

칼납자루의 사료 Carotenoids 대사와 체색개선에 미치는 영향

김현영 · 백승한[†] · 김수영 · 정계임 · 권문정 · 김종현* · 하봉석

경상대학교 식품영양학과

*창원전문대학 식품영양과

Metabolism of Dietary Carotenoids and Effects to Improve the Body Color of Oily Bittering, *Acheilognathus koreensis*

Hyun-Young Kim, Seung-Han Baek[†], Soo-Young Kim, Kye-Im Geong, Moon-Jeong Kweon, Jong-Hyun Kim* and Bong-Seuk Ha

Dept. of Food and Nutrition, Gyeongsang National University, Jinju 660-701, Korea

*Dept. of Food and Nutrition, Changwon Junior College, Changwon 641-210, Korea

Abstract

Effects of dietary carotenoids were investigated on metabolism of the carotenoids, and body pigmentation in oily bittering, *Acheilognathus koreensis*. Two weeks later after depletion, oily bitterings were fed the diets supplemented with either lutein, cynthiaxanthin and astaxanthin for 4 weeks. Carotenoids distributed to and metabolized in integument were analyzed. The carotenoid isolated from the integument of wild oily bittering, composed of 47.2% zeaxanthin, 11.4% lutein epoxide, 11.0% diatoxanthin, 9.7% lutein and 8.3% zeaxanthin epoxide. Meanwhile, two weeks later after depletion, the carotenoid composed of 29.9% α -cryptoxanthin, 19.3% zeaxanthin, 13.2% lutein epoxide, 12.0% diatoxanthin and 8.8% zeaxanthin epoxide. These indicated that zeaxanthin, diatoxanthin, lutein epoxide and zeaxanthin epoxide were actively metabolized in oily bittering, compared to that of other fresh water fish. Total carotenoid content in the integument of wild oily bittering and oily bittering depleted for two weeks was found to be 1.72mg% and 2.08mg%, respectively. Two weeks later after treatment of experimental diet, total carotenoids content was increased to 2.23mg% in lutein, 2.36mg% in cynthiaxanthin and 2.49mg% in astaxanthin supplemented group, which were relatively higher than 2.10mg% in control group. Meanwhile, 4 weeks later, total carotenoids content was decreased to 1.76mg% in control, 1.95mg% in lutein, 1.74mg% in cynthiaxanthin and 1.72mg% in astaxanthin supplemented groups. These result indicate that dietary carotenoids were rapidly accumulated and then metabolized to certain metabolites shortly after feeding. Body pigmentation effects of the carotenoids due to accumulation of carotenoids in the integument of oily bittering was the most effectively shown in the astaxanthin supplemented group, followed by cynthiaxanthin and lutein supplemented groups. In the integument of oily bittering, dietary carotenoids were presumably biotransformed via either oxidative or reductive pathways as presumed the variation of total carotenoid content and carotenoid composition in all experimental groups. The lutein was oxidized either to astaxanthin via α -doradexanthin and β -doradexanthin, or to zeaxanthin epoxide via zeaxanthin by oxidative pathway. Cynthiaxanthin was converted either to diatoxanthin and zeaxanthin by reductive pathway and then to zeaxanthin epoxide by oxidative pathway, or it was converted to astaxanthin via diatoxanthin, zeaxanthin and β -doradexanthin by oxidative pathway. Astaxanthin was converted to β -doradexanthin and zeaxanthin by reductive pathway and then to zeaxanthin epoxide by oxidative pathway. These results suggest that, oxidative pathway of carotenoids was major metabolic pathway along with reductive pathway in fresh water fish.

Key words: carotenoids, metabolism, pigmentation, oily bittering

서론

Carotenoid 색소의 투여에 의한 어체내 대사에 관한 연구중에서, 담수산 어류에 관해서는 금붕어(1-3)에 급이

한 zeaxanthin이 4-keto zeaxanthin을 거쳐 astaxanthin으로, β -carotene은 echinenon, canthaxanthin, phoenic-oxanthin을 거쳐 astaxanthin으로 대사되나, lutein은 3'-epilutein, α -carotene triol을 경유하여 α -doradexanthin

[†]To whom all correspondence should be addressed

까지 산화되고 astaxanthin으로는 대사되지 않는다는 것과 그리고 비단 잉어(4)에 급이한 zeaxanthin이 adonixanthin을 거쳐 astaxanthin으로 산화되나, lutein은 α -doradexanthin까지 대사된다는 보고가 있어, 담수산 어류는 β -end group의 3 혹은 4 위치에 산소가 도입되어 keto carotenoid가 생성되는 산화적 대사경로(5,6)를 가진다고 할 수 있다.

그러나 이와는 대조적으로 carotenoids의 환원적 대사가 일어날 수 있는 가능성에 관한 이론(7-10)이 새로이 밝혀지기 시작하였다. 즉, 담수산 어류의 환원적 대사에 관한 연구로는, 메기(11-13)에 급이한 zeaxanthin이 parasiloxanthin을 경유하여 7,8-dehydroparasiloxanthin으로 환원되고, tilapia(14,15)에 급이한 canthaxanthin이 β -carotene으로, astaxanthin은 zeaxanthin으로 환원되며, 또한 무지개송어와 tilapia(16)에 급이한 astaxanthin이 zeaxanthin으로 환원된다 하였고, 그리고 소하회유(遡河洄遊)하는 연어(17)의 표피에서 astaxanthin이 4-keto zeaxanthin과 β -carotene triol을 경유하여 zeaxanthin으로 환원된다는 것 등이 있다. 즉, 담수산 어류에는 산화적 대사경로가 주된 대사이나, 환원적 대사 경로도 함께 존재함을 보고하고 있다.

한편, 해산 어류에 관해서는, krill oil(18,19)을 급이한 방어의 표피에서 astaxanthin이 triol, zeaxanthin, 3'-epilutein을 경유하여 tunaxanthin으로 대사된다 하였는데, 이것은 4위치의 keto기가 methylene기로 환원되고, β -end group이 ϵ -end group으로 변환되며, epimerization도 일어나는 대사계를 처음으로 보고한 것이다. 또한 방어(20)의 난에서는 astaxanthin이 tetrol, triol을 경유하여, zeaxanthin으로 환원되며, 참돔(21)은 β -carotene, zeaxanthin, lutein, canthaxanthin, astaxanthin ester 및 astaxanthin을 각각 급이하여도 astaxanthin을 생성할 수 없다 하였으며, 눈다랭이(22)에서 astaxanthin이 ϵ , ϵ -carotene-3,3'-dione, 3-hydroxy- ϵ , ϵ -carotene-3'-one을 거쳐 tunaxanthin으로 대사되며, 참돔(23)에서는 astaxanthin이 tunaxanthin으로 대사되고, 넙치(23)에서는 lutein이 tunaxanthin으로 대사되며, 양식농어(24)에서도 astaxanthin이 tunaxanthin으로 대사되고, 그리고 볼락과 우럭(25)에서는 급이한 carotenoids가 산화 및 환원되는 대사경로가 존재한다 하였다. 즉, 해산어류에는 환원적 대사경로가 주된 대사이나, 산화적 대사경로도 함께 존재함을 보고하고 있다. 이와같이 어류의 표피에서 일어나는 carotenoids의 산화적 대사 이외에 환원적 대사경로가 밝혀짐에 따라 xanthophyll이 retinoids로 대사 전환되는 새로운 과정에 관한 연구가 활발히 전개되고 있다.

본 실험에서는 비교 생화학적 연구의 일환으로, 우리나라 특산 어종인 잉어과의 칼납자루 표피의 carotenoids 조성을 분석 비교하고, 칼납자루에 대한 lutein, cynthiaxanthin 및 astaxanthin의 급이실험을 통하여 carotenoids

의 체내 대사와 급이 carotenoids에 의한 체색 개선 효과를 검토하였다.

재료 및 방법

Carotenoid 첨가사료에 의한 사육

사육어종

칼납자루(oily bittering, *Acheilognathus koreensis*)는 평균체장 6.9cm, 평균체중 4.7g의 것을 1998년 6월에 충북 영동군 황간면 금강에서 포획하여 실험실에 운반한 후 사육하였다.

첨가용 carotenoids 및 사료 조제

Lutein은 금잔화(marigold, *Tagetes erecta*)(26)의 꽃잎으로부터 추출한 carotenoids를, cynthiaxanthin은 우렁쟁이(Ascidian, *Halocynthia roretzi*)(27)의 표피로부터 추출한 carotenoids를 전보(23)와 동일하게 정제·결정화하여 사용하였다. Astaxanthin은 F. Hoffman-La Roche사(Switzerland)의 제품 carophyll pink(astaxanthin, 5g/100g)를 사용하였다. 칼납자루의 사육시험을 위한 기본 사료(control 사료) 및 carotenoid 첨가사료의 조성은 Table 1과 같으며, Yone 등(28)의 방법에 준하여 전보(23)에서와 같이 조제하였다.

사육방법

각 시험구를 반복구로 하는 난괴법(randomized complete block design)을 이용하여 시험어종인 칼납자루를 50마리씩 4군, 즉 색소를 첨가하지 않은 기본사료구(대조구), lutein 첨가구, cynthiaxanthin 첨가구 및 astaxanthin 첨가구로 나누어 800×400×500cm의 수조에 여과 천연 담수를 주입하고, 수온을 20~25°C를 유지하면서, 통기를 행하고 14일간 절식시킨 후, 체중의 2%를 2주간 하루에 오전, 오후 2회 기본사료를 급이, 사육하여 순치한 후, carotenoids 첨가 사료로 4주간 사육하였다. Carotenoids 성

Table 1. Composition of the experimental diet for feeding oily bittering (%)

Ingredients	Group ¹⁾			
	Control	1	2	3
White fish meal	65.5	65.5	65.5	65.5
α -Starch	15.0	15.0	15.0	15.0
Cellulose powder	5.5	5.5	5.5	5.5
Casein	2.0	2.0	2.0	2.0
Mineral mixture	5.0	5.0	5.0	5.0
Defined vitamin mixture	2.0	2.0	2.0	2.0
Choline chloride	0.5	0.5	0.5	0.5
Alginate acid	0.5	0.5	0.5	0.5
Defined fish oil	4.0	4.0	4.0	4.0
Carotenoids(mg)	0	10	10	10

¹⁾Control : Carotenoids free diet

1 : Lutein supplemented diet

2 : Cynthiaxanthin supplemented diet

3 : Astaxanthin supplemented diet

분의 분석은 시험개시전, 시험개시 2주후와 시험개시 4주후에 각 시험구에서 사육한 칼납자루를 15마리씩 임의 추출하여 표피와 지느러미의 carotenoid 성분을 분리, 동정 및 정량하여 carotenoids 급이에 의한 각 성분의 변화를 추적하였다.

성장도 측정 및 통계처리

실험에 사용된 어류는 시험개시전, 시험개시 2주후와 시험개시 4주후에 칼납자루를 15마리씩 임의 추출하여 체중 및 체장을 측정하였다. 또한 실험구간별 통계적 유의성을 측정하기 위해 one-way ANOVA를 이용하여 student t-test로서 95% 유의수준에서 검정하였다.

Carotenoids의 분석

총 carotenoids의 추출

Carotenoids의 추출(25)은 칼납자루의 표피와 지느러미만을 취하여 실온에서 acetone으로 3회 이상 추출하여 carotenoids를 petroleum ether(p.e.)층으로 전용시킨 후, 40°C이하의 N₂기류하에서 감압 증류한 것을 60% KOH/MeOH 용액으로 검화하여 얻은 불검화물을 총 carotenoids로 하였다.

Carotenoid의 분리 및 정제

Carotenoid의 분리는 전보(25)에서와 같이 실시하였다. 즉, preparative-thin layer chromatography(p-TLC)로 총 carotenoids를 acetone : p.e. (30 : 70)의 전개 용매로서 분리하였으며 또한 p.e.→acetone→MeOH의 순으로 점차적으로 극성을 증가시키면서 column chromatography로 분리하여 TLC의 pattern과 비교하였다. 그리고 분리된 각 carotenoid 획분의 이성체의 분리 및 단일 성분을 확인하기 위하여 검화한 총 carotenoid를 HPLC (Waters, USA)로 분리 동정하였으며, 분석 조건은 Table 2와 같다.

Carotenoid의 동정 및 정량

분리, 정제된 각 획분의 carotenoid는 표피와 지느러미 흡수 spectrum의 비교, 각 획분에서 얻어진 carotenoid와 표피와 지느러미의 co-TLC, co-HPLC, I₂에 의한 이성화 반응(29),

Table 2. Condition for HPLC analysis of carotenoids in the integument of oily bittering

Items	Conditions
Instrument	Waters rheodyne injector Waters M510 HPLC solvent delivery system Waters M486 tunable absorbance detector(450nm) HP 3395 integrator
Column	Sumichiral OA-2000(4mm i.d×250mm)
Mobile phase	Hexane : Dichloromethane : Ethanol (50 : 20 : 0.5)
Flow rate	1.0ml/min
Chart speed	0.5cm/min

NaBH₄에 의한 환원반응(30) 및 epoxide test(29) 등에 의하여 동정하였다. 그리고 분리된 각 획분의 carotenoids 중에서 주요성분을 분취용 HPLC를 행하여 결정체를 얻은 후, 가시부 흡수 spectrum은 Gilford Response UV-visible spectrophotometer, IR spectrum은 KBr중에서 Hitachi 270-50 spectrophotometer, Mass spectrum은 Mass Kratosprofile HV-3 GC/MS(EI, DIP detector)를 사용하여 각각 측정하였다. 그리고 총 carotenoid의 함량과 분리된 각 획분의 조성비는 p.e.중에서의 가시부 흡수 spectrum의 흡수 극대치의 흡광도에 의하여 McBeth(31)의 방법에 따라 흡광계수 E_{1cm}^{1%}=2400으로 하여 다음 식과 같이 계산하였다.

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

percentage(%)=

$$\frac{100 \times vol \times O.D.(\lambda \text{ max})(\text{each fraction})}{\sum [vol \times O.D.(\lambda \text{ max})(\text{each fraction})]}$$

결과 및 고찰

칼납자루의 성장도

사육 시험에 사용한 칼납자루는 carotenoids 첨가사료를 급여하기 직전의 사육전 평균 체장과 평균 체중이 각각 6.57±0.04cm, 3.89±0.21g였으나, 사육 2주 후에는 6.75±0.23cm, 4.21±0.08g, 사육 4주 후에는 6.86±0.27cm, 4.84±0.23g으로 증가하였다. 사육기간 중 평균체장은 사육전과 비교하여 유의적인 차이가 없었으나 평균체중은 사육전과 비교하여 사육 2주후와 사육 4주후에 각각 유의적인 증가를 나타내어 순조로운 성장을 보였다.

칼납자루 표피 carotenoid의 동정

칼납자루 표피로부터 추출한 총 carotenoids를 p-TLC로 분리한 결과, Fig. 1에서와 같이 검화전에는 단일 band로 나타나 ester type으로 존재함을 알 수 있었고, 검화후에는 5개의 Fraction(Fr.)로 분리되었으나, 아래의 3개의 band 즉, Fr. 2(Rf치; 0.81) Fr. 4(Rf치; 0.68) Fr. 6(Rf치; 0.54)은 분리 형태로 보아 혼합물임을 추정할 수 있었다. 그리고 검화한 총 carotenoid를 Fig. 2에서와 같이 다시 column chromatography를 행한 결과, 혼합물로 추정되었던 p-TLC의 Fr. 2, Fr. 4 및 Fr. 6은 각기 분리되어 모두 1~8개의 Fr.으로 분리되었으며, 또한 Fig. 3의 HPLC로 분석한 결과와 일치하였다. 또한 전보(32,33)에서와 같이 column chromatography로 분리, 정제된 각 Fr.에 대한 p.e., benzene, chloroform 및 ethanol에 있어서의 가시부 흡수 spectrum의 흡수 극대치를 비교하였으며, 각 Fr.을 동정한 결과, α-cryptoxanthin(Fr. 1), lutein(Fr. 2), zea-

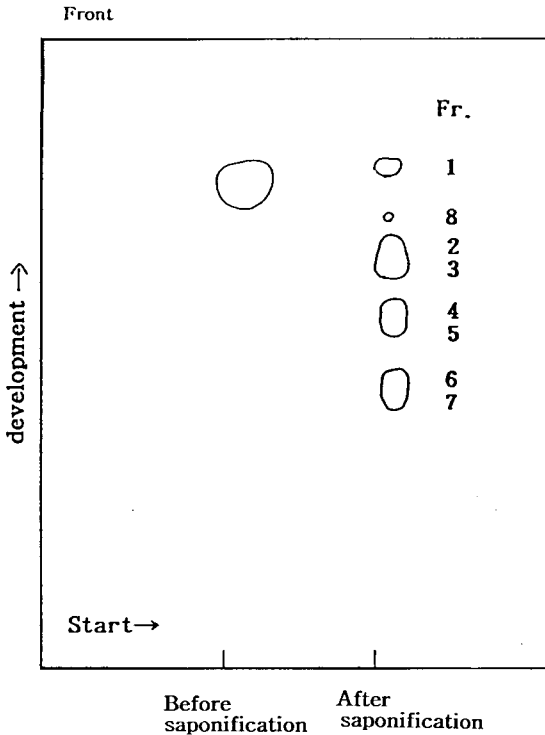


Fig. 1. Preparative thin-layer chromatogram of carotenoids in the integument of oily bittering.
Absorbent: Silicagel 60G
Developer: petroleum ether: acetone(70:30)

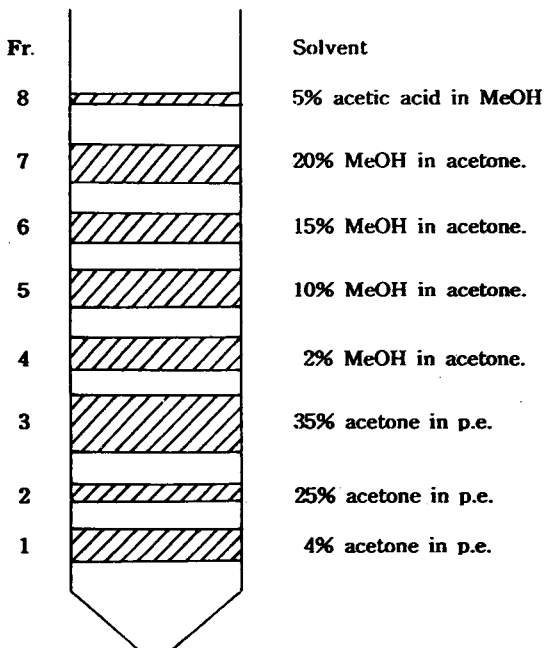


Fig. 2. Column chromatography of saponified carotenoids in the integument of oily bittering on MgO/celite 545(1:1w/w).

xanthin(Fr. 3), diatoxanthin(Fr. 4), cythiixanthin(Fr. 5) 및 astaxanthin(Fr. 8)으로 확인되었다. 한편, column chromatography에 의해 분리된 Fr. 6과 Fr. 7을 동정한 결과, 다음과 같은 cartenoids로 확인되었다.

Fr. 6; 15% MeOH/acetone으로 용출된 Fr. 6은 흡수 spectrum 측정 결과, 흡수 극대치가 417.5, 442, 472.5nm (in p.e.), 428.5, 455, 485(in benzene), 426, 454, 484(in chloroform) 및 422, 447, 473.5(in ethanol)로서 α -carotene type의 흡수 spectrum을 나타냈으며, 검화한 총 carotenoid를 Fig. 3에서처럼 HPLC에 의한 분리를 행한 결과 lutein epoxide의 peak를 확인 할 수 있었고, 진한 HCl에 의한 epoxide test 결과 청록색으로 변화되어 lutein epoxide로 동정하였다.

Fr. 7; 20% MeOH/acetone으로 용출된 Fr. 7은 가시부 흡수 spectrum의 측정 결과, 흡수 극대치가 443, 472nm (in p.e.), 453.5, 484(in benzene), 454, 484(in chloroform) 및 446.5, 474(in ethanol)로 나타났으며, mass spectrum의 측정 결과, Fig. 4와 같이 $C_{40}H_{56}O_3$ 584 $[M^+]$ 의 peak가 확인되었고, zeaxanthin epoxide(34)의 문헌치와 일치하였다. 한편, 검화한 총 carotenoids를 Fig. 4에서처럼 HPLC에 의한 분리를 행한 결과 zeaxanthin epoxide의 peak를 확인할 수 있었고, 진한 HCl에 의한 epoxide test 결과 청록색으로 변화되어 zeaxanthin epoxide로 동정하였다.

칼납자루 표피의 carotenoids 조성

사육시험전 자연산 칼납자루의 표피의 총 carotenoid의 함량과 분리, 동정된 각 carotenoid의 조성은 Table 3과 같다. 총 carotenoid 함량은 자연산은 1.72mg%, 2주간 순치후 2.08mg%로 나타났다. 이는 같은 잉어아과(35)의 납지리 *Paracheilognathus rhombea* 표피 1.1~2.3mg%, 줄납자루 *Acheilognathus yamatsutae* 표피 0.8~2.3mg%의 함량과 비교하여 유사하였으나, 붕어의 일종(36)인, *Carassius carassius buergeri* 표피 0.03mg%, *Carassius carassius grandoculis* 표피 0.06mg%, *Carassius cuvieri*

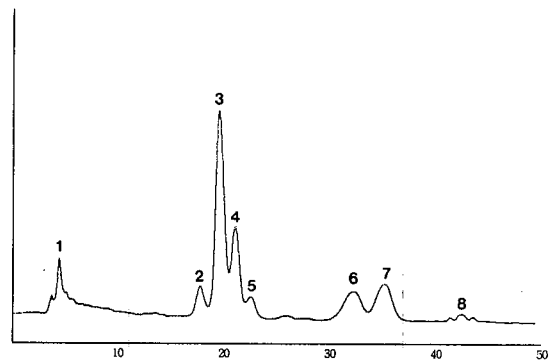


Fig. 3. HPLC chromatogram of saponified carotenoids in the integument of oily bittering.

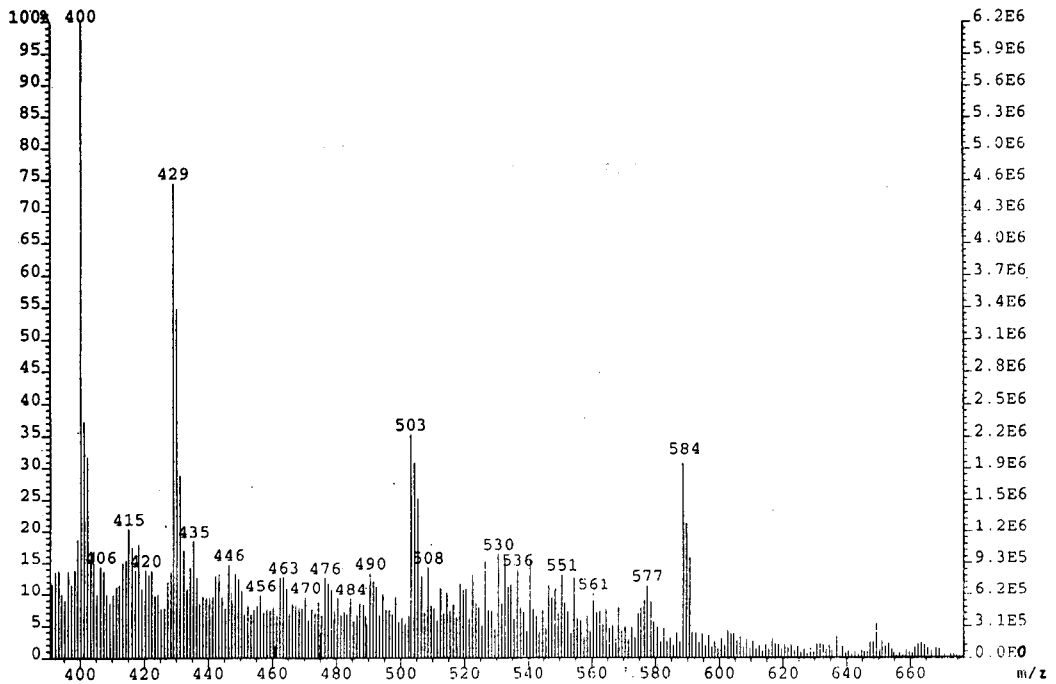


Fig. 4. Mass spectrum of zeaxanthin epoxide fraction isolated from the integument of oily bittering.

Table 3. Amounts and percentage composition of individual carotenoids in the integument of oily bittering (% of total carotenoids)

Composition	Before feeding (two weeks later after depletion)	
	Wild	
α -Cryptoxanthin	2.3	29.9
Lutein	9.7	3.8
Zeaxanthin	47.2	19.3
Diatoxanthin	11.0	12.0
Cynthiaxanthin	6.7	4.5
Lutein epoxide	11.4	13.1
Zeaxanthin epoxide	8.3	8.8
Astaxanthin		trace
Unidentified carotenoids	3.4	8.6
Total carotenoids(mg%)	1.72	2.08

표피 0.04mg%, *Carassius gibelio langsdorfi* 표피 0.04 mg% 그리고 금붕어 *Carassius auratus* 표피 1.65~2.65 mg%의 함량과 비교하여 높은 경향을 나타냈다.

칼납자루 표피의 carotenoids 조성비를 보면 자연산은 zeaxanthin 47.2%, lutein epoxide 11.4%, diatoxanthin 11.0% 및 lutein 9.7%가 주성분을 이루고 그 외 zeaxanthin epoxide 8.3%, cynthiaxanthin 6.7%, 및 α -cryptoxanthin 2.3%의 순으로 함유하였고, 2주간 순치후는 α -cryptoxanthin 29.9%, zeaxanthin 19.3%, lutein epoxide 13.1% 및 diatoxanthin 12.0%가 주성분을 이루고 그 외 zeaxanthin epoxide 8.8%, cynthiaxanthin 4.5% lutein 3.8% 및 astaxanthin(trace)의 순으로 함유하였다. 이들

조성으로 보아 칼납자루에서는 자연산 및 2주간 순치후의 어느 것에서도 zeaxanthin, diatoxanthin, lutein epoxide, zeaxanthin epoxide의 대사가 활발하다는 것을 알 수 있었다. 이 결과는 Kweon과 Ha(35)가 잉어아과의 납지리 표피에는 lutein 44.3~53.3%, lutein epoxide 14.4~19.8%, tunaxanthin 8.0~10.6%, zeaxanthin 5.7~10.6% 및 cynthiaxanthin 0~1.2%가, 줄납자루 표피에는 lutein 39.2~48.0%, lutein epoxide 9.0~19.7%, tunaxanthin 4.5~15.6%, zeaxanthin 2.5~7.2% 및 cynthiaxanthin 1.6~4.8%가 주요 carotenoid로 존재한다고 한 보고와 비교하여, 칼납자루에는 β -carotene과 tunaxanthin이 존재하지 않고, lutein보다 zeaxanthin이 다량 존재한다는 것이 특이하였다. 그러나 Matsuno 등(37)이 잉어아과의 모래무지 *Pseudogobio esocinus* 표피에는 cynthiaxanthin 34.3%, triol 20.7% 및 lutein 16.7%가, 누치 *Hemibarbus barbus* 표피에는 cynthiaxanthin 41.4%, zeaxanthin 25.5% 및 lutein 19.3%가, 물개의 일종인 *Gnathopogon japonicus* 표피에는 cynthiaxanthin 53.9%, zeaxanthin 15.5% 및 lutein 11.7%가, 종고기 *Sarcocheilichthys variegatus* 표피에는 cynthiaxanthin 38.2%, zeaxanthin 31.4% 및 lutein 18.6%가 주요 carotenoids로 존재한다고 보고한 것과 비교하여 유사하였다. 그리고 Matsuno와 Matsutaka(36)는 잉어아과에 속하는 붕어의 일종인 *Carassius carassius buergeri*, *Carassius carassius grandoculis*, *Carassius cuvieri* 및 *Carassius gibelio langsdorfi* 표피에는 cynthiaxanthin 39.9~86.7%, zeaxanthin 3.5~16.9% 및 diatoxanthin 3.2

~14.3%가 주요 carotenoids로 존재한다고 보고한 것과 유사하였으나, 금붕어, *Carassius auratus* 표피에는 astaxanthin 15.7~39.5%, α -doradexanthin 21.3~27.3%, β -doradexanthin 7.1~24.2% 및 idoxanthin 9.0~14.1% 등의 keto carotenoids가 주요 carotenoids로 존재한다는 것과는 매우 상이하였다.

사육 칼납자루 표피의 carotenoids 조성의 변화

사육시험 후 칼납자루 표피의 총 carotenoids 함량과 분리, 동정된 각 carotenoid의 조성비는 Table 4와 같다. 사육 2주후 및 4주후의 표피의 총 carotenoids 함량을 비교해보면, 사육 2주후에는 모든 carotenoids 첨가구에서 대조구에 비하여 높게 나타났으며, 특히 astaxanthin 첨가구에서 2.49mg%로 가장 높게 나타나 체색 개선 효과가 컸으며, cynthiaxanthin 첨가구 2.36mg%, lutein 첨가구 2.23mg%로 나타났다. 사육 시험 4주후에는 lutein 첨가구 1.95mg%, cynthiaxanthin 첨가구 1.74mg% 및 astaxanthin 첨가구 1.72mg%로서 사육 2주후에 비하여 감소하는 경향을 보이는 것으로 보아 carotenoids는 신속하게 축적, 그리고 대사되는 것을 알 수 있었으며, 이것은 양식 넘치와 참돔(23) 그리고 양식 농어(24)에서 사육기간중 총 carotenoids 함량이 서서히 감소한다는 것과 일치하였다.

칼납자루에서의 carotenoids의 대사과정을 추정하기 위하여, 각 carotenoid 첨가구의 carotenoids 조성비의 변화를 보면, lutein 첨가구에서 사육 2주후에는 zeaxanthin 33.2%, zeaxanthin epoxide 16.9%, diatoxanthin 16.8% 및 astaxanthin 5.4%의 함량비를 나타내었고, 이들 carotenoids의 함량비가 사육 시험전에 비하여 증가하였으며, 사육 시험 4주후에는 zeaxanthin 35.4%, zeaxanthin epoxide 17.0% 및 diatoxanthin 14.4%로 함량비가 특히 높게 나타나 사육 2주후와 같은 대사가 진행되고 있음을 알 수 있다. 즉 칼납자루 표피에서는 사료 유래의 lutein이

α -doradexanthin(4-ketolutein)과 β -doradexanthin(4-ketozeaxanthin)을 경유하여 astaxanthin으로 변화하는 산화적 대사과정과, 또한 사료유래의 lutein이 zeaxanthin을 경유하여 zeaxanthin epoxide로 변화하는 산화적 대사과정도 존재하는 것을 추정할 수 있었다. 이것은 Matsuno 등(3)이 사료유래의 lutein이 α -doradexanthin과 β -doradexanthin으로 변화된다는 산화적 대사경로와 유사하며, Ha 등(25)의 사료유래의 lutein은 zeaxanthin으로 대사된다는 보고와도 일치한다. Cynthiaxanthin 첨가구에서 사육 2주후에는 zeaxanthin 30.8%, diatoxanthin 18.1%, zeaxanthin epoxide 14.8% 및 astaxanthin 6.4%의 함량비를 나타내었고, 이들 carotenoids 함량비가 사육 시험전에 비하여 증가하였으며, 사육 4주후에도 zeaxanthin 35.8%, zeaxanthin epoxide 19.6% 및 diatoxanthin 16.5%로 함량비가 특히 높게 나타난 것으로 보아, 사료 유래의 cynthiaxanthin은 diatoxanthin으로 환원된 다음 zeaxanthin을 경유하여 zeaxanthin epoxide로 변화하는 산화적 대사과정을 거치며, 또한 cynthiaxanthin은 diatoxanthin과 zeaxanthin 및 β -doradexanthin을 경유하여 astaxanthin으로 변화되는 산화적 대사과정도 존재한다는 것을 추정할 수 있다. Astaxanthin 첨가구에서는 사육 2주후에 zeaxanthin 38.4%, diatoxanthin 16.7% 및 zeaxanthin epoxide 13.5%로 높은 함량비를 보였으며, 이들 carotenoids의 함량비가 사육시험전에 비하여 증가하였으며, 이에 비하여 astaxanthin은 흔적량으로 존재하였고, 사육 4주후에도 zeaxanthin 35.6%, zeaxanthin epoxide 16.5% 및 diatoxanthin 15.7%의 높게 함량비가 나타내어, 사육 2주후와 같은 대사가 진행되고 있음을 알 수 있다. 즉, 사료 유래의 astaxanthin은 환원적 대사과정으로 β -doradexanthin과 zeaxanthin을 경유한 후 zeaxanthin epoxide로 변화되는 산화적 대사과정이 존재하는 것을 추정할 수 있었다. 이것은 Ando와 Hatano(38)가 astaxanthin이 환원적 대사과정을 거쳐 zeaxanthin으로 전환된다는 보고

Table 4. Amounts and percentage composition of individual carotenoids in the integument of oily bittering after feeding the experimental diet for 2 weeks and 4 weeks (% of total carotenoids)

Composition	Group ¹⁾		2 weeks			4 weeks		
	Control	1	2	3	Control	1	2	3
α -Cryptoxanthin	5.9	7.0	10.9	9.9	8.6	6.4	4.3	8.4
Lutein	7.5	6.9	7.0	7.6	5.6	6.9	7.1	7.1
Zeaxanthin	37.7	33.2	30.8	38.4	28.4	35.4	35.8	35.6
Diatoxanthin	12.2	16.8	18.1	16.7	14.2	14.4	16.5	15.7
Cynthiaxanthin	4.1	4.6	4.3	4.9	4.8	5.6	5.2	4.2
Lutein epoxide	8.7	6.8	5.0	7.1	26.8	6.9	8.2	7.3
Zeaxanthin epoxide	15.9	16.9	14.8	13.5	4.2	17.0	19.6	16.5
Astaxanthin	5.3	5.4	6.4	trace	-	-	-	-
Unidentified carotenoids	2.7	2.4	2.7	1.9	7.4	7.4	3.3	16.5
Total carotenoids(mg%)	2.10	2.23	2.36	2.49	1.76	1.95	1.74	1.72

¹⁾Control: Carotenoid free diet, 1: Lutein supplemented diet, 2: Cynthiaxanthin supplemented diet, 3: Astaxanthin supplemented diet.

와 Ha 등(25)이 무지개송어와 산천어에서 astaxanthin이 zeaxanthin으로 환원된다는 보고와도 일치하였다. 따라서 칼납자루의 carotenoids의 체내 대사는 산화, 환원의 복합적 대사과정을 경유하며, carotenoids 첨가구에서 모두가 zeaxanthin을 경유하여 zeaxanthin epoxide로 변화되는 대사과정을 보이는 것은 칼납자루의 체내 대사 특이성이라고 할 수 있다.

요 약

어류의 carotenoid에 관한 비교 생화학적 연구의 일환으로서 잉어아과에 속하는 칼납자루 표피의 carotenoid 조성을 분석 비교하고, 칼납자루에 대한 사료 carotenoid의 체내 대사와 체색 개선에 미치는 영향을 검토하기 위하여, lutein, cynthiaxanthin 및 astaxanthin을 각각 첨가한 사료로써 4주간 사육한 결과는 다음과 같다. 칼납자루 표피의 carotenoids의 조성비는 자연산에는 zeaxanthin 47.2%, lutein epoxide 11.4%, diatoxanthin 11.0%, lutein 9.7% 및 zeaxanthin epoxide 8.3%가, 2주간 순치후에는 α -cryptoxanthin 29.9%, zeaxanthin 19.3%, lutein epoxide 13.1%, diatoxanthin 12.0% 및 zeaxanthin epoxide 8.8%가 주성분으로 함유하여 칼납자루에는 zeaxanthin, diatoxanthin, lutein epoxide 및 zeaxanthin epoxide의 대사가 활발하다는 것을 알 수 있었다. 칼납자루 표피의 총 carotenoids 함량은 자연산 1.72mg%, 2주간 순치후 2.08mg%로 나타났고, 사육 시험 2주후에는 control구 2.10mg%에 비하여 lutein 첨가구 2.23mg%, cynthiaxanthin 첨가구 2.36mg% 및 astaxanthin 첨가구 2.49mg%로 carotenoid 첨가구에서 모두 높게 나타났으며, 사육 시험 4주후에는 control구 1.76mg%, lutein 첨가구 1.95mg%, cynthiaxanthin 첨가구 1.74mg% 및 astaxanthin 첨가구 1.72mg%로 감소하여, carotenoids는 신속하게 축적, 그리고 대사된다는 것을 알 수 있었다. 칼납자루 표피에서의 carotenoids 축적률은 astaxanthin 첨가구가 가장 높게 나타나서 체색 선명화 효과가 컸으며, cynthiaxanthin, lutein 첨가구의 순으로 나타났다. 사육 시험후, 각 carotenoid 첨가구의 총 carotenoids 함량과 조성의 변화에 의한 칼납자루 표피에서의 carotenoids 대사 경로는 lutein이 α -doradexanthin(4-ketolutein)과 β -doradexanthin(4-ketozeaxanthin)을 경유하여 astaxanthin으로 변화하는 산화적 대사과정이 있고, 또한, zeaxanthin을 경유하여 zeaxanthin epoxide로 변화되는 산화적 대사과정이 존재한다. cynthiaxanthin은 diatoxanthin과 zeaxanthin으로 변화하는 환원적 대사과정을 경유하여 zeaxanthin epoxide로 변화하는 산화적 대사과정이 있고, 또한, diatoxanthin, zeaxanthin 및 β -doradexanthin을 경유하여 astaxanthin으로 변화하는 산화적 대사과정이 존재한다. 그리고 astaxanthin은 β -doradexanthin과 zeaxanthin으로 변화하는

환원적 대사과정을 경유한 후 zeaxanthin epoxide로 변화하는 산화적 대사과정이 존재한다. 일반적으로 담수어에는 산화적 대사가 주된 대사이나 환원적 대사도 함께 존재함을 알 수 있었다.

문 헌

1. Hata, M. and Hata, M.: Carotenoid pigments in gold fish-IV, Carotenoids metabolism. *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.*, **38**, 331-338(1972)
2. Hata, M and Hata, M.: Carotenoid pigments in gold fish-V, Conversion of zeaxanthin to astaxanthin. *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.*, **38**, 339-344(1972)
3. Matsuno, T., Matsutaka, H. and Nagata, S.: Metabolism of lutein and zeaxanthin to ketocarotenoids in the goldfish, *Carassius auratus*. *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.*, **47**, 605-611(1981)
4. Hata, M. and Hata, M.: Carotenoids metabolism in fancy red carp, *Cyprinus carpio*-II Metabolism of ¹⁴C-zeaxanthin. *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.*, **42**, 203-205(1976)
5. Tanaka, Y.: Chemistry of animal colours-pigments of aquatic animals. *化學と教育*, **35**, 522-525(1987)
6. Matsuno, T. and Miki, W.: Biological functions and activities of animal carotenoids. *化學と生物*, **28**, 219-227(1980)
7. Goodwin, T. W.: Metabolism, nutrition, function of carotenoids. *Ann. Rev. Nutr.*, **6**, 273-297(1986)
8. Isler, O.: *Carotenoids*. Birkhauser Verlag., pp.637-716(1971)
9. Fujita, T., Satake, M., Hikichi, S., Takeda, M., Shimeno, S., Kuwauara, H., Miki, W., Yamaguchi, K. and Konosu, S.: Pigmentation of cultured yellow tail with krill oil. *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.*, **49**, 1595-1600(1983)
10. 松野隆男: 動物のカロテノイドとその代謝. *營養學雜誌*, **47**, 219-237(1989)
11. Matsuno, T. and Nagata, S.: Conversion of zeaxanthin to parasiloxanthin(7',8'-dihydrozeaxanthin) and 7,8-dihydroparasiloxanthin in the Japanese common catfish. *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.*, **46**, 1191(1980)
12. Matsuno, T., Nagata, S. and Kitamura, K.: New carotenoids, parasiloxanthin and 7,8-dihydroparasiloxanthin. *Tetrahedron Letters*, **50**, 4601-4604(1976)
13. Matsuno, T. and Nagata, S.: Biosynthesis of characteristic, principal carotenoids of the Japanese common catfish, parasiloxanthin(7',8'-dihydrozeaxanthin) and 7,8-dihydroparasiloxanthin. *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.*, **46**, 1363-1367(1980)
14. Katsuyama, M. and Matsuno, T.: Carotenoid and vitamin A, and metabolism of carotenoids, astaxanthin, zeaxanthin, lutein and tunaxanthin in tilapia, *Tilapia nilotica*. *Comp. Biochem. Physiol.*, **90B**, 131-139(1988)
15. Matsuno, T., Katsuyama, M., Hirono, T., Maoka, T. and Komori, T.: The carotenoids of tilapia, *Tilapia nilotica*. *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.*, **52**, 115-119(1986)
16. Katsuyama, M., Komori, T. and Matsuno, T.: Metabolism of three stereoisomers of astaxanthin in the fish, rainbow trout and tilapia. *Comp. Biochem. Physiol.*, **86B**, 1-5(1987)
17. Kitahara, T.: Behavior of carotenoids in the masu salmon(*Oncorhynchus masou*) during anadromous migration. *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.*, **51**, 253-255(1985)

18. Miki, W. K., Yamaguchi, S., Konosu, T., Satake, M., Fujita, T., Kuwauara, H., Shimeno, S. and Takeda, M. : Origin of tunaxanthin in the integument of yellow tail (*Seriola quinqueradiata*). *Comp. Biochem. Physiol.*, **80B**, 195-201(1985)
19. Matsuno, T., Katayama, M., Maoka, T., Hirono, T. and Komori, T. : Reductive metabolic pathways of carotenoids in fish(3S, 3'S)-astaxanthin to tunaxanthin A, B and C. *Comp. Biochem. Physiol.*, **80B**, 779-789(1985)
20. Matsuno, T. : Xanthophyll as precursors of retinoids. *Pure & Appl. Chem.*, **63**, 81-88(1991)
21. 中添純一, 石井清之助, 紙本洋誌, 竹内昌昭 : 飼料カロチノイド가 마그이幼魚의カロチノ이드蓄積および體成分に及ぼす影響. *東海水研報*, **113**, 29-41(1984)
22. Ikuno, Y. and Matsuno, T. : Carotenoid and their metabolism in big-eye tuna, *Thunnus obesus*. *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.*, **53**, 1893-1896(1987)
23. Ha, B. S., Kang, D. S., Kim, J. H., Choi, O. S. and Ryu, H. Y. : Metabolism of dietary carotenoids and effects to improve the body color of cultured flounder and red sea beam. *Bull. Korean Fish. Soc.*, **26**, 91-101(1993)
24. Kang, D. S. and Ha, B. S. : Metabolism of dietary carotenoids and effects to intensity the body color of cultured sea bass. *Bull. Korean Fish. Soc.*, **27**, 272-281(1994)
25. Ha, B. S., Kweon, M. J., Park, M. Y., Baek, S. H., Kim, S. Y., Baek, I. O. and Kang, S. J. : Comparison of dietary carotenoids metabolism and effects to improve the body color of cultured fresh-water fishes and marine fishes. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, **26**, 270-284(1997)
26. Quackenbush, F. W. and Miller, S. : Composition and analysis of carotenoids in marigold petals. *JAOAC*, **55**, 617(1972)
27. Tsuchiya, Y. and Suzuki, Y. : Biochemical studies of the ascidian, *Cynthia roretzi* v. Drasche IV. Carotenoids in test. *Tohoku J. Agric. Res.*, **10**, 397-407(1960)
28. Yone, Y., Sakamoto, S. and Furuichi, M. : Studies in nutrition of red sea bream-IX, The basal diet for nutrition studies. *Report of Fishery Research Laboratory, Kyushu Univ.*, **2**, 13-24(1974)
29. Matsuno, T. and Maoka, T. : Isolation of a new carotenoid, 3'-trihydroxy-7',8'-didehydro- β -carotene from sea mussels. *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.*, **47**, 377-384(1981)
30. 林孝三 : 植物色素. 養賢堂, 東京, pp.205-229(1970)
31. McBeth, J. W. : Carotenoid from nudibranchs. *Comp. Biochem. Physiol.*, **41B**, 55-68(1972)
32. Baek, S. H. and Ha, B. S. : Comparison of carotenoid pigments on manchurian trout, *Brachymystax lenok* and masu salmon, *Oncorhynchus macrostomus* in the family salmonidae. *Bull. Korean Fish. Soc.*, **31**, 278-287(1998)
33. Kim, M. S., Baek, S. H., Kim, H. Y., Kim, S. Y., Geong, K. I., Kweon, M. G. and Ha, B. S. : Comparison of carotenoid pigments on Korean dark sleeper, *Odontobutis platycephala* and dark sleeper, *Odontobutis interrupta* in the family eleotridae. *Bull. Korean Fish. Soc.*, **27**, 813-820(1998)
34. Matsuno, T., Katsuyama, M. and Nagata S. : Comparative biochemical studies in fishes-XIX Carotenoids of chum salmon, coho salmon, biwa trout, red-spotted masu salmon, masu salmon, and kokanee. *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.*, **46**, 879-884(1980)
35. Kweon, M. J. and Ha, B. S. : Comparison of carotenoid pigments in flat bitterling, *Paracheilognathus rhombea* and korean striped bitterling, *Acheilognathus yamatsutae Mori*, in the subfamily cyprinidae. *J. Korean Soc. Food Nutr.*, **25**, 80-86(1996)
36. Matsuno, T. and Matsutaka, H. : Carotenoids of four species of crucian carp and two varieties of goldfish. *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.*, **47**, 85-88(1981)
37. Matsuno, T., Katsuyama, M. and Iwasaki, N. : Comparative biochemical studies of carotenoids in fishes-IV, Carotenoids in six species of gobiioninaeous fishes. *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.*, **41**, 351-355(1975)
38. Ando, S. and Hatano, M. : Metabolic pathways of chum salmon, *Oncorhynchus keta* during spawning migration. *Comp. Biochem. Physiol.*, **87(B)**, 411-416(1987)

(1999년 7월 16일 접수)