

습사료에 첨가한 유용미생물 및 한약재 혼합제(한방천·어력천)의 특성과 혼합 첨가제가 넙치 간의 활성화에 미치는 효과

여인규 · 노섬
제주대학교 해양과학대학

Characteristics of the Addition of Effective Microorganisms and Herbal (Hanbangchun · Olyukchun) Mixtures in Moist Pellets and Effects of the Mixed Additive on Activity of Liver in Olive Flounder, *Paralichthys olivaceus*

In-Kyu Yeo and Sum Rho
Faculty of Applied Marine Science, Cheju National University, Jeju 690-756, Korea

The effects of different concentrations (0, 0.3, 0.6 and 0.9%) of fish feed additives (Hanbangchun and Olyukchun) utilizing effective microorganisms and herb medicine on activity of liver function were examined in olive flounder, *Paralichthys olivaceus*. Moreover, we investigated the characteristics of the additives. Total number of microorganisms (Lactic acid bacteria, *Bacillus subtilis*, *Saccharomyces cerevisiae*, Photosynthetic bacteria and Azotobactor) in the additives was 5.6×10^8 CFU/g in the Hanbangchun and 3.0×10^8 CFU/g in the Olyukchun. Levels of three typical pathological microorganisms (*Edwardsiella tarda*, *Vibrio anguillarum* and *Streptococcus* sp.) in moist pellets (MP) were significantly decreased by the additives in a concentration-dependent way. Hepatosomatic index of fish in the 0.3% group was significantly increased. Total serum protein was increased in all the groups containing additives, but the protein content in liver was higher in the control group. Higher activities of catalase and superoxide dismutase which are involved in physiological defense mechanisms were found in the dietary groups containing 0.3% and 0.6%, respectively. These results suggest that the additives, Hanbangchun and Olyukchun, can increase tolerance of olive flounder against stress and hypoxic conditions by increasing activities of body antioxidant enzymes.

Keywords: Fish feed additives, Microorganism, Herbal medicine, Superoxide dismutase, Catalase, Pathological microorganisms, Olive flounder, *Paralichthys olivaceus*

서론

우리나라에서 양식되고 있는 넙치, *Paralichthys olivaceus*는 양식기술의 보편화로 종묘생산에서 양성에 이르기까지 완전양식이 활발히 이루어지고 있는 실정이다(Cho et al., 1995). 그러나 환경의 악화로 인한 각종 스트레스 요인의 증가 및 질병의 발생 등 많은 문제점들이 노출되고 있다. 또한 이러한 조건에서의 양식어는 그 맛과 근육의 경도가 떨어지는 등의 상품적 가치를 낮추는 원인이 되는 것으로 알려져 있다(Nakagawa and Kasahara, 1986; Hatae et al., 1989). 이러한 시점에서 어류 양식을 위한 환경개선, 사료의 질적 개선 등의 연구가 절실히 요구되고 있으며 많은 연구가 진행되고 있다. 사료효율을 높이기 위하여 성장호르몬을 적정농도 공급을 하거나(Wagner et al.,

1985; Rho et al., 1999), 게 껍질에서 추출한 키토산등을 첨가하여 생산성 향상에 관한 연구가 진행된 바 있고(이 등, 2000) 한방 생약 제재를 공급하여 넙치 육질의 개선 시도(이 등, 1998)와 사료첨가제로서 해조류의 이용가능성을 타진하기 위해 미역과 *Ascophyllum nodosum*을 공급을 통한 어류의 생리적 개선효과(Yone et al., 1986)와 갈파래, *Ulva*와 클로렐라 추출물을 이용한 어류의 내병성을 증진 효과가 보고된 바 있다(Nakagawa et al., 1981; Satoh et al., 1987). 김 등(1998)은 한방사료 첨가에 의해 넙치의 생존율, 성장 및 사료효율 향상에 영향을 미치고, 비만도에 있어 좋은 효과를 나타내는 것으로 보고하고 있다.

한편 최근에는 유용미생물을 이용한 유기농법의 개발, 축산에서의 육질 개선 및 환경개선 등 다양한 분야에서의 유용성에 대한 연구가 진행되고 있다. 유용미생물군은 5과 10속 80여종

의 미생물을 탱크에서 배양한 액상의 것으로 통기혐기성 미생물과 호기성미생물이 공존, 공생하면서 상승효과를 발휘하도록 배양한 것이다(比嘉, 1995). 특히, 유용미생물은 광합성세균을 중심으로 유산균, 효모균, 방선균, 국균 등 주로 통기혐기성 또는 미호기성인 미생물을 포함하고 있다. 그 중 유산균은 일반적으로, 유익한 균으로서 각종 유기산을 생성하여, 장내에서의 유해 미생물의 장내 생육을 억제하고 장관 벽을 자극하여 연동 운동을 촉진시켜 소화 흡수를 돕고, 생성된 산은 다시 ammonia와 amine을 이온형태로 전환시킴으로써 유해 물질의 장내 흡수를 억제 시키는 것으로 알려져 있다(Kalač et al., 2000; Rininen et al., 2003). 그리고 *Bacillus subtilis*는 항진균성 항생물질로 iturin을 생산하는 것으로 알려져 있다(Lancini and Lorenzetti, 1993). 어류에 있어서는 최근, 송 등(2002)은 유용미생물을 포함한 감귤발효액을 이용하여 사육한 넙치에서 사료 효율의 증가와 장 활성증대로 성장과 생리 활성화에 효과적인 결과를 나타낸 것으로 보고하고 있다. 이처럼 한약재와 유용미생물은 각각 어류의 사육에 있어 유익한 효과를 거두고 있다. 따라서 본 연구에서는 (주)제우축산연구소에서 개발하여 이미 축산사료에 첨가하여 가축의 질병 예방과 육질개선 등 생산성 향상효과를 거둔바 있는 유용미생물과 함께 생리활성증대에 효과가 있는 한약재를 동시 첨가하여 배양한 사료첨가제를 넙치의 사료에 첨가하여 사료의 질적 개선 및 어체의 항산화효소 등의 생리학적 인 변화에 미치는 영향을 조사하여 새로운 사료첨가제로서의 이용성을 판별하고자 하였다.

재료 및 방법

실험첨가제의 제조

사료첨가제는 유용미생물(유산균, 바실러스균, 효모 및 광합성균)과 당귀(송엽초), 작약 등 15종의 한약재를 첨가시켜 발효 부숙시켜 제조한 액상 첨가제(어력천)와 어력천을 넙치용 분말 사료인 마린피어(수협)와 혼합 발효시킨 분말첨가제(한방천)를 사용하였다. 어력천은 유용미생물과 한약재만을 첨가한 것으로 어력천의 액상에 포함되어 있는 활성을 띤 유용미생물을 이용하여 한방천에 포함되어 있는 성분의 상승작용을 위하여 개발하였다. 실험에 사용된 어력천 및 한방천의 일반성분과 유리아미노산 조성은 국가공인검사기관(주, 과학기술분석센터)에 의뢰하여 분석하였으며, 그 결과는 Table 1 및 2에 나타내었다. 사료첨가제의 농도는 생사료와 분말사료를 8:2의 비로 만든 모이스트 펠렛(MP)에 어력천과 한방천을 1:2의 비율로 첨가하여 최종농도가 0, 0.3, 0.6 및 0.9%가 되도록 각각 첨가하였다.

실험사료내의 병원미생물수의 변화

병원미생물은 실험사료로 제작된 4가지 실험구의 MP에서 분리하여 무균 배양하였다. 분리균은 Mac-Faddin (2000)의 방법에 따라 생물학적, 생화학적 성상시험을 실시한 후, Bergey's

Table 1. Composition and nutrient content of dietary additives

Nutrient	Hanbangchun	Olyukchun
Moisture (%)	13.71	97.08
Crude protein (%)	40.19	0.34
Carbohydrate (%)	31.26	2.23
Crude lipid (%)	5.67	0.10
Cruded ash (%)	9.17	0.25
Ca (%)	1.87	0.02
P (%)	1.21	0.01
Fe (ppm)	485.65	25.44
Zn (ppm)	139.70	1.45
Mn (ppm)	43.10	1.43
Cu (ppm)	13.56	0.46

Table 2. Free amino acids (ppm) composition in Hanbangchun and Olyukchun

Free amino acid	Hanbangchun	Olyukchun
Threonine	605.5	62.5
Serine	584.2	68.4
Aspartic acid	358.2	167.5
Glutamic acid	8.1	308.0
Leucine	3.6	87.2
Alanine	2.4	121.9
Proline	2.1	112.8
Glycine	2.1	66.1
Valine	2.0	102.8
Arginine	1.9	45.3
Phenylalanine	1.8	84.9
Lysine	1.8	76.2
Isoleucine	1.7	49.9
Tyrosine	1.4	59.2
Histidine	1.3	74.4
Total	1578.3	1487.1

manual of systematic bacteriology에 준하여 *Edwardsiella tarda*, *Vibrio anguillum*, *Streptococcus* sp.을 각각 동정하였으며, 각각의 미생물수는 Buck and Cleverdon (1960)의 방법으로 PPES-II 배지에 평판도말법으로 접종하여 나타난 집락을 CFU (colony forming unit)로 계산하였다.

간장내의 단백질 및 항산화효소와 혈중 단백질량의 변화

실험어는 평균전장과 체중이 각각 7.7 ± 0.39 cm 및 3.9 ± 0.7 g의 넙치 치어로 콘크리트 사각수조(5×5×0.9 m)에 총 4개의 실험구로 나누어 2반복으로 1,000마리씩 각 수조개체군의 크기에 유의차이가 없도록 배치한 후 각각의 실험농도로 첨가한 MP를 1일 3-5회 매일 반복 공급하여 사육하였다. 유수량은 18~22회 전/일이 되도록 하였다.

사료첨가제의 공급에 따른 혈액분석 및 항산화효소의 분석은 실험 사육 8개월 후의 장기복용 후에 조사하였다. 간중량지수(HSI)는 실험종료 후 간장을 적출하여 체중에 대한 비로 구

하였다. 혈청은 실험어의 미부동맥으로부터 주사기로 채혈하여 헤파린이 처리되지 않는 원심관에 담아 상온에서 약 30분간 자연 응고시킨 후 원심분리(3,000 rpm, 20분)하여 상등액인 혈청을 얻었다. 혈중단백질량은 Lowry et al. (1951)의 방법에 준하여 측정하였다.

효소의 활성측정을 위한 시료는 우선 간장을 적출하여 약 100 g을 0.9% NaCl로 3회 세척하여 준비하였다. 세척 후 100 mM Sodium phosphate buffer (pH 7.4)를 10 ml/g 첨가하여 균질화(homogenization)한 후 800 g, 15분간 4°C 조건에서 원심분리하였다. 원심분리한 상층액을 수거하여 10,000 g 20분간 4°C 조건하에서 원심분리하여 상층액을 효소측정시료로 준비하였다.

Superoxide dismutase (SOD)의 측정은 효소측정시료에 50 mM phosphate buffer (pH 8.24)를 2.61 ml/g 첨가하여 3 mM pyrogallol 90 µl를 첨가하여 알카리상태에서 pyrogallol의 자동산화율이 억제되는 양을 측정하는 Marklund와 Marklund (1974)의 방법으로 325 nm에서 흡광도를 분광광도계로 측정하여 구하였다. 그리고 효소활성의 1단위는 반응액 중의 pyrogallol의 산화를 50% 억제하는 효소의 양으로 정하였다. Catalase (CAT)는 50 ml의 67 mM phosphate buffer (pH 7.0)에 90 µl의 30% hydrogen peroxide를 혼합하여 효소측정시료를 20 µl를 넣어 240 nm에서 흡광도를 분광광도계로 측정하여 구하였다.

통계분석

실험결과와 분석은 ANOVA-test를 실시하여 Duncan's multiple range test로 평균간의 유의성을 검정하였으며, Statistical Analysis (SAS Institute North Caroline, Version 6.12, USA)를 사용하여 검정하였다.

결 과

사료 내의 병원 미생물의 변화

한방천 및 어력천내의 유용미생물의 조성은 Table 3에 나타내었다. 한방천에는 *Bacillus subtilis*가 1.8×10⁸ CFU/g로 가장 많이 존재하였으며, 어력천에는 *Saccharomyces cerevisiae*가 1.4×10⁸ CFU/g로 가장 많이 존재하였다. 총균수는 한방천이 어력천의 약 2배에 달하였다.

본 실험에 사용되어진 MP에 포함되어 있는 병원 미생물로 *Edwardsiella tarda*, *Vibrio anguillarum*, *Streptococcus* sp. 수를 파악하였다(Table 4). 그 결과 대조군에서는 각각 1.4×10⁴, 8.9×10³

Table 3. Concentrations of microorganisms in Hanbangchun and Olyukchun

Microorganism	Hanbangchun (CFU/g)	Olyukchun (CFU/g)
<i>Bacillus subtilis</i>	1.8×10 ⁸	1.0×10 ⁷
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	8.9×10 ⁷	1.4×10 ⁸
Lactic acid bacteria	3.8×10 ⁷	2.9×10 ⁷
Azotobacter	1.2×10 ⁶	1.4×10 ⁶
Photosynthetic bacteria	2.8×10 ⁵	3.0×10 ⁵
Total	5.6×10 ⁸	3.0×10 ⁸

및 5.9×10³ CFU/g 이었고, 0.3% 처리구에서는 2.8×10², 3.2×10³ 그리고 2.9×10³ CFU/g 으로 각각 2, 35.9 그리고 50% 감소하였고, 0.6% 처리구에서는 1.4×10², 1.2×10³ 및 2.3×10³ CFU/g 으로 1, 13 그리고 39.6% 감소하였으며 0.9% 처리구에서는 5.1×10³, 2.7×10³ 그리고 1.8×10³ CFU/g 으로 36.4, 30.3 그리고 31.06% 수준까지 감소하였다(Table 4).

간장 중의 단백질 및 항산화효소와 혈중 단백질 량의 변화

본 실험 기간 중 사료첨가제의 공급에 따른 성장에 대한 차이는 대조군과 큰 차이를 나타내지 않았으나, 체중에 있어서는 모든 투여군에서 높게 나타나는 경향을 보였다(data not shown). 사료첨가제의 첨가에 의한 사육을 통한 넙치의 HSI는 대조군에 비하여 0.3%의 투여군에서 유의하게 높은 수치를 나타내었다(Fig. 1, P<0.05). 간장 중의 단백질량은 대조군에서 가장 높고 사료첨가제의 투여군에서는 대조군에 비하여 전 실험군에서 유의하게 낮은 수치를 나타내었다(Fig. 2, P<0.05). 이에 반하여 혈중 단백질량은 대조군에서 가장 낮고 사료첨가군에서는 대조군에 비해 높은 수치를 나타내었다(Fig. 3). 이러한 결과는 사료첨가제의 투여에 의하여 간에서의 단백질 합성 능력이 촉진됨과 동시에 분비촉진능력이 향상된 것에 기인하는 것으로 여겨진다.

일반적으로 외부의 스트레스의 반응에 의하여 증가하는 것으로 알려진 간장내 항산화효소인 SOD 및 CAT의 변화는 Fig. 4 및 5에 나타내었다. SOD의 변화는 0.6%의 첨가군에 있어서 유의한 증가를 나타내었으며, 다른 실험군에서는 대조군과 유사한 수치를 나타내었다(Fig. 4). 한편 CAT는 0.3% 첨가군에서 가장 높은 수치를 나타내었으며, 0.6% 첨가군도 대조군에 비하여 유의한 증가를 나타내었다(P<0.05). 그러나 0.9% 첨가군에서는 유의한 차이는 나타나지 않았으나 대조군에 비해 다소 낮

Table 4. Microorganism density within experimental feeds with or without the addition of the Hanbangchun and Olyukchun

Microorganism	Density (CFU/g)			
	Commercial feed + 0%	Commercial feed + 0.3%	Commercial feed + 0.6%	Commercial feed + 0.9%
<i>Edwardsiella tarda</i>	1.4×10 ⁴	2.8×10 ²	1.4×10 ²	5.1×10 ³
<i>Vibrio anguillarum</i>	8.9×10 ³	3.2×10 ³	1.2×10 ³	2.7×10 ³
<i>Streptococcus</i> sp.	5.8×10 ³	2.9×10 ³	2.3×10 ³	1.8×10 ³

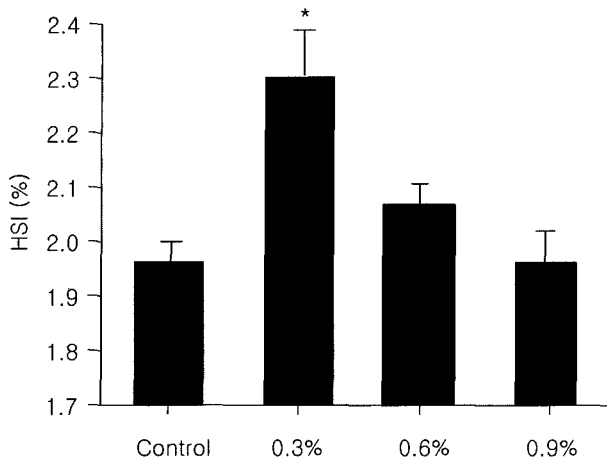


Fig. 1. Effect of dietary Hanbangchun and Olyukchun on the hepatosomatic index (HSI) of olive flounder, *Paralichthys olivaceus*. Vertical bars represent the SE of mean for ten experiments. * $P < 0.05$ for control.

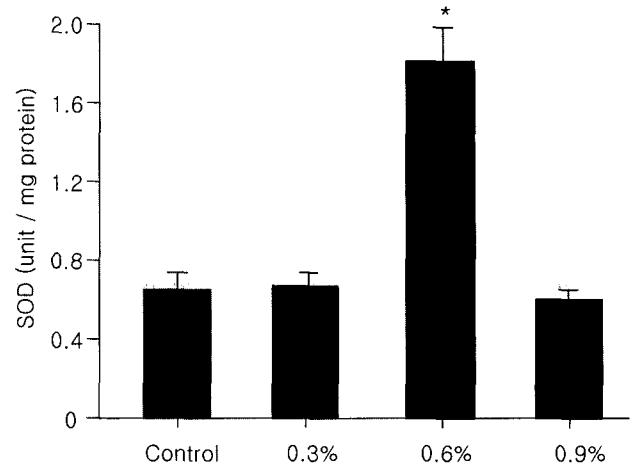


Fig. 4. Effect of dietary Hanbangchun and Olyukchun on the hepatic superoxide dismutase (SOD) activity in liver of olive flounder, *Paralichthys olivaceus*. Vertical bars represent the SE of mean for ten experiments. * $P < 0.05$ for control.

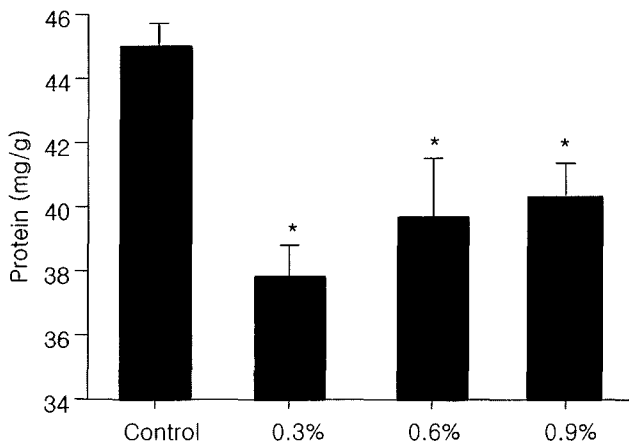


Fig. 2. Effect of dietary Hanbangchun and Olyukchun on protein contents in liver of olive flounder, *Paralichthys olivaceus*. Vertical bars represent the SE of mean for ten experiments. * $P < 0.05$ for control.

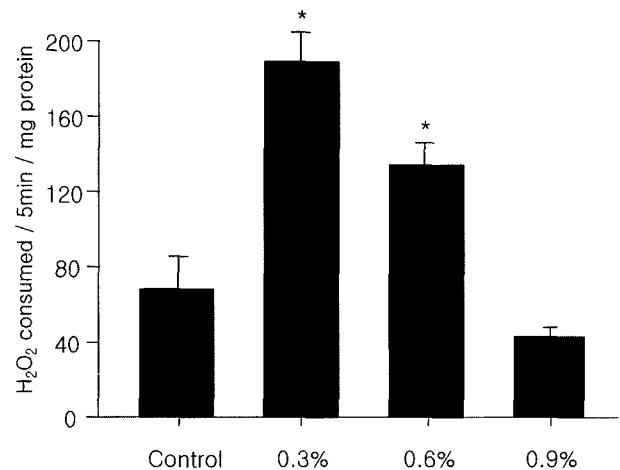


Fig. 5. Effect of dietary Hanbangchun and Olyukchun on the hepatic catalase (CAT) activity in liver of olive flounder, *Paralichthys olivaceus*. Vertical bars represent the SE of mean for ten experiments. * $P < 0.05$ for control.

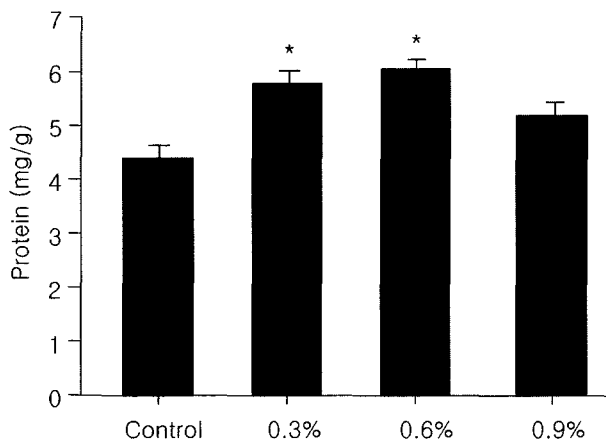


Fig. 3. Effect of dietary Hanbangchun and Olyukchun on the protein contents in serum of olive flounder, *Paralichthys olivaceus*. Vertical bars represent the SE of mean for ten experiments. * $P < 0.05$ for control.

은 수치를 나타내었다.

고 찰

최근 사료 효율 개선 및 내병성 증진을 위해 해조류를 사료에 첨가하여 사육하거나, 구기자나 오미자와 같은 한약재를 첨가하여 어류의 성장, 사료효율, 생리활성 개선효과를 이끌어 낸 결과들이 보고 되고 있다(Nakagawa et al., 1981; Yone et al., 1986; 박 등, 1992; 김 등, 1998). 한편 송 등(2002)은 유용미생물이 포함되어 있는 감귤발효액을 이용한 사료첨가제를 양식에 공급함으로써 사료효율의 증가 및 장 활성증대를 가져오는 것으로 보고하고 있다. 이처럼 최근에는 다양한 미생물 및 물질을 이용한 기능성사료첨가제의 연구가 활발히 이루어지고 있다고 할 수 있다.

이 연구에서는 유용미생물과 한방재를 이용하여 새로운 기능성 사료첨가제의 개발을 시도하였다. 우선, 개발된 한방천과 어력천의 혼합 첨가는 제조된 MP사료내의 병원미생물 수를 감소시키는 효과를 나타내었다. 수중에는 *Vibrio anguillarum* 및 *Streptococcus* sp.와 같은 질병의 원인균이 항시 존재하여 어류를 감염시켜 질병을 유발시키는 것으로 알려져 있다(Jo et al., 1979). Manickam et al. (1994)에 의하면 유산균은 젖산과 과산화수소를 포함해서 살균제와 정균제의 역할을 하는 중요한 박테리오텐을 생산하여 경쟁 세균의 성장을 저해하는 것으로 알려져 있다. 또한 장내 점액에서 균집을 형성함으로써 침투하는 병원성 세균에 대해 첫 번째의 방어 역할을 하는 것으로 알려져 있다(Olsson et al., 1992). 본 연구에서는 유산균을 비롯한 광합성균, *Bacillus*균을 다량으로 포함하고 있어 체내 생리활성 증대뿐만 아니라 수중에 존재하는 병원균과도 경쟁하여 그 성장을 억제함으로써 질병에 대한 내성을 증대시킴과 동시에 사육환경의 개선에 효과가 기대된다고 여겨진다. 또한 본 연구 기간 중에 발생한 림포시스티스의 감염에 따른 사육 실험어의 생존율은 농도 의존적으로 증가하는 것으로 나타나 질병에 대한 내성의 증대에 대한 가능성을 뒷받침하고 있다(data not shown).

한편 혈중 단백질량은 성장, 연령, 성별, 계절적 변동, 질병, 섭이상태 및 스트레스 등에 따라 차이가 있는 것으로 알려져 있다(Bentinck et al., 1987; Fasaic and Palackova, 1990; Raizada et al., 1984; Nakagawa et al., 1977; Siddiqui, 1977; Harbell, 1979; Quentel and Aldrin, 1986; Weber, 1979; McLeay and Brown, 1979). 이 연구에서는 0.6%의 첨가군에서 가장 높은 혈중 단백질량을 나타내었으며, 대조군에서 가장 낮은 수치를 나타내었다. 그러나 간장내의 단백질량을 조사한 결과 이와는 반대의 수치를 나타내었다. 이러한 현상은 간장으로부터 단백질의 합성 및 분비를 촉진하는 작용에 의해 간중량지수(HSI)가 증가하고, 간장내의 단백질 농도가 낮아지는 반면 상대적으로 혈중 단백질량은 증가된 것으로 추정된다.

SOD는 superoxide radical을 환원시켜 H_2O_2 로 전환시키며 이때 생성되는 CAT등의 작용에 의해 H_2O 로 무독화 됨으로서 산소축으로부터 생체를 보호하게 된다. 본 연구에서 SOD의 활성은 대조군과 0.3% 및 0.9%에서는 유의한 차이를 나타내지 않았으나, 0.6%에서는 그 활성이 유의하게 증가하는 경향을 나타내었다. 흰쥐의 경우, 카드뮴에 의한 급성 중독이 일어나게 되면 SOD의 활성이 급격히 감소하게 되나, 비타민 E의 투여에 의해 SOD의 활성이 다시 증가하는 결과를 나타내는 것으로 보고되고 있다(김과 이, 2000). 또한 안 등(1998)은 비타민 E의 공급으로 항산화효소의 활성이 증대되며, CAT는 유의한 차이는 없으나 증가하는 경향을 나타내는 것으로 보고하고 있다. 본 연구에서도 새로이 개발된 한약재와 유용미생물 혼합 사료첨가제의 첨가로 인해 0.6%군에서 SOD활성의 증대를 가져왔으며, CAT의 경우는 0.3%, 0.6%첨가군 순으로 나타났으며, 대조군에

비해 유의한 증가를 나타내었다. 이러한 결과는 본 연구에서 사용된 한방천 및 어력천에 포함되어 있는 성분에 의해 어체 내의 항산화효소의 활성이 증대되어 외부 스트레스 작용에 대한 내성을 증대시킴으로서 어체의 활성 증대에 좋은 효과를 가져올 것으로 기대된다.

이상의 결과로 유용미생물과 한약재를 혼합한 첨가제는 현재 사용 중인 습사료의 질적 개선을 통하여 질병의 원인을 감소시키는 효과를 가져 올 것으로 기대된다. 또한 넙치의 항산화효소의 활성을 증대시킴과 동시에 간장의 활력을 증대시켜 생리적 활성 증대 및 질병에 대한 내성을 증대시킬 것으로 기대된다. 가장 효과적인 첨가농도는 0.6%의 농도의 첨가가 가장 적합한 농도로 추정되나, 경제적인 측면을 고려한 세부적인 농도의 실험 및 병원성 미생물을 이용한 실질적인 항병성에 대한 검토가 앞으로 이루어져야 할 것으로 여겨진다.

요 약

유용 미생물과 한약재가 포함된 새로운 사료첨가제의 다양한 농도(0.3, 0.6 및 0.9%)에 따른 넙치의 간기능의 활성에 미치는 영향 및 사료첨가제의 특성에 대해서도 조사하였다. 첨가제에 포함된 유용미생물(유산균, 바실러스균, 효모 및 광합성균)의 총수는 한방천이 5.6×10^8 CFU/g이었으며, 어력천은 3.0×10^8 CFU/g 이었다. 양식에 일반적으로 사용되는 습사료의 병원미생물(*Edwardsiella tarda*, *Vibrio anguillarum* and *Streptococcus* sp.)은 모든 첨가군에 있어서 첨가제의 농도 의존적으로 유의한 감소를 나타내었다. 간중량지수는 0.3%의 첨가군에서 유의하게 증가하였다. 혈중의 단백질량은 모든 첨가군이 유의한 증가를 나타내었으나, 간장내의 단백질량은 대조군이 높은 수치를 나타내었다. 생체방어기작을 하는 catalase 및 superoxide dismutase는 0.3% 및 0.6% 첨가군에서 각각 높은 활성을 나타내었다. 이상의 결과로 한약재와 유용미생물 혼합 사료첨가제의 사용으로 넙치의 항산화효소의 활성을 증대시켜 어류스트레스의 면역증대를 기대할 수 있을 것으로 여겨진다.

감사의 글

이 연구는 2002년도 중소기업청 기술혁신개발사업 및 2003년도 두뇌한국21사업에 의하여 지원되었음.

참고문헌

- Bentinck, S. J., M. H. Bealeu, P. Waterstrat, C. S. Tucker, F. Stiles, P.R. Bpwser and L.A. Brown, 1987. Biochemical reference ranges for commercially reared channel catfish. Prog. Fish Cult., 49: 108-114.
- Buck, J. D. and R. C. Cleverdon, 1960. The Spread plate as a method for enumeration of marine bacteria. Limnol. Ocean-

- ogr., **5**: 75–80.
- Cho, K. C., J. H. Kim, C. S. Go, Y. Kim and K.-K. Kim, 1995. A study on seeding production of the spotted flounder, *Verasper variegatus*. Bull. Nat. Fish. Res. Dev. Agency, **50**: 41–57.
- Fasaic, K. and J. Palackova, 1990. Total protein and serum fraction values in two-year carp (*Cyprinus carpio* L.). Acta. Bio. lugosl. E. Ichthyol., **22**, pp. 23–30.
- Harbell, S. C., 1979. Studies on the pathogenesis of vibriosis in coho salmon *Onchorhynchus kisutch* (Walbaum). J. Fish Dis., **2**: 391–404.
- Hatae, K., K. H. Lee, T. Tsuchiya and A. Shimada, 1989. Textural properties of cultured and wild fish meat. Nippon Suisan Gakkaishi, **55**: 363–368.
- Jo Y., K. Ohnishi and K. Muroga, 1979. *Vibrio anguillarum* isolated from cultured yellow tail Fish Pathology. **14**: 43–47.
- Kalač, P., J. Špička, M. Křížek and T. Pelikánová, 2000. The effects of lactic acid bacteria inoculants on biogenic amine formation in sauerkraut. Food Chem., **70**: 355–359.
- Lancini, G. and R. Lorenzetti, 1993. Biotechnology of antibiotics and other bioactive microbial metabolites. New York: Plenum.
- Lowry, O. H., N. J. H. Rosebroug, A. L. Farr and R. J. Randall, 1951. Protein measurement with Folin phenol reagent. J. Bopchem., **193**: 265–275.
- MacFaddin, J. F., 2000. Biochemical test for identification of medical bacteria. Lippincott willams and willkins, Third edition.
- MacLeay, D. J. and D. A. Brown, 1979. Stress and chronic effects of untreated and treated bleached kraft pulpmill effluent on the biochemistry and stamina of juvenile coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*). J. Fish. Res. Board Can., **36**: 1049–1059.
- Marklund, S. and G. Marklund, 1974. Onvolvement of the superoxide anion radical in the antioxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. Eur. J. Biochem., **47**: 469–474.
- Manickam, R., K. Viswanathan and M. Mphan, 1994. Effect of probiotics in broiler performance. Ind. Vet. J., **71**: 737–739.
- Nakagawa, H. and S. Kasahara, 1986. Effect of Ulva-meal supplement to diet on the lipid metabolism of red sea bream. Bull. Jap. Soc. Sci. Fish., **52**: 1887–1893.
- Nakagawa, H., M. Kayama and K. Ikuta, 1977. Electrophoretic evidence of seasonal variation of carp plasma albumin. J. Fac. Fish. Anim. Husb. Hiroshima Univ., **16**: 99–106.
- Nakagawa, H., S. Kasahara, E. Uno, T. Minami and K. Akira, 1981. Effects of chlorella-extract supplement in the diet on resisting power against disease of cultured Ayu. Aquaculture, **29**: 109–116.
- Olsson, C. J., a. Westerdahl, P. L. Conway, and S. Kjellberg, 1992. Intestinal colonization potential of turbot (*Scophthalmus maximus*) and dab (*Limanda linamda*) associated bacteria with inhibitory effects against *Vibrio anguillarum*. Appl. Environ. Microbiol., **58**: 551–556.
- Quentel, C. and J. Aldrin, 1986. Blood changes in catheterized rainbow trout (*Salmo gairdneri*) intraperitoneally inoculated with *Yersinia ruckeri*. Aquaculture, **53**: 169–185.
- Raizada, M. N., K. K. Jain and S. Raizada, 1984. A study of the biochemical constituents of blood of a freshwater teleost, *Cirrhinus mrigala* (Ham.). Comp. Physiol. Ecol., **9**: 146–148.
- Rho S., P. Y. Kim., Y. D. Lee, K. S. Choi and C. B. Song, 1999. Effect of Recombinant Bovine Somatotropin on Growth of Olive Flounder, *Paralichthys olivaceus*. J. of Aquaculture, **12**: 79–89.
- Rinkinen, M., K. Jalava, E. Westermarck, S. Salminen and A. C. Ouwehand, 2003. Interaction between probiotic lactic acid bacteria and canine enteric pathogens: a risk factor for intestinal *Enterococcus faecium* colonization? Vet. Microbiol., **92**: 111–119.
- Satoh, K., H. Nakagawa and S. Kasahara, 1987. Effect of Ulva meal supplementation on disease of red sea bream. Nippon Suisan Gakkaishi, **53**: 1115–1120.
- Siddiqui, N., 1977. Seasonal, size and comparative study of plasma proteins of four airbreathing freshwater fishes. Proc. Indian. Sci. Sect. B., **85**: 384–390.
- Weber, L. J., 1979. The effect of carbon tetrachloride on the total plasma protein concentration of rainbow trout, *Salmo gairdneri*. Comp. Biochem. Physiol., **64C**: 37–42.
- Wagner, G. F., R. C. Fager and J. C. Brown, 1985. Further characterization of growth hormone from the chum salmon, *Oncorhynchus keta*. Gen. Comp. Endocrinol., **60**: 27–34.
- Yone, Y., M. Furuchi and K. Urano, 1986. Effects of wakame *Undarea pinnatifide* and *Ascophyllum nodosm* supplements on growth, feed efficiency and proximate composition of liver and muscle of red seabream. Bull. Jap. Soc. Sci. Fish., **52**: 1817–1819.
- 北嘉照夫, 1995. EMで生ゴミを活かす. サンマノク出版.
- 김관유 · 이순재, 2000. 식이 Vitamin E가 급성 카드뮴중독 흰쥐 간조직의 항산화계에 미치는 영향. 한국영양학회지, **33**: 33–41.
- 김동수 · 김중현 · 정창화 · 이상윤 · 이상민 · 문영봉, 1998. 한방 사료 첨가제인 어보산의 효과, I. 넙치의 생존율, 성장, 사료효율 및 비만도에 미치는 영향. 한국양식학회지, **11**: 213–221.
- 김동수 · 노총환 · 정성욱 · 조재윤, 1998. 한방 사료 첨가제인 어보산이 나일틸라피아, *Oreochromis niloticus*의 성장, 사료계수 및 체조성에 미치는 영향. 한국양식학회지, **11**: 83–90.
- 박옥연 · 장동성 · 조학래, 1992. 한약재 추출물의 항균효과 검색. 한국시영학회지, **21**: 91–96.
- 송영보 · 문상욱 · 김세재 · 이영돈, 2002. 상품사료에 첨가한 갑각발효액이 치어기 넙치, *Paralichthys olivaceus*의 성장에 미치는 영향. 한국양식학회지, **15**: 103–110.
- 안현숙 · 서소영 · 김해리, 1998. 비타민 E 보강식이 KK마우스에서 간조직의 항산화계 효소 활성화도에 미치는 영향. 한국식품영양과학회지, **27**: 149–159.
- 이경희 · 이영순 · 김중현 · 김동수, 1998. 한방 사료 첨가제인 어보산의 효과, II. 어보산 첨가사료로 사육한 넙치의 육질에 대한 연구. 한국양식학회지, **11**: 319–325.
- 이영돈 · 송영보 · 문순주 · 박승림 · 문영배, 2000. 키토산 올리고당을 투여한 넙치, *Paralichthys oliaceus*의 성장 효과. 춘계수산관련학회 공동학술대회요약집. pp. 290–291.

원고접수 : 2003년 9월 27일

수정본 수리 : 2004년 4월 21일

책임편집위원 : 한경민