의적으로 높았다. 서해안의 양식산 넘치의 혈청중의 TG의 함량 ($285.80 \pm 36.10 - 363.70 \pm 33.90 \text{mg/dl serum}$)은 대조군으로 사용한 동해안 포항의 자연산 넘치의 혈청중의 TG의 함량 ($265.30 \pm 21.47 \text{mg/dl serum} ; 100\%$) 대비 $10-40\%$ 나 높았지만, 자연산 넘치의 TG의 함량은 대조군 대비 유의적인 변화가 없었다. 결국 양식산 넘치의 TG의 함량이 자연산 넘치의 TG의 함량에 비해 유의적으로 높다는 사실은 중성지질(TG)의 축적은 해양의 오염보다는 사료의 과량 투여에 그 원인이 있을 것으로 판단된다.

연안에 관계없이 양식산 넘치의 TG의 함량이 자연산 넘치의 TG의 함량보다 유의적으로 높다는 사실은 양식산의 사료의 과량 투여뿐만 아니라 운동량의 절대적인 부족 때문으로 생각된다. 따라서 사료의 적정량 투여와 인공적인 수류(水流)를 통하여 운동량을 증가시키는 것이 중성지질의 체내 축적을 예방할 수 있을 뿐만 아니라 식미(食味)와 관계되는 육질의 개선에도 크게 기여할 수 있을 것으로 판단된다. 이미 저자 등(1993)은 나카사기대학 수산학부(榎本六良 教授팀)와의 공동연구로 양식 어류의 운동량 부하에 의한 육질개선 연구를 수행한 바 있다.

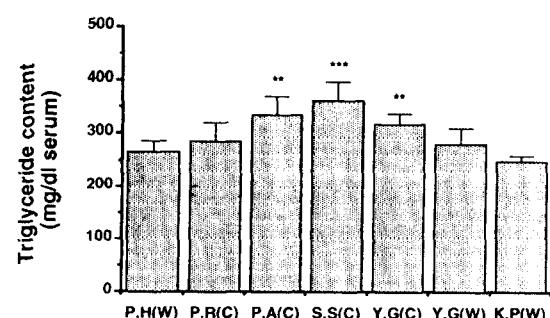


Fig. 3. Comparisons of triglyceride (TG) contents in serum of cultured and wild flounders in May-July 1995.

** $p<0.01$; *** $p<0.001$ compared with wild flounder in Pohang.

3. 콜레스테롤의 함량 변화

어패류는 계절에 따라 콜레스테롤의 함량에 차이가 있을 뿐만 아니라 붉은살 생선은 흰살 생선보다 콜레스테롤의 함량이 높고, 겹질은 근육보다 상당히 높은 양의 콜레스테롤을 함유하고 있는 것으로 알려져 있다. 이처럼 콜레스테롤은 계절에 따라, 그리고 조직의 부위에 따라 콜레스테롤의 필요량이 다르기 때문에 판단된다. 따라서 오염도가 비교적 적은 동해안의 포항의 자연산 넘치를 대조군으로 하여 서해안의 양식 및 자연산 넘치의 혈청중의 총콜레스테롤, LDL 및 HDL-콜레스테롤의 함량, 그리고 동맥경화 지수(atherogenic index)를 비교하여 보면 Table 1과 같다.

서해안의 양식산 넘치의 혈청중의 총콜레스테롤의 함량 ($345.3 \pm 20.4 - 395.4 \pm 42.2 \text{mg/dl serum}$) 및 자연산 넘치의 혈청중의 총콜레스테롤의 함량 ($414.0 \pm 16.1 - 424.0 \pm 35.9 \text{mg/dl serum}$)이 대조군으로 사용한 동해안 포항의 자연산 넘치의 혈청중의 총콜레스테롤의 함량 ($305.9 \pm 35.2 \text{mg/dl serum} ; 100\%$) 대비 양식산 넘치는 $112.9 - 114.6\%$, 자연산 넘치는 $135.3 - 138.6\%$ 로서 양식산은 약 15% , 자연산은 약 35% 정도나 총콜레스테롤의 함량이 높다는 사실을 알 수 있었다.

특히 서해안의 영광 및 격포의 자연산 넘치 및 부안 및 보령의 양식산 넘치의 총콜레스테롤의 함량은 포항의 자연산 넘치의 총콜레스테롤의 함량에 비해 유의적으로 높았다 ($p<0.05 - 0.01$). 이러한 결과에서 볼 때 서해안 양식 및 자연산 넘치의 총콜레스테롤의 함량이 높은가 하는 문제는 해양오염이나 사료, 및 운동 등의 서식환경과 밀접한 관계가 있을 것으로 판단된다.

한편 혈청중의 콜레스테롤중에서 사람을 포함한 포유동물의 성인병의 발병인자로 알려진 저밀도리포단백(LDL)-콜레스테롤의 함량 변화에 미치는 해양오염의 영향을 평가하기 위하여 비교적 오염도가 낮은 동해안 포항의 자연산 넘치를 대조군으로 하여 서해안의 양식 및 자연산 넘치의 혈청중의 LDL-콜레스테롤의 함량을 분석·비교하여 보았다. 서해안의 양식산 넘치의 혈청중의 LDL-콜레스테롤의 함량 ($260.5 \pm 35.5 - 292.0 \pm 29.1 \text{mg/dl serum}$) 및 자연산 넘치의 혈청중의 LDL-콜레스테롤의 함량 ($296.7 \pm 27.7 - 305.5 \pm 41.1 \text{mg/dl serum}$)이 대조군으로 사용한 동해안 포항의 자연산 넘치의 혈청중의 LDL-콜레스테롤의 함량 ($240.5 \pm 30.2 \text{mg/dl serum} ; 100\%$) 대비 서해의 양식

Table 1. Comparisons of Total, LDL, HDL-cholesterol contents and atherogenic index in serum of cultured and wild flounders in May-July 1995

Stations (Area)	Total cholesterol (mg/dl serum)	LDL-cholesterol (mg/dl serum)	HDL-cholesterol (mg/dl serum)	Atherogenic index
East Sea				
Pohang(W)	305.9±35.2 100.0%	240.5±30.2 100.0%	35.52±4.54 100.0%	7.61±1.24 100.0%
West Sea				
Poryoung(C)	350.0±40.9* 114.6 %	291.0±20.5* 121.0 %	29.47±2.10 83.0 %	10.89±2.11** 143.1 %
Puan(C)	395.4±42.2** 129.3 %	292.0±29.1* 121.4 %	32.52±1.71 91.6 %	11.16±2.10** 146.7 %
Sousan(C)	345.3±20.4 112.9 %	265.5±30.2 110.4 %	33.73±2.34 95.0 %	9.24±1.95* 121.4 %
Yonggwang(C)	347.0±39.5 113.4 %	260.5±35.3 108.3 %	32.00±3.12 90.1 %	9.84±2.10* 129.3 %
Yonggwang(W)	414.0±16.1*** 135.3 %	296.7±27.1* 123.4 %	41.96±4.12* 118.0 %	8.87±1.71 116.6 %
Kyogpo(W)	424.0±35.9*** 138.6 %	305.5±41.1* 127.0 %	45.52±4.54** 128.2 %	8.31±1.41 109.2 %

C : cultured flounder ; W : wild flounder

*p<0.05 ; **p<0.01 ; ***p<0.001 compared with wild flounder in Pohang.

산 넙치는 108.3~121.4%, 자연산 넙치는 123.4~127.0%로서 양식산은 10~20%, 자연산은 약 25% 정도나 LDL-콜레스테롤의 함량이 높다는 사실을 알 수 있었다.

이상의 총콜레스테롤 및 LDL-콜레스테롤의 함량의 결과에서 비교 평가하여 볼 때 대조군으로 사용한 동해안 넙치보다 서해안의 양식 및 자연산 넙치의 서식환경에 문제가 있다는 사실을 알 수 있다. 특히 서해안의 양식산 넙치보다 자연산 넙치의 총콜레스테롤 및 LDL-콜레스테롤의 함량이 훨씬 높다는 사실은 균해역의 오염이 문제될 가능성은 배제할 수 없다.

한편 인체내에서 항콜레스테롤 인자(anti-cholesterol factor) 또는 장수인자(longevity factor)로 알려진 HDL-콜레스테롤의 함량을 비교하여 보면(Table 1) 서해안의 양식산 넙치에 비해 대조군으로 사용된 포항의 자연산 넙치, 그리고 영광 및 격포의 서해의 자연산 넙치의 혈액

중의 HDL-콜레스테롤의 함량이 유의적으로 높다는 사실을 알 수 있었다($p<0.05-0.01$). HDL-콜레스테롤은 운동(exercise)이나 어류 단백질(fish protein) 및 섬유질(fiber)의 섭취에 의해서 주로 증가되는 것으로 알려져 있기 때문에 자연산 넙치가 운동량이 상대적으로 많을 뿐만 아니라 해초나 먹이사슬에 의한 적은 생선을 먹이로 사용하고 있기 때문으로 판단된다.

4. 동맥경화지수의 비교

사람을 포함한 포유동물의 성인병증에서 초기증상으로 알려진 동맥경화증의 발병지표로 알려진 동맥경화지수(atherogenic index : AI)에 미치는 해양오염의 영향을 평가하기 위하여 비교적 오염도가 낮은 동해안 포항의 자연산 넙치를 대조군으로 하여 서해안의 양식 및 자연산 넙치의 동맥경화지수(AI)를 분석·비교하여 보면 Table 1과 같다.

Table 1에서 보는 바와 같이 서해안의 양식산 넙치의 동맥경화지수($9.24\pm1.95-11.16\pm2.10$) 및 자연산 넙

치의 동맥경화지수($8.31 \pm 1.41 - 8.87 \pm 1.71$)는 대조군으로 사용한 포항의 자연산 넙치의 동맥경화지수($7.61 \pm 2.11 ; 100\%$) 대비 양식산 넙치는 $121.4 - 146.7\%$, 자연산 넙치는 $109.2 - 116.6\%$ 로서 서해안의 양식산 넙치는 거의 병적상태라고 말할 수 있다($p < 0.05 - 0.01$). 그렇지만, 자연산 넙치도 매우 우려된다고 말할 수 있다.

5. 인지질에 대한 콜레스테롤비의 비교

병적 상태나 노화과정중에 증가하는 것으로 알려진 인지질에 대한 총콜레스테롤의 함량비(T-Chol/PL ratio)를 서식조건에 따른 넙치에 적용시켜 보기로 하겠다. 서해 및 동해 등 해역별, 또는 양식산 및 자연산에 따른 인지질의 함량사이에는 뚜렷한 차이를 발견할 수 없었다. 그러나 병적 상태나 노화와 관련이 있는 인지질에 대한 콜레스테롤의 함량비(T-Chol/PL ratio)를 비교하여 보면 Table 2와 같다.

서해안의 양식산 넙치의 T-Chol/PL비($3.4 \pm 0.4 - 4.3 \pm 0.4$) 및 자연산 넙치의 T-Chol/PL비($3.7 \pm 0.4 - 4.3 \pm 0.3$)는 대조군으로 사용하는 동해안의 포항산 넙치의 T-Chol/PL비($3.2 \pm 0.3 : 100\%$) 대비 양식산 넙치는 $6 - 35\%$, 자연산 넙치는 $15 - 35\%$ 나 증가되어 서해안 넙치의 서식환경에 상당한 문제가 있을 것으로 판단된다. 따라서 육상의 오수 및 농약 등, 또는 축사의 폐수 등에 의한 육지가까운 연안해역의 오염 뿐만 아니라 균해역의 오염 가능성도 있을 것으로 판단된다.

요약

해양오염의 진단을 위한 생화학적 오염지표 설정의 기초 연구의 일환으로, 오염이 심각한 서해(또는 황해)산 넙치 (*Paralichthys olivaceus*)의 혈액의 지질성분을 분석 평가하였다. 서해안의 양식 및 자연산 넙치의 혈액중의 혼모글로빈의 함량은 동해안 포항의 자연산 넙치 대비 각각 5-15% 및 20-25%의 감소현상이 나타나서 서해안의 내해(内海) 및 외해(外海)의 오염이 심각함을 알 수 있었다. 서해안의 양식산 넙치의 혈청중의 중성지질(TG)의 함량도 포항의 자연산 넙치의 혈청중의 TG의 함량 대비 10-40%나 유의적으로 높았다.

서해안의 양식 및 자연산 넙치의 혈청중의 총콜레스테롤의 함량은 포항의 자연산 넙치의 혈청중의 총콜레스테롤의 함량 대비 양식산 넙치는 각각 10-15% 및 30-35%나 높았고, 서해안의 양식 및 자연산 넙치의 혈청중의 LDL-콜레스테롤의 함량도 각각 10-20% 및 20-25%나 높았다. 또한 포항의 자연산 넙치, 그리고 영광 및 격포의 서해안의 자연산 넙치의 혈액중의 HDL-콜레스테롤의 함량이 서해안의 양식산 넙치에 비해 유의적으로 높았다. 자연산 넙치의 HDL-콜레스테롤의 증가는 운동이나 어류 단백질(fish protein) 및 섬유질(fiber)의 섭취에 의해서 주로 증가되는 것으로 알려져 있기 때문에 자연산 넙치가 운동량이 상대적으로 많을 뿐만 아니라 해초나 먹이사슬에 의

Table 2. Comparisons of Total cholesterol and phospholipid contents, and T-Chol/PL ratio in serum of cultured and wild flounders in May-July 1995

Stations (Area)	Total cholesterol(T-Chol) (mg/dl serum)	Phospholipid(PL) (mg/dl serum)	T-Chol/PL ratio
East Sea			
Pohang(W)	305.9 ± 35.2	100.0%	95.3 ± 12.4
West Sea			
Poryoung(C)	$350.5 \pm 40.9^*$	114.6%	91.9 ± 10.2
Puan(C)	$395.4 \pm 42.2^{**}$	129.3%	92.0 ± 6.0
Sousan(C)	345.3 ± 20.4	112.9%	97.4 ± 7.6
Yonggwang(C)	347.0 ± 39.5	113.4%	101.5 ± 10.1
Yonggwang(W)	$414.0 \pm 16.1^{***}$	135.3%	95.5 ± 6.1
Kyoughpo(W)	$424.0 \pm 35.9^{***}$	138.6%	$115.1 \pm 5.9^*$

C : cultured flounder ; W : wild flounder

* $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$ compared with wild flounder in Pohang.

한 적은 생선을 먹이로 사용하고 있기 때문으로 판단된다. 또한 서해안의 양식 및 자연산 넙치의 동맥경화지수도 포함의 자연산 넙치의 동맥경화지수 대비 각각 20~45% 및 10~15%나 높아서 서해안의 양식산 넙치는 말할 필요도 없고 자연산 넙치도 거의 병적상태로 오염의 정도가 매우 심각한 것으로 판단된다. 질병이나 노화와 함께 증가되는 것으로 알려진 인지질에 대한 총콜레스테롤의 함량비 (T-Chol/PL ratio)는 서해안의 양식 및 자연산 넙치의 T-Chol/PL비가 포함의 자연산 넙치 대비 각각 6~35% 및 15~35%나 높아서 서해안 넙치의 서식환경에 상당한 문제가 있을 것으로 판단된다. 서해안의 넙치를 비롯한 양식장의 수질환경은 육상오수의 유입, 농약 등의 오염원에 노출되어 있어서 양식장으로서의 환경이 점차 훼손되고 있다고 볼 수 있다. 정부에서는 정화되지 않는 육상오수의 유입 방지, 수질의 여과방법의 개발 등을 포함한 양식장의 서식환경 개선에 적극 나서야 할 단계가 왔다고 판단된다.

참 고 문 헌

- Ellman, G. L., Courtney, K. O., Andres, V. and Featherstone, R. M. : A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochem. Pharmacol.*, 7, 88~95(1961).
- Bocquéné, G. and Galgani, F. : Acetylcholinesterase activity in the common prawn (*Palaemon serratus*) contaminated by carbaryl and phosalone : choice of a method for detection of effects. *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, 22, 337~345(1991).
- Galgani, F. and Bocquéné, G. : In vitro inhibition of acetylcholinesterase from four marine species by organophosphates and carbamates. *Bull. Environ. Contamin. Toxicol.*, 45, 243~249(1990).
- Galgani, F. and Bocquéné, G. : Semi-automated colorimetric and enzymatic measurements in aquatic organisms using a plate reader. *Wat. Res.*, 25(2), 147~150(1991).
- Galgani, F. : Monitoring of pollutant biochemical effects on marine organisms of the french coasts. *Oceanologica Acta*, 15(4), 355~36(1992).
- Galgani, F., Bocquéné, G. and Cadiou, Y. : Evidence of variation of cholinesterase activity in fishes along a pollution gradient in the North Sea. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 19, (1992).
- Viarengo, A. : Biochemical effects of trace metals. *Mar. Pollut. Bull.*, 16(4), 153~158(1985).
- Olson, P. E. and Hogstrand, C. : Subcellular distribution and binding of cadmium to metallothionein in tissues of rainbow trout. *Environ. Toxicol. Chem.*, 6, 867~874(1987).
- Watanabe, S. T., Shimada, T., Nakamura, S., Nishiyama, N., Yamashita, N., Tanabe, S. and Tatsukawa, R. : Specific profile of liver microsomal cytochrome P-450 in dolphin and whales. *Mar. Env. Res.*, 27, 51~65(1989).
- Safe, S. : Polychlorinated biphenyls (PCBs), and related compounds : Environmental and mechanistic considerations which support the development of toxic equivalency factors (TEFs). *Crit. Rev. Toxicol.*, 21, 51~88(1990).
- Weiss, C. M. and Gakstatter, J. H. : Detection of pesticides in water by biochemical assay. *J. WPCF*, 36 (2), 240~252(1964).
- Holland, H. T., Coppage, D. R. and Imada, N. : Use of fish brain acetylcholinesterase to monitor pollution by organophosphorus pesticides. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 2(3), 156~162(1967).
- Galgani, F. and Bocquéné, G. : A method for routine detection of organophosphorus and carbamates in sea water. *Environ. Technol. Lett.*, 10, 311~322 (1988).
- Stein, J. E., Collier, T. K., Reichert, W. L., Casillas, E., Horn, T. and Varanas, U. : Bioindicators of contaminant exposure and sublethal effects in benthic fish from Puget Sound, Washington. *Mar. Env. Res.*, 35, 95~100(1993).
- Collier, T. K. and Varanas, U. : Xenobiotic metabolizing enzymes in two species of benthic fish showing different prevalences of hepatic neoplasms in Puget Sound, Washington. *Mar. Env. Res.*, 24, 113~114 (1988).
- Grzebyk, D. and Galgani, F. : Measurement of organic pollution on marine organism : Rapid determination of EROD induction using plate readers. *Aquat. Liv. Resour.*, 4, 53~59(1991).
- Lowry, O. H., Roseborough, N. J., Farr, L. A. and Randall : Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, 193, 265~275(1951).
- Ames, B. N. : Assay of inorganic phosphate, total phosphate and phosphatases. *Analytical Methods*, 8, 115~118(1966).
- Calderini, G., Bonetti, A. C., Battistella, A., Crews, F. T. and Toffano, G. : Biochemical changes of rat brain membranes with aging. *Neurochemical Research*, 8(4), 483~492(1983).

해양오염의 진단을 위한 생화학적 오염지표에 관한 연구

20. Rudel, L. L. and Morris, M. D. : Determination of cholesterol using o-phthaldehyde. *J. Lipid. Res.*, 14, 364-366(1973).
21. Haglund, O., Luostarinen, R., Wallin, R., Wibell, L. and Saldeen, T. : The effects of fish oil on triglyceride, cholesterol, fibrinogen and malondialdehyde in humans supplemented with vitamin E. *J. Nutr.*, 121, 165-169(1991).
22. Steel, R. G. D. and Torrie, J. H. : Principles and procedures of statistics. McGrawhill, New York(1960).
23. 崔鎮浩・植本六良・橋勝康：韓日兩國の養殖マダイ肉質の體脂肪及びアミノ酸の含量比較. 長崎大學水產學部研究報告, 第73號, 49-53(1993).
24. 植本六良・宮田克也・松尾重己・大里進子・高良治江・三島敏雄・橋勝康：養殖マダイの肉質に対する遊泳運動の効果. 日本水產學會誌, 54, 677-681(1988).