

철에 노출된 넙치, *Paralichthys olivaceus*의 혈액화학적 변동

강주찬[†] · 지정훈 · 조규석*

부경대학교 수산생명의학과, *충청북도 내수면연구소

Hemochemical Changes in Olive Flounder, *Paralichthys olivaceus* Exposed to Various Iron Concentrations

Ju-Chan Kang[†], Jung-Hoon Jee and Kyu-Seok Cho*

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

*Chungcheongbukdo Inland Fisheries Research Institute, 380-250, Korea

This study was carried out to determine the effects of various iron concentrations on the hemochemical changes of olive flounder, *Paralichthys olivaceus* exposed for 50 days. The flounder exposed to iron concentration 0.97 mg/l started to increase significantly in serum iron and magnesium concentrations after 20 days. The low concentration of serum calcium concentration was observed at 30 days of the experiment in iron concentration 0.97 mg/l. Serum total protein, albumin and glucose concentrations initiated to decrease from 30 days at the iron concentrations of 0.97 mg/l or up. Total cholesterol concentration was increased significantly after 40 days at iron concentration 0.97 mg/l. A significant increment of GOT, GPT and LDH activities in the flounder serum was noticed after 40 days at iron concentrations over 0.97 mg/l without significant changes of AL-P. These results indicate that flounder can be affected by iron in terms of inorganic elements, organic substances and enzyme activity in serum when they were exposed to the iron concentrations 0.97 mg/l or higher for 30 days.

Key words : *Paralichthys olivaceus*, Iron, Serum, Hemochemical changes

수중에 존재하는 중금속이 어류에 미치는 독성에 대해서는 여러 가지 각도에서 많은 연구들이 진행되고 있다. 그러나, 이들 대부분의 연구는 중금속 중에도 독성정도가 강한 수은, 카드뮴 및 구리 등에 관한 것이 대부분이며, 철에 대한 연구는 무척추동물을 대상으로 단편적인 보고가 있을 뿐(Gajbhiye and Hirota, 1990 ; Mullick and Konar, 1991), 어류에 대한 연구는 극히 미비한 실정이다. 이는 어류에 있어서 철은 독성적인 관점보다는 미량원소로서의 영양적인 관점에서 그 의미를 크게 부여하고 있기 때문이다(Sakamoto and Yone, 1976 ; Delbert et al., 1986 ; Kirchgessner and Schwarz, 1986). 즉, 어류에 있어서 철은 미량원소로서 산소운반과 세포내 호흡에 있어서 매우 중요한 기능을 담당하기 때문에(Mage and Sveier, 1998), 영양학적인 측면에서 연구가 진행되어 왔다(Sakamoto and Yone, 1976, 1978, 1979). 그러나 포유류의 체내에 철이 과량으로 존재할 경우 사망을 하게 되는데, 이는 철의 독성작용(심장혈관계 장애 및 간장 손상으로 인한 직

접적인 독작용)과 관련이 있다고 하였다(이, 1997). 중금속과 같은 독성물질에 대한 어류의 영향정도를 평가하는데는 생화학적 지표들이 이용되고 있는데, 이들 중 혈액화학적 변동은 유용한 수단으로 활용되고 있으며(McCain et al., 1996), 특히, 독성물질에 대한 만성적 영향의 평가에 유효하게 사용되고 있다. 일반적으로 연안에서의 고농도의 철은 육상유래 혹은 빈산소 형성에 따른 저질로부터의 용출에 의해 존재하게 된다. 따라서, 본 연구는 넙치의 자연 서식지 및 양식과정에서 발생될 수 있는 철 오염에 따른 영향을 파악하기 위하여 이들에 대한 혈액화학적 변동을 검토하였다.

재료 및 방법

실험어

넙치는 남해소재 육상수조식 양어장에서 분양받아 실험실로 운반한 후, 400 l 순환여과식 수조에서 2주 이상 순치 시킨 개체를 사용하였다. 넙치

*Corresponding Author

Table 1. The chemical components of seawater used in the experiment

Item	Value
Temperature(°C)	20.0
Salinity(‰)	31.8
pH	8.03
Dissolved oxygen (mg/l)	7.25
NH ₄ ⁺ -N (μg-at N/l)	0.038
NO ₂ -N (μg-at N/l)	0.029
NO ₃ -N (μg-at N/l)	0.823
PO ₄ ³⁻ -P (μg-at P/l)	0.039
Suspended solid	10.3
Iron (μg/l)	5.23

는 먹이 불임을 하고, 실험실조건에 적응시키기 위하여 수온, pH, 염분 및 용존산소가 각각 19.4~21.3°C, 7.8~8.1, 32.3~33.1‰, 7.5~7.8 mg/l에서 순차 시켰다. 먹이는 넙치용 부상사료를 공급하였고, 실험에는 외관상 질병의 증세가 나타나지 않은 체장 17.9~19.5 cm, 체중 77.1~85.3 g의 건강한 개체를 사용하였다.

실험과정

실험은 PVC수조($52 \times 36 \times 30$ cm)를 사용하여 순환식 방법에 의하여 실시하였고, 실험해수의 교환은 2일을 원칙으로 하였으나, 수질측정 결과에 따라 수시로 교환하였다. 실험용액은 황산철 ($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)을 사용하여 stock 용액을 조제하여 예비실험을 바탕으로 0.1, 0.5, 1.0, 5.0, 10.0 mg/l의 5개의 농도구를 stock 용액의 회석에 의하여 설정하였다. 실험기간 중의 철 농도는 phenanthroline-법(APHA, 1985)으로 측정하였고, 이 외의 수온 (Water Checker, U-10, Horiba, Ltd.), pH(pH meter, 250A, Orion Research Inc.), 염분 및 용존산소 (Water Checker, U-10, Horiba, Ltd.)에 대해서도 1 일 1회 측정하였다. 실험에 사용한 해수의 수질은 Table 1과 같으며, 대조구는 철을 첨가하지 않은 같은 해수를 사용하였고, 실험기간 동안의 철 농도 및 수질분석은 2일 1회 측정하였다. 또한, 모든 실험은 수온 $\pm 1^\circ\text{C}$ 의 조절이 가능한 항온실에서 실시하였으며, 산소발생기에 의해 지속적으로 산소를 공급하였다. 이때 철은 일반적인 pH 범위에서 산화되어

불용성 혼탁물질이 되어 침강하게 되고, 수중에는 이온상태로 존재하지 않은 경우가 많기 때문에 설정농도를 유지하기가 어렵다. 따라서, 이를 방지하기 위하여 sodium citrate를 등비율로 첨가하여 예비실험을 바탕으로 설정농도를 유지하였다.

혈액화학분석

MS-222 (Sigma, USA)로 마취시킨 후, 1회용 주사기를 사용하여 미부혈관 (caudal vein or artery)에서 채혈하였다. 채혈한 혈액은 혈청화학성분을 측정하기 위하여 1시간 동안 실온에 방치한 후, 4°C에서 2시간 동안 방치한 후에 6,000 rpm에서 5분간 원심분리하여 혈청을 분리하였다. 혈청화학 측정은 채혈 후, 곧바로 실시하거나 냉장상태를 유지하면서 3시간 이내에 측정하였다. 혈청 무기성분의 변동은 칼슘(Calcium), 마그네슘(Magnesium) 및 무기인(Inorganic phosphorus)에 대하여 측정하였다. Calcium은 o-cresolphthalein-complexon법, Magnesium은 Xylylidyl blue법, Inorganic phosphorus는 Phosphomolybdate법에 의하여 임상용 kit(Asan Pharm. Co., Ltd.)를 사용하여 측정하였다. 혈청 유기성분 변동은 총 단백질(Total protein), 알부민 (Albumin), 혈당(Glucose), 총 콜레스테롤 (Total cholesterol) 및 빌리루빈(Bilirubin)에 대하여 측정하였다. 즉, Total protein은 biuret법, Albumin은 BCG법, Glucose는 GOD/POD법, Total cholesterol은 효소법, Bilirubin은 A.A.B(Alkalialazo-bilirubin blue) 법으로 시판되고 있는 임상용 kit(Asan Pharm. Co., Ltd.)를 사용하여 측정하였다.

혈청 효소활성의 변동은 GOT(Glutamic oxalate transaminase), GPT(Glutamic pyruvate transaminase), LDH (Lactate dehydrogenase), Ch-E(Choline esterase) 및 Al-P(Akaline phosphatase)를 측정하였다. GOT와 GPT는 Reitman-Frankel법, LDH는 젖산기질법, Ch-E는 효소법, Al-P는 Kind-King법으로 임상용 kit(Iatron Pharm. Co. Ltd., Japan)로 측정하였다.

유의성 검정

유의성 검정은 대조구와 실험구 사이의 차이는 SPSS 통계프로그램(SPSS Inc.)을 이용하여 ANOVA를 실시한 후, 다중비교는 최소유의차 검정으로 평균간의 차이($P<0.05$)를 검정하였다.

Table 2. Variation of iron concentration and water quality in each experiment: Data are presented as mean \pm SD (n=32)

Test vessel number	Target iron con. (mg/l)	Actual iron con. (mg/l)	Temperature (°C)	Salinity (‰)	pH	Dissolved oxygen (mg/l)
1	Control	NCS*	20.3 \pm 0.51	31.8 \pm 1.02	7.6 \pm 0.08	7.4 \pm 2.08
2	0.1	0.11 \pm 0.034	20.2 \pm 0.46	32.0 \pm 1.04	7.9 \pm 0.01	7.1 \pm 2.01
3	0.5	0.49 \pm 0.022	20.1 \pm 0.52	31.9 \pm 1.03	7.5 \pm 0.88	7.2 \pm 1.88
4	1.0	0.97 \pm 0.041	20.2 \pm 0.61	31.7 \pm 1.08	7.7 \pm 0.97	7.3 \pm 1.97
5	5.0	4.95 \pm 0.062	20.3 \pm 0.48	31.8 \pm 1.02	7.8 \pm 0.05	7.1 \pm 2.05
6	10.0	9.97 \pm 0.075	20.2 \pm 0.44	32.0 \pm 1.03	8.0 \pm 0.75	7.2 \pm 1.75

*Natural concentration in seawater : 5.23 $\mu\text{g}/\text{l}$

결 과

실험환경

실험 기간중의 철 농도 및 기타 수질환경의 조사는 2일 1회에 측정하였으며, 그 결과를 전기 간의 평균값으로 Table 2에 정리하였다. 본 실험에서 0.1 ~ 10.0 mg/l 의 범위에서 5개의 실험구로 조절한 철 농도는 설정목표보다 대부분 실험에서 낮은 값을 나타냈었으나, 변동폭은 0.022 ~ 0.075 mg/l 로 작아 안정된 5개의 실험구가 유지되었다. 또한, 수온은 항온실에서 실험을 실시한 결과로 인하여 모든 실험에서 대체로 변동폭이 $\pm 1^{\circ}\text{C}$ 의 범위에서 거의 일정하게 유지되었고, 염분, pH 및 용존산소도 다소의 변화는 있으나 대부분 일정하게 유지되었다.

혈액화학변화

철 노출에 의한 넙치의 혈청 무기성분의 변화를 Table 3에 나타냈다. 실험개시시의 넙치의 혈청 무기성분인 iron, calcium, magnesium 및 inorganic phosphate 농도는 각각 45.67, 10.4, 3.44 및 7.59 mg/dl 이었다. 철에 50일 동안 노출시킨 넙치의 혈청 iron농도는 0.49 mg/l 에서는 30일째부터, 0.97 mg/l 농도에서는 20일째부터 대조구에 비해 유의한 증가를 나타냈다($P<0.05$). 혈청 calcium농도는 철 농도 0.97 mg/l 에서는 30일째부터, 4.95 mg/l 에서는 40일째부터 유의한 감소를 나타내었다($P<0.05$). magnesium농도는 철 농도 0.97 mg/l 에서 노출 30일째부터 유의한 증가를 나타냈으나 ($P<0.05$), inorganic phosphate농도의 변화는 관찰되지 않았다.

넙치의 혈청 유기성분에 대한 철의 영향을 Table 4에 나타냈다. 실험개시시의 넙치의 혈청 유기성분인 total protein, albumin, glucose, total cholesterol 및 bilirubin 농도는 각각 3.54 g/dl , 1.24 g/dl , 14.1 mg/dl , 278.8 mg/dl 및 0.49 mg/dl 이었다. 혈청 total protein농도는 철 농도 0.97 mg/l 에서 노출 30일째부터, 4.95 mg/l 에서는 노출 20일째부터 대조구에 비해 유의한 감소가 인정되었고($P<0.05$), 혈청 albumin농도는 철 농도 0.97 mg/l 에서 노출 40일째부터, 4.95 mg/l 에서는 노출 30일째에 유의한 감소를 나타냈다($P<0.05$). 혈청 glucose농도는 철 농도 0.97 mg/l 에서 노출 30일째부터, 4.95 mg/l 에서는 노출 20일째부터 유의한 감소가 인정되었다($P<0.05$). total cholesterol농도는 0.97 mg/l 이상의 철 농도에서 노출 30일째부터 유의한 증가가 관찰되었으나($P<0.05$), bilirubin농도의 뚜렷한 변동은 관찰되지 않았다. 넙치의 혈청 효소활성에 대한 철의 영향을 Table 5에 나타냈다. 실험개시시의 넙치의 혈청 효소인 GOT, GPT, LDH 및 Al-P 활성을 각각 28.5 Karmen units, 12.5 Karmen units, 249.8 W.U. 및 5.34 K-A이었다. 혈청 GOT 활성은 0.97 mg/l 의 농도에서는 30일째부터, 4.95 mg/l 의 철 농도에서 20일째부터 대조구에 비해 유의한 변동이 관찰되었다($P<0.05$). 혈청 GPT와 LDH활성은 0.97 mg/l 철 농도에서는 50일째부터, 4.95 mg/l 농도에서는 30일째부터 대조구에 비해 유의한 증가를 나타내었고($P<0.05$), Ch-E 활성은 철 농도 4.95 mg/l 에서 40일째부터 유의하게 감소하였으나, Al-P의 변동은 관찰되지 않았다.

Table 3. Inorganic matter changes in serum of olive flounder exposed to various iron concentrations for 50 days : Data are presented as mean \pm SD

Test period (Days)	iron con. (mg/l)	Fish number	Iron (mg/dl)	Calcium (mg/dl)	Magnesium (mg/dl)	Inorganic phosphorus (mg/dl)
10	Control	12	49.6 \pm 3.2	10.4 \pm 0.8	3.7 \pm 0.32	7.6 \pm 0.54
	0.11	9	46.9 \pm 1.8	10.9 \pm 1.1	3.5 \pm 0.28	7.8 \pm 0.37
	0.49	12	49.5 \pm 3.5	10.3 \pm 0.9	4.2 \pm 0.15	8.0 \pm 0.56
	0.97	9	52.3 \pm 2.3	11.0 \pm 1.3	3.5 \pm 0.52	7.7 \pm 0.48
	4.95	12	42.5 \pm 1.2	10.6 \pm 1.5	3.8 \pm 0.23	8.2 \pm 0.78
	9.97	6	50.1 \pm 5.6	10.5 \pm 0.6	4.3 \pm 0.30	7.7 \pm 0.82
20	Control	15	42.1 \pm 3.6	10.3 \pm 0.5	3.8 \pm 0.28	7.6 \pm 0.38
	0.11	9	43.2 \pm 2.7	10.5 \pm 1.2	3.4 \pm 0.33	8.0 \pm 0.89
	0.49	12	48.2 \pm 4.8	11.1 \pm 0.7	3.9 \pm 0.16	7.9 \pm 0.32
	0.97	15	54.5 \pm 3.9	10.6 \pm 1.3	4.0 \pm 0.32	8.1 \pm 0.49
	4.95	12	62.3 \pm 4.2	10.8 \pm 1.7	4.2 \pm 0.19	7.7 \pm 0.53
	9.97	6	59.6 \pm 3.2	10.6 \pm 1.5	3.7 \pm 0.26	8.3 \pm 0.46
30	Control	12	49.6 \pm 1.6	10.6 \pm 1.2	3.5 \pm 0.09	7.6 \pm 0.67
	0.11	9	42.5 \pm 2.2	11.1 \pm 0.8	3.4 \pm 0.18	7.7 \pm 0.39
	0.49	12	65.3 \pm 1.3	10.8 \pm 1.4	3.5 \pm 0.11	8.1 \pm 0.48
	0.97	9	74.1 \pm 3.6	9.2 \pm 1.0	4.7 \pm 0.32	7.9 \pm 0.38
	4.95	6	59.6 \pm 4.0	8.6 \pm 1.2	4.5 \pm 0.08	8.3 \pm 0.27
	9.97	6	72.3 \pm 4.2	8.9 \pm 0.9	5.2 \pm 0.05	7.9 \pm 0.54
40	Control	12	45.6 \pm 1.9	10.8 \pm 1.6	3.7 \pm 0.16	7.6 \pm 0.62
	0.11	12	43.2 \pm 1.2	11.0 \pm 1.1	4.0 \pm 0.21	7.9 \pm 0.73
	0.49	9	75.2 \pm 2.4	10.7 \pm 0.8	3.9 \pm 0.28	7.7 \pm 0.58
	0.97	9	62.3 \pm 4.3	8.7 \pm 0.9	4.6 \pm 0.32	8.2 \pm 0.39
	4.95	6	68.2 \pm 3.5	9.2 \pm 1.2	5.3 \pm 0.12	7.9 \pm 0.53
	9.97	6	71.2 \pm 3.2	8.5 \pm 1.3	4.8 \pm 0.16	8.0 \pm 0.29
50	Control	12	45.6 \pm 3.2	10.5 \pm 0.6	3.5 \pm 0.30	7.7 \pm 0.67
	0.11	12	50.2 \pm 1.5	10.6 \pm 0.5	3.4 \pm 0.26	7.6 \pm 0.39
	0.49	9	79.2 \pm 4.3	3.6 \pm 0.13	3.6 \pm 0.13	8.0 \pm 0.51
	0.97	9	69.5 \pm 3.9	8.9 \pm 1.1	4.3 \pm 0.23	7.9 \pm 0.38
	4.95	6	78.5 \pm 2.8	8.5 \pm 0.9	4.9 \pm 0.14	-
	9.97	6	80.2 \pm 4.5	9.3 \pm 1.3	5.6 \pm 0.13	-

고 칠

중금속이 존재하는 해역에 서식하는 어류는 중금속에 관련하여 여러 가지 측면에서 그들의 생리에 많은 저해영향을 받게되고, 극단적인 경우에는

사망을 초래하는 경우도 있다. 그러나, 철과 같은 중금속은 어류에 미량원소로 작용하는 경우가 있기 때문에 때때로 이들의 결핍은 여러 가지 병상을 유발하기도 하며(Delbert et al., 1986 : Kirchgessner and Schwarz, 1986), 과량으로 존재할 경우에는 미

Table 4. Inorganic matter changes in serum of olive flounder exposed to various iron concentrations for 50 days : Data are presented as mean \pm SD

Test period (Days)	iron con. (mg/l)	Fish number	Total protein (g/dl)	Albumin (mg/dl)	Glucose (mg/dl)	Total cholesterol (mg/dl)	Bilirubin (mg/dl)
10	Control	12	3.51 \pm 0.17	1.25 \pm 0.08	14.8 \pm 1.23	280.6 \pm 17.7	0.56 \pm 0.05
	0.11	9	3.45 \pm 0.13	1.30 \pm 0.10	15.2 \pm 2.21	275.1 \pm 25.9	0.42 \pm 0.07
	0.49	12	3.45 \pm 0.09	1.27 \pm 0.05	15.0 \pm 1.56	277.1 \pm 31.2	0.51 \pm 0.12
	0.97	9	3.42 \pm 0.23	1.22 \pm 0.04	14.7 \pm 1.72	280.1 \pm 18.9	0.52 \pm 0.08
	4.95	12	3.45 \pm 0.11	1.20 \pm 0.12	15.6 \pm 1.02	287.2 \pm 22.7	0.49 \pm 0.06
	9.97	6	3.44 \pm 0.15	1.18 \pm 0.07	15.4 \pm 1.21	275.3 \pm 31.1	0.59 \pm 0.21
20	Control	15	3.49 \pm 0.15	1.27 \pm 0.04	15.4 \pm 1.28	283.6 \pm 15.6	0.51 \pm 0.18
	0.11	9	3.41 \pm 0.21	1.25 \pm 0.13	15.0 \pm 2.04	278.1 \pm 19.8	0.48 \pm 0.11
	0.49	12	3.39 \pm 0.12	1.23 \pm 0.02	14.9 \pm 1.21	279.6 \pm 32.1	0.53 \pm 0.05
	0.97	15	3.45 \pm 0.19	1.24 \pm 0.09	15.5 \pm 1.98	286.3 \pm 28.3	0.53 \pm 0.16
	4.95	12	2.79 \pm 0.13	1.18 \pm 0.07	13.8 \pm 1.73	288.9 \pm 15.9	0.49 \pm 0.13
	9.97	6	2.85 \pm 0.14	1.19 \pm 0.10	14.1 \pm 1.68	290.6 \pm 20.2	0.51 \pm 0.09
30	Control	12	3.51 \pm 0.09	1.24 \pm 0.13	15.9 \pm 1.21	285.9 \pm 13.5	0.52 \pm 0.25
	0.11	9	3.45 \pm 0.13	1.27 \pm 0.09	16.5 \pm 2.21	276.2 \pm 20.2	0.46 \pm 0.12
	0.49	12	3.46 \pm 0.16	1.23 \pm 0.11	16.3 \pm 1.09	281.6 \pm 19.3	0.53 \pm 0.18
	0.97	9	3.01 \pm 0.23	1.19 \pm 0.13	14.7 \pm 1.76	294.1 \pm 25.5	0.49 \pm 0.10
	4.95	6	2.98 \pm 0.13	0.93 \pm 0.08	13.9 \pm 1.39	297.1 \pm 16.9	0.62 \pm 0.15
	9.97	6	2.85 \pm 0.18	1.02 \pm 0.07	12.7 \pm 1.54	317.2 \pm 25.3	0.57 \pm 0.07
40	Control	12	3.49 \pm 0.16	1.25 \pm 0.11	15.3 \pm 1.39	277.6 \pm 18.3	0.59 \pm 0.16
	0.11	12	3.39 \pm 0.25	1.29 \pm 0.13	16.0 \pm 1.43	279.1 \pm 15.1	0.51 \pm 0.12
	0.49	9	3.41 \pm 0.11	1.16 \pm 0.09	15.9 \pm 1.58	275.9 \pm 12.7	0.56 \pm 0.24
	0.97	9	2.78 \pm 0.12	0.97 \pm 0.12	14.0 \pm 2.06	287.2 \pm 10.9	0.49 \pm 0.16
	4.95	6	2.89 \pm 0.24	1.02 \pm 0.07	13.5 \pm 1.36	309.8 \pm 19.5	0.62 \pm 0.17
	9.97	6	3.01 \pm 0.12	0.86 \pm 0.09	13.9 \pm 1.87	316.2 \pm 21.3	0.63 \pm 0.26
50	Control	12	3.48 \pm 0.14	1.24 \pm 0.04	16.0 \pm 1.49	281.6 \pm 18.5	0.49 \pm 0.17
	0.11	12	3.40 \pm 0.16	1.27 \pm 0.12	16.2 \pm 1.51	271.0 \pm 13.8	0.48 \pm 0.12
	0.49	9	3.39 \pm 0.16	1.16 \pm 0.06	15.8 \pm 1.98	280.2 \pm 10.7	0.50 \pm 0.05
	0.97	9	3.03 \pm 0.11	0.86 \pm 0.13	14.6 \pm 1.20	288.6 \pm 27.8	0.53 \pm 0.09
	4.95	6	2.78 \pm 0.09	0.92 \pm 0.10	14.0 \pm 1.23	311.5 \pm 25.2	0.55 \pm 0.16
	9.97	6	2.82 \pm 0.13	0.85 \pm 0.05	14.3 \pm 1.08	318.6 \pm 18.3	0.52 \pm 0.13

만성 간세포괴사 등 철분증독을 일으킨다.

철에 50일 동안 노출시킨 넙치 혈청 iron농도는 0.49 mg/l 에서는 노출 30일째부터, 0.97 mg/l 이상에서는 노출 20일째부터, magnesium농도는 0.97 mg/l 의 철 농도에서 노출 30일째부터 유의한 증가를

나타냈으나, calcium 농도는 0.97 mg/l 에서 30일째, 4.95 mg/l 에서는 40일째부터 유의하게 감소하였다. 카드뮴과 같은 중금속에 노출된 어류는 일반적으로 혈청 calcium농도가 저하하며, 원인은 신장의 세뇨관 상피세포의 재흡수 기능의 장해, 아가미 상

Table 5. Enzyme activity changes in serum of olive flounder exposed to various iron concentrations for 50 days : Data are presented as mean \pm SD

Test period (Days)	iron con. (mg/l)	Fish number	GOT (K-U)	GPT (K-U)	LDH (W.U.)	Ch-E (IU/l)	AI-P (K-A)
10	Control	12	29.5 \pm 3.4	11.2 \pm 1.2	278.5 \pm 12.3	12.9 \pm 2.3	6.01 \pm 0.34
	0.11	9	29.5 \pm 4.2	11.3 \pm 2.3	263.2 \pm 18.5	10.5 \pm 1.8	5.97 \pm 0.17
	0.49	12	28.4 \pm 2.9	13.2 \pm 0.9	256.4 \pm 12.9	13.2 \pm 1.4	5.97 \pm 0.28
	0.97	9	31.2 \pm 3.8	12.1 \pm 1.5	268.5 \pm 21.3	13.8 \pm 2.9	6.36 \pm 0.45
	4.95	12	31.6 \pm 4.7	11.8 \pm 1.0	263.8 \pm 20.5	11.6 \pm 3.3	5.69 \pm 0.19
	9.97	6	36.8 \pm 1.9	12.0 \pm 0.8	263.9 \pm 15.9	12.5 \pm 1.4	6.30 \pm 0.26
20	Control	15	32.9 \pm 3.7	12.8 \pm 2.3	263.4 \pm 25.2	13.6 \pm 1.9	6.69 \pm 0.39
	0.11	9	25.6 \pm 2.8	13.2 \pm 1.2	256.1 \pm 18.5	12.9 \pm 2.0	6.39 \pm 0.19
	0.49	12	27.4 \pm 3.0	12.6 \pm 0.8	265.8 \pm 15.6	13.8 \pm 2.6	5.69 \pm 0.34
	0.97	15	36.9 \pm 3.1	13.3 \pm 1.9	259.8 \pm 20.2	12.9 \pm 2.3	5.69 \pm 0.27
	4.95	12	46.5 \pm 4.2	13.5 \pm 1.5	259.6 \pm 12.7	13.5 \pm 1.8	6.69 \pm 0.17
	9.97	6	45.4 \pm 2.5	12.9 \pm 2.6	289.6 \pm 14.3	13.8 \pm 3.2	7.09 \pm 0.31
30	Control	12	32.5 \pm 3.0	13.1 \pm 0.9	281.5 \pm 15.6	13.4 \pm 1.8	6.01 \pm 0.28
	0.11	9	29.6 \pm 2.5	12.6 \pm 1.3	269.3 \pm 18.2	14.2 \pm 1.4	6.29 \pm 0.32
	0.49	12	28.6 \pm 3.3	14.1 \pm 1.6	263.8 \pm 25.3	13.8 \pm 2.4	5.51 \pm 0.17
	0.97	9	42.9 \pm 2.4	13.7 \pm 0.8	282.4 \pm 21.2	13.4 \pm 1.7	6.39 \pm 0.19
	4.95	6	36.9 \pm 3.9	16.8 \pm 2.2	303.5 \pm 17.5	15.1 \pm 2.4	6.39 \pm 0.27
	9.97	6	44.9 \pm 2.7	18.2 \pm 1.0	300.5 \pm 20.3	14.3 \pm 1.3	6.29 \pm 0.25
40	Control	12	32.5 \pm 3.4	12.6 \pm 2.5	256.3 \pm 22.5	13.5 \pm 2.0	6.25 \pm 0.18
	0.11	12	29.6 \pm 1.9	11.5 \pm 1.8	246.8 \pm 17.8	13.7 \pm 2.9	5.57 \pm 0.37
	0.49	9	28.6 \pm 2.8	16.2 \pm 1.4	269.8 \pm 19.3	12.9 \pm 3.2	5.69 \pm 0.42
	0.97	9	44.9 \pm 3.2	14.8 \pm 3.2	274.9 \pm 13.2	14.9 \pm 1.7	5.29 \pm 0.28
	4.95	6	46.9 \pm 2.0	21.5 \pm 2.5	333.9 \pm 10.9	10.5 \pm 2.1	5.01 \pm 0.51
	9.97	6	51.9 \pm 1.9	23.4 \pm 3.9	326.7 \pm 12.3	9.8 \pm 1.7	5.64 \pm 0.24
50	Control	12	29.4 \pm 3.5	12.9 \pm 1.5	255.6 \pm 17.4	13.8 \pm 3.4	5.69 \pm 0.36
	0.11	12	33.9 \pm 4.2	13.1 \pm 0.9	263.7 \pm 13.3	14.3 \pm 1.8	4.99 \pm 0.25
	0.49	9	26.5 \pm 5.0	13.5 \pm 1.2	278.5 \pm 18.9	13.0 \pm 2.2	5.09 \pm 0.42
	0.97	9	40.5 \pm 2.6	18.6 \pm 3.2	303.7 \pm 15.3	13.7 \pm 1.7	5.69 \pm 0.30
	4.95	6	43.1 \pm 3.2	22.9 \pm 2.8	315.6 \pm 13.8	9.5 \pm 1.0	6.29 \pm 0.17
	9.97	6	50.5 \pm 4.6	21.8 \pm 2.4	313.9 \pm 15.2	10.2 \pm 1.7	4.98 \pm 0.26

피세포의 막 투과성 변화 및 장관 흡수기능의 장해에 기인된다(Jiro and Yasuo, 1977 ; Roch and Maly, 1979). 따라서, 넙치에 있어서도 과량의 철의 존재는 상기의 장해로 인해 calcium농도가 저하하였을 가능성이 크며, iron 및 magnesium농도의 증가는

카드뮴에서의 노출과 마찬가지로 조직 등에서 혈청으로 유리된 결과(Ma et al., 1995)라고 생각된다.

혈청 total protein농도는 철 농도 0.97 mg/l 이상 농도에서 노출 30일째부터, 4.95 mg/l에서는 20일째부터, albumin농도는 철 농도 0.97 mg/l에서는

노출 40일째부터, glucose 농도는 노출 30일째부터 철 농도 0.97 mg/l 에서 유의하게 감소하였다. 어류의 혈청 protein 및 albumin 농도의 변화는 최근 환경오염의 지표로 사용되고 있고(Ito and Murata, 1990; Hodson et al., 1992), 카드뮴, 말라치온 및 유류 등의 노출에 의해 감소하며, 그 원인중의 하나는 장관의 조직학적변화로인한 장관의 흡수장해, 간췌장의 손상 및 세뇨관의 재흡수장애를 들 수 있다(Yamawaki et al., 1986; Khattak et al., 1996; Shen et al., 1997). 따라서, 철 노출에 의한 넙치의 혈청 total protein, albumin 및 glucose 농도의 감소는 과량의 철에 의한 간조직의 손상으로인한 합성장애, 장관의 흡수장해를 생각할 수 있다.

혈청 GOT 활성은 0.97 mg/l 의 철 농도에서 노출 30일 후부터, GPT 활성은 0.97 mg/l 의 농도에서 노출 50일째에 유의한 증가를 나타냈다. 혈청 전이효소인 GOT와 GPT의 활성은 환경오염 원인이 되는 조직 손상을 인지하는 어류질병의 진단에 이용되고 있으며(Sakamoto and Yone, 1978; Shich, 1978; and Ramos, 1980), 오염지역 및 사염화탄소의 노출에 의해서도 변화 한다(Casillas and Ames, 1985; Rao et al., 1990). 어류에 있어 오염물질에 대한 이들 효소는 간췌장 조직에 높은 활성을 가지고 있으며, 간장장해에 의해 혈중에 일탈한다(尾崎, 1971). 따라서, 철 농도 0.97 mg/l 이상에 노출된 넙치는 간 조직에 장해를 받아 혈 중에 일탈한 결과로 인하여 적어도 30일부터 GOT 활성이 상승한 것으로 사료된다. 혈청 LDH 활성은 철 농도 0.97 mg/l 에서 50일째에 유의한 상승을 보였다. 무지개 송어에 있어 유기인계 살충제 및 제초제는 혈청 LDH 활성을 증가시키며(Balint et al., 1995; Zheng and Nicholson, 1996), 그 원인은 오염물질의 노출에 의한 장해를 받은 간 조직에서 LDH가 혈중에 유출된 결과, 혈청 LDH 활성은 증가한다고 하였다(Casillas and Ames, 1986). 따라서, 넙치의 혈청 LDH 활성의 증가는 간 조직의 장해로 인해 혈중에 LDH가 유출된 결과라고 추측할 수 있다. 혈청 Ch-E 활성은 철 농도 4.95 mg/l 에서 40째부터 유의한 감소를 나타냈다. acetylcholinesterase (ACh-E)는 신경전달물질중의 하나인 acetylchoine을 분해하는 효소로 유기인계 및 유기염소계 농약의 노출에 의해 그 활성이 억제되는데(Weiss and Gakstatter, 1964; Holland et al., 1967; et al, 1995) 철도

이와같은 양상을 보였다. 결론적으로 4.95 mg/l 이상의 철 농도에 30일 이상 노출된 넙치는 혈청내의 대부분의 무기성분, 유기성분 및 효소의 활성을 변화시킬 것이다. 또한 넙치의 혈액화학적 변화는 적어도 철 농도 0.95 mg/l 이상에서 20일째부터 나타나고 있어 자연서식지 및 양식장 등에 0.95 mg/l 이상의 철 농도가 20일 이상 지속될 경우, 넙치는 생리적 장해를 유발시킬 가능성이 클 것으로 생각된다.

요 약

주요 양식어류인 넙치를 대상으로 $0.1\sim10 \text{ mg/l}$ 범위의 철 농도에서 순환식 방법에 의해 50일 동안 사육하면서 혈액화학변동을 조사하였다. 넙치의 혈청 iron과 magnesium 농도는 1.0 mg/l 의 철 농도에서 20일째부터 유의한 증가를 나타냈다. 혈청 calcium농도는 철 농도 1.0 mg/l 에서는 30일째부터 유의한 감소를 나타냈으나, inorganic phosphate의 뚜렷한 농도변화는 관찰되지 않았다. 혈청 total protein, albumin, glucose 농도는 철 농도 1.0 mg/l 에서 노출 30일째부터 유의하게 감소하였고, total cholesterol 농도는 1.0 mg/l 철 농도에서 노출 40일째부터 유의한 증가가 관찰 되었다. 혈청 GOT, GPT, LDH 및 amylase 활성은 철 농도 1.0 mg/l 에서 40일째부터 유의하게 증가하였으나, Al-P의 뚜렷한 변동은 관찰되지 않았다. 이상의 결과는 철에 노출된 넙치 일부의 혈청 무기성분, 유기성분 및 효소활성은 철 농도 1.0 mg/l 이상에서 적어도 30일째부터는 변동한다는 것을 의미한다.

사 사

본 연구는 한국과학재단에서 시행하는 학심전문 연구과제(981-0614-072-2)의 연구비 지원에 의하여 수행된 연구결과의 일부이며, 연구비 지원에 감사합니다.

참고문헌

APHA(American Public Health Association), American Water Works and Water Pollution Control Federation, 1985, Standard methods for the examination of

- water and wastewater. 16th ed. Washington, D. C. pp. 1268.
- Arnold, H., Pluta, H. J. and Braunbeck, T. : Simultaneous exposure of fish to endosulfan and disulfoton in vivo : Ultrastructural, stereological and biochemical reactions in hepatocytes of male rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquat. Toxicol.*, 33(1) : 17-43, 1995.
- Balint, T., Szegletes, T., Szegletes, Z., Halasy, K. and Nemcsok, J. : Biochemical and subcellular changes in carp exposed to the organophosphorus methidathion and the pyrethroid deltamethrin. *Aquat. Toxicol.*, 33(3-4) : 279-295, 1995.
- Casillas, E. and Ames, W. : Serum chemistry of diseased English sole, *Parophrys vetulus* Girard, from polluted areas of Puget Sound, Washington. *J. Fish Dis.*, 8(5) : 437-449, 1985.
- Casillas, E. and Ames, W. : Hepatotoxic effects of CCl_4 on English sole (*Parophrys vetulus*) : Possible indicators of liver dysfunction. *Comp. Biochem. Physiol. C*, 84C(2) : 397-400, 1986.
- Dalela, R. C., Rani, S. and Verma, S. R. : In vivo subacute physiological stress induced by phenolic compounds on acid and alkaline phosphatases in serum of a fish, *Notopterus notopterus*. *Toxicol. Lett.*, 7(2) : 181-186, 1980.
- Delbert, M., Gatlin, I. and Wilson, R. P. : Characterization of iron deficiency and the dietary iron requirement of fingerling channel catfish. *Aquaculture*, 52 : 191-198, 1986.
- Gajbhiye, S. N and Hirota, R. 1990. Toxicity of heavy metals to brine shrimp Artemia. *J. Indian Fish. Assoc.*, 20, 43~50.
- Hodson, P. V., McWhirter, M., Ralph, K., Gray, B., Thivierge, D., Carey, J. H., Van-Der-Kraak, G., Whittle, D. M. and Levesque, M. C. : Effects of bleached kraft mill effluent on fish in the St. Maurice River, Quebec. *Environ. Toxicol. Chem.*, 11(11) : 1635-1651, 1992.
- Holland, H. T., Coppage, D. R. and Imada, N. : Use of fish brain acetylcholinesterase to monitor pollution by organophosphorus pesticides. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 2(3) : 156-162, 1967.
- Ito, Y. and Murata, T. : Changes in glucose, protein contents and enzyme activities of serum in carp administered orally with PCB. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.*, 46(4) : 465-468, 1990.
- Jiro, K. and Yasuo, I. : Effects of oral administration of cadmium on fish- I. Analytical results of the blood and bones. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.*, 43(5) : 523-526, 1977.
- Khattak, I. U. D. and Hafeez, M. A. : Effect of malathion on blood parameters of the fish, *Cyprinodon watsoni*. *Pak. J. Zool.*, 28(1) : 45-49, 1996.
- Kirchgessner, M. and Schwarz, F. J. : Mineral content(major and trace element) of carp(*Cyprinus carpio* L.) fed with different protein and energy supplies. *Aquaculture*, 54 : 3-9, 1986.
- Koyama, J. and Itazawa, Y. : Effects of oral administration of cadmium on fish. 1. Analytical results of the blood and bones. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.*, 43(5) : 523-526, 1977.
- Ma, G., Lin, H. and Zhang, W. : Effects of cadmium on serum gonadotropin and growth hormone in common carp(*Cyprinus carpio* L.) *J. Fish. China Shuichan Xuebao.*, 19(2) : 120-126, 1995.
- Mage, A. and Sveier, H. : Addition of dietary iron(III) oxide does not increase iron status of growing Atlantic salmon. *Aquacult. Int.*, 6(3) : 249-252, 1998.
- Malyzheva, T. D. and Vasilevskij, V. S. : Digestive enzymatic activity in common carp with enteral zinc loads. *Gidrobiol. J. Hydrobiol.*, 27(2) : 66-72, 1991.
- McCain, B. B., Collier, T. K., Brown, D. W., Stein, J. E., Horn, T., Can, S. L., Myers, M. S. Pierce, S. M. and Varanas, U. : Chemical contaminant exposure and effects in four fish species from Tampa Bay, Florida. *Estuaries.*, 19(1) : 86-104, 1996.
- Mullick, S and Konar, A. S. : Combined effects of zinc, copper, iron and lead on plankton. *Environ. Ecol.*, 9 (1) : 187-198, 1991.
- Rao, P. P., Joseph, K. V. and Rao, K. J. : Histopathological and biochemical changes in the liver of a fresh water fish exposed to heptachlor. *J. Nat. Conserv.*, 2(2) : 133-137, 1990.
- Roch, M. and Maly, E. J. : Relationship of cadmium-induced hypocalcemia with mortality in rainbow trout(*Salmo gairdneri*) and the influence of temperature on toxicity. *J. Fish. Res. Board Can.*, 36(11) : 1279-1303, 1979.
- Sakamoto, S. and Yone, Y. : Requirement of red sea bream for dietary Fe - 1. *Rep. Fish. Res. Lab. Kyushu Univ.*, 3 : 53-58, 1976.
- Sakamoto, S. and Yone, Y. : Requirement of red sea bream for dietary iron. 2. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.*, 44(3) : 223-225, 1978.
- Sakamoto, S. and Yone, Y. : Availabilities of three iron compounds as dietary iron sources for red sea bream. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.*, 45(2) : 231-235, 1979.
- Shen, H., Zhang, Q., Xu, R. and Wang, G. : Effects of petroleum on the sero-proteins of Tilapia mossambica. *Mar. Environ. Sci.*, 16(1) : 1-5, 1997.
- Shich, M. S. : Changes of blood enzymes in brook trout induced by infection with *Aeromonas salmonicida*. *J. Fish Biol.*, 11 : 13-18, 1978.
- Smith, A. C. and Ramos, F. : Automated chemical analysis in fish health assessment. *J. Fish Biol.*, 17 : 450,

1980.

Weiss, C. M. and Gakstatter, J. H. : Detection of pesticides in water by biochemical assay. J. WPCF, 36(2) : 240-252, 1964.

Yamawaki, K., Hashimoto, W., Fujii, K., Koyama, J., Ikeda, Y. and Ozaki, H. : Hemochemical changes in carp exposed to low cadmium concentrations. Bull. Jap. Soc. Sci. Fish., 52(3) : 459-466, 1986.

Zheng, J. and Nicholson, R. A. : Influence of two natural

ly occurring abietane monocarboxylic acids(resin acids) and a chlorinated derivative on release of the inhibitory neurotransmitter gammaaminobutyric acid from trout brain synaptosomes. Bull. Environ. Contam. Toxicol., 56(1) : 114-120, 1996.

尾崎久雄, 1971. 魚類生理學講座 : 3. 消化生理(上), 錄書房, 東京, pp.184~188

이차수. 1997. 동물중독의 진단과 치료. 도서출판. pp. 385.