

사료내 Paprika와 동물플랑크톤 혼합첨가가 흰줄납줄개 *Rhodeus ocellatus*의 Carotenoid 축적 및 체색에 미치는 영향

이충열, 배기민, 이상민*
강릉대학교 해양생명공학부

Effect of Paprika and Zooplankton Supplementation in the Diets on Carotenoid Deposition and Skin Pigmentation of the Rose Bitterling *Rhodeus ocellatus*

Choong-Ryul Lee, Ki-Min Bae and Sang-Min Lee*

Faculty of Marine Bioscience & Technology, Kangnung National University, Gangneung 210-702, Korea

This study was conducted to evaluate the effect of dietary supplementation of paprika powder as carotenoid source with three different zooplankton on carotenoid deposition and skin pigmentation of rose bitterling *Rhodeus ocellatus*. Two replicate groups of fish (initial average weight 0.8 g) were fed the five experimental diets containing 5% paprika (P5) and mixture of 5% paprika with 3% three zooplankton of water flea *Moina macrocopa* (P5M3), *Artemia* nauplius *Artemia* sp. (P5A3) and rotifer *Brachionus plicatilis* (P5R3) and without supplementation of carotenoid source (Con) for 10 weeks. Survival of fish among the treatments was not affected by dietary supplementation. Total carotenoid contents of whole body in fish fed the diets containing 3% zooplankton was higher than that of fish fed other diets. Especially, the highest total carotenoid contents of whole body was observed in fish fed the P5A3 diet. Similarity, Lightness, a^* and b^* values of the fish fed the diets containing 3% zooplankton tended to be higher than that in fish fed control and P5 diets. The apparent color intensity of skin and fin in fish fed the diets containing paprika with *Artemia* nauplius and rotifer was better than those of fish fed other diets. The results of this study suggest that dietary supplementation of paprika with *Artemia* nauplius and rotifer can improve skin pigmentation of rose bitterling.

Keywords: Pigmentation, Rose Bitterling *Rhodeus ocellatus*, Carotenoid, Zooplankton, Paprika

서 론

어류의 근육 및 표피의 황적색은 carotenoid 색소에 의해 결정된다. 그러나 carotenoid 색소는 어류 및 동물에서 합성되지 않으며 식물이나 미생물에서 합성된다. 따라서 어류의 체내에 공급되는 carotenoid 색소는 사료로부터 공급되어야 한다 (Guillaume et al., 2001). 무지개 송어 및 참돔의 배합사료의 색소원료로써 가장 많이 사용되는 것은 합성 astaxanthin 또는 cantaxanthin으로 색택개선 효과는 좋으나 가격이 비싼 단점이 있다(Choubert and Storebakken, 1989; Booth et al., 2004). 값싼 천연 색소원료의 경우 어류에 있어서 소화율이 낮아 많이 사용되지 않지만, 일부 세포벽이 얇은 식물플랑크톤과 효모는 천연의 색소원료로 사용되기도 한다(Ciferri, 1983; Becker and

Venkataraman 1984). 식물의 세포벽은 섬유질로 구성되어 있어서 색소원료로 공급할 경우 원료 이용효율이 낮아질 수 있다. 특히, 관상어류를 사육할 때 분의 배설량이 많아져 사육수가 탁해지거나 수질오염이 발생할 수 있다.

배합사료내 carotenoid와 n-3 HUFA를 다량으로 함유하고 있는 식물성 원료를 이용하여 대상어종의 성장, 색택개선 및 필수 지방산에 관한 연구가 수행되었다(Gouveia et al., 2003; Khozin-Goldberg et al., 2006; Atalah et al., 2007; Kim et al., 2008). 이러한 연구에서, 성장과 생존은 사료에 식물성 원료의 함량이 증가함에 따라 대체적으로 낮아지는 경향을 보였으며, 이는 식물세포벽인 cellulose 함량이나 영양소 불균형 때문으로 보고되고 있다(Sommer et al., 1991; Sommer et al., 1992; Kim et al., 2006). 일부 초식성 어류를 제외한 대부분의 어류는 cellulose 소화가 어렵기 때문에 섬유질이 많이 함유된 식물성 원료의 소

*Corresponding author: smlee@kangnung.ac.kr

화율을 높이기 위한 많은 연구가 수행되고 있다. 세포벽을 파괴시키는 방법에는 물리적인 방법, 효소학적 방법 및 화학적 방법이 주로 사용되고 있는데(Moon and Kim, 1998) 물리적인 방법 보다는 생물학적 및 화학적 방법이 식물성 원료의 세포벽을 용해시키기 위해 더 효율적이라고 보고되어 있다(Lee et al., 2000).

관상어류의 사료 색소원료 중에서 paprika는 carotenoid인 capsanthin과 capsorbin을 다량으로 함유하고 있어서 배합사료 내 paprika 분말의 첨가가 색택을 개선한다는 연구 결과가 보고되었다(Tsushima et al., 1999; Hancz et al., 2003; Kim et al., 2006; Lee and Lee, 2008). 이러한 천연 색소원료들은 합성 carotenoid에 비해 가격이 저렴하나, 세포벽이 섬유질로 구성되어 있어 소화율이 낮을 수 있다(Park et al., 2005). 동물플랑크톤은 식물세포벽에 존재하는 섬유질을 분해할 수 있는 cellulase를 생성할 수 있으며 식물플랑크톤을 주로 섭취하여 생명을 유지한다(Chun et al., 1996). 본 실험은 실험사료에 paprika 분말과 동물성 플랑크톤인 *Artemia nauplius* (*Artemia* sp.), water flea *Moina macrocopa* 및 해수산 rotifer *Brachionus plicatilis*를 혼합 첨가하여 흰줄납줄개의 생존, carotenoid 축적 및 피부의 색도를 분석하였다.

재료 및 방법

실험사료

실험사료는 Table 1에 표시한 바와 같이 단백질원으로 어분

을 사용하여 단백질 함량이 45%, 지질원으로 오징어 간유와 대두유를 사용하여 지질 함량을 7% 전후가 되도록 설계하였다. 색소원료로 paprika 분말을 대조사료(Con)를 제외한 모든 사료에 5%씩 각각 첨가하였다. 또한 paprika 분말과 동물플랑크톤의 상호작용을 알아보기 위하여 paprika 분말 첨가사료(P5), paprika 분말 첨가사료에 water flea *M. macrocopa* (P5M3), *Artemia nauplius* (*Artemia* sp.)(P5A3) 및 rotifer *B. plicatilis* (P5R3)를 동결건조 한 후, 각각 3%씩 첨가한 총 5개의 실험사료를 제조하였다. 사료 원료들을 잘 혼합한 후, 물을 첨가하여 초파로 압출 성형한 후 -25°C 냉동고에 보관하였다. 실험사료의 총 carotenoids 함량은 대조사료에서 0.07 mg/100 g으로 가장 낮았으며, paprika 분말과 동물플랑크톤을 혼합첨가한 사료에서는 1.30~1.70 mg/100 g으로 나타났다.

실험어 및 사용관리

실험어인 흰줄납줄개 *Rhodeus ocellatus*를 강릉대학교 어류영양대사연구실로 운반하여 2주간 대조사료(Con)를 1일 2회 공급하며 예비 사육하였다. 사육실험은 평균체중 0.8 g 전후의 실험어를 무작위로 선별하여 27마리씩 2반복으로 순환여과장치 부착된 10개의 실험수조(40 L, 유리수조)에 임의 배치하였다. 사육수의 여과는 생물학적여과필터를 사용하였으며, 배설물은 siphon으로 제거하였다. 사육기간은 10주간으로 1일 2회(09:00 h, 18:00 h) 반복으로 실험사료를 공급하였으며, 사육수온은 자동온도조절기를 사용하여 25°C로 유지하였고, 광주기는 자연조건으로 하였다.

Table 1. Ingredients and proximate composition (%) of the experimental diets

Ingredients(%)	Diets				
	Con	P5	P5M3	P5A3	P5R3
Fishmeal	54.0	56.0	53.0	53.0	53.0
<i>Moina macrocopa</i>	-	-	3.0	-	-
<i>Artemia</i> sp.	-	-	-	3.0	-
<i>Brachionus plicatilis</i>	-	-	-	-	3.0
Paprika powder (red)	-	5.0	5.0	5.0	5.0
Wheat flour	39	32.5	32.5	32.5	32.5
Squid liver oil	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
Soya-oil	2.0	1.5	1.5	1.5	1.5
Vitamin premix ¹	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5
Mineral premix ²	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0
Choline	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
Chemical analysis (% of dry matter basis)					
Crude protein	44.3	45.5	45.8	44.7	46.5
Crude lipid	7.5	6.7	7.3	7.5	6.9
Ash	8.2	8.6	8.4	8.7	8.7
Total carotenoids (mg/100 g)	0.07	1.30	1.70	1.60	1.30

¹Vitamin mix. contained the following diluted in cellulose (g/kg mix): ascorbic acid, 92.7; α-tocopheryl acetate, 14.5; thiamin, 2.1; riboflavin, 7.0; pyridoxine, 1.4; niacin, 27.8; Ca-D-pantothenate, 9.7; myo-inositol, 139.1; D-biotin, 4.2; folic acid, 0.5; p-amino benzoic acid, 13.9; K3, 1.4; A, 0.6; D3, 0.002; choline chloride, 278.3; cyanocobalamin, 0.003.

²Mineral mix. contained the following ingredients (g/kg mix): MgSO₄·7H₂O, 80; NaH₂PO₄·2H₂O, 370; KCl, 130; Ferric citrate, 40; ZnSO₄·7H₂O, 20; Ca-lactate, 356.5; CuCl, 0.2; AlCl₃·6H₂O, 0.15; KI, 0.15; Na₂Se₂O₃, 0.01; MnSO₄·H₂O, 2; CoCl₂·6H₂O, 1.

시료채취, 일반성분 및 색도 분석

실험 시작시에 총 carotenoids 분석, 색도색차계 분석 및 디지털카메라 촬영을 위하여 실험어 20마리를 무작위로 sampling 하였다. 총 carotenoids 분석은 시료를 냉동(-25°C)보관하였다가 실시하였으며, 색도색차계 분석과 디지털카메라 촬영은 실험 현장에서 수행하였다. 사육실험 종료시에 각 실험수조에서 3마리를 무작위로 선별하여 시각적 평가를 위해 디지털카메라를 사용하여 사진 촬영을 실시하였으며, 총 carotenoids 분석 시료는 생존한 모든 개체를 사용하였다. 실험사료의 일반성분은 AOAC (1990)의 방법에 따라 조단백질(N×6.25)은 Auto Kjeldahl System (Buchi B-324/435/412, Switzerland; Metrohm 8.719/806, Switzerland)을 사용하여 분석하였고, 조지질은 ether 추출법, 수분은 105°C의 dry oven에서 6시간 건조 후 측정하였다. 회분은 550°C의 회화로에서 4시간 동안 회화 후 측정하였다. 총 carotenoids 분석은 Kim et al. (2006)이 사용한 방법으로 실시하였다.

색도는 색도색차계(Minolta Model CR-300, Japan)를 사용하여 각 실험수조에서 5마리씩 무작위로 채포하여 아가미 뒤쪽 측면을 측정하였다. 색도 측정 항목은 L^* (lightness), a^* (red/green chromaticity) 및 b^* (yellow/blue chromaticity)로, standard white tile의 반사율은 $L=95.91$, $a^+=0.09$ 및 $b^+=2.02$ 를 기준으로 하였다.

통계처리

결과의 통계처리는 SPSS Version 14 (SPSS, Michigan Avenue, Chicago, IL, USA) program을 사용하여 One-way ANOVA-test를 실시하였다.

결과 및 고찰

사육실험 10주 후, 흰줄납줄개의 생존율(Fig. 1)은 모든 실험구에서 유의한 차이는 없었다($P>0.05$). 본 실험에서 실험사료의 총 carotenoids 함량은 대조구가 다른 실험구에 비해 낮았지만, 생존율에 차이가 없는 것으로 미루어 흰줄납줄개 배합사료 내 총 carotenoids 함량은 생존율에 영향을 미치지 않는 것으로 판단된다. 대상어종과 사료조성은 다르지만 색소원료로써 paprika를 사용한 이전의 연구 결과에서도 생존율이 본 실험과 유사한 값이 보고된 바 있다(Kim et al., 2006; Lee and Lee, 2008).

사육실험 종료 후 전어체의 총 carotenoids 함량을 Fig. 2에 나타내었다. 본 연구에서 동물플랑크톤 첨가구의 총 carotenoids 함량(5.14~6.45 mg/100 g)은 대조구(3.57 mg/100 g)와 paprika 단독 첨가구인 P5 실험구(4.35 mg/100 g)보다 높은 함량을 나타내었으며, artemia 첨가구에서 가장 높은 함량(6.45 mg/100 g)을 보였다. 이러한 경향으로 볼 때, 비록 전어체의 총 carotenoids 함량이 실험구간에 유의한 차이를 보이지 않았지만, 동물플랑크톤의 첨가가 carotenoid 축적에 영향을 미치는 것으로 판단된

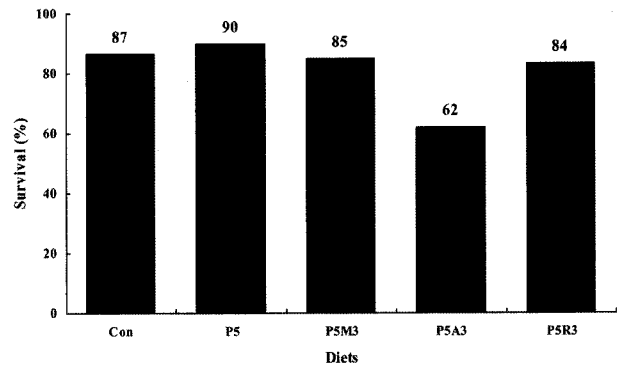


Fig. 1. Survival of rose bitterling fed the experimental diets for 10 weeks.

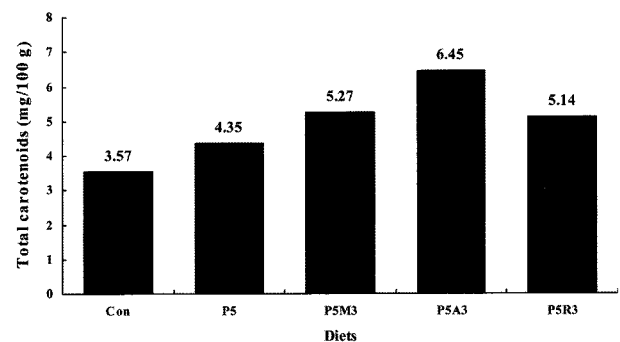


Fig. 2. Total carotenoid contents (mg/100 g) in whole body of rose bitterling after feeding the experimental diets for 10 weeks.

다. 전어체내 carotenoid 축적은 색소원료, 색소원료의 함량, 사육기간, 어체 크기, 사료 지질, 조직 및 환경적인 요인 뿐만 아니라 색소원료의 소화율에 따라 달라질 수 있다(Guillaume et al., 2001). 본 실험에서 paprika와 동물플랑크톤의 혼합 첨가구에서 어체 carotenoid 축적률이 paprika 단독 첨가구 및 대조구보다 높은 것은 동물플랑크톤이 함유하고 있는 cellulase와 같은 소화효소나 미지의 물질에 의한 것으로 보인다. 즉, 동물성 플랑크톤에 함유된 cellulase가 paprika의 세포벽을 파괴함으로써 paprika에 함유된 영양소나 색소의 이용성이 높아진 것으로 생각된다. Chun et al. (1996)의 보고에 의하면 rotifer의 경우 cellulase로 chlorella의 세포벽을 분해함으로써 세포내의 영양소

Table 2. Chroma values (mean±S.E. of replications) of fish fed the experimental diets for 10 weeks

Diets	Chroma values		
	HL	a^*	b^*
Initial	57.86	1.54	-3.47
Con	62.62±1.30	0.30±0.28	-3.61±0.99
P5	62.02±0.58	0.21±0.18	-3.68±0.01
P5M3	65.57±1.09	0.58±0.78	-1.45±0.91
P5A3	63.86±4.15	0.50±0.64	-1.88±1.10
P5R3	65.61±4.32	0.74±0.61	-2.36±0.69

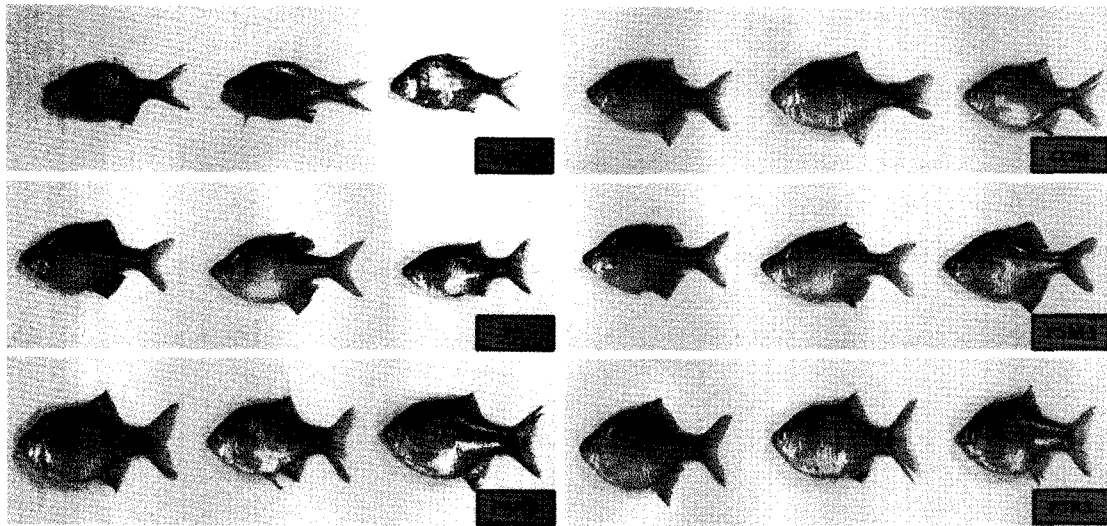


Fig. 3. Change of body color in rose bitterling fed the experimental diets for 10 weeks.

를 효율적으로 이용할 수 있다고 보고하였다.

10주간 사육 실험 후, 색도색차계 분석 값을 Table 2에 표시하였으며, 모든 실험구간에 유의한 차이를 보이지 않았다($P>0.05$). 그러나 수치상으로 볼 때, 대조구 및 P5 실험구의 a^* 값은 0.21~0.30으로 동물플랑크톤을 첨가한 P5M3, P5A3 및 P5R3 실험구의 0.50~0.74보다 낮은 값을 보여 paprika와 동물플랑크톤의 혼합첨가가 피부 채색을 붉게 하는데 도움이 되는 것으로 판단된다. HL 값은 62.02~65.61 범위로 모든 실험구에서 유사하였다. 본 실험에서 최초 a^* 값과 비교하여 실험종료시의 a^* 값이 낮은 것은 사육실험 초기가 흰줄납줄개의 산란기와 유사한 시기여서 혼인색이 발현되었던 것으로 보인다. b^* 값은 최초에 비해 다소 높은 값을 보였으며, b^* 값도 a^* 와 유사하게 대조구 및 P5 실험구(-3.68~-3.61)보다 동물플랑크톤 혼합첨가구(-2.36~-1.45)에서 다소 높은 경향 보였다.

어류 외관을 사진 촬영한 결과에서 대조구에 비하여 사료내 색소원인 paprika와 동물플랑크톤을 혼합첨가 실험구의 어류 지느러미에 붉은색 계열의 색이 더 선명하게 변화한 것을 확인할 수 있었다(Fig. 3). 특히, P5A3 실험구에서 붉은 색이 더 선명하였으며, P5R3 실험구 순으로 나타났다. P5M3 실험구와 P5 실험구에서는 큰 차이가 없었지만, 대조구에 비하여 붉은색이 더 선명하였다. 색도색차계 분석결과와 사진 촬영 결과로 미루어 보아 배합사료내 색소원료와 동물플랑크톤의 혼합첨가가 붉은 색택 개선에 효과가 있음을 알 수 있다. 본 실험과 유사하게 Ahmadi et al. (2005)은 동물플랑크톤의 일종인 gammarus를 무지개송어 사료에 첨가하여 실험한 결과 동물성 플랑크톤 2~4% 첨가가 무지개송어 근육의 색택에 효과가 있다고 보고하였다.

Lee and Lee (2008)와 Kim et al. (2006)이 피라미, 버들붕어 및 쉬리를 대상으로 수행한 연구에서 배합사료내 paprika 첨

가가 피부색택에 효과가 있음을 증명하였으나, cellulase로 구성된 세포벽으로 인하여 분배설량이 많은 문제점을 제기하였다. 본 실험의 경우에도 분 배설량이 감소하는 효과는 볼 수 없었으나 동물플랑크톤 혼합 첨가가 paprika 이용성 향상에 긍정적인 효과가 기대된다. 이상의 결과로부터, 흰줄납줄개 배합사료내 색소원으로 paprika와 동물플랑크톤 혼합첨가는 대조구 및 paprika 단독 첨가구보다 붉은 색을 더 선명하게 유지하는데 도움이 되었고, 특히 Artemia nauplius 또는 rotifer 첨가가 좋을 것으로 판단된다.

요 약

본 연구는 사료내 색소원으로 paprika와 동물플랑크톤 혼합첨가가 흰줄납줄개의 carotenoid 축적 및 색택에 미치는 영향을 조사하였다. 대조사료(Con)를 제외한 모든 실험사료에 paprika 분말 5%를 첨가하고, paprika 분말과 동물플랑크톤의 상호작용을 알아보기 위하여 paprika 분말만 첨가한 실험사료(P5), P5사료에 water flea Moina macrocopa 3% 첨가사료(P5M3), Artemia nauplius (Artemia sp.) 3% 첨가사료(P5A3), rotifer Brachionus Plicatilis 3% 첨가사료(P5R3)로 총 5개의 실험사료를 제조한 후, 2반복으로 10주간 사육실험 하였다. 실험종료 후, 모든 실험구간에서 생존율의 차이는 없었으며, 총 carotenoids 함량은 동물플랑크톤이 첨가된 실험구에서 높은 다소 높은 값을 보였다. 특히, P5A3 실험구에 가장 높은 값을 나타냈다. 흰줄납줄개의 색택은 paprika와 동물플랑크톤 혼합 첨가한 실험구가 대조구 및 P5 실험구에 비해 붉은색이 더 선명하였다. 이상의 결과를 고려할 때, 흰줄납줄개의 배합사료내 paprika와 동물플랑크톤의 혼합첨가는 붉은 색 개선에 도움이 되었고, 특히 Artemia nauplius 또는 rotifer 첨가가 좋을 것으로 판단된다.

감사의 글

본 연구는 국토해양부의 한국 Sea Grant 사업비 지원으로 수행되었으며, 이에 감사드립니다.

참고문헌

- Ahmadi, M. R., S. H. Safi, B. Bjerkeng, A. Gerami and R. Khodarahmi, 2005. Caspian sea gammarus (*Pontogammarus maoticus*) as a carotenoid source for muscle pigmentation on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Iranian J. Fish. Sci., 5, 1-12.
- AOAC, 1990. Official methods of analysis. 15th edition. Association of official analytical chemists. arlington, Virginia. pp. 1298.
- Atalah, E., C. M. Hernandez Cruz, M. S. Izquierdo, G. Rosenlund, M. J. Caballero, A. Valencia and L. Robaina, 2007. Two microalgae *Cryptocodinium cohnii* and *Phaeodactylum tri-cornutum* as alternative source of essential fatty acids in starter feeds for seabream (*Sparus aurata*). Aquaculture, 270, 178-185.
- Becker, E. W. and L. V. Venkataraman, 1984. Production and utilization of the blue green alga *Spirulina* in India. Biomass, 4, 105-125.
- Booth, M. A., R. J. Warner-Smith, G. L. Allan and B. D. Glen-cross, 2004. Effects of dietary astaxanthin source and light manipulation of the skin colour of Australian snapper *Pagrus auratus* (Bloch and Schneider, 1801). Aquacult. Res., 35, 182-190.
- Choubert, G. and T. Storebakken, 1989. Dose response to astaxanthin and canthaxanthin pigmentation of rainbow trout fed various dietary carotenoid concentrations. Aquaculture, 81, 69-77.
- Chun, C.-Z., H.-G. Park, S.-B. Hur and Y.-T. Kim, 1996. Biochemical studies of an endoglucanase from marine rotifer, *Brachionus plicatilis*. J. Aquacult., 9, 453-459.
- Ciferri, O., 1983. *Spirulina*, the edible microorganism. Microbiol Rev., 47, 551-578.
- Gouveia, L., P. Rema, O. Pereira and J. Empis, 2003. Colouring ornamental fish (*Cyprinus carpio* and *Carassius auratus*) with microalgal biomass. Aquacult. Nutr., 9, 123-129.
- Guillaume, J., S. Kaushik, P. Bergot and R. Metailler, 2001. Nutrition and feeding of fish and crustaceans. Springer Verlag, pp. 183-196.
- Hancz, C., I. Magyary, T. Molnar, S. Sato, P. Horn and N. Tanguchi, 2003. Evaluation of color intensity enhanced by paprika as feed additive in goldfish and koi carp using computer-assisted image analysis. Fish. Sci., 69, 1158-1161.
- Khazin-Goldberg, I., Z. Cohen, M. Pimental-Leibowitz, J. Nechev and D. Zilberg, 2006. Feeding with arachidonic acid-rich triacylglycerols from the microalga *Parietochloris incisa* improved recovery of guppies from infection with *Tetrahy-mena* sp. Aquaculture, 255, 142-150.
- Kim, S.-R., C.-R. Lee and S.-M. Lee, 2006. Effect of dietary supplementation of paprika and *Spirulina* on pigmentation of swiri *Coreoleuciscus splendidus*. J. Aquacult., 19, 261-266.
- Kim, Y.-O., J.-Y. Jo and S.-Y. Oh, 2008. Effects of dietary *Spirulina*, *Chlorella*, and astaxanthin on the body color of red- and white-colored Carp, *Cyprinus carpio*. J. Kor. Fish. Soc., 41, 193-200.
- Lee, S.-M., D. J. Kim, K. D. Kim, J. K. Kim and J. H. Lee, 2000. Growth and body composition of larval ayu (*Plecoglossus altivelis*) fed the micro-diets containing *Khuyveromyces fragilis* and *Candida utilis*. J. Kor. Fish. Soc., 33, 20-24.
- Lee, C.-R. and S.-M. Lee, 2008. Effect of dietary supplementation of pigment sources on pigmentation of round tailed paradise fish *Macropodus chinensis* and pale chub *Zacco platypus*. J. Aquacult., 21, 213-217.
- Moon, J.-H. and J.-K. Kim, 1998. The disruption of yeast cell wall by chemical treatment. Kor. J. Life Sci., 8, 197-202.
- Park, J.-H., C.-S. Kim and S.-K. Noh, 2005. The effect of fresh paprika and paprika powder dried by far-infrared ray on inhibition of lipid oxidation in Lard Model System. Kor. J. Food Cook. Sci., 21, 475-481.
- Sommer, T., F. M. L. Da Souza and N. M. Morrissy, 1992. Pigmentation of adult rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, using the green alga *Haematococcus pluvialis*. Aquaculture, 106, 63-74.
- Sommer, T., W. T. Potts and N. M. Morrissy, 1991. Utilization of microalgal astaxanthin by rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Aquaculture, 94, 79-88.
- Tsushima, M., H. Nemoto and T. Matsuno, 1999. The accumulation of pigments from paprika and other sources in the integument of gold fish *Carassius auratus*. Fish. Sci., 64, 656-657.

원고접수 : 2월 3일

심사완료 : 2월 10일

수정본 수리 : 2월 12일