

## 넙치에서 방사선을 조사한 병원성 세균 오염사료 투여의 효과

김세라 · 김성호<sup>1</sup>

전남대학교 수의과대학, 생물공학연구소

### The Effect of Food Treated with Gamma Radiation after Inoculation with Pathogenic Bacteria in the Flounder (*Paralichthys olivaceus*)

Se-ra Kim and Sung-ho Kim<sup>1</sup>

College of Veterinary Medicine, Biotechnology Research Institute, Chonnam National University

**Abstract :** This study was examined the microbiological adequacy of fish feed treated with high-dose irradiation (5 kGy). 125 flounder (*Paralichthys olivaceus*) were grouped into 5 and then the fishes were fed the following feeds for 28 days: (1)standard feed; (2)standard feed, inoculated with *Edwardsiella tarda* ( $1 \times 10^8$ - $1 \times 10^9$  CFU/g of feed); (3)standard feed, inoculated with *Vibrio anguillarum* ( $1 \times 10^8$ - $1 \times 10^9$  CFU/g of feed); (4)standard feed, inoculated with *Streptococcus faecalis* ( $1 \times 10^8$ - $1 \times 10^9$  CFU/g of feed); (5)standard feed, inoculated with *Edwardsiella tarda*, *Vibrio anguillarum* and *Streptococcus faecalis*, and then irradiated the mixed feed to 5 kGy. The flounders feed the mixed diet with *Edwardsiella tarda*, *Vibrio anguillarum* or *Streptococcus faecalis* inoculated feed were showed severe cumulative mortalities of 60, 48 and 52%, respectively. The gross and histological changes were observed on the fishes. However, fish fed with the feed of bacteria inoculation before irradiation demonstrated excellent protection against the bacteria-related disease. The results from experiments with bacteria inoculated feed indicated that the irradiation methods employed were capable of preventing contamination of the fishes with pathogenic bacteria.

**Key words :** gamma-radiation, *Edwardsiella tarda*, *Vibrio anguillarum*, *Streptococcus faecalis*, fish feed

## 서 론

어류양식업의 급격한 성장에도 불구하고 빈발하는 질병은 어류양식업의 발전을 저해하는 장애요인으로 대두되고 있다. 질병의 치료에는 항생물질을 비롯하여 몇몇 화학요법제가 사용되고 있으나, 이들 약제의 오용과 남용은 약제내성균의 출현으로 질병의 치료를 어렵게 할 뿐만 아니라 양식어민의 경제적 부담, 수질오염 등의 환경문제와 어체의 잔류독성 물질에 의한 공중위생학적 영향이 심각하게 문제시되고 있는 상황이다. 따라서 질병의 치료보다는 예방에 중점을 둔 사육방법의 개발이 절실히 있다<sup>9,12,26,28,29</sup>.

어류양식에서 질병발생은 여러가지의 경로에 의한다. 이중에서 사육수내의 병원성 미생물 오염과 병원성 미생물 오염사료에 의한 감염이 큰부분을 차지하고 있다. 사육수의 오염은 소독제의 사용, 오존발생장치의 적용, 자외선 살균등의 장착, 사육수의 순환 및 여과 등 의 방법으로 대처하고 있다. 그러나 사료의 대부분을 차지하는 생어사료는 동종간의 먹이시슬에 해당되고 따라서 병원성 미생물을 가진 생어사료 공급시 직접적으로 경구감염되어 별병하기도하고 이차적 사육수오염에 따라 발병이 된다<sup>11,17,28,29</sup>. 생어사료의 멸균을 위한 방법은 경제적, 노동력의 한계에 따라 대책이 없는 실정

이며, 질병예방의 차원에서 무분별한 항생제의 남용에 따른 어체의 오염과 인간에 미치는 공중보건학적 문제, 내성균의 출현 등 많은 문제점을 야기하고 있다. 따라서 효과적인 사료의 위생화가 양식산업의 발전에 필수적이다.

과거 감마선 조사기술의 이용은 주로 발아, 발근억제 및 숙도지연 등과 같은 저장성 향상을 목적으로 사용되어 왔으나, 최근에 이르러서는 병원성 미생물 살균기술이나 저장해충 구제의 목적으로 주로 이용되고 있다<sup>20</sup>. 감마선 조사식품의 안전성(safety) 평가는 발암성 등의 만성적 건강장애를 포함한 독성학적 안전성 (toxicological safety)과 생명유지 및 건강증진에 필요한 식품 본래의 영양학적 적합성 (nutritional adequacy), 미생물학적 안전성 (microbiological safety) 등 주요한 범주에 대한 안전성이 지난 50여년간 국제적인 프로젝트로 종합적인 검토와 함께 지속적으로 연구되어 왔다<sup>1,3,6,7,19,21,22</sup>.

방사선조사는 1970년대부터 의료기기 및 실험기기의 멸균 또는 항신료, 과채류, 육류, 일부 실험동물의 사료 등을 포함하는 여러 식품의 보존성 향상과 품질개선을 위해 연구되어 왔다. 최근 국제기관 (FAO/WHO/IAEA, ICGFI, FDA 등)과 주요 선진국에서는 방사선 조사기법의 효과와 활용 잠재력을 인정하여 식품위생화를 위한 대체방안으로 방사선 조사 기술의 실용화 확대를 적극 추진하고 있으며, 방사선 조사식품의 전전성을 공인하고 허가함에 따라 그 이용이 크게 증가하는 추세로 1998년 현재 40개국에서 200여종의 식품류

<sup>1</sup>Corresponding author.

E-mail : shokim@chonnam.ac.kr

에 방사선 조사를 허가하였고, 이 중 29개국이 상업적 규모로 본 기술을 실용화하고 있다. 국내에서는 상업적 방사선 조사 시설 1기가 1987년부터 가동되고 있으며 1996년 현재 13개 식품 품목군에 대한 방사선 조사가 보건복지부로부터 상업적 이용이 허가되었으며 최근 허가의 대상 품목이 확대되고 있다. 그러나 이러한 허가 품목이 일부 건강보조식품원료와 기초 향신료 및 가공원료에 편중되어 있어서 방사선 조사에 대한 산업적 활성화에 커다란 효과를 주지 못하고 있다<sup>1,22</sup>.

방사선 조사 식품에 대한 연구는 대부분 사람의 식품을 대상으로 한 연구이며 동물사료에 대한 방사선의 조사는 주로 소형 무균실험동물의 사육을 위하여 실시되었고 일부 닭 및 돼지의 사료를 대상으로 실험적으로 적용되고 있는 실정이며 양어사료에 대한 실제 적용 예는 전무하다<sup>5,10,15,16,23</sup>. 따라서 방사선 조사의 산업적 적용의 다양화와 동물사료의 위생화라는 관점에서 다양한 동물사료를 대상으로 한 연구가 요구된다.

저자 등은 양어용 사료로 이용되는 생어사료와 배합사료에 방사선을 조사하여 어류에서 주요 병원성세균의 방사선 민감도를 파악하였고<sup>24</sup>, 방사선 조사가 사료의 조성분 변화에 미치는 영향, 방사선조사 또는 자연산화에 의한 사료의 산폐 정도 및 BHA에 의한 산화지연 효과를 관찰한 바 있다<sup>25</sup>. 따라서 본 연구에서는 넙치를 사용하여 어류에 대한 병원성 미생물 오염사료 및 미생물오염 후 방사선 조사 사료 투여 시험을 수행하여 방사선 조사의 병원성 미생물 제거에 의한 어병 발생 예방 효과의 가능성을 관찰하였다.

## 재료 및 방법

### 사료에 대한 방사선 조사

감마선 조사는 한국원자력연구소에 소재하는 감마선 조사 시설(선원:  $^{60}\text{Co}$ , 10만 Ci)을 이용하여 분당 25 Gy의 선량으로 시료에 5 kGy의 최종흡수선량을 받도록 하였다. 흡수선량의 확인은 ceric cerous dosimeter (USA)를 사용하였고 흡수선량의 오차는  $\pm 2\text{ Gy}$ 였다.

### 공시어 및 어류 시험군의 설정

가두리 양식장에서 사육하던 넙치를 구입하였고 체중은 평균 34 g, 평균체장은 16.7 cm였다. 공시어는 연구실의 사육수조에서 4일간 안정시켜 적응시킨 후 무작위로 시험군 별로 분류 사용하였다. 각 공시어는 순환여과장치가 설치된 수조 ( $23 \pm 1^\circ\text{C}$ )에서 사육하였으며 사료는 1일 2회 투여하였고 28 일간 사육하였다. 무처리 기본사료는 생사료용 냉동 고등어 70%에 배합사료(아쿠아페펙트 2호, 우성사료주식회사) 30%를 혼합한 습사료를 적용하였다. 사료에 병원성 세균 오염의 경우를 가정하여 사료내 *Edwardsiella tarda*, *Vibrio anguillarum*, 또는 *Streptococcus faecalis*를 접종(사료 g당  $1 \times 10^8$ - $1 \times 10^9$ ) 혼합한 사료 투여군 및 세균오염 후 방사선 조사(5 kGy) 사료투여군으로 하였다. 공시군주로는 여수수산

대에서 분양받은 그람음성균인 *Edwardsiella tarda*, *Vibrio anguillarum*과 충남대 수의대에서 분양 받은 그람양성균인 *Streptococcus faecalis*를 사용하였다. 미생물의 배양에 사용된 배지는 *E. tarda* 와 *V. anguillarum*은 2% NaCl이 첨가된 tryptic soy broth (TSB, Difco Lab.)를 사용하였으며 *S. faecalis*는 2% NaCl이 첨가된 brain heart infusion broth (BHIB, Difco Lab.)를 사용하였다. 모든 세균은 23°C에서 배양하였다. 세균은 매일 배양하여 사료에 혼합하였으며 투여 후 잔류 사료는 30분 동안 방치한 다음 제거하였다. 시험종료시까지 누적폐사량을 파악하였다.

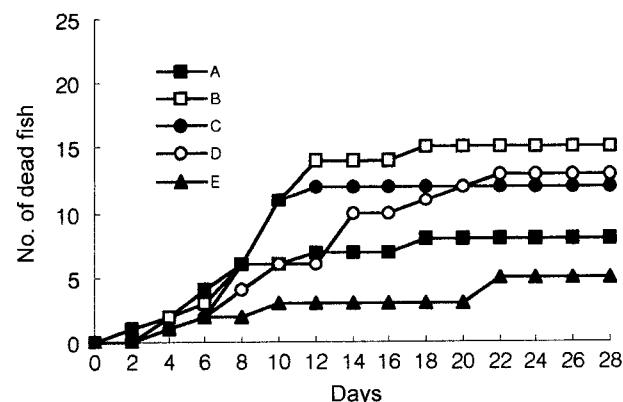
### 어류 시험군의 병리학적 검사

시험기간 중 폐사어 및 시험종료시 생존어를 대상으로 육안적 이상유무를 관찰하고 10% 중성포르말린에 각 장기를 고정한 후 통상적인 방법에 따라 절편을 제작하여 hematoxylin 및 eosin 염색을 실시하고 검경하였다. 병원성 세균 오염 사료투여군의 폐사어에 대한 세균 동정을 위하여 각 오염사료 투여군에서 대표적 임상증상을 나타내는 폐사어의 비장 및 신장에서 가검재료를 채취하여 tryptic soy agar(TSA, Difco Lab.)에 도말하고 23°C에서 24시간 배양한 다음 대표 접락을 선택하여 배양성상, 그람염색소견 등을 관찰하고 생화학적 검사를 실시하였다.

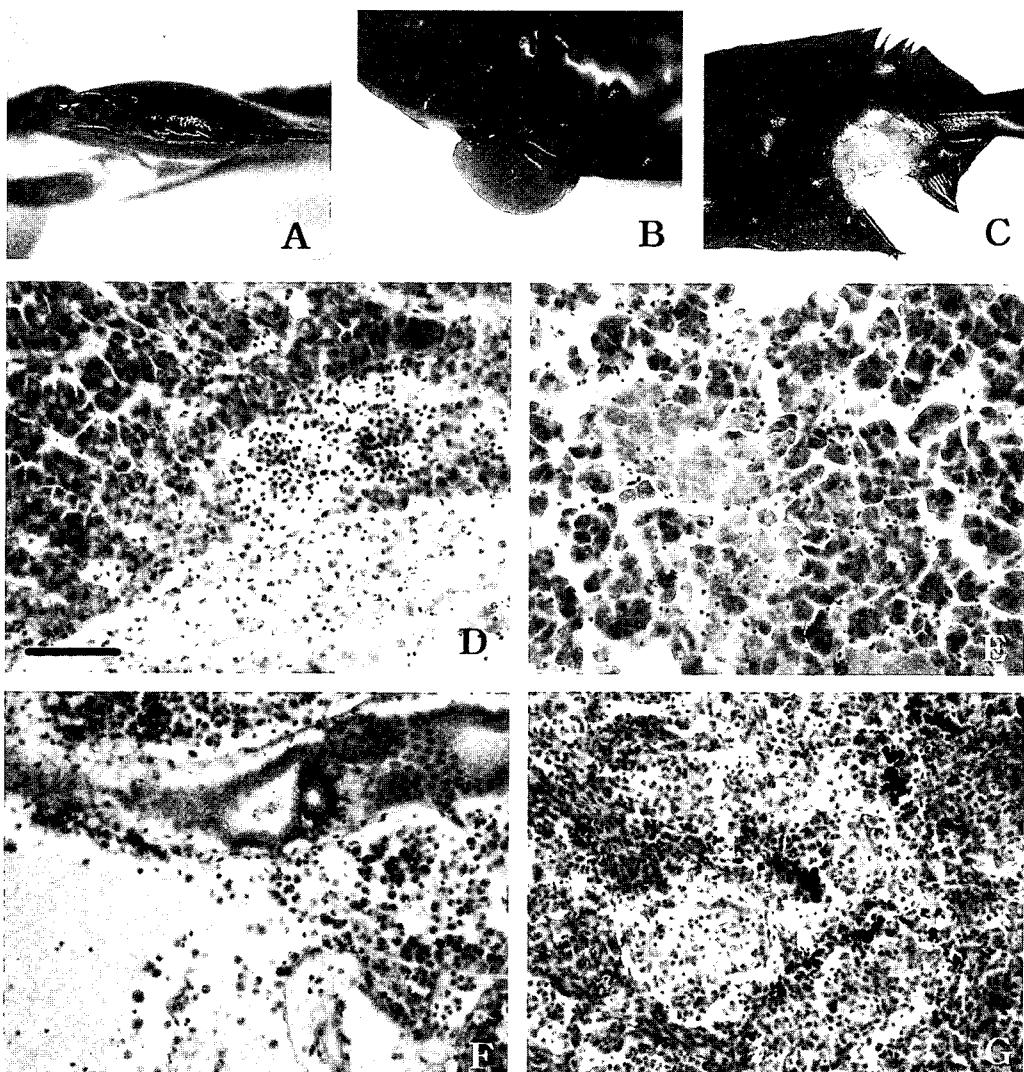
## 결 과

### 넙치시험에서의 사료효율 및 누적폐사량

Fig 1에서와 같이 사료내 병원성 세균오염 시험의 경우 누적폐사량은 *Edwardsiella tarda* 오염 사료투여군에서 60%, *Vibrio anguillarum* 오염 사료투여군에서 48%, *Streptococcus faecalis* 오염 사료투여군에서 52%로써 무처리 사료투여군 (32%) 및 세균오염 후 방사선 조사 사료투여군 (20%)에 비



**Fig 1.** Cumulative mortality after administration with feed inoculated with bacteria or irradiated to 5 kGy after inoculation for 28 days in fish. A: Normal feed, B: Feed inoculated with *Edwardsiella tarda*, C: Feed inoculated with *Vibrio anguillarum*, D: Feed inoculated with *Streptococcus faecalis*, E: Feed treated with bacteria and irradiation.



**Fig 2.** Macroscopic and microscopic findings of flounder with *Edwardsiella tarda* infection. H-E stain, (= 50  $\mu$ m). A: Abdominal distension. B: Hemorrhagic prolapse of the rectum. C: Deep and malodorous ulcer on the body surface. D: Suppurative inflammation in the liver. E: Focal necrosis in the liver. F: Suppurative inflammation and tubular necrosis in the kidney. G: Swelling and vacuolation of ellipsoid in the spleen.

하여 높게 나타났다.

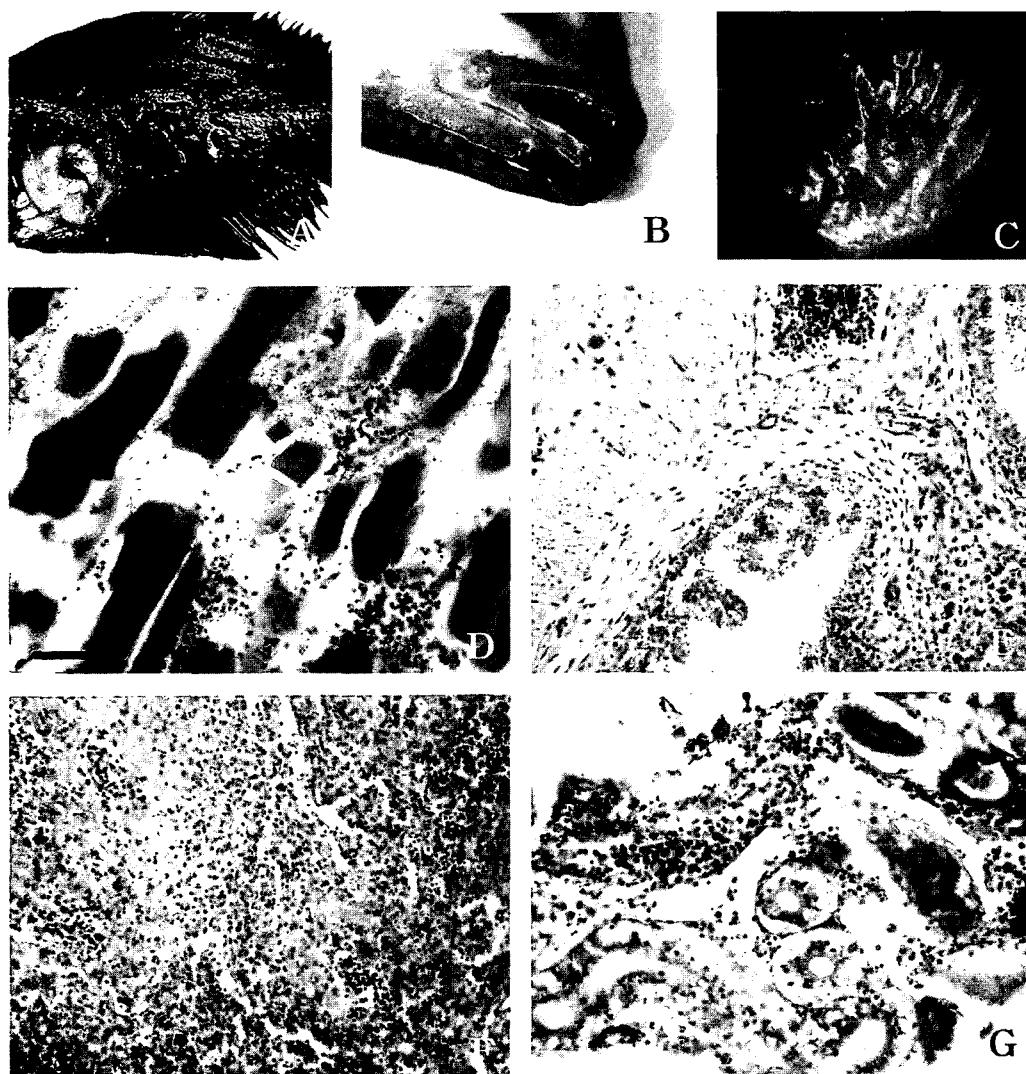
#### 넙치시험에서 세균오염에 의한 폐사어의 병리학적 관찰

*Edwardsiella tarda* 오염사료 투여군의 폐사어에서는 육안적으로 복부팽만, 피부궤양, 복수, 악취 및 복부팽만에 의한 털장 등이 관찰되었고 조직학적 소견으로 신장과 간의 화농성 염증, 간의 국소괴사, 비장의 ellipsoid 비후 및 공포화 등이 있었다(Fig 2). *Vibrio anguillarum* 오염사료 투여군의 폐사어에서는 육안적으로 피부 및 입주위의 궤양, 체축 복막의 출혈, 체표의 점상출혈, 복부팽만 및 비장의 종대가 관찰되었고 조직학적 소견으로 신장과 비장의 국소괴사, 장염, 신장의 조혈부 괴사 및 위축, 궤양부위 피부 및 근육의 괴사, 출혈 및 세균 등이 관찰되었다(Fig 3). *Streptococcus*

*faecalis* 오염사료 투여군의 폐사어에서는 얇고 광범위한 체표 궤양, 체축 복막 및 아가미뚜껑의 출혈, 비장종대 등이 관찰되었고 조직학적 소견으로는 심외막염, 뇌의 울혈, 신장의 조혈부 고갈, 비장에서 많은 ellipsoid가 관찰되었다(Fig 4). 세균학적 동정에서는 Table 1에서와 같이 각 세균별 특징을 나타냈다.

#### 고 칠

전 세계적으로 집약적 어류 양식(intensive fish farming)이 발달함에 따라 여러 환경 조건에서 양식할 수 있는 수많은 후보 종(species)의 개발이 진행되고 있다. 1990년 국내 어류 사료 생산량은 타기축 사료의 그것에 비해 약 1% 수준에

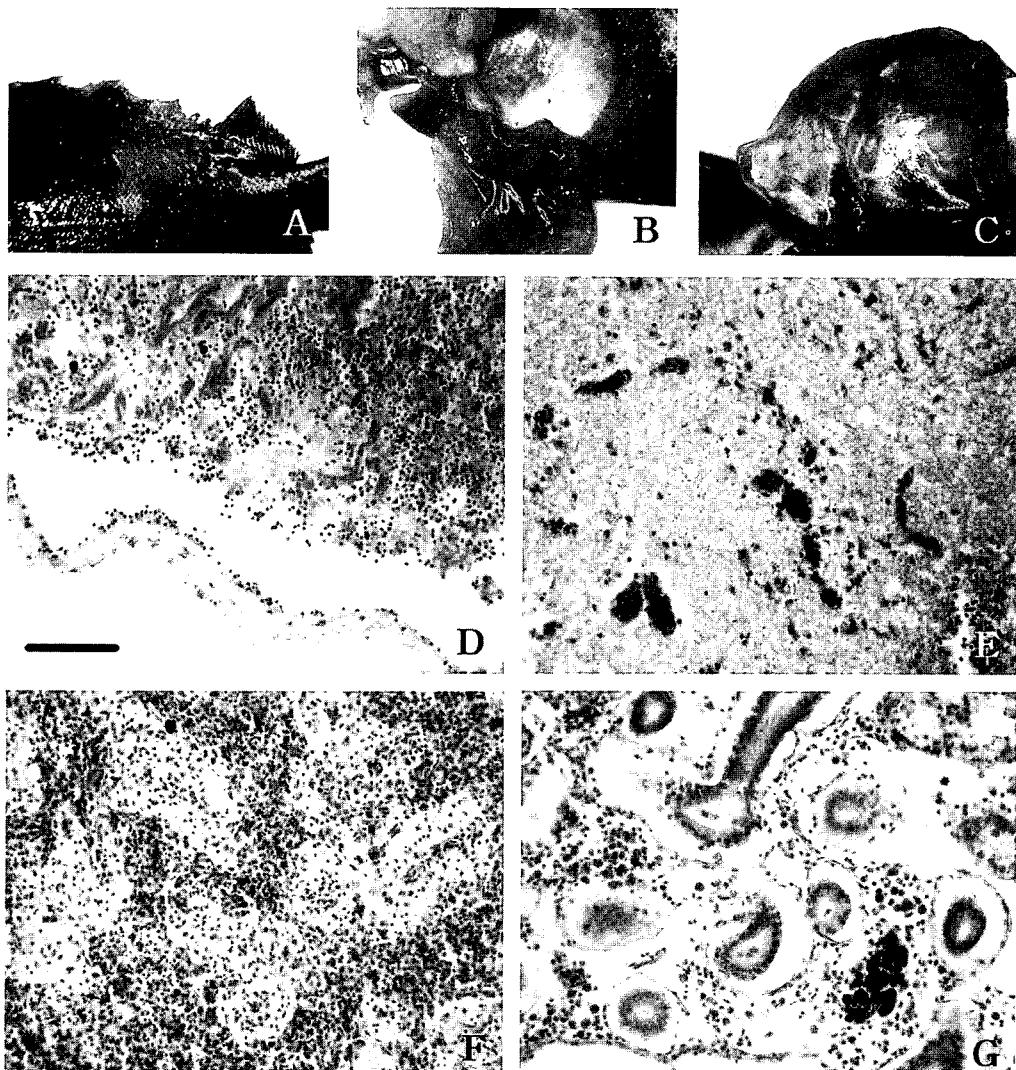


**Fig 3.** Macroscopic and microscopic findings of flounder with *Vibrio anguillarum* infection. H-E stain, (= 50  $\mu\text{m}$ ). A: Shallow and extensive ulcer on the body surface. B: Hemorrhagic ulcer on the mouth. C: Petechiation of parietal peritoneum. D: Ulcerative dermatitis and myositis with hemorrhage and bacteria insinuation. E: Necrotic enteritis. The mucosa has sloughed into the lumen and there is cellular infiltration. F: Focal necrosis in the spleen. G: Tubular necrosis and depletion of haemopoietic tissue in the kidney.

달하고 있으며 이웃 일본의 경우도 어류의 사료는 전체가축 사료 생산량의 1% 수준에 달하고 있으며 1985년 이래로 커다란 증감없이 약 1%의 상대적 안정세를 나타내고 있음<sup>27</sup>을 고려할 때 국내의 어류시료 시장은 이제 양적증가가 아닌 질적증가를 위한 새로운 시점에 도달한 것이라고 여겨진다. 따라서 사료의 품질 개선의 관점에서 연구가 수행되어야 할 것이다.

어류의 주요질병으로서 에드워드병은 그람음성의 단간균인 *Edwardsiella tardar*에 의해 주로 발생되며 체표의 출혈성 궤양, 폐혈증, 복수, 신장 및 비장의 세균집락을 형성하고, 주요장기에 농창을 유발하는 질병으로 어류뿐 만 아니라 사람에게도 뇌막염과 간의 농양, 창상의 감염, 위장염 등의 질병의 중요한 원인이 되기도 한다. 일반적으로 담수에서만 서식

하는 잉어, 붕어, 가물치 등에서는 병원성이 강하지 않으나 해산어류에는 치명적인 피해를 입힌다<sup>11,14,17,18</sup>. 비브리오병은 그람음성의 간균인 *Vibrio anguillarum*에 의해 주로 발생되며 피부궤양, 전신출혈, 안구돌출, 괴사성 장염을 유발하는 고수온기는 물론, 저수온기에서도 발병하는 해산어 질병 중 가장 중요한 질병의 하나이며 모든 해산어는 최소 한 종이상의 비브리오세균에 감수성을 가지는 것으로 알려져 있다<sup>8,11,13,17</sup>. 연쇄구균증은 그람양성의 연쇄구균속 세균에 의해 발생되며 양측성 안구돌출, 출혈성 폐혈증, 주요장기의 충출혈, 장염 등을 일으킨다<sup>24,11,17</sup>. 이들 질병들의 발생에서 먹이생물에 의한 감염이 주요 원인으로 작용하고 있다. 연안에 서식하는 해산어 중 이들 세균에 감염된 어류가 많다. 감염된 잡어를 양식어류의 생사료로 이용하기 때문에 균에 감염된 생사료



**Fig 4.** Macroscopic and microscopic findings of flounder with *Streptococcus faecalis* infection. H-E stain, (= 50  $\mu$ m). A: Ulceration of body surface. More superficial than the lesions of vibriosis. B: Petechiation of parietal peritoneum. C: Hemorrhages on the operculum. D: Inflammation in the pericardium and cardiac muscle. E: Congestion in the brain. Most blood vessels are prominent due to congestion. F: Prominent ellipsoids in the spleen. G: Depletion of haemopoietic tissue in the kidney.

가 직접적인 감염원이 되기도 하며 오염사료에 의한 이차적인 사육수의 오염을 초래하여 경피감염의 원인이 되기도 한다. 치료에서도 사료 내에 병원균이 있어 염증을 일으키고 있는 장관 내에 항시 정착하여 증식을 반복하기 때문에 치료효과가 떨어진다<sup>29</sup>. 이들 질병이 양식산업에서의 피해는 물론, 인체에서도 질병을 유발할 수 있기 때문에 공중보건학적 문제의 해결을 위해서도 이러한 어류의 질병발생을 억제하여야 한다<sup>9,12</sup>.

동물사료에 대한 방사선의 조사는 주로 소형 무균실험동물의 사육을 위하여 실시되었고 일부 닭 및 돼지의 사료를 대상으로 실험적으로 적용되고 있는 실정이며 양어사료에 대한 실제적용 예은 전무하다<sup>5,10,15,16,23</sup>. 본 연구에서 생어사료에 병원성 세균이 오염되었을 경우를 가정하여 사료 내 병원성 세균을 오염시켜 수행된 실험의 경우, 어류에 대한 병원성

미생물을 오염시킨 후 방사선을 조사한 사료투여군에서의 발병은 병원성 세균 오염 사료투여군의 경우는 물론, 세균을 오염시키지 않은 정상사료투여군에 비해서도 감소되어 방사선 조사가 사료 내 오염세균을 완전히 사멸하였음을 알 수 있었다.

본 연구의 결과 양어용 생어사료 또는 배합사료에 대한 방사선 조사는 미생물의 사멸이 가능하여 병원성 미생물에 오염된 사료에 의한 어병의 발생을 획기적으로 방지 할 수 있을 것으로 사료된다.

## 결 론

어류에 대한 병원성 미생물 오염사료 및 미생물 오염 후 방사선 조사 (5 kGy) 사료 투여시험을 수행하여 방사선 조사

**Table 1.** Biochemical and cultural properties of bacteria isolated from flounder.

	<i>Edwardsiella tarda</i>	<i>Vibrio anguillarum</i>	<i>Streptococcus faecalis</i>
Oxidase	-	+	-
Catalase	+	+	-
Indole	+	+	-
Methyl red	+	-	+
Voges-Proskauer	-	+	-
Citrate	-	+	-
O/F	fermentation	fermentation	fermentation
TSI	K/AG, H <sub>2</sub> S	K/A	A/A
Arginine	-	+	+
Ornithine	+	-	-
Lysine	+	-	-
0.5% NaCl TSA	+	+	+
1.5% NaCl TSA	+	+	+
6.5% NaCl TSA	-	+	+
7.5% NaCl TSA	-	-	-
Motility	+	+	-
Urea	-		
10°C		+	+
37°C		+	+
42°C		-	+
0.04% PT			+
0.01% TTC			+

의 병원성 미생물 제거에 의한 어병 발생 예방 효과의 가능성을 관찰하였다. 생어사료에 병원성 세균이 오염되었을 경우를 가정하여 사료 내 병원성 세균을 오염시켜 수행된 실험의 경우, 어류에 대한 병원성 미생물을 오염시킨 후 방사선을 조사한 사료투여군에서의 발병은 병원성 세균 오염 사료투여군의 경우는 물론, 세균을 오염시키지 않은 정상사료투여군에 비해서도 감소되어 방사선 조사가 사료 내 오염세균을 완전히 사멸하였음을 알 수 있었다. 본 연구의 결과 양어용 생어사료 또는 배합사료에 대한 방사선 조사로 미생물의 사멸이 가능하여 병원성 미생물에 오염된 사료에 의한 어병의 발생을 획기적으로 방지할 수 있을 것으로 사료된다.

### 감사의 글

이 논문은 2001년도 원자력기초연구사업 연구비 지원에 의해 수행되었으며 이에 감사드립니다.

### 참 고 문 헌

- Ahmed M. Food irradiation, Up-to-date status. Joint FAO/IAEA Division of Nuclear Techniques in Food and

- Agriculture, IAEA 6626F, Vienna. 1991: 27.
- Boomker J, Imes GD, Cameron CM, Naude TW, Schoonbee HJ. Trout mortalities as a result of *Streptococcus* infection. Onderstepoort J Vet Res 1979; 46: 71-77.
- Brynjolfsson A. Food-energy-developing countries-food irradiation. IAEA-SM-250/26. 1981: 421.
- Buras N, Duck L, Niv S. Reactions of fish to microorganism in wastewater. Appl Environ Microbiol 1985; 50: 989-995.
- Burdick D, Cox NA, Thomson JE, Bailey JS. Heating by microwave, hot air, and flowing steam to eliminate inoculated *Salmonella* from poultry feed. Poult Sci 1983; 62: 1780-1785.
- Codex Alimentarius Commission. Codex general standard for irradiated foods and recommended international code of practice for the operation of radiation facilities used for the treatment of foods. CAC/VOL. XV, FAO, Rome. 1984.
- Daferstein FK. Food irradiation; The position of the World Health Organization. 36th General Conference of the International Atomic Energy Agency, Scientific session, Vienna. 1992: 23.
- Denkin SM, Nelson DR. Induction of protease activity in *Vibrio anguillarum* by gastrointestinal mucus. Appl Environ Microbiol 1999; 65: 3555-3560.
- Greenlees KJ, Machado J, Bell T, Sundlof SF. Food borne microbial pathogens of cultured aquatic species. Vet Clin North Am Food Anim Pract 1998; 14: 101-112.
- Halls NA, Tallentire A. Effects of processing and gamma irradiation on the microbiological contaminants of a laboratory animal. Lab Anim 1978; 12: 5-10.
- Inglis V, Roberts RJ, Bromage NR. Bacterial diseases of fish. Oxford: Blackwell Scientific Publications. 1993.
- Janda JM, Abbott SL. Infections associated with the genus *Edwardsiella*: the role of *Edwardsiella tarda* in human disease. Clin Infect Dis 1993; 17: 742-748.
- Jia X, Parezykat A, Devlin RH, Ackerman PA, Iwama GK, Hancock RE. Antimicrobial peptides protect coho salmon from *Vibrio anguillarum* infections. Appl Environ Microbiol 2000; 66: 1928-1932.
- Lehane L, Rawlin GT. Topically acquired bacterial zoonoses from fish: a review. Med J Aust 2000; 173: 256-259.
- Leuchtenberger A, Ruttloff H. Germ reduction in technical enzyme preparations with special regard to gamma irradiation. Nahrung 1976; 20: 525-530.
- Miniat OP, Jol D. Gnotobiotic pigs-derivation and rearing. Can J Comp Med 1978; 42: 428-37.
- Noga EJ. Fish disease diagnosis and treatment. St. Louis, Mosby. 1996.
- Waltman WD, Shotts EB. Antimicrobial susceptibility of *Edwardsiella tarda* from the United States and Taiwan. Vet Microbiol 1986; 12: 277-282.
- WHO. High-dose irradiation: Wholesomeness of food irradiated with doses above 10 kGy. Report of a joint FAO/IAEA/WHO study group. Technical Report Series 890. 1999.
- WHO. Safety and nutritional adequacy of irradiated food. Geneva. 1994.
- WHO. Wholesomeness of irradiated food. Report of a joint FAO/IAEA/WHO expert committee on the wholesomeness of irradiated food. Technical Report Series 651. 1981.
- Yook HS. Effect of gamma irradiation on the microbiological, biochemical, morphological, nutritional, toxicological and food processing characteristics of beef. Ph.D. Dissertation,

- Chungnam National University. 1999.
- 23. Yoshida T, Shinoda S, Urano T, et al. Role of gastrointestinal microflora in nitrogen and mineral balances in young mice fed on autoclaved and irradiated diets. *J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo)* 1981; 27: 341-352.
  - 24. 김세라, 이종환, 조성기, 변명우, 김성호. 어류양식용 사료의 위생화 I. 어류유래 병원성 세균에 대한 방사선 조사의 효과. *대한수의학회지* 2001; 41: 219-225.
  - 25. 김세라, 오현, 이해준, 이종환, 조성기, 변명우, 김성호. 어류양식용 사료의 위생화. II. 어류양식용 사료의 초성분과 지방산화에 대한 방사선조사 및 butylated hydroxyanisole의 효과. *대한수의학회지* 2001; 41: 387-394.
  - 26. 배승철, 김규일, 김정대 등. 어류양식과 사료. 서울: 삼광출판사. 1998: 17-100.
  - 27. 부산대학교 해양산업개발연구소. 양식사료영양. 부산: 부산대학교출판부 1998: 1-38.
  - 28. 전세규. 담수산 양식어류의 질병. 서울: 한국수산신보사, 1996.
  - 29. 전세규. 양식어류의 질병-해산어편. 서울: 한국수산신보사, 2000.