



저작자표시-변경금지 2.0 대한민국

이용자는 아래의 조건을 따르는 경우에 한하여 자유롭게

- 이 저작물을 복제, 배포, 전송, 전시, 공연 및 방송할 수 있습니다.
- 이 저작물을 영리 목적으로 이용할 수 있습니다.

다음과 같은 조건을 따라야 합니다:



저작자표시. 귀하는 원저작자를 표시하여야 합니다.



변경금지. 귀하는 이 저작물을 개작, 변형 또는 가공할 수 없습니다.

- 귀하는, 이 저작물의 재이용이나 배포의 경우, 이 저작물에 적용된 이용허락조건을 명확하게 나타내어야 합니다.
- 저작권자로부터 별도의 허가를 받으면 이러한 조건들은 적용되지 않습니다.

저작권법에 따른 이용자의 권리는 위의 내용에 의하여 영향을 받지 않습니다.

이것은 [이용허락규약\(Legal Code\)](#)을 이해하기 쉽게 요약한 것입니다.

[Disclaimer](#)

이 학 석 사 학 위 논 문

노닐페놀(NP) 노출에 따른 감성돔,
*Acanthopagrus schlegeli*의 생리,
생화학적 반응

2016년 2월

부 경 대 학 교 대 학 원

수 산 생 명 의 학 과

박 보 미

이 학 석 사 학 위 논 문

노닐페놀(NP) 노출에 따른 감성돔,
*Acanthopagrus schlegelii*의 생리,
생화학적 반응

지도교수 강 주 찬

이 논문을 이학석사 학위논문으로 제출함.

2016년 2월

부 경 대 학 교 대 학 원

수 산 생 명 의 학 과

박 보 미

박보미의 이학석사 학위논문을 인준함

2016년 2월 24일



위원장	이학박사	김기홍 (인)
위원	이학박사	허민도 (인)
위원	이학박사	강주찬 (인)

목 차

Abstract	1
I. 서 론	3
II. 재료 및 방법	7
1. 실험어 및 실험환경	7
2. 혈액	9
3. 혈청	10
4. 항산화효소 분석	11
가. Superoxide dismutase (SOD)	11
나. Catalase (CAT)	11
다. Glutathione (GSH)	12
라. Glutathione S-transferase (GST)	12
5. Plasma cortisol	13
6. Acetylcholinesterase activity	14
7. Lysozyme activity	15
8. 유의성 검정	16
III. 결 과	17
1. 혈액분석	17
2. 혈청분석	19
3. 항산화효소 분석	22
가. Superoxide dismutase (SOD)	22
나. Catalase (CAT)	22

다. Glutathione (GSH)	23
라. Glutathione S-transferase (GST)	23
4. Plasma cortisol	32
5. Acetylcholinesterase activity	34
6. Lysozyme activity	38
IV. 고찰	41
V. 요약	45
참고문헌	46



Responses of physiology and biochemistry in
black seabream, *Acanthopagrus schlegeli* exposure to nonylphenol

Bo Mi Park

Department of Aquatic Life Medicine. The Graduate School.
Pukyong National University

Abstract

Endocrine disruptors (EDs) imitate natural hormones in the endocrine system causing harmful effects on human and wildlife (Maguire 1999). Nonylphenol (NP) is one of the type of EDs. It has the ability to combine human estrogen receptors, causing disruption in hormonal regulatory system (Ning et al. 2007). Also, causing a variety of hematologic effects, oxidative stress, physiological effect and immunological changes. Toxic effects of NP were reported in fish, observed invertebrates and mammals (Staples et al. 2004).

The objective of this study was observed to biochemical, immunological and physiological response exposed to nonylphenol (0, 80, 160, 320 $\mu\text{g/L}$) in black seabream, *Acanthopagrus schlegeli* (mean length 16.71 ± 0.9 cm, mean weight 80.15 ± 13 g) during 4weeks.

Hematological factors, red blood cell count, white blood cell count and hematocrit levels showed a tendency to decrease with increasing concentration of nonylphenol. Calcium and magnesium in the plasma was increased significantly. Total protein was increased and glucose showed no significant

change. GOT was decreased and GPT showed significant increased. Antioxidant enzymes factors, SOD, CAT, GSH, GST showed a tendency to increase with increasing concentration of nonylphenol. Stress Indicators factors, cortisol was decreased at 2weeks, 80 $\mu\text{g/L}$ but increased at 4weeks, 80 $\mu\text{g/L}$. AchE was decreased at 2, 4weeks. Immunological factors, lysozyme was increased at 2weeks, but decreased in high concentration of nonylphenol at 4weeks. NP affect hematology and immune system. So NP harms metabolism and physiology of black sea bream.



I. 서론

내분비계장애물질은(Endocrine disrupting chemicals, EDCs)은 환경호르몬이라고도 불리며 체내에서 항상성 유지와 발달과정 자연 호르몬의 생산, 방출, 수송, 대사, 결합 그리고 배설작용을 간섭하는 체외물질이다 (국립환경연구원, 1998). 이는 인위적으로 만들어지는 것뿐만 아니라, 자연계에 존재하고 있는 천연물질이나 합성된 화학물질 중에도 상당수 포함되어 있는 것으로 밝혀져 있다. 인간과 야생동물에서 내분비계의 교란을 통해 개체 수 감소 및 생식에 문제를 유발하는 것으로 알려지고 있다. (Colborn and Chlement, 1992; Colborn et al., 1993)

내분비계장애물질의 종류 또는 추정물질로는 각종 산업용 화학물질(원료물질), 농약류(살충제 및 제초제), 중금속류, 다이옥신류, 식물성 에스트로젠, 합성 에스트로젠류, 식품 및 식품첨가물 등이 있다. 대표적인 환경호르몬 물질로는 유기주석(TBT), PCB, 스티렌다이머, 트리머, 비스페놀 A, 헥사클로로벤젠, 노닐페놀 등이 있다.(국립환경연구원, 2000)

Nonylphenol은 다양한 유기체의 호르몬 시스템을 방해할 수 있는 유독성 생체이물이다. 이는 주로 산업성 계면활성제로 널리 사용되는 노닐페놀 에톡실레이트에서 주로 분해되어 발생한다. 노닐페놀 에톡실레이트는 생분해를 통해 노닐페놀을 포함한 여러 가지 부산물로 분해되어 상당한 양이 하수처리에 도달한다. 환경에서의 노닐페놀의 발생은 폐수 처리, 하수 슬러지의 재활용 같은 인위적인 활동과 상관된다. 낮은 용해도, 높은 소수성 등의 물리적 특성으로 인하여 계속적으로 높은 유기물 함량을 유지하게 되고, 강물과 퇴적물, 토양 및 지하수, 하수 처리작업, 하수 슬러지 등 특정 환경 구획에 축적된다. 환경에서의 노닐페놀의 영향은 수생 생물의 암컷화, 수컷의 생식력 감소, 낮은 농도에서 아동의 생존을 나타낸다. 이러한 해로운 영향 때문에 EU 국가에서 금지되었고 캐나다, 일본 등 많은 나라에서 모니터링 하고 있다 (A.Soares et al., 2008).

내분비계교란물질은 환경 중 생체 내에 잔존하며 이는 수년간 지속되기도 한다. 또한 지방 및 조직에 농축되는 성질을 가지고 있으며, 생체 호르몬과는 달리 쉽게 분해되지 않고 안정하다. 내분비계는 생식, 발생, 행동, 항상성 유지 등에 관여하는 호르몬을 생산하고 분비하는 기관이다. 생산된 호르몬은 체내를 순환하면서 성장 및 발육, 암수분화 등에 관여한다. 포유류에서 어류까지 이르는 모든 척추동물이 내분비계를 가지고 있다. 호르몬은 체내의 생리작용, 항상성 등을 매우 낮은 농도로 조절하기 때문에 비슷한 특성을 가진 환경오염물질에 노출될 경우 위험한 영향을 끼칠 수 있다. (신효선, 1999)

내분비계교란물질이 미치는 영향으로 조류와 패류에서 임포섹스 유발을 하여 불임을 야기하고 (Nakahara and Hutaki, 1998), 바다 밑 바닥에 있는 뱀을 오염시켜, 굴 등 야생동물의 사멸이나 기형을 유발시키고 있다 (Colborn et al., 1996; Nakahara and Hutaki, 1998). 또한 어류에서 갑상선호르몬 분비가 교란되어 갑상선비대증을 앓고 있으며 생식기능이 저하되고, 혈액 내 성호르몬의 농도가 저해되며 이차 성징이 발달되지 않았다 (Leatherland, 1992). 수염이 구부러지고, 피부에 비늘이 없어 진물이 흐르는 병에 걸린 것이 발견되고 있으며(Colborn et al., 1990), 성장이 저해되고, 백혈구나 림프구가 감소하는 만성독성이 일어난다는 것으로 밝혀져 있다 (Leatherland, 1992; Bengtsson et al., 1994).

독성물질의 영향을 분석하기 위한 독성학적 환경연구에서 생리·병리적 영향을 가늠하는 지표로 혈액학적 성상은 주요한 지표로 이용되며 (Adhikari et al., 2004), 혈액학적 수치는 오염된 환경에 대한 생리학적 반응을 확인하는 지표로 사용된다 (Dethloff et al., 2001). 혈청성분 역시 오염물질의 노출에 의한 생체 장애의 수준을 판단 할 수 있는 주요한 지표로 사용된다. 또한 생체 내의 대사 작용과 연관하여 스트레스 요인에 대한 기본적인 자료로 이용될 수 있다 (Waring et al., 1992).

호기성생물은 reactive oxygen species(ROS)에 의한 세포 손상을 막거나 제한하는 메커니즘이 필요하다. 이에 따라 세포들은 상호의존적인 항산화 방어 시스템을 만들었다. 항산화 작용은 스트레스를 받은 세포 내에서 산화 스트레스에 대한 항산화 활동을 한다. 주요 항산화 효소로 Superoxide dismutase (SOD), Catalase

(CAT), Glutathione (GSH), Glutathione S-transferase (GST) 등이 있다. SOD는 superoxide anion를 hydrogen peroxide(H_2O_2)로 변환시키며, CAT는 H_2O_2 를 산소 분자와 물로 분해시킨다. 글루타티온과산화효소(glutathione peroxidases; GPx)는 lipid hydroperoxide를 모두 감소시킨다(Almeida, 2007). Glutathione; GSH은 세포내의 가장 풍부한 티올(thiol-)기의 항산화제로 sulfhydryl의 완충 장치로서 역할을 한다. 이것은 또한 글루타티온 S-전달효소(glutathione S-transferases; GST)에 의해 촉진되는 conjugation reaction을 통한 해독복합체의 기능을 한다 (Nordberg, 2001). 글루타티온 S-전달효소(glutathione S-transferases; GST)는 모든 호기성생물에 존재하는 해독효소로 기능을 하고, 트리펩티드 글루타티온(tripeptide glutathione)에 대해 nucleophilic attack을 촉매 한다. 이 과정을 통해, 기질은 산화된 글루타티온(oxidized glutathione)의 동시생산과 함께 감소되고 이성화 될 뿐만 아니라, 환원형 글루타티온에 활용된다(Kim, 2001).

스트레스는 어류의 어체에 생화학적인 작용을 주어 건강도에 영향을 미치며 (Specker and Schreck, 1980), catecholamine과 cortisol을 과다 분비하는 내분비반응을 유도하여 체내의 에너지원의 빠른 소비를 유발한다 (Barton and Iwama, 1991; Pickering et al., 1993). Cortisol은 일반적으로 쉽게 측정할 수 있는 스트레스 지표이며, 급성 스트레스가 유도되면 정상적인 상태보다 증가한다. 그러나 수질이라는 특정 환경에 있을 때 정상적인 수치보다 낮게 측정되는 경우도 있다 (Pickering et al., 1982; Barton and Iwama, 1991).

Acetylcholine은 신경전달물질 중 하나이며 중추신경계와 말초신경계의 가장 주요한 물질이다. Acetylcholinesterase은 어류에서 콜린성 시스템의 주요한 성분이며, 콜린성 시냅스에서 신경자극전달을 제어하고, 이 효소 활성은 뇌에서 주로 일어난다 (Chuiko, 1997). Acetylcholinesterase의 감소는 독성물질에 노출된 어류에서 일반적으로 관찰되며 (Modesto, 2010), 이는 신경독성에 대한 생물지표가 될 수 있다 (Manzo, 1995).

면역은 살충제, 금속 및 기타 화학 물질과 같은 수계 독성 물질에 의해 영향을 받을 수 있다. 오염된 연안 해역에 노출된 어류에서 면역기능의 파괴에 관한 많은 증거들이 여러 분야의 연구에 의해 보고되고 있다. 비 특히 면역반응 중

lysozyme은 미생물 침입에 대한 용균제로 작용하는 어류의 주요한 요소이다. Lysozyme 활성도는 어류의 건강상태, 스트레스, 성별, 온도 및 수계 독성 물질에 의해 변화된다 (Kim and Kang, 2015).

감성돔, *Acanthopagrus schlegeli* (Bleeket)은 농어목 (Order Perciformes) 도미과 (Family Sparidae)에 속하는 내만성 어종으로 중국해 동남쪽, 일본 홋카이도 이남 및 우리나라 전 연안 해역에 분포한다 (Chyung, 1977). 우리나라에서는 1990년대 후반부터 남해안과 서해안에서 대량종묘생산이 이루어지고 있으며 (국립수산물과학원, 2007), 성장이 비교적 빠르고 육질이 우수하여 인기가 높아 2006년부터 2011년까지 6년간 방류량이 1,932.4만 마리에 달하고 있다 (Kim et al., 2013). 낮은 용해도와 높은 소수성으로 인해 nonylphenol은 연안으로 흘러들어 올 가능성이 높으며 내만성 어종인 감성돔은 영향을 받을 수 있다. 그러므로 감성돔에 대한 nonylphenol의 연구가 필요하다 사료된다. 따라서 본 연구는 0, 80, 160, 320 $\mu\text{g/L}$ 농도에서 4주간 nonylphenol에 노출된 감성돔의 혈액학적, 생화학적 및 면역학적 변화를 분석하였다.

II. 재료 및 방법

1. 실험어 및 실험환경

본 실험에서 사용한 실험어는 경남 통영 해상 가두리양식장에서 분양받은 감성돔, *Acanthopagrus schlegelii*로 4주간 순치시킨 후 전장 $16.71 \pm 0.9\text{cm}$, 전중 $80.15 \pm 13\text{g}$ 의 외관상 건강한 개체를 실험에 사용하였다. 선별된 개체는 유리수조 내 해수 40L를 채워 입식하였고 이틀에 한번 환수하였다. 실험을 위한 수조실 온도는 $20.5 \pm 1^\circ\text{C}$ 로 일정하게 유지하였으며, 실험에 사용한 해수의 수질성분은 Table. 1과 같다.

Nonylphenol의 노출을 위한 Nonylphenol(Sigma-Aldrich. Inc., USA) 일정량을 Ethyl alcohol(Sigma-Aldrich. Inc., USA)에 용해시킨 후, ethyl alcohol의 영향을 최소화하기 위해 증류수에 혼합물의 일정량을 용해하였다. 이 혼합물을 사육수조에 혼합하여 각각의 노출농도가 0, 80, 160, $320\mu\text{g/L}$ 가 되도록 설정하였다. 실험기간은 총 4주 동안 실시하였으며, 2주 마다 시료를 샘플링을 하였다.

Table. 1 The chemical components of seawater and experimental condition used in the experiments.

Item	Value
Temperature (°C)	20.5±1.0
pH	8.34±0.02
Salinity (‰)	33.56±0.05
Dissolved Oxygen (mg/L)	7.56±0.22
Chemical Oxygen Demand (mg/L)	0.83±0.25
Ammonia (µg/L)	14.5±0.7
Nitrite (µg/L)	6.33±0.31
Nitrate (µg/L)	21.19±2.2

2. 혈액

혈액응고를 방지하기 위해 heparin-Na (5,000 I.U., 중외제약)을 처리한 1회용 주사기를 이용하여 실험어의 미부정맥(caudal vein)에서 혈액을 채취하였다. 채취 즉시 혈액을 사용하여 RBC(Red Blood Cell) count, WBC(White Blood Cell) count, hemoglobin (Hb)농도 및 hematocrit (Ht)을 분석하였다. RBC count와 WBC count는 혈액을 Hendrick's diluting solution으로 400배 희석한 후, hemo-cytometer (Improved Neubauer, Germany)를 이용하여 광학현미경으로 계수하였다. Hb 농도는 임상용 kit (Asan Pharm. Co., Ltd.)를 이용하여 Cyan-methemoglobin법으로 측정하였다. Ht는 Ht 모세관을 사용하여 일정량을 얻은 후, microhematocrit centrifuge (Model: 01501, HAWKSLEY AND SONS Ltd., England)에서 12,000rpm으로 5분간 원심분리 후 판독판 (Micro-Haematocrit reader, HAWKSLEY AND SONS, England)로 측정하였다.

3. 혈청

채취한 혈액은 5분간 3,000g, 4℃로 원심분리 (MIKRO 22R, Hettich, Germany) 하여 혈청을 분리하였다. 채취한 혈청으로 무기성분, 유기성분 및 효소활성의 변화를 관찰하였다.

무기성분은 칼슘 (Calcium), 마그네슘 (Magnesium)을 측정하였다. 칼슘은 OCPC (o-cresolphthalein-complexon)법, 마그네슘은 Xylidyl blue- I 법에 의해 시판되고 있는 임상용 kit (Asan Pharm. Co., Ltd)를 이용하였다.

유기성분은 혈당 (Glucose), 총 단백질 (Total protein)을 측정하였다. 혈당은 GOD/POD법, 총 단백질은 Biuret법에 의하여 임상용 kit (Asan Pharm. Co., Ltd)를 이용하였다.

혈청 내 효소 활성 변화는 GOT (Glutamic oxalate transminase), GPT (Glutamic pyruvate transminase)을 측정하였다. GOT와 GPT는 Reitman-Frankel 법에 의하여 임상용 kit (Asan Pharm. Co., Ltd)를 이용하였다.

4. 항산화 효소 분석

분석을 위해 간과 아가미를 채취한 후, washing buffer (0.1M KCl, pH7.4)로 세척하였다. 세척한 조직을 cold homogenization buffer (0.1M PBS, pH 7.4)로 Teflon-glass homogenizer (099CK4424, Glass-Col, Germany)을 이용하여 균질화하였다. 이 균질액은 30분동안 12,000g, 4℃ (MIKRO 22R, Hettich, Germany)에서 원심분리 하여 상등액을 얻어 분석에 이용하였다. 모든 시료는 실험 전까지 -80℃에 보관하였다.

조직의 단백질 함량은 Bradford (1976) 방법을 이용한 Bio-Rad Protein Assay kit (Bio-Rad Laboratories GmbH, Munich, Germany)를 이용하여 정량하였다.

가. Superoxide dismutase (SOD)

SOD (Superoxide dismutase) 활성은 SOD Assay kit (Dojindo Molecular Technologies, Inc.)를 이용하여 측정하였다. WST-1의 환원에 대한 50% inhibitor rate로 측정하며, 시료의 5배식 0.1M PBS로 희석 후 분광광도계를 이용하여 450nm의 흡광도에서 측정하였다. 측정값으로 50% inhibitor rate를 구하여 unit/mg protein으로 나타내었다.

나. Catalase (CAT)

CAT (Catalase) 활성은 OxiSelect™ Catalase Assay kit (Cell Biolabs, Inc.)를 이용하여 측정하였다. 분광광도계를 이용하여 520nm의 흡광도에서 측정하며, unit/mg protein로 나타내었다. 1unit는 1분당 H₂O₂의 1.0μM을 분해하는 효소의 양으로 정의된다.

다. Glutathione (GSH)

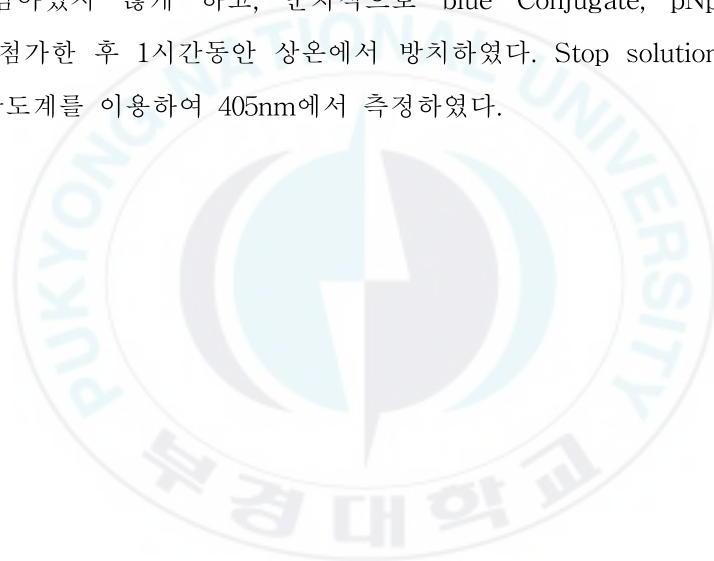
Reduced glutathione의 함량은 Beutler 등 (1963)의 방법을 이용하여 측정하였다. 우선 상등액에 precipitation solution (metaphosphoric acid, Na_2EDTA , NaCl)을 첨가하여 혼합 후, 4,500g에서 10분간 원심분리 하였다. 시료의 상등액을 얻어 0.3M NaHPO_4 를 넣은 뒤 0.5M DTNB로 발색시켜 분광광도계를 이용하여 412nm에서 흡광도를 측정하였다. GSH의 함량은 reduced glutathione standard curve를 이용하여 얻었으며, nmol GSH/mg protein으로 나타내었다.

라. Glutathione s-transferase (GST)

GST 활성은 Habig (1974)의 방법에서 변형하여 측정하였다. 일정량의 시료에 증류수와 0.2M potassium phosphate (pH 6.5)를 첨가 후, 혼합한 뒤 10mM GSH와 10mM CDNB를 첨가하여 1분간 실온에서 반응시켰다. 이 시료를 분광광도계를 이용하여 340nm에서 30초 단위로 5분 동안 측정하였다. nmol/min/mg protein으로 나타내었다.

5. Plasma cortisol

Plasma cortisol 활성은 ELISA quantification kit (Enzo Life Sciences, Inc., Farmingdale, NY, USA)를 이용하여 측정하였다. 우선 100 μ l standard (156, 313, 625, 1250, 2500 and 5000 pg/ml)와 100 μ l 시료를 plate에 분주한 뒤, 순차적으로 assay buffer, blue Conjugate, yellow Antibody를 첨가하였다. 그 뒤 plate shaker를 이용하여 500rpm으로 2시간동안 상온에서 혼합했다. 혼합 후 wash buffer로 내용물이 남아있지 않게 하고, 순차적으로 blue Conjugate, pNpp substrate solution을 첨가한 후 1시간동안 상온에서 방치하였다. Stop solution을 첨가하고 즉시 분광광도계를 이용하여 405nm에서 측정하였다.



6. Acetylcholinesterase activity

아세틸콜린에스테라아제 활성은 homogenizing buffer (0.1M phosphate buffer, pH 8.0)로 아가미(1:10), 근육(1:10), 뇌(1:25)를 희석하여, teflon-glass homogenizer (099CK4424, Glass-Col, Germany)를 이용하여 균질화 하였다. 이것을 4℃, 10000g로 20분간 원심분리 하여 상등액을 실험에 사용하였다. 아세틸콜린에스테라아제 활성은 $\text{nmol min}^{-1} \text{mg protein}^{-1}$ 으로 표시하였다. 조직의 단백질 함량은 Bradford (1976) 방법을 이용한 Bio-Rad Protein Assay kit (Bio-Rad Laboratories GmbH, Munich, Germany)를 이용하여 정량하였다.



7. Lysozyme activity

혈청과 신장의 Lysozyme 활성을 보기 위해 혈청은 혈장에서 얻었고, 신장의 조직은 teflon- glass homogenizer (099CK4424, Glass-Col, Germany)를 사용하여, homogenization buffer (0.004M phosphate buffer, pH6.6)로 10배 희석하여 균질화하였다. 이것을 4℃, 10000g로 10분간 원심분리 하여 상등액을 실험에 사용하였다. 신장의 단백질 함량은 Bradford (1976) 방법을 이용한 Bio-Rad Protein Assay kit (Bio-Rad Laboratories GmbH, Munich, Germany)를 이용하여 정량하였다. Lysozyme 농도는 효소활성의 측정을 통해 계산하였다. Lysozyme 활성은 *Micrococcus lysodeikticus* (Sigma)를 이용한 비색법(Ellis, 1990)으로 산출하였다. 표준곡선은 동결 건조된 hen egg white lysozyme (Sigma)을 사용하여, 흡광도 530nm에서 0.5분과 4.5분 간격으로 흡광도의 차이를 측정하였다.

8. 유의성 검정

실험 분석 결과에 대한 통계학적 유의성은 SPSS 통계 프로그램 (IBM SPSS Statistics 20.)을 이용하여, ANOVA test를 실시하여 Duncan's multiple range test를 통해 $P < 0.05$ 일 때 유의성이 있는 것으로 간주하였다.



Ⅲ. 결 과

1. 혈액 분석

Nonylphenol에 노출된 감성돔의 혈액성상은 Table. 2에 나타났다. RBC count의 경우 2주차에는 유의적인 변화가 관찰되지 않았고 4주차에는 80 $\mu\text{g/L}$ 이상의 농도 구간에서 유의적인 감소가 나타났다. WBC count의 경우 2주차와 4주에서 80 $\mu\text{g/L}$ 이상의 농도 구간에서 유의적인 감소가 나타났다. Hematocrit의 경우 2주차에는 유의적인 변화가 없었고, 4주차에는 80 $\mu\text{g/L}$ 이상의 농도 구간에서 유의적인 감소가 나타났다. Hemoglobin의 경우 2주차와 4주차 모두 유의적인 변화가 없었다.

Table. 2 Changes of RBC count, Hematocrit and Hemoglobin in black seabream, *Acanthopagrus schlegeli* exposed to nonylphenol for 4 weeks.

Parameters	Period (week)	Nonylphenol concentration ($\mu\text{g/L}$)			
		0	80	160	320
RBC count ($\times 10^4 \text{mm}^3$)	2	452.2 $\pm$ 6.5 ^{ab}	362.2 $\pm$ 49.7 ^{bc}	350.7 $\pm$ 35.8 ^{ab}	279.2 $\pm$ 15.1 ^{ab}
	4	443.7 $\pm$ 55.8 ^{bc}	324.7 $\pm$ 51.1 ^{bc}	291.2 $\pm$ 35.8 ^c	242.7 $\pm$ 60.1 ^a
WBC count ($\times 10^4 \text{mm}^3$)	2	52.0 $\pm$ 3.8 ^d	35.0 $\pm$ 3.1 ^{bc}	36.0 $\pm$ 4.8 ^{bcd}	31.75 $\pm$ 3.5 ^b
	4	49.2 $\pm$ 10.3 ^{cd}	23.7 $\pm$ 6.5 ^{ab}	29.0 $\pm$ 4.8 ^{ab}	12.7 $\pm$ 2.1 ^a
Hematocrit (%)	2	35.28 $\pm$ 2.06 ^c	34.14 $\pm$ 2.04 ^{bc}	32.87 $\pm$ 3.76 ^{bc}	31.16 $\pm$ 2.65 ^{bc}
	4	32.50 $\pm$ 1.08 ^{bc}	31.57 $\pm$ 1.46 ^{bc}	28.0 $\pm$ 1.22 ^{ab}	24.62 $\pm$ 1.49 ^a
Hemoglobin (g/dL)	2	11.46 $\pm$ 0.78 ^a	11.15 $\pm$ 0.52 ^a	10.50 $\pm$ 1.15 ^a	9.98 $\pm$ 0.77 ^a
	4	11.74 $\pm$ 0.76 ^a	11.30 $\pm$ 1.05 ^a	11.20 $\pm$ 0.69 ^a	9.69 $\pm$ 1.02 ^a

Values are mean $\pm$ S.E. Values with different superscript are significantly different ($P < 0.05$) as determined by Duncan's multiple range test.

2. 혈청 분석

혈청 성분의 변화는 Table. 3-4에 나타났다. 칼슘은 2주차에서 80 $\mu\text{g/L}$ 이상의 농도 구간에서 유의적인 증가가 나타났고, 4주차에도 80 $\mu\text{g/L}$ 이상의 농도 구간에서 유의적인 증가가 나타났다. 마그네슘은 2주차에서 80 $\mu\text{g/L}$ 이상의 농도 구간에서 유의적인 증가가 나타났고, 4주차에도 80 $\mu\text{g/L}$ 이상의 농도 구간에서 유의적인 증가가 나타났다. Glucose는 2주차와 4주차 모두에서 유의적인 변화가 나타나지 않았다. Total protein은 2주차에서 80 $\mu\text{g/L}$ 이상의 농도 구간에서 유의적인 증가가 나타났고, 4주차에도 80 $\mu\text{g/L}$ 이상의 농도 구간에서 유의적인 증가가 나타났다. GOT은 2주차에서 80 $\mu\text{g/L}$ 이상의 농도 구간에서 유의적인 감소가 나타났고, 4주차에도 80 $\mu\text{g/L}$ 이상의 농도 구간에서 유의적인 감소가 나타났다. GPT는 2주차에는 유의적인 변화가 나타나지 않았으며, 4주차에는 160 $\mu\text{g/L}$ 이상의 농도 구간에서 유의적인 증가가 나타났다.

Table. 3 Changes of serum calcium and magnesium in black seabream, *Acanthopagrus schlegeli* exposed to nonylphenol for 4 weeks.

Parameters	Period (week)	Nonylphenol concentration (µg/L)			
		0	80	160	320
Calcium (mg/dL)	2	12.14±0.49 ^a	12.75±1.02 ^a	27.11±4.46 ^b	44.39±2.84 ^c
	4	32.77±1.5 ^b	34.60±1.43 ^b	46.42±3.61 ^c	46.05±3.76 ^c
Magnesium (mg/dL)	2	3.29±0.06 ^{ab}	3.33±0.08 ^{abc}	3.70±0.12 ^{bcd}	3.77±0.09 ^d
	4	3.34±0.05 ^{abc}	3.15±0.07 ^a	3.73±0.18 ^{cd}	4.11±0.26 ^d

Values are mean±S.E. Values with different superscript are significantly different ($P < 0.05$) as determined by Duncan's multiple range test.

Table. 4 Changes of serum glucose, total protein, GOT, and GPT in black seabream, *Acanthopagrus schlegeli* exposed to nonylphenol for 4 weeks.

Parameters	Period (week)	Nonylphenol concentration (µg/L)			
		0	80	160	320
Glucose (mg/dL)	2	114.1±8.6 ^a	136.6±19.7 ^a	102.4±12.1 ^a	114.7±17.7 ^a
	4	88.9±7.2 ^a	87.0±16.2 ^a	107.9±20.2 ^a	134.0±16.1 ^a
Total protein (g/dL)	2	5.35±0.15 ^b	5.53±0.08 ^b	6.82±0.57 ^c	7.25±0.33 ^c
	4	4.23±0.05 ^a	4.27±0.05 ^a	5.21±0.23 ^b	5.32±0.47 ^b
GOT (Karmen/ml)	2	3.39±0.11 ^c	3.42±0.24 ^c	2.91±0.32 ^{bc}	3.05±0.16 ^{bc}
	4	2.62±0.22 ^{ab}	2.07±0.14 ^a	2.18±0.25 ^a	2.44±0.22 ^{ab}
GPT (Karmen/ml)	2	2.17±0.04 ^b	2.22±0.08 ^b	2.25±0.14 ^b	2.23±0.08 ^b
	4	1.73±0.07 ^a	1.57±0.04 ^a	1.78±0.08 ^a	2.36±0.22 ^b

Values are mean±S.E. Values with different superscript are significantly different ($P < 0.05$) as determined by Duncan's multiple range test.

3. 항산화 효소 분석

Nonylphenol에 노출된 감성돔의 간과 아가미 내 항산화 효소를 분석하였다.

가. Superoxide dismutase (SOD)

SOD (Superoxide dismutase)활성 결과를 Fig. 1-2에 나타냈다. 간에서 SOD의 활성은 2주차에는 160 $\mu\text{g/L}$ 이상의 농도 구간에서 유의적인 증가를 나타냈고, 4주차에는 80 $\mu\text{g/L}$ 이상의 농도 구간에서 유의적인 증가를 나타냈다. 아가미에서 SOD의 활성은 2주차에는 증가하는 경향은 보였지만 유의성이 나타나지 않았고, 4주차에는 160 $\mu\text{g/L}$ 이상의 농도 구간에서 유의적인 증가를 나타냈다.

나. Catalase (CAT)

CAT (Catalase)활성 결과를 Fig. 3-4에 나타냈다. 간에서 CAT의 활성은 2주차에는 80 $\mu\text{g/L}$ 이상의 농도 구간에서 유의적인 증가를 나타냈고, 4주차에는 80 $\mu\text{g/L}$ 이상의 농도에서 유의적인 증가를 보이다가 160 $\mu\text{g/L}$ 이상의 농도 구간에서 유의적인 감소를 나타냈다. 아가미에서 CAT의 활성은 2주차에서 80 $\mu\text{g/L}$ 이상의 농도 구간에서 유의적인 증가를 나타냈고, 4주차에서 80 $\mu\text{g/L}$ 이상의 농도 구간에서 유의적인 증가를 나타내다가 320 $\mu\text{g/L}$ 의 농도에서 감소하는 경향을 나타냈다.

다. Glutathione (GSH)

GSH (Glutathione)활성 결과를 Fig. 5-6에 나타냈다. 간에서 GSH의 활성은 2주차에는 160 $\mu\text{g/L}$ 이상의 농도 구간에서 유의적인 증가를 나타냈고, 4주차에는 80 $\mu\text{g/L}$ 이상의 농도 구간에서 유의적인 증가를 나타냈다. 아가미에서 GSH의 활성은 2주차에는 320 $\mu\text{g/L}$ 의 농도에서 유의적인 증가를 보였고, 4주차에서도 320 $\mu\text{g/L}$ 의 농도에서 유의적인 증가를 보였다.

라. Glutathione s-transferase (GST)

GST (Glutathione s-transferase)활성 결과를 Fig. 7-8에 나타냈다. 간에서 GST의 활성은 2주차에는 80 $\mu\text{g/L}$ 이상의 농도 구간에서 유의적인 증가를 나타냈고, 4주차에도 80 $\mu\text{g/L}$ 이상의 농도 구간에서 유의적인 증가를 나타냈다. 아가미에서 GST의 활성은 2주차에는 80 $\mu\text{g/L}$ 이상의 농도 구간에서 유의적인 증가를 나타냈고, 4주차에도 80 $\mu\text{g/L}$ 이상의 농도 구간에서 유의적인 증가를 나타냈다.

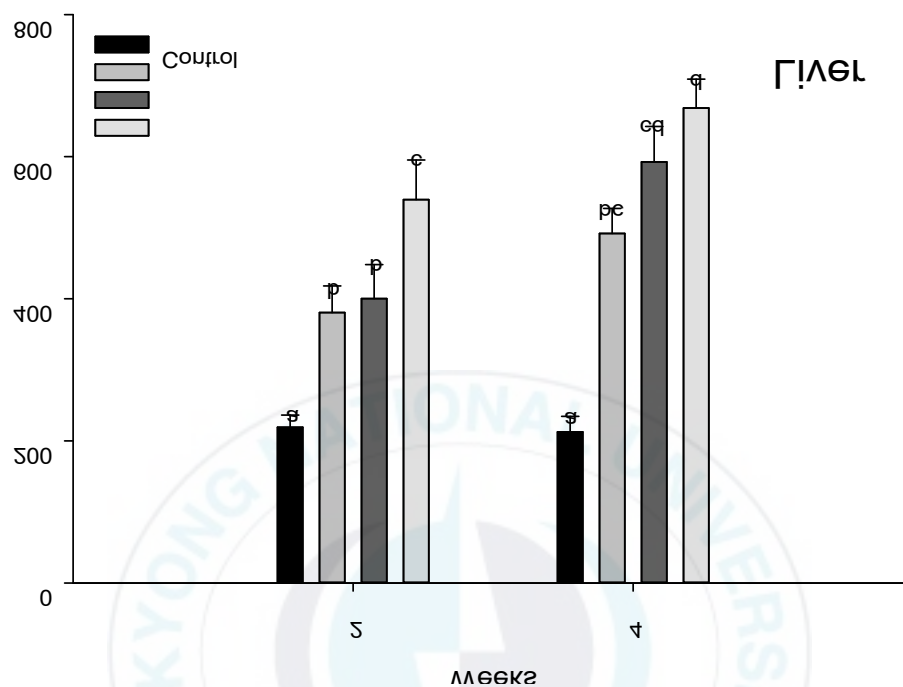


Figure. 1 Changes of SOD activity in liver of black seabream, *Acanthopagrus schlegelii* exposed to the different concentration of nonylphenol. Vertical bar denotes a standard error. Values with different superscript are significantly different ($P < 0.05$) as determined by Duncan's multiple range test.

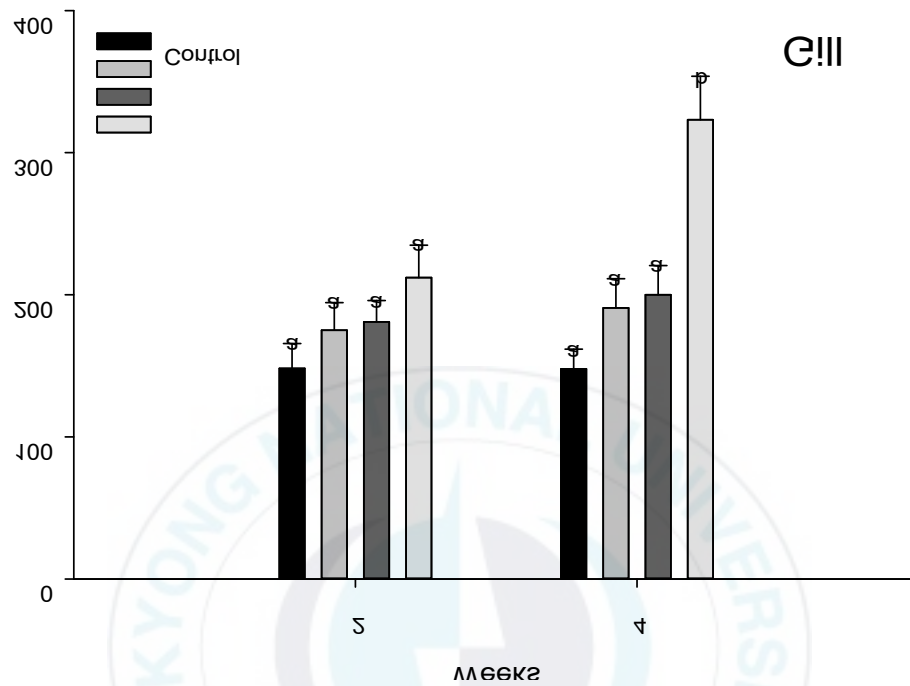


Figure. 2 Changes of SOD activity in gill of black seabream, *Acanthopagrus schlegelii* exposed to the different concentration of nonylphenol. Vertical bar denotes a standard error. Values with different superscript are significantly different ($P < 0.05$) as determined by Duncan's multiple range test.

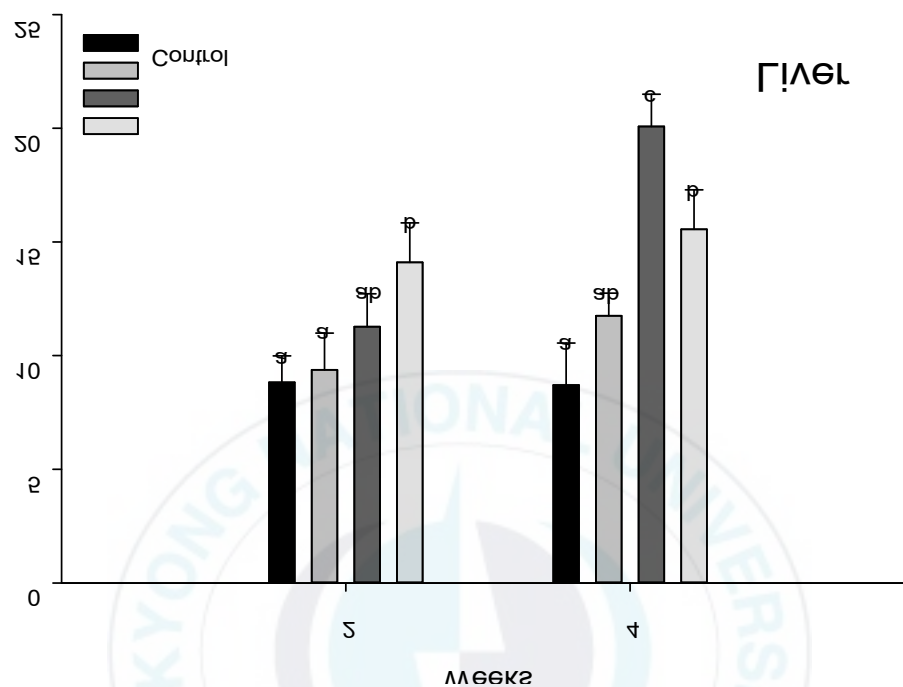


Figure. 3 Changes of CAT activity in liver of black seabream, *Acanthopagrus schlegelii* exposed to the different concentration of nonylphenol. Vertical bar denotes a standard error. Values with different superscript are significantly different ($P < 0.05$) as determined by Duncan's multiple range test.

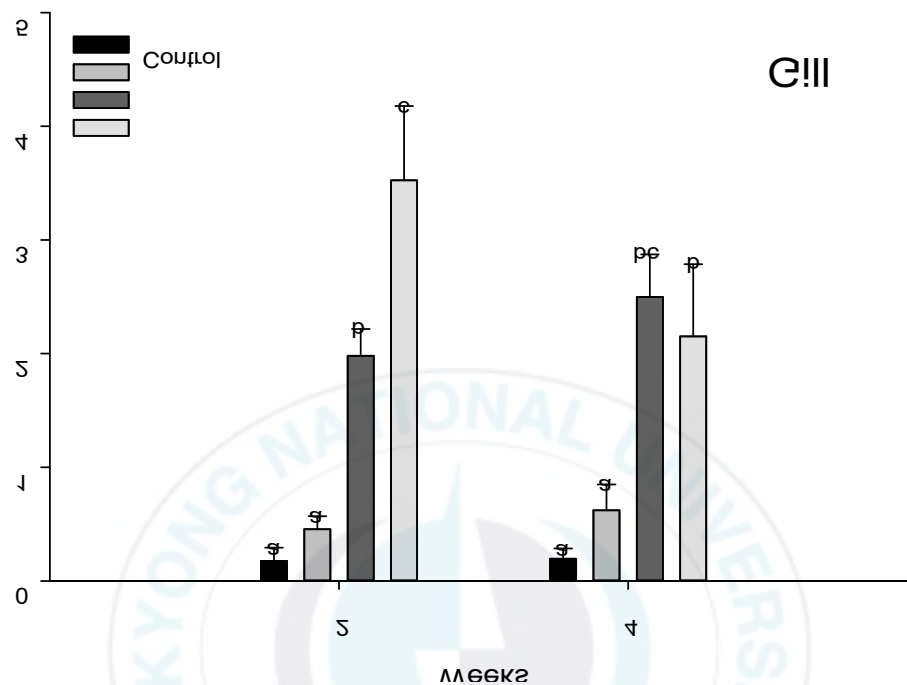


Figure. 4 Changes of CAT activity in gill of black seabream, *Acanthopagrus schlegelii* exposed to the different concentration of nonylphenol. Vertical bar denotes a standard error. Values with different superscript are significantly different ($P < 0.05$) as determined by Duncan's multiple range test.

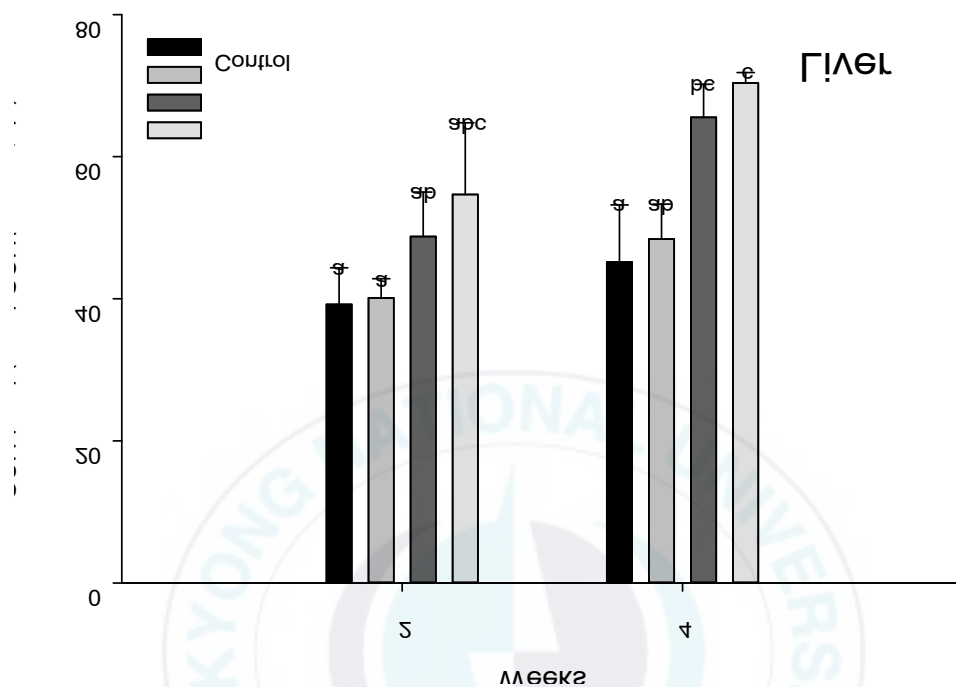


Figure. 5 Changes of GSH activity in liver of black seabream, *Acanthopagrus schlegelii* exposed to the different concentration of nonylphenol. Vertical bar denotes a standard error. Values with different superscript are significantly different ($P < 0.05$) as determined by Duncan's multiple range test.

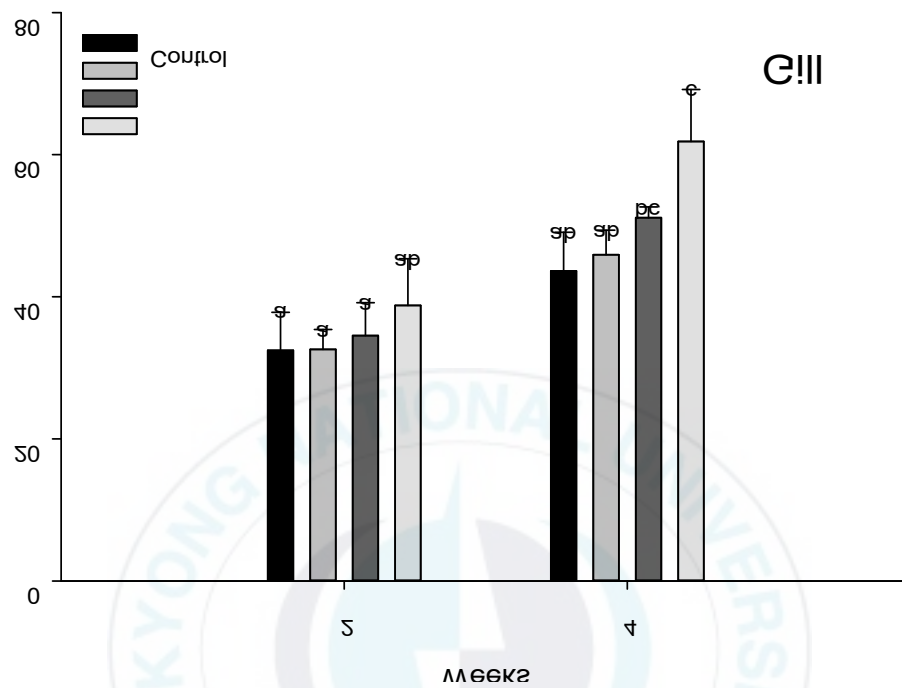


Figure. 6 Changes of GSH activity in gill of black seabream, *Acanthopagrus schlegelii* exposed to the different concentration of nonylphenol. Vertical bar denotes a standard error. Values with different superscript are significantly different ($P < 0.05$) as determined by Duncan's multiple range test.

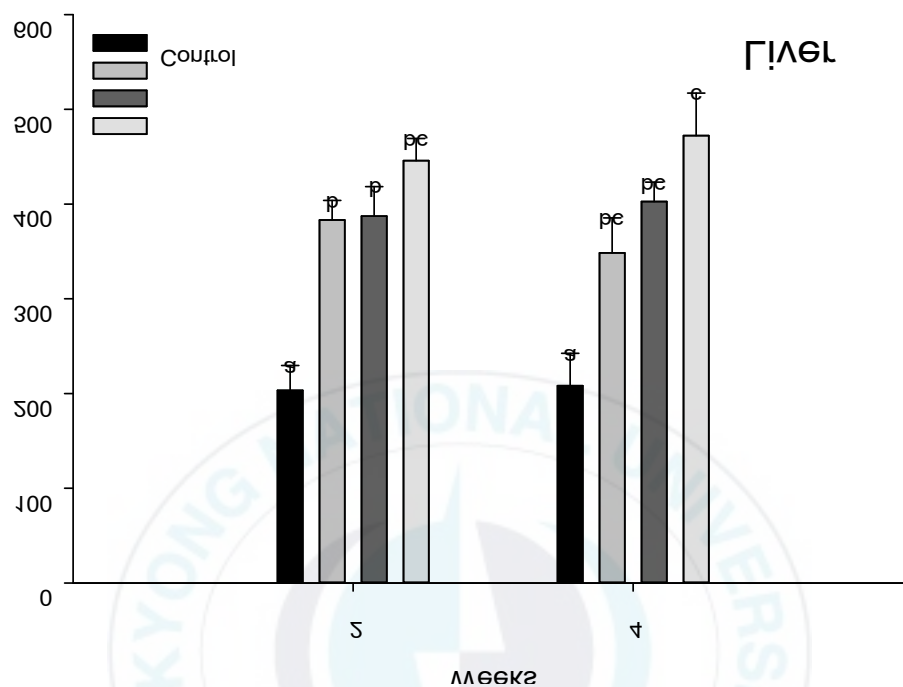


Figure. 7 Changes of GST activity in liver of black seabream, *Acanthopagrus schlegelii* exposed to the different concentration of nonylphenol. Vertical bar denotes a standard error. Values with different superscript are significantly different ($P < 0.05$) as determined by Duncan's multiple range test.

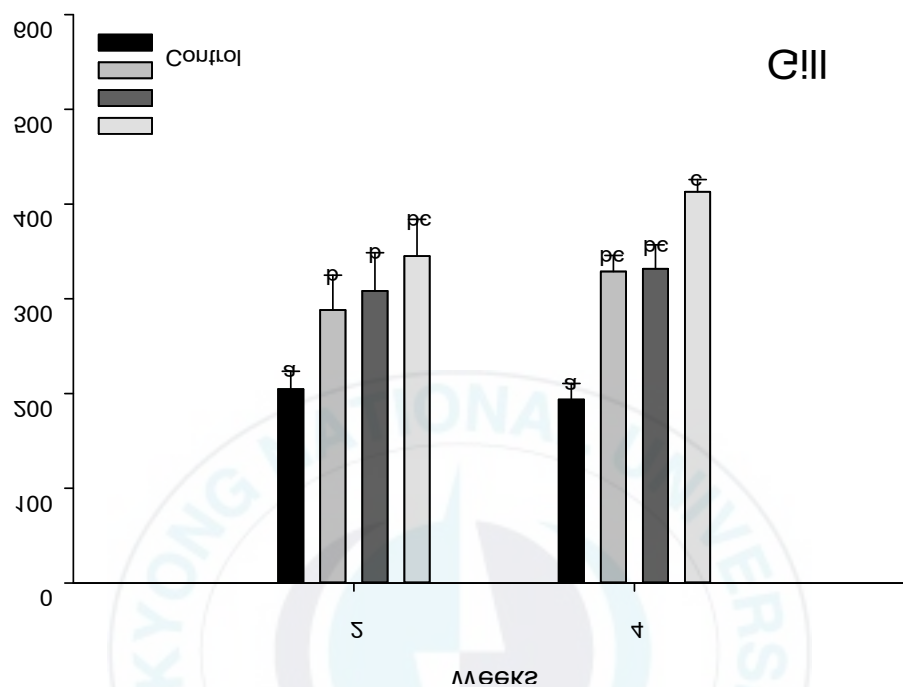


Figure. 8 Changes of GST activity in gill of black seabream, *Acanthopagrus schlegelii* exposed to the different concentration of nonylphenol. Vertical bar denotes a standard error. Values with different superscript are significantly different ($P < 0.05$) as determined by Duncan's multiple range test.

4. Plasma cortisol

Plasma cortisol의 분석 결과를 Fig. 9에 나타냈다. 2주차에는 대조군에서 유의적인 증가를 나타냈고, 160 $\mu\text{g/L}$ 이상의 농도구간에서 유의적인 감소를 나타냈다. 4주차에는 증가하는 경향을 나타냈으나 유의적인 변화는 나타나지 않았다.



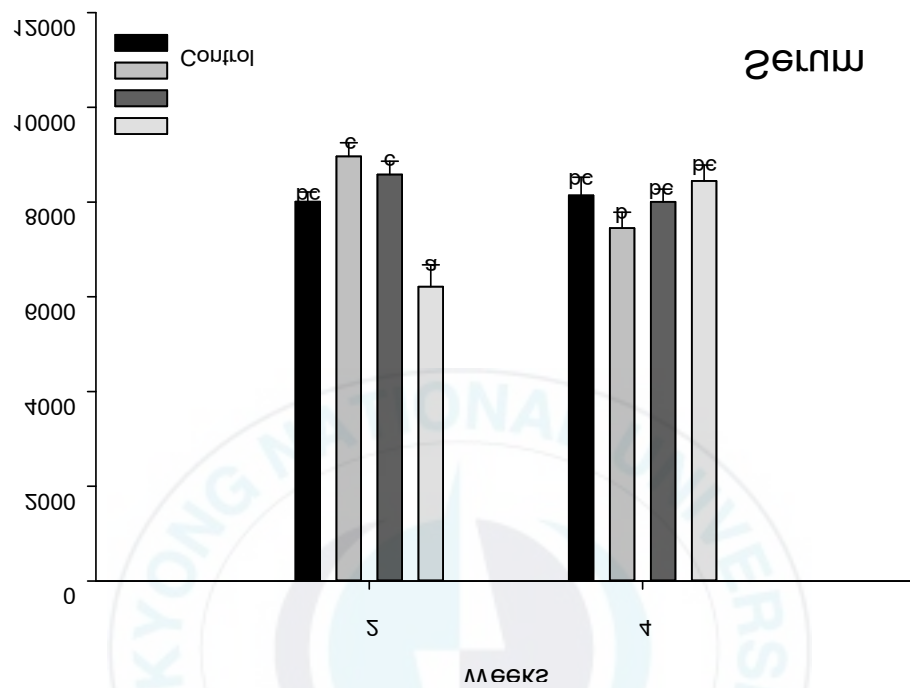
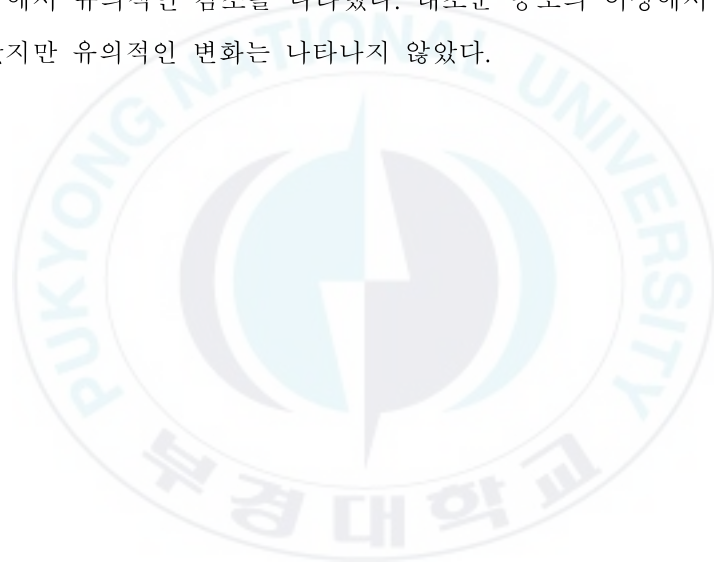


Figure. 9 Changes of plasma cortisol in black seabream, *Acanthopagrus schlegelii* exposed to the different concentration of nonylphenol. Vertical bar denotes a standard error. Values with different superscript are significantly different ($P < 0.05$) as determined by Duncan's multiple range test.

5. Acetylcholinesterase activity

Acetylcholinesterase의 분석결과를 Fig. 10-12에 나타냈다. 아가미에서 2주차와 4주차에서 대조군 농도의 이상에서 유의적인 감소를 나타냈다. 근육에서 2주차에는 대조군 농도의 이상에서 유의적인 감소를 나타냈고, 4주차에는 감소하는 경향을 보이다가 160 $\mu\text{g/L}$ 이상의 농도구간에서 유의적인 감소를 나타냈다. 뇌에서 2주차에는 80 $\mu\text{g/L}$ 이상의 농도구간에서 유의적인 감소를 나타냈고, 4주차에는 대조군 농도의 이상에서 유의적인 감소를 나타냈다. 대조군 농도의 이상에서 감소하는 경향은 나타났지만 유의적인 변화는 나타나지 않았다.



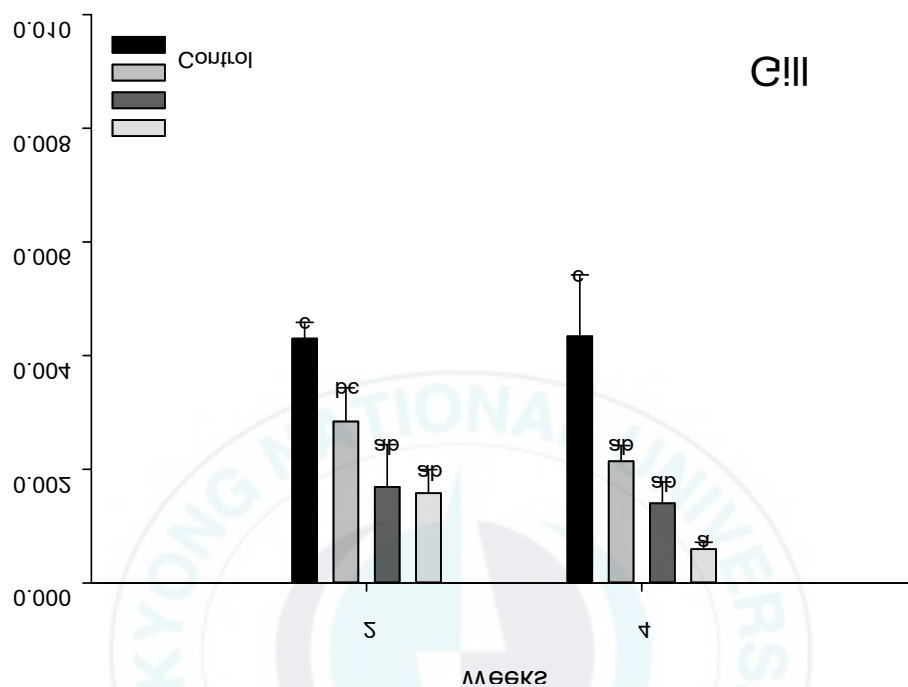


Figure. 10 Changes of AchE activity in gill of black seabream, *Acanthopagrus schlegelii* exposed to the different concentration of nonylphenol. Vertical bar denotes a standard error. Values with different superscript are significantly different ($P < 0.05$) as determined by Duncan's multiple range test.

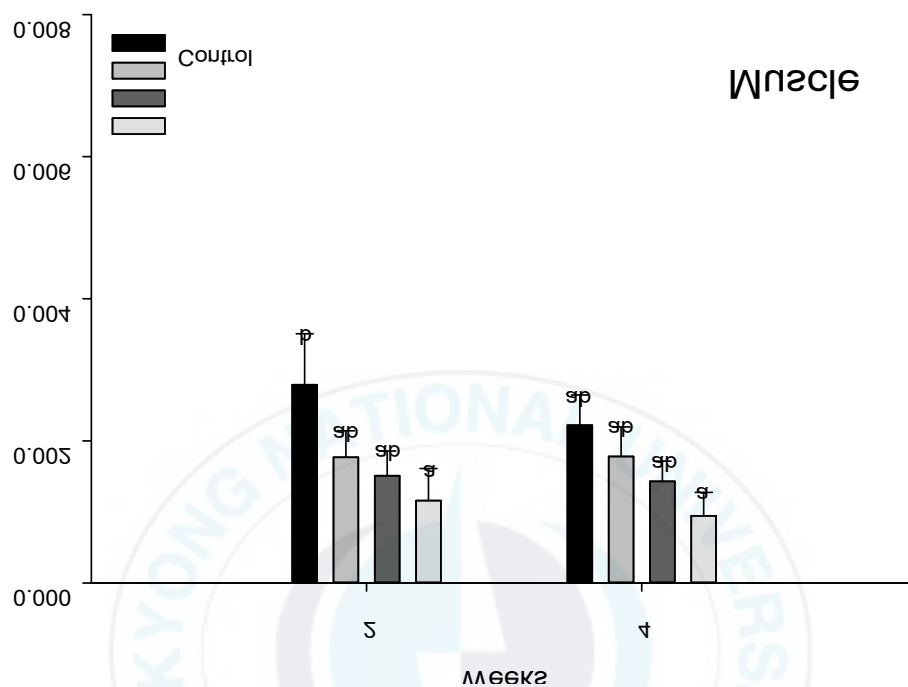


Figure. 11 Changes of AchE activity in muscle of black seabream, *Acanthopagrus schlegeli* exposed to the different concentration of nonylphenol. Vertical bar denotes a standard error. Values with different superscript are significantly different ($P < 0.05$) as determined by Duncan's multiple range test.

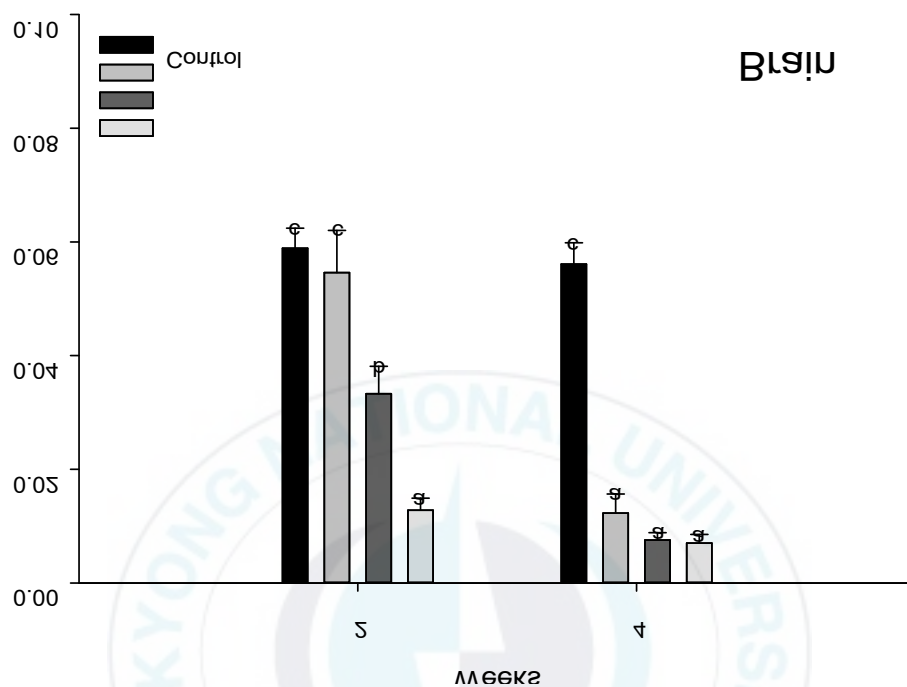


Figure. 12 Changes of AchE activity in brain of black seabream, *Acanthopagrus schlegeli* exposed to the different concentration of nonylphenol. Vertical bar denotes a standard error. Values with different superscript are significantly different ($P < 0.05$) as determined by Duncan's multiple range test.

6. Lysozyme activity

Lysozyme activity의 분석 결과를 Fig. 13-14에 나타냈다. Serum의 2주차에는 80 $\mu\text{g/L}$ 이상의 농도구간에서 유의적인 감소가 나타나다가 160 $\mu\text{g/L}$ 이상의 농도구간에서 다시 유의적인 증가를 나타냈다. 4주차에는 160 $\mu\text{g/L}$ 이상의 농도에서 유의적인 감소를 나타냈다. 신장에서 2주차에는 80 $\mu\text{g/L}$ 이상의 농도구간에서 유의적인 감소가 나타나다가 160 $\mu\text{g/L}$ 이상의 농도구간에서 다시 유의적인 증가를 나타냈지만 그 외의 구간에서는 유의적인 변화는 나타나지 않았다. 4주차에는 80 $\mu\text{g/L}$ 이상의 농도구간에서 유의적인 증가를 나타냈고, 160 $\mu\text{g/L}$ 이상의 농도구간에서는 유의적인 감소를 나타냈다.



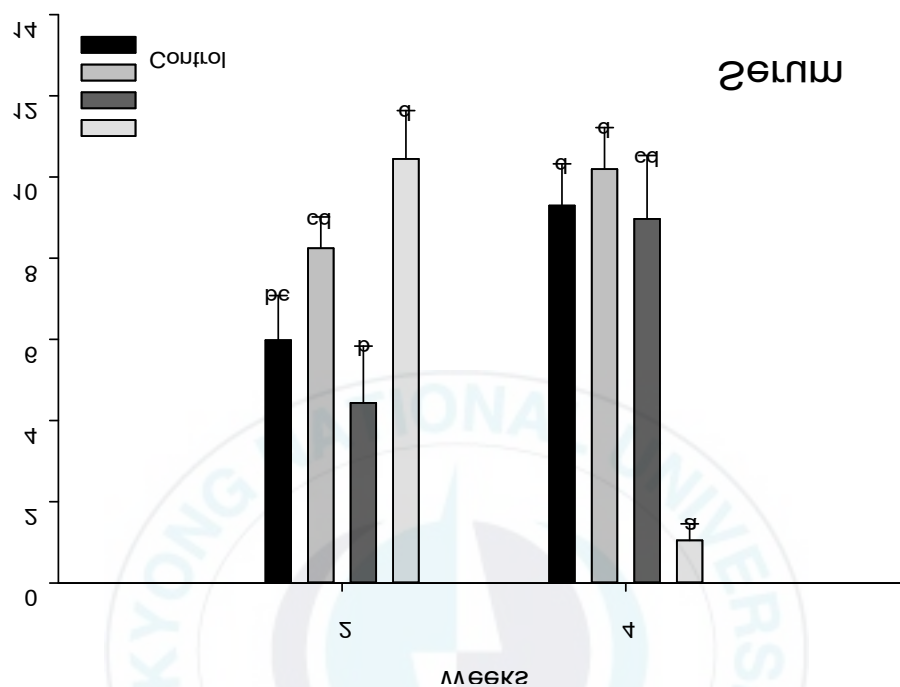


Figure. 13 The lysozyme activity in serum of black seabream, *Acanthopagrus schlegelii* exposed to the different concentration of nonylphenol. Vertical bar denotes a standard error. Values with different superscript are significantly different ($P < 0.05$) as determined by Duncan's multiple range test.

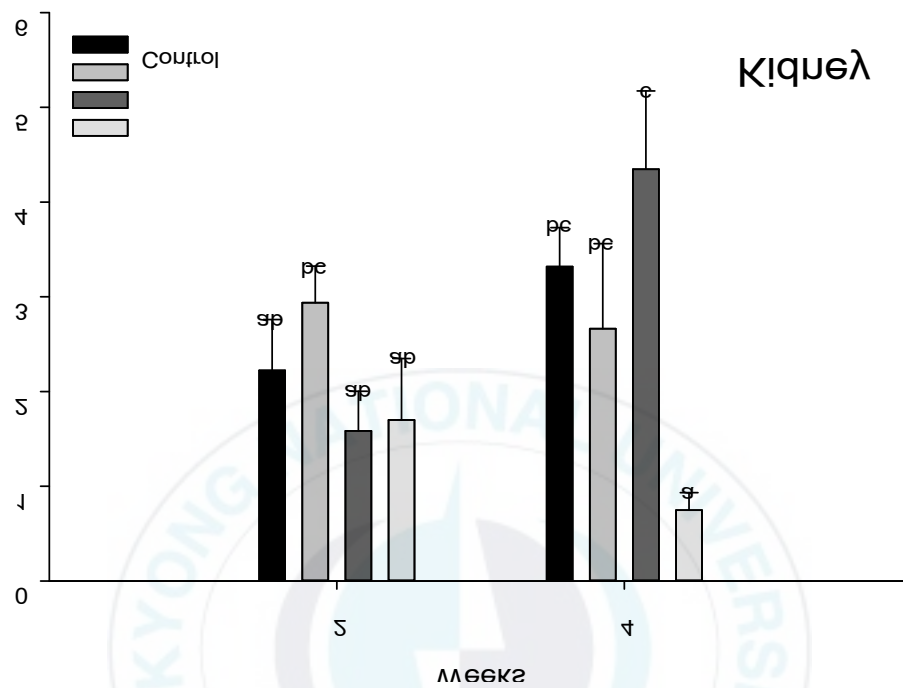


Figure. 14 The lysozyme activity in kidney of black seabream, *Acanthopagrus schlegelii* exposed to the different concentration of nonylphenol. Vertical bar denotes a standard error. Values with different superscript are significantly different ($P < 0.05$) as determined by Duncan's multiple range test.

IV. 고 찰

많은 어류 종들은 수생 생태계에서 최고 소비자로 고려 될 수 있다 (Dallinger et al., 1987). 이는 결과적으로 수생 환경에서 배출되는 오염물질이 물고기 자체에 축적 될 뿐만 아니라 잠재적 위험을 초래 할 수 있다 (Grimanis et al., 1978 and Adams et al., 1992).

Nonylphenol(NP)은 높은 소수성과 낮은 용해성으로 강물과, 지하수 등의 환경에 축적되며 (A.Soures et al., 2008), 이는 최종적으로 연안으로 도달할 수 있다. 독성 평가를 위해 선호되는 유기체는 조류, 무척추동물 및 어류가 있다. 노닐페놀의 영향은 매우 다양하며 유기체의 발달단계, 주변 환경의 특성 및 조사결과로 인해 각기 다른 관찰 결과가 나타나기도 한다 (A.Soures et al., 2008).

감성돔 (*Acanthopagrus schlegeli*)은 광염성 해산 경골어류로 염분내성이 강한 어종으로 알려져 있다 (Kitajima and Tsukashima, 1983). 최근에는 고삼투압 조절 능력을 이용한 감성돔의 담수양식 연구가 활발하게 진행되고 있다 (Min et al., 2006). 이렇듯 감성돔은 연안과 담수양식으로 인하여 nonylphenol에 노출될 가능성이 커지고 있다.

노출에 따른 혈액학적 매개변수는 환경오염에 대한 독성 스트레스를 측정하기 위한 지표로 널리 사용되고 있다. 혈액학적 결과에 따르면 NP 노출에 의해 적혈구의 총 수를 유의하게 감소시켰으므로써 빈혈을 유발하였다 (Schwaiger et al., 2000). 본 연구에서 높은 농도에서 RBC count, Hematocrit, Hemoglobin에서 감소가 나타났다. 에톡시화 된 NP는 oxyethylene (EO) chain의 길이와 사용된 농도에 따라 용혈효과를 유도하는 것으로 나타났다 (Bolis et al., 1977 and Galembeck et al., 1998).

혈청 무기성분, 유기성분, 효소성분이 본 연구에서 분석되었다. 혈청 무기성분인 Ca과 Mg은 혈청의 삼투압의 변화에 따라 증가하거나 감소한다(Waring, 1996; Chang, 2001; Hur, 2001). 본 연구에서 Ca은 2, 4주차 160 μ g/L 이상의 농도에서

유의적인 증가가 일어났다. Mg은 2, 4주차 320 μ g/L의 농도에서 유의적인 증가가 일어났다. 이러한 결과를 고려해보았을 때, 높은 수준의 NP 농도는 어류의 삼투조절에 어느 정도 영향을 줄 것으로 생각된다. 혈청의 유기성분으로는 Glucose와 Total protein을 분석하였다. 스트레스에 노출되었을 때 탄수화물의 대사가 증가하여 일반적으로 glucose는 일반적으로 증가한다 (Hontela, 1996; Kennedy, 1995). 2주차에는 큰 변화가 나타나지 않았고, 4주차에는 값이 증가하였다. 혈액 내의 Ca과 total protein은 실험적으로 유발되는 난황형성 (vitellogenesis)동안 순환하는 vitellogenin의 수준과 상관관계가 있는 것으로 나타났다 (Björnsson and Haux 1985; Tinsley 1985; Nagler et al. 1986). Total protein은 4주차의 값이 2주차보다 낮았고, 2, 4주차 80 μ g/L 이상의 농도에서 유의적인 증가가 일어났다. 이러한 결과를 고려해보았을 때, vitellogenin의 형성을 위해 높은 농도에서 total protein이 증가한 것으로 보인다. 혈청 효소성분으로 GOT, GPT를 분석하였다. GOT와 GPT는 환경오염 물질에 노출된 어류의 독성 영향평가를 위해 주로 사용되며, 이 수치는 간, 췌장 조직의 조직학적 손상에 의해 증가될 수 있다 (Blasco, 1999). 본 연구에서 GOT는 유의적인 변화는 나타나지 않았다. GPT는 2주차에는 유의성이 나타나지 않았고, 4주차에는 증가하는 경향을 보이다가 320 μ g/L의 농도에서 유의적인 증가가 나타났다. 이러한 결과는 NP 노출 실험이 어류의 간에 영향을 주는 것으로 생각된다.

항산화 스트레스는 독성학적으로 중요한 하나의 부분으로 받아들여지고 있다. 활성산소 생성과 고갈의 불균형으로 인한 산화스트레스는 지질, 단백질, DNA과 같은 세포의 생체분자의 다양한 기능 장애를 일으킨다 (Minghong Wu et al., 2011). 본 연구에서 SOD의 활성은 간에서 2, 4주에서 유의적인 증가가 일어났다. 아가미에서 2주차에는 유의적인 변화가 나타나지 않았고, 4주차에는 320 μ g/L의 농도에서 상당한 유의적인 증가를 나타내었다. 일반적으로 많은 연구에서 SOD의 활성은 독성물질과 중금속물질 노출 시 증가된다는 보고가 많이 있다 (Misra et al., 2009) CAT는 H₂O와 O₂에 대한 H₂O₂의 해독을 담당하는 생체 이물질에 의한 ROS를 제거하는 주요효소이다 (Sk and Bhattacharya, 2006). 본 연구에서 CAT 활성은 간에서 2주차에는 320 μ g/L 농도에서 유의적인 증가가 나타났고, 4주차에는 80

$\mu\text{g/L}$ 이상의 농도에서 유의적인 증가를 보이다가 $320\mu\text{g/L}$ 농도에서 유의적인 감소가 나타났다. 아가미에서 2주차에는 $160\mu\text{g/L}$ 이상의 농도에서 상당한 유의적인 증가를 나타냈고, 4주차에는 $160\mu\text{g/L}$ 이상의 농도에서 유의적인 증가를 보였고, 2주차보다 전체적으로 활성의 감소를 나타냈다. 이러한 항산화 효소 활성의 감소는 NP의 직접 산화 효과에 기인한 것으로 보인다 (Minghong Wu et al., 2011). GSH는 세포 내 티올(thiol)기 항산화물질 중 가장 풍부하게 존재한다. GSH의 감소는 화학물질과 자연적 오염물질에 노출된 어류의 환경스트레스의 생물지표로 간주된다 (Vaglio, 1999; Peña-Llopis, 2001). 하지만 GSH는 간의 합성에 의해 증가할 수도 있으며 이러한 반응은 글루탐산염 시스테인 연결효소(GCL: glutamate cysteine ligase)와 오염물질 상호작용에 의해 유발된다 (Peña, 2001). 본 연구에서 간에서 2,4주차에 $160\mu\text{g/L}$ 이상의 농도에서 유의적 증가가 나타났다. 아가미에서 2주차에는 증가하는 경향을 보였고, 4주차에는 $160\mu\text{g/L}$ 이상의 농도에서 유의적 증가가 나타났다. 이 증가는 산화스트레스에 대한 글루타티온 합성증가에 의한 것이라 판단된다. GST는 환경오염물질과 같은 유해성 친전자성 생체이물의 해독작용에 주요한 작용을 한다. 본 연구에서 간과 아가미에서 2, 4주차 $80, 160\mu\text{g/L}$ 의 농도에서는 유의적인 증가가 보이지 않았지만 $320\mu\text{g/L}$ 농도에서 유의적인 증가가 나타났다. 본 연구의 항산화 효소는 전반적으로 증가가 관찰되었고, 이러한 증가는 어류의 산화스트레스에 의한 항산화 효소의 활성 증가로 보이며, 이는 어류의 방어 기작 활성화에 따른 것이라 사료된다.

혈장 cortisol은 에너지 사용과 신진대사에 영향을 미치고, 간에서의 포도당 생성, 근육에서 단백질, 지방 분해와 관련이 있다. 본 연구에서 2주차에는 증가하다가 감소하는 유의성을 보였고, 4주차에는 $80\mu\text{g/L}$ 농도에서 감소하다가 증가하는 경향을 보였다.

Acetylcholin은 중추신경계와 말초신경계의 가장 중요한 신경전달물질 중 하나이며, acetylcholinesterase의 억제제는 신경독성의 생물지표로 제시되고 있다 (Manzo, 1995). Acetylcholinesterase의 감소는 독성물질에 노출된 어류에서 일반적으로 발견된다 (Modesto, 2010). 본 연구의 아가미에서 2주차에는 유의적인 감소가 나타났고, 4주차에는 $320\mu\text{g/L}$ 농도에서 상당한 유의적 감소가 나타났다. 근육에서 2, 4

주차에서 대조군 이상의 농도에서 유의적인 감소가 나타났다. 뇌에서 2주차에는 $80\mu\text{g/L}$ 이상의 농도에서 상당한 유의적 감소가 나타났다. 4주차에는 대조군 이상의 농도에서 상당한 감소가 일어났으며 감소한 수치에서 유의적 변화는 나타나지 않았다. 상당한 acetylcholinesterase의 감소를 고려하였을 때, NP 노출은 실험어의 상당한 신경독성을 유발하였을 것이라 사료된다. Acetylcholinesterase의 축적은 어류의 생식행동과 도망치는 능력에 영향을 주어 어류의 생존에 직접적으로 간섭을 줄 수 있다 (Bretaud, 2000).

환경 독성 물질에 의해 유발된 스트레스는 어류의 면역능력을 억제하는 것으로 알려져 있다 (Small, 2004). 가장 중요한 면역반응 중 하나인 lysozyme은 박테리아 세포벽의 가수분해를 촉매 함으로서 박테리아를 죽이는 중요한 가수분해효소이다 (Hikima et al., 2003). Secombes et al., (1997)는 하수 슬러지에 노출된 넙치에서 증가된 라이소자임 수준을 관찰했다. 또한 Lysozyme의 증가와 감소에 대한 다양한 결과가 있다. 본 연구에서 혈청에서 2주차에는 $320\mu\text{g/L}$ 에서 상당한 유의적 증가가 나타났고, 4주차에는 $320\mu\text{g/L}$ 에서 상당한 유의적 감소가 나타났다. 신장에서 $80\mu\text{g/L}$ 이상의 농도에서 유의적인 감소가 나타났고, 4주차에는 $320\mu\text{g/L}$ 에서 상당한 유의적 감소가 나타났다. 이러한 결과는 NP의 높은 농도에서 면역학적 자극으로 인해 면역력이 무너진 것으로 사료된다.

결론적으로 NP의 노출과 같은 유해한 물질에 따른 환경오염은 환경 뿐 만 아니라 어류에도 큰 영향을 줄 수 있다. 더 나아가 이러한 유해물질들의 축적이 나타나는 어류를 섭취하는 인간의 건강에도 이상을 유발할 수 있다. 이번 실험을 통하여 수계 중에 노출된 NP의 높은 농도의 노출은 생물체에 높은 영향을 줄 수 있음을 보여준다. 하지만 NP 독성에 관한 다양한 해수 어류의 연구는 아직 많이 부족한 실정이다. 따라서 NP 독성에 관한 다양한 연구가 여러 가지 측면에서 이루어져야 할 것이다.

V. 요 약

Nonylphenol(NP)은 폐수처리, 하수 슬러지의 재활용 및 공업세제 등의 사용으로 인해 토양 및 지하수 등 자연환경에 축적되어 존재한다. NP는 수생 생물의 생식력 감소, 성장감소 등의 유해한 영향을 미친다. 낮은 용해성과 높은 소수성으로 인해 환경에 오래 남아있게 되고 이는 어류와 야생동물에게 독성물질로 영향을 미칠 수 있다. 감성돔은 한국의 양식어종이며 상업적 가치가 높으며, 높은 염분내성으로 담수양식을 위한 연구가 활발하게 일어나고 있다.

따라서 본 연구의 목적은 0, 80, 160, 320 μ g/L의 NP 농도에서 노출된 감성돔의 혈액학적 변화, 항산화 효소 등과 같은 생리, 생화학적 반응을 측정하는데 있다.

NP에 노출된 감성돔에서 RBC count, WBC count, hematocrit의 경우 높은 농도에서 유의적인 감소가 나타났지만, hemoglobin의 경우 유의적인 변화는 보이지 않았다. Ca와 Mg은 80 μ g/L 이상의 농도에서 유의적인 증가를 나타냈고, glucose는 유의적인 변화가 없었으며 total protein은 80 μ g/L의 농도구간에서 유의적인 증가를 나타냈다. GOP는 80 μ g/L 이상의 농도에서 유의적인 감소가 나타났고, GPT는 4주차 160 μ g/L 이상의 농도에서 유의적인 증가가 나타났다. SOD는 간과 아가미에서 유의적인 증가를 보였으며 CAT는 간에서 증가하는 경향을 보이다가 4주차 320 μ g/L 농도에서 감소하였고, 아가미에서는 2, 4주차에서 증가하는 경향을 보였다. GSH, GST는 간과 아가미에서 모두 증가하는 유의성을 보였다. 혈청 cortisol은 2주차에서 감소하였고, 4주차에는 별 다른 유의성을 보이지 않았다. Acetylcholinesterase은 아가미, 근육, 뇌에서 모두 상당한 유의적인 감소를 나타냈다. Lysozyme 활성은 혈청과 간의 4주차 320 μ g/L 농도에서 상당한 감소를 보였다.

참 고 문 헌

- Aderem, A., & Underhill, D. M. (1999). Mechanisms of phagocytosis in macrophages. *Annual review of immunology*, 17(1), 593-623.
- Adhikari, S., Sarkar, B., Chatterjee, A., Mahapatra, C.T., and Ayyappan, S.: Effects of cypermethrin and carbofuran on certain hematological parameters and prediction of their recovery in a freshwater teleost, *Labeo rohita* (Hamilton). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 58: 220-226, 2004
- Almeida, E.A., Bainy, A.C.D., Loureiro, A.P.M., Martinez, G.R., Miyamoto, S., Onuki, J., Barbosa, L.F., Garcia, C.C.M., Prado, F.M., Ronsein, G.E., Sigolo, C.A., Brochini, C.B., Martins, A.M.G., Medeiros, M.H.G., Mascio, P.D. (2007) Oxidative stress in *Perna perna* and other bivalves as indicators of environmental stress in the Brazilian marine environment: Antioxidants, lipid peroxidation and DNA damage. *Comparative Biochemistry and Physiology* 146, 588-600.
- A.P. Grimanis, D. Zafiroopoulos, R. Vassilaki, M. Grimanis. Trace elements in the flesh and liver of two fish species from polluted and unpolluted areas in the Aegean Sea. *Environmental Science and Technology*, 12 (1978), pp. 723 - 726
- Barton, B. A., & Iwama, G. K. (1991). Physiological changes in fish from stress in aquaculture with emphasis on the response and effects of corticosteroids. *Annual Review of Fish Diseases*, 1, 3-26.

- Bengtsson, B. E., Bergman, Å., Brandt, I., Hill, C., Johansson, N., Södergren, A., & Thulin, J. (1994). Reproductive disturbances in Baltic fish. Research programme for the period 1994/95-1998/99.
- Björnsson, B.T. and Haux, C. 1985. Distribution of calcium, magnesium and inorganic phosphate in plasma of estradiol 17β treated rainbow trout. J. Comp. Physiol. B 155: 347 - 352.
- Bretaud, S., Toutant, J.P., Saglio, P. (2000) Effects of carbofuran, diuron and nicosulfuron on acetylcholinesterase activity in goldfish (*Carassius auratus*). Ecotoxicology and Environmental Safety 47, 117-124.
- Chang, Y.J., Hur, J.W., Lim, H.K., Lee, J.K. (2001) Stress in olive flounder (*Oaralichthys olivaceus*) and fat cod (*Hexagrammos otakii*) by the sudden drop and rise of water temperature. J. Korean. Fish. Soc. 34, 91-97.
- Chuiko, G.M., Zhelnin, Y., Pod'gornaya, V.A. (1997) Seasonal fluctuations in brain acetylcholinesterase activity and soluble protein content in Roach (*Rutilus rutilus* L.): A Freshwater fish from Northwest Russia. Comp. Biochem. Physiol. 117(3) 251-257.
- Chyung, M. K. (1977). The fishes of Korea. Il Ji Sa, Seoul, 727 pp., 328 pls., 142 color pls.
- Colborn, T., & Clement, C. (1992). Chemically-induced alterations in sexual and functional development: the wildlife/human connection. Princeton Scientific Pub. Co..

- Colborn T, Dumanoski D, Myers JP(1996) Our Stolen Future. The Spieler Agency.
- Dethloff, G.M., Bailey, H.C., and Maier, K.J.: Effects of dissolved copper on select hematological, biochemical, and immunological parameters of wild rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Arch. Environ. Contam. Toxicol., 40: 371–380.
- E. Galembeck, A. Alonso, N.C. Meirelles. Effects of polyethylene chain lenght on erythrocyte hemolysis induced by poly [oxyethylene (n) nonylphenol] nonionic surfactants. Chem. Biol. Interact., 113 (2) (1998), pp. 91 - 103
- Hikima, S., Hikima, J. I., Rojtinnakorn, J., Hirono, I., & Aoki, T. (2003). Characterization and function of kuruma shrimp lysozyme possessing lytic activity against *Vibrio* species. Gene, 316, 187–195.
- Hur, J.W., Chang, Y.J., Lim, H.K., Lee, B.K. (2001) Stress responses of cultured fishes elicited by water level reduction in rearing tank and fish transference during selection process. J. Korean. Fish. Soc. 34, 465–472.
- Kim, H.G., Park, K.N., Cho, Y.W., Park, E.H., Fuchs, J.A., Lim, C.J. (2001) Characterization and regulation of glutathione S-transferase gene from *Schizosaccharomyces pombe*. Biochemica et Biophysica Acta 1520, 179–185.
- Kim, J. H., & Kang, J. C. (2015). Oxidative stress, neurotoxicity, and non-specific immune responses in juvenile red sea bream, *Pagrus major*, exposed to different waterborne selenium concentrations. Chemosphere, 135, 46–52.

- Kitajima, C. and Y. Tsukashima, 1983. Morphology, growth and low temperature and low salinity tolerance of sparid hybrids (*Sparus sarba* , *Acanthopagrus schlegeli*). Jap. J. Ichthyol., 30, 275 – 283.
- L. Bolis, P. D'Angelo, G. Delfino. Action of some anionic and non-ionic detergents on human erythrocyte membranes. Boll. Soc. Ital. Biol. Sper., 53 (20) (1977), pp. 1755 - 1761
- Leatherland J (1992) Endocrine and reproductive function in Great Lakes salmon. In; Colborn T, Clement C (eds) Chemically Induced Alterations in Sexual and Functional Development. Princeton Scientific Pub., Princeton, pp. 129-145
- Manzo, L., Castoldia, A.F., Coccinia, T., Rossia, A.D., Nicoteraa, P., Costaa, L.G. (1995) Mechanisms of neurotoxicity: applications to human biomonitoring. Toxicology Letters 77(1-3), 63-72.
- Matozzo, V., & Ballarin, L. (2011). In vitro effects of nonylphenol on functional responses of haemocytes of the colonial ascidian *Botryllus schlosseri*. Marine pollution bulletin, 62(10), 2042-2046.
- M. Cronin, I.M. Davies, A. Newton, J.M. Pirie, G. Topping, S. Swan. Metal concentrations in deep sea fish from the North Atlantic. Marine Environmental Research, 45 (1998), pp. 225 - 238
- Misra, S., Niyogi, S. (2009) Selenite causes cytotoxicity in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) hepatocytes by inducing oxidative stress. Toxicology in Vitro 23, 1249-1258.

- Modesto, K.A., Martinez, C.B.R. (2010) Roundup causes oxidative stress in liver and inhibits acetylcholinesterase in muscle and brain of the fish *Prochilodus lineatus*. Chemosphere 78, 294-299.
- Nagasawa, T., Somamoto, T., & Nakao, M. (2015). Carp thrombocyte phagocytosis requires activation factors secreted from other leukocytes. Developmental & Comparative Immunology, 52(2), 107-111.
- Nagler, J.J., Ruby, S.M., Idler, D.R. and So, Y.P. 1986. Serum phosphoprotein phosphorus and calcium levels as reproductive indicators of vitellogenin in highly vitellogenic mature female and estradiol-injected immature rainbow trout (*Salmo gairdneri*). Can. J.
- Nakahara, H., & Hutaki, S. (1998). The Fear of Endocrine Disruptor. Kanki Pub. Co.
- Nordberg, J., Arnér, E.S.J. (2001) Reactive oxygen species, antioxidants, and the mammalian thioredoxin system. Free Radical Biology & Medicine 31(11), 1287-1312.
- Peña-Llopis, S., Peña, J.B., Sancho, E., Fernandez-Vega, C., Ferrando, M.D. (2001) Glutathione-dependent resistance of the European eel *Anguilla anguilla* to the herbicide molinate. Chemosphere 45, 671-681.
- Pickering, A. D., Pottinger, T. G., & Christie, P. (1982). Recovery of the brown trout, *Salmo trutta* L., from acute handling stress: a time course study. Journal of Fish Biology, 20(2), 229-244.

- Risjani, Y., Couteau, J., & Minier, C. (2014). Cellular immune responses and phagocytic activity of fishes exposed to pollution of volcano mud. *Marine environmental research*, 96, 73-80.
- Schwaiger, J., Spieser, O. H., Bauer, C., Ferling, H., Mallow, U., Kalbfus, W., & Negele, R. D. (2000). Chronic toxicity of nonylphenol and ethinylestradiol: haematological and histopathological effects in juvenile Common carp (*Cyprinus carpio*). *Aquatic toxicology*, 51(1), 69-78.
- Secombes, C.J., Tahir, A., Stagg, R. (1997) Immunocompetence in flatfish as a measure of the biological effects of exposure to sewage sludge or hydrocarbon contaminated sediments. *Ecotoxicology*, 281-292.
- Small, B. C. (2004). Effect of isoeugenol sedation on plasma cortisol, glucose, and lactate dynamics in channel catfish *Ictalurus punctatus* exposed to three stressors. *Aquaculture*, 238(1), 469-481.
- Soares, A., Guieysse, B., Jefferson, B., Cartmell, E., & Lester, J. N. (2008). Nonylphenol in the environment: a critical review on occurrence, fate, toxicity and treatment in wastewaters. *Environment international*, 34(7), 1033-1049.
- Specker, J. L., & Schreck, C. B. (1980). Stress responses to transportation and fitness for marine survival in coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) smolts. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 37(5), 765-769.

- Tinsley, D. 1985. A comparison of plasma levels of phosphoprotein, total protein and total calcium as indirect indices of exogenous vitellogenesis in the crucian carp, *Carassius carassius* (L.) Comp. Biochem. Physiol. 80B: 913 - 916.
- Waring, C. P., Stagg, R. M., & Poxton, M. G. (1992). The effects of handling on flounder (*Platichthys flesus* L.) and Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). Journal of Fish biology, 41(1), 131-144.
- Waring, C.P., Stagg, R.M., Poxton, M.G. (1996) Physiological responses to handling in the turbot. J. Fish Biol. 48, 161-173.
- W.J. Adams, K.A. Kimerle, J.W. Barnett Jr.. Sediment quality and aquatic life assessment. Environmental Science and Technology, 26 (1992), pp. 1865 - 1875
- Wu, M., Xu, H., Shen, Y., Qiu, W., & Yang, M. (2011). Oxidative stress in zebrafish embryos induced by short term exposure to bisphenol A, nonylphenol, and their mixture. Environmental Toxicology and Chemistry, 30(10), 2335-2341.
- Vaglio, A., Landriscina, C. (1999) Changes in liver enzyme activity in the teleost *Sparus aurata* in response to cadmium intoxication. Ecotoxicology and Environmental Safety 43, 111-116.
- 김수경, 심나영, 이도현, 김대현, & 윤성중. (2013). 경남 거제해역에 서식하는 감성돔 (*Acanthopagrus schlegeli*) 의 연간 RNA/DNA 및 혈액학적 특성 변화. 한국환경과학회지, 22(1), 37-45.

국립수산물과학원. 2007. 감성돔 종묘생산. 국립수산물과학원 남해수산물연구소 여수수산
종묘시험장

국립환경연구원. 1998. 내분비장애물질이란? 국립환경연구원 환경위해서연구부 환
경위해성 연구과.

민병화, 노경언, 정민환, 강덕영, 최철영, 방인철, & 장영진. (2006). 담수 및 해수
사육 감성돔, *Acanthopagrus schlegeli* 의 생리활성과성장에 미치는 갑상선 호
르몬의 효과. 한국양식학회지, 19(3), 149-156.

신호선 (1999). 내분비계 장애물질(환경호르몬)의 이해. 과학사상, (29), 169-187.

