



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](#)

이학석사 학위논문

강도다리, *Platichthys stellatus*의 혈액학적 성상, 항산화 및 면역반응에 대한 EGCG 급이의 영향



2022년 8월

부경대학교 대학원

수산생명의학과

김지은

이학석사 학위논문

강도다리, *Platichthys stellatus*의 혈액학적 성상, 항산화 및 면역반응에 대한 EGCG 급이의 영향

지도교수 강 주 찬

이 논문을 이학석사 학위논문으로 제출함.



2022년 8월

부경대학교 대학원

수산생명의학과

김지은

김지은의 이학석사 학위논문을 인준함.

2022년 8월 26일



위 원 장 약학박사 정 준 기 (인)

위 원 이학박사 김 도 형 (인)

위 원 이학박사 강 주 찬 (인)

목 차

목 차	i
Abstract	iv
I. 서론	1
II. 재료 및 방법	5
1. 실험어 및 실험환경	5
2. 사료성분 및 배합	6
3. Growth performance	8
4. 혈액학적 분석	9
5. 항산화효소 분석	10
5-1. SOD	11
5-2. CAT	11
6. 면역인자 분석	12
6-1. Lysozyme activity	12
6-2. Phagocytosis	12
7. 유의성 검정	13

III. 결과	14
1. Growth performance	14
2. 혈액학적 분석	19
3. 항산화 효소 분석	24
3-1. SOD	24
3-2. CAT	29
4. Immune response	34
4-1. Lysozyme activity	35
4-2. Phagocytosis	36
IV. 고찰	37
V. 요약	43
VI. 참고문헌	45

Effects of dietary EGCG on hematological parameters, antioxidant and immune responses of starry flounder, *Platichthys stellatus*

Ji Eun Kim

Department of Aquatic Life Medicine, Graduate School
Pukyong National University

Abstract

In this study, changes in hematological properties, antioxidant and immune response were analyzed in starry flounder by feeding polyphenol, EGCG, which has been reported to have various physiological activities. EGCG is present in a variety of foods consumed by humans and is one of the main catechins in green tea and one of the natural antioxidants.

EGCG concentration 0, 50, 100, 150, 200, 250 mg/ using starry flounder (length 16.4cm, weight 81.8±0.9g) to check the changes in hematological properties, antioxidant and immune response according to EGCG feeding After making the feed in kg, it was fed.

After 2 weeks of acclimatization, EGCG feed was fed to each section and sampling was performed at 2 and 4 weeks, respectively. Weight and length were measured before the experiment, and then weight and length were measured at 2 weeks and 4 weeks. was measured and growth factors were confirmed by body weight gain (BWG), specific growth rate (SGR), hepatosomatic index (HSI), and feed effecifi ratio (FER). Upon sampling, the RBC count, Hb concentration, and Ht level were checked using whole blood

immediately after sampling. By separating the serum, the organic components blood glucose and total protein, inorganic components calcium and magnesium, and the enzyme components GOT and GPT, non-specific immune response, lysozyme activity and phagocytosis, were measured. In addition, changes in SOD and CAT activity were confirmed using sampled gill, liver, kidney, and intestinal tissues.

As a result of the above experiment, growth factors such as BWG, SGR, and FER showed significant increases, and HSI did not show significant changes. There were no significant changes in RBC, Hb, and Ht. In the case of serum analysis, calcium, magnesium, and total protein were not significantly changed, and glucose was decreased. There were no significant changes in the serum enzyme components GOT and GPT. In the case of antioxidant enzymes SOD and CAT, gills, liver, kidney, and intestine all showed significant increases, and it was confirmed that lysozyme activity and phagocytosis, which are immune responses, were significantly increased.

In conclusion, EGCG had a positive effect on the growth rate, antioxidant and immune response of starry flounder.

I. 서론

양식어류는 일반적으로 못이나 가두리, 육상 수조와 같은 공간에서 양식되며 단위 공간당 생산성을 높이기 위해 높은 사육밀도로 양식되는 경우가 많아 어류는 고밀도 양식으로 인한 스트레스와 함께 저하된 면역력으로 인해 질병에 취약해지며, 질병이 발생하는 경우 대량폐사로 이어질 수 있다. 따라서 질병 치료의 목적으로 항생제와 화학요법제를 사용하고 있으며, 이러한 치료제의 부적절한 사용은 환경 오염, 항생제 내성 또는 약물 내성, 병원체 출현 등의 부작용이 있다(Lin et al., 2015). 이에 대한 대안으로 양식어류의 면역력 향상과 환경 오염을 일으키지 않으며, 양식어류의 성장을 증가에 도움을 줄 수 있는 안전한 사료첨가제의 개발이 이루어지고 있다.

천연 유래 물질은 항균, 항암, 항산화 등의 생물학적 활성이 있는 자원으로 주목받고 있다(Lee and Moon, 2003). 많은 연구자들에 의해 flavonoid계와 phenol계 등의 합성 항산화제가 개발되었으나 유해성과 안정성 문제로 인해 논란의 대상이 되었다(Lim and Shim, 1997; Shim et al., 2002). 이에 따라 무해하고 항산화력이 우수한 천연 유래 항산화제에 관한 연구가 진행되고 있으며, 보고된 대부분의 천연 항산화제는 식물에서 유래한 것이다(Jung et al., 2004).

녹차는 오랫동안 한국, 일본, 중국을 포함하여 여러 나라에서 음용되어온 음료로 비타민, 무기질, 아미노산, 카페인, 폴리페놀 등의 성분으로 구성되어 있다(Harold N. Graham, 1992). 녹차는 다양한 생리학적 활성을 가지며 이러한 활성은 녹차에 존재하는 폴리페놀의 함량에 기인한다(Shen

Wolfram, 2007). 폴리페놀은 과일, 곡물, 채소, 약용 식물, 차 등 다양한 식물과 식품에 존재한다. 녹차의 주요 폴리페놀은 a-phenyl-benzopyran의 기본구조를 가진 플라보노이드 화합물인 카테킨으로 4가지 유형((-)-epigallocatechin-3-gallate (EGCG), (-)-epicatechin-3-gallate (ECG), (-)-epigallocatechin (EGC), 그리고 (-)-epicatechin (EC))로 존재한다(Yang et al., 2009). 카테킨은 3개의 탄화수소 고리로 구성되어 있으며 구조적으로 ester catechins (EGCG, ECG)과 non-ester catechins (EGC, EC)로 구분된다(Yan et al., 2020). 폴리페놀 화합물의 수산기 수와 위치는 항산화 특성을 결정지으며, 카테킨은 특히 ester와 gallate에서 3개의 수산화기의 존재로 인해 강한 항산화 능력을 가진다(Scalbert and Williamson, 2000; Talebi et al., 2021).

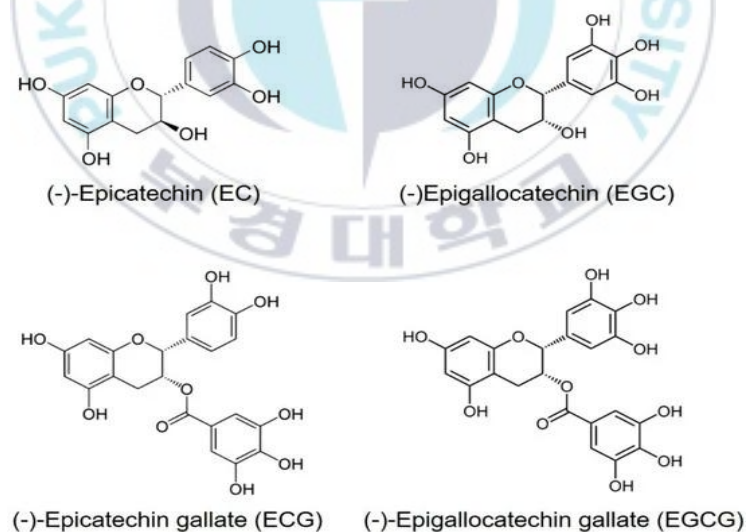


Fig. 1. Structure of major catechin in green tea.

카테킨은 활성산소를 제거하고 신체에서 다양한 유형의 산화효소의 활동

을 조절하여 질병을 예방하고 치료할 수 있는 강력한 항산화제로 작용하며, 이러한 활성은 전자가 conjugation effect (비편재 효과)를 갖는 페놀성 수산기 구조 때문이다. 수소 이온의 결합 능력이 약해져 해리되기 쉬우므로 활성 수소 이온이 자유 라디칼 및 기타 활성산소종을 중화하여 자유 라디칼을 소거한다(Yan et al., 2020). 육상동물에서의 연구에 따르면 카테킨은 항산화 (Frei and Higdon., 2003; Yang et al., 2008), 항돌연변이 (Geetha et al., 2004), 항암 (Yang et al., 2008), 항균 (Taylor et al., 2005; Reygaert., 2014), 항염 특성, 혈장 내 glucose 감소 (Matsumoto et al., 1993) 및 총 콜레스테롤 수치의 감소 (Choi and Kim., 2010; Lin and Lin-Shiau., 2006) 등 다양한 생리학적 활성에 대한 이점이 있다. 이러한 생리학적 활성으로 인해 최근 양식어류에 있어서 면역증강을 위한 사료첨가제로서 카테킨의 급이 연구가 이루어지고 있다. 카테킨 급이는 어류에 있어서 성장 촉진 (Abdel-Tawwab et al., 2010), 비특이적 면역반응 향상 (Sheikhzadeh et al., 2011; Hwang et al., 2013), 내병성을 증가시킨다고 보고되었다 (Abdel-Tawwab et al., 2010; Zhang et al., 2014).

강도다리, *Platichthys stellatus*는 가자미목 가자미과에 속하는 해산어류로 우리나라 동해안, 일본, 베링해에서 미국 서부 연안에 이르는 북태평양에 넓게 분포한다. 강도다리는 수심 150 m 내외의 연안에 서식하며, 염분 변화에 대한 내성이 강해 기수지역에서도 서식하며, 종종 담수에서 발견되기도 한다(Chyung, 1977; Lim et al., 2007). 또한 강도다리는 저수온 및 질병에 대한 저항성이 강하여 우리나라의 대표 해산 양식 대상종인 넙치를 대체할 어종으로 동해안 지역에서 많이 양식되고 있는 추세이다.

양식어류에서 넙치(Cho et al., 2006), 조피볼락(Hwang et al., 2013) 등 다른 종의 카테킨 급이에 대한 연구가 이루어지고 있으나, 강도다리에서의

급이에 대한 연구는 부족하다. 따라서 본 연구는 강도다리의 성장률, 혈액학적 성상, 항산화 및 면역반응에 대한 EGCG의 영향을 확인하기 위하여 녹차의 주요 카테킨 성분 중 하나인 EGCG를 0, 50, 100, 150, 200, 250 mg/ kg 농도로 사료에 첨가하여 실시하였다.



II. 재료 및 방법

1. 실험어 및 실험환경

실험에 사용한 실험어는 기장 동백리 양식장에서 구입한 강도다리, *Platichthys stellatus*로 2주간 순치시킨 후 전장 16.4cm, 체중 81.8 ± 0.9 g의 외관상 건강한 개체를 선별하여 사용하였다. 6개의 150L 원형 수조에 15마리씩 나누어 순치기간 동안 EGCG가 포함되지 않은 사료를 급여 하였고 수온은 $^{\circ}\text{C}$, 광주기는 12시간 간격으로 조절하였다.

실험에 사용한 사료의 농도는 0, 50, 100, 150, 200, 250 mg/kg EGCG로 대조군을 포함하여 총 6종류의 사료를 제작하였고 각 농도 구간별로 제작된 사료를 하루 2회 어체중의 1%씩 급여 하였다. 실험 기간은 총 4주로 실험어는 사료 공급 후 각각 2주 및 4주 후 샘플링하였다.

2. 사료성분 및 배합

사료성분 및 배합은 Table. 1에 나타냈다. 사료는 강도다리 양식 기술서를 참고하였으며, 강도다리의 영양요구에 맞추어 제작하였다.

사료 구성성분은 white fish meal 55%, casein 10%, dextrin 22%, fish oil 4%, squid liver oil 4%, carboxymethylcellulose 1%, coline salt 0.5%, vitamin premix 0.5%, mineral premix 0.5%에 EGCG 프리믹스를 각 구간의 설정 농도에 맞추어 첨가하였다. EGCG 프리믹스는 셀룰로오스 396g과 EGCG 4g을 혼합하여 2일간 벌크 작업을 통해 제작하였으며 6종류 사료는 각각 EGCG 농도 0, 50, 100, 150, 200, 250 mg/kg으로 제작하였다. 사료 제작은 각 사료 성분들을 비율에 맞추어 혼합한 후 오징어 간유, 어유 및 물을 넣어 반죽 형태로 만들었다. 제작된 사료 반죽은 압축 성형기를 사용하여 적당한 크기로 만들어 2일간 실온에서 건조하였다. 건조 후 사료는 강도다리의 입 크기에 맞춰 분쇄하였으며 분쇄한 사료는 냉장고에서 보관하였다.

Table. 1. Composition of the experimental diet (% dry matter)

Ingredient	EGCG concentration (mg/kg)					
	0	50	100	150	200	250
White fish meal	55	55	55	55	55	55
Casein	10	10	10	10	10	10
Dextrin	22	22	22	22	22	22
Fish oil	4	4	4	4	4	4
Squid liver oil	4	4	4	4	4	4
Carboxymethylcellulose	1	1	1	1	1	1
α-Cellulose	2.5	2	1.5	1	0.5	0
Coline salt	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
Vitamin premix	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
Mineral premix	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
EGCG premix	0	0.5	1.0	1.5	2.0	2.5
Total	100	100	100	100	100	100

1. White fish meal, Dajeon Co., Ltd., Pusan, Korea

2. Casein, The Feed Co., Ltd., Pusan, Korea

3. Dextrin, TS Co., Ltd., Incheon, Korea

4. Fish oil, The Feed Co., Ltd., Pusan, Korea

5. Squid liver oil, The Feed Co., Ltd., Pusan, Korea

6. Carboxymethylcellulose, Sigma, USA

7. α-Cellulose, Sigma, USA

8. Coline salt, Kofavet Co., Ltd., Ulsan, Korea

9. Vitamin premix (AA-free) (mg/kg diet) : dl-calcium pantothenate, 368; Choline chloride, 10; Inositol, 400; Menadione, 1800; Nicotinamide, 1030; Pyridoxine·HCl, 88; Riboflavin, 380; Thiamine mononitrate, 115; dl-α-tocopherol acetate, 210; Retinyl acetate, 38; Biotin, 10; Folic acid, 20; Cyanocobalamin, 1.3; Cholecalciferol, 13.2

10. Mineral premix (g/ kg) : Ferrous Fumarate, 12.5; Dried Ferrous sulfate, 20; Manganese Sulfate, 11.25; Dried Cupric Sulfate, 1.25; Cobaltous sulfate, 0.75; Zinc sulfate, 13.75; Calcium iodate, 0.75; Magnesium Sulfate, 80.2; Aluminum Hydroxide, 0.75

11. EGCG, Sigma, Korea

3. Growth performance

순치 후 전장과 체중을 측정하였고, EGCG가 포함된 사료 급이 후 2주 및 4주에 각각 전장과 체중 및 간 중량을 측정하였다. 성장률은 증체량 (body weight gain, BWG), 성장률 (Specific growth rate, SGR), 간중량지수 (Hepatosomatic index, HSI)와 사료효율 (feed efficiency ratio, FER)을 측정하였으며, 측정 방법은 다음과 같다.

BWG, Body weight gain (%) = $100 \times (\text{final weight} - \text{initial weight}) / (\text{initial weight})$.

SGR, Specific Growth Rate = $100 \times (\ln \text{ final weight or length} - \ln \text{ initial weight or length}) / \text{duration}$.

HSI, Hepatosomatic index (%) = $(\text{Liver weight} / \text{total fish weight}) \times 100$

FER, Feed efficiency ratio (%) = $\text{Weight gain} (\text{Final weight} - \text{Initial weight}) \times 100 / \text{feed intake}$

4. 혈액학적 분석

혈액은 응고를 방지하기 위하여 heparin-Na (5000 I.U., 중외제약)가 처리된 일회용 주사기를 사용하여 미부정맥에서 채혈하였다. 채혈한 전혈은 Red Blood Cell (RBC) hemoglobin (Hb) 농도 및 hematocrit (Ht)을 즉시 분석하였다. RBC는 Hendrick's solution으로 400배 희석 후 hemocytometer(Improved Neubauer, Germany)를 이용하여 광학현미경으로 계수하여 계산하였다. Hb 농도는 Cyan-methemoglobin법을 이용한 임상용 kit (Asan Pharm. Co., Ltd.)를 사용해 측정하였다. Ht는 혈액을 hematocrit 분석용 모세관 튜브 내로 넣어 microhematocrit centrifugation (Model:01501, HAWKSLEY AND SONS Ltd., England)로 12000rpm으로 4℃에서 5분간 원심분리 후 Micro-Haematocrit reader(HAWKSLEY AND SONS Ltd., England)로 측정하였다.

이후 혈청 내 무기성분, 유기성분 및 효소활성의 변화를 확인하기 위해 4℃, 3000g에서 5분간 원심분리하여 혈청을 분리하였으며, 분리한 혈청은 실험 전까지 -75℃에서 보관하였다. 혈청 무기성분인 마그네슘(magnesium) xylydyl blue technique, 칼슘(Ca) o-cresolphthalein-complexon technique을 임상용 kit (Asan Pharm. Co., Ltd.)를 사용하여 분석하였다.

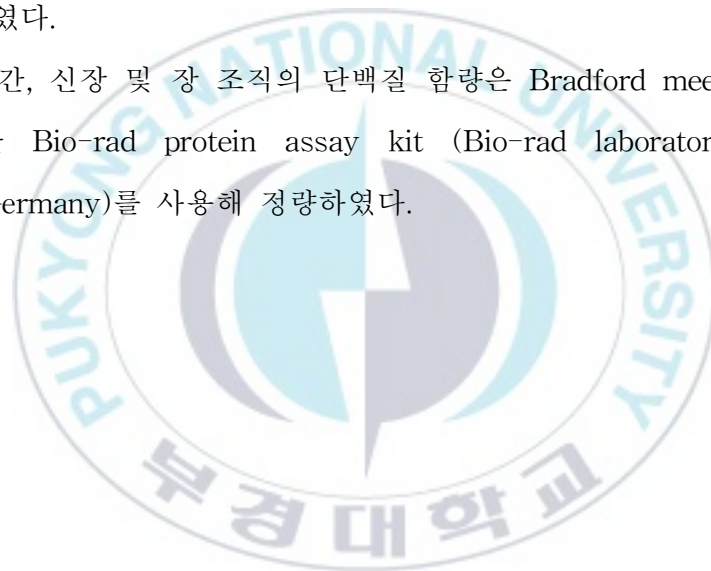
유기성분인 glucose는 GOD/POD technique, Total protein biuret technique를 임상용 kit (Asan Pharm. Co., Ltd.)를 사용하여 분석하였다.

효소활성인 Glutamic oxalate transminase (GOT), Glutamic pyruvate transminase (GPT)은 Reitman-Frankel technique을 이용한 임상용 kit (Asan Pharm. Co., Ltd.)를 사용하여 분석하였다.

5. 항산화 효소 분석

항산화 효소 분석을 위하여 아가미, 간, 신장, 장 조직을 0.1 M PBS buffer (pH 7.4)로 세척하였다. 세척한 조직과 homogenizing buffer (0.1M KCl, pH 7.4)를 1:10의 비율이 되도록 넣어준 후 균질기 (Teflon-glass homogenizer, 099CK4424, Glass-Col, Germany)를 사용하여 균질화하였다. 균질액은 4℃, 10,000g에서 30분간 원심분리한 후 상층액을 분리하여 실험에 사용하였다.

아가미, 간, 신장 및 장 조직의 단백질 함량은 Bradford method (1976)를 이용한 Bio-rad protein assay kit (Bio-rad laboratories GmbH, Munich, Germany)를 사용해 정량하였다.



5-1. Superoxide dismutase (SOD)

아가미, 간, 신장과 장의 SOD 활성은 SOD Assay Kit - WST (Dojindo co., Japan)를 사용하여 분석하였다. 조직 상등액은 Dilution buffer로 각각 1/5, 1/25, 1/125로 희석하여 사용하였으며 분광광도계 (Spectrophotometer Infinite M200 Pro NanoQuant Plate™, TECAN, Austria)를 사용하여 450nm에서 흡광도를 측정하였다. SOD 활성은 50 % inhibitor rate를 구하여 unit/ mg protein 으로 나타내었다.

5-2. Catalase (CAT)

아가미, 간, 신장 및 장의 CAT 활성은 OxiSelect™ Catalase Activity Assay Kit(Cell Biolabs, Inc.)를 사용하여 분석하였다. 96 well에 각각 20ul 의 sample을 넣고, Hydrogen Peroxid Working Solution (12mM) 50ul를 넣었다. 섞어준 후 정확히 1분간 실온에 방치하였으며, Catalase Quencher 50ul를 넣고 다시 섞어주었다. 이렇게 섞은 sample 5ul를 새로운 well에 넣어준 후 Chromogenic Working Solution을 넣어 섞어준 후 실온에서 40~60분간 반응시킨 후, 분광광도계(Spectrophotometer Infinite M200 Pro NanoQuant Plate™, TECAN, Austria)를 사용하여 520nm에서 흡광도를 측정하였다.

6. Immune response

6-1. Lysozyme activity

혈청의 lysozyme 활성을 측정하기 위하여 Turbimetric metho (Ellis, 1990)를 이용한 Lysoyme Detection Kit (Sigma, USA)를 사용하였다. Phosphate buffer (0.05 M, pH 6.2)를 사용해 Micrococcus lysodeikicus를 현탁하여 혈청과 혼합하였으며 혼합물을 분광광도계를 이용해 450nm에서 5분간 흡광도를 측정하였다. Lysozyme 활성의 결과는 ug/ ml로 나타내었다.

6-2. Phagocytosis

혈청의 Phagocytosis를 확인하기 위하여 CytoSelect™ 96-Well Phagocytosis Assay (Red Blood Cell Substrate) kit를 사용하였다. 각 well에 차가운 1×PBS 200ul를 첨가하고 즉시 제거한 후, 고정용액 100ul를 첨가하고 5분간 배양하였다. 배양 후 고정용액을 즉시 제거하고, 1×PBS로 두 번 세척하였다. 세척 후 미리 희석시킨 차단용액 100ul를 각 well에 첨가하여 실온에서 30분간 배양한 후 즉시 제거하고, 1×PBS로 세 번 세척하였다. 각 well에 미리 희석시킨 투과성 용액 100ul를 첨가하고 5분동안 배양 후 즉시 제거하였다. 각 well에 기질 100ul를 첨가하여 10~30분간 배양하여 반응시킨 후 정지용액 100ul를 첨가하여 반응을 정지시키고 450nm에서 흡광도를 측정하였다.

7. 유의성 검정

실험 결과에 대한 통계적 유의성은 SPSS 통계 프로그램을 이용해 일원 배치 분산분석을 실시하였다. 사후검정은 Duncan's multiple range test를 통하여 실시하였으며, $p < 0.05$ 일 때 유의성이 있는 것으로 간주하였다.



III. 결과

1. Growth performance

EGCG 사료를 급이에 따른 강도다리의 BWG(Body weight gain), SGR(Specific growth rate), HSI(Hepatosomatic index) 및 FER(Feed efficiency rate)는 Fig. 2-5에 나타내었다.

BWG는 2주 200 mg/kg 이상에서 유의적인 증가가 나타났으며, 4주 150 mg/kg 이상에서 유의적인 증가가 나타났다. SGR은 2주 250 mg/kg에서 유의적인 증가가 나타났으며, 4주 200 mg/kg 이상에서 유의적인 증가가 나타났다. HSI는 대조군을 제외한 EGCG 급이구에서 EGCG 농도가 증가함에 따라 감소하는 경향으로 나타났으나 유의적인 차이는 나타나지 않았다. FER은 2주 200 mg/kg 이상에서 유의적인 증가가 나타났으며, 4주 150 mg/kg 이상에서 유의적인 증가가 나타났다.

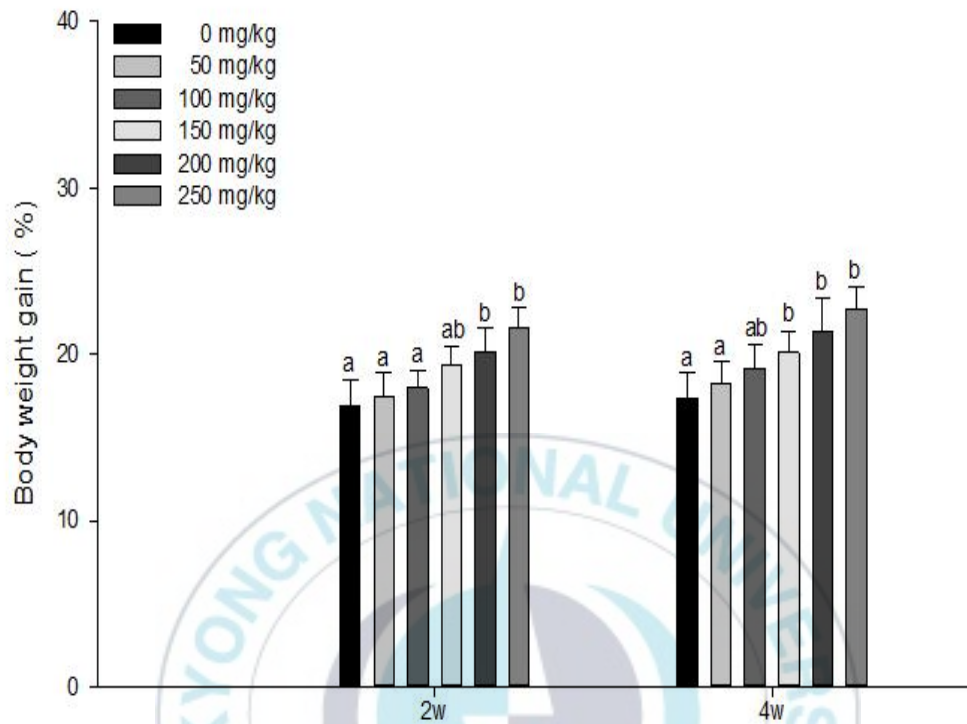


Fig. 2. Body weight gain of starry flounder, *Platichthys stellatus* fed to the different concentrations of dietary EGCG for 4 weeks. Values with different superscript are significantly different ($p < 0.05$) in 2 weeks and 4 weeks as determined by Duncan's multiple range test.

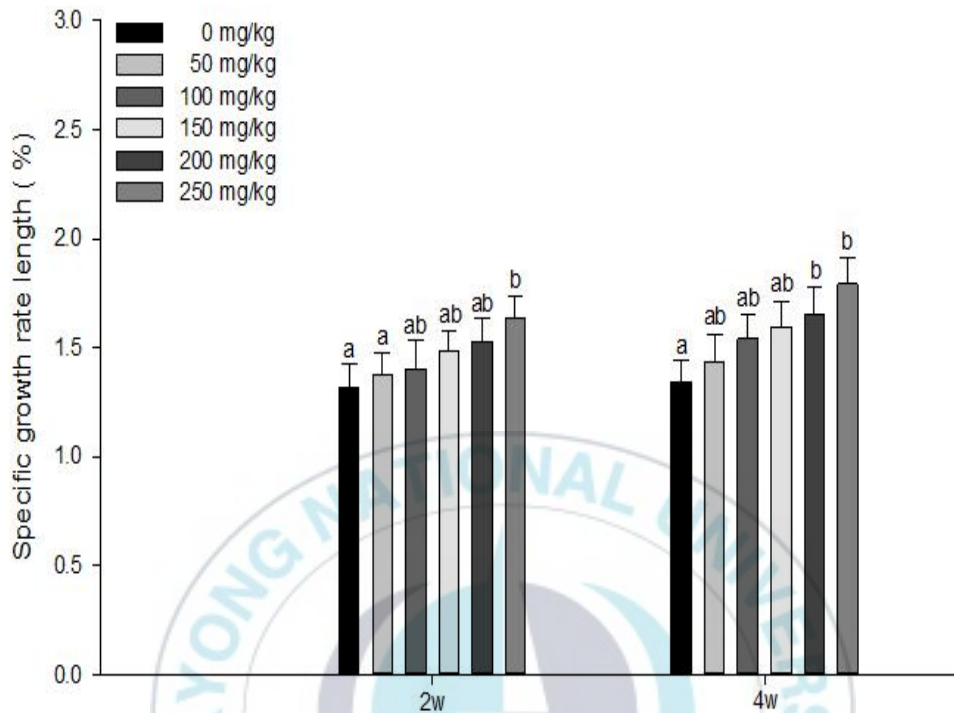


Fig. 3. Specific growth rate of starry flounder, *Platichthys stellatus* fed to the different concentrations of dietary EGCG for 4 weeks. Values with different superscript are significantly different ($p < 0.05$) in 2 weeks and 4 weeks as determined by Duncan's multiple rangetest.

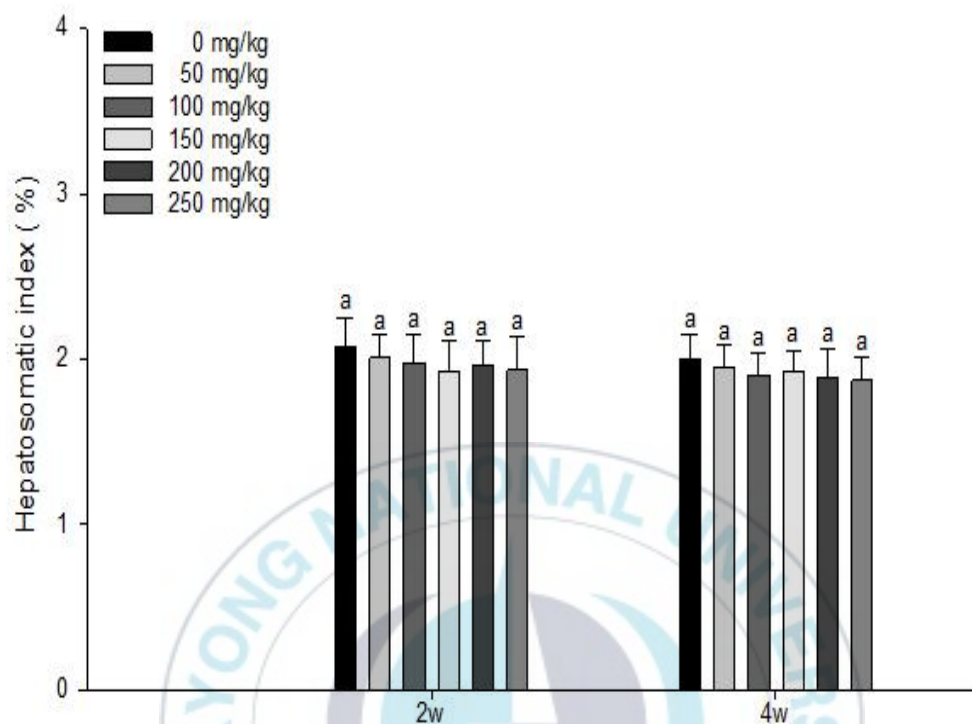


Fig. 4. Hepatosomatic index of starry flounder, *Platichthys stellatus* fed to the different concentrations of dietary EGCG for 4 weeks. Values with different superscript are significantly different ($p < 0.05$) in 2 weeks and 4 weeks as determined by Duncan's multiple range test.

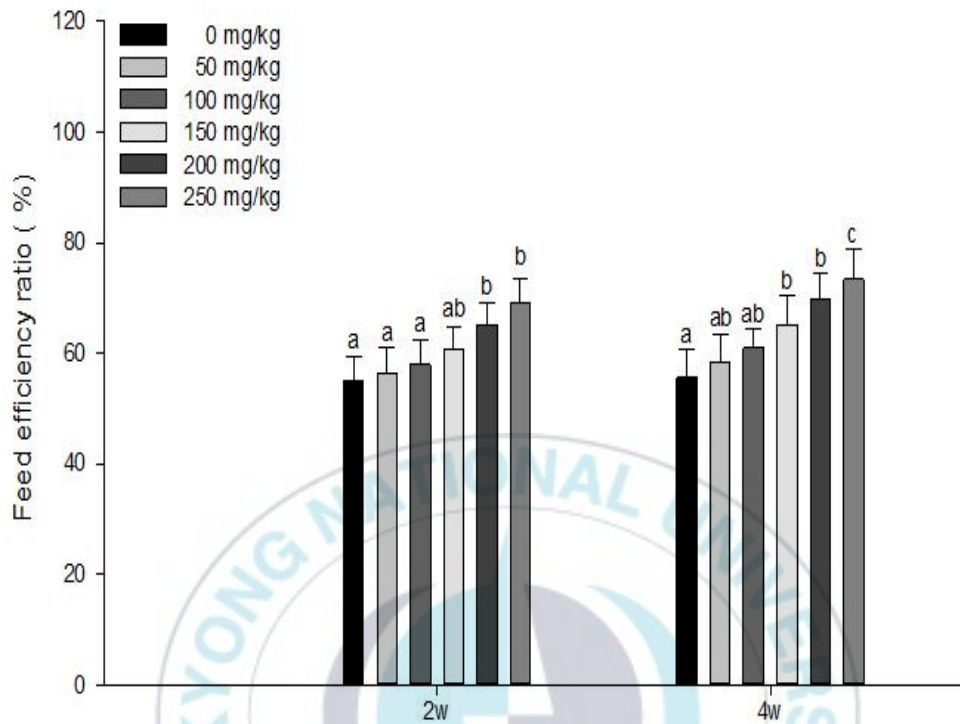


Fig. 5. Feed efficiency ratio of starry flounder, *Platichthys stellatus* fed to the different concentrations of dietary EGCG for 4 weeks. Values with different superscript are significantly different ($p < 0.05$) in 2 weeks and 4 weeks as determined by Duncan's multiple range test.

2. 혈액학적 분석

EGCG 사료 급이에 따른 강도다리의 혈액학적 성상의 변화는 Table. 2-5에 나타내었다.

전혈은 RBC count, hemoglobin, hematocrit을 분석하였다. RBC count은 EGCG 급이에 따른 유의적인 변화가 나타나지 않았다. Hemoglobin과 hematocrit 또한 EGCG 급이에 따른 유의적인 변화가 나타나지 않았다.

혈청 무기성분은 칼슘과 마그네슘을 분석하였다. 칼슘은 2주차와 4주차의 모든 급이 구간에서 유의적인 변화가 나타나지 않았다. 마그네슘 또한 2주차와 4주차의 모든 급이 구간에서 유의적인 변화가 나타나지 않았다.

혈청 유기성분은 glucose과 TP를 분석하였다. Glucose 실험 결과, EGCG 급이 농도가 높아질수록 감소하는 경향이 있으나 유의한 차이는 나타나지 않았다. TP 실험 결과, 2주와 4주 모두 EGCG 급이에 따른 유의적인 변화가 나타나지 않았다.

혈청 효소성분은 GOT와 GPT를 분석하였다. GOT는 대조군과 유사하게 나타났다. GPT 또한 대조군과 유사하게 나타났으며 두 항목 모두 유의성은 나타나지 않았다.

Table. 2. Change of RBC count, hemoglobin, hematocrit in starry flounder, *Platichthys stellatus* fed to different concentration of dietary EGCG for 4 weeks.

Parameters	Period (weeks)	Epigallocatechin-3-gallate (mg/kg)					
		EGCG ₀	EGCG ₅₀	EGCG ₁₀₀	EGCG ₁₅₀	EGCG ₂₀₀	EGCG ₂₅₀
RBC count (×10 ⁴ mm ³)	2	252.33±20.77 ^a	253.67±15.1 ^a	251.17±19.52 ^a	248.17±21.13 ^a	252±31.69 ^a	251.5±26.36 ^a
	4	250.83±17.18 ^a	249.17±19.4 ^a	251.33±22.13 ^a	250.5±20.5 ^a	252.83±19.53 ^a	255.17±16.88 ^a
Hemoglobin (g/dL)	2	1.4±0.15 ^a	1.37±0.22 ^a	1.42±0.19 ^a	1.39±0.16 ^a	1.41±0.13 ^a	1.39±0.14 ^a
	4	1.39±0.14 ^a	1.42±0.11 ^a	1.38±0.13 ^a	1.41±0.15 ^a	1.39±0.16 ^a	1.4±0.19 ^a
Hematocrit (%)	2	16.2±1.93 ^a	16.25±1.95 ^a	15.67±1.88 ^a	15.9±1.51 ^a	16.15±1.23 ^a	15.88±2.26 ^a
	4	16.08±1.55 ^a	16.5±1.62 ^a	16.17±2.16 ^a	15.83±1.82 ^a	16.0±1.32 ^a	15.67±1.49 ^a

Valuse are mean ± S.E. Values with different superscript are significantly different (p < 0.05) in 2 weeks and 4 weeks as determined by Duncan's multiple rangetest.

Table. 3. Change of calcium, magnesium in starry flounder, *Platichthys stellatus* fed to different concentration of dietary EGCG for 4 weeks.

Parameters	Period (weeks)	Epigallocatechin-3-gallate (mg/kg)					
		EGCG ₀	EGCG ₅₀	EGCG ₁₀₀	EGCG ₁₅₀	EGCG ₂₀₀	EGCG ₂₅₀
Calcium (mg/dL)	2	11.21±1.28 ^a	10.88±1.92 ^a	10.99±2.37 ^a	11.14±1.98 ^a	12.17±2.28 ^a	11.08±2.98 ^a
	4	10.32±0.41 ^a	11±0.55 ^a	10.14±1.12 ^a	12.21±1.5 ^a	11.98±0.51 ^a	11.29±0.75 ^a
Magnesium (mg/dL)	2	2.07±0.3 ^a	2.22±0.17 ^a	2.1±0.23 ^a	2.2±0.27 ^a	2.14±0.39 ^a	2.74±0.22 ^a
	4	2.1±0.15 ^a	2.3±0.21 ^a	2.22±0.14 ^a	2.32±0.17 ^a	2.27±0.19 ^a	2.17±0.21 ^a

Value are mean ± S.E. Values with different superscript are significantly different ($p < 0.05$) in 2 weeks and 4 weeks as determined by Duncan's multiple range test.

Table. 4. Change of glucose, total protein in starry flounder, *Platichthys stellatus* fed to different concentration of dietary EGCG for 4 weeks.

Parameters	Period (weeks)	Epigallocatechin-3-gallate (mg/kg)					
		EGCG ₀	EGCG ₅₀	EGCG ₁₀₀	EGCG ₁₅₀	EGCG ₂₀₀	EGCG ₂₅₀
Glucose (mg/dL)	2	42.17±2.63 ^a	42.12±1.77 ^a	41.06±2.8 ^a	40.74±2.28 ^a	39.04±1.96 ^a	37.65±2.35 ^a
	4	42.29±2.57 ^a	40.31±2.59 ^a	38.44±2.86 ^a	37.9±1.38 ^a	35.95±2.35 ^{ab}	34.83±2.25 ^b
Total protein (g/dL)	2	4.3±0.38 ^a	4.24±0.51 ^a	4.31±0.4 ^a	4.22±0.37 ^a	4.29±0.65 ^a	4.27±0.56 ^a
	4	4.25±0.41 ^a	4.28±0.51 ^a	4.26±0.39 ^a	4.3±0.42 ^a	4.32±0.5 ^a	4.29±0.32 ^a

Value are mean ± S.E. Values with different superscript are significantly different ($p < 0.05$) in 2 weeks and 4 weeks as determined by Duncan's multiple range test.

Table. 5. Change of GOT, GPT in starry flounder, *Platichthys stellatus* fed to different concentration of dietary EGCG for 4 weeks.

Parameters	Period (weeks)	Epigallocatechin-3-gallate (mg/kg)					
		EGCG ₀	EGCG ₅₀	EGCG ₁₀₀	EGCG ₁₅₀	EGCG ₂₀₀	EGCG ₂₅₀
GOT (Karmen/ml)	2	35.08±4.66 ^a	34.71±3.52 ^a	35.27±4.04 ^a	33.14±3.94 ^a	30.6±2.48 ^a	32.07±3.9 ^a
	4	34.97±3.77 ^a	33.41±2.41 ^a	33.91±1.85 ^a	34.9±1.08 ^a	33.98±1.08 ^a	35.01±3.82 ^a
GPT (Karmen/ml)	2	28.2±2.86 ^a	29.34±3.07 ^a	28.83±2.48 ^a	26.67±1.93 ^a	27.5±2.44 ^a	29.13±3.28 ^a
	4	28.39±2.62 ^a	28.47±1.81 ^{ab}	27.95±1.67 ^a	28.3±3.54 ^a	26.92±3.24 ^a	27.05±1.92 ^a

Valuse are mean ± S.E. Values with different superscript are significantly different ($p < 0.05$) in 2 weeks and 4 weeks as determined by Duncan's multiple rangetest.

3. 항산화 효소

3-1. Superoxide dismutase (SOD)

EGCG 사료 급이에 따른 강도다리의 아가미, 간, 신장 및 장 내 SOD 활성은 Fig. 6-9에 나타내었다. 아가미의 SOD 활성은 2주 200 mg/kg 이상에서 유의적인 증가가 나타났으며, 4주 150 mg/kg 이상에서 유의적인 증가가 나타났다. 간의 SOD 활성은 2주, 4주 200 mg/kg 이상에서 유의적인 증가가 나타났다. 신장의 SOD 활성은 2주 250 mg/kg에서 유의적인 증가가 나타났으며, 4주 200 mg/kg 이상에서 유의적인 증가가 나타났다. 장의 SOD 활성은 2주, 4주 200 mg/kg 이상에서 유의적인 증가가 나타났다.

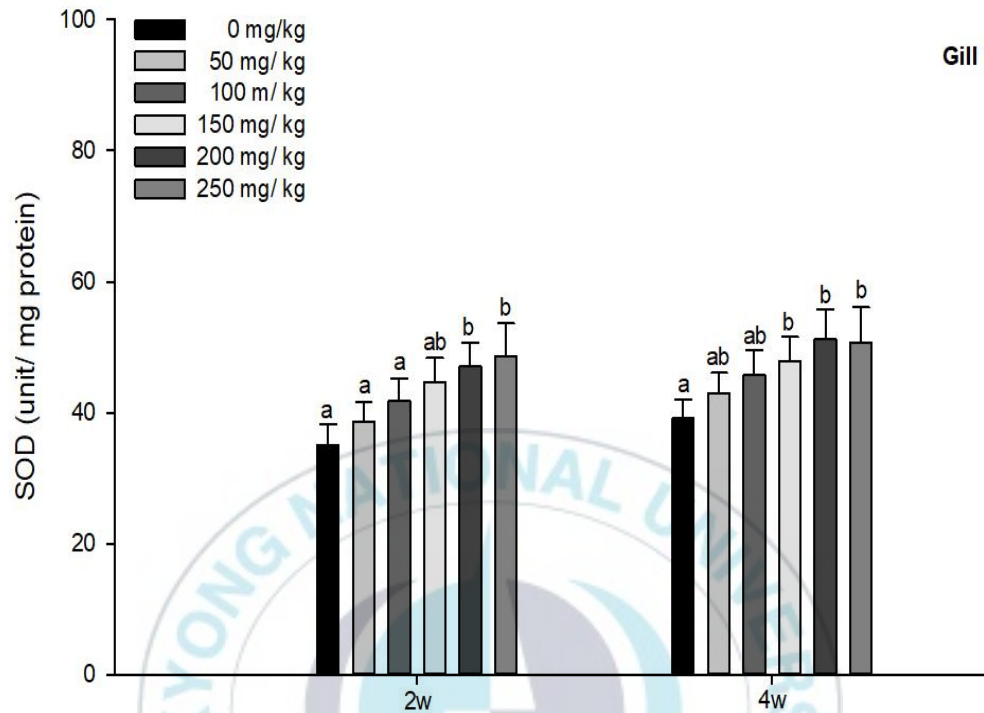


Fig. 6. SOD activity in gill of starry flounder, *Platichthys stellatus* fed to the different concentrations of dietary EGCG for 4 weeks. Values with different superscript are significantly different ($p < 0.05$) in 2 weeks and 4 weeks as determined by Duncan's multiple range test.

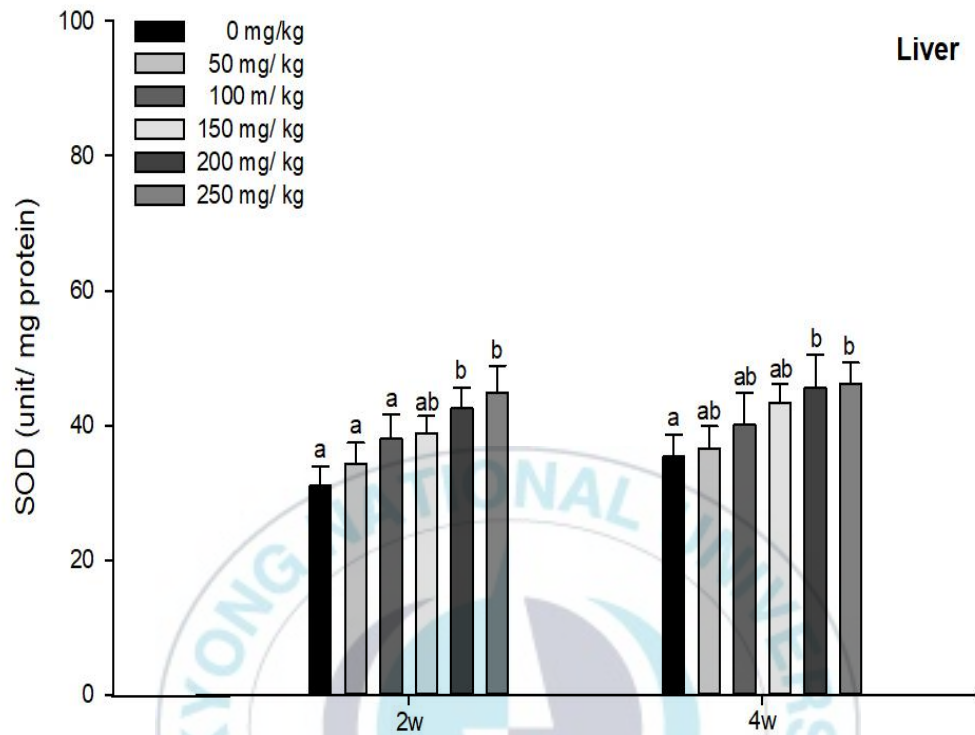


Fig. 7. SOD activity in liver of starry flounder, *Platichthys stellatus* fed to the different concentrations of dietary EGCG for 4 weeks. Values with different superscript are significantly different ($p < 0.05$) in 2 weeks and 4 weeks as determined by Duncan's multiple range test.

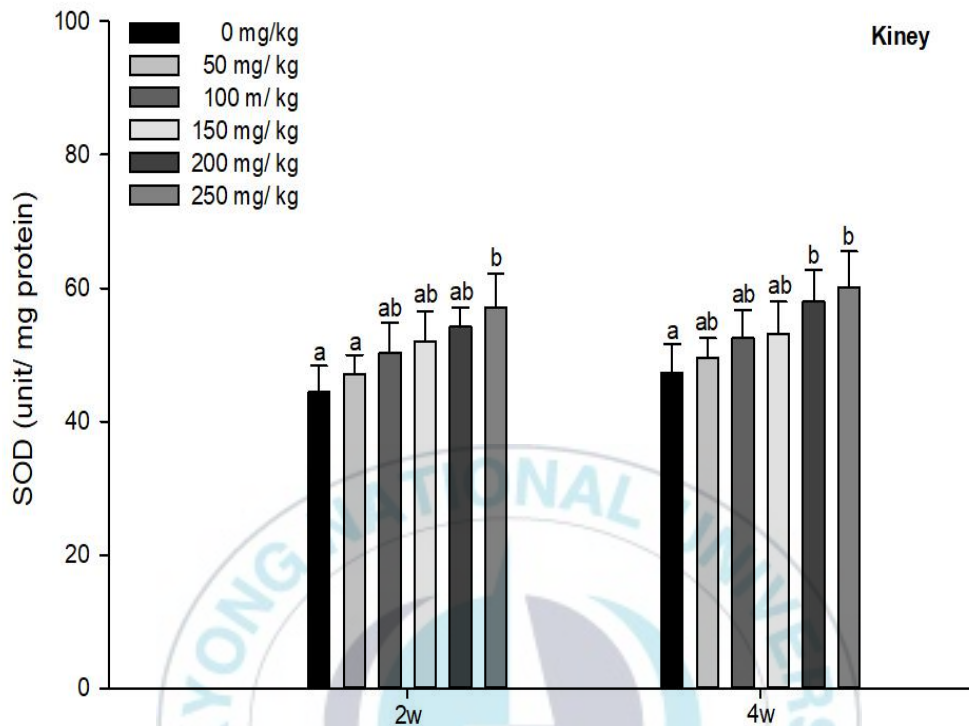


Fig. 8. SOD activity in kidney of starry flounder, *Platichthys stellatus* fed to the different concentrations of dietary EGCG for 4 weeks. Values with different superscript are significantly different ($p < 0.05$) in 2 weeks and 4 weeks as determined by Duncan's multiple rangetest.

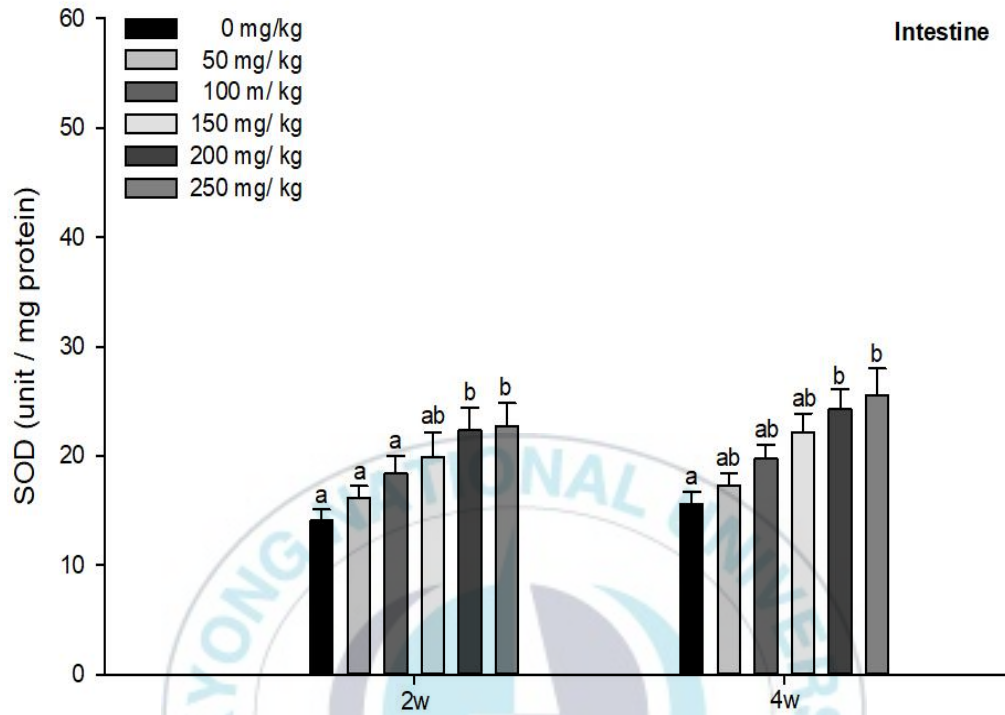
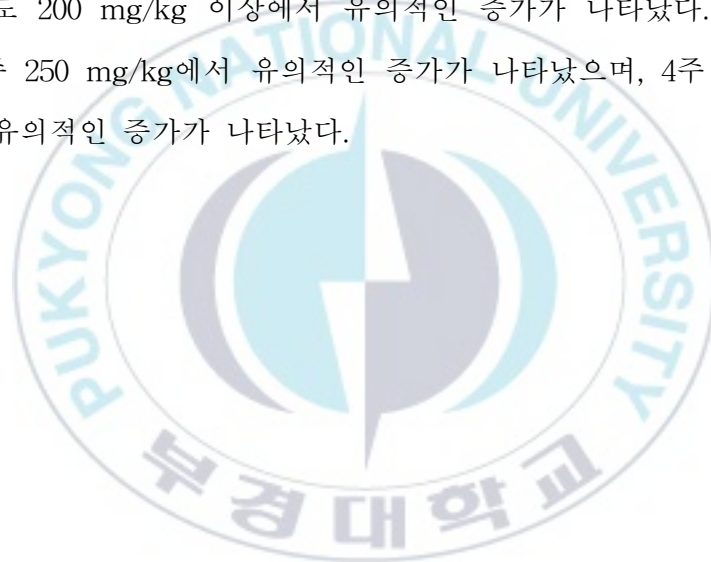


Fig. 9. SOD activity in intestine of starry flounder, *Platichthys stellatus* fed to the different concentrations of dietary EGCG for 4 weeks. Values with different superscript are significantly different ($p < 0.05$) in 2 weeks and 4 weeks as determined by Duncan's multiple range test.

3-2. Catalase (CAT)

EGCG 사료 급이에 따른 강도다리의 아가미, 간, 신장, 장 내 CAT 활성은 Fig. 10-13에 나타내었다. 아가미의 CAT 활성은 2주, 4주 EGCG 농도 200 mg/kg 이상에서 유의적인 증가가 나타났다. 간의 CAT 활성은 2주 200 mg/kg 이상에서 유의적인 증가가 나타났으며, 4주 EGCG 농도 150 mg/kg 이상에서 유의적인 증가가 나타났다. 신장의 CAT 활성은 2주, 4주 EGCG 농도 200 mg/kg 이상에서 유의적인 증가가 나타났다. 장의 CAT 활성은 2주 250 mg/kg에서 유의적인 증가가 나타났으며, 4주 200 mg/kg 이상에서 유의적인 증가가 나타났다.



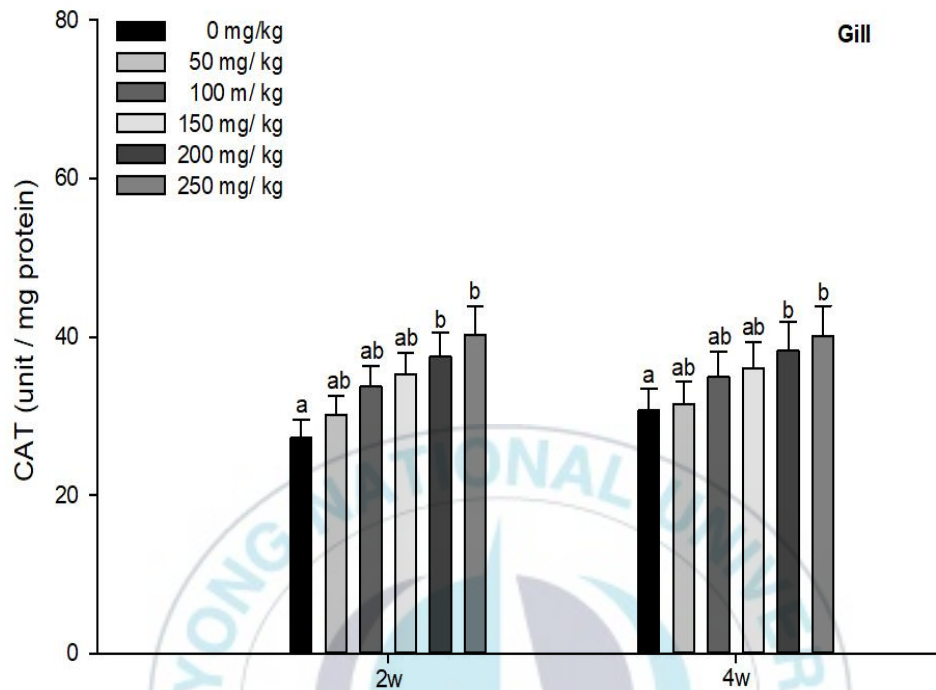


Fig. 10. CAT activity in gill of starry flounder, *Platichthys stellatus* fed to the different concentrations of dietary EGCG for 4 weeks. Values with different superscript are significantly different ($p < 0.05$) in 2 weeks and 4 weeks as determined by Duncan's multiple rangetest.

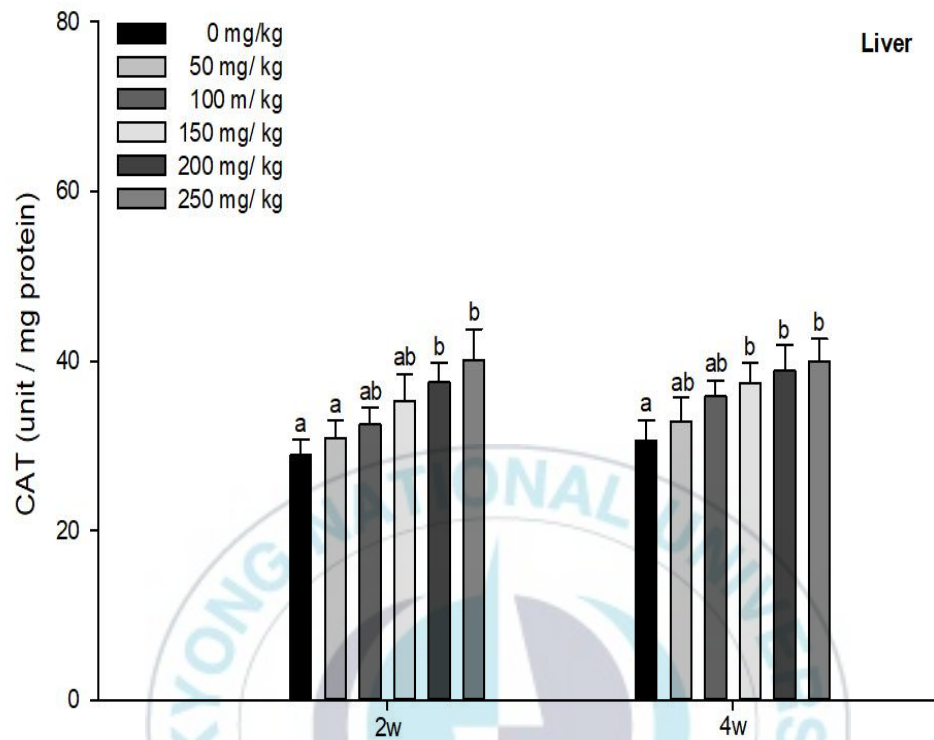


Fig. 11. CAT activity in liver of starry flounder, *Platichthys stellatus* fed to the different concentrations of dietary EGCG for 4 weeks. Values with different superscript are significantly different ($p < 0.05$) in 2 weeks and 4 weeks as determined by Duncan's multiple range test.

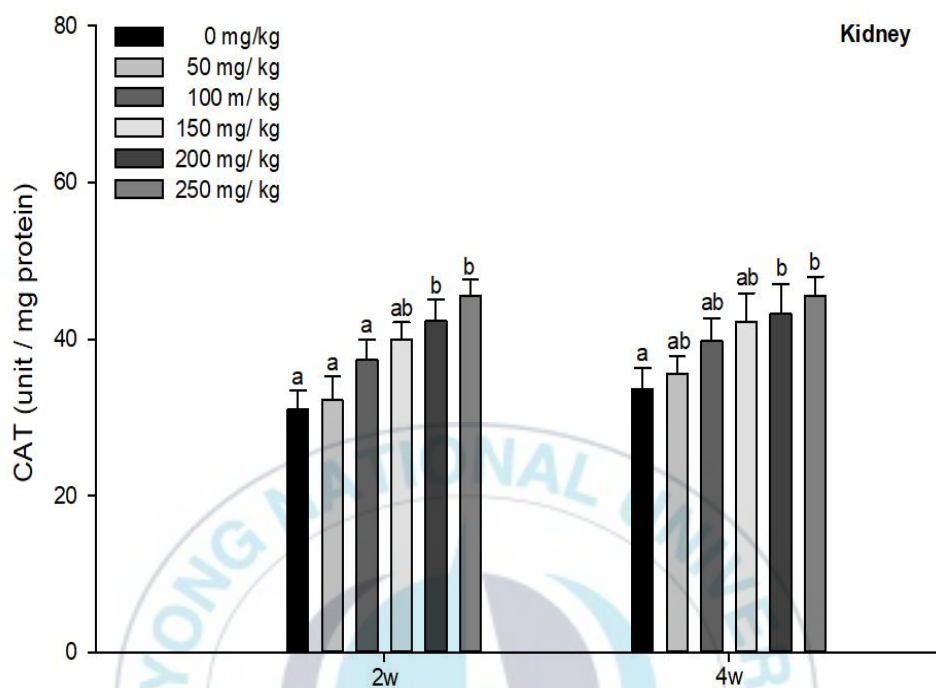


Fig. 12. CAT activity in kidney of starry flounder, *Platichthys stellatus* fed to the different concentrations of dietary EGCG for 4 weeks. Values with different superscript are significantly different ($p < 0.05$) in 2 weeks and 4 weeks as determined by Duncan's multiple range test.

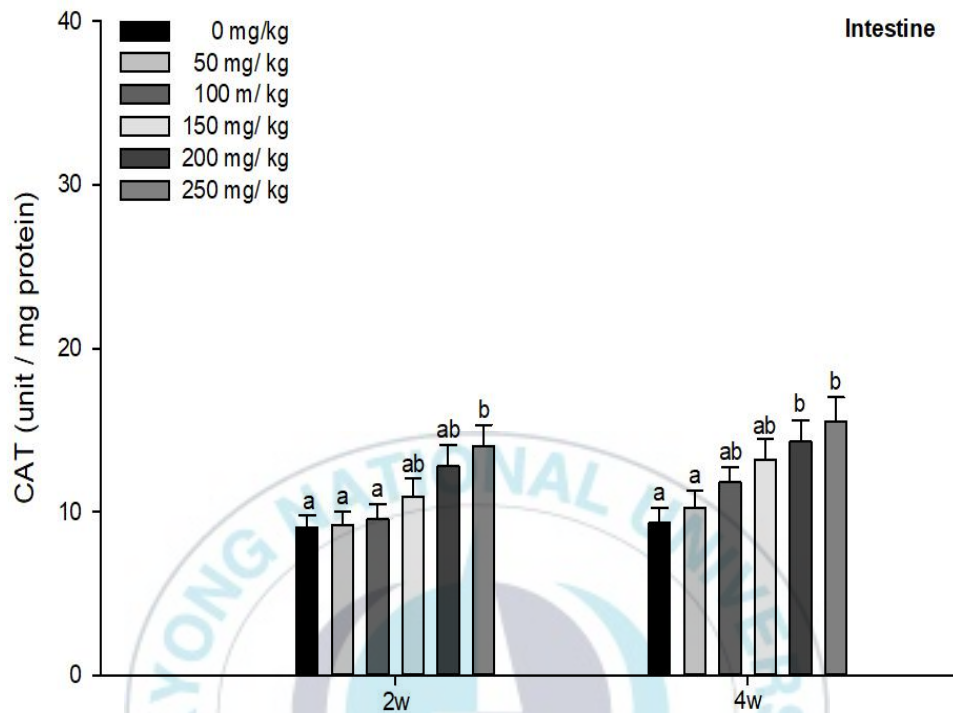


Fig. 13. CAT activity in intestine of starry flounder, *Platichthys stellatus* fed to the different concentrations of dietary EGCG for 4 weeks. Values with different superscript are significantly different ($p < 0.05$) in 2 weeks and 4 weeks as determined by Duncan's multiple range test.

4. Immune response

4-1. Lysozyme activity

EGCG 사료 급이에 따른 강도다리의 혈청 내 Isozyme 활성은 Fig. 14에 나타내었다. 혈청 내 Lysozyme 활성은 2주와 4주 EGCG 농도 200 mg/kg 이상에서 유의적인 증가가 나타났다.

4-2. Phagocytosis

EGCG 사료 급이에 따른 혈청의 phagocytosis의 변화는 Fig. 15에 나타내었다. 혈청 내 phagocytosis 결과는 2주 200 mg/kg 이상에서 유의적인 증가가 나타났으며, 4주 150 mg/kg 이상에서 유의적인 증가가 나타났다.

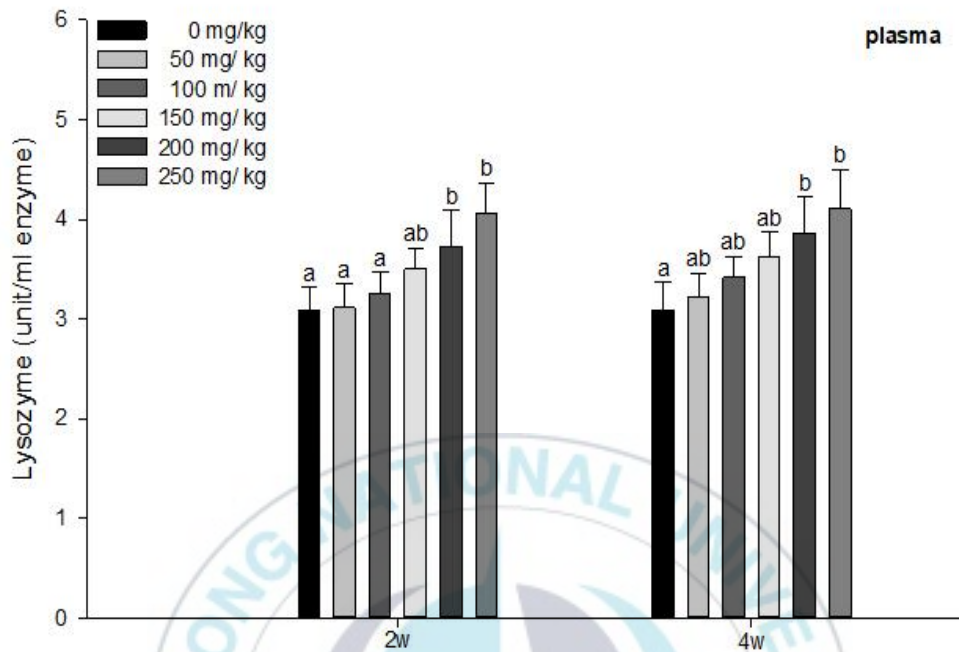


Fig. 14. Lysozyme activity in plasma of starry flounder, *Platichthys stellatus* fed to the different concentrations of dietary EGCG for 4 weeks. Values with different superscript are significantly different ($p < 0.05$) in 2 weeks and 4 weeks as determined by Duncan's multiple range test.

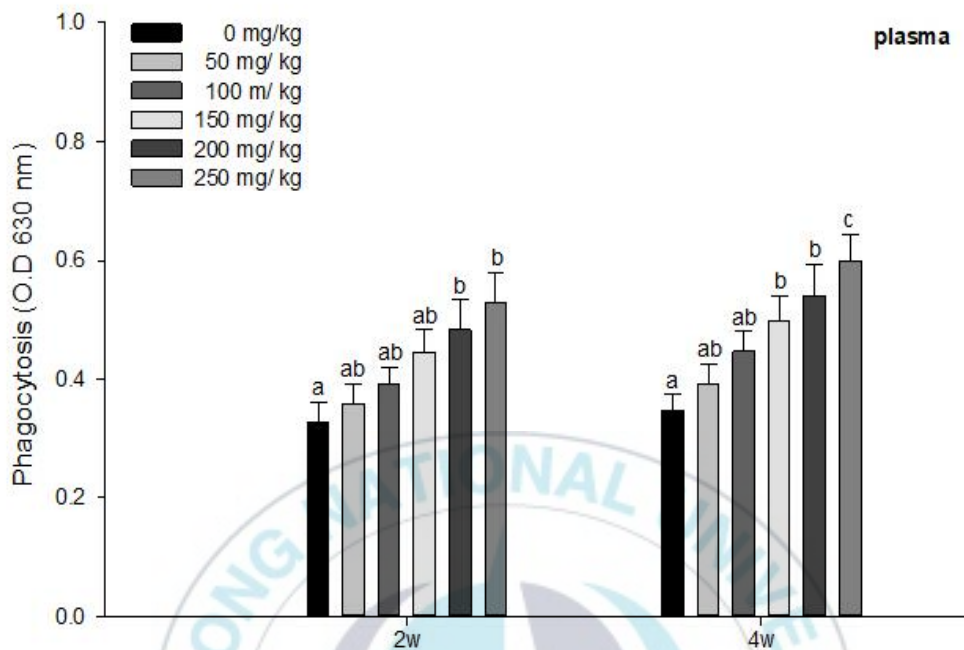


Fig. 15. Phagocytosis in plasma of starry flounder, *Platichthys stellatus* fed to the different concentrations of dietary EGCG for 4 weeks. Values with different superscript are significantly different ($p < 0.05$) in 2 weeks and 4 weeks as determined by Duncan's multiple range test.

IV. 고찰

카테킨은 녹차의 화학적 성분으로 플라보놀 구조의 페놀 화합물로 flavan-3-ol에 속하며, 플라보노이드 하위그룹으로 분류된다(Chen et al., 2001). 주요 카테킨 중 하나인 EGCG는 다양한 생리학적 활성으로 인해 항암, 항염, 항균, 항바이러스, 항산화 등에 대한 연구가 많이 이루어지고 있으며, 생리학적 활성은 수산기의 수, 갈로일기의 존재에 의한 것으로 밝혀졌다. 이러한 생리학적 활성으로 인하여 양식어류를 대상으로 점차 사료첨가제로서 면역과 항산화 활성, 성장률 개선에 대한 연구가 진행되고 있다.

어류의 성장 정도를 판단할 수 있는 항목으로는 증체량 (Body weight gain, BWG), 일일 성장률 (Specific growth rate, SGR), 간 중량지수 (Hepatosomatic index, HSI), 사료효율 (Feed efficiency ratio, FER) 등이 있다. 본 연구에서 2, 4주차 EGCG 급이에 따른 강도다리의 성장률을 확인한 결과 Body weight gain (BWG), Specific growth rate (SGR), Feed efficiency ratio (FER)은 EGCG 농도가 증가할수록 증가하는 것으로 나타났다. 이 연구 결과에 따르면 8주간 50 mg/ kg의 tea polyphenol 첨가 사료를 급이하였을 때 잉어의 성장률이 증가하였으며 500 mg/ kg을 급이하였을 때 대조군보다 낮아진 것으로 나타났다. Cho et al. (2006)의 연구 결과에 따르면 녹차 부산물 첨가 실험군을 제외한 다른 실험군(녹차 생잎, 건조잎)에서 성장 및 FER이 대조군에 비해 낮은 것으로 나타났다. 이러한 결과의 차이는 급이 농도, 급이 기간, 사료성분에 따른 차이로 생각된다. Hepatosomatic index (HSI)의 경우 감소하였으나 유의적인 변화가 나타나지 않았다. HSI의 경우, 이와 같은 결과가 Kuo et al. (2005)와

Thawonsuwan et al. (2010)의 연구에서도 보고되었으며, 쥐와 무지개송어의 HSI 값이 감소하는 경향이 나타났다.

2주, 4주 EGCG 급이에 따른 강도다리의 혈액학적 성상인 RBC, hematocrit(Ht), hemoglobin(Hb) 실험 결과, RBC count, Ht, Hb는 EGCG 급이에 따른 유의한 변화가 나타나지 않았다. 혈액학적 성상은 어체의 건강, 영양상태 및 생리학적 변화를 확인하는 지표로 사용된다. 어류의 혈액학적 성상은 환경 조건 및 식이와 같은 요인에 의해 영향을 받을 수 있다 (Patriche et al., 2011). RBC, hematocrit, hemoglobin과 같은 요인은 스트레스 요인에 노출되면 감소하는 경향이 있다. 2주, 4주 EGCG 급이에 따른 강도다리의 혈청 무기성분인 calcium (Ca), magnesium (Mg) 분석 결과, 유의한 변화가 나타나지 않았다. 혈청 무기성분인 Ca, Mg은 체내에서 이온조절 기능을 하며, 세포의 막 투과성과 체내 삼투압을 일정하게 유지하는데 필수적인 요소로(Patriche et al., 2011), Ca와 Mg의 농도변화는 삼투압 조절 능력이 영향을 받았다는 것을 의미한다(Waring et al., 1992). 2주, 4주 EGCG 급이에 따른 강도다리의 혈청 유기성분인 glucose와 total protein(TP) 실험결과, glucose의 경우 EGCG 농도 증가에 따라 감소하는 것으로 나타났다. Glucose는 스트레스 정도를 평가할 수 있는 지표로 이용되며, 스트레스와 영양상태는 glucose 수치에 영향을 미칠 수 있다 (Silbergeld, 1974; Patriche et al., 2011). 본 연구에서 혈청 glucose 수치의 감소가 나타난 이유는 EGCG가 포도당 신생합성 효소인 glucose-6-phosphatase(G6Pase)와 phosphoenolpyruvate carboxykinase (PEPCK)의 발현을 억제한다(Waltner-Law et al., 2002). 또한 EGCG의 피로갈롤형 구조에 의한 자가산화로 생성된 ROS가 5'-AMP-activated Protein Kinase(AMPK) 경로를 활성화시켜 포도당 신생합성을 억제하기

때문이다(Collins et al., 2007). 상반되는 결과로 Hlophe et al. (2014)의 연구 결과에 따르면 카테킨 농도 500mg/ kg을 급이하였을 때 잉어의 혈청 glucose 수치가 유의하게 증가였으며, 이러한 증가의 원인은 카테킨을 고 농도로 급이하여 탄닌과 같은 차 폴리페놀의 존재로 인한 항영양 요인 때문일 수 있으며, 이는 스트레스 조절을 방해하여 glucose와 cortisol의 상승으로 이어질 수 있다(Hlophe et al., 2014; Hossain et al., 2002). Total protein (TP)의 경우 EGCG 급이에 따른 변화가 나타나지 않았다. TP는 혈청 내에 함유된 여러 가지 단백질을 총칭하며, 혈청 내에는 100여 종류 이상의 단백질이 존재하고 있다. Total protein의 경우 세포의 항상성을 유지하는 역할을 하며, 생물의 영양 상태와 건강 상태를 나타내는 중요한 지표이다(Patrice et al., 2011). Matsuyama et al. (2008)의 연구 결과, 12주 및 24주간 카테킨이 풍부한 녹차 음료의 음용이 혈액 전해질인 Ca와 Mg, TP의 수치의 변화를 야기하지 않았으며, 본 연구 결과 또한 2주 및 4주간의 EGCG 급이구에서 Ca와 Mg, TP 수치의 변화가 나타나지 않았다. 이러한 결과는 카테킨이 혈액 전해질에 영향을 미치지 않았음을 나타낸다. 2주, 4주 EGCG 급이 결과, 강도다리의 GOT, GPT의 수치는 유의한 변화가 나타나지 않았다. 혈청 효소성분인 glutamic oxalate transminase (GOT), glutamic pyruvate transminase (GPT)는 간에서 분비되는 효소로써, 체내에서 중요한 당, 단백질, 지질대사에 관여하며 일반적으로 간세포의 괴사나 변성과 같은 간 손상을 평가하는 주요 지표로 사용된다. 어체의 상태가 좋지 않을수록 GOT, GPT가 증가하며, 스트레스에 의한 방어작용 중의 하나로서 GOT, GPT와 같은 효소들의 값이 상승한다. 본 연구와 유사한 결과로 녹차잎 2.5% 첨가 식이를 27주와 63주간 시행한 결과 쥐의 GOT, GPT 수치 변화는 나타나지 않았으며, 이러한 결과는 녹차잎 2.5% 첨가 식이가

간 기능 장애를 일으키지 않았음을 나타낸다(Lin et al., 1998).

2주, 4주 EGCG 급이 결과, 강도다리의 SOD, CAT 활성은 아가미, 간, 신장, 장 조직에서 EGCG 농도가 증가함에 따라 유의적으로 증가하는 것으로 나타났다. In vivo 실험에 따르면 카테킨이 쥐의 CAT, SOD 수준을 증가시킬 수 있으며, 카테킨이 산화환원 효소의 발현을 조절하고 항산화 능력을 개선할 수 있는 것으로 나타났다(Ahmed et al., 2017; Negishi et al., 2004). 산소는 호기성 생물체에 필수적인 요소로, 에너지를 만드는 과정, 효소 반응, 오염물질의 노출 등에 의해 유해성 산소인 활성산소(Reactive oxygen species, ROS)를 생성한다. 활성산소는 홀전자를 가져 빠른 반응성을 보이며, 인접한 세포를 빠르게 공격해 DNA, 단백질, 탄수화물 등을 손상시키며, 생물의 항상성 유지에 손상을 줄 수 있다. 이러한 산화 스트레스는 활성산소 생성 속도가 제거 속도를 초과할 때 발생한다(Sies, 1986). 카테킨은 자유 라디칼에 대해 직·간접적인 작용을 가지고 있다(Yan et al., 2020). 직접적인 반응은 카테킨이 자유 라디칼 반응하여 비교적 안정적인 페놀성 산소 라디칼을 형성하여 자유 라디칼을 제거한다. 카테킨 구조의 벤젠 고리에 있는 파이전자(π -electron)는 페놀성 수산기의 산소 원자에 있는 홀전자에 비편재 효과를 가지며, 홀전자는 벤젠 고리로 향하는 경향이 있어 페놀성 수산기의 수소-산소 결합의 활성을 감소시켜 페놀성 수산기의 수소 활성 증가로 자유 라디칼과 활성산소를 두고 경쟁하여 자유 라디칼의 자동 산화 반응을 끝낸다(Yan et al., 2020). 간접적인 작용은 다양한 산화효소와 항산화 효소의 활성을 조절하여 산화 손상으로부터 보호하는 것이다. 카테킨은 xanthine oxidase (Rashidinejad et al., 2016)와 nicotinamide adenine dinucleotide phosphate(NADPH) oxidase(Zuo et al., 2014), cyclic oxidase(Frei and Higdon, 2003),

lipoxidase를 억제할 수 있고, SOD, CAT와 같은 내인성 항산화 효소의 활성을 증가시킬 수 있으며(Sinha et al., 2010), 이러한 항산화 효소는 Nrf2 (Nuclear factor erythroid-derived 2-related factor)에 의해 조절된다(de Vries et al., 2008). 이러한 EGCG의 직·간접적인 작용으로 인해 질병, 스트레스 등의 요인에 의해 유발되는 산화 스트레스를 예방할 수 있을 것으로 생각된다.

2주와 4주 EGCG 급이 결과 강도다리의 lysozyme 활성과 phagocytosis는 EGCG 농도가 증가할수록 유의적으로 증가하였다. 면역은 체내 항상성 유지와 세균, 바이러스 등으로부터의 감염에 대해 신체를 보호하는 중요한 방어체계이다. 면역은 비특이적 면역과 특이적 면역으로 나누어진다. 비특이적 면역은 어류의 면역체계는 환경변화, 질병 감염 등의 다양한 스트레스 조건에 의해 영향을 받을 수 있다. 양식에서 사육밀도, 운송, 수질과 같은 요인은 양식어에 대한 스트레스의 가장 흔한 원인이 된다(Saurabh & Sahoo, 2007). Lysozyme과 phagocytosis는 어류에서 중요한 비특이적 면역반응이다. Lysozyme의 경우 그람 양성균과 일부 그람 음성균의 세포벽에 존재하는 펩티도글리칸층을 파괴하는 용혈 작용을 한다. Cho et al. (2006)은 건조된 녹차잎과 생잎, 녹차 부산물을 첨가한 사료를 넙치에 급이하였을 때 대조군에 비해 높은 lysozyme 활성이 나타났음을 보고하였고, Sheikhzadeh et al.(2011)은 카페인이 없는 녹차는 무지개송어의 lysozyme 활성 증가와 같은 특정 면역반응에 대한 긍정적인 효과를 보고하였다. 또한, Tawonsuwan et al.(2010)은 EGCG 급이가 무지개송어의 lysozyme 활성을 증가시킨다고 보고하였다. Phagocytosis는 체내로 침입하는 이물질, 병원체와 같은 다양한 요인에 영향을 받는 어류의 건강 상태 및 면역반응을 평가하는 지표로 사용된다(Risjani et al., 2014). 카테킨은 caspase의 활

성을 유도하는 것으로 알려졌으며(Saeki et al., 2000), EGCG의 pyrogallol
형 B-ring 또는 갈로일기와 같은 피로갈롤형 구조가 카스파제 신호전달
경로(caspase signaling pathways)를 통해 수지상 세포와 같은 대식세포의
식세포 활성을 증가시킨다(Monobe et al., 2010).

본 연구 결과 EGCG 급이는 강도다리의 성장률 증가와 항산화 효소 활
성 증가, 면역반응을 증가시켰으며, 이러한 결과는 양식어류의 항산화 기능
과 면역 자극 가능성 측면에서 사료첨가제로서 EGCG의 추가 연구 가능성
이 있음을 시사하며, 어류에 있어서 EGCG 연구의 기초 자료로 사용할 수
있을 것으로 판단된다.



V. 요약

카테킨은 항산화, 항염, 항암, 항균, 항바이러스와 같은 다양한 생리학적 활성을 가져 어류에서 면역증강을 위한 사료첨가제로서 연구되고 있으며, 카테킨의 급이가 어류의 성장을 촉진하고 내병성을 증가시키는 효과가 확인되어 본 연구에서는 녹차의 주요 카테킨 중 하나인 EGCG를 급이하여 강도다리에서 혈액학적 성상, 항산화 및 면역반응의 변화를 분석하였다.

EGCG 급이에 따른 혈액학적 성상, 항산화 및 면역반응의 변화를 확인하기 위하여 강도다리(전장 16.4cm, 체중 81.8 ± 0.9 g)를 사용하여 EGCG 농도 0, 50, 100, 150, 200, 250 mg/kg 으로 사료 제작 후 급이하였다. 실험어는 2주간의 순치 후 각 구간에 EGCG 사료를 급이하여 각각 2주와 4주에 샘플링을 실시하였으며, 실험 전 체중과 체장을 측정 후 2주와 4주 샘플링을 실시할 때 체중과 체장을 측정하여 Body weight gain (BWG), Specific growth rate (SGR), Hepatosomatic index(HSI), Feed efficiency ratio (FER)로 성장 인자를 확인하였다. 샘플링 시 혈액은 채취한 즉시 전혈을 사용하여 RBC count, Hb 농도, Ht 수치를 확인하였으며, 혈청을 분리하여 유기성분인 혈당과 총단백질, 무기성분인 칼슘과 마그네슘, 효소성분인 GOT와 GPT, 비특이적 면역반응인 lysozyme 활성과 phagocytosis를 측정하였다. 또한 샘플링 한 아가미, 간, 신장, 장 조직을 이용해 SOD와 CAT 활성의 변화를 확인하였다.

위 실험에 따른 결과로 성장 요인인 BWG, SGR, FER은 유의적인 증가가 나타났으며, HSI는 유의적인 변화가 나타나지 않았다. RBC, Hb, Ht의

경우 유의적인 변화가 나타나지 않았다. 혈청 분석의 경우 칼슘과 마그네슘, total protein은 유의적인 변화가 없었으며, glucose는 감소하였다. 혈청 효소성분인 GOT, GPT의 경우 유의적인 변화가 나타나지 않았다. 항산화 효소인 SOD와 CAT의 경우 아가미, 간, 신장, 장 모두 유의적인 증가가 나타났으며, 면역반응인 lysozyme 활성과 phagocytosis의 경우 유의적으로 증가하는 것을 확인할 수 있었다.



VI. 참고문헌

- Abdel Tawwab, M., Ahmad, M. H., Seden, M. E., & Sakr, S. F. (2010). Use of green tea, *Camellia sinensis* L., in practical diet for growth and protection of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.), against *Aeromonas hydrophila* infection. *Journal of the World Aquaculture Society*, 41, 203-213.
- Ahmed, N. A., Radwan, N. M., Aboul Ezz, H. S., & Salama, N. A. (2017). The antioxidant effect of Green Tea Mega EGCG against electromagnetic radiation-induced oxidative stress in the hippocampus and striatum of rats. *Electromagnetic Biology and Medicine*, 36(1), 63-73.
- Bhagwat, S., Haytowitz, D. B., & Holden, J. M. (2011). USDA database for the flavonoid content of selected foods, release 3. US Department of Agriculture: Beltsville, MD, USA, 159.
- Cabrera, C., Artacho, R., & Giménez, R. (2006). Beneficial effects of green tea—a review. *Journal of the American College of Nutrition*, 25(2), 79-99.
- Liuji Chen, Xianqiang Yang, Park Jaeil, Shengrong Shen, Yuefei Wang.(2001).녹차 카테킨의 자유 라디칼(Free Radicals) 소거(消去) 메커니즘.한국식품과학회 심포지엄,(),121-129.

Cho, S. H., Lee, S. M., Park, B. H., Ji, S. C., Kwon, M. G., Kim, Y. C., ... & Han, H. K. (2006). Effect of dietary inclusion of various sources of green tea on immune system and challenging test of juvenile olive flounder *Paralichthys olivaceus*. *Journal of Aquaculture*, 19(2), 84-89.

Chyung, M. K. 1977. The fishes of Korea, Iljisa, Seoul, Korea, 570pp

Colon, M., & Nerin, C. (2012). Role of catechins in the antioxidant capacity of an active film containing green tea, green coffee, and grapefruit extracts. *Journal of agricultural and food chemistry*, 60(39), 9842-9849.

Collins, Q. F., Liu, H. Y., Pi, J., Liu, Z., Quon, M. J., & Cao, W. (2007). Epigallocatechin-3-gallate (EGCG), a green tea polyphenol, suppresses hepatic gluconeogenesis through 5'-AMP-activated protein kinase. *Journal of Biological Chemistry*, 282(41), 30143-30149.

de Vries, H. E., Witte, M., Hondius, D., Rozemuller, A. J., Drukarch, B., Hoozemans, J., & van Horssen, J. (2008). Nrf2-induced antioxidant protection: a promising target to counteract ROS-mediated damage in neurodegenerative disease?. *Free Radical Biology and Medicine*, 45(10), 1375-1383.

Esteban, M. Á., Cuesta, A., Chaves-Pozo, E., & Meseguer, J. (2015). Phagocytosis in teleosts. Implications of the new cells involved. *Biology*, 4(4), 907-922.

- Frei, B., & Higdon, J. V. (2003). Antioxidant activity of tea polyphenols in vivo: evidence from animal studies. *The Journal of nutrition*, 133(10), 3275S-3284S.
- Geetha, T., Garg, A., Chopra, K., & Kaur, I. P. (2004). Delineation of antimutagenic activity of catechin, epicatechin and green tea extract. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 556(1-2), 65-74.
- Graham, H. N. (1992). Green tea composition, consumption, and polyphenol chemistry. *Preventive medicine*, 21(3), 334-350.
- Hwang, J. H., Lee, S. W., Rha, S. J., Yoon, H. S., Park, E. S., Han, K. H., & Kim, S. J. (2013). Dietary green tea extract improves growth performance, body composition, and stress recovery in the juvenile black rockfish, *Sebastes schlegeli*. *Aquaculture International*, 21(3), 525-538.
- Jung, S.J., Lee, J.H., Song, H.N., Seong, N.S., Lee, S.E. and Baek, N.I. Screening for antioxidant activity of plant medicinal extracts. *J. Korean Soc. Appl. Biol. Chem.* 47(1):135-140, 2004
- Khan, N., & Mukhtar, H. (2008). Multitargeted therapy of cancer by green tea polyphenols. *Cancer letters*, 269(2), 269-280.
- Khan, N., Afaq, F., Saleem, M., Ahmad, N., & Mukhtar, H. (2006). Targeting multiple signaling pathways by green tea polyphenol

(-)-epigallocatechin-3-gallate. *Cancer research*, 66(5), 2500-2505.

Kuo, K. L., Weng, M. S., Chiang, C. T., Tsai, Y. J., Lin-Shiau, S. Y., & Lin, J. K. (2005). Comparative studies on the hypolipidemic and growth suppressive effects of oolong, black, pu-erh, and green tea leaves in rats. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(2), 480-489.

Lambert JD, Yang CS. Mechanisms of cancer prevention by tea constituents. *J. Nutr.* 133: 3262-3267 (2003)).

Lee, M.J. and Moon, G.S. Antioxidative effects of korean bamboo trees, Wang-dae, Som-dae, Maengjong-juk, Jolit-dae and O-juk. *KOREAN J. FOOD SCI. TECHNOL* 35(6):1226-1232, 2003

Lim, H. K., Byun, S. G., Lee, J. H., Park, S. U., Kim, Y. C., Han, H. K., Min, B. H. and Lee, B. Y. 2007. Sexual maturity and reproductive cycle of starry flounder *Platichthys stellatus* cultured in indoor tank. *J Aquaculture*. 20: 212-218.

Lim, K.T. and Shim, J.H. Antioxidative effects of ethanol extracts from *Rhus Verniaiflua* Stokes (RVS) on mouse whole brain cells. *J. Food Sci. Technol.* 29, pp 1248-1254, 1997

Lin, J. K., Lin, C. L., Liang, Y. C., Lin-Shiau, S. Y., & Juan, I. M. (1998). Survey of catechins, gallic acid, and methylxanthines in green, oolong, pu-erh, and black teas. *Journal of agricultural and food chemistry*, 46(9), 3635-3642.

- Lin, J. K., & Lin Shiau, S. Y. (2006). Mechanisms of hypolipidemic and anti obesity effects of tea and tea polyphenols. *Molecular nutrition & food research*, 50(2), 211-217.
- Lin, X., Chen, W., Lin, S., & Luo, L. (2015). Effects of dietary cecropin on growth, non specific immunity and disease resistance of tilapia (*O reochromis niloticus*× *O. aureus*). *Aquaculture Research*, 46(12), 2999-3007.
- Lin, Y. L., Cheng, C. Y., Lin, Y. P., Lau, Y. W., Juan, I. M., & Lin, J. K. (1998). Hypolipidemic effect of green tea leaves through induction of antioxidant and phase II enzymes including superoxide dismutase, catalase, and glutathione S-transferase in rats. *Journal of Agricultural and food chemistry*, 46(5), 1893-1899.
- Lorenz, M. (2013). Cellular targets for the beneficial actions of tea polyphenols. *The American journal of clinical nutrition*, 98(6), 1642S-1650S.
- MacraeR., Robinson, R.K. and Sadler, M.J. (edit). *Tea In : Encyclopedia of food Science, Food Technology and Nutrition*, published by Harcount Brace Jovanovich. Academic Press. UK. pp 4521-4542, 1993..
- Matsumoto, N., Ishigaki, F., Ishigaki, A., Iwashina, H., & Hara, Y. (1993). Reduction of blood glucose levels by tea catechin. *Bioscience, biotechnology, and biochemistry*, 57(4), 525-527.

- Matsuyama, T., Tanaka, Y., Kamimaki, I., Nagao, T., & Tokimitsu, I. (2008). Catechin safely improved higher levels of fatness, blood pressure, and cholesterol in children. *Obesity*, 16(6), 1338-1348.
- Möck, A., & Peters, G. J. J. O. F. B. (1990). Lysozyme activity in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum), stressed by handling, transport and water pollution. *Journal of Fish Biology*, 37(6), 873-885.
- Monobe, M., Ema, K., Tokuda, Y., & Maeda-Yamamoto, M. (2010). Enhancement of phagocytic activity of macrophage-like cells by pyrogallol-type green tea polyphenols through caspase signaling pathways. *Cytotechnology*, 62(3), 201-203.
- Musial, C., Kuban-Jankowska, A., & Gorska-Ponikowska, M. (2020). Beneficial properties of green tea catechins. *International journal of molecular sciences*, 21(5), 1744.
- Negishi, H., Xu, J. W., Ikeda, K., Njelekela, M., Nara, Y., & Yamori, Y. (2004). Black and green tea polyphenols attenuate blood pressure increases in stroke-prone spontaneously hypertensive rats. *The Journal of nutrition*, 134(1), 38-42.
- Patriche, T., Patriche, N., Bocioc, E., & Coadă, M. T. (2011). Serum biochemical parameters of farmed carp (*Cyprinus carpio*). *Aquaculture, Aquarium, Conservation & Legislation*, 4(2), 137-140.

- Rady, I., Mohamed, H., Rady, M., Siddiqui, I. A., & Mukhtar, H. (2018). Cancer preventive and therapeutic effects of EGCG, the major polyphenol in green tea. *Egyptian Journal of Basic and Applied Sciences*, 5(1), 1-23.
- Rashidinejad, A., Birch, E. J., & Everett, D. W. (2016). Green tea catechins suppress xanthine oxidase activity in dairy products: An improved HPLC analysis. *Journal of Food Composition and Analysis*, 48, 120-127.
- Reygaert, W. C. (2014). The antimicrobial possibilities of green tea. *Frontiers in microbiology*, 5, 434.
- 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.
- Saeki, K., Hayakawa, S., Isemura, M., & Miyase, T. (2000). Importance of a pyrogallol-type structure in catechin compounds for apoptosis-inducing activity. *Phytochemistry*, 53(3), 391-394.
- Saito, M., Saito, K., Kunisaki, N., & Kimura, S. (2002). Green tea polyphenols inhibit metalloproteinase activities in the skin, muscle, and blood of rainbow trout. *Journal of agricultural and food chemistry*, 50(24), 7169-7174.
- Saurabh, S., & Sahoo, P. K. (2007). Ich (white spot) disease in carps. *Aqua International*, 14, 27-19.

- Scalbert, A., & Williamson, G. (2000). Dietary intake and bioavailability of polyphenols. *The Journal of nutrition*, 130(8), 2073S-2085S.
- Sheikhzadeh, N., Nofouzi, K., Delazar, A., & Oushani, A. K. (2011). Immunomodulatory effects of decaffeinated green tea (*Camellia sinensis*) on the immune system of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Fish & shellfish immunology*, 31(6), 1268-1269.
- Sies, H. (1986). Biochemistry of oxidative stress. *Angewandte Chemie International Edition in English*, 25(12), 1058-1071.
- Singh, B. N., Shankar, S., & Srivastava, R. K. (2011). Green tea catechin, epigallocatechin-3-gallate (EGCG): mechanisms, perspectives and clinical applications. *Biochemical pharmacology*, 82(12), 1807-1821.
- Sinha, D., Roy, S., & Roy, M. (2010). Antioxidant potential of tea reduces arsenite induced oxidative stress in Swiss albino mice. *Food and chemical toxicology*, 48(4), 1032-1039.
- Sinija, V. R., & Mishra, H. N. (2008). Green tea: Health benefits. *Journal of Nutritional & Environmental Medicine*, 17(4), 232-242.
- Shim, J.H., Park, M.W., Kim, M.R., Lim, K.T. and Park, S.T. Screening of antioxidant in *Fructus mune* (*Prunus mune* Sieb. et Zucc.) extract. *J. Korean Soc. Agric. Chem. Biotechnol.* 45(2):119-123, 2002.

- Talebi, M., Talebi, M., Farkhondeh, T., Mishra, G., Ilgün, S., & Samarghandian, S. (2021). New insights into the role of the Nrf2 signaling pathway in green tea catechin applications. *Phytotherapy Research*, 35(6), 3078–3112.
- Taylor, P. W., Hamilton-Miller, J. M., & Stapleton, P. D. (2005). Antimicrobial properties of green tea catechins. *Food science and technology bulletin*, 2, 71.
- Thawonsuwan, J., Kiron, V., Satoh, S., Panigrahi, A., & Verlhac, V. (2010). Epigallocatechin-3-gallate (EGCG) affects the antioxidant and immune defense of the rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Fish physiology and biochemistry*, 36(3), 687–697.
- Waltner-Law, M. E., Wang, X. L., Law, B. K., Hall, R. K., Nawano, M., & Granner, D. K. (2002). Epigallocatechin gallate, a constituent of green tea, represses hepatic glucose production. *Journal of Biological Chemistry*, 277(38), 34933–34940.
- Wolfram, S. (2007). Effects of green tea and EGCG on cardiovascular and metabolic health. *Journal of the American College of Nutrition*, 26(4), 373S–388S.
- Xu, X., Pan, J., & Zhou, X. (2014). Amelioration of lipid profile and level of antioxidant activities by epigallocatechin-gallate in a rat model of atherogenesis. *Heart, Lung and Circulation*, 23(12), 1194–1201.

- Yan, Z., Zhong, Y., Duan, Y., Chen, Q., & Li, F. (2020). Antioxidant mechanism of tea polyphenols and its impact on health benefits. *Animal Nutrition*, 6(2), 115–123.
- Yang, C. S., Lambert, J. D., & Sang, S. (2009). Antioxidative and anti-carcinogenic activities of tea polyphenols. *Archives of toxicology*, 83(1), 11–21.
- Zaveri, N. T. (2006). Green tea and its polyphenolic catechins: medicinal uses in cancer and noncancer applications. *Life sciences*, 78(18), 2073–2080.
- Zhong, L., Hu, Y., Hu, Y., Li, J., Tian, Y., Chen, J., ... & Xiao, T. (2020). Effects of dietary tea polyphenols on growth, immunity and lipid metabolism of juvenile black carp *Mylopharyngodon piceus*. *Aquaculture Research*, 51(2), 569–576.
- Zhou, Y. B., Sang, B. Y., Wan, X. C., Yang, Y. O., Zhang, J. L., Welker, T. L., & Liu, K. (2015). Effect of dietary Chinese tea on growth performance, disease resistance and muscle fatty acid profile of channel catfish (*Ictalurus punctatus*). *Aquaculture International*, 23(2), 683–698.
- Zuo X., Tian C., Zhao N., Ren W., Meng Y., Jin X. Tea polyphenols alleviate high fat and high glucose-induced endothelial hyperpermeability by attenuating ros production via nadph oxidase pathway. *BMC Res Notes*. 2014;7:1 - 8. doi: 10.1186/1756-0500-7-120.