

미더덕 추출액을 섭취한 무지개 송어 혈액성상의 변화

정우철 · 이정태 · Grace N Palmos · 강석중¹ · 최병대^{1*}

경상대학교 해양생명과학부 및 ¹해양산업연구소

Received July 6, 2007 / Accepted July 19, 2007

The Change in Hematological Factors of Ascidian (*Styela clava*) Extract Diets Fed Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*). U Cheol Jeong, Jeong Tae Lee, Grace N Palmos, Seok Joong Kang¹ and Byeong Dae Choi^{1*}. *Division of Marine Life Science and ¹Institute Marine Industry, Gyeongsang National University, 445 Inpyeong-dong, Tongyeong 650-160, Korea* – Effects of muscle fluid concentrates from *Styela clava* on fish diets were investigated in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Fish were fed on one of the iso-nitrogenous(48%) and isolipic(20%) feed containing 5 to 20% of muscle fluid concentrates for 8 weeks. Hematological parameters such as hemoglobin, hematocrit, albumin, glucose, total bilirubin, triglyceride and glutamic pyruvate transaminase of the rainbow trout which were fed on the diets varied, but no specific trend became apparent. However, glutamic oxaloacetic transaminase value was significantly higher than that of normal fishes. Therefore, concentrated ascidian fluid which is normally discarded, can be combined with commercial diets for the normal growth of rainbow trout.

Key words – Ascidian extracts, rainbow trout, hematological parameters, diets

서 론

양식 어류의 면역 및 생리학적 상태를 개선하고자 사료에 유용물질을 첨가한 후 일정기간 동안의 생화학적 변화를 통하여 그 효능을 평가하는 많은 연구들이 이루어졌다[16,17]. 면역 활성을 나타내며 구하기 쉽고 경제적 부담도 적은 첨가물질을 탐색한 결과 peptidoglycan[10], *Ulva*[14] 및 *Chlorella* 추출물[12] 등의 첨가가 무지개 송어, 참돔 및 은어의 질병 저항력을 증가시키는 것으로 알려져 있으며, 감초에서 분리된 triterpenoid 화합물인 glycyrrhizin도 나일틸라피아의 성장과 질병 저항성을 향상시키는 것으로 보고되었다[5].

사료첨가제의 효능은 어종이나 사료조성 및 사료품질 등에 따라서 다를 수 있으므로[15], 첨가물은 사용하는 경우에는 반드시 이에 대한 고려가 있어야 한다. 즉, 품질이 우수하고 양식 대상종이 요구하는 영양소나 물질이 충분히 함유된 사료에 첨가제의 사용은 예상했던 만큼 그 효능은 발휘하지 못할 수 있다[8]. 효능이 있다고 해서 첨가제의 종류에 따라서 오히려 부작용이 나타날 수도 있으며, 그에 따른 경제적인 불이익을 초래할 수 있다. 따라서 양식어의 성장, 품질 및 생리상태를 향상시킬 수 있는 첨가제의 효능은 첨가제 종류 및 첨가범위에 따른 생리적인 변화 등을 고려하여 첨가량을 결정하여야 할 것이다.

혈액성상은 어류의 사료조성 및 사육환경과 밀접한 연관이 있으며, 따라서 혈액성상을 통하여 어류의 사육환경을 예측할 수 있다[3]. 이와 같은 자료들은 특정한 환경에 놓여있

는 어류에 가해지는 스트레스와 건강상태를 판가름 하는 지표로서 효과적으로 평가되어 왔다. 본 연구에서는 미더덕을 가공할 때 부산물로 얻어지는 추출액 일정량을 사료에 첨가하고 이들이 어류 혈액성상에 미치는 영향을 조사하였다.

재료 및 방법

실험어

실험에 사용된 무지개 송어(*Oncorhynchus mykiss*)는 경남 합천 대호 송어 양식장에서 성어 약 600 g 정도 중량의 100마리를 분양 받아 각 실험구마다 10마리를 수용하였고, 각 실험구는 duplicate로 하였다.

사육실험

사육 실험은 2006년 5월 2일부터 6월 27일 8주간 국립 경상대학교 해양과학대학 어류영양 및 생리 실험실에 설치된 순환여과시스템의 1 ton 수조에 실험구별로 수용하여 실험을 하였다. 이 때 주수량은 1,000 l/hr(24회/일)가 되도록 하였으며, 용존 산소량은 7 ppm 전후였고, 전 사육 기간 수온은 14±1℃ 범위였다. 먹이 급이는 실험어 체중의 3%에 해당하는 양을 하루 2회, 주 7일간 급이하였다.

사료제조

사료조성은 Table 1과 2에 나타낸 바와 같이 어분을 사용하였고, 어유는 국내시판용 피드 오일을 사용하였다. 비타민과 무기질 성분은 시중에서 판매하는 사료 첨가제를 사용하였고, 기본식이에 미더덕 추출액으로부터 얻어진 농축액(Brix 10.0)을 0%, 5%, 10%, 15%, 20%로 섞어 제조하였다. 제

*Corresponding author

Tel : +82-55-640-3173, Fax : +82-55-648-2038

E-mail : bdchoi@gnu.ac.kr

Table 1. Composition of the experimental basal diets

| Ingredient | Percentage |
|--------------------------|------------|
| Fish meal | 68 |
| Alpha-starch | 12 |
| Flour | 10 |
| Soybean meal | 4 |
| Yeast | 1 |
| Vitamin mix ¹ | 2 |
| Mineral mix ¹ | 1 |
| Feed oil | 2 |
| Total | 100 |

¹Vitamin and mineral mixture were commercially available for fish.

Table 2. Level of each extract concentrates in the experimental diets for rainbow trout(*Oncorhynchus mykiss*)

| Extract concentration | Diets(100 g) |
|-----------------------|---------------------------------------|
| 0% | BD + Water 2.25 l |
| 5% | BD + Water 2.138 l + Extracts 0.112 l |
| 10% | BD + Water 2.026 l + Extracts 0.224 l |
| 15% | BD + Water 1.914 l + Extracts 0.336 l |
| 20% | BD + Water 1.802 l + Extracts 0.448 l |

조한 실험사료는 소량 단위로 비닐 포장하여 질소 충전하여 -20℃의 냉고고에 보관하면서 실험에 사용하였다.

혈청생화학성분 분석

무지개 송어는 마취를 하지 않고 꼬리부분의 미부정맥의 혈관에서 헤파린이 첨가된 1회용 진공혈액채취기를 이용하여 5 ml 채취하여 마이크로튜브에 1 ml를 넣고, 헤마토크리트치(Ht) 및 헤모글로빈량(Hb)를 측정하였고, 나머지 혈액은 microcentrifuge로 4℃, 3,000 rpm에서 15분간 원심분리하여 혈장을 분리한 뒤 곧바로 혈장화학 성분분석을 실시하였다. Ht는 microhematocrit법으로 측정하였고, Hb를 비롯한 알부민(ALB), 포도당(GLU), 트란사아미나제인 AST(GOT) 및 ALT(GPT), 총빌리루빈(T-BIL) 및 중성지방(TG)등 8개 혈장화학성분 분석에는 동물성 생화학 분석장치인 FUJI DPI-CHEM 3000(Fuji photo film Co., Tokyo, Japan)을 이용하였다.

결과 및 고찰

면역 활성을 갖는 기능성 사료조제를 위하여 거제 및 통영 지역에서 양식되고 있는 미더덕을 활용하고자 하였다. 미더덕을 가공하는 중에 얻어지는 체액에는 항균물질을 비롯한 활성물질이 다량 포함되어 있는 것으로 알려져 있기 때문에 [4], 가공 중 얻어진 농축물을 사료 배합시 물과 함께 일정량을 첨가하여 사료를 조제하였다. 조제된 사료의

조단백질 함량은 48.0%, 칼슘과 인의 함량은 2.0% 및 2.7% 함유되어 있어 무지개 송어 사료로 적절하였고, 급이시 섭취행동도 활발하게 나타나 사료로 사용하는 것이 적절한 것으로 여겨졌다.

실험사료 급이 전 사육적용 된 무지개 송어의 혈액과 사료 급이 후 4주 및 8주 후의 결과는 Table 3에 나타내었다. 실험사료 투여기간 동안의 hemoglobin(Hb) 농도와 hematocrit(Ht) 치는 전 사육기간을 통하여 10.5~11.0 g/100 ml 및 31.3~42.7%로 나타났다. 어류에게 스트레스를 가하는 경우 Hb와 Ht 값이 감소하는 것으로 나타났기 때문에[1,2], Hb와 Ht 값의 변화가 없는 것으로 미루어 보아 사료에 따른 스트레스는 없었던 것으로 여겨진다.

무지개 송어 혈청의 알부민(ALB, 1.3~1.7 g/100 ml), 글루코스(GLU, 62.7~103.3 g/100 ml), GPT(15.3~21.0 Unit/l), 총 빌리루빈(T-BIL, 0.2~0.5 mg/100 ml)의 농도는 사육기간 동안 정상적인 어류가 나타내는 수치와 비슷한 값을 보였으나, GOT 함량은 기준치인 8~33 Unit/l을 벗어나 285.1~421.6 Unit/l로 정상어의 수치에 비하여 월등히 높은 값을 보였다. Choi 등[3]의 연구에 의하면 참돔, 감성돔, 돌돔에서 녹간증에 걸린 돔의 혈청검사결과 GOT 값이 324~768.5 Unit/l로 높게 나타났다고 하였다. 그러나 GPT 값은 정상 수치인 4~36 Unit/l 범위 내에 있어 간 대사이상은 아닌 것으로 판단된다. 이는 식물성 단백질을 사용하는 경우 해산어에서 주로 발생하는 독특한 증상이라고 하여 본 실험의 결과와는 차이가 있는 것으로 여겨진다. 어류의 에너지원이 되는 중성지방(TG, 142.5~278.3 mg/100 ml)의 함량은 실험 시작 전 142.5 mg/1000 ml에서 4주 후 202.7~236.7 mg/100 ml, 8주 후 252.4~278.3 mg/100 ml로 증가하는 것으로 나타나 성장에 따른 에너지 소비도 증가하여 정상적인 사료섭취가 이루어진 것으로 여겨진다.

양식 어류의 성장 및 품질개선과 생리적인 기능강화를 위한 천연식물자원 및 한방 생약제제와 같은 각종 첨가제들의 효능에 대한 많은 연구가 이루어졌다[6,11]. 사료에 해조류의 첨가로 어류의 생리기능과 사료효율을 향상시킨다는 보고도 있으며[7,14], 어보산과 고추냉이 줄기 첨가구에서 넙치의 생존율을 높임과 동시에 치어의 성장을 개선시키는 것으로 보고하였다[13]. 이와 같은 연구는 면역 활성을 가지며 경제성이 있는 천연물을 사료 첨가제로 개발함으로써 양식어민이 겪고 있는 대량폐사에 의한 어려움을 극복하기 위한 방안의 하나로 연구되고 있다. 따라서 미더덕 가공시 버려지는 체액 부산물을 배합사료에 20%까지 첨가하더라도 어류성장 및 활성에 영향을 미치지 않는 것으로 나타났다.

감사의 글

본 연구는 해양수산부 수산특정연구개발사업비(과제번호

Table 3. Changes in hematological factors of rainbow trout(*Oncorhynchus mykiss*) which were fed the experimental diets for 8 weeks

| | Weeks | Treatment groups | | | | |
|----------------------|-------|------------------|------------|------------|------------|------------|
| | | Control | 5% | 10% | 15% | 20% |
| Hb (g/100 ml) | 0 | 10.1±0.6 | | | | |
| | 4 | 10.8±0.3 | 11.2±0.5 | 10.7±0.3 | 10.5±0.4 | 10.7±0.4 |
| | 8 | 10.1±0.4 | 10.8±0.3 | 10.3±0.4 | 10.7±0.5 | 11.0±0.5 |
| Ht (%) | 0 | 31.3±2.9 | | | | |
| | 4 | 41.3±1.2 | 40.7±0.6 | 42.7±0.7 | 40.7±0.4 | 39.7±0.4 |
| | 8 | 41.3±0.6 | 42.3±0.7 | 41.3±0.5 | 42.1±0.9 | 40.3±0.4 |
| ALB (g/100 ml) | 0 | 1.1±0.1 | | | | |
| | 4 | 1.4±0.1 | 1.5±0.2 | 1.5±0.5 | 1.4±0.4 | 1.4±0.3 |
| | 8 | 1.3±0.3 | 1.7±0.3 | 1.5±0.2 | 1.5±0.4 | 1.6±0.3 |
| GLU (mg/100 ml) | 0 | 29.7±4.0 | | | | |
| | 4 | 75.7±11.5 | 62.7±11.0 | 70.0±7.0 | 78.7±9.3 | 76.7±12.0 |
| | 8 | 71.7±15.4 | 81.0±29.8 | 83.3±19.6 | 90.0±19.9 | 103.3±21.5 |
| GOT (Unit/l) | 0 | 285.1±54.9 | | | | |
| | 4 | 341.4±76.4 | 356.8±19.8 | 374.1±28.3 | 324.6±63.6 | 395.8±29.7 |
| | 8 | 306.3±84.9 | 419.2±26.9 | 421.6±43.8 | 357.5±27.7 | 331.5±43.1 |
| GPT (Unit/l) | 0 | 15.3±2.3 | | | | |
| | 4 | 15.3±3.5 | 15.7±3.1 | 18.7±5.9 | 20.3±5.4 | 19.3±2.1 |
| | 8 | 15.3±2.3 | 21.0±2.6 | 17.5±6.6 | 16.3±5.1 | 16.3±6.2 |
| T-BIL (mg/100 ml) | 0 | 0.2±0.0 | | | | |
| | 4 | 0.3±0.0 | 0.3±0.1 | 0.5±0.2 | 0.5±0.2 | 0.3±0.1 |
| | 8 | 0.4±0.1 | 0.5±0.2 | 0.3±0.1 | 0.3±0.1 | 0.3±0.1 |
| TG (mg/100 ml) | 0 | 142.5±16.3 | | | | |
| | 4 | 225.6±10.6 | 202.7±21.2 | 214.5±19.2 | 206.3±12.7 | 236.7±22.5 |
| | 8 | 254.1±50.9 | 265.6±31.1 | 275.5±20.6 | 252.4±24.7 | 278.3±29.8 |

호: MNF22004012-3-2-SB010)의 지원에 의하여 이루어졌으며, 이에 감사드립니다.

참 고 문 헌

1. Cho, K. S., E. Y. Min and J. C. Kang. 2002. Changes of hematological constituents in the Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* exposed to HCB and PCBs. *J. Korean Fish Soc.* **35**, 110-114.
2. Choi, H. S., S. R. Park and C. G. Jung. 2002. Biochemical analysis of blood serum from wintering seabream with green liver syndrome. *J. Fish Pathol.* **15**, 43-48.
3. Gabriel, U. U., G. N. O. Ezeri and O. O. Opabunmi. 2004. Influence of sex, source, health status and acclimation on the hematology of *Clarias gariepinus* (Burch, 1822). *Afr. J. Biotechnol.* **3**, 463-467.
4. Gandra, M., M. C. M. Cavalcante and M. S. G. Pavao. 2000. Anticoagulant sulfated glycosaminoglycans in the tissues of the primitive chordate *Styela plicata* (Tunicate). *Glycobiology* **10**, 1333-1340.
5. Jang, S. I., Y. J. Jo and J. S. Lee. 1992. Effects of vitamins and glycyrrhizin added to oxidized diets on the growth and on the resistance to *Edwardsiella* infection of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. *J. Aquacult.* **5**, 143-155.
6. Kim, D. S., J. H. Kim, C. H. Jong, S. Y. Lee, S. M. Lee and Y. B. Moon. 1998. Utilization of obosan (dietary herbs) I. Effects on survival, growth, feed conversion ratio and condition factor in olive flounder, *Paralichthys olivaceus*. *J. Fish Pathol.* **11**, 213-221.
7. Lee, K. H., Y. S. Lee, J. H. Kim and D. S. Kim. 1998. Utilization of obosan (dietary herbs) II. Muscle quality of olive flounder, *Paralichthys olivaceus* fed with diet containing obosan. *J. Aquacult.* **11**, 319-325.
8. Lee, S. M., D. J. Kim, J. K. Kim, S. B. Hur, J. K. Lee and H. K. Lim. 2000. Effects of *Kluyveromyces fragilis*, *Candida utilis* and brewer's yeast as an additive in the diet on the growth and body composition of juvenile Korean rockfish (*Sebastes schlegelii*). *J. Korean Fish Soc.* **33**, 463-468.
9. Lindsay, G. J. H., M. J. Walton, J. W. Adron, T. C. Fletcher, C. Y. Cho and C. B. Cowey. 1984. The growth of rainbow trout (*Salmo gairdneri*) given diets containing chitin and its relationship to chitinolytic enzymes and chitin digestibility. *Aquaculture* **37**, 315-334.
10. Matuso, K. and I. Miyazono. 1993. The influence of long-term administration of peptidoglycan on disease resistance and growth of juvenile rainbow trout. *Nippon Suisan Gakkaishi* **59**, 1377-1379.

11. Nakagawa, H. S., E. Kasahara, T. Uuo, T. Minami and K. Akira. 1981. Effect of *Chlorella* extract supplement in diet on resisting power against disease of culture ayu. *Aquaculture* **29**, 109-116.
12. Nematipour, G. R., H. Nakagawa, K. Nanba, S. Kasahara, A. Tsujimura and K. Akira. 1987. Effect of *Chlorella*-extract supplement to diet on lipid accumulation of ayu. *Nippon Suisan Gakkaishi* **53**, 1687-1692.
13. Park, S. U., M. G. Kwon, Y. H. Lee, K. D. Kim, I. S. Shin and S. M. Lee. 2003. Effects of supplemental *Undaria*, obo-san and wasabi in the experimental diets on growth, body composition, blood chemistry and non-specific immune response of juvenile flounder *Paralichthys olivaceus*. *J. Aquacult.* **16**, 210-215.
14. Satho, K. I., H. Nakagawa and S. Kasahara. 1987. Effect of *Ulva* meal supplementation on disease resistance of red sea bream. *Nippon Suisan Gakkaishi* **53**, 1115-1120.
15. Shiau, S. Y. and Y. P. Yu. 1999. Dietary supplementation of chitin and chitosan depresses growth in tilapia, *Oreochromis niloticus* x *O. aureus*. *Aquaculture* **179**, 439-446.
16. Wang, Y., C. F. Chang, J. Chou, H. L. Chen, X. Deng, B. K. Harvey, J. L. Cadet and P. C. Bickford. 2005. Dietary supplementation with blueberries, spinach, or *Spirulina* reduces ischemic brain damage. *Exp. Neurol.* **193**, 75-84.
17. Zhou, Z. P., L. N. Liu, X. L. Chen, J. X. Wang, M. Chen, Y. Z. Zhang and B. C. Zhou. 2005. Factors that effect antioxidant activity of C-phycoyanins from *Spirulina platensis*. *J. Food Bichem.* **29**, 313-322.