

석사학위논문

염분변화가 까막전복(*Haliotis discus* Reeve)의
유리아미노산 조성에 미치는 영향



제주대학교 대학원

수산생물학과

홍 충 희

2006년 8월

염분변화가 까막전복(*Haliotis discus* Reeve)의 유리아미노산 조성에 미치는 영향

지도교수 정 상 철

홍 충 희

이 논문을 이학 석사학위 논문으로 제출함

2006년 8월



제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

홍충희의 이학 석사학위 논문을 인준함

심사위원장	최 광 식	인
위 원	이 영 돈	인
위 원	정 상 철	인



제주대학교 대학원

2006년 8월

목 차

Abstract

I. 서 론	1
II. 재료 및 방법	3
1. 실험생물 사육	
1) 실험생물	
2) 실험장치	
2. Free Amino Acid (FAA) 추출	
3. Free Amino Acid (FAA) 분석	
III. 결 과	10
1. 사육수질	
2. 일반 까막전복의 FAA 조성	
3. 염분 변화에 따른 FAA 구성 변화	
1) 24시간 경과 후	
2) 48시간 경과 후	
3) 120시간 (5일) 경과 후	
4) T:G ratio	
IV. 고 찰	26
V. 국문요약	29
VI. 참고문헌	30
감사의 글	33

Abstract

Changes in 13 free amino acids of *H. discus discus* exposed to various salinities were investigated using HPLC. Taurine, glycine and alanine are three major contributors to the total FAA in the gill tissues of *H. discus discus*. Concentration of taurine was 114 $\mu\text{mol/g}$ dry tissue weight accounting for 76.64% of total FAA in *H. discus discus*. Levels of most FAAs in *H. discus discus* exposed to low and high salinities for 24 hrs decreased dramatically. Taurine concentration was slightly increased in the samples exposed to 20‰ and 25‰ for 48 hrs, and greatly increased after 120 hrs exposure. After 48 hrs exposure to 20‰, 25‰ and 40‰, methionine in *H. discus discus* was not detected, no methionine was detected in the samples exposed to 20‰, 25‰, 30‰ and 40‰ after 120 hrs of exposure. Taurine:glycine ratio increased depending upon hyper-hypoosmotic condition as well as period of osmotic stress. These data indicate that taurine, glycine and methionine play important role in regulating osmotic stress in *H. discus discus*. This study suggest that FAA analysis is a useful tool to diagnose osmotic stress to *H. discus discus*.

I. 서 론

전복류는 전 세계적으로 현재 100여종이 알려져 있으며, 우리나라에 분포하며 산업적으로 중요한 종은 참전복(*Haliotis discus hannai*), 까막전복(*H. discus*), 시볼트전복(*H. sieboldii*), 말전복(*H. gigantea*), 오분자기(*H. diversicolor aquatilis*), 마대오분자기(*H. diversicolor diversicolor*)등 6종이 있다. 이들은 제주도와 육지사이의 수심 20 m 내외의 해역에서 겨울철 수온이 12°C가 되는 등온선을 경계로 북쪽에는 한류계인 참전복이 남쪽에는 난류계인 까막전복, 시볼트전복, 말전복, 오분자기류가 분포 하고 있다(한, 1998). 2000년대 초반까지만 해도 우리나라 전복 생산량은 연간 100톤 미만이었으나 2005년 현재 2000톤 이상 생산되고 있고, 생산액 역시 2000년 20억원에서 2005년에는 약 930억원에 달하는 등 패류 양식업에서 전복류가 차지하는 비중이 급격히 증대되고 있다 (해양수산부, 2006).

제주도에 분포하는 난류계 전복류 중 특히 까막전복(*H. discus*)은 수산업적으로 중요한 수산생물로서 육상양식은 물론 마을어장의 패류 자원조성 주력 품종으로 해마다 종패의 생산 및 방류량이 증가하고 있는 실정이다. 그러나 근래에 제주주변 해역은 다양한 환경변화에 노출되어 있다. 특히 여름철 고수온기의 저염분 현상으로 마을 어장내 패류자원의 피해가 우려되고 있다. 이러한 현상은 1996년도 제주도 서부해역 마을어장을 중심으로 저염분이 발생하여 전복류를 포함한 수산동물이 폐사하는 사례가 발생하면서 그 피해액이 59억원에 달했다고 조사된바 있다 (제주도, 1996).

제주도 주변 해역의 여름철 저염분 현상은 양자강 등 하천수가 혼합된 중국대륙의 연안수가 대마난류와 혼합되어 제주해협을 통해 남해로 이동하게 되는 7, 8월 염분이 최저 27.5‰까지 낮아지는(고 등, 1998) 경향이 있다. 더욱이 중국대륙으로부터 홍수에 의한 하천수의 유입량이 갑자기 증가하는 경우 염분은 더욱 낮아져 연안어장에까지 저염분 현상이 발생함으로써 특히 이동성이 적은 패류자원에 피해를 야기하고 있다. 저염 현상과는 반대로 최근에는 중국최대의 토목공사로 일컬어지는 양자강 산사댐이 완공되면서 중국대륙 연안수의 주요 유

입원인 양자강 담수가 급격히 감소될 것이 예상됨에 따라 이로 인한 고염분 현상으로 제주 주변해역 해양생태계의 변화가 우려되고 있다. 이에 따라 현재 중앙 및 지방 정부의 연구기관들이 중국 저염분수 동태를 사전 조사하여 그 결과에 따라 단계별 행동요령을 발표하고 있다.

수온과 염분은 수중생물의 생리, 생태를 지배하는 주요인이며, 특히 해수의 염분변화에 대하여 전복과 같은 변삼투압 생물 (poikilosmotic animal)은 변화된 삼투압에 적응하기 위한 생리적 반응을 나타낸다. 이런 생리적 반응의 일환으로 세포는 organic osmolyte의 일종인 유리아미노산을 분비함으로써 생리적 안정을 도모한다 (Souza and Scemes, 2000). 아미노산은 단백질의 전구체로서 에너지원으로 이용되며, 생화학적, 생리적 대사에 민감하게 반응하기 때문에 해양 무척추동물들의 스트레스 지표로 이용되기도 한다 (Lynch and Wood, 1966).

전복류에 있어 사육환경의 내성에 관한 연구로는 참전복을 대상으로 수온내성에 관한 연구(박 등, 1998; 김 등, 1996), 까막전복, 오분자기 소라 치패에 있어 고수온 및 저염분이 생존에 미치는 영향(원 등, 2001)에 관한 연구 등이 있으나 사육환경의 변화에 대한 내분비계의 생리적인 변화에 관한 연구는 부족한 실정이다.

따라서 이 연구는 까막전복(*H. discus*)을 다양한 염분조건하에 노출시키고 유리아미노산 조성의 변화를 조사함으로써 염분 변화에 반응하는 전복의 생리적 변화를 규명하고자 실시되었다.

II. 재료 및 방법

1. 실험생물 사육

1) 실험생물

실험에 사용된 까막전복(*H. discus*)은 제주도 해양수산자원연구소에서 2004년 10월에 인공종묘 생산된 치패로서 크기는 각장 54.26~55.5mm (평균 각장 54.43 ±0.17mm, N=120), 중량 12.56~11.34g(평균 무게 11.95g ± 0.61g) 이다. 이 치패는 실험 시작전까지 수온 16.8~17.5℃, 염분 32~33‰에서 충분한 먹이(생다시마, 생미역)가 공급되었으며 실험시에는 활력이 좋은 치패를 선별 사용하였다.

2) 실험장치

실험수조는 60ℓ의 사각형 FRP (600mm×400mm×300mm) 수조를 사용하였으며, 충분한 공기 공급을 위한 장치를 하고 지하해수를 사용하였다. 염분조건은 수조별로 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40‰로 설정하였고, 각 시험구마다 치패를 20마리씩 수용하고 기와셴터 (300mm×150mm×8mm)를 넣어줌으로써 전복의 안정된 사육환경을 조성 하였다. 염분 조절은 저염인 경우 일반 수돗물을 혼합하여 제조하였고, 고염인 경우는 천일염을 용해시켜 염분을 조절하였다. 사육관리는 지수상태에서 실시하였으며 매일 오전 10시에 동일한 염분의 여과해수로 100% 환수하였다.

사육환경 조사를 위해 매일 해수를 환수하기 직전에 YSI-30 염분측정기를 이용하여 염분, 수온 및 용존산소(DO)를 측정하고 시험구별 분석시료를 채취하였다. 시험기간동안 먹이는 공급하지 않았다.

2. Free amino acid (FAA)의 추출

염분별 시료의 FAA 분석을 위하여 입식 전, 입식 후 24시간, 48시간, 120시간 (5일) 마다 실험구별로 각각 5 마리씩 분석에 이용하였다. 시료는 아가미 절단 후 -70°C 의 냉동고에 분석 전까지 보관하였다. 한편 일반적인 까막전복의 아가미 조직 내 FAA의 조성을 조사하기 위하여 입식전의 전복으로부터 아가미를 절취 한 후 FAA를 분석하였다.

FAA추출을 위하여 아가미 조직을 4°C 에서 초음파 분쇄기를 사용하여 균질화 하고 원심분리하여 상층액을 10% trichloroacetic acid (TCA)를 첨가하여 FAA와 peptide로 양분하였다. 원심분리 후 상층액 (FAA)은 Ether로 수 회 세척하여 TCA를 제거한 후 FAA 분석을 실시하였다 (Figure 1).

3. Free Amino Acid(FAA)의 분석

아미노산 분석은 HPLC (Vintage 2000, Oromtech)를 이용하여 분석하였고, 분석 조건은 Table 1과 같다.

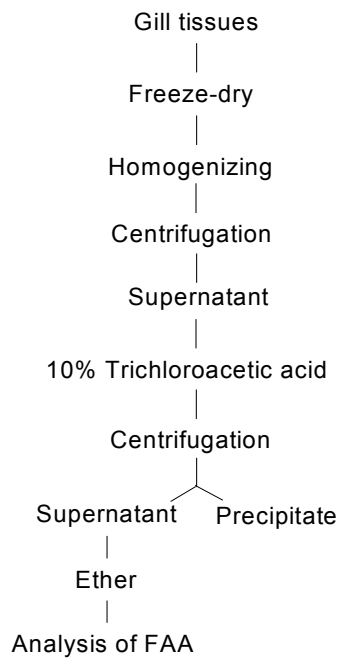


Figure 1. Flow chart of the FAA analysis.

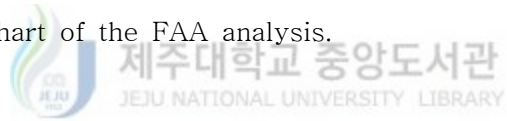


Table 1. Conditions for analysis of FAA.

	Condition or property
Derivatives	O-phthaldialdehyde-acetyl-L-cystein, N-acetyl L-cysteine
Mobil phase A	50 mM sodium acetate buffer pH 6.8
Mobil phase B	methanol
Column	Rexchrom ODS C-18 250x4.6 mm
Flow rate	0.8 ml/min
Detection	Florescent, Ex: 342 nm, Em:452



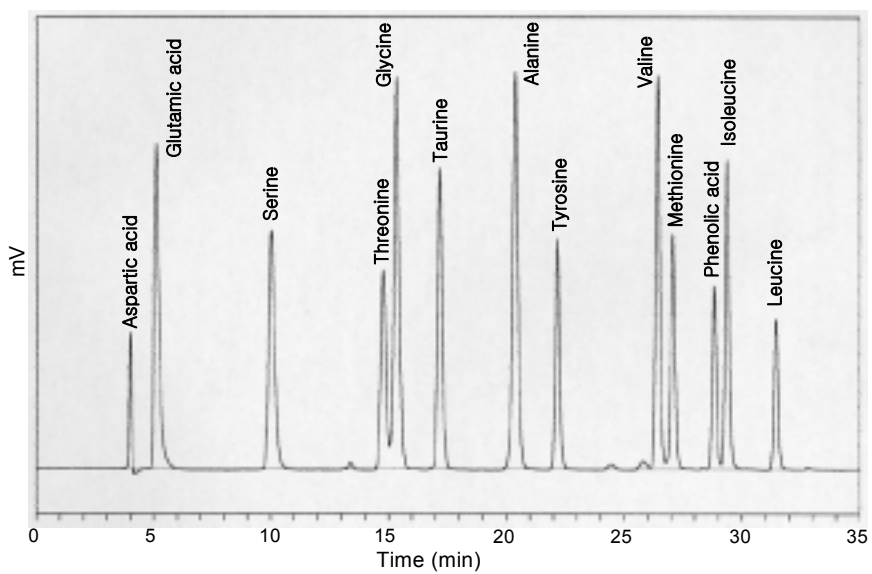


Figure 2. HPLC chromatogram for standard amino acids analyzed in the present study.

FAA 분석을 위하여 적정농도로 희석된 시료 1 ml와 100 μl 의 O-phthaldialdehyde-acetyl-L-cystein (OPA)/N-acetyl L-cysteine (NAC)를 2분간 교반하여 유도체화 한 후, 20 μl 를 HPLC에 주입하였으며 이때 이동상 (mobile phase)은 sodium acetate buffer와 methanol을 이용하였다. 아미노산의 정성 분석을 위하여 표준 아미노산 시약 13종 (aspartic acid, glutamic acid, serine, threonine, glycine, taurine, alanine, tyrosine, valine, methionine, phenolic acid, isoleucine, leucine)을 HPLC를 이용하여 분석하고 (Figure 3), 여기서 얻어진 retention time에 따라 동일한 분석 조건에서 나타난 시료의 peak를 비교함으로써 아미노산을 규명하였다. 아미노산 정량은 아미노산 표준 시약을 0.25 nmol, 1.25 nmol, 2.5 nmol, 10 nmol로 희석 한 후 각각의 농도에서 얻은 peak의 면적과의 상관식을 구하고 여기에 시료의 면적을 대입함으로써 최종 시료의 아미노산 농도 ($\mu\text{mol/g}$ dry tissue)를 정량하였다. 모든 분석은 4개의 FAA 추출물을 혼합(pool)하여 분석하였다.



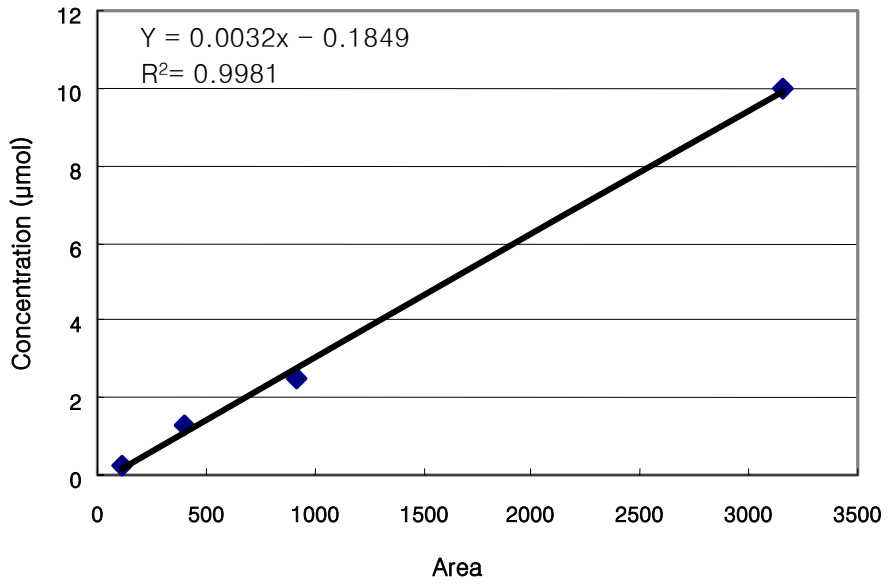


Figure 3. A typical external standard curve for estimation of FAA concentration in the present study.

Ⅲ. 결 과

1. 사육수질 환경

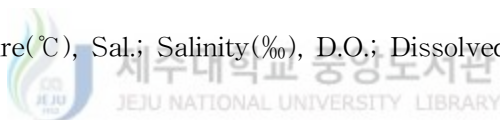
실험에 사용된 사육수조의 수질분석을 위하여 입식 후 24시간 내에 전량 폐사한 수조 (15%)를 제외한 나머지 수조에 대하여 오전 10시에 수온, 염분, 용존 산소량을 측정 하였다(Table 2). 수온은 지하해수를 사용하였기 때문에 17℃내외를 나타냈으나 실험기간 중 기온이 약간 하강한 5일째의 경우 16℃ 전후로 측정되었으며, 용존산소는 6.4~8.5의 범위를 나타내어 수조간 실험 기간 동안 유사한 수질 조건을 나타내었다. 한편, 염분 15%에 노출되었던 전복은 입식 후 24시간 이내 전 개체가 사망하였으며, 20%에 노출된 시료의 경우 노출 48시간 이내에 8 개체가 사망하였다 (Table 2).



Table 2. Water quality in each rearing tank.

Salinity	Water quality	Day 0	Day 1	Day 2	Day 5	Remark
15‰	Temp.	17.6				all samples died after 1 day
	Sal.	15.1				
	D.O.	7.4				
20‰	Temp.	17.6	17.6	17.2	15.9	8 samples died after 2 days
	Sal.	19.7	20.0	20.1	20.3	
	D.O.	7.4	7.2	8.5	7.9	
25‰	Temp.	17.7	17.6	17.0	15.9	
	Sal.	24.9	25.0	25.0	25.0	
	D.O.	7.1	7.2	8.4	7.7	
30‰	Temp.	17.9	17.7	17.0	15.9	
	Sal.	29.9	30.0	30.0	30.2	
	D.O.	7.1	6.7	8.1	7.1	
35‰	Temp.	18.0	17.8	17.3	15.9	
	Sal.	35.0	35.2	35.0	35.2	
	D.O.	7.0	6.7	7.9	7.0	
40‰	Temp.	18.1	17.8	17.0	16.0	
	Sal.	39.7	39.8	39.7	40.3	
	D.O.	6.5	6.4	7.2	6.7	

Temp.; Temperature(°C), Sal.; Salinity(‰), D.O.; Dissolved Oxygen(mg/ℓ)



2. 까막전복의 일반적인 FAA 조성

까막전복 아가미의 FAA 조성을 Figure 4-5에 나타냈다. 전복 아가미 조직에서 총 19종의 유리아미노산이 검출되었으나 이중 13가지 아미노산이 본 연구에서 분석되었다. 이들 중 taurine이 114,060 nmol/g로써 전체 아미노산 중 76.64%를 차지하였으며, 이어서 glutamic acid, alanine, aspartic acid이 각각 5.66%, 5.00%, 4.79%의 순 이었다.



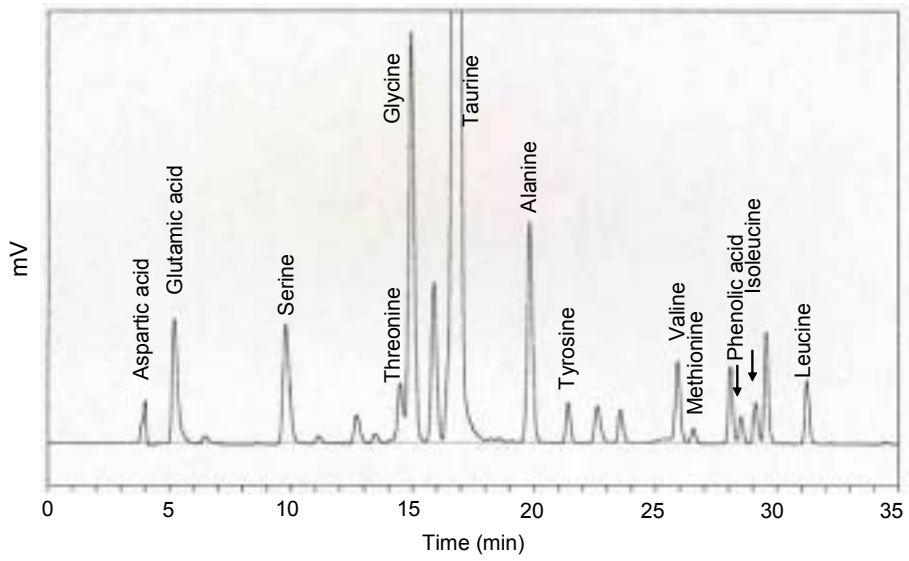


Figure 4. HPLC chromatogram of FAA in the gill tissue of *H. discus*.

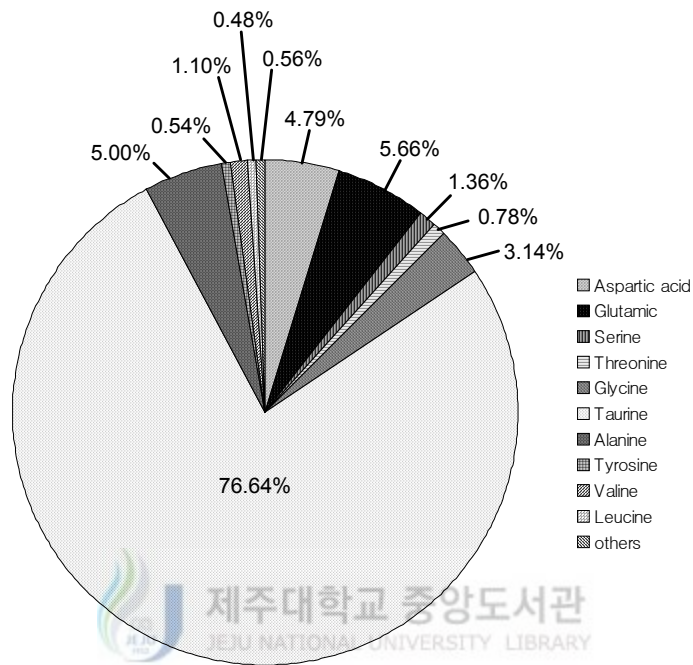


Figure 5. Pie chart to indicate percent composition of FAA in the gill tissue of *H. discus* under normal rearing condition. Others include isoleucine, leucine and methionine.

3. 염분 변화에 따른 FAA 구성 변화

1) 24시간 경과 후

염분 15%, 20%, 25%, 30%, 40%에 24시간동안 노출된 시료의 FAA 조성을 35%에 같은 시간 동안 노출된 시료의 FAA 조성과의 비교한 결과를 Figure 6과 Table 3에 나타내었다. FAA 조성은 비필수 아미노산인 aspartic acid (Asp), glutamic acid (Glu), serine (Ser), glycine (Gly), taurine (Tau), alanine (Ala), tyrosine (Tyr) 등이 검출되었으며, 필수아미노산은 threonine (Thr), valine (Val), methionine (Met), phenylalanine (Phe), isoleucine (Ile), leucine (Leu)이 검출되었다. 비필수 아미노산중 taurine 농도가 가장 높았으며, glutamic acid, serine, glycine, alanine 등의 함량이 상대적으로 높았고, 필수아미노산의 경우는 threonine, valine, leucine 등의 함량이 많았으며, 전반적으로 비필수 아미노산에 비하여 농도가 낮게 검출되었다. 염분에 따른 FAA 조성의 변화는 대조구로 이용된 35%보다 염분이 낮거나 높은 실험구의 경우 거의 대부분의 아미노산 농도가 낮아짐이 관찰되었다. 특히 가장 염분도가 낮았던 실험구 (15%)의 경우 FAA 농도가 다른 실험구와 비교하여 현저히 감소함이 관찰되었다.

Table 3. Concentration of amino acids in the FAA pool in the abalone *H. discus* exposed to various salinities for 24 hrs.(unit=nmol/g dry tissue)

Amino acids	15%	20%	25%	30%	35%	40%
Aspartic acid	1,139	5,063	4,541	2,116	2,708	2,313
Glutamic acid	5,416	45,611	10,740	15,670	18,389	13,654
Serine	2,936	13,015	4,346	14,357	16,924	10,422
Threonine	1,882	8,523	2,727	8,349	11,362	5,380
Glycine	2,891	14,724	6,282	9,071	31,124	14,573
Taurine	26,314	86,035	93,447	82,582	131,775	103,475
Alanine	5,069	25,452	8,239	28,819	43,259	16,085
Tyrosine	967	4,360	1,388	3,651	4,263	2,551
Valine	2,186	10,868	3,286	7,913	8,824	6,054
Methionine	460	1,022	37	1,990	1,761	727
Phenylalanine	687	2,739	574	2,371	3,446	1,746
Isoleucine	896	4,242	1,079	3,514	4,085	2,545
Leucine	1,621	6,092	1,192	6,556	8,080	4,789

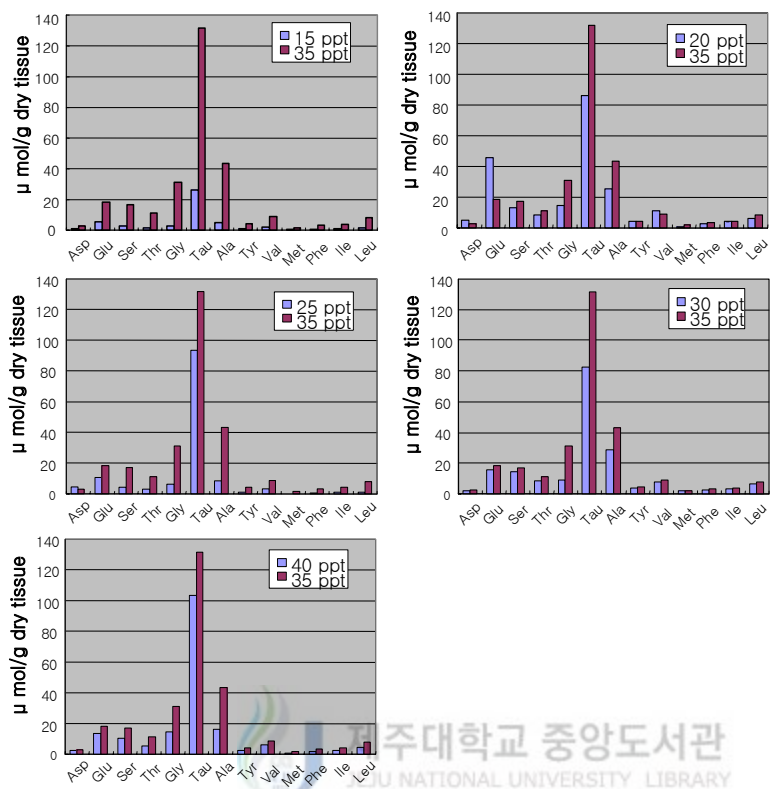


Figure 6. FAA content in gill tissues of *H. discus* exposed to various salinities for 24 hrs.

2) 48시간 경과 후

염분 15%, 20%, 25%, 30%, 40%에 48시간동안 노출된 시료의 FAA 조성을 대조구(35%)에 같은 시간 동안 노출된 시료의 FAA 조성과의 비교한 결과를 Figure 7과 Table 4에 나타내었다. 노출 48시간이 지나면서 taurine 함량은 30%에 노출된 시료를 제외한 전 실험구에서 현저히 증가함이 관찰 되었다. 대조구(35%)의 taurine 농도는 68,176 nmol/g이었으나 25%에 노출된 시료의 경우 81,498 nmol/g, 20%에 노출된 시료는 100,759 nmol/g을 나타냈고, 고염인 40%에 노출된 시료 역시 taurine 함량이 76,121 nmol/g으로 증가하였다. Aspartic acid 역시 대조구와 비교하여 20%, 25%, 40%에 노출된 시료에서 농도가 증가함이 관찰되었다. 그러나 glycine의 경우 대조구에서는 13,432 nmol/g을 기록하였으나 30%에 노출된 시료는 9,547 nmol/g, 25%에 노출된 시료는 3,882 nmol/g, 20%에 노출된 시료는 6,098 nmol/g로 감소하였으며, 고염인 40%에 노출된 시료 또한 6,987 nmol/g으로 감소하였다. 필수아미노산인 valine, methionine, phenylalanine, isoleucine, leucine의 함량 역시 저염과 고염에 노출되었을 때 아미노산의 함량이 감소하는 것이 관찰되었다. 특히 methionine, phenylalanine, leucine은 고염에 노출되었을 경우 전혀 검출되지 않았으며, methionine의 경우 20%와 25%에 노출되었을 경우에도 검출되지 않았다.

Table 4. Concentration of amino acids in the FAA pool in the abalone *H. discus* exposed to various salinities for 48 hrs. (unit=nmol/g dry tissue)

Amino acids	20%	25%	30%	35%	40%
Aspartic acid	7,203	2,156	728	1,517	1,521
Glutamic acid	11,182	4,912	3,729	7,276	2,513
Serin	1,583	1,342	3,460	6,113	793
Threonine	1,535	665	3,590	4,311	532
Glycine	6,098	3,882	9,547	13,432	6,987
Taurine	100,759	81,498	58,805	68,176	76,121
Alanine	11,385	7,624	19,314	15,637	5,103
Tyrosine	1,138	157	657	1,451	182
Valine	1,720	709	1,563	3,092	315
Methionine	0	0	304	1,084	0
Phenylalanine	162	0	447	504	0
Isoleucine	400	5	573	1,263	12
Leucine	539	0	1,645	3,297	0

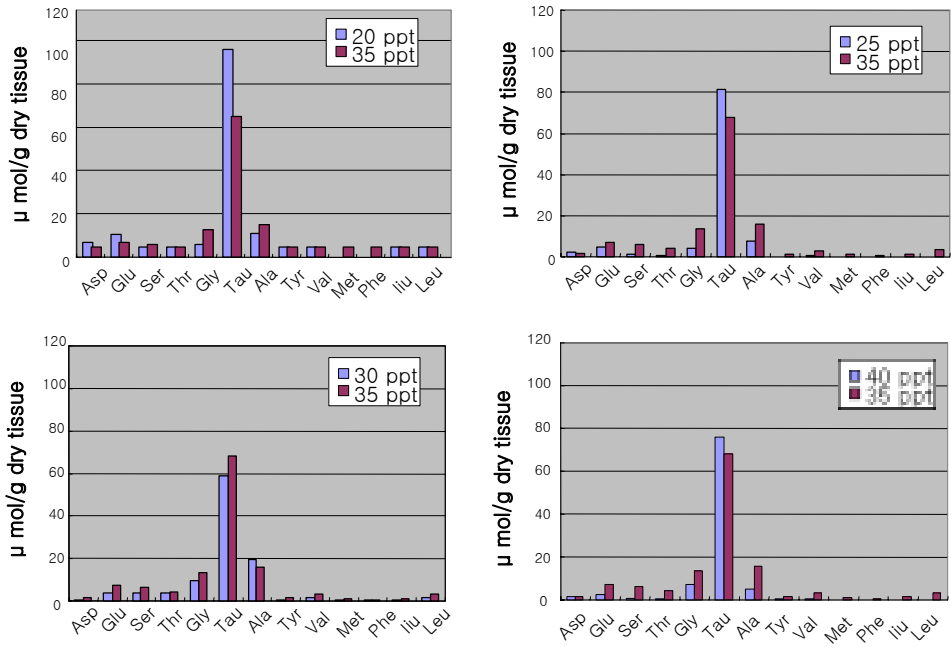


Figure 7. FAA content in gill tissues of *H. discus* exposed to various salinities for 48 hrs.



3) 120시간 경과 후 (5일 후)

염분 15%, 20%, 25%, 30%, 40%에 120시간 (5일)동안 노출된 시료의 FAA 조성을 35%에 같은 시간 동안 노출된 시료의 FAA 조성과의 비교한 결과를 Figure 8과 Table 5에 나타내었다. 노출 120 시간이 지나면서 taurine 함량은 20%와 25%에 노출된 시료의 경우 대조구 (47,237 nmol/g)와 비교하여 급격히 증가하여 각각 122,264 nmol/g, 124,845 nmol/g으로 확인 되었다. 이는 48시간동안 노출되었을 당시 (20%-100,759 nmol/g, 25%-81,498 nmol/g)과 비교하여도 급격히 증가한 수치이다. 그러나 대조구와 염분이 비슷한 30%와 40%에 노출된 시료의 경우 각각 48,513 nmol/g, 36,799 nmol/g로서 그 차이가 비교적 미미하였다. 전반적인 아미노산 농도가 모든 실험구에서 현격한 감소를 나타내었다. 48시간동안 노출된 결과와 유사하게 필수아미노산인 valine, methionine, phenylalanine, isoleucine, leucine의 함량 역시 저염과 고염에 노출되었을 때 아미노산의 함량이 감소하는 것이 관찰되었다. 특히 methionine의 경우 20%와 25% 뿐만 아니라 30%에 노출되었을 때에도 검출되지 않았다.

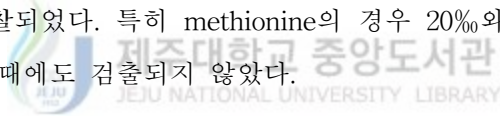


Table 5. Concentration of amino acids in the FAA pool in the abalone *H. discus* exposed to various salinities for 5 days (120 hrs). (unit=nmol/g dry tissue)

Amino acids	20%	25%	30%	35%	40%
Aspartic acid	3,336	4,997	1,482	2,998	317
Glutamic acid	7,037	7,652	2,028	6,459	931
Serine	1,594	2,150	838	2,956	340
Threonine	840	1,361	382	3,242	317
Glycine	4,013	4,117	2,861	13,055	2,755
Taurine	122,264	124,845	48,513	47,237	36,799
Alanine	7,554	7,570	3,637	16,487	2,433
Tyrosine	659	624	225	7,275	100
Valine	1,245	1,589	408	3,695	196
Methionine	0	0	0	871	0
Phenylalanine	58	0	62	1,389	0
Isoleucine	269	246	112	1,606	63
Leucine	150	9	110	3,735	40



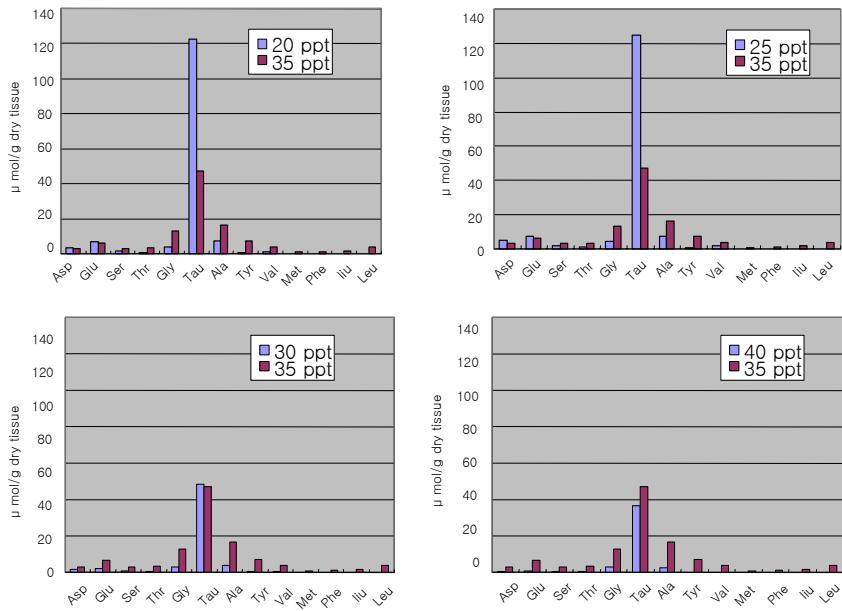


Figure 8. FAA content in gill tissues of *H. discus* exposed to various salinities for 120 hrs (5 days).

4) T:G ratio

Taurine:glycine 비율은 대조구인 35 %에 노출된 전복에서 약 5로써 가장 낮았으며 노출 시간이 길고 염분도가 낮을수록 비율이 상승하였다. 노출 24시간 경과한 시점에서는 t:g 비율의 증가가 염분에 따라 명확히 나타나지 않았으나 노출 시간이 경과 할수록 염분에 따른 t:g 비율의 증가가 뚜렷하였다. 저염뿐만 아니라 고염의 환경에서도 노출 시간이 지속 될수록 비율이 상승하였다 (Figure 9).



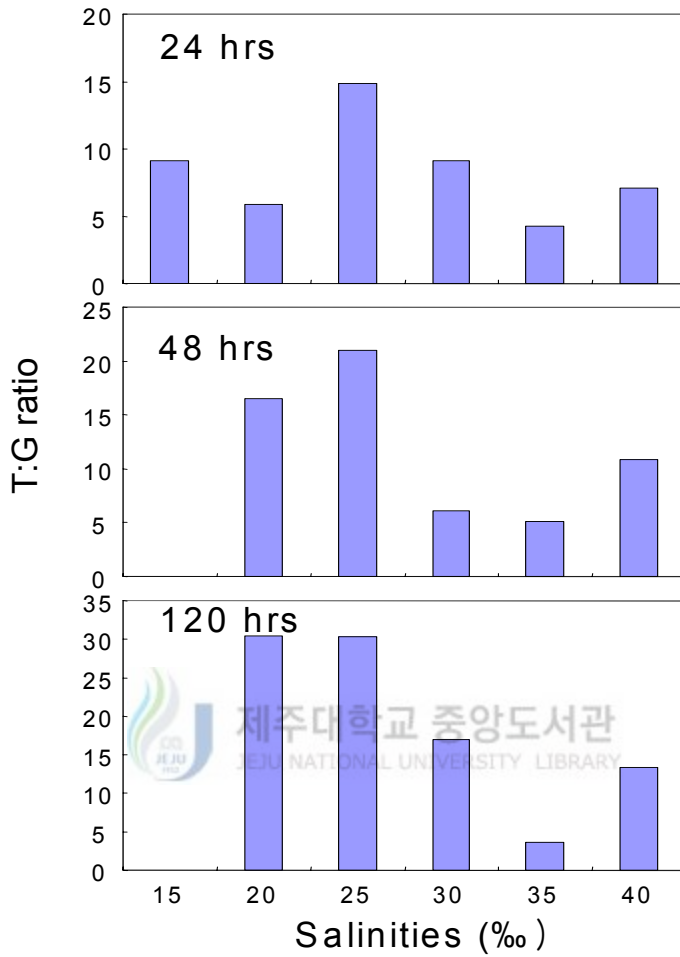


Figure 9. Changes in the ratio of taurine into glycine in the gill of *H. discus* during osmotic shock.

IV. 고 찰

전복류는 전통적으로 고부가가치의 해산 연체동물이며 제주 지역의 주요 산업으로서 어민 경제에 미치는 영향이 크다. 그러나 제주 주변 해역이 지정학적인 요인과 해류의 영향으로 중국 대륙의 영향을 밀접하게 받음으로써 여름철 양쯔강으로부터 발원하는 저염수로 인한 전복류의 대량 폐사 현상이 발생하고 있다 (제주도, 1996; Pang and Hyun, 1998; Hyun and Pang, 1988). 이와 관련하여 원 등 (2001)은 까막전복, 오분자기, 소라 치패 등을 저염수에 노출시켰을 때 까막전복 치패는 수온 32℃의 경우 염분 30 ‰에서는 13시간만에 반수치사를 보였고, 염분 25 ‰에서는 4시간 이내의 반수치사를 보고하였다. 한편 최근 들어 중국의 산샤댐이 완공되면서 이로 인한 우리나라 남해 인근해역의 해양환경과 생태계의 변화에 대한 조사가 진행되고 있다 (해양수산부, 2004). 댐 저수로 인한 유입수의 감소는 황해의 염분 증가로 이어지며 이는 염분 상승으로 이어질 것으로 우려됨에 따라 제주 주변에 서식하는 전복류는 저염수 뿐만 아니라 고염수 유입으로 인한 서식지 환경의 변화에 노출되어 있다.

전복과 같은 협염성 생물은 서식지 염분 변화에 대한 적응력이 매우 낮다. 또한 고착성 생활 특성을 갖고 있어 이런 변화에 대하여 수동적 반응을 나타낼 수밖에 없기 때문에 세포 외부 환경 (external environment) 변화에 대하여 안정적인 세포내 환경 (intracellular environment)을 유지하기 위한 다양한 세포내 생리적 반응을 발전시켜 왔다. 이러한 생물학적 특성은 고착성 해산 연체동물이 환경 변화를 측정하기 위한 주요 지표종으로 이용되고 있다 (Rittschof and McClellan-Green, 2005; Zaccaron da Silva et al. 2005).

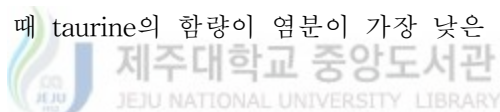
유리아미노산은 단백질 구성 성분이며, 에너지 획득 대사경로 (energy-yielding metabolic pathway)의 기질, 효소와 호르몬, 체액의 완충제로서의 기능을 담당하는 것으로 알려져 있다 (Sokolowski et al., 2003). 또한 염분 변화에 대하여 참굴 (*Crassostrea gigas*)과 담치 (*Mytilus galloprovincialis*)는 유리아미노산 분비를 조절함으로써 삼투조절을 수행한다고 알려져 있다 (Lee et

al., 2004; Cornet, in press).

실험에 앞서 측정된 전복 아가미의 FAA 구성은 chromatogram에 총 19개의 peak가 존재함에도 13종류만 규명되었다. 이들 13종은 비필수 아미노산인 aspartic acid, glutamic acid, serine, glycine, taurine, alanine, tyrosine, taurine과 필수 아미노산인 threonine, valine, methionine, phenylalanine, isoleucine, leucine 등으로 구성되어 있었다. 이들 아미노산 중 taurine이 전체의 약 77%를 차지하고 있으며, 이어서 glutamic acid, aspartic acid, alanine, glycine 등의 순서였다. 이들 비필수 아미노산 5종의 아미노산 농도는 전복 아가미 전체 유리아미노산의 96%를 이루고 있다.

반면, 필수 아미노산은 극히 소량으로 존재함이 확인 되었으며 이는 기존 연구와 유사한 결과였다 (Hatae et a., 1995; Chiou et al., 2001).

다양한 염분에 노출된 전복의 유리아미노산 조성은 전반적으로 대조구로 이용된 시료보다 아미노산 함량이 낮아지는 경향이 관찰되었다. 특히 노출 24시간이 경과하였을 때 taurine의 함량이 염분이 가장 낮은 실험구에서 급격한 감소가 관찰되었다.



그러나 노출 24시간이 경과하였을 때는 저염에 노출된 시료의 taurine의 농도가 대조구와 비교하여 상승하는 것으로 조사되었고, 노출 5일째에는 그 차이가 더욱 증가하였다.

반면 염분도가 대조구와 유사한 실험구에서는 taurine 농도의 차가 크지 않았다. taurine은 대부분의 해산 이매패류의 중요 유리아미노산이며, 세포내 독성 제거, 세포벽 안정화, 칼슘 flux 조절, 스트레스 감소, 신경 안정의 기능이 있는 것으로 알려져 있다 (Walther, 2002). 또한 고장액 (hyperosmotic condition)에서 높은 농도를 나타낸다고 보고되고 있다 (Sokolowski et al., 2003).

Lee et al. (2005) 역시 고염수에 2일간 노출된 참굴에서 높은 농도의 taurine이 측정되었고, 낮은 염분에서 taurine의 농도가 감소함을 보고하고 있다. 이는 본 연구와는 일부 상이한 결과로써 노출 1일째의 taurine 농도는 저염에서 낮게 검출된 반면, 노출 기간이 길고 염분도가 낮을수록 taurine의 농도가 상승하였다. 따라서 저염에 대한 taurine 농도의 변화는 노출기간과 염분도에 따라 변화

하는 것으로 사료되며 노출 기간을 늘리는 등 삼투압 조절에 대한 taurine의 역할을 규명하기 위한 보다 심도 있는 연구가 요구된다.

taurine, glycine, alanine 등 비필수 아미노산과는 대조적으로 필수 아미노산인 threonine, valine, methionine, phenylalanine, isoleucine, leucine 등은 염분에 상관없이 저염과 고염의 환경에서 대조구와 비교하여 현저히 감소하였다. 특히 methionine의 경우 저염과 고염수에 노출된 후 2일째부터 실험 종료시까지 실험구에서는 전혀 검출되지 않았다. Litaayet al. (2001)에 의하면 하나 이상의 필수아미노산이 과하거나 또는 결핍될 경우 단백질 합성이나 성장 또는 이 두 가지 모두에 영향을 줄 수 있음을 보고한 바 있어 삼투압 스트레스에 장기간 노출될 경우 전복의 생리에 매우 심각한 영향이 초래될 것으로 판단된다.

taurine:glycine (t:g ratio) 비율은 스트레스에 노출된 정도를 나타내는 지표로서 이용되어 왔다 (Zurburg et al. 1989). 그 이유로서, 스트레스에 노출될 경우 glycine의 농도는 감소하고 대신 taurine의 농도는 증가하는 경향을 보이기 때문이다 (Hummel et al. 1996). 담치 (*Mytilus edulis*)의 경우 일반적인 t:g ratio는 약 2 이나 스트레스에 노출될 경우 3-5로 증가하며, 대양조개류인 *Macoma balthica*의 경우도 구리(Cu)에 노출될 경우 t:g 비율이 증가함이 보고되었다 (Hummel et al. 1996). 본 연구에서도 이전 연구 결과와 동일한 결과가 나타났다. 대조구인 35 %에 노출된 전복의 t:g ratio는 약 5 이었으나 염분이 낮을수록 비율이 상승하여 최대 30까지 기록하였다. 이 같은 현상은 저염에 노출된 기간이 길어질수록 더욱 뚜렷한 경향이 관찰되었다. t:g 비율의 증가는 저염수 노출시 만큼 증가하지는 않았으나 염분이 높은 환경에서도 나타났고 노출 시간이 지속 될수록 그 비율은 상승하였다.

국문요약

이 연구는 염분 변화가 까막전복 (*Haliotis discus*)의 유리아미노산 조성 에 미치는 영향을 조사하고자 염분 15 %, 20 %, 25 %, 30 %, 35 %, 40 %에 각각 24시간, 48시간, 120시간 노출 시킨 후 총 13가지 유리아미노산의 함량 변화를 분석하였다. 시료 중 15 %에 노출된 전복 전량이 24시간 이내 폐사하였고, 25 %에 노출된 시료의 경우 전체 20 개체 중 8개체가 48시간 이내 사망하였다. 유리 아미노산 중 taurine, glutamic acid, alanine의 함량이 가장 높았으며, 이중 taurine의 함량은 114 $\mu\text{mol/g}$ dry tissue weight로써 전체 아미노산의 76.64%를 점유하였다. 저염 및 고염 환경에 노출된 시료의 전체아미노산 함량은 분석 기간 동안 감소하는 경향을 나타냈다. 그러나 taurine의 농도는 모든 실험구에서 노출 후 24시간이 경과하였을 때까지 대조구 보다 낮았으나, 노출 48시간 후부터는 저 염 환경인 20 % 및 25 %에서 증가하여 분석 종료 시점인 노출 120시간이 되었을 때까지 급격히 증가하였다. 반면 필수아미노산중 methionine은 노출 48시간부터 20 %, 25 %, 40 %에서 검출되지 않았고 노출 120시간에는 대조구를 제외한 전 실험구에서 측정되지 않았다. taurine과 glycine 비율은 저염환경에 노출된 시료에서 높게 나타났으며, 저염에 노출된 기간이 길어질수록 더욱 뚜렷이 증가하였다. 이 같은 현상은 염분이 높은 환경에서도 나타났고 노출 시간이 지속 될수록 그 비율은 상승하였다. 이상의 결과는 유리아미노산 특히 taurine, glycine, methionine 등이 까막전복의 삼투조절에 중요한 기능을 담당하는 것을 의미하며, 유리아미노산 분석은 염분 변화에 따른 까막전복의 삼투조절 및 생리 특성을 이해 하는데 유용한 방법임을 제시하였다.

VI. 참고문헌

- 고유봉, 노홍길, 방익찬, 오봉철, 윤석훈, 윤정수, 이준백, 최영찬. 1998. 제주의 바다, (사)제주도수산해양개발협의회, 제주도, p.40.
- 김광수, 김우진, 박승렬. 1996. 전복의 수온내성에 관한연구-참전복, *Haliotis discus hannai*의 동위효소 분석 및 수온 감수성 실험. 수진사업보고서, pp 253-261.
- 박미선, 조규태, 박민우, 김우진, 김광수. 1998. 전복의 수온내성에 관한연구. 수진사업보고서, pp 226-243.
- 원승환, 한석중, 김재우, 김봉래. 2001. 까막전복, 오분자기, 소라 치패의 생존에 미치는 고수온, 저염분수의 영향. 수진원연구보고 59:84-89.
- 제주도. 1996. 공동어장 피해조사 보고서. pp 1-14.
- 한석중, 1998. 전복양식. 구덕출판사, 부산. pp 17-19.
- 해양수산부, 2006. 해양수산부 어업생산 통계. <http://fs.fips.go.kr/main.jsp>.
- 해양수산부, 2004. 보도자료.
http://epic.kdi.re.kr/epic/epic_view.jsp?num=69477&menu=1.
- Chiou, T.-K., M.-M. Lai, and C.-Y. Shiau. 2001. Seasonal variations of chemical constituents in the muscle and viscera of small abalone fed different diets. Fisheries Science 67: 146-156.
- Cornet, M. in press. Effects of seawater salinity fluctuations on primary tissue culture from the mussel *Mytilus galloprovincialis* Potential application to the detection of seawater genotoxicity. Toxicology in Vitro.
- Hatae, K., H. Nakai, A. Shimada, T. Murakami, K. Shirojo, S. Watabe. 1995. Abalone (*Haliotis discus*): seasonal variations in chemical composition and textual properties. Journal of Food Science 60: 32-35, 39.
- Lee, N.-H., K.-N. Han, and K.-S. Choi. 2004. Effects of salinity and turbidity on the free amino acid composition in gill tissue of the pacific oyster, *Crassostrea gigas*. Journal of Shellfish Research 23: 129-133.
- Litaay, M., S.S. De Silva and R.M. Gunasekera. 2001. Changes in the amino acid profiles during embryonic development of the blacklip abalone (*Haliotis rubra*). Aquatic Living Resources 14: 335-342.
- Lynch, M.P., and L. Wood. 1995. Effects of environmental salinity on free amino acids of *Crassostrea virginica* Gmelin. Comparative

- Biochemistry and Physiology 19: 783-796.
- Hummel, H., C. Amiard-Triquet, G. Bachelet, M. Desprez, J. Marchand, B. Sylvand, J. C. Amiard, H. Rybarczyk, R. H. Bogaards, J. Sinke and L. de Wolf. 1996. Free amino acids as a biochemical indicator of stress in the estuarine bivalve *Macoma balthica*. Science of The Total Environment 188: 233-241.
- Hyun, K.-H., and I.C. Pang. 1998. Abnormal low salinity waters around Cheju Island in summer. Bulletin of Marine research Institute of Cheju National University 22:69-78.
- Pang, I.-C., and K.-H. Hyun. 1998. Seasonal variation of water mass distributions in the Eastern yellow sea and the Yellow sea warm current. Journal of Korean Society of Oceanography 33: 41-52.
- Rittschof, D., and P. McClellan-Green. 2005. Molluscs as multidisciplinary models in environment toxicology. Marine Pollution Bulletin 50: 369-373.
- Sokolowski, A., M. Wolowicz and H. Hummel. 2003. Free amino acids in the clam *Macoma balthica* L. (Bivalvia, Mollusca) from brackish waters of the southern Baltic Sea. Comparative Biochemistry and Physiology - Part A: Molecular & Integrative Physiology 134: 579-592.
- Souza, M.M. and E. Scemes. 2000. Volume changes in cardiac ventricles from *Aplysia brasiliana* upon exposure to hyposmotic shock. Comparative Biochemistry and Physiology-Part A: Molecular & Integrative Physiology 127: 99-111.
- Walther. M. 2002. Taurine in the marine hydrozoan *Hydractinia echinata*: stabilizer of the larval state? Comparative Biochemistry and Physiology - Part A: Molecular & Integrative Physiology 133: 179-190.
- Zaccaron da Silva, A., J. Zanette, J.F. Ferreira, J. Guzinski, M.R. Marques and A.C. Bainy. 2005. Effects of salinity on biomarker responses in *Crassostrea rhizophorae* (Mollusca, Bivalvia) exposed to diesel oil. Ecotoxicology and Environmental Safety 62: 376-382.
- Zurburg, W., H. Hummel, R. Bogaards, L. De Wolf and H. Ravestein. 1989. Free amino acid concentrations in *Mytilus edulis* L. from different locations in the southwestern part of the netherlands: Their possible significance as a biochemical stress indicator. Comparative

Biochemistry and Physiology Part A: Physiology 93: 413-417.



감사의 글

때늦은 학문의 길에 들어서면서 많은 어려움을 예상했지만 그 고민이 현실화 되면서 장시간 동안 학업을 마무리짓지 못해 주변의 많은 분들께 심려를 끼쳤던 점에 대하여 진심으로 죄송함을 금치 못합니다. 먼저 변변치 못한 제자를 위하여 아낌없는 지도와 애정 어린 격려를 주셨던 정상철 교수님, 이영돈교수님, 최광식교수님께 감사를 드립니다. 그리고 연구활동에 바쁘신 가운데도 실험과 논문 작성을 적극적으로 도와주신 제주대학교 해양과학대학 무척추양식 연구실의 박경일박사님께도 감사를 드립니다. 또한 학기동안 세미나 발표에 필요한 많은 자료제공과 조언을 주셨던 국립수산물연구원 장대수연구관님, 김재우선배님께도 깊은 감사를 드립니다. 이 논문을 위하여 실험에 필요한 많은 재료와 기자재를 기꺼이 제공해 주신 제주도해양수산물자원연구소 김수완소장님, 김문관 생산개발과장님, 패류팀의 현재민, 김필연연구사님께도 감사를 드립니다. 연구소 바쁜 업무중에도 실험에 몰두할 수 있도록 도와주신 제주도해양수산물자원연구소 강승호, 박진호, 강민수군을 비롯한 수산진흥과 전 직원에게도 감사를 드립니다. 특히 실험과 자료정리에 많은 도움을 주신 김대용군과 제주도해수어류양식수협 강철영군에게 진심으로 감사를 드립니다. 마지막으로 끝까지 논문이 마무리되도록 신뢰와 믿음으로 지켜봐준 사랑하는 아내와 우리딸 유정이와 함께 이 기쁨을 같이하고자 합니다.