

양식 농어의 Carotenoids 대사와 체색선명화에 미치는 영향

강동수 · 하봉석*

여수수산대학교 식품영양학과 · *경상대학교 식품영양학과

Metabolism of Dietary Carotenoids and Effects to Intensify the Body Color of Cultured Sea bass

Dong-Soo KANG and Bong-Seuk HA*

Department of Food and Nutrition, Yosu National Fisheries University,
Yosu 550-749, Korea

*Department of Food and Nutrition, Gyeongsang National University,
Jinju 660-701, Korea

To investigate the effects on pigmentation and carotenoids metabolism of sea bass, *Lateolabrax japonicus*, by supplemented carotenoids, fish were fed the diets each containing β -carotene, lutein ester, astaxanthin, astaxanthin monoester and astaxanthin diester for 8 weeks. Carotenoids in the integuments were analyzed.

The important carotenoids in the integuments of sea bass were tunaxanthin and lutein. β -carotene, β -cryptoxanthin, zeaxanthin and β -carotene triol were minor contributors.

Differences in the content of β -carotene, tunaxanthin fraction and lutein were observed between the natural and cultured sea bass. The wild sea bass contained higher amounts of tunaxanthin fraction and lutein, but contained lower amounts of β -carotene than cultured sea bass.

In cultured sea bass with supplemented carotenoids, carotenoid deposition was higher in order of astaxanthin monoester group, astaxanthin group and astaxanthin diester group.

Based on the contents and composition of carotenoids in each group after the feeding the experimental diet, The metabolism of carotenoid in sea bass was presumed to be the reductive metabolic pathways: astaxanthin to tunaxanthin via β -carotene triol, zeaxanthin and lutein.

서 론

최근, 해산어(돔, 방어, 넙치, 송어, 연어, 농어 등)의 양식이 성행하여, 그 생산량이 천연산의 어획량을 증가하고 있으나(농림수산부, 1990), 양식 어류는 표피 및 육의 색택 뿐만 아니라 육질과 식미가 천연산에 비하면 열등하기 때문에 양식 어류의 육질 및 체색의 개선 등 양식어의 품질개량 기술의 개발이 절실하다.

양식 어류의 사육을 위해 주로 생사료를 사용하여 왔으나 수질오염의 원인이 되어 많은 피해를 갖어 오게 되었고, 이를 해결하기 위하여 조제사료를 개발 이용하고 있으나 조제사료로써 양식한 어류는 표피와 육의 색택이 천연산과는 다르기 때문에 이를 타개할수 있는 조제사료의 개발에 많은 연구가 집중되고 있다.

특히 양식어의 체색개선에 기여할수 있는 천연 carotenoid 색소가 주목을 받고 있으며, carotenoid 색

소의 투여에 의한 어류의 발색효과에 관한 연구로는, 平尾等(1962)이 흰쥐 및 무지개송어에 대한 β -apo-carotenal의 체색개선 실험에서 무지개송어의 경우 체중 Kg당 0.3mg과 30mg의 β -apo-carotenal을 40일간 투여한 결과 皮, 肉, 간장의 carotenoid함량 및 간장의 vitamin A함량에 거의 차이를 나타내지 않았다. 그러나 금붕어의 체색변화에 대한 사료 carotenoid의 영향을 검토하기 위하여 lutein투여구와 astaxanthin투여구로 나누어 30일간 사육한 결과, lutein투여구에서는 표피층의 carotenoid함량이 크게 증가하였으나, astaxanthin투여구에서는 오히려 감소하였다고 보고하였다(平尾等, 1963).

또한 Schmidt와 Baker(1969)는 canthaxanthin에 의한 연어, 송어육의 발색효과를 검토하기 위해 사료 Kg당 190mg과 450mg의 canthaxanthin을 투여한 결과, 연어와 송어육 모두에 발색효과가 있는 것으로 보고하였으며, 松野等(1979)은 남조류 Spirulina의 zeaxanthin과 myxoxanthophyll에 의한 비단잉어의 체색선명화에 대한 실험에서, 사료에 대해 zeaxanthin 3mg%, 6mg% 그리고 myxoxanthophyll 6mg%, 12mg%씩 첨가하여 각각 69일간 투여한 결과, zeaxanthin 3mg% 투여구는 표피의 총 carotenoid의 함량이 대조구에 비해 2배, zeaxanthin 6mg%는 4배로 증가하여 효과가 있었으나, myxoxanthophyll투여구는 효과가 없었다고 보고하였다.

한편, 中添等(1984)은 양식 참돔 사료에 β -carotene, zeaxanthin, lutein, canthaxanthin, astaxanthin ester, astaxanthin을 각각 혼합하여 60일간 사육한 후, carotenoid 축적을 및 일반성분을 분석한 결과, carotenoid 축적율은 astaxanthin ester투여구에서 가장 높게 나타났으며, 일반성분의 함량에서는 큰 차이를 나타내지 않았다고 보고하였고, 伊藤等(1986)은 양식 참돔의 사료에 astaxanthin 및 astaxanthin dipalmitate를 각각 100ppm씩 첨가하여 2개월간 사육한 결과, 유리형의 astaxanthin보다 ester형인 astaxanthin dipalmitate가 발색효과가 더 컸다는 보고를 하고 있다.

Carotenoid색소의 투여에 의한 어체내 대사에 관한 연구로는, Hata와 Hata(1972), 그리고 松野等(1981)이 금붕어에서 zeaxanthin은 4-ketozeaxanthin을 거쳐 astaxanthin으로 대사되나, lutein은 4-ketolutein(α -doradexanthin)까지 대사되고 astaxanthin으로는 대사되지 않는다 하였으며, 또한 Hata와 Hata(1975, 1976)는 비단잉어에서 zeaxanthin은 adonixanthin을 거쳐 astaxanthin으로 대사되나, lutein은 α -doradexanthin까지 밖에 대사되지 않는

다고 보고하여 담수산 어류는 산화적 대사경로를 가진다고 하였다.

그리고 최근에는 Fujita 등(1983b)이 양식 방어의 발색효과 실험에서, 사료에 대해 0.5%, 1%, 2%의 krill oil을 각각 투여하여 10주간 사육한 결과, 총 carotenoid의 함량이 2%투여구에서 가장 높게 나타나 동물체내에서 astaxanthin은 tunaxanthin으로 대사된다고 처음으로 보고하였으며, 또한 krill oil에서 정제하여 얻은 astaxanthin diester에 의한 양식 참돔의 발색효과 실험에서, 사료에 대해 0.12mg%, 1.3mg%, 12.8mg%의 astaxanthin diester를 각각 투여하여 8주간 사육한 결과, astaxanthin diester 12.8mg%투여구에서 가장 높은 carotenoid 함량을 나타내었으며, astaxanthin이 β -carotene triol, zeaxanthin, 3'-epilutein을 거쳐 tunaxanthin으로 대사된다고 보고하였다(Fujita et al., 1983a). 그리고 生野와 松野(1987)가 눈다랭이에서 carotenoid대사는 ϵ , ϵ -carotene-3, 3'-dione과 3-hydroxy- ϵ , ϵ -caroten-3'-one을 거쳐 tunaxanthin으로 대사된다고 하였다. 河等(1993)은 참돔의 경우는 astaxanthin이 tunaxanthin으로 대사되며, 넙치에서는 lutein이 tunaxanthin으로 대사된다고 보고하였다. 이와 같이, 해산어류는 주로 환원적대사경로를 가지는 것으로 추정되고 있다.

그러나 주요 양식 어종인 농어에 대한 것으로는 표피의 carotenoid 조성(松野·勝山, 1976)만 있을 뿐 carotenoid의 대사 및 carotenoid에 의한 체색선명화에 관한 연구는 찾아 볼 수 없었다. 따라서 본 실험에서는 양식 농어에 대한 β -carotene, lutein 및 astaxanthin첨가에 의한 carotenoid의 대사와 사료 carotenoids에 의한 체색개선효과를 검토하였다.

재료 및 방법

1. Carotenoid 첨가사료에 의한 사육

(1) 재료

본 실험에 사용한 양식산 농어(Sea bass, Lateolabrax japonicus)는 평균체장 15cm, 평균체중 45g의 것을 경남 통영군 산양면 소재의 금성수산에서 구입하여 국립수산진흥원 남해종묘배양장으로 운반한 후, 1ton용량의 옥내원형수조에 여과천연해수를 주입하여 통기를 행하고, 각 구에 50마리씩 6구로 나누어 2주간 예비사육한 후, 8주간 사육하였다. 그리고 천연산과 비교하기 위하여 평균체장 20cm, 평균체중 60g의 천연산 농어를 경남 충무시 서호동

서호시장에서 구입하여 실험실에 운반한 후 표피만을 취하여 분석용 시료로 하였다.

(2) 사료첨가용 carotenoid

1) β -carotene

F. Hoffman-La Roche사(Switzerland)에서 합성한 것을 구입하여 투여하였다.

2) Lutein ester의 조제(Philip and Berry, 1975; Quackenbush and Miller, 1972)

금잔화(marigold, *Tagetes erecta*)의 꽃잎으로 부터 추출한 carotenoid를 전보(河等, 1993)와 동일하게 정제 결정화하였다.

3) Astaxanthin, astaxanthin monester 및 astaxanthin diester의 조제(Maoka *et al.*, 1985; Yamaguchi *et al.*, 1983)

크릴(krill, *Euphausia superba*)로 부터 추출한 carotenoid를 전보(河等, 1993)와 동일하게 정제 결정화하였다.

(3) 사료조제

기본사료 및 carotenoid첨가사료의 조성은 Table 1과 같으며, 전보(河等, 1993)와 같은 방법으로 조제하였다.

(4) 사육방법

색소를 첨가하지 않은구(대조구), β -carotene첨가구, lutein ester첨가구, astaxanthin첨가구, astaxanthin monoester첨가구, astaxanthin diester첨가구로 나누어 시험개시전 2주간 기본사료로 하루에 오전, 오후 2회 급이 사육하여 순치한 후, carotenoid첨가 사료로서 8주간 사육하였다. Carotenoid성분의 분석은 시험개시전, 시험개시 4주후 및 시험개시 8주후에 사육한 농어를 각각 15마리씩 임의 추출하여 표피의 carotenoid성분을 분리 동정 및 정량하였다.

2. Carotenoid의 분석

(1) 용매, 흡착제 및 사용기기

실험에 사용한 각종 용매는 증류, 정제한 것과 시판특급시약이며, HPLC(high performance liquid chromatography)에 사용한 용매는 HPLC급(Fisher chemical사)을 사용하였다.

흡착제는 silicagel G(Merck사, Keisel gel G, Type 60), MgO(Merck사), celite 545(Fluka chemical사)를 각각 사용하였다.

가시부 흡수 spectrum은 Gilford Response UV-spectrophotometer, IR spectrum은 KBr중에서 HITACHI 270-50 spectrophotometer, H-NMR spectrum은 CDCl₃용액에서 TMS를 내부표준물질로하여

Table 1. Composition of the basal diet for feeding sea bass (%)

Group	Control	1	2	3	4	5*
Ingredients						
White fish meal	65.5	65.5	65.5	65.5	65.5	65.5
α -starch	15.0	15.0	15.0	15.0	15.0	15.0
Cellulose	5.5	5.5	5.5	5.5	5.5	5.5
Casein	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0
Mineral mixture	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0
Vitamin mixture	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0
Choline chloride	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
Alginate acid	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
Pollack liver oil	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0
Carotenoids (mg)	0	10	10	10	10	10

* Control: Carotenoid free diet,

1: β -carotene supplemented diet,

2: Lutein ester supplemented diet,

3: Astaxanthin supplemented diet,

4: Astaxanthin monoester supplemented diet,

5: Astaxanthin diester supplemented diet

Bruker AM-300 NMR spectrometer(80MHz), Mass spectrum은 JEOL JMS-DX 303 Mass spectrometer (EI detector), HPLC는 Pharmacia LKB LCC 2252 complete system으로 각각 분석하였다.

(2) 총 carotenoid의 추출 및 정량

Carotenoid의 추출(하 등, 1989)은 표피와 지느러미만을 취하여 실온에서 acetone으로 3회 추출하였으며, 추출액을 petroleum ether와 다량의 물로서 분리조작하여 carotenoid를 petroleum ether층으로 전용시킨 후, petroleum ether층을 무수 Na₂SO₄로서 탈수시키고, 40℃ 이하의 N₂ 기류하에서 감압증류하여, 60% KOH/MeOH용액으로 검화하여 얻은 불검화물을 총 carotenoid로 하였다.

총 carotenoid의 정량은 petroleum ether중에서 흡수극대치의 흡광도에 의하여 McBeth(1972)의 방법에 따라 흡광계수 E_{1%}^{1cm} = 2400으로 하여 다음식에 의하여 계산하였다.

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

(3) Carotenoid의 분리 및 정제

Preparative-TLC(p-TLC)는 silicagel 60 G와 증류수 1:2의 비율로 혼합한 것을 20×20cm의 glass plate에 0.3mm의 두께로 도포하여 만든 plate를 110℃의 drying oven에서 2시간 활성화시킨 후, 총

carotenoid를 petroleum ether: acetone(70:30)의 전개용매로서 분리하였다.

한편, 검화한 총 carotenoid를 MgO: celite 545(1:1)을 흡착제로 하고, petroleum ether→acetone순으로 점차적으로 극성을 증가시키면서 column chromatography로 분리하여 TLC의 pattern과 비교하였다.

Column chromatography로 분리된 각 carotenoid획분 중에서 함량이 높은 주요 성분은 Sephadex LH-20을 흡착제로 하고, chloroform을 전개용매로 한 column chromatography와 sucrose를 흡착제로 하고, petroleum ether를 전개용매로 한 column chromatography를 순차적으로 행하여 결정체를 얻었다.

그리고 분리된 각 carotenoid획분의 이성체의 분리 및 단일성분임을 확인하기 위하여 총 carotenoid를 HPLC에 의한 분리를 행하였으며, 분석조건(Ando, 1987)은 Table 2와 같다.

분리된 각 carotenoid의 동정은 표품과의 co-TLC, co-HPLC, 가시부 흡수 spectrum의 비교와 IR spectrum, NMR spectrum 및 Mass spectrum을 측정하여 동정하였다.

결과 및 고찰

1. Carotenoid의 동정

농어의 표피로부터 추출한 총 carotenoid를 p-TLC한 결과, Fig. 1에서와 같이 검화 전에는 단일 band로 나타났으나, 검화 후에는 6개의 band로 분리되어 농어의 carotenoid는 모두 ester type으로 존재하는 것을 알 수 있었다. 그리고 carotenoid를 분리 정제하기 위하여 검화한 후 총 carotenoid를 column chromatography를 행한 결과, Fig. 2에서와 같이 6개의 fraction(Fr.)으로 분리되어 TLC의 pattern과 일치하였다.

Fr. 1: 100% petroleum ether로 용출된 Fr. 1은 가시부 흡수 spectrum의 측정 결과, β -carotene type의 흡수 spectrum으로 나타났으며, 흡수극대치가 448, 475nm로서 β -carotene과 일치하였고, 표품의 β -carotene(F. Hoffman-La Roche, Basel, Switzerland)과 co-HPLC한 결과 단일대가 얻어져 β -carotene으로 동정하였다.

Fr. 2: 5% acetone/petroleum ether로 용출된 Fr. 2는 가시부 흡수 spectrum의 측정 결과, α -carotene

Table 2. Conditions for HPLC analysis of carotenoids in the integuments of sea bass

Items	Conditions
Instrument	Pharmacia LKB LCC 2252 complete system LKB VWM 2141 detector(470nm) LKB 2221 integrator
Column	Sumichiral OA-2000 (4mm i.d×250mm)
Mobile phase	Hexane: Dichloromethane: Ethanol(50:20:0.5)
Flow rate	0.8ml/min
Chart speed	0.5cm/min

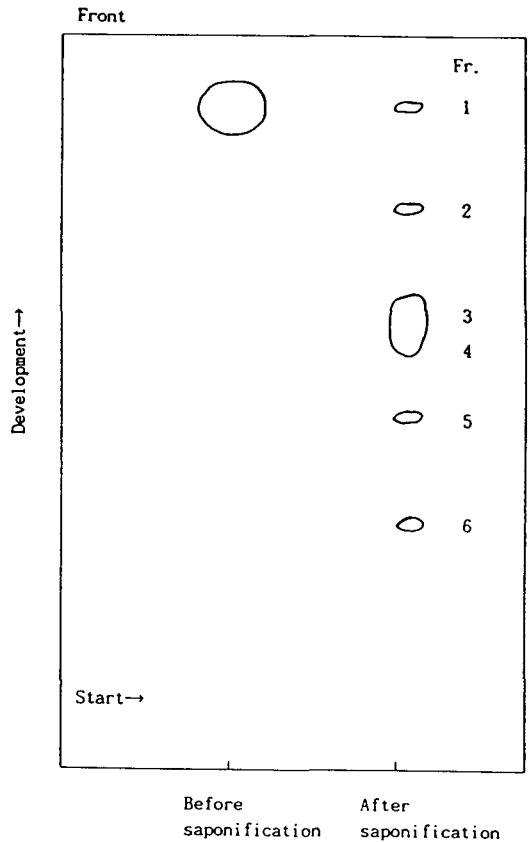


Fig. 1. Preparative thin-layer chromatogram of carotenoids in the integuments of sea bass. Absorbent; silicagel 60 G Developer; petroleum ether: acetone(70:30)

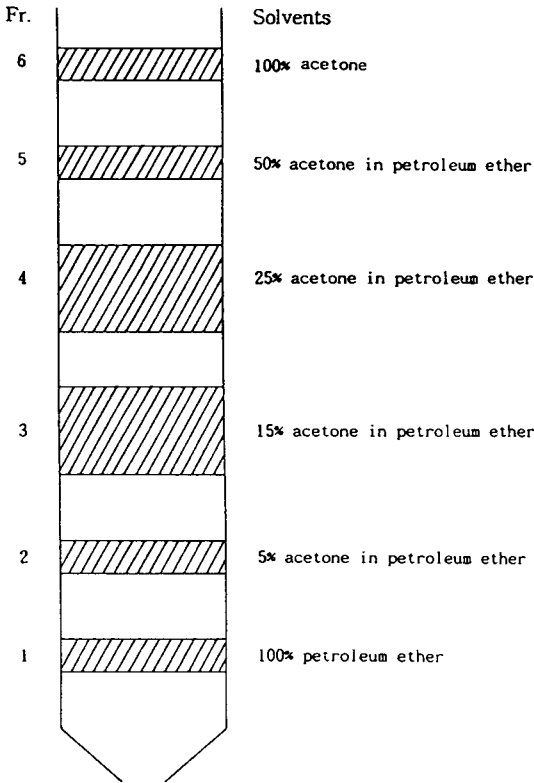


Fig. 2. Column chromatography of saponified carotenoids in the integuments of sea bass on MgO/celite 545(1:1).

type의 흡수 spectrum으로 나타났으며, 흡수극대치가 420, 443, 471nm로서 α -cryptoxanthin과 일치하였고, 옥수수(Petzold and Quackenbush, 1960)에서 얻은 표품의 α -cryptoxanthin과 co-HPLC한 결과 단일대가 얻어져 α -cryptoxanthin으로 동정하였다.

Fr. 3: 15% acetone/petroleum ether로 용출된 Fr. 3은 가시부 흡수 spectrum의 측정 결과, ϵ -carotene type의 흡수 spectrum으로 나타났으며, 흡수극대치가 415, 438, 467nm로서 tunaxanthin과 일치하였고, IR spectrum의 측정 결과, ν_{max} 3426 cm^{-1} (OH), 968 cm^{-1} (all trans -CH=CH-)의 결과로부터 OH기를 2개 갖는 diol임을 추정할 수 있다. 1H -NMR spectrum은 δ 0.85(17, 17', CH₃), 1.00(16, 16', CH₃), 1.62(18, 18', CH₃), 1.91(19, 19', CH₃) 및 1.96ppm(20, 20', CH₃)의 signal이 나타났으며, Mass spectrum의 측정 결과, 568(M⁺, C₄₀H₅₆O₂), 550(M-18), 532(M-18-18), 476(M-92), 462(M-106)의 peak가 확인되어 tunaxanthin의 문헌치(Britton and Goodwin, 1982)와 일치하였다. 그리고 p-TLC와 column chromatography에서 단일성분의 tunaxanthin획분으로 분리되었던 것이 Fig. 3에서와 같이 HPLC로 분리한 결과, 세가지의 이성체(peak 3-1, 3-2 및 3-3)로 분리되어 방어(平尾, 1967; 松野 等, 1980)로부터 얻은 표품의 tunaxanthin과 비교하여 3-1은 tunaxanthin A, 3-2는 tunaxanthin B, 3-3은 tunaxanthin C로 각각 동정하였다.

Fr. 4: 25% acetone/petroleum ether로 용출된 Fr.

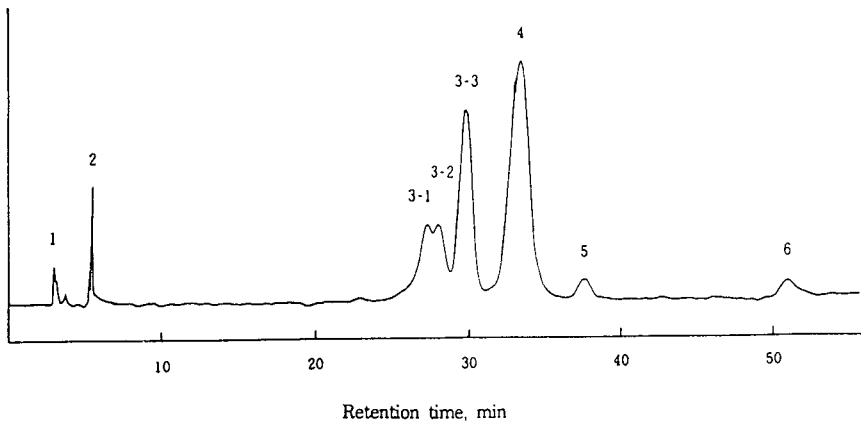


Fig. 3. High performance liquid chromatogram of carotenoids in the integuments of sea bass. 1: β -carotene, 2: α -cryptoxanthin, 3-1: tunaxanthin a, 3-2: tunaxanthin B, 3-3: tunaxanthin C, 4: lutein, 5: zeaxanthin, 6: triol(β -carotene type)

4는 가시부 흡수 spectrum의 측정 결과, α -carotene type의 흡수 spectrum으로 나타났으며, 흡수극대치가 420, 444, 472nm로서 lutein과 일치하였고, IR spectrum의 측정 결과, ν_{max} 3426 cm^{-1} (OH), 968 cm^{-1} (all trans -CH=CH-)의 결과로부터 OH기를 2개 갖는 diol임을 추정할 수 있다. ¹H-NMR spectrum은 δ 0.85(17', CH₃), 1.00(16', CH₃), 1.07(16, 17, CH₃), 1.62(18', CH₃), 1.73(18, CH₃), 1.91(19', CH₃) 및 1.96ppm(19, 20, 20', CH₃)의 signal이 나타났으며, Mass spectrum의 측정 결과, 568(M⁺, C₄₀H₅₆O₂), 550(M-18), 532(M-18-18), 476(M-92), 462(M-106)의 peak가 확인되어 lutein의 문헌치(Matsuno *et al.*, 1986; Enzell *et al.*, 1969)와 일치하였다. 그리고 난황(Kuhn *et al.*, 1931)으로부터 얻은 표품 lutein과 co-HPLC하여 단일대가 얻어져 lutein으로 동정하였다.

Fr. 5: 50% acetone/petroleum ether로 용출된 Fr. 5는 가시부 흡수 spectrum의 측정 결과, β -carotene type의 흡수 spectrum으로 나타났으며, 흡수극대치가 448, 476nm로서 zeaxanthin과 일치하였고, 소철 열매(山口, 1954)로부터 얻은 표품의 zeaxanthin과 co-HPLC한 결과 단일대가 얻어져 zeaxanthin으로 동정하였다.

Fr. 6: 100% acetone로 용출된 Fr. 6은 가시부 흡수 spectrum의 측정 결과, β -carotene type의 흡수 spectrum으로 나타났으며, 흡수극대치가 447, 474nm로서 β -carotene type의 triol과 일치하여 β -carotene type의 triol로 동정하였다.

2. 천연산 및 양식산 농어의 carotenoid 조성
천연산, 양식산 및 사육개시전의 농어 표피의 총 carotenoid함량과 분리 확인된 각 carotenoid의 조성비는 Table 3과 같다. 총 carotenoid함량은 양식산 0.12mg%로서 천연산 0.63mg%보다 낮은 함량치를 보였다.

Carotenoid 조성은 천연산에서 lutein 38.4%, tunaxanthin C 23.7%, tunaxanthin B 13.2%, tunaxanthin A 11.6%로서 주성분으로 나타나 체내 축적형임을 알 수 있었으며, 그 외 α -cryptoxanthin 5.0%, β -carotene type의 triol 3.1%, zeaxanthin 2.7% 및 β -carotene 2.3%순으로 함유되었고, 양식산에서는 β -carotene 27.8%, lutein 27.2%, tunaxanthin C 21.6%로서 주성분을 이루며, 그 외 tunaxanthin A 9.1%, tunaxanthin B 8.8%, α -cryptoxanthin 3.0%, zeaxanthin 1.6% 및 β -carotene type의 triol 0.9%순으로 함유되어, 천연산은 양식산에 비하여 lutein 및

Table 3. Amounts and percentage composition of individual carotenoids in the integuments of wild, cultured sea bass and before feeding them the experimental diet

Total carotenoids Composition	(% in total carotenoids)		
	Wild 0.63mg%	Cultured 0.12mg%	Before feeding* 0.20mg%
β -carotene	2.3	27.8	1.1
β -cryptoxanthin	5.0	3.0	2.6
Tunaxanthin A	11.6	9.1	10.4
Tunaxanthin B	13.2	8.8	10.5
Tunaxanthin C	23.7	21.6	27.2
Lutein	38.4	27.2	43.1
Zeaxanthin	2.7	1.6	2.9
Triol (β -carotene type)	3.1	0.9	2.2

* Sea bass were fed the control diet for 2 weeks in order to accustom them to the test diets.

tunaxanthin획분의 함유비가 높은 반면, β -carotene의 함유비가 훨씬 낮은 경향을 보여 서로 차이를 보였다.

한편, 2주간 예비사육된 농어의 총 carotenoid함량은 0.20mg%로서 천연산에 비해 낮은 함량치를 보였으나, carotenoid 조성은 lutein 43.1%, tunaxanthin C 27.2%, tunaxanthin B 10.5%, tunaxanthin A 10.4%로서 주성분을 이루며, 그 외 zeaxanthin, α -cryptoxanthin, β -carotene type의 triol 및 β -carotene순으로 함유되어 천연산과 유사하였다.

松野와 勝山(1976)가 농어의 carotenoid는 lutein 27.1%, zeaxanthin 26.0%, tunaxanthin 12.7%로서 주성분을 이루며, 그 외 α -cryptoxanthin, cythiixanthin, diatoxanthin 및 β -carotene순으로 함유한다는 결과와 비교하면 다소의 차이가 있었다. 그러나 tunaxanthin획분에 있어서 松野等(1980)이 방어, 참치, 돌고래 등의 tunaxanthin이성체의 함유비는 tunaxanthin C, tunaxanthin B, tunaxanthin A의 순으로 높다고 한 보고와 비교하여 유사하였다. 그리고 하 등(1992)이 천연산 넙치는 양식산에 비하여 tunaxanthin 및 triol의 함유비가 높은 반면, lutein 및 zeaxanthin의 함유비가 훨씬 낮게 나타났으며, 松野等(1974)이 천연산 은어는 양식산에 비하여 cryptoxanthin과 cythiixanthin의 함유비가 높은 반면, lutein 및 zeaxanthin의 함유비가 훨씬 낮게 나타났고, 松野와 勝山(1979)가 천연산 tilapia는 양식

산에 비하여 lutein과 cynthiaxanthin의 함유비가 높은 반면 tunaxanthin A의 함유비가 낮게 나타났다고 보고하여 천연산과 양식산은 carotenoid 조성에 있어서 함유비가 큰 차이를 나타내고 있었다.

3. 사육농어의 carotenoid 조성의 변화

사육 4주후와 사육 8주후 각 구의 총 carotenoid 함량과 carotenoid 조성비는 Table 4, 5와 같다.

각 시험구의 총 carotenoid함량을 보면, 사육 4주후와 사육 8주후에 다 같이 carotenoid첨가구 모두에서 carotenoid무첨가구인 대조구에 비해서 높게 나타났으며, 특히 astaxanthin monoester첨가구에서 가장 높게 나타났고, 다음으로 유리형의 astaxanthin, astaxanthin diester 등의 순으로 나타나 astaxanthin monoester첨가구에서 체색선명화의 효과가 컸으므로, 농어의 체색개선을 목적으로 carotenoid색소를 투여할때는 astaxanthin monoester를 투여하는 것이 효과적이고 xanthophyll을 첨가할 필요는 없다고 생각된다.

그리고 대조구의 총 carotenoid함량은 사육 4주후에 비해 사육 8주후 현저하게 감소하여 사료중에 carotenoid색소를 첨가하지 않을 경우에는 표피의 carotenoid량이 사육기간중 서서히 감소한다는 보고(鹿山 等, 1973)와 같은 경향을 보였다.

Carotenoid 조성에 있어서는 사육 4주후에 astaxanthin monoester첨가구에서 β -carotene의 함유비가 67.7%로 현저하게 높은 반면, lutein의 함유비는 대조구에 비해 매우 낮게 나타났으며, 또한 astaxanthin diester, β -carotene, astaxanthin첨가구에서도 β -carotene의 함유비가 다소 높게 나타났다.

사육 8주후에는 사육 4주후와는 달리 각 구간에 있어서 큰 차이를 나타내지 않았으며, 체색선명화 효과가 컸었던 astaxanthin monoester첨가구에서는 사육 4주후에 비하여 β -carotene의 함유비가 현저하게 감소된 반면, 체내축적형인 lutein의 함유비가 크게 증가되었고, 그 외 tunaxanthin획분의 함유비도 증가되어 이들 carotenoid성분이 carotenoid축적을 및 체색선명화에 영향을 미치는 것으로 추정되었다.

平尾 等(1963)은 금붕어를 lutein투여구 및 astaxanthin 투여구로 나누어 30일간 사육한 결과, carotenoid함량이 lutein투여구에서는 크게 증가한 반면, astaxanthin투여구에서는 오히려 감소하였다고 하였으며, Schimidt와 Baker(1969)가 연어와 송어를 사육한 경우에는 canthaxanthin이 발색효과가 있다고 하였고, 松野 等(1979)은 비단잉어는 zeaxanthin이 체색선명화 효과가 있다고 하여 본 실험

Table 4. Amounts and percentage composition of individual carotenoids in the integuments of sea bass after being fed the experimental diet for 4 weeks (% in total carotenoids)

Total carotenoids	Group					
	Control	1	2	3	4	5
Composition	0.21 mg%	0.35 mg%	0.42 mg%	0.52 mg%	0.53 mg%	0.43 mg%
β -carotene	0.7	10.6	1.3	4.6	67.7	15.6
β -cryptoxanthin	1.3	4.4	4.2	4.8	1.4	2.9
Tunaxanthin A	9.3	7.3	9.2	9.3	3.5	9.9
Tunaxanthin B	11.7	10.5	11.3	12.7	3.0	9.0
Tunaxanthin C	29.2	24.1	29.4	28.8	8.5	22.9
Lutein	41.8	37.4	38.4	32.6	14.0	33.8
Zeaxanthin	2.5	3.5	2.5	6.0	0.8	3.3
Triol (β -carotene type)	3.5	2.2	3.7	1.0	1.1	2.6

Table 5. Amounts and percentage composition of individual carotenoids in the integuments of sea bass after being fed the experimental diet for 8 weeks (% in total carotenoids)

Total carotenoids	Group					
	Control	1	2	3	4	5
Composition	0.11 mg%	0.25 mg%	0.33 mg%	0.53 mg%	0.56 mg%	0.41 mg%
β -carotene	1.7	2.0	1.9	2.5	1.5	1.5
α -cryptoxanthin	3.0	3.1	5.5	3.2	2.6	2.2
Tunaxanthin A	11.1	11.9	11.0	11.0	14.3	12.1
Tunaxanthin B	13.9	11.8	12.2	11.8	12.8	12.3
Tunaxanthin C	28.0	28.7	28.9	27.2	28.9	27.4
Lutein	38.3	34.6	35.3	38.1	36.1	40.6
Zeaxanthin	3.6	4.1	2.4	2.5	2.0	1.8
Triol (β -carotene type)	0.4	3.8	2.7	3.7	1.7	2.1

의 결과와 비교하면 상당한 차이를 보였다.

한편, Fujita 등(1983b)은 방어의 경우에는 astaxanthin ester와 astaxanthin을 주성분으로 함유하고 있는 krill oil이 발색효과가 있다고 하였으며, 中添 等(1984)과 伊藤 等(1986)은 참돔의 경우에는 유리형의 astaxanthin보다 astaxanthin ester가 발색효과가 더 있다고 한 보고와 비교하면 서로 유사하였다.

사육 4주후와 사육 8주후의 총 carotenoid 함량과 각 carotenoid의 함유비의 변화로 보아 농어에 있어서 carotenoid 대사는 astaxanthin의 4,4' 위치가 환원되어 β -carotene type의 triol을 거쳐 zeaxanthin으로 대사되고, 그 후 cyclohexene 환에 있어서 이중결합의 이동이 일어나 lutein으로 되고 최종적으로 tunaxanthin까지 대사되는 4-keto- β -end group의 e-end group으로 변환되는 환원적 대사경로를 가지는 것으로 추정된다.

한편, carotenoid 축적율이 높았던 astaxanthin monoester 첨가구에서 사육 4주후에 β -carotene의 함유비가 높게 나타난 반면 tunaxanthin 환분과 lutein의 함유비가 낮게 나타났으며, 사육 8주후에는 β -carotene의 함유비가 현저하게 감소한 반면 tunaxanthin 환분과 lutein의 함유비가 크게 증가하는 것으로 보아 astaxanthin이 β -carotene으로 환원된 후 다시 lutein 및 tunaxanthin으로 대사될 가능성을 배제할 수 없는 것으로 추정된다. 이를 명확하게 구명하기 위해서는 cyclohexene 환의 산화와 환원은 효소계에 의해 지배된다고 보고(幹·藤田, 1985)되어 있어서 효소학적인 측면에서의 연구가 필요할 것으로 생각된다.

이와 같이 환원적 대사경로를 가지는 어류(松野, 1989; Matsuno *et al.*, 1985; 幹·藤田, 1985)로는 체표피중에 tunaxanthin을 주성분으로 함유하고 있는 어류인 방어, 참돔, 날치, 고등어 등이 있는 것으로 보고되어 있다.

이들 어류에 있어서 β -Ionone 환에서 ϵ -Ionone 환으로 진행되는 이유를 幹와 藤田(1985)는 첫째로, 동물에 있어서 식물연쇄와 carotenoid 조성과의 관계를 보면, 척추동물에만 ϵ -carotene type의 carotenoid가 나타나고, α -carotene type의 carotenoid는 절족동물이상에서 존재하며, β -carotene type의 carotenoid는 식물연쇄저위의 해면동물, 동물 plankton 등에 널리 존재하기 때문이며, 둘째로, 화학적 관점에서 볼때, 대사는 공역이중결합이 짧은 쪽으로 진행되는 것이 원칙이다. 즉, cyclohexene 환과 중앙부의 polyene 체의 공역이중결합을 보면, β -carotene에서 11, α -carotene에서 10, ϵ -carotene에서 9개의 공역이중결합이 존재하므로 대사는 β -Ionone 환에서 ϵ -Ionone 환으로 진행된다. 그리고 cyclohexene 환의 산화, 환원은 효소계에 의해 지배되며, 식물연쇄와의 직접적인 관련은 없기 때문이라 하고 있다.

요 약

양식 농어에 대한 사료 carotenoids의 대사와 체색개선에 미치는 영향을 검토하기 위하여 β -carotene, lutein ester, astaxanthin, astaxanthin monoester 및 astaxanthin diester의 첨가사료로서 8주간 사육하여 표피의 carotenoid 성분을 분석, 비교 검토한 결과는 다음과 같다.

농어 표피의 carotenoid 색소는 tunaxanthin 환분과 lutein이 주성분을 이루고 있으며, 그 외 β -carotene, α -cryptoxanthin, zeaxanthin 및 β -carotene type triol이 소량으로 존재하였다. 한편, 천연산은 양식산에 비하여 tunaxanthin과 lutein의 함유비가 높은 반면 β -carotene의 함유비가 낮은 경향을 보여 서로 차이를 보였다.

Carotenoid의 축적율은 astaxanthin monoester 첨가구에서 가장 높게 나타나서 체색선명화의 효과가 컸었으며, 그 다음으로 astaxanthin, astaxanthin diester 첨가구의 순으로 나타났다.

사육시험후 각 시험구의 carotenoid 함량과 조성으로 보아, 농어의 carotenoid 대사경로는 astaxanthin이 β -carotene type triol, zeaxanthin, lutein을 거쳐 tunaxanthin으로 되는 환원적 대사과정을 가지는 것으로 추정할 수 있었다.

참 고 문 헌

- Ando, S. and M. Hatano. 1987. Metabolic pathways of carotenoids in chum salmon *Oncorhynchus keta* during spawning migration. *Comp. Biochem. Physiol.*, 87B, 411~416.
- Britton, G. and T. W. Goodwin. 1982. Carotenoid chemistry and biochemistry. Pergamon press, New York, 55~70.
- Enzell, C. R., G. W. Francis and S. Liaan-Jensen. 1969. Mass spectrometric studies of carotenoids. 2. A survey of fragmentation reactions. *Acta. Chem. Scand.*, 23, 727~750.
- Fujita, T., M. Satake, T. Watanabe, C. Kitajima, W. Miki, K. Yamaguchi and S. Konosu. 1983a. Pigmentation of cultured red sea bream with astaxanthin diester purified from krill oil. *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.*, 49(12), 1855~1861.

- Fujita, T., M. Satake, S. Hikichi, M. Takeda, S. Shimeno, H. Kuwabara, W. Miki, K. Yamaguchi and S. Konosu. 1983b. Pigmentation of cultured yellowtail with krill oil. *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.*, 49(10), 1595~1600.
- Hata, M. and M. Hata. 1972. Carotenoid pigments in goldfish-IV. Carotenoid metabolism. *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.*, 38(4), 331~338.
- Hata, M. and M. Hata. 1975. Carotenoid metabolism in fancy red carp, *Cyprinus carpio*-I. Administration of carotenoids. *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.*, 41, 653~655.
- Hata, M. and M. Hata. 1976. Carotenoid metabolism in fancy red carp, *Cyprinus carpio*-II. Metabolism of ¹⁴C-zeaxanthin. *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.*, 42, 203~205.
- Kuhn, R., A. Winterstein und E. Lederer. 1931. Der kenntnis der xanthophylle. *Z. Physiol. Chem.*, 197, 141~160.
- Maoka, T., M. Katsuyama, N. Kaneko and T. Matsuno. 1985. Stereochemical investigation of carotenoids in the antarctic krill *Euphausia superba*. *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.*, 51(10), 1671~1673.
- Matsuno, T., M. Katsuyama, T. Maoka, T. Hirono and T. Komori. 1985. Reductive metabolic pathways of carotenoids in fish (3S,3'S)-astaxanthin to tunaxanthin A, B and C. *Comp. Biochem. Physiol.*, 80B, 779~789.
- Matsuno, T., T. Maoka, M. Katsuyama, T. Hirono, Y. Ikuno, M. Shimizu and T. Komori. 1986. Comparative biochemical studies of carotenoids in fishes-XXI. Isolation of new luteins, lutein F and lutein G from marine fishes. *Comp. Biochem. physiol.*, 85B, 77~80.
- McBeth, J. W. 1972. Carotenoid from nudibranchs. *Comp. Biochem. Physiol.*, 41B, 55~68.
- Petzold, E. N. and F. W. Quackenbush. 1960. Zienoxanthin, a crystalline carotenol from corn gluten. *Arch. Biochem. Biophys.*, 86, 163~165.
- Philip, T. and J. W. Berry. 1975. Nature of lutein acylation in marigold (*Tagetes erecta*) flowers. *J. Food Sci.*, 40, 1089~1090.
- Quackenbush, F. W. and S. Miller. 1972. Composition and analysis of carotenoids in marigold petals. *J. A. O. A. C.*, 55, 617.
- Schmidt, P. J. and E. G. Baker. 1969. Indirect pigmentation of salmon and trout flesh with canthaxanthin. *J. Fish. Res. Bd. Canada*, 26(2), 357~360.
- Yamaguchi, K., W. Miki, N. Toriu, Y. Kondo, M. Murakami, S. Konosu, M. Satake and T. Fujita. 1983. The composition of carotenoid pigments in the antarctic krill *Euphausia superba*. *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.*, 49(9), 1411~1415.
- 농림수산부. 1990. 농림수산통계연보, p. 227.
- 하봉석·강동수·김용관·김귀식. 1989. 서식환경 요인에 따른 피조개육의 carotenoid 색소와 지질성분의 변화. *한국영양식량학회지*, 18(1), 71~92.
- 하봉석·강동수·조영숙·박미연. 1992. 넙치와 방어의 carotenoid 색소 성분. *한국영양식량학회지*, 21(4), 407~413.
- 河奉錫·姜東洙·金鍾鉉·崔玉水·柳浩英. 1993. 養殖 넙치, 참돔의 飼料 carotenoids 代謝와 體色改善에 미치는 影響. *한국수산학회지*, 26(2), 91~101.
- 平尾秀一·菊池 嶺·酒井壽恵·荒井君枝. 1962. ラツテおよびニジマスに對する β-アポカロテナルの投與成績. *日水誌*, 28(7), 709~714.
- 平尾秀一·小澤聰子·末松靖子. 1963. 魚類のカロチノド色素に關する研究-II. キンギョの體色變化に對する餌料カロチノイドの影響. *日水誌*, 29(4), 382~386.
- 平尾秀一. 1967. 魚類のカロチノイド. *日水誌*, 33(9), 866~871.
- 生野芳博·松野隆男. 1987. 메바치 *Thunnus obesus*의 카로테노이드 성분과 그들의代謝. *日水誌*, 53(10), 1893~1896.
- 伊藤良仁·釜田 忠·田中淑人·鮫島宗雄. 1986. 아스타キサ닌과 아스타キサ닌지발리테트による마다이의體色改善試驗. *水産増殖*, 34(2), 77~80.
- 松野隆男·永田誠一·岩崎 久·勝山政明. 1974. Ayu의 카로테노이드 색소 성분. *日水誌*, 40(1), 73~77.
- 松野隆男·勝山政明. 1976. 魚類のカロチノイドに關する比較生化學的研究-IX. 스즈키型魚類に屬する19魚種について. *日水誌*, 42(6), 645~649.
- 松野隆男·永田誠一·岩橋正雄·池利 通·岡田

- 隱. 1979. *Spirulina*(란藻)の主カロテノイド成分zeaxanthinとmyxoxanthophyllのニシキゴイ體色鮮明化に對する效果. 日本誌, 45(5), 627~632.
- 松野隆男・勝山政明. 1979. 魚類のカロテノイドに關する比較生化學的研究-XIV. テラピアのカロテノイド成分-I. 日本誌, 45(12), 1533~1538.
- 松野隆男・松高壽子・勝山政明・永田誠一. 1980. 魚類のtunaxanthin劃分より立體異性體tunaxanthin A, tunaxanthin Bおよびtunaxanthin Cの分離. 日本誌, 46(3), 333~336.
- 松野隆男・松高壽子 永田誠一. 1981. キンギョ *Carassius auratus* における lutein および zeaxanthin のネトカロテノイドへの生體內代謝. 日本誌, 47(5), 605~611.
- 松野隆男. 1989. 動物のカロテノイドとその代謝. 營養學雜誌, 45(5), 219~232.
- 中添純一・石井清之助・紙本洋志・竹内昌昭. 1984. 飼料カロテノイドがマタイ幼魚のカロテノイド蓄積および體成分に及ぼす影響. 東海區水研報, 113, 29~41.
- 鹿山 光・中川平介・山田・村上 豊. 1973. 養殖マダいの體色改善に關する研究 1. アメリカザリガニ甲殻のカロチノイドの投與效果. 廣島大學水畜産學部紀要, 12, 49~59.
- 山口 勝. 1954. 「そてつ」の果實のカロチノイド色素. 九大理(化學), 2, 31~33.
- 幹 涉, 藤田孝夫. 1985. 魚類のカロチノイド代謝. 化學と生物, 23, 640~648.

1994년 4월 4일 접수

1994년 5월 7일 수리