

감귤박 및 감태추출물의 사료첨가제 급여에 따른 둥근전복 (*Haliotis discus discus*)의 성장 및 생리적 변화

좌민석·여인규[†]

제주대학교 해양과학대학 수산생명의학전공

Effects of dietary supplementation with citrus pomace and *Ecklonia cava* residue on the physiological changes and growth of disk abalone, *Haliotis discus discus*

Min-Seok Jwa and In-Kyu Yeo[†]

Department of Marine life Science, Jeju National University, Jeju 690-756, Korea

Here, we report the physiological changes and growth in disk abalone, *Haliotis discus discus*, in relation to dietary supplementation with citrus pomace (CP) 6%, *Ecklonia cava* residue (ECR) 6%, and CP + ECR (3% + 3%). The composition and nutrient content, survival rate and growth rate were measured 0, 4, 8 and 12 weeks after feeding the supplemented diets of CP and/or ECR. Moreover, the experiment of low salinity stress (25psu) for environmental resistance was examined for a period of 48 hours after feeding the supplemented diets for 12 weeks. The activities of superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), lysozymes, respiratory burst, and phenoloxidase were measured. The moisture content and crude protein condition of the body were increased with the addition of ECR only ($P < 0.05$). We observed higher levels of survival in the experimental group compared with the control group. Moreover, the growth disk abalone that were fed a diet containing ECR was higher compared with the control group. However, the growth of abalone fed a diet containing CP was similar to the control group. With a rearing condition of low salinity stress, survival rate and lysozyme activity were increased in the ECR group compared with the control group. Dietary ECR reduced the level of CAT activity to approximately 30% of the control, however the level of CAT activity in the ECR group was similar to the start level of the previous stress. These results suggest that dietary ECR gives rise to an enhanced immunity in disk abalone, as a result of the decrease in CAT and lysozyme activity in particular. Accordingly, the growth and survival rate were increased by feeding an ECR-supplemented diet in the rearing of disk abalone, *Haliotis discus discus*.

Key words: Disk abalone (*Haliotis discus discus*), Citrus pomace, *Ecklonia cava* residue, Salinity stress

전복은 단백질과 비타민이 풍부하여 피부미용,

자양강장, 산후조리 등에 효능이 있을 뿐 아니라, 특히 타우린이 풍부하여 간장보호, 피로회복 및 심근경색에 대한 예방효과를 가지고 있다. 전복양식에 대한 관심이 높아짐에 따라 남해안 및 제주도에

[†]Corresponding author: In-Kyu Yeo
Tel: +82-64-754-3474, Fax: +82-64-756-3493
E-mail: ikyeo99@jejunu.ac.kr

서 육상수조 및 가두리 양식장이 현저히 증가되고 있으며, 전복양식에 있어 가장 중요하게 고려되어야 할 것은 대상 종에 적합한 서식환경, 질병과 성장 효과를 높일 수 있는 먹이 공급이다. 이러한 외부 요인들 중 환경이나 질병은 자연 의존적인 반면에 사료는 양어가들이 적절히 조절할 수 있고, 특히 사료는 양식 경영비의 절반 이상을 차지하는 중요한 요소로서 값싸고 질 좋은 사료의 안정적 확보가 양식의 성패를 좌우할 수 있는 중요한 요인이다.

전복 종묘생산은 부착기 이후부터 부착규조가 붙은 파판에 부착시켜 규조를 주 먹이로 사육하여 각장 1 cm 가까이 키운 후에는 파판에서 박리하여 중간 육성하거나 바다에 방류하고 있다. 전복 종묘를 바다에 방류하면 생존율이 50% 이하로 낮지만 육상수조 등에서 중간 육성할 경우에는 생존율이 훨씬 높아지는 것으로 알려져 있다. 하지만 전복의 육성용 먹이로는 주로 생미역, 생파래, 생다시마와 같은 천연 먹이를 사용하다가 여름에는 염장 미역이나 염장다시마를 주 먹이로 사용하고 있는 실정이다. 이러한 천연먹이는 공급이 불안정할 뿐 아니라 가격의 변동이 심하고, 성장 효과 역시 배합사료로 사육하는 것보다 낮은 것으로 보고되어(Kim et al., 1998; Lee et al., 1998a, b, c; Viana et al., 1993), 체계적인 전복 양식 발전에 제한적인 요인이 되고 있다. 이에 전복 사료 개발에 관한 연구들이 이미 외국에서 일부 수행되어 왔으며(Mai et al., 1995a, b; Uki et al., 1985a, b; Uki et al., 1986a, b), 국내에서도 국내 실정에 맞는 경제적인 배합사료를 개발하기 위해서 일련의 연구들이 수행되어왔다(Lee et al., 1997; Lee et al., 1998a, b, c; Lee and Park, 1998; Cho et al., 2008).

감태는 갈조식물문(phaeophyta) 갈조식물강(phaeophyceae) 다시마목(laminariales) 다시마과(laminariaceae)에 속하는 다년생 갈조류로 모자반속과 함께 우리나라에서 가장 큰 해조이며 최근 감태에 많이 들어 있는 폴리페놀 물질인 플로로타닌(phlorotannin)이 항산화, 항고혈압, 혈전생성저해 및 항암 활성이 우수한 것으로 알려짐으로서 기능성 식품 및 의약품 산업의 중요 소재로 부각되고 있다(Yasantha and Jeon, 2005; Kim et al., 2006).

그러나 감태 무게의 약 25%를 차지하고 있는 감태 줄기는 가공 부산물로 전혀 이용되지 못하고 폐기 처리 되는 실정이기 때문에 이를 활용할 수 있는 방안이 요구되고 있는 실정이다. 이러한 감태줄기에도 폴리페놀성 물질에 의한 항산화 작용이 높은 것으로 보고되어 있기 때문에(Lee et al., 2006), 해조류 식성인 전복류의 사료로 감태 부산물을 활용하게 된다면, 환경보전은 물론 새로운 부가가치를 창출할 수 있을 것으로 기대된다.

한편, 감귤류의 부산물로 알려진 감귤박 또한 감귤류의 가공 처리 후 발생되는 부산물로 환경오염으로 작용하여 처리에 많은 비용이 소요되고 있는 실정이다. 감귤류는 제주도의 주요 1차 산업 생산물로 감귤류에는 naringin, hesperidin, naringenin, hesperetin, nobiletin 및 tangeretin 등 폴리페놀류인 다양한 플라보노이드화합물을 함유하고 있어 생리활성 기능이 좋은 것으로 알려져 있다(Mouly et al., 1994; Rousff et al., 1987). 감귤류의 가공 부산물인 감귤박의 경우에도 플라보노이드 성분이 다량으로 함유되어 항산화작용이 있다고 보고되고 있으며, 이러한 기능성 물질을 추출하기 위한 연구가 활발히 진행되고 있다(Choi et al., 2006; Senevirathne et al., 2009). 이러한 감귤박의 경우에도 있어서도 해조류 식성인 전복류의 사료로의 활용이 충분히 가능할 것으로 판단된다.

따라서 본 연구에서는 우리나라의 주요 양식 대상종인 전복 배합사료의 첨가제로서 가공 부산물로 만들어지는 감귤박과 감태부산물을 고온숙성 발효 한 후 사료첨가제로 이용 가능한지에 대한 여부를 판단하기 위하여 등근전복의 성장 및 생산성 개선과 염분 스트레스에 미치는 영향을 평가하고자 하였으며, 이를 통하여 제주지역의 전복 양식 산업 경쟁력을 제고하기 위하여 실시하였다.

재료 및 방법

실험 재료 및 사육 관리

실험에 사용된 등근전복(*Haliotis discus discus*)은 제주특별자치도 제주시 부근 양식장에서 구입하여 사용하였다. 등근전복의 경우 평균 각장 3.8 ± 0.2 cm, 각폭 2.5 ± 0.2 cm, 전중량 6.4 ± 0.1 g인 개체

를 사용하였다. 실험 전복은 미리 18±0.3℃에서 1 주 동안 사육하며 순치시킨 후 순환여과가 가능한 수조를 제작하여 사육하였다. 이때 염분은 약 33.5 psu를 유지하였고, PVC 파이프(∅ 20 cm, L 20 cm)를 세로로 절단한 은신처(Shelter)를 넣어서 공기를 공급하였다. 예비사육기간에 먹이는 생미역을 전복체중의 2%를 공급하였으며, 실험 수조마다 80 마리의 둥근전복을 넣어 사육하였다.

전복용 사료제조

본 사육실험에는 총 4종류의 사료가 준비 되었으며, 각 실험구는 3 반복구를 두어 실시하였다. 주요 단백질원으로 casein을 사용하였으며, 탄수화물원으로는 dextrin 지질원으로는 fish oil과 soybean oil을 이용하여 조절하였으며, 감귤박(CP)과 감태추출물 잔사 발효물(ECR)에 따라 변화하는 탄수화물의 변화를 조절하기 위하여 wheat flour을 첨가하여 조절하였다. 실험사료는 CP 및 ECR의 농도가 각각 6%가 되도록 첨가한 실험사료와 CP와 ECR를 1:1의 비율로 혼합한 후 6%가 되도록 첨가한 실험사료를 제작하였다. 실험사료의 조성은 Table 1과 같다.

공급사료에 따른 가식부의 일반성분 분석

일반성분분석은 AOAC (1990)방법에 따라 수분은 상압가열건조법(125℃, 3시간), 조회분은 직접회화로법(550℃, 6시간), 단백질은 자동 조단백질분석기(Kjeltec System 2300, Sweden)로 분석되었으며 지방은 Folch at al.,(1959)의 방법에 따라 Soxhlet 추출장치(Soxhlet Heater System C-SH6, Korea)를 이용하여 분석되었다.

공급사료에 따른 생존율 및 성장도 측정

실험 둥근전복의 생존율은 사료를 공급한 후 0, 1, 2, 3, 4, 8 및 12주째에 폐사한 개체를 각각 조사하였으며, 폐사 개체의 계수는 은신처(shelter)와 수조 벽면에 부착능력이 없고, 유리봉으로 발과 촉수를 자극하여도 반응이 없는 개체를 선택하여 조사하였다. 또한 전복의 성장을 측정하기 위하여 실험 개시 직후, 4주, 8주, 12주째까지의 크기 변화를 각 장과 각폭은 Digimatic clipper(0.01 mm)로, 중량은

Table 1. Ingredients and proximate analysis of the experimental diets for disk abalone

Ingredients	Diets (%)			
	Control	CP	ECR	ECR+CP
CP		6		3
ECR			6	3
Fish meal	15.5	15.5	15.5	15.5
Dextrin	25	25	25	25
Wheat flour	6.5	0.5	0.5	0.5
Casein	20	20	20	20
Sodium alginate	23	23	23	23
Mineral	4	4	4	4
Vitamin	2	2	2	2
Choline	0.5	0.5	0.5	0.5
Soybean oil	1.5	1.5	1.5	1.5
Fish oil	2	2	2	2
Total	100.0	100.0	100.0	100.0
Proximate analysis(%)				
Crude protein	28.8	28.8	28.5	28.6
Crude lipid	1.47	2.22	1.77	1.99
Crude carbohydrate	4.97	5.72	5.27	5.49

CP: citrus pomace; ECR: *Ecklonia cava* residue.

이동식 저울(0.01g)로 각각 측정하여 CP 및 ECR 사료 공급에 따른 성장의 차이를 비교 분석하였다.

급격한 저염분 스트레스에 따른 생리학적 변화

공급사료의 차이에 따른 급격한 저염분 스트레스에 대한 둥근전복의 생리적인 변화를 알아보기 위하여 12주간 사육한 각 실험군에서 50마리씩을 무작위로 선별하여 33 psu의 정상 해수로부터 염분농도가 25 psu인 수조로 옮겨 실험을 실시하였다. 저염분 스트레스에 대한 생리학적 변화는 0, 3, 6, 12, 24 및 48시간째에 각각 생존율, respiratory burst 및 phenoloxidase 활성을 조사하여 나타내었다.

항산화효소는 간 부위를 적출하여 SOD 및 CAT를 각각 분석하였다. 간부위를 적출 후 약 0.1 g을 0.9% NaCl에 3회 세척한 다음 KCl (1.17%)을 함유한 100 mM phosphate buffer (pH 7.4)를 첨가하여 균질화 하였고, 균질화 된 시료는 원심분리(1,000 rpm, 15 min, 4℃)에 의해 지방 및 침전물을 제거하

였다. 균질액은 다시 원심분리(13,000 rpm, 20 min, 4°C)한 후 상등액을 항산화 효소 측정용 시료로 사용하였다. 단백질 함량은 Lowry et al. (1951)의 방법에 따라 표준 단백질로서 BSA(bovine serum albumin)를 사용하여 spectrophotometer를 이용 750 nm에서 측정하였다. SOD는 pyrogallol의 자동 산화율이 억제되는 양을 측정하는 Marklund and Marklund (1974)의 방법으로 측정하였으며, 50 mM phosphate buffer (pH 8.24) 1.3 ml에 간장 균질액 25 μ l을 넣은 후 45 μ l의 3 mM pyrogallol 용액을 첨가하여 spectrophotometer를 이용하여 325 nm의 파장에서 측정하였고, 효소활성의 1 단위는 반응액 중의 pyrogallol의 산화를 50% 억제하는 효소의 양으로 정하였다. CAT활성도 측정은 H₂O₂를 기질로 사용하여 spectrophotometer에 의해 240 nm파장에서 H₂O₂가 환원되어 감소하는 흡광도로서 효소활성도를 측정하는 Nelson and Kiesow (1972)의 방법에 의하여 측정하였으며, 효소 활성도의 단위는 1분간 1 mg의 단백질이 반응하여 환원시킨 H₂O₂를 nmol로 나타내었다.

혈청 내 lysozyme 활성은 turbimetric assay로 조사하였다. *Micrococcus lysodeikticus* (0.1 mg/ml PBS, pH 6.8) 현탁액 90 μ l와 혈청 100 μ l를 96 well plate에 혼합하여 25°C 배양기에서 5분 동안 반응시킨 후 530nm에서 흡광도를 측정하였다. Lysozyme 활성은 흡광도 값이 0.001/ml 감소한 값을 1unit으로 표시하였다.

Respiratory burst 활성은 Song and Hsieh (1994)의 방법을 응용하여 측정하였다. Hemocyte의 활성산소 중 intercellular superoxide anion (O₂⁻)의 분석을 위해 혈청 500 μ l와 NBT 용액 (2 mg NBT, 1 μ g PMA/ml in 50 Mm Tris-HCl buffer, pH 7.5) 500 μ l을 혼합하여 10°C 배양기에서 30분 동안 반응시킨 후, 120 \times g, 4°C로 10분간 원심 분리하였다. 상층액을 버리고, 세포를 TBS buffer (pH 7.5)로 세척하는 작업을 두 번 반복한 뒤, 100% methanol로 세포를 고정하였다. 50% methanol로 여러 번 세척하고, 물기를 클린벤치에서 제거하였다. 물기가 없어지면 바닥에 가라앉은 pellet에 2M KOH 600 μ l와 DMSO 700 μ l를 첨가하여 pellet을 용해시켰다. 푸르게 발색된 용액을 파장 620nm에서 측정하였다.

Phenoloxidase의 활성은 96 well plate에 0.1M phosphate buffer (pH 6.0) 150 μ l에 혈청 15 μ l를 넣고 잘 혼합한 뒤 0.01M L-DOPA 150 μ l를 넣은 후 25°C 배양기에서 10분 동안 반응시킨 후 490 nm에서 흡광도를 측정하여 나타내었다. 효소의 최종 값은 흡광도 값이 0.001/ml 감소한 값을 1unit으로 표시하였다.

통계처리

실험에서 얻어진 결과는 SPSS의 ANOVA test를 이용하여 분산 분석한 후 Duncan의 다중위검정으로 최소 유의차 $P < 0.05$ 수준에서 검정하였다.

결과 및 고찰

공급사료에 따른 가식부의 일반성분 변화

사료 급이에 따른 등근전복 가식부의 일반성분을 분석하여 보면 수분함량의 경우 control 실험구에서 4주 이후 수분함량이 감소하는데 비하여 CP, ECR 및 CP+ECR 첨가 실험구에서는 사육기간 동안 수분함량의 큰 변화를 나타내지 않고 유지되는 것으로 나타났다(Fig. 1A). 이러한 결과는 본 실험에서 사용된 CP 및 ECR을 공급할 경우 가식부의 수분함량이 높아져 부드러운 육질감으로 나타낼 수 있을 것으로 기대된다.

한편, 조회분 함량의 경우 CP+ECR 실험구는 실험기간동안 거의 유사한 수치를 나타내었으며, CP 실험구에서 8주째 가장 높은 수치를 나타내었으나 실험 기간동안 control에 비해 모든 실험구에서 유의한 차이를 나타내지는 않았다(Fig. 1B).

조지방의 변화를 살펴보면 사육 4주째 control 실험구에서 ECR 및 CP+ECR 첨가 실험구에서 유의하게 높은 수치를 나타내었으나, 실험 종료 시점에서는 모든 실험구에서 유사한 수치를 나타내었다(Fig. 1C, $P < 0.05$). 일반적으로 전복류 경우 조지방의 함량은 매우 낮게 유지되고 개체간의 차이가 큰 것으로 알려져 있으며, 본 연구의 결과에서도 최대치가 CP+ECR 실험구 4주째 0.63 ± 0.03 %로 다른 일반 성분에 비교해 매우 낮은 수치를 나타내어 모든 실험구에서 거의 차이가 없는 판단된다. 따라서 본 연구결과와 사료 첨가제의 차이에 따른 변화

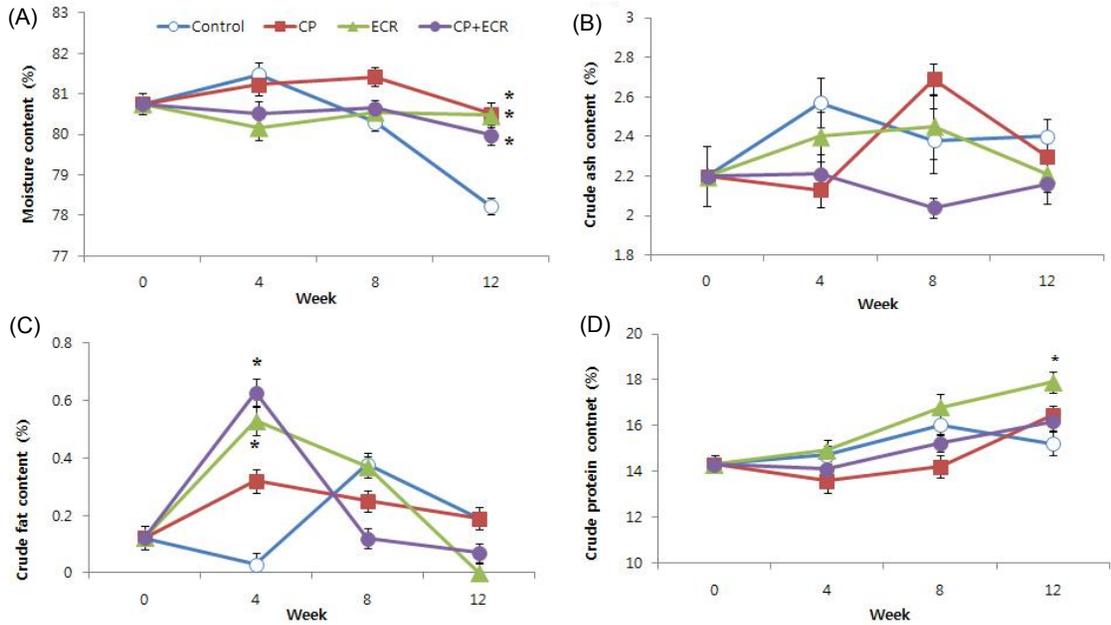


Fig. 1. Variations in the composition and nutrient content in the edible tissue of disk abalone (*H. discus discus*) after feeding the experimental diets supplemented with citrus pomace (CP) 6%, *Ecklonia cava* residue (ECR) 6%, and CP 3%+ECR 3% for 12 weeks. (A) moisture content, (B) crude ash content, (C) crude fat content, (D) crude protein content. Vertical bars represent the SE of mean for 3 experiments. *P<0.05 for each control.

보다는 개체간의 차이에 따른 일시적인 변동으로 여겨진다.

그러나 조단백질의 변화의 경우에는 육질의 맛을 결정짓는 중요한 성분으로, 본 실험의 결과, 조단백질의 함유량은 사육기간의 경과와 함께 증가하여 사육 12주후 대조군에서는 15.22±0.50 %를 나타내었으며, ECR 실험구는 17.90±0.45 %로 가장 높은 증가를 보였다. 그 다음으로는 CP 단독 첨가실험구에서 16.48±0.40 %의 수치를 나타내었다(Fig. 1D).

공급사료에 따른 생존율 변화

동근전복의 생존율 변화를 살펴보면 사료에 따른 생존율의 변화폭은 크지 않았다. 0~2주까지 100%의 생존율을 보이다가 3주째에 control 실험구에서 폐사한 개체가 발생하였다. 그 후 8주에 CP+ECR 실험구에서 폐사된 개체가 발생하였고, 12주에서는 control 실험구에서 추가로 폐사된 개체가 발생하여 92 %의 생존율을 보였으며 CP와 ECR을 단독 첨가한 실험구에서는 폐사가 전혀 일

어나지 않았다(Fig. 2). 이처럼 control 실험구에 비해 CP 및 ECR을 첨가한 실험구에서 높은 생존율을 나타내었다. CP와 ECR에는 항산화 기능을 가진 페놀류 및 기타 기능성 성분들이 다량으로 함유되어 있는 것으로 알려져 있다(Mouly et al., 1994; Rousff et al., 1987, Kim et al., 2006). 이러한 기능성

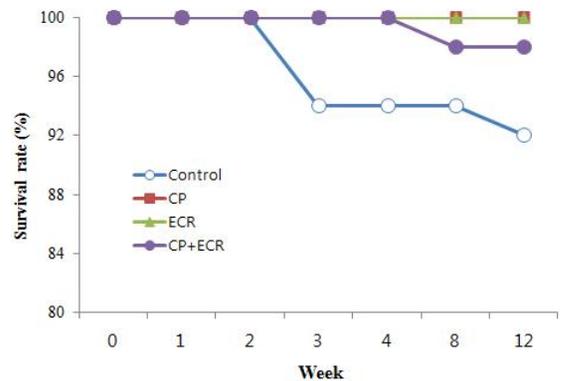


Fig. 2. Effect of dietary citrus pomace (CP) and/or *Ecklonia cava* residue (ECR) on survival rate(%) of disk abalone (*H. discus discus*).

물질들은 항염증작용을 비롯하여 항산화 기능이 매우 높은 것으로 알려져 있어(Mantney and Grohmann, 2001; Latorre et al., 2010), 본 연구결과에서 나타난 높은 생존율은 이러한 기능성 물질들의 작용으로 나타난 것으로 추정된다.

공급 사료에 따른 성장 변화

CP 및 ECR 첨가에 따른 12주째의 각장의 크기 변화는 Fig. 3에 나타내었다. control 실험구에서

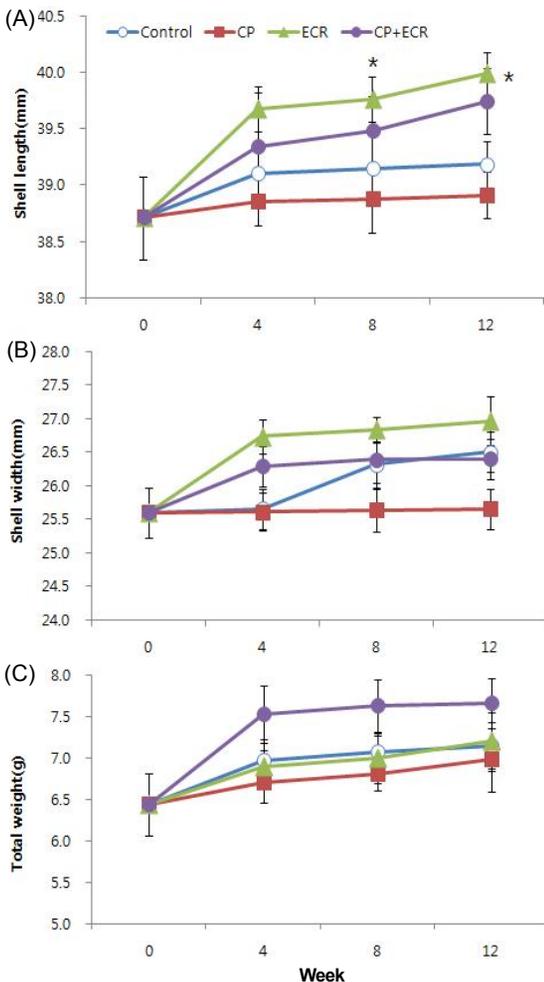


Fig. 3. Variations in the growth of disk abalone (*H. discus discus*) after feeding the experimental diets supplemented with ECR (6%), CP (6%) and CP+ECR (3%+3%) for 12 weeks. (A) shell length, (B) shell width, (C) total weight. Vertical bars represent the SE of mean for three experiments. *P<0.05 for each control.

39.18±0.21 mm, CP 실험구에서 최소치인 38.91±0.21 mm, ECR 실험구에서 최대치인 39.99±0.19 mm를 각각 나타내었으며, CP+ECR 실험구에서는 39.74±0.29 mm를 나타내었다(Fig. 3A).

control 실험구와 CP 실험구에서는 4주째 이후 성장이 둔화되는 것을 확인할 수 있었으나, ECR 실험구와 CP+ECR 실험구에서는 지속적인 성장을 나타내어 대조구에 비해 유의하게 빠른 성장을 나타내었다(Fig. 3A, P<0.05).

한편, 12주째의 각쪽의 크기로 ECR 실험구에서 26.97±0.36 mm로 최대치를 나타냈으며, CP 실험구에서 25.65±0.30 mm로 최소치를 나타내었다. 최대치를 나타낸 ECR 단독 첨가의 실험구에서 control 실험구에 비해 빠른 각쪽의 성장을 나타내는 결과를 나타내었으나 유의한 차이는 없었다(Fig. 3B, P>0.05).

등근전복의 총중량의 경우에는 실험종료시점인 12주째 CP+ECR 실험구에서 7.66±0.30 g, ECR 실험구에서 7.20±0.35 g으로 나타나 control 실험구 7.15g 보다 높은 값을 나타내었으나 유의한 차이를 나타내지 않았다(Fig. 3C).

이상의 결과를 종합하여 보면, ECR의 첨가량이 많을수록 등근전복의 성장에 좋은 효과를 나타내는 것으로 여겨진다. 그러나 CP의 경우에 있어서는 control 실험구와 유의한 차이를 나타내지 않고 오히려 낮은 수치를 나타내어 CP 함유량이 많아질수록 성장에는 좋은 효과를 나타내지 않을 가능성이 있는 것으로 여겨진다. CP의 경우 해조류에 많이 함유되어 있는 섬유소, 무기질 및 기능성 페놀류의 함유량이 높다 하더라도 해조류 식성의 등근전복의 경우 성장에는 큰 효과를 나타내지 않았으나, 일반 사료의 첨가에 비교하여서는 성장에는 유의한 차이가 없었으나 생존율에는 좋은 효과를 나타내었기 때문에 일반사료의 원료로서의 가능성은 있는 것으로 여겨지며, CP에 함유되어 있는 기능성 물질의 활용에 대한 연구가 진행되어 진다면 제주지역의 폐기물로 알려진 CP의 부가가치 창출은 물론 환경보존에도 큰 역할을 할 것으로 여겨진다. 따라서 본 연구에서는 추가적으로 기능성인 부분에 대한 연구를 위하여 등근전복에 대하여 스트레스를 부과한 후 CP 및 ECR의 기능에 대하여 연

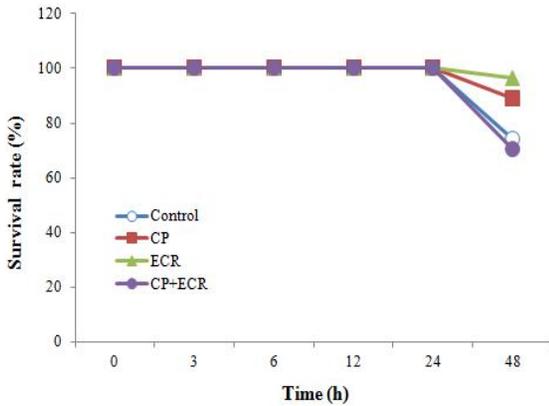


Fig. 4. Survival rate(%) of the disk abalone(*H. discus discus*) exposed to acute water-salinity stress for 48 hours after feeding the experimental diets supplemented with ECR (6%), CP (6%) and CP+ECR (3%+3%) for 12 weeks.

구를 실시하였다.

급격한 저염분 스트레스에 따른 생존율의 변화

앞의 연구결과 ECP의 단독 공급에 따라 생존율 및 성장에 효과가 있는 것으로 나타나(Fig. 2, 3), CP와 ECR의 효과가 면역력의 증가와 관련성이 있는지에 대하여 파악하기 위하여 인위적으로 저염분 스트레스를 가하여 생존율, 항산화효소의 활성(SOD, CAT), lysozyme 활성, respiratory burst 활성 및 phenoloxidase 활성 변화를 각각 분석하였다.

실험 사료 급여 후 급격한 염분변화에 따른 둥근전복의 생존율을 살펴보면 염분 변화 후 48시간째에 폐사된 개체가 모든 실험구에서 발생하였다. 특

히 CP+ECR 실험구와 control 실험구에서 각각 70.4% 및 74.1%로 낮은 생존율을 나타내었다(Fig. 4). 이에 반해 CP 및 ECR을 단독으로 투여한 실험구에서는 88.9% 및 96.3%를 나타내어 control 실험구보다 높은 생존율을 나타내었다.

항산화효소 활성의 변화는 SOD의 경우 저염분 스트레스를 가한 후 48시간째 모든 실험구에서 유의한 차이를 나타내지 않았으나(Fig. 5A), CAT의 경우에는 스트레스를 가한 후 ECR 단독 공급 실험구를 제외한 control, CP 및 CP+ECR 공급 실험구에서 높은 수치를 나타내었다(Fig. 5B). SOD 및 CAT의 경우 둥근전복을 저염분에서 사육을 하게 되면 그 수치가 상승하는 것으로 보고되고 있으며 (Jwa et al., 2009), 본 실험의 결과에서도 CAT의 경우 증가하는 결과를 나타내었다. 그러나 ECR의 경우는 지속적으로 낮은 수치를 나타냄으로서(Fig. 5B), 외부 스트레스의 자극에 대하여 많은 활성산소를 만들어지는 것을 억제함으로써 낮은 수치가 유지되고 이에 따라 생존율도 높아진 결과로 추정된다.

Lysozyme 활성에 있어서도 저염분 자극에 의하여 낮아지는 결과를 나타내었으나 ECR 단독 공급 실험구에서만 스트레스 이전의 수치를 유지하는 결과를 나타내었다(Fig. 6). 이러한 결과 또한 스트레스 작용에 의해 변화하는 CAT의 활성과 유사한 결과로 둥근전복의 생존에 영향을 미쳤을 가능성이 큰 것으로 판단된다.

한편, respiratory burst 활성은 식세포가 식작용을 하는 동안 혹은 다른 물질들에 의해서 자극받았

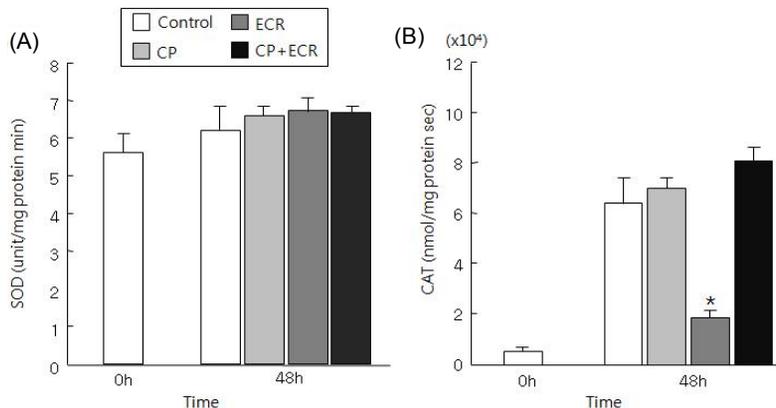


Fig. 5. Effect of acute water-salinity stress for 48 hours on change of superoxide dismutase (A) and catalase (B) in disk abalone (*H. discus discus*) after feeding the experimental diets supplemented with ECR (6%), CP (6%) and CP+ECR (3%+3%) for 12 weeks. Vertical bars represent the SE of mean for three experiments. *P<0.05 for control level of 48 h.

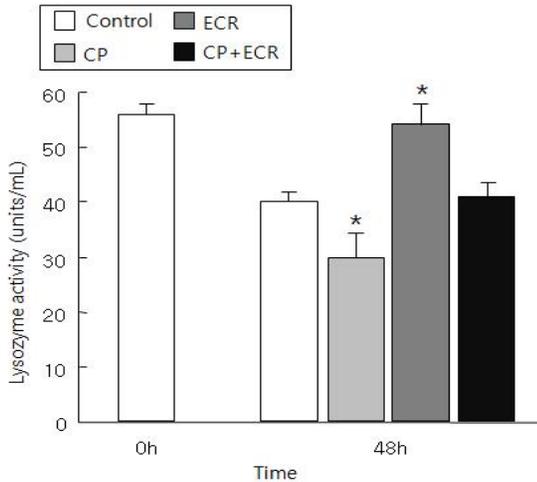


Fig. 6. Effect of acute water-salinity stress for 48 hours on activity of lysozyme in disk abalone (*H. discus discus*) after feeding the experimental diets supplemented with ECR (6%), CP (6%) and CP+ECR (3%+3%) for 12 weeks. Vertical bars represent the SE of mean for three experiments. * $P < 0.05$ for control level of 48 h.

을 때 산소 소비량이 증가하면서 산소라디칼 (ROIs: O_2^- , OH, H_2O_2)을 다량으로 방출할 때 그 활성이 높아지는 것으로, 이러한 작용을 통하여 병원체를 죽이는데 매우 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다(Siwicki et al., 1994). 본 실험의 결과, respiratory burst 활성은 control 실험구에서는 0시간에 비해 48시간째에 유의적으로 증가한 것을 확인할 수 있었으며, 다른 실험구에서는 유의적인 변화를 나타내지 않았다(Fig. 7). 저염분 하에서의 등근전복 respiratory burst 활성은 변화가 거의 없이 유지하는 것으로 보고되어지고 있으나(Jwa et al., 2009), 본 연구 결과에서는 control 실험구에서 유의하게 높은 수치를 나타내었다(Fig. 7). CP 및 ECR의 경우, 그 자체의 항염증 및 항산화 기능이 잘 알려져 있기 때문에(Mouly et al., 1994; Rousff et al., 1987; Senevirathne et al., 2009), 본 연구 결과가 이러한 성분들이 등근전복의 면역체계 이전의 단계에서 병원성 물질에 대한 내성을 가짐으로서 일정한 수치를 유지하였을 가능성이 있는 것으로 추측되나, 병원성 실험 등을 통한 추가적인 연구가 이루어져야 보다 정확한 결론을 도출할 수 있을 것으로 판단된다.

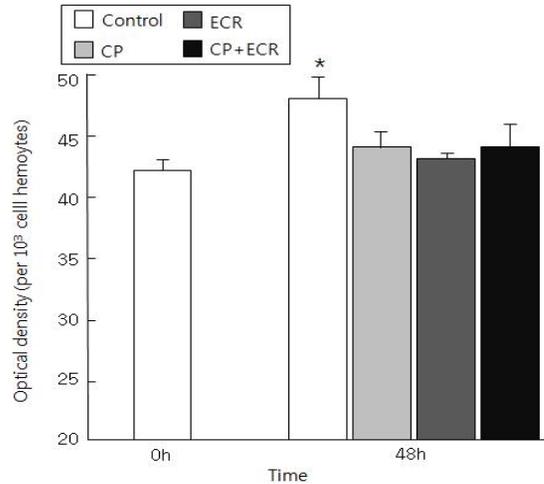


Fig. 7. Effect of acute water-salinity stress for 48 hours on respiratory burst activity in disk abalone (*H. discus discus*) after feeding the experimental diets supplemented with ECR (6%), CP (6%) and CP+ECR (3%+3%) for 12 weeks. Vertical bars represent the SE of mean for three experiments. * $P < 0.05$ for control level of 0 h.

무척추동물의 면역계는 선천성 면역계가 주로 이루고 있으며, phenoloxidase는 pro-phenoloxidase의 형태에서 체내에 세균 등의 미생물의 침입에 의해 활성화 되는 것으로 알려져 있다(Jonhson et al., 2003). phenoloxidase의 활성은 CP 실험구에서 0시간에 비해 48시간째에 유의적으로 감소한 것을 확인할 수 있었으며, ECR 단독 공급구에서는 control에 비해 높은 수치를 나타내었다(Fig. 8).

이상의 결과를 요약하여 보면 CP 및 ECR의 사료공급을 통하여 생존율에는 두 첨가물질에서 모든 좋은 결과를 나타내는 것으로 나타났다. 그러나 등근전복의 성장 및 생리활성적인 부분에서는 ECR을 첨가하는 것이 가장 좋은 효과를 나타내었다. 특히 CAT, lysozyme 및 phenoloxidase 활성에서 ECR 공급 실험구에서 다른 실험구에 비해 유의하게 좋은 결과를 보임으로서 감태부산물을 활용한 전복류의 사료이용이 매우 유용하다는 것으로 추정된다. 감굴박의 경우에도 생리활성적인 부분에서는 다소 감태부산물에 비해 떨어지지만 생존율에 있어서는 높은 결과를 나타냄으로서 기능성 물질로서의 활용에 대한 추가적인 연구가 진행되어야 할 것으로 여겨진다.

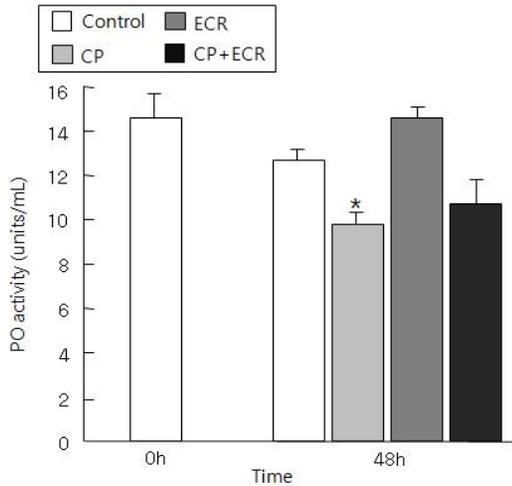


Fig. 8. Effect of acute water-salinity stress for 48 hours on phenoloxidase activity of disk abalone (*H. discus discus*) after feeding the experimental diets supplemented with ECR (6%), CP (6%) and CP+ECR (3%+3%) for 12 weeks. Vertical bars represent the SE of mean for three experiments. *P<0.05 for each control level.

References

Association of Official Analytical Chemists: Official Methods of Analysis. 1298pp, 1990.

Cho, S.H., Park, J., Kim, C. and Yoo, J.H.: Effect of casein substitution with fish meal, soybean meal and crustacean meal in the diet of the abalone (*Haliotis discus hannai*) Ino. *Aquaculture Nutr.*, 14: 61-66, 2008.

Choi, H.I., Ye, E.J., Kim, S.J., Bae, M.J., Yee, S.T., Park, E.J. and Park, E.M.: Anticancer (in vitro) and anti-allergy effects of rice bran extracts. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, 35: 1297-1303, 2006.

Folch, J., Lees, M. and Stanley, G. H. S. (1957) A simple method for the isolation and purification of lipids from animal tissues. *J. Biol. Chem.*, 226:497-509.

Jwa, M.S., Kang, K.P., Choe, M.K., and Yeo, I.K.: Effects of low salinity stresses on the physiological of disc abalone (*Haliotis discus discus*). *J. Fish Pathol.*, 22(3): 293-303, 2009.

Johnson J.K., Rocheleau, T.A., Hillyer, J.F., Chen, C.C., Li, J. and Christensen, B.M.: A potential role for phenylalanine hydroxylase in mosquito immune responses. *Insect. Biochem. Mol. Biol.*, 33: 345-354, 2003.

Kim, B.H., Lee, S.M., Go, C.S., Kim, J.W. and Myeong, J.I.: Optimum stocking density of juvenile abalone (*Haliotis discus hannai*) fed the formulated diet or macroalgae (*Undaria*). *Kor. J. Fish. Aquat. Sci.*, 31:in press, 1998.

Kim, K.N. Lee, K.W., Song, C.B. and Jeon, Y.J.: Cytotoxin activities of green and brown seaweeds collected from Jeju island against four tumor cell lines. *J. Food Sci. Nutr.*, 11: 17-24, 2006.

Latorre, D., Pudu, P., Valenti, P. and Gessani, S.: Reciprocal interactions between lactoferrin and bactericidal endotoxins and their role in the regulation of the immune response. *Toxins*, 2: 54, 2010.

Lowry O. H., Rosenbrought, N.J., Farr, A. L. and Randall, R. J.: Protein measurement with the Folin-phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, 193: 265-275, 1951.

Lee, S.H., Kim, K.N., Cha S.H., Ahn G.N. and Jeon, Y.J.: Comparison of antioxidant activities of enzymatic and methanolic extracts from *Ecklonia cava* stem and leave. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, 35(9): 1139-1145, 2006.

Lee, S.M., Lee, G.A., Jeon, I.G. and Yoo, S.K.: Effects of experimental formulated diets, commercial diet and natural diet on growth and body composition of abalone (*Haliotis discus hannai*). *J. Aquacult.*, 10: 417-424, 1997.

Lee, S.M., Yun, S.Y. and Hur, S.B.: Evaluation of dietary protein sources for abalone (*Haliotis discus hannai*). *J. Aquacult.*, 11: 19-29, 1998a.

Lee, S.M., Yun, S.J., Min, K.S. and Yoo, S.K.: Evaluation of dietary carbohydrate sources for juvenile abalone (*Haliotis discus hannai*). *J. Aquacult.*, 11: 133-140, 1998b.

Lee, S.M., Lim, Y.S., Moon, Y.B., Yoo, S.K. and Rho, S.: Effect of supplemental macroalgae and *spirulina* in the diets on growth performance in juvenile abalone (*Haliotis discus hannai*). *J. Aquacult.*, 11: 31-38, 1998c.

Lee, S. M. and Park, H. G.: Evaluation of dietary lipid sources for juvenile abalone(*Haliotis discus hannai*). *J. Aquacult.*, 11: 381-390, 1998.

Mai, K., Mercer, J.P., and Donlon, J.: Comparative studies on the nutrition of two species of abalone (*Haliotis tuberculata*) L. and (*Haliotis discus hannai*) Ino. III. Responses of abalone to various levels of dietary lipid. *Aquaculture*, 134: 65-80, 1995a.

Mai, K., Mercer, J.P. and Donlon, J.: Comparative studies on the nutrition of two species of abalone

- (*Haliotis tuberculata*) L. and (*Haliotis discus hannai*) Ino. IV. Optimum dietary protein level for growth. *Aquaculture*, 136: 165-180, 1995b.
- Manthey, J.A. and Grohmann, K.: Phenolics in citrus peel byproducts. Concentrations of hydroxycinnamates and polymethoxylated flavones in citrus peel molasses. *J. Agric. Food Chem.*, 49: 3268-3273, 2001.
- Marklund S. and Marklund, G.: Involvement of the superoxide anion radical in the antioxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. *Eur. J. Biochem.*, 47: 469-474, 1974.
- Mouly, P.P.M., Arzouyan, C.G., Gaydou, E.M. and Rstienne, J.M.: Differentiation of citrus juices by factorial diskriminant analysis using liquid chromatography of flavanone glycosides. *J. Agric. Food Chem.*, 42: 70-79, 1994.
- Nelson D.P. and Kiesow, L.A.: Enthalpy of decomposition of hydrogen peroxide by catalase at 25°C (with molar extinction coefficients of H₂O₂ solutions in the UV). *Anal. Biochem.*, 49: 474-478, 1972.
- Rousff, R.L., Martin, S.F. and Youtsey, C.O.: Quantitative survey of narirutin, naringin, hesperidin and neohesperidin in citrus. *J. Agric. Food Chem.*, 35: 1027-1030, 1987.
- Senevirathne, M., Jeon, Y.J., Ha, J.H. and Kim, S.H.: Effective drying of citrus by-product by high speed drying: A novel drying technique and their antioxidant activity. *J. Food Eng.*, 92: 157-163, 2009.
- Song, Y.L., Hsieh Y.T.: Immunostimulation of tiger shrimp (*Penaeus monodon*) hemocytes for generation of microbicidal substances: analysis of reactive oxygen species. *Dev. Comp. Immunol.*, 18: 201-9, 1994.
- Siwicki, A.K., Anderson, D.P. and Rumsey, G.L.: Dietary intake of immunostimulants by rainbow trout affects non-specific immunity and protection against furunculosis. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, 41: 125-139, 1994.
- Uki, N., Kemuyama, A. and Watanabe, T.: Development of semipurified test diets for abalone. *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish.*, 51: 1825-1833, 1985a.
- Uki, N., Kemuyama, A. and Watanabe, T.: Nutrient evaluation of several sources in diets for abalone (*Haliotis discus hannai*). *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish.*, 51: 1835-1839, 1985b.
- Uki, N., Kemuyama, A. and Watanabe, T.: Optimum protein level in diets for abalone. *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish.*, 52: 1005-1012, 1986a.
- Uki, N., Sugiura, M. and Watanabe, T.: Requirement of essential fatty acids in the abalone (*Haliotis discus hannai*). *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish.*, 52: 1013-1023, 1986b.
- Viana, M.T., Lopez, L.M. and Salas, A.: Diet development for juvenile abalone (*Haliotis fulgens*). Evaluation of two artificial diets and macroalgae. *Aquaculture*, 117: 149-156, 1993.
- Yasantha, A. and Jeon, Y.J.: Screening for angiotensin-I converting enzyme inhibitory activity of *Ecklonia cava*. *J. Food Sci. Nuri.*, 10: 134-139, 2005.

Manuscript Received : Feb 27, 2015

Revised : Apr 8, 2015

Accepted : Apr 9, 2015