

양식장 배출물 발효물의 사료 첨가에 따른 넙치,
*Paralichthys olivaceus*의 생화학적 반응

지정훈 · 문상욱* · 김세재* · 이영돈** · 금유화*** · 강주찬****
부경대학교 수산과학연구소, *제주대학교 지역기술혁신센터, **제주대학교 해양환경연구소,
***부경대학교 수산생명의학과

**Biochemical Responses in Olive Flounder, *Paralichthys olivaceus*
Fed Diet Supplemented with Fermented Aquaculture Sewage**

Jung-Hoon Jee, Sang-Wook Moon*, Se-Jae Kim*, Young-Don Lee**,
Yoo-Hwa Keum*** and Ju-Chan Kang****†

Institute of Fisheries Sciences, Pukyong National University, Busan 608-737, Korea

**Technology Innovation Center, Cheju National University, Jeju 690-756, Korea*

***Marine and Environmental Research Institute, Cheju National University, Jeju 695-814, Korea*

****Department of Aquatic Life Medicine, Pukyong National University, Busan 608-737, Korea*

Effluent of aquaculture industry has caused a growing concern regarding its environmental impact. We assessed the use of flounder farming sewage as supplement of diet, to minimize the impact of aquaculture on the environment or also establish the technique for the recycling of effluent sediment derived from land-based seawater fish farm. In order to investigate the effects of a fermented aquaculture waste on biochemical responses of olive flounder (*Paralichthys olivaceus*), fermented products of aquaculture wastes were used as test compounds that cause hepatic and renal stress through the induction of oxidative stress in liver and kidney. Hepatosomatic index (HSI), glutathione content and glutathione dependent enzyme were not significantly different and no correlation was found within the different types of fermentation condition or supplement concentration, except for significant increases in 50% fermentation group and 50% concentration group in case of glutathione peroxidase activity and HSI value, respectively. These results showed addition of fermented aquaculture sewage may be an economic artificial sources of diet for fish aquaculture practices without affecting the function and safety in view of biochemical examination.

Key words : Aquaculture sewage, Biochemical responses, Glutathione dependent enzyme, Oxidative stress, *Paralichthys olivaceus*

육상 어류 양식장의 배출수는 인접한 연안으로 유입되어 수질 악화를 초래한다 (Ackefors and Enell, 1990). 특히 생사료를 주로 사용하는 우리나라의 넙치 육상 수조식 양식장의 배출구에서 회수되는 배출물의 양은 양식어의 크기 및 양식장의 규모에 따라 다소의 차이는 있으나, 대부분의 배출물은 양식어류가 섭취하고 남은 잔

류 생사료이며, 탄수화물이나 지방에 비해 단백질 함량이 높은 것이 특징이다 (Moon *et al.*, 2002). 그러나, 이러한 양식장의 규모와 수의 증대로 인한 연안해양 생태계에 대한 사회적 관심사는 지속적으로 증가하고 있으며 (Wu, 1995), 2003년 말 현재 해면 양식어장 면허면적은 약 122천 ha이며, 육상수조식 및 축제식양식 등 신

†Corresponding Author : Ju-Chan Kang, Tel : 051-620-6146,
Fax : 051-628-7430, E-mail : jckang@pknu.ac.kr

고어업이 2천 ha가 개발되었다 (MOMAF, 2004). 이러한 상황에서 육상수조식 양식장의 배출물에 대한 보다 근본적인 대책이 요구되고 있으며, 이러한 취지에서 이들 배출물의 재활용 방안 연구는 절실히 요구된다. 그러나, 배출물 오염을 저감시키기 위한 별도의 처리 방법이 확립되어 있지 않을 뿐만 아니라 이러한 배출물을 이용한 사료 등의 재활용에 있어, 아직 안전성에 대한 검토가 전무한 실정이다. 이러한 관점에서 생화학적 분석은 수계 환경 및 바이오모니터링에서 매우 유용한 방법으로 사용되고 있고 (McDonald and Milligan, 1992; Folmar, 1993), 조직내의 글루타치온 농도와 포합효소의 활성을 측정하는 것은 매우 유용한 평가 방법이라고 생각할 수 있다 (Pacheco and Santos, 2001).

해양생물 체내 glutathione (GSH)의 기능으로서는 외인성 물질의 해독과정에 주요한 기능을 담당하는 것으로 알려져 있다 (Otto and Moon, 1995). 글루타치온 의존성 효소는 산화스트레스를 생성하는 외인성물질을 해독화시키는 기능을 담당하며(Fournier *et al.*, 1992; Stegeman *et al.*, 1992; Radi *et al.*, 1985), 환경적 영향을 나타낸다고 보고되어왔다 (Rodriguez-Ariza *et al.*, 1993; Livingstone, 1998). 이와 관련된 효소에는 glutathione peroxidase (GPx) 및 glutathione reductase (GR)이 있다. 따라서 본 연구는 양식장 등으로부터 회수한 배출물을 재활용하는 방안으로 양식 넙치, *Paralichthys olivaceus*의 사료에 첨가하여 투여한 다음 간 중량지수, 글루타치온 농도 및 포합효소의 활성 변화를 조사하였다.

재료 및 방법

실험사료 조제 및 공급

북제주군에 위치한 육상 넙치 양식장에서 배출된 배출물을 screen filter (제주화북공업사; 1.0 mm 망목)로 수거하였다. 수거된 배출물은 -20°C에서 보관한 후, 발효에 사용하였다. 감귤 농축액은 제주도 지방개발공사에서 시판되는 원료

를 구입하여 배출물과의 혼합발효에 사용하였다. 발효는 양어장 배출물 단독발효구와 배출물과 감귤 농축액 (30, 50%)을 혼합하여 발효한 발효구, 배출물 (5%)과 감귤 농축액 (5%)을 물에 넣어 발효한 발효물(10% 발효구) 등 4가지의 형태로 발효를 하였다. 그리고 위의 발효물 중 10%와 50% 발효구의 시료를 각각 10배 농축하여 실험에 이용하였다. 실험구는 대조구를 비롯하여 배출물 단독 발효구, 30, 50% 발효구와 10% 발효구 그리고 10%와 50% 발효물을 농축한 10%와 50% 농축구 등 총 7개의 실험구로 하였다. 시료는 시판되는 고압팽창사료 (extruded pellet, EP: 프랑스 Aquaculture)에 발효물을 각각 1.0%의 농도로, 10%와 50% 농축액은 0.1%의 농도로 각각 침적하여 흡착시킨 후 공급하였다. 흡착 방법은 액상 시료를 물에 혼합하여 농도에 따라 사료량의 10%로 만들어 흡착시켰고, 대조구는 물을 사료량의 10% 흡착시켜 공급하였다.

미생물 배양 및 시료 발효

젖산균 *Lactobacillus plantarum* (ATCC 8014)과 효모 *Saccaromyces cerevisiae* (IFO 0203) 배양액 (각 10^6 cells/ml)을 1 : 2 (V/V)의 비율로 혼합하여 양어장 배출물 시료의 5% (W/V)가 되도록 접종하였다. 여기에 당밀을 전체의 5% (W/V)가 되도록 첨가하여 잘 혼합한 후 38°C, 7일간 배양하였으며, 당밀 대신에 감귤농축액을 이용한 발효구는 감귤농축액 함량이 배출물 시료의 5%, 10%, 50% (W/V)가 되게 조절하여 발효하였다. 젖산균 *Lactobacillus plantarum* (ATCC 8014)은 Glucose-yeast-peptone (GYP) 액체배지로 30°C의 항온기 내에서 정치배양하여, 24시간마다 *L. plantarum* 배양액의 pH를 측정하고, 균수변화를 GYP 한천배지를 이용하여 희석평판법으로 측정하였다. 준비한 각 평판은 30°C의 항온기 내에서 24-48시간 배양한 후 출현한 콜로니수를 측정하였다. 효모 *Saccaromyces cerevisiae* (IFO 0203)는 Yeast Mold (YM) 액체배지로 25°C의 항온기 내에서 정치배양하여, 젖산균과 동일하게 24시간

마다 YM 한천배지를 이용하여 7일 배양한 후 출현한 콜로니수를 측정하였다. 양어장 배출물 단독발효구에서 젖산균은 발효기간 중 2-3일 째 가장 높은 개체수에 도달하였고(1.4×10^8 cfu/ml), 효모는 배양종료 시까지 점진적으로 계속 증가하여 1.0×10^8 cfu/ml까지 도달하였고, 타 발효구에서도 이와 유사한 미생물 성장분포를 나타내었다.

실험어 및 사육환경

실험어는 복제주군 북촌리 소재 육상종묘장에서 생산한 넙치 치어(평균 전장: 12.35 ± 0.68 cm, 평균 체중: 19.79 ± 3.45 g)를 이용하였다. 실험어는 실험 시작 전 원뿔형의 FRP 수조 (3 ton)에서 7일간 순치 사육 후 14개의 1 ton FRP 수조에 각각 50마리씩 수용하여 각각의 실험사료를 어체중의 1.0% 비율로 9주간 투여하였으나, 발효시료 농축액인 경우에는 어체중의 0.1% 비율로 9주간 투여하였고, 수조 내 사육수량은 0.7 ton으로 1일 환수율은 15 ~ 18회전 이었다.

간 및 신장의 조직의 전처리

각각의 사료 첨가제에 따른 실험어에 미치는 영향을 조사하기 위하여 실험어의 간 및 신장을 분리하였다. 분리된 간 및 신장 조직은 무게를 측정 후, 4°C의 1.15% KCl 용액에 2-3회 세척하여 hemoglobin의 오염을 방지하였다. 일정량의 장기를 절취하여 pH 7.25 인산완충용액 (0.1 M KH_2PO_4 , 1 mM EDTA, 1 mM dithiothreitol, 20% glycerol)으로 teflon-glass homogenizer (099C K4424, Glas-Col, USA)를 이용하여 teflon pestle을 상하로 왕복하면서 균질화 하였다. 균질화된 시료는 4°C에서 12,000 g로 20분간 원심분리 (MIKRO 22R, Hettich, Tuttlingen, Germany)하였다. 원심분리 후 상등액을 효소학적 분석에 대한 시료로 사용하였다.

간 및 신장의 포합효소 활성 조사

Glutathione peroxidase (GPx)는 Bell *et al.* (1986)의 방법을 수정한 것으로 H_2O_2 를 기질로, sodium azide를 catalase 억제제로 사용한 방법을 사용하였다. 일정 시료에 1 mM GSH, 0.1 mM NADPH, 0.5 U GSH-reductase, 1 mM EDTA, 2 mM sodium azide 및 50 mM 인산완충용액 (pH 7.4)이 포함된 혼합용액을 가한후 6분동안 20°C에서 incubation하였다. 반응은 2.5 mM H_2O_2 를 넣는 동시에 시작하였다. NADPH가 산화되는 비율은 340 nm에서 3분 동안 20초 단위로 분광광도계 (Zenyn 200, Anthos Labtec Instruments Gmbh, Austria)로 측정하였다. Glutathione reductase (GR)은 Beutler (1984)의 방법을 통하여 측정하였다. 시료 20 μl 에 1 mM EDTA가 포함된 potassium phosphate (pH 7.5), 2 mM 산화형 글루타치온 및 3 mM DTNB를 첨가한다. 반응은 당일 조제한 NADPH의 첨가로 시작하였다. NADPH가 산화형 글루타치온 (GSSG)을 환원형 글루타치온 (GSH)으로 환원시킨 후, DTNB에 의하여 발색된 용액의 흡광도를 412 nm에서 30초 단위로 3분 동안 분광광도계 (Zenyn 200, Anthos Labtec Instruments Gmbh, Austria)를 이용하여 측정하였다. 조직의 단백질 양은 Bradford (1976) 방법으로 표준물질로는 bovine serum albumin (Sigma, USA)을 사용하여 측정하였다.

간 및 신장의 글루타치온 농도 조사

글루타치온 (GSH) 농도는 Baker *et al.* (1990)의 방법에 의하여 측정되어졌다. 측정을 위한 시료는 GSH의 측정시 방해되는 protein을 제거하기 위하여 5% 5-sulfosalicylic acid (SSA)로 희석하여 사용하였다. 일정 시료에 혼합시액 (100 mM NaH_2PO_4 , 1 mM EDTA (pH 7.5), 0.15 mM DTNB, 0.2 mM NaDPH 및 1 U/mL GR)을 첨가하여 파장 405 nm에서 2분 이상 측정하였다 (Zenyn 200, Anthos Labtec Instruments Gmbh, Austria). GSH 함량 계산은 GSSG를 사용한 검량선을 바탕으로 계산하여 단위는 nmol/g tissue로 나타내었다.

통계 처리

결과의 통계처리는 SPSS 통계 프로그램 (SPSS Inc.)을 이용하여 ANOVA test를 실시한 후에 사후 다중비교로서 Duncan test를 통해 평균간의 유의성 ($P < 0.05$)을 비교하였다.

결과 및 고찰

간 중량지수 (Hepatosomatic index)

각각의 발효액을 첨가한 사료를 3개월간 투여한 후, 넙치 간 중량지수를 조사한 결과 대조구와 대부분의 첨가 실험구가 유사한 값을 나타내었지만 (Fig. 1), 50% 농축액 투여구 (2.21%)는 대조구 (1.53%)와 비교하여 유의적으로 높게 조사되었다 ($P < 0.05$). Condition factor와 함께 간 중량지수는 오염물을 비롯한 외부 물질의 유입에 대한 indicator로 사용된다 (Mayer *et al.*, 1992; Chandra *et al.*, 2004). 이러한 생물학적 수치가 오염물질이나 환경적 스트레스에 대한 저항성을 나타내거나 체내 에너지 수지를 나타내는 주요한 정보를 제공할 수 있다 (Mayer *et al.*, 1992). 오염물질의 유입의 경우 간 중량지수는 증가할

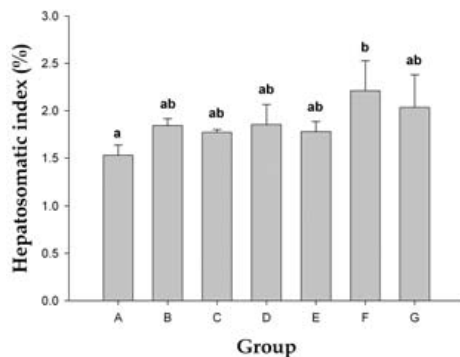


Fig. 1. Hepatosomatic index of olive flounder, *Paralichthys olivaceus* administrated with the different diet supplement. Value are means \pm SE (n=6). Values with different superscript are significantly different ($P < 0.05$) as determined by Duncan's multiple range test. A : Control, B : 10% Fermentation, C : 30% Fermentation, D : 50% Fermentation, E : 10% Concentration, F : 50% Concentration, G : Fermented sediment.

수 있는데 이러한 것은 세포의 손상 등의 반응으로 간세포내의 hypertrophy 나 hyperplasia 으로 설명될 수 있다 (Poels *et al.*, 1980; Slooff *et al.*, 1983). 따라서, 50% 농축액 투여구의 경우 첨가농도로 평가해볼 때 다소 높은 농도로 생각할 수 있다.

글루타치온 (GSH) 농도

GSH는 -SH기를 가지는 비단백질성 항산화물질로 (Siegers, 1989) 일반적으로 대사 수송 기능을 담당한다 (Kosower and Kosower, 1978). 특히, 해양생물에서는 외인성 물질의 해독과 배설 등의 중요한 기능을 담당하고, 이런 물질로 인해 유발되는 산화스트레스 독성반응에 대하여 세포를 보호하는 방어 기작에서 제일 처음으로 관여하는 것으로 알려져 있다 (Hasspielar *et al.*, 1994; Otto and Moon, 1995). 가벼운 산화스트레스에 대하여 GSH의 합성을 증가시키는 적합한 대사로서 GSH함량이 증가되어질 수 있다. 그러나, 심한 산화스트레스는 적합한 대사를 잃고 GSH를 산화형인 GSSG로의 산화 때문에 GSH의 함량이 감소되어질 수 있다 (Zhang *et al.*,

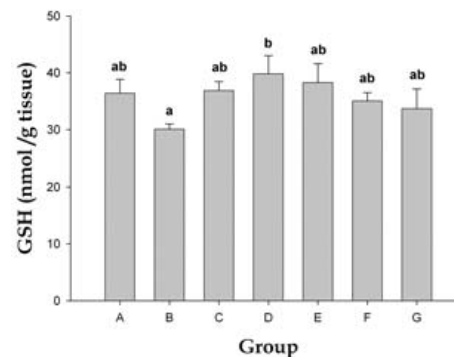


Fig. 2. Hepatic glutathione concentration of olive flounder, *Paralichthys olivaceus* administrated with the different diet supplement. Value are means \pm SE (n=6). Values with different superscript are significantly different ($P < 0.05$) as determined by Duncan's multiple range test. A : Control, B : 10% Fermentation, C : 30% Fermentation, D : 50% Fermentation, E : 10% Concentration, F : 50% Concentration, G : Fermented sediment.

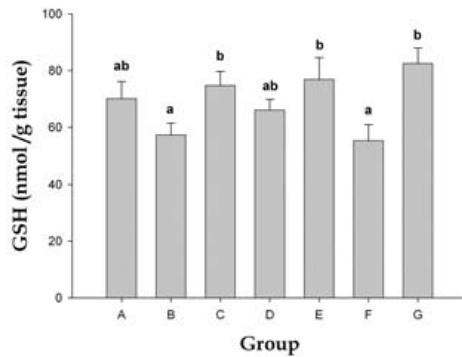


Fig. 3. Renal glutathione concentration of olive flounder, *Paralichthys olivaceus* administrated with the different diet supplement. Value are means \pm SE (n=6). Values with different superscript are significantly different ($P < 0.05$) as determined by Duncan's multiple range test. A : Control, B : 10% Fermentation, C : 30% Fermentation, D : 50% Fermentation, E : 10% Concentration, F : 50% Concentration, G : Fermented sediment.

2004). 외부물질에 대한 GSH 함량의 변동에 대한 연구에서 오염된 저질에 노출된 channel catfish에서도 유사한 변동이 조사되었다 (DiGiulio *et al.*, 1993). 이번 연구에서 각각의 첨가구를 투여한 실험군 간장 내 GSH 함량을 조사한 결과 각각의 실험군별 수치가 유사한 값을 나타내었

다. 하지만, 10% 발효구의 GSH 농도는 50% 발효구에 비해 상대적으로 낮은 값을 나타내었다 (Fig. 2). 신장의 경우 각각의 실험구별 GSH 농도는 대조구와 비교하여 유의한 차이는 존재하지 않았으나 ($P > 0.05$), 10% 발효구와 50% 농축구의 GSH 함량이 다소 낮은 것으로 조사되었다 (Fig. 2). 이와 같은 결과로 서로 다른 첨가 및 농도의 사료첨가제가 넙치 간 및 신장의 GSH 함량에 영향을 주지 않는 것으로 판단된다.

포합효소 활성

발효물 첨가에 따른 대상종의 안정성에 대한 자료 제시의 일환으로 간 및 신장 조직의 glutathione 함량 및 glutathione peroxidase (GPx) 및 glutathione reductase (GR) 의 효소 활성을 조사하였다. 일반적으로 외부의 오염물질 유입에 대한 생화학적 지표로써 glutathione-conjugation 관련 phase II 해독 효소가 널리 사용되고 있다 (Livingstone, 1998; Payne *et al.*, 1987; Rodriguez-Ariza *et al.*, 1991). 따라서 이번 연구에서 사료에 첨가한 양식양 배출물 발효물에 대한 안정성 확보의 측면에서 효소활성을 조사하였다. 현재까

Table 1. Hepatic glutathione peroxidase and reductase enzyme activity of olive flounder, *Paralichthys olivaceus* administrated with the different diet supplement

Groups	GPx ^{*1}	GR ^{*2}
	(unit/min/mg protein)	(unit/min/mg protein)
A	252.21 \pm 25.09 ^a	45.46 \pm 5.46
B	255.55 \pm 25.42 ^{ab}	37.35 \pm 3.28
C	269.84 \pm 14.66 ^{ab}	35.47 \pm 3.24
D	335.65 \pm 12.8 ^{ab}	40.97 \pm 3.32
E	235.45 \pm 36.92 ^a	41.89 \pm 3.68
F	285.98 \pm 22.70 ^{ab}	33.65 \pm 2.64
G	294.60 \pm 29.46 ^{ab}	39.29 \pm 4.04

*1 GPx (Glutathione peroxidase)

*2 GR (Glutathione reductase)

Value are means \pm SE (n=6). Values with different superscript are significantly different ($P < 0.05$) as determined by Duncan's multiple range test. A : Control, B : 10% Fermentation, C : 30% Fermentation, D : 50% Fermentation, E : 10% Concentration, F : 50% Concentration, G : Fermented sediment.

지 어류의 GPx 활성에 대한 연구로는 오염물질에 노출된 어류는 그 활성이 증가된다고 알려져 있다 (Radi *et al.*, 1985; Bell *et al.*, 1986). Glutathione peroxidase (GPx)는 살아있는 세포에서 과산화물을 해독하는 메카니즘을 가지고 있다. 이 반응은 프리 라디칼에 의한 손상을 방어하는데 중요한 역할을 하고, 과산화물을 분해한다. 세포의 지질 화합물은 프리 라디칼과 민감하게 반응하는데, 그 결과 지질과산화이 일어난다. GPx는 glutathione을 사용하여 과산화수소를 알콜로 환원시키기 때문에 프리라디칼의 생성을 막는다. 하지만, 이번 조사에서 각 사료첨가별 실험구에서 간의 GPx 활성은 50% 발효구의 경우 대조구와 비교하여 유의한 증가를 나타내었다 (Table 1). 따라서 50%의 발효구 농도는 실험 설정농도로서 감안할 때 다소 높은 것으로 생각되어진다. 하지만, 이를 제외한 다른 실험구에서는 유의한 차이를 찾을 수 없었으며, 이러한 양상은 GR 효소활성에서도 나타났으며 (Table 1), 신장의 경우 이들 두 효소의 활성이 실험군별로 차이가 조사되지 않았다 (Table 2). GR은 세포질에 GSH의 농도를 유지시키는 역할을 한다. 즉,

GR 활성의 유도는 산화스트레스의 잠재적인 생화학적 지표이다 (Stegeman *et al.*, 1992). GR 활성의 감소는 새로운 글루타티온 분자의 합성에 의해서 채워지지 않는다면 GSH의 고갈을 야기시킨다. 하지만 본 연구에서는 GPx와 더불어 GR의 활성에도 첨가 사료별 특별한 차이가 나타나지 않아 각각의 사료첨가에 따른 해독작용 관련 효소의 유의한 활성 증감이 나타나지 않았다. 따라서, 이러한 glutathione 함량 및 glutathione 포함 효소의 활성 변동을 고려해 볼 때 각각의 첨가사료가 어류의 체내에서 오염원으로 작용하지 않는 것으로 생각되며, 이러한 연구는 좀더 다양한 어종과 다양한 효소반응을 중심으로 연구할 가치가 크다고 하겠다.

감사의 글

이 논문은 2003년도 해양수산부 “수산특정연구개발사업비” 및 2003년도 한국과학재단 “신진연구자 연수지원사업비”의 지원에 의해 연구되었습니다. 현장실험에 도움을 준 제주대학교 해양환경연구소 관계자에게 감사드립니다.

Table 2. Renal glutathione peroxidase and glutathione reductase enzyme activity of olive flounder, *Paralichthys olivaceus* administrated with the different diet supplement

Groups	GPx ^{*1}	GR ^{*2}
	(unit/min/mg protein)	(unit/min/mg protein)
A	103.53 ± 8.43	32.50 ± 3.03
B	108.11 ± 8.25	29.22 ± 2.38
C	103.17 ± 11.99	27.52 ± 2.56
D	103.18 ± 6.23	29.95 ± 3.39
E	96.45 ± 6.59	35.34 ± 1.90
F	92.88 ± 6.62	27.45 ± 2.74
G	110.57 ± 7.27	41.00 ± 7.29

*1 GPx (Glutathione peroxidase)

*2 GR (Glutathione reductase)

Value are means ± SE (n=6).

A : Control, B : 10% Fermentation, C : 30% Fermentation, D : 50% Fermentation, E : 10% Concentration, F : 50% Concentration, G : Fermented sediment.

요 약

양식 산업의 양적 발달에 따라, 이로 인한 배출수 문제는 환경적 측면에서 관심이 증대되고 있다. 특히, 육상 수조식 넙치 양식장에서 배출되는 배출물을 사료 첨가제로 사용하는 것은 환경오염 감소와 자원의 재활용이라는 측면에서 중요한 의미를 가진다. 따라서, 본 연구는 발효물 첨가에 따른 넙치, *Paralichthys olivaceus*의 간 및 신장의 생화학적 스트레스 반응을 조사하였다. 배출물 발효 조건 및 첨가 농도에 따른 간 중량지수, 글루타치온 함량 및 글루타치온 의존 효소활성 등을 조사한 결과 50% 발효구와 50% 농축구에서 대조구와 비교하여 각각 glutathione peroxidase 효소활성과 간 중량지수의 유의적 증가가 관찰되었지만, 이를 제외한 실험군 차이는 나타나지 않았다. 이러한 결과로부터 생화학적 측면에서 발효물 첨가가 간 및 신장 기능과 안전성에 영향을 주지 않는 것으로 평가되며, 양식어의 사료 첨가제로서의 환경적 측면에서 고려할 필요성이 대두된다.

참 고 문 헌

- Ackefors, H. and Enell, M.: Discharge of nutrients from Swedish fish farming to adjacent sea areas. *Ambio*, 19: 28-35, 1990.
- Baker, M. A., Cerniglia, G. J. and Zaman, A.: Microtiter plate assay for the measurement of glutathione and glutathione disulfide in large numbers of biological samples. *Anal. Biochem.*, 190: 360-365, 1990.
- Bell, J. G., Andron, J. W. and Cowey, C. B.: Effect of selenium deficiency on hydroperoxide-stimulated release of glutathione from isolated perfused liver of rainbow trout (*Salmo gairdneri*), *Br. J. Nutr.*, 56: 421-428, 1986.
- Beutler, E.: Red cell metabolism. In: *A Manual of Biochemical Methods*. Grune and Starton, New York, 133 pp, 1984.
- Bradford, M.: A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.*, 72: 248-254, 1976.
- Chandra, S., Ram, R. N. and Singh, I. J.: First ovarian maturity and recovery response in common carp, *Cyprinus carpio* after exposure to carbofuran. *J. Environ. Biol.* 25: 239-249, 2004.
- DiGiulio, R. T., Habig, C. and Gallagher, E. P.: Effects of black river harbour sediments on indices of biotransformation, oxidative stress, and DNA integrity in channel catfish. *Aquat. Toxicol.*, 26: 1-22, 1993.
- Folmar, L. C.: Effects of chemical contaminants on blood chemistry of teleost fish: A bibliography and synopsis of selected effects. *Environ. Toxicol. Chem.*, 12: 337-375, 1993.
- Fournier, D., Bride, J. M., Poirie, M., Berge, J. B. and Plapp, F. W.: Insect glutathione S-transferases: biochemical characteristics of the major forms of houseflies susceptible and resistant to insecticides. *J. Biol. Chem.*, 267: 1840-1845, 1992.
- Hasspieler, B. M., Behar, J. V. and Di Giulio, R. T.: Glutathione dependent defense in channel catfish (*Ictalurus punctatus*) and brown bullhead (*Ameiurus nebulosus*). *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, 28: 82-90, 1994.
- Kosower, N. S. and Kosower, E. N.: The glutathione status of cells. *Int. Rev. Cytol.*, 54: 109-159, 1978.
- Livingstone, D. R.: The fate of organic xenobiotics in aquatic ecosystems: quantitative and qualitative differences in biotransformation by invertebrates and fish. *Comp. Biochem. Physiol. A*, 120: 43-49, 1998.
- Mayer, F. L., Versteeg, D. J., McKee, M. J., Folmar,

- L. C., Graney, R. L., McCume, D. C. and Rattner, B. A.: Metabolic products as biomarkers. In: *Biomarkers: Biochemical, physiological, and histological markers of anthropogenic stress*. Huggett, R. J., Kimerle, R. A., Mehrle, P. M. and Bergman H. L. (Eds.), Lewis Publishers, Boca Raton, 5-86, 1992.
- McDonald, D. G. and Milligan, C. L.: Chemical properties of the blood. In: *Fish Physiology*. Hoar, W. S., Randall, D. J. and Farrell, A. P. (Eds.), Academic Press, San Diego, 55-133, 1992.
- MOMAF: Statistical Yearbook of Maritime Affairs and Fisheries 2004, Ministry of Maritime Affairs and Fisheries, Seoul, 7-22, 2004. (in Korean)
- Moon, S. W., Lee, J. B., Lee, Y. D., Kim, S. J., Kang, B. J. and Go, Y. B.: Recycling marine fish farm effluent by microorganisms. *J. of Aquaculture*, 15: 261-266, 2002. (in Korean)
- Otto, D. M. E. and Moon, T. W.: 3,3',4,4'-tetrachlorobiphenyl effects on antioxidant enzymes and glutathione status in different tissues of rainbow trout. *Parmaicol. Toxicol.*, 77: 281-287, 1995.
- Pacheco, M. and Santos, M. A.: Biotransformation, Endocrine, and Genetic Responses of *Anguilla anguilla* L. to Petroleum Distillate Products and Environmentally Contaminated Waters. *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, 49: 64-75, 2001.
- Payne, J. F., Fancey, L. L., Rahimtula, A. D. and Porter, E. L.: Review and perspective on the use of mixed-function oxygenase enzymes in biological monitoring. *Comp. Biochem. Physiol. C*, 86: 233-245, 1987.
- Poels, C. L. M., Van der Gaag, M. A. and van de Kerkhoff, J. F. J.: An investigation into the long-term effects of Rhine water on rainbow trout. *Water Research*, 14: 1029-1035, 1980.
- Radi, A. A. R., Hai, D. Q., Matkovics, B. and Gabrielak, T.: Comparative antioxidant enzyme study in fresh water fish with different types of feeding behavior. *Comp. Biochem. Physiol. C*, 81: 395-399, 1985.
- Rodriguez-Ariza, A., Dorado, G., Peinado, J., Pueyo, C. and Lopez-Barea, J.: Biochemical effects of environmental pollution in fishes from Spanish South-Atlantic littoral. *Biochem. Soc. Trans.*, 19(3): 301S, 1991.
- Rodriguez-Ariza, A., Peinado, J., Pueyo, C. and Lopez-Barea, J.: Biochemical indicators of oxidative stress in fish from polluted littoral areas. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 50: 2568-2573, 1993.
- Siegers, C. P.: Glutathione and glutathione dependent enzymes. *Progr. Pharmacol. Clin. Pharmacol.*, 7: 171-180, 1989.
- Slooff, W., van Kreijl, C. F. and Baars, A. J.: Relative liver weights and xenobiotic-metabolizing enzymes of fish from polluted surface waters in the Netherlands. *Aquat. Toxicol.*, 4: 1-14, 1983.
- Stegeman, J. J., Brouwer, M., DiGiulio, R. T., Forlin, L., Fowler, B. A., Sanders, B. M. and Van Veld, P. A.: Molecular response to environmental contamination: Enzyme and protein systems as indicators of chemical exposure and effect. In: *Biomarkers: Biochemical, physiological, and histological markers of anthropogenic stress*. Huggett, R. J., Kimerle, R. A., Mehrle, P. M. and Bergman H. L. (Eds.), Lewis Publishers, Boca Raton, 235-335, 1992.
- Wu, R. S. S.: The environmental impact of marine fish culture: towards a sustainable future. *Marine Pollution Bulletin*, 31: 159-166,

1995.

Zhang, J. F., Wang, X. R., Guo, H. Y., Wu, J. C. and Xue, Y. Q.: Effects of water-soluble fractions of diesel oil on the antioxidant defenses of the goldfish, *Carassius auratus* Ecotoxi-

col. Environ. Saf., 58: 110-116, 2004.

Manuscript Received : June 10, 2005

Revision Accepted : July 29, 2005

Responsible Editorial Member : Kwan-Ha Park
(Kunsan Univ.)