



저작자표시-비영리-변경금지 2.0 대한민국

이용자는 아래의 조건을 따르는 경우에 한하여 자유롭게

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

다음과 같은 조건을 따라야 합니다:



저작자표시. 귀하는 원저작자를 표시하여야 합니다.



비영리. 귀하는 이 저작물을 영리 목적으로 이용할 수 없습니다.



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](#)

공 학 석 사 학 위 논 문

참돔 껍질 중 아스타잔틴 분석에
의한 양식산 참돔의 국내산 및
일본산 판별



2022년 2월

부 경 대 학 교 대 학 원

식 품 공 학 과

차 은 지

공 학 석 사 학 위 논 문

참돔 껍질 중 아스타잔틴 분석에
의한 양식산 참돔의 국내산 및
일본산 판별

지도교수 양지영

이 논문을 공학석사 학위논문으로 제출함.

2022년 2월

부 경 대 학 교 대 학 원

식 품 공 학 과

차 은 지

차은지의 공학석사 학위논문을 인준함

2022년 2월 25일



위 원 장 약학박사 김 영 목 (인)

위 원 공학박사 심 길 보 (인)

위 원 농학박사 양 지 영 (인)

목 차

Abstract	iii
I. 서론	1
II. 재료 및 방법	4
1. 재료 및 시약	4
2. 색도 분석	5
3. 아스타잔틴 추출 조건 설정	5
4. 분광학적 방법을 이용한 아스타잔틴 정량분석	8
5. HPLC를 이용한 아스타잔틴 정량분석	8
6. LC/MS를 이용한 아스타잔틴 정성분석	12
7. 국내산과 일본산 참돔의 원산지 모니터링	12
8. 통계 처리	14
III. 결과 및 고찰	15
1. 색도 분석을 이용한 국내산과 일본산 참돔의 분석	15
2. 참돔 껍질의 아스타잔틴 추출 최적 조건	17
3. 분광학적 방법을 이용한 국내산과 일본산 참돔 껍질 추출물의 아스타잔틴 함량 비교	20
4. HPLC를 이용한 국내산과 일본산 참돔 껍질 추출물의 아스타잔 틴 함량 비교	23

5. LC/MS를 이용한 국내산과 일본산 참돔 껍질 추출물의 아스타잔틴 정성분석	25
6. 아스타잔틴 분석을 통한 국내산과 일본산 참돔의 원산지 모니터링	25
7. 분석법에 따른 양식산 참돔의 국내산 및 일본산 비교	29
IV. 요약	33
V. 참고문헌	35



Discrimination of Korean and Japanese Red Seabream (*Pagrus major*) with Cultivation by Astaxanthin Analysis on Its Skin

Eun Ji Cha

Department of Food Science and Technology, The Graduate School
Pukyong National University

Abstract

The purpose of this research was to determine origin of cultivated red seabream by comparing pigment difference in its skin. Skin color of red seabream was affected by light and feed. Wild red seabream skin was red because it lived deep in the water, received less sunlight and ate crustaceans. Cultivated red seabream skin was dark red because it lived shallow area in the water, received a lot of sunlight and ate crustaceans. In order to make cultivated red seabream similar to wild red seabream, sunlight was blocked and feed containing astaxanthin was fed in Japan.

As results of color difference analysis, redness of Japanese red seabream was higher than Korean red seabream. Extraction solvent was selected by extracting using various solvents as acetonitrile, ethyl acetate, methanol, acetone, hexane and ethanol. Extraction temperature was selected by extracting at various temperature as 25°C, 35°C and 45°C. Extraction time was selected by extracting at various time as 15, 30, 60, 120, 180, 240, 300 and 360 minutes. Conditions of extracting at 45°C for 300 minutes using acetone was set. In the spectrophotometric measurement, Korean and Japanese red seabream were 6.46 ± 0.20 µg/mL of skin and 9.24 ± 0.15 µg/mL of skin, respectively. Japanese red seabream was 1.43 times as high as Korean red seabream. In the HPLC analysis, it was confirmed that

astaxanthin content of Japanese red seabream was higher than that of Korean red seabream. Identification of astaxanthin was confirmed in LC/MS analysis. Monitoring was conducted to verify effectiveness of comparing the astaxanthin content of Korean and Japanese red seabream. Astaxanthin content of Korean and Japanese red seabream was $26.31 \pm 3.69 \sim 49.84 \pm 7.12 \mu\text{g/L}$ and $81.59 \pm 10.52 \sim 293.74 \pm 4.33 \mu\text{g/L}$, respectively.



I. 서론

참돔(*Pagrus major*)은 농어목, 도미과, 참돔속에 속하는 온대성 어종으로 (Huh et al., 2006), 체장이 1 m, 무게 8 kg 정도이다. 암컷보다 수컷의 성장이 빠르다고 알려져 있으며(Shin et al., 2008), 한국, 일본, 중국, 대만에 분포한다(Huh et al., 2006). 유어기 때부터 다양한 갑각류, 어류, 다모류 등을 섭이하는 잡식성 어류이며, 수심 10 ~ 200 m 바닥의 기복이 심한 암초 지역에 분포하며, 생산량이 적어 대부분의 횡감과 찜 요리에는 양식산이 소비되고 있다(Shin et al., 2008).

참돔의 국내 양식은 경상남도 통영시, 거제시, 고성군 및 남해군을 중심으로 이루어지고 있으며, 다른 어종보다 성장 속도가 빨라 대량 양식으로 인기가 높다. 참돔의 국내 생산량은 양식 기술 발달과 소비 증가에 따라 2015년 12백만 마리에서 2020년 45백만 마리로 크게 증가하였다(KOSIS, 2020). 수산물의 소비가 해마다 늘어나고 있을 뿐만 아니라 국내산 수산물의 값이 높아짐에 따라 수입 수산물의 양 또한 증가하고 있다(Hwang et al., 2015). 후쿠시마 원전 사태 이후 급격히 감소했던 일본산 수산물 수입량 또한 다시 증가하고 있다. 2020년 6월 돔류의 수입량은 전월 대비 28.9% 늘어난 544톤으로 전년도 동월 대비 45.1% 증가했으며, 일본산 돔류의 대부분은 참돔으로 지속적으로 수입량이 증가하고 있다(KMI, 2020). 이에 따라 국내에서는 일본산 참돔을 국내산 참돔으로 원산지 표시를 위반한 불량식품 사례가 빈번하게 발생하고 있다.

자연산 참돔은 수심이 깊은 곳에서 생활하므로 햇빛의 영향을 적게 받고 다양한 갑각류를 섭이하므로 갑각류가 함유한 아스타잔틴이라는 카로티노이드를 체내에 축적 후 껍질에서 합성되는 특징을 가져 참돔 특유의 붉은빛을

땀다(Kang et al., 2015). 반면, 양식산 참돔은 좁은 곳에 갇혀 지나치게 많은 햇빛을 받고 사료만 섭취하므로 카로티노이드를 충분히 섭취하지 못해 자연산보다 채색이 어둡고 검붉은 색을 띤다. 일본에서 소비량이 많은 양식 어종인 참돔은 시각적 효과로 인해 붉은 참돔이 가격이 높기 때문에, 양식장마다 차광막을 씌워 햇빛을 차단하고 사료로서 아스타잔틴을 함유한 갑각류를 공급하여 참돔 껍질에 붉은 색소를 합성하도록 유도 시킴으로써 참돔 채색을 자연산과 유사한 붉은색으로 유지시킨다(Kurina et al., 2007).

어류의 표피와 지느러미에는 lutein, tunaxanthin, zeaxanthin 등의 xanthophyll류와 astaxanthin이 주요 carotenoid류로 존재해 채색에 영향을 주며(Ha et al., 1993; Kim et al., 2008), 어류의 carotenoid류 색소 침착은 아스타잔틴 공급원, 용량, 주기 및 조성에 의해 영향을 받는다고 알려져 있다(Chatzifotis et al., 2005; Bjerkeng, 2000; Kalinowski et al., 2007; Kim et al., 1999; Tejera et al., 2007). 또한, 참돔 채색의 붉은빛은 사료에 아스타잔틴이 포함되어 있을 때 가능하다고 알려져 있으며(Takashi, 2011), 참돔은 다른 carotenoid류를 아스타잔틴으로 전환할 수 없기 때문에 양어장에서 어류의 표피나 근육의 착색과 어류의 면역력을 높이는 목적으로 아스타잔틴이 사용된다고 알려져 있다(Ha et al., 1993). 참돔의 채색에 미치는 carotenoid류의 영향에 관한 연구는 주로 참돔의 붉은색을 나타나게 하는 아스타잔틴에 관해 이루어져 있다(Fujita et al., 1983; Kurina et al., 2007). 양식 방법의 차이로 인해 국내산 참돔에 비해 일본산 참돔의 채색이 더욱 붉은 편이나 바닷물고기는 기본적으로 주위 환경에 맞춰 채색을 바꾸는 보호색 기능이 있어 물속과 물 밖에서의 차이가 있으므로 육안으로 구분하기에는 객관적 판단에 따라 신뢰하기가 어렵다. 따라서, 정확한 원산지 판별을 위한 방법이 필요할 것으로 판단된다.

현재까지 국내산과 일본산 참돔의 원산지를 구분하는 방법으로는 외형 특

정의 구분, 단백질 마커의 개발(Jeong et al., 2009), 국내산, 일본산 참돔 및 두 계통 간 상반 교배 군들의 AFLP 지문 분석(Lee et al., 2004)이 있으나 국내산과 일본산 참돔 껍질의 색소 성분 비교로 원산지를 구분하는 연구는 이루어지지 않았다.

따라서, 양식산 참돔의 국내산 및 일본산 구분을 위해 참돔 껍질 중 아스타잔틴 함량을 분석하여 원산지 판별 가능성을 제시하고자 하였다. 참돔 시료의 전처리 방법과 아스타잔틴 분석법을 설정하여 아스타잔틴의 함량을 분석하였으며, 이를 바탕으로 시장에서 유통되는 참돔을 모니터링하여 원산지 판별 방법으로서의 가능성을 확인하였다.



II. 재료 및 방법

1. 재료 및 시약

본 연구에 사용된 국내산과 일본산 양식 참돔은 2021년 2월 부산 자갈치 수산시장에서 구입하였다. 시료 각 개체의 길이와 무게는 국내산 참돔의 길이가 평균 37.63 ± 11.14 cm, 무게가 평균 1.07 ± 0.10 kg이었으며, 일본산 참돔의 길이가 평균 49.87 ± 2.88 cm, 무게가 평균 1.90 ± 0.30 kg인 참돔을 사용하였다. 구입한 활어는 아이스박스에 담아서 실험실로 운반하여 실험용 시료로 사용하였으며 신선한 상태에서 뼈를 중심으로 반으로 나누어 등 부분의 껍질을 채취하였다. 이후 동결건조기(Cooling trap HC3110, Bio-medical science Co., Ltd., Seoul, Korea)를 이용하여 -110°C 에서 20 Pa의 압력으로 72시간 건조시켰다. 건조된 시료는 진공 포장하여 실험 사용 전까지 -80°C deep freezer에 냉동 보관하였다.

표준품으로 사용한 아스타잔틴(astaxanthin)은 Sigma사 (Saint Louis, MO, USA)의 제품으로서 순도가 92% 이상인 것을 사용하였다. 아세톤(acetone)은 Sigma사 (Saint Louis, MO, USA)의 제품으로 순도 99.0% 이상을, 아세토니트릴(acetonitrile), 에틸아세테이트(ethyl acetate), 메탄올(methanol), 헥산(hexane), 에탄올(ethanol)은 Junsei사 (Nihonbashi-honcho, Chuo-ku, Tokyo)의 제품으로 모두 HPLC급을 사용하였다. 그 외 모든 시약은 분석시약 급의 제품을 사용하였으며 실험에 사용된 모든 증류수는 3차 증류수를 이용하였다.

2. 색도 분석

국내산과 일본산 참돔 각 10 개체의 색도 분석을 위해 참돔 표피를 채취하기 전 원물 상태로 색차계(RT Series Reflectance Tintometer, Lovibond Co., Amesbury, England)를 이용하여 측정하였다(Kim et al., 2013). Fig. 1와 같이 등 쪽 표피의 중앙을 측정하여 백색도(lightness, L), 적색도(redness, a) 및 황색도(yellowness, b)를 각각 3회 반복하여 평균값으로 나타내었다.

3. 아스타잔틴 추출 조건 설정

아스타잔틴의 추출은 동결건조 후 냉동 보관된 참돔 껍질을 이용하였다. 아스타잔틴 추출 공정 조건을 설정한 문헌의 방법을 변형하여 추출하였으며(Kim et al., 2008; Kim et al., 2019), Fig. 2에 나타내었다. 참돔 껍질의 아스타잔틴을 정량적으로 추출하기 위하여 1 cm 크기로 균일하게 세절한 후 시료 10배수의 용매를 시료가 완전히 잠기도록 한 후, 항온수조에서 150 rpm으로 추출하였고 여과지 No.2 (ADVANTEC, Tokyo, Japan)를 사용하여 여과하였다. 추출 조건 설정을 위해 각각의 용매, 온도, 시간을 적용하여 최대 추출률을 나타내는 조건을 선정하였다. 아스타잔틴 추출을 위한 용매 선정을 위해 아세토니트릴, 에틸아세테이트, 메탄올, 아세톤, 헥산과 에탄올을 사용하였으며, 25℃에서 15분간 각 용매별로 추출하여 최대 추출률을 나타내는 용매를 선정하였다. 아스타잔틴 추출 온도 설정을 위해 앞서 선정된 용매를 사용하여 15분간 25, 35와 45℃에서 추출하여 최대 추출률을 나타내는 온도를 선정하였다. 아스타잔틴 추출 시간 설정을 위해 앞서 선정된 용매와 온도에서 15, 30, 60, 120, 180, 240, 300과 360분간 추출하여 최대 추출률을 나타내는 시간을 선정하였다. 추출 시료는 빛에 노출을 최소화하기 위해 알루미늄



Fig. 1. Location of color difference analysis of red seabream (*Pagrus major*).

(● : measurement point)

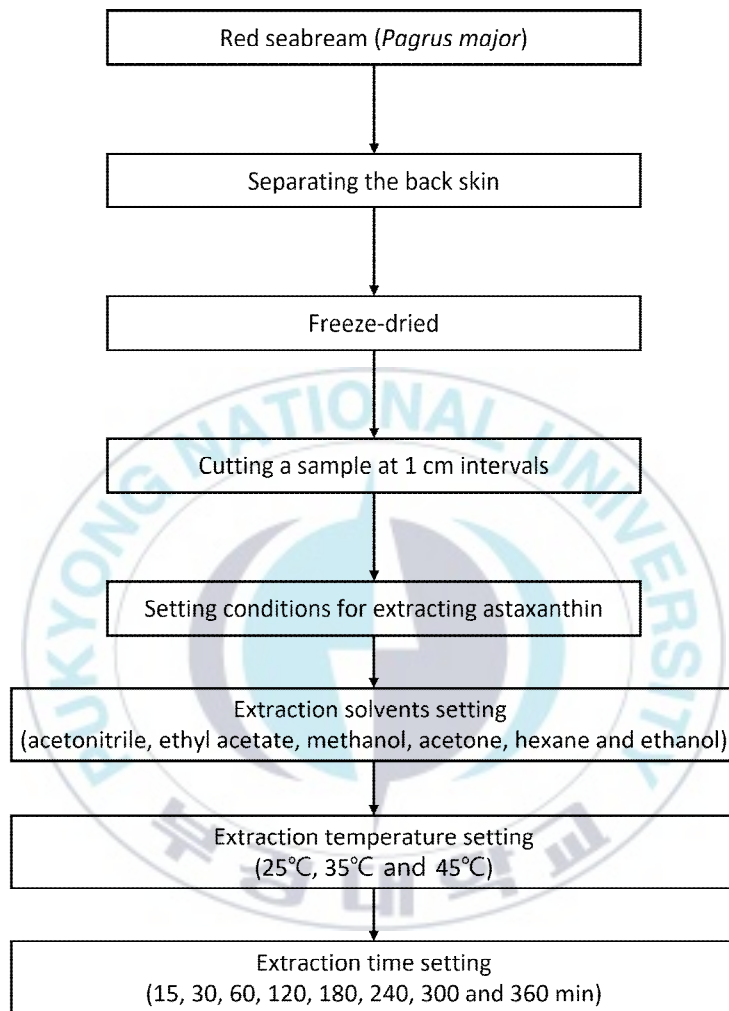


Fig. 2. Process of extracting astaxanthin on skin of red seabream (*Pagrus major*)

호일로 용기를 감싸고 -20℃ 암실에서 냉동 보관하였다.

4. 분광학적 방법을 이용한 아스타잔틴 정량분석

각 조건에서 추출된 시료들은 분광학적 방법을 이용한 아스타잔틴 함량 측정을 위해 UV/visible spectrophotometer (GENESYS 10 UV, Thermo Fisher Scientific Inc., MA., USA)를 이용하여 실온에서 474 nm의 파장에서 흡광도를 측정하여 추출된 아스타잔틴 함량을 정량하였다(Kim et al., 2019). 아스타잔틴 농도는 표준물질인 아스타잔틴을 각각 0, 2.5, 5, 7.5와 10 µg/mL 으로 희석 후 검량곡선을 작성하여 Fig. 3에 나타내었으며 식(1)로 계산하였다.

$$\text{Astaxanthin concentration} \quad 0.215 \times \text{O.D.}_{474 \text{ nm}} - 0.0048 \quad (1)$$

(µg/mL) =

5. HPLC를 이용한 아스타잔틴 정량분석

국내산과 일본산 참돔 껍질 추출물의 아스타잔틴 함량 분석의 정확성을 위해 high-performance liquid chromatography (HPLC)를 이용하여 분석한 조건은 Table 1에 나타내었다(Kim et al., 2018). 분석 전 모든 샘플은 0.45 µm syringe filter (13HP045AN, ADVANTEC, Tokyo, Japan)를 이용해 여과하여 사용하였다. 표준물질인 아스타잔틴은 각각 100, 200, 400과 800 µg/L의 농도로 제조하고 HPLC로 분석한 후 얻어진 피크 면적과 농도를 이용하여 상관계수(R²)가 0.996인 검량선을 작성하였으며 Fig. 4에 나타내었다.

HPLC system (U-3000, Thermo Fisher Scientific Inc., MA., USA)을 사

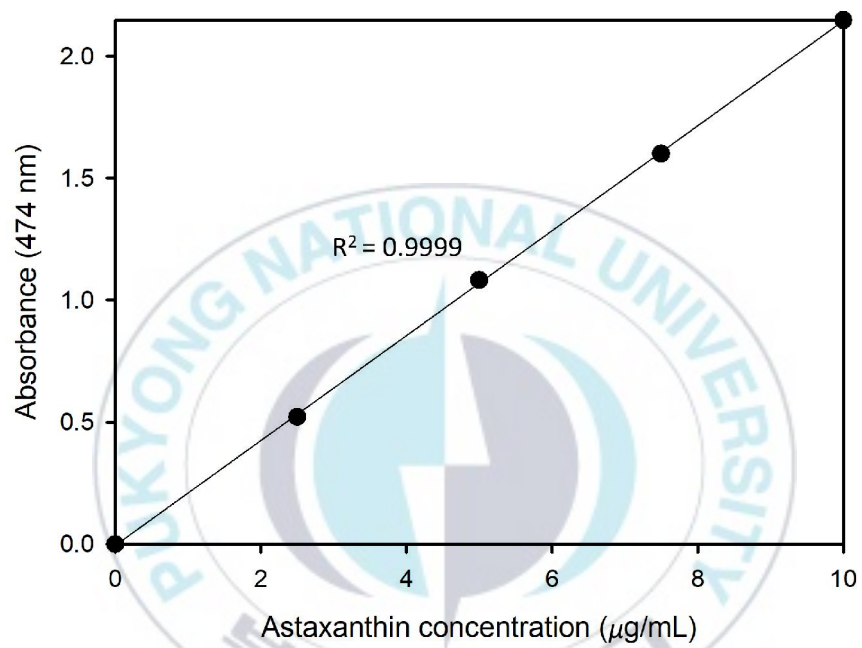


Fig. 3. Standard calibration curve for the determination of astaxanthin by spectrophotometric method.

Table 1. Condition for HPLC analysis of astaxanthin concentration

Conditions		
Column	Model	Apollo C18
	Size	4.6 × 250 mm
	Particle size	5 μm
Analysis Condition	Flow rate	1 mL/min
	Oven temp.	40°C
	UV detector	474 nm
	Injection Quantity	20 μL

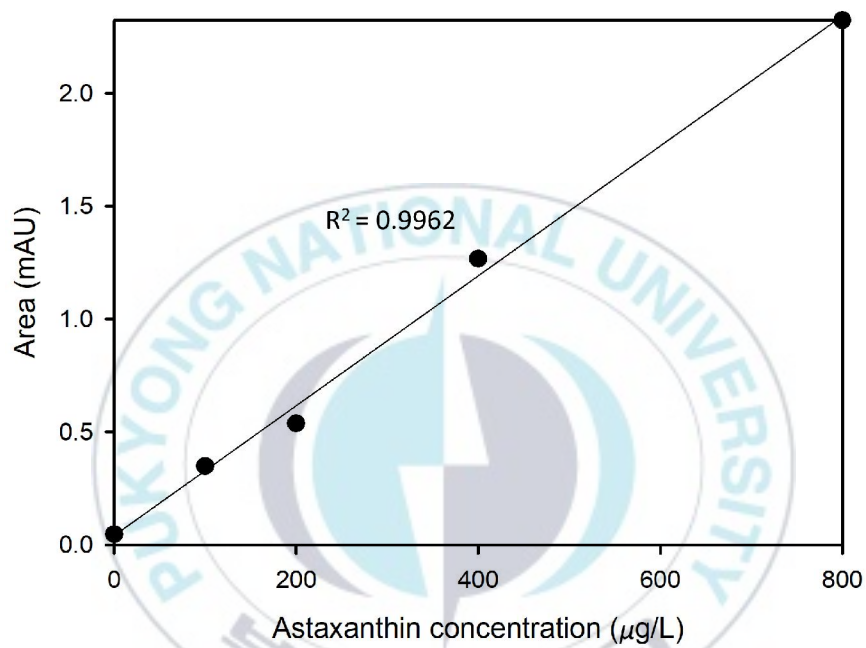


Fig. 4. Standard calibration curve for the determination of astaxanthin by HPLC method.

용하여 아스타잔틴 분석을 위한 컬럼은 Apollo C18 (5 μ m, 4.6 $\times$ 250 mm, Alltech Associates, IL, USA)을 사용하였으며, 검출기는 UV 검출기 (474 nm)를 사용하여 유속 1 mL/min로 하고 컬럼 오븐 온도는 40°C에서 methanol/ *tert*-butyl methyl ether (75:25, v/v)를 이동상으로 하여 isocratic 조건에서 분석하였다.

6. LC/MS를 이용한 아스타잔틴 정성분석

국내산과 일본산 참돔 껍질 추출물의 아스타잔틴 정성분석을 위해 LC/mass spectrometry (MS)를 이용하여 분석한 조건은 Table 2에 나타내었다(Choi et al., 2011). 아세토니트릴을 사용하여 45도에서 300분간 추출된 시료는 여과지 No.2 (ADVANTEC, Tokyo, Japan)를 사용하여 여과 후 -20°C에서 냉동 보관하였으며, 분석 전 모든 샘플은 0.20 μ m syringe filter (13HP020AN, ADVANTEC, Tokyo, Japan)를 이용해 여과하여 사용하였다. 샘플은 liquid chromatography/quadrupole time-of-flight (LC/Q-TOF)를 사용하여 분석하였다. Mass spectrometer는 maxis-HD (Bruker, Karlsruhe, Germany)를 사용하였으며 Waters BEH C18 (1.7 μ m, 2.1 $\times$ 100 mm, Milford, USA) 컬럼을 사용하였다. 이동상은 ACN/MeOH(95:5, v/v)을 0.2 mL/min 유속으로 하여 isocratic 조건에서 분석하였다. Mass spectrometer의 분석조건은 mass range : 50-1600 m/z, ion polarity : positive, ionization mode : APCI, nebulizer pressure : 2 bar, dry gas flow : 10 L/min, capillary voltage : 4500 V로 측정하였다.

7. 국내산과 일본산 참돔의 원산지 모니터링

Table 2. LC/MS condition for analysis of astaxanthin concentration in red seabream extracts

Conditions			
Apparatus	Waters acquity UPLC I class		
Column	Waters BEH C18 (1.7 μ m, 2.1 $\times$ 100 mm)		
Mobile phase	ACN:MeOH (95:5)		
Oven temp.	40°C		
Flow rate	0.2 mL/min		
Injection vol.	5 μ L		
	Bruker, maxis-HD		
Mass spectrometry	Ionization mode	APCI	Mass range 50–1600 m/z
	Ion polarity	positive	Nebulizer pressure 2 bar
	Dry gas flow	10 L/min	Capillary voltage 4500 V

설정된 아스타잔틴 추출 방법을 통한 HPLC 분석으로 국내산과 일본산 참돔의 아스타잔틴 함량을 비교하기 위해 시중에 유통되고 있는 양식산 참돔의 모니터링을 실시하였다. 국내산과 일본산 양식 참돔은 2021년 6월 부산 자갈치 시장에서 각 10개체를 무작위로 구입하였다. 시료 각 개체의 길이와 무게는 국내산 참돔의 길이가 평균 41.48 ± 4.50 cm, 무게가 평균 1.10 ± 0.36 kg이었으며, 일본산 참돔의 길이가 평균 45.23 ± 1.86 cm, 무게가 평균 1.46 ± 0.18 kg이었다. 설정된 아스타잔틴 추출 조건으로 추출하였으며 HPLC 분석을 통해 모니터링을 실시하였다.

8. 통계 처리

모든 분석은 3회 반복 수행되었다. 실험 결과의 통계 처리는 Minitab (M19) 프로그램을 이용 하였으며, one way ANOVA 분석을 통해 95% 신뢰 구간에서 유의적인 차이를 확인하였다.

Ⅲ. 결과 및 고찰

1. 색도 분석을 이용한 국내산과 일본산 참돔의 분석

국내산과 일본산 참돔의 색도를 분석한 결과는 Table 3과 같았다. 백색도(lightness, L)는 국내산 참돔이 64.86 ± 2.20 , 일본산 참돔이 71.09 ± 4.95 로 국내산에 비해 일본산의 값이 높았으며, 적색도(redness, a)는 국내산 참돔이 6.70 ± 2.52 , 일본산 참돔이 12.57 ± 2.80 로 국내산에 비해 일본산의 값이 높았다. 황색도(yellowness, b)는 국내산 참돔이 19.28 ± 2.80 , 일본산 참돔이 19.71 ± 4.46 로 국내산과 일본산 값의 차이가 크지 않았다. 백색도와 적색도는 국내산 참돔과 일본산 참돔의 값이 유의적으로 차이가 있음을 확인할 수 있었으며, 특히 적색도 값의 경우 국내산 참돔보다 일본산 참돔의 값이 약 2배 높아 일본산 참돔의 채색이 더 붉은 것으로 확인되었다.

어류 표피 색에 대한 carotenoid의 영향은 주로 아스타잔틴에 관하여 연구되어지고 있으며, seabream류는 lutein이나 carotene이 체내에서 다른 carotenoid로 전환되지 않는 것으로 알려져 있다(Gupta et al., 2007). 특히, 표피의 색이 붉을수록 소비자 기호도가 높아지고 표피색이 상품성을 나타내는 척도가 되는 참돔은 주로 아스타잔틴을 이용해 양식된 참돔의 채색 변화나 성분 차이가 표피 색에 미치는 영향에 관하여 보고되어 있다(Fujita et al., 1983; Kurina et al., 2007). 아스타잔틴 6주 투여 후 참돔 치어의 표피색 변화에 관한 연구를 보면 아스타잔틴 투여구에서 뚜렷한 붉은색을 확인할 수 있다고 알려져 있다(Kang et al., 2015). 카로티노이드 보충제가 참돔의 껍질 색소에 미치는 영향을 평가한 연구에 따르면 새우 껍질 사료가 함유된 아스

Table 3. Comparison of the color difference on the skin of cultured red seabream (*Pagrus major*) in Korea and Japan

No.	Red seabream					
	Korea			Japan		
	L	a	b	L	a	b
1	69.79	+5.16	+18.13	63.18	+11.64	+20.63
2	65.72	+6.96	+18.21	67.59	+14.17	+24.66
3	61.73	+3.48	+15.04	70.72	+16.76	+22.43
4	65.19	+8.70	+22.48	68.52	+9.24	+20.53
5	64.02	+10.32	+20.30	71.45	+10.33	+20.15
6	65.93	+8.69	+26.87	65.50	+7.39	+16.48
7	60.29	+4.64	+16.83	77.22	+14.03	+15.03
8	67.16	+7.12	+17.19	75.81	+15.83	+16.94
9	65.96	+9.45	+27.93	71.29	+13.78	+18.62
10	64.77	+2.47	+14.14	79.60	+12.53	+17.34
Minimum	60.93	+2.47	+14.14	63.18	+7.39	+15.03
Maximum	69.79	+10.32	+27.93	79.60	+16.76	+24.66
mean $\pm$ SD	64.86 $\pm 2.20^a$	6.70 $\pm 2.52^a$	19.71 $\pm 4.46^a$	71.09 $\pm 4.95^b$	12.57 $\pm 2.80^b$	19.28 $\pm 2.80^a$

타잔틴을 공급받은 참돔의 적색도가 더 증가하였다(Kalinowski et al., 2005). 본 실험에서는 국내산 참돔에 비해 일본산 참돔 표피색의 적색도가 높은 것을 색도분석을 통하여 확인하였다. 이는 일본에서 참돔 양식 시 양식장에 차광막을 씌워 빛을 차단하고 아스타잔틴을 함유한 사료를 섭이시켜 껍질에 합성하도록 유도하는 양식 방법을 사용해 참돔의 채색을 붉게 유지시킨다고 알려져 있으므로 이에 따라 일본산 참돔 표피색의 아스타잔틴 착색 효과에 의한 것으로 생각되어진다(Kurina et al., 2007).

2. 참돔 껍질의 아스타잔틴 추출 최적 조건

국내산과 일본산 참돔 껍질의 추출 조건을 설정하기 위해 추출 용매, 추출 온도, 추출 시간별로 분석한 결과를 Fig. 5 ~ 7에 나타내었다. 다양한 용매가 추출에 미치는 영향을 분석하기 위해 아세토니트릴, 에틸아세테이트, 메탄올, 아세톤, 헥산과 에탄올을 사용하여 25℃에서 15분간 추출을 진행하였다. Fig. 5와 같이 아세톤, 에틸아세테이트, 헥산을 용매로 사용하였을 때 아세토니트릴, 메탄올, 에탄올보다 높은 추출률 보였으며 아세톤을 사용한 추출에서 국내산과 일본산 참돔 각각 최고 농도인 $2.14 \pm 0.05 \mu\text{g/mL}$ 와 $2.96 \pm 0.12 \mu\text{g/mL}$ 가 추출되었다. 이는 기존 문헌 보고와 유사한 결과로 아스타잔틴의 추출에 미치는 용매의 영향에 있어서 아세톤을 이용하였을 때 가장 높은 효율을 보이는 것으로 보고되고 있다(Kim et al., 2018). 따라서 아스타잔틴 용해성이 가장 높은 아세톤을 추출 용매로 선정하였다.

추출 온도가 아스타잔틴 추출에 미치는 영향을 분석하기 위해 25℃, 35℃와 45℃에서 앞서 선정한 용매인 아세톤을 사용하여 15분간 추출을 진행하였다. 아세톤의 끓는점이 56℃인 점을 고려하여 과도한 용매 증발을 방지하기 위해 추출 온도를 최고 45℃로 설정하였다. Fig. 6에 보는 바와 같이 아스타

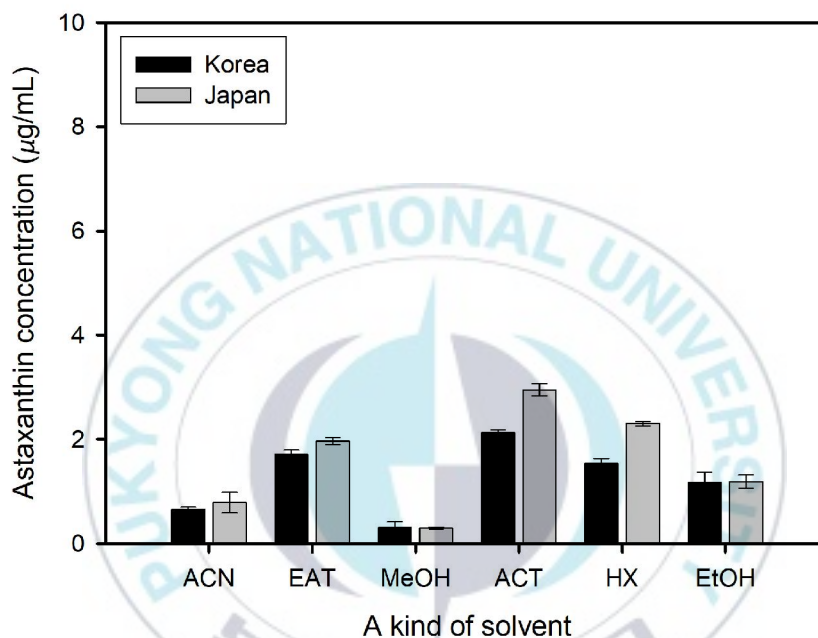


Fig. 5. Effect of extraction solvents on astaxanthin concentration in skin of cultured red seabream (*Pagrus major*) in Korea and Japan.

(ACN, acetonitrile; EAT, ethyl acetate; MeOH, methanol; ACT, acetone; HX, hexane; EtOH, ethanol)

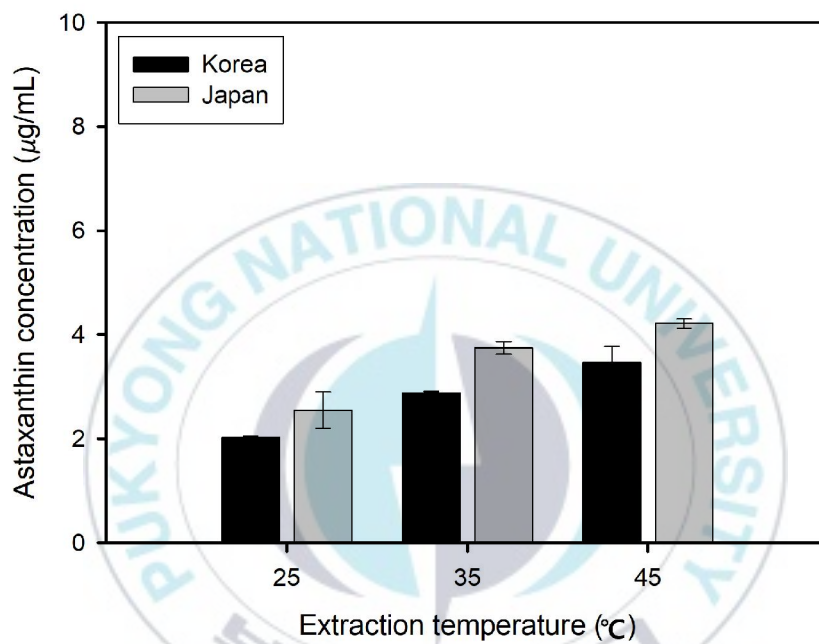


Fig. 6. Effect of extraction temperature on astaxanthin concentration in skin of cultured red seabream (*Pagrus major*) in Korea and Japan.

잔틴의 추출에 있어 온도 의존성이 큰 것으로 확인되었으며, 45℃에서 국내산과 일본산 각각 최고 농도인 $3.47 \pm 0.30 \mu\text{g/mL}$ 와 $4.22 \pm 0.09 \mu\text{g/mL}$ 가 추출되었다. 추출 온도가 아스타잔틴 추출에 미치는 영향을 평가한 기존 연구에 의하면 온도가 증가함에 따라 아스타잔틴의 추출농도가 증가하는 경향을 보이다 50℃ 초과에서는 증가폭이 감소하는 경향을 보여 아스타잔틴의 안정성이 감소하여 추출농도가 감소한다고 알려져 있다(Kim et al., 2019). 따라서 45℃를 최적 추출 온도로 선정하였다.

추출 시간이 아스타잔틴 추출에 미치는 영향을 분석하기 위해 15, 30, 60, 120, 180, 240, 300과 360분에서 앞서 선정한 조건인 아세톤을 사용하여 45℃에서 추출을 진행하였다. Fig. 7와 같이 추출 시간이 증가할수록 아스타잔틴 함량이 비례하여 증가하는 경향을 나타내었으며, 300분 이상에서는 감소하는 경향을 보였다. 추출 시간 300분에서 국내산과 일본산 각각 최고 농도인 $6.67 \pm 0.03 \mu\text{g/mL}$ 와 $9.24 \pm 0.11 \mu\text{g/mL}$ 가 추출되었으므로 300분을 최적 추출 시간으로 선정하였다.

다양한 추출 용매, 온도, 시간을 사용해 순차적으로 추출을 진행하였으며, 가장 추출률이 높은 아세톤을 사용하여 45℃에서 300분으로 추출하는 조건을 설정하였다.

3. 분광학적 방법을 이용한 국내산과 일본산 참돔 껍질 추출물의 아스타잔틴 함량 비교

아세톤을 추출 용매로 사용하여 45℃에서 300분간 국내산과 일본산 참돔 껍질을 추출한 시료를 분광학적 방법으로 아스타잔틴 함량을 비교한 결과를 Fig. 8에 나타내었다. 국내산 참돔의 아스타잔틴 함량은 최소값 $6.14 \mu\text{g/mL}$, 최대값 $6.73 \mu\text{g/mL}$ 로 평균 $6.46 \pm 0.20 \mu\text{g/mL}$ 이었으며, 일본산 참돔의 아스타

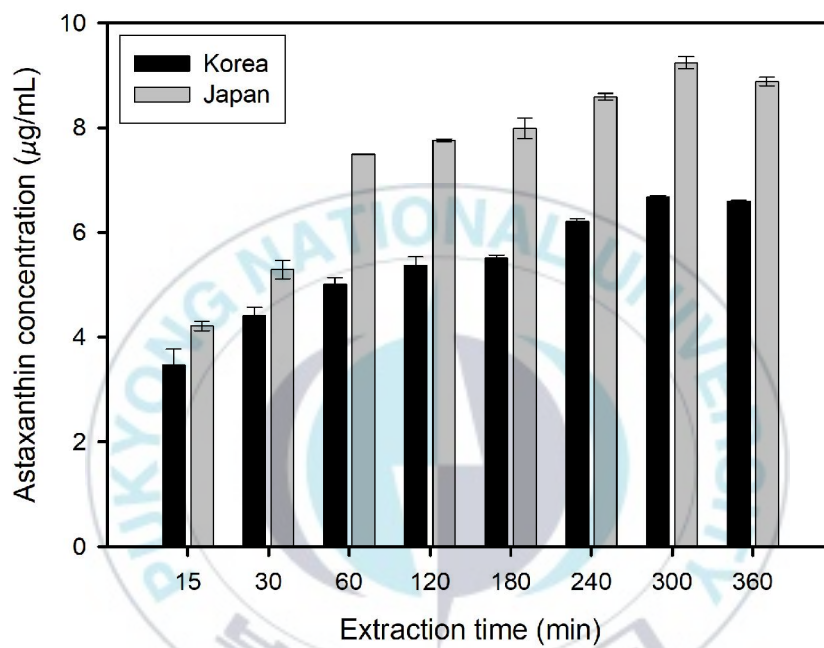


Fig. 7. Effect of extraction time on astaxanthin concentration in skin of cultured red seabream (*Pagrus major*) in Korea and Japan.

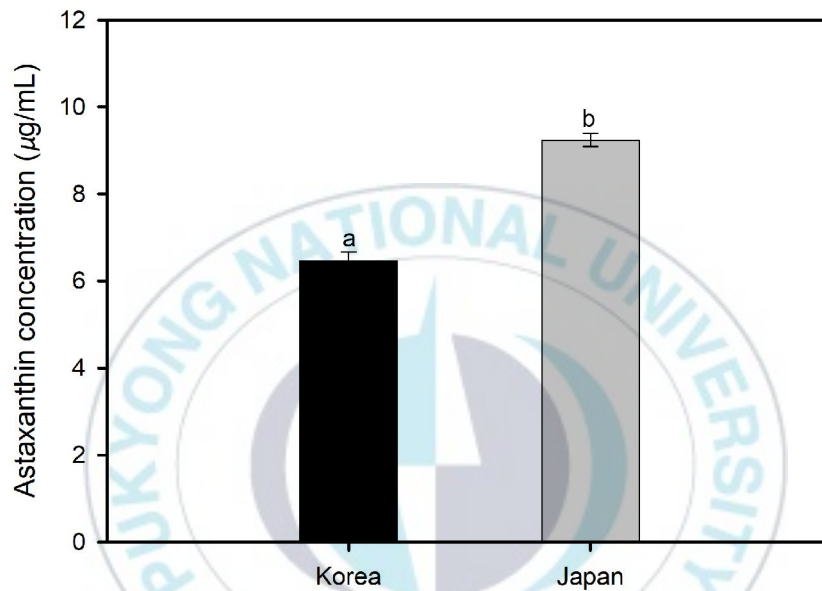


Fig. 8. Comparison of astaxanthin concentration in skin of cultured red seabream (*Pagrus major*) in Korea and Japan by spectrophotometric method.

잔틴 함량은 최소값 8.98 $\mu\text{g/mL}$, 최대값 9.57 $\mu\text{g/mL}$ 로 평균 $9.24 \pm 0.15 \mu\text{g/mL}$ 으로 나타났다. 일본산 참돔의 아스타잔틴 함량이 국내산 참돔의 아스타잔틴 함량에 비해 약 1.43배 높았으며 국내산과 일본산 참돔의 아스타잔틴 함량이 유의적으로 차이가 있음을 확인하였다.

아스타잔틴을 함유한 새우 껍질 공급원이 적돔의 껍질 색소 침착에 미치는 영향에 관한 연구에 따르면 공급 시간이 증가함에 따라 적돔 표피의 적색도가 증가하였으며(Kalinowski et al., 2007), 아스타잔틴 공급이 참돔 껍질의 색소 침착에 미치는 영향에 관한 연구에 따르면 아스타잔틴을 보충한 참돔에서의 채색 개선이 확인되었다(ITO et al., 1986). 일본의 경우 참돔 양식 시 아스타잔틴을 함유한 사료를 섭이시키고, 빛의 노출을 최소화하여 참돔의 붉은빛을 유지시키기 때문에 국내산 참돔보다 일본산 참돔의 아스타잔틴 함량이 높게 나타난 것으로 판단되었다(Kurina et al., 2007).

4. HPLC를 이용한 국내산과 일본산 참돔 껍질 추출물의 아스타잔틴 함량 비교

국내산과 일본산 참돔 껍질 추출물의 아스타잔틴 함량 분석의 정확성을 위해 HPLC 분석한 결과를 Table 4에 나타내었다. 표준물질인 아스타잔틴은 체류시간 2.92 min에서 피크가 검출되었다. 아세톤을 추출 용매로 사용하여 45°C에서 300분으로 추출한 시료를 분석한 결과 국내산 참돔의 아스타잔틴 함량은 $39.62 \pm 5.83 \mu\text{g/L}$, 일본산 참돔의 아스타잔틴 함량은 $91.64 \pm 11.84 \mu\text{g/L}$ 이었다. 국내산 참돔에 비해 일본산 참돔 추출물의 아스타잔틴 함량이 약 2.31배 높았으며 유의적으로 차이가 있음을 확인할 수 있었다.

카로티노이드 공급원이 양식 적돔의 껍질 색에 미치는 영향에 관한 연구에 따르면 카로티노이드류 중 아스타잔틴의 공급이 적돔의 붉은 채색에 가장 큰

Table 4. Astaxanthin concentration in skin of cultured red seabream (*Pagrus major*) in Korea and Japan using HPLC (mean $\pm$ SD)

Astaxanthin concentration ($\mu\text{g/L}$)	
Korea	Japan
39.62 $\pm$ 5.83 ^a	91.64 $\pm$ 11.84 ^b

영향을 준다고 나타났으며(Chatzifotis et al., 2005), 아스타잔틴 공급원이 참돔의 껍질 색소에 미치는 영향에 관한 연구에 따르면 12주 동안 아스타잔틴 공급원으로 사료를 섭이한 참돔은 대조군의 아스타잔틴 함량인 2.04 mg/kg 보다 높은 12.7 mg/kg으로 아스타잔틴 함량이 더 높은 것으로 나타났다(Kurnia et al., 2007). 일본산 참돔의 경우 껍질에 아스타잔틴을 합성시키도록 유도하는 양식 방법을 사용하기 때문에 국내산 참돔의 아스타잔틴 함량에 비해 일본산 참돔의 아스타잔틴 함량이 높은 것으로 판단되었다(Kurina et al., 2007). 국내산 및 일본산 참돔 껍질 추출물의 HPLC 분석을 통해 국내산과 일본산이 유의적으로 차이가 나는 것을 확인하였다.

5. LC/MS를 이용한 국내산과 일본산 참돔 껍질 추출물의 아스타잔틴 정성분석

국내산과 일본산 참돔 껍질 추출물 중 아스타잔틴의 LC/MS 정성분석 결과를 Fig. 9 ~ 11에 나타내었다. 표준물질인 아스타잔틴은 체류시간 2.0 min에 597.3938 m/z이었으므로 ion formular가 $C_{40}H_{53}O_4$ 로 나타났다. 시료 중 국내산 참돔 추출물과 일본산 참돔 추출물 모두 체류시간 2.1 min에 597.3938 m/z을 나타내었으므로 astaxanthin으로 동정 되었음을 확인하였다. 검출 감도가 낮았으나 체류시간과 질량 값을 비교하였을 때, 국내산과 일본산 참돔 추출물에 astaxanthin이 함유되어 있다고 볼 수 있었다. 참돔은 사료로 섭이한 아스타잔틴을 근육으로 축적하지 않고 껍질에 합성하는 대사과정을 거치는 것으로 알려져 있으며(Kurnia et al., 2007), 참돔의 채색에 미치는 carotenoid의 영향에 관한 연구는 주로 참돔의 붉은색을 나타나게 하는 아스타잔틴에 관해 이루어져 있다(Fujita et al., 1983; Ha et al., 1993; ITO et al., 1986). 이는 본 연구와 비슷한 양상을 나타냈으며 양식 참돔 표피 색의

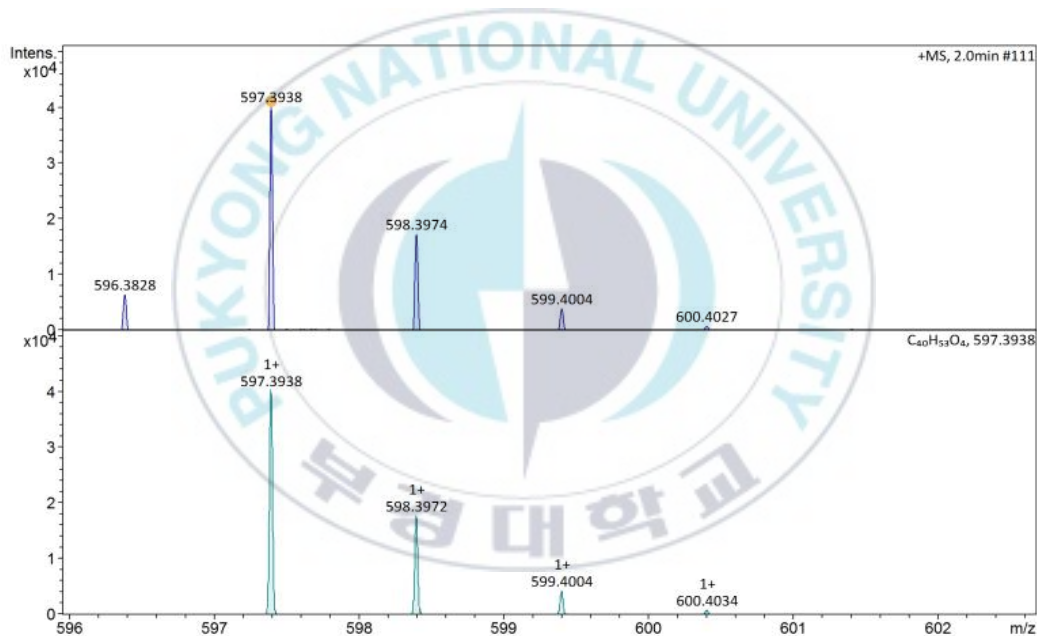
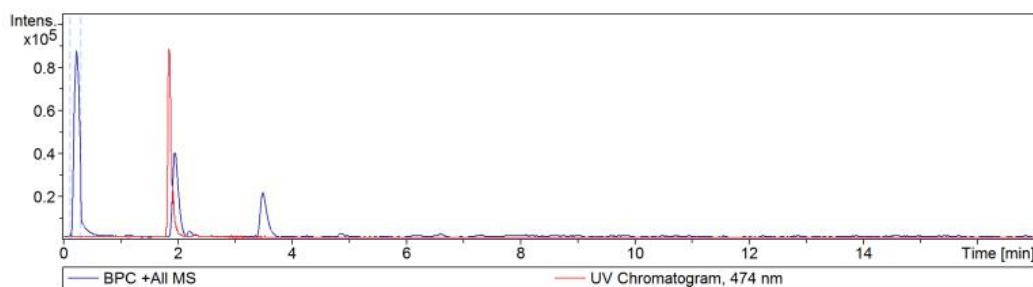


Fig. 9. Mass spectrum of astaxanthin as standard using LC/MS.

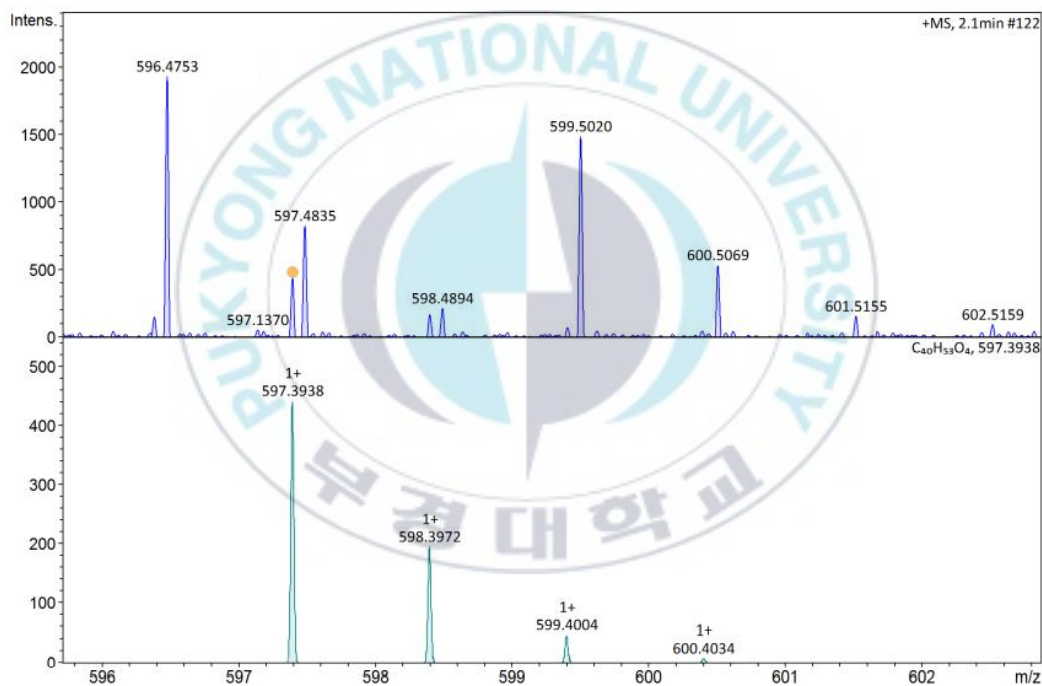
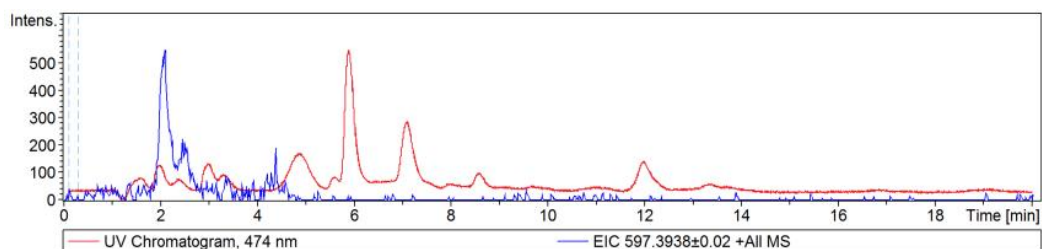


Fig. 10. Mass spectrum of Korean red seabream (*Pagrus major*) extract using LC/MS.

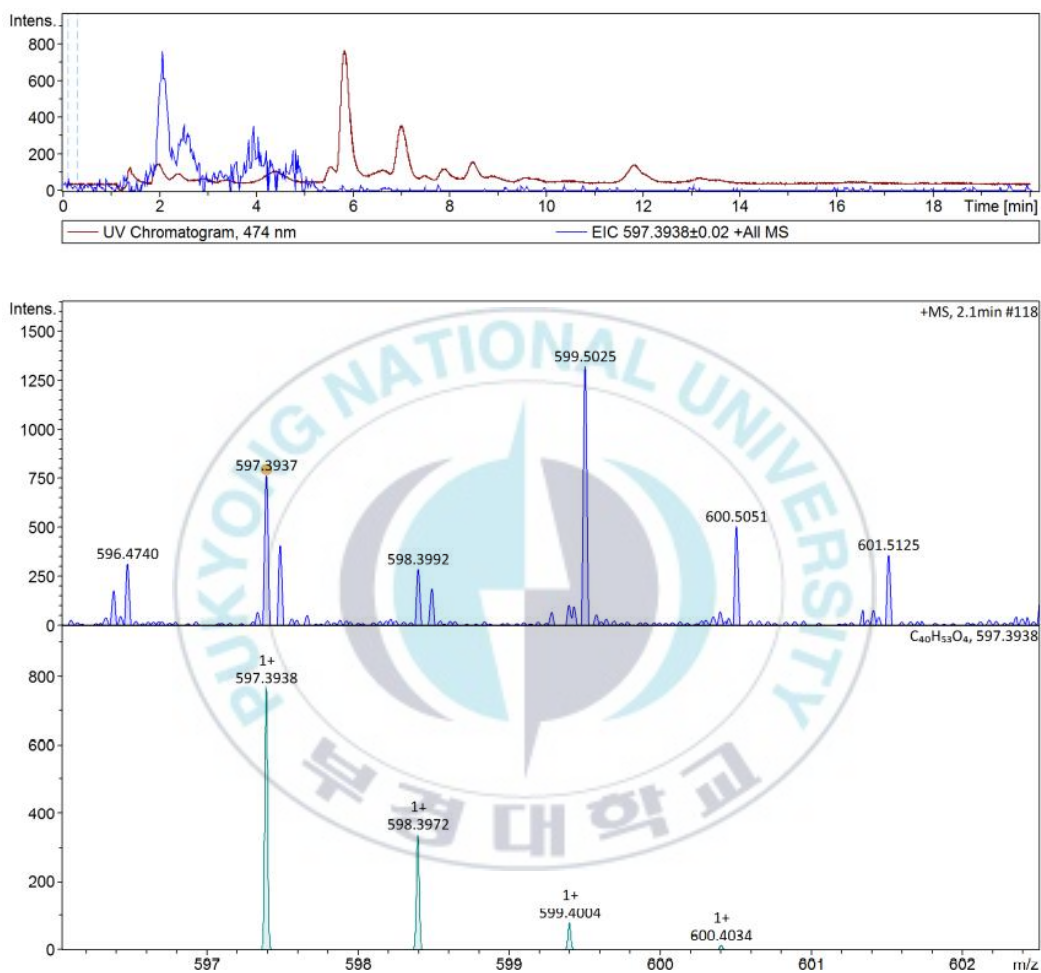


Fig. 11. Mass spectrum of Japanese red seabream (*Pagrus major*) extract using LC/MS.

차이가 아스타잔틴에 기인한다는 것을 알 수 있었다.

6. 아스타잔틴 분석을 통한 국내산과 일본산 참돔의 원산지 모니터링

양식산 참돔의 국내산 및 일본산 시료에 대해 HPLC 분석에 의한 모니터링 결과는 Table 5에 나타내었다. 국내산 참돔의 아스타잔틴 함량은 최소값이 $26.31 \pm 3.69 \mu\text{g/L}$, 최대값이 $49.84 \pm 7.12 \mu\text{g/L}$ 였으며, 일본산 참돔의 아스타잔틴 함량은 최소값이 $81.59 \pm 10.52 \mu\text{g/L}$, 최대값이 $293.74 \pm 4.33 \mu\text{g/L}$ 로 나타났다. 아스타잔틴 함량의 평균값은 국내산이 $38.94 \pm 6.61 \mu\text{g/L}$, 일본산이 $157.27 \pm 69.32 \mu\text{g/L}$ 으로 국내산과 일본산의 아스타잔틴 함량이 유의적으로 구분되는 것을 확인하였다.

양식산 참돔의 국내산 및 일본산은 양식 방법의 차이로 인해 일본산 참돔의 채색이 더욱 붉은 편이나 육안으로 구분하기에는 객관적인 판단에 따라 신뢰하기가 어렵다. 따라서 본 실험에서는 시중에 유통 및 판매되고 있는 양식산 참돔의 국내산 및 일본산 껍질의 아스타잔틴 함량을 분석함으로써 원산지 판별에 적합함을 확인하였다.

7. 분석법에 따른 양식산 참돔의 국내산 및 일본산 비교

색도 측정, 분광학적 분석과 HPLC 분석을 통해 양식산 참돔의 국내산 및 일본산을 비교한 결과를 Table 6에 나타내었다. 색도 측정 결과 적색도 (redness, a) 값이 국내산에 비해 일본산이 약 2배 높았으며, 참돔 껍질 추출물의 분광학적 분석 결과 국내산에 비해 일본산의 아스타잔틴 함량이 약

Table 5. Monitoring results of cultured red seabream (*Pagrus major*) in Korea and Japan using HPLC (mean $\pm$ SD)

No.	Astaxanthin concentration ($\mu\text{g/L}$)	
	Korea	Japan
1	26.31 $\pm$ 3.69	81.59 $\pm$ 10.52
2	49.84 $\pm$ 7.12	262.17 $\pm$ 0.59
3	36.62 $\pm$ 0.24	293.74 $\pm$ 4.33
4	36.38 $\pm$ 2.17	185.55 $\pm$ 10.57
5	44.79 $\pm$ 5.97	119.02 $\pm$ 3.45
6	40.10 $\pm$ 0.90	121.47 $\pm$ 10.40
7	37.21 $\pm$ 2.76	102.41 $\pm$ 12.76
8	35.92 $\pm$ 0.95	82.34 $\pm$ 7.73
9	47.77 $\pm$ 2.03	177.68 $\pm$ 11.49
10	34.41 $\pm$ 1.31	146.71 $\pm$ 3.61
Minimum	26.31 $\pm$ 3.69	81.59 $\pm$ 10.52
Maximum	49.84 $\pm$ 7.12	293.74 $\pm$ 4.33
mean $\pm$ SD	38.94 $\pm$ 6.61 ^a	157.27 $\pm$ 69.32 ^b

Table 6. Comparison of astaxanthin concentration between cultured red seabream (*Pagrus major*) in Korea and Japan according to the analysis method

Analysis method	Korea			Japan			
	Min	Max	Mean ± SD	Min	Max	Mean ± SD	
Color difference	L	60.93	69.79	64.86±2.20 ^a	63.18	79.60	71.09±4.95 ^b
	a	+2.47	+10.32	6.70±2.52 ^a	+7.39	+16.76	12.57±2.80 ^b
	b	+14.14	+27.93	19.71±4.46 ^a	+15.03	+24.66	19.28±2.80 ^a
Spectrophotom etric (µg/mL)	6.14	6.73	6.46±0.20 ^a	8.98	9.57	9.24±0.15 ^b	
HPLC (µg/L)	34.62	47.79	39.62±5.83 ^a	81.93	108.31	91.64±11.84 ^b	

1.43배 높았다. 아스타잔틴 함량의 정확성을 위한 참돔 껍질 추출물의 HPLC 분석 결과 국내산에 비해 일본산의 아스타잔틴 함량이 약 2.31배 높았다. 따라서 색도 측정의 적색도(redness, a)와 참돔 껍질 추출물의 분광학적 분석, HPLC 분석을 통한 아스타잔틴 함량 비교를 통해 양식산 참돔의 국내산과 일본산이 유의적으로 구분되는 것을 확인하였다.



IV. 요약

일본산 양식 참돔의 한국 수입량이 증가하면서 일본산 참돔을 국내산 참돔으로 원산지 표시를 위반한 사례가 증가하고 있다. 일본은 참돔의 채색을 붉게 유지시키는 양식 방법을 사용해 국내산 양식 참돔에 비해 채색이 붉은 편이나 육안으로의 구분은 객관적 판단에 따라 신뢰하기가 어렵다. 본 실험은 참돔 껍질의 아스타잔틴 함량 분석을 통하여 양식된 국내산과 일본산 참돔의 원산지 판별 방법을 확립하였다.

참돔 시료는 국내산의 경우 길이가 평균 37.63 ± 11.14 cm, 무게가 평균 1.07 ± 0.10 kg이었으며, 일본산의 경우 길이가 평균 49.87 ± 2.88 cm, 무게가 평균 1.90 ± 0.30 kg인 참돔을 사용하였다. 시료는 붉은색 부위를 기준으로 참돔의 등 쪽 껍질을 분리하였으며 동결건조 후 일정하게 세절하여 추출에 이용하였다.

색도 분석 결과 황색도의 경우 국내산 참돔과 일본산 참돔 값의 차이가 없었으나 백색도와 적색도의 경우 유의적인 차이가 있었다. 특히 적색도가 국내산이 6.70 ± 2.52 , 일본산이 12.57 ± 2.80 로 국내산 참돔에 비해 일본산 참돔의 값이 약 2배 높은 것을 확인할 수 있었다.

참돔 껍질에서 아스타잔틴의 추출 조건을 설정하기 위해 다양한 용매 (아세톤, 아세톤니트릴, 메탄올, 헥산, 에틸아세테이드, 에탄올)와 다른 온도 (25, 35과 45℃) 그리고 다른 시간 (15, 30, 60, 120, 180, 240, 300과 360분)을 적용하여 순차적으로 추출을 진행하였다. 가장 추출률이 높은 조건을 선정하여 아세톤을 용매로 사용하여 45℃에서 300분간 추출하는 조건이 설정되었다.

설정된 조건으로 추출한 국내산과 일본산 참돔 추출물의 분광학적 분석 결과 아스타잔틴 함량은 국내산 참돔의 경우 6.46 ± 0.20 µg/mL, 일본산 참돔의

경우 $9.24 \pm 0.15 \text{ } \mu\text{g/mL}$ 로 국내산에 비해 일본산이 약 1.43배 높은 것을 확인하였다.

추출물의 아스타잔틴 함량 분석의 정확성을 위하여 HPLC를 이용해 분석 결과 국내산의 경우 $39.62 \pm 5.83 \text{ } \mu\text{g/L}$, 일본산의 경우 $91.64 \pm 11.84 \text{ } \mu\text{g/L}$ 로 나타나 국내산에 비해 일본산이 약 2.31배 높은 것을 확인하였다.

추출물의 아스타잔틴 정성분석을 위한 LC/MS 분석 결과 표준물질인 아스타잔틴의 체류 시간과 질량 값이 국내산과 일본산 참돔 추출물과 동일하였으므로 추출물의 분석 성분이 아스타잔틴임을 확인하였다.

국내산과 일본산 참돔의 아스타잔틴 함량 비교의 유효성 검증을 위해 HPLC 분석에 의한 모니터링 결과 국내산 참돔의 아스타잔틴 함량은 $26.31 \pm 3.69 \sim 49.84 \pm 7.12 \text{ } \mu\text{g/L}$, 일본산 참돔의 아스타잔틴 함량은 $81.59 \pm 10.52 \sim 293.74 \pm 4.33 \text{ } \mu\text{g/L}$ 로 나타나 국내산 및 일본산의 아스타잔틴 함량이 유의적으로 구분이 가능함을 확인하였다.

따라서 색도 분석, 분광학적 분석, HPLC 분석을 통한 양식된 국내산 및 일본산 참돔의 원산지 판별에 대한 적합성을 확인하였다.

V. 참고문헌

Bjerkeng B. 2000. Carotenoid pigmentation of salmonid fishes recent progress. Akvaforsk, Institute of Aquaculture Research.

Chatzifotis S., Pavlidis M., Donate Jimeno C., Vardanis G., Sterioti A. and Divanach P. 2005. The effect of different carotenoid sources on skin coloration of cultured red porgy (*Pagrus pagrus*). Journal of Aquaculture, 36, 1517-1525

Choi S. J. 2011. Enhancement of skin color by postharvest UV irradiation in 'Fuyu' persimmon fruits. Journal of horticultural science technology, 29, 441-446.

Fujita T., Satake M., Watanabe T., Kitajima C., Miki W., Yamaguchi K. and Konosu S. 1983. Pigmentation of cultured red sea bream with astaxanthin diester purified from krill oil. Journal of the Japanese Society of Scientific Fisheries, 49, 1855-1861.

Gupta S. K., Jha A. K., Pal A. K. and Venkateshwarlu G. 2007. Use of natural carotenoids for pigmentation in fishes. Journal of Natural product Radiance, 6, 46-49.

Ha B. S., Kang D. S., Kim J. H., Choi O. S. and Ryu H. Y. 1993.

Metabolism of dietary carotenoids and effects to improve the body color of cultured flounder and red sea bream. *Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 26, 91-101.

Huh S. H., Kim H. W. and Baeck G. W. 2006. Feeding habits of red sea bream, *Pagrus major* in the coastal waters off Busan, Korea. *Journal of Ichthyology*, 18, 216-222.

Hwang S. Y., Bae J. H and Lim S. Y. 2015. Heavy metal contents and antioxidant activity and cytotoxic effect of red sea bream (*Pagrus major*): comparative studies in domestic and imported red sea bream (*Pagrus major*). *Journal of Life Science*, 25, 450-455.

Ito Y., Kamata T., Tanaka Y. and Sameshim M. 1986. Studies on the improvement of body color of red seabream *Pagrus major* by astaxanthin and astaxanthin dipalmitat. *Journal of Aquaculture*, 34, 77-80

Jeong D. K., Kim U. R., Hwang C. N., Kim C. K., Seo H. M. and Lee Y. H. 2009. Developement of protein markers for the identification of the origin of *Pagrus major*. *Journal of Ichthyology*, 68.

Kalinowski C. T., Izquierdo M. S., Schuchardt D. and Robaina L. E. 2007. Dietary supplementation time with shrimp shell meal on red porgy (*Pagrus pagrus*) skin colour and carotenoid concentration. *Journal of Aquaculture*, 272, 451-457

Kalinowski C. T., Robaina L. E., Fernandez-Palacios H., Schuchardt D. and Izquierdo M. S. 2005. Effect of different carotenoid sources and their dietary levels on red porgy (*Pagrus pagrus*) growth and skin colour. *Journal of Aquaculture*, 244, 223-231.

Kang S. Y., Lee S. Y., Seo C. Y. and Ahn M. J. 2015. Effects of carrot extract on skin pigmentation and serum lysozyme activity of red seabream *Pagrus major*. *Journal of Fish Pathology*, 28, 157-164.

Kim H. S., Kim Y. H., Cho S. H. and Jo J. Y. 1999. Effects of dietary carotenoids on the nuptial color of the bitterling (*Rhodeus uyekii*). *Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 32, 276-279.

Kim S. Y., Cho E. A., Yoo J. M., In M. J. and Chae H. J. 2008. solubility and storage stability of astaxanthin. *Journal of Biotechnology and Bioengineering*, 23, 546-550.

Kim Y. O., Jo J. Y. and Oh S. Y. 2008. Effects of dietary *Spirulina*, *Chlorella*, and astaxanthin on the body color of red- and white-colored carp, *Cyprinus carpio*. *Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 41, 193-200.

Kim Y. O., Bang I. C. and Lee S. M. 2013. Skin pigmentation of 0-age and 1-age red- and white-colored fancy carp *Cyprinus carpio* var. koi fed diets containing different amounts of paprika. *Journal of Fisheries and*

Aquatic Sciences, 46, 365–370.

Kim S. Y., Oh Y. K and Ha S. H. 2018. Recovery of astaxanthin from microalgae using simple and energy-efficient method. Journal of Korean Chemistry Engineering, 56, 376–380.

Kim S. Y., Jung S. J., Kim H. S., Gam D. H. and Kim J. W. 2019. Optimization of extraction conditions for astaxanthin from *Haematococcus pluvialis*. Journal of Biotechnology and Bioengineering, 34, 346–351.

Kurnia A., Satoh S., Kuramoto D. and Hanzawa S. 2007. Effect of different astaxanthin sources on skin pigmentation of red sea bream (*Pagrus major*). Journal of Japanese Society for Aquaculture Science, 55, 441–447.

Lee Y. A., No C. H., Hong K. P., Kim J. M. and Bang I. C. 2004. AFLP pattern of Korean, Japanese and their reciprocal intraspecific hybrids of red sea bream, *Pagrus major*. Journal of Ichthyological, 162–163.

Shin G. M., Ahn Y. S., Shin D. M., Kim H. S., Kim H. J., Yoon M. S., Heu M. S., and Kim J. S. 2008. Comparison of muscle color, taste and nutrition components between red seabreams cultured by feeding and starving. Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition, 37, 1142–1147.

Shin G. M., Ahn Y. S., Shin D. M., Lee J. H., Kim H. J., Yoon M. S., Heu M. S., and Kim J. S. 2008. Comparison of muscle texture between red seabreams cultured by feeding and starving. *Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition*, 37, 1148-1153.

Takashi M. 2011. Carotenoids in marine animals. *Journal of Marine Drugs*, 9, 278-293.

Tejera N., Cejas J. R., Rodríguez C., Bjerkeng B., Jerez S., Bolaños A. and Lorenzo A. 2007. Pigmentation, carotenoids, lipid peroxides and lipid composition of skin of red porgy (*Pagrus pagrus*) fed diets supplemented with different astaxanthin sources. *Journal of Aquaculture*, 270, 218-230.

