

치어기 넙치 사료내 목초액 첨가에 따른 성장 및 면역반응에 미치는 효과

이승형 · 박건준¹ · 배승철*
 부경대학교 양식학과, ¹우성사료

Effects of Dietary Wood Vinegar Supplementation on Growth and Immune Responses of Juvenile Olive Flounder, *Paralichthys olivaceus*

Seunghyung LEE, Gun Jun PARK¹ and Sungchul C. BAI*
 Department of Aquaculture, Pukyong National University, Busan 608-737, Korea
¹Woosung Co. Ltd, Taedug-gu, Daejeon 306-817, Korea

A 6-week feeding trial was conducted to investigate effects of dietary supplementation with wood vinegar (WV) as a feed additive for juvenile olive flounder, *Paralichthys olivaceus*. Eight experimental diets supplemented with 0 (control), 0.01, 0.025, 0.05, 0.1, 0.25, 0.5 and 2.0% WV/kg diet (WV₀, WV_{0.01}, WV_{0.025}, WV_{0.05}, WV_{0.1}, WV_{0.25}, WV_{0.5}, and WV_{2.0}, respectively) were prepared by mixing with basal diet. After the 6-week feeding trial, fish fed the WV_{0.1} diet had significantly higher weight gain, feed efficiency, and specific growth rate than those of fish fed the other diets (P<0.05). No mortality was observed in the treatment groups fed the experimental diets for 6 weeks. The liver antioxidant activity of fish fed the WV_{0.01}, WV_{0.025}, and WV_{0.05} diets was significantly higher than that of fish fed the other diets. The lysozyme activity of fish fed the WV_{0.25} diet was significantly higher than that of fish fed the other diets. Fish fed diets supplemented with WV had significantly lower cumulative mortality than that of fish fed the control diet throughout the challenge test, and fish fed the WV_{0.05} and WV_{0.1} diets had the highest resistance to disease caused by *Edwardsiella tarda* at day 7 of the challenge test. Therefore, feeding 0.05-0.1% WV/kg diet improves the growth and immune responses of juvenile olive flounder, *Paralichthys olivaceus*.

Key words: Wood vinegar, Growth performance, Immune responses, Olive flounder

서 론

현재까지 양식 분야의 연구 대부분이 특정 수산생물의 대량 생산을 목적으로 이루어져 왔다. 그 결과로 대부분의 양식생물은 고밀도로 사육 되고 있으며, 인위적인 고밀도 양식 시스템에서 양식생물은 다양한 형태의 스트레스(고밀도사육, 물리적 장애, 수질악화, 항생제 및 화학약품의 남용)에 노출되어 있다(Wendelaar-Bonga, 1997). 이러한 양식조건은 사육중인 어류의 최적 성장을 방해하며(Wardle, 1981), 주변 환경에 의해 체내 대사와 생리적 상태의 부정적 변화를 가져오게 하여 커다란 문제로 대두되고 있다. 이러한 예로서, 종묘생산 및 양성과정에 있어서 에너지 대사와 성장을 저하 및 사망 후 육질의 변성 등을 유발하여 결과적으로는 양식 생산량의 감소를 가져온다. 또한, 어류의 면역기능을 억압함으로써 질병에 대한 감수성을 증가시키며 낮은 성장률을 유발하는데 직접적인 역할을 하는 것으로 알려져 있다(Pickering, 1992). 또한, 이러한 양식조건은 비특이적 면역조절 능력을 저하시키고 병원균으로부터 감염을 일으킨다. 척추동물에 있어 비특이적 방어는 병원균의 감염시 첫 번째 방어선으로 알려져 있으

며, 선천적인 면역시스템의 활성화에 의해 병원균으로부터 저항할 수 있는 능력이 강화될 수 있음이 보고되고 있다(Anderson and Siwicki, 1994). 따라서, 최근 많은 연구자들에 의해 성장촉진 및 사료효율을 개선하거나 어류의 비특이적 면역반응 및 항산화능을 증강시켜 생산성 향상 및 양식어류의 질병을 예방할 수 있는 사료첨가제를 개발하기 위한 많은 연구들이 진행되고 있다. 특히, 어류에 효과적으로 작용하는 면역증강 및 성장촉진 물질은 성장호르몬, 박테리아구성소, 다당류, 동식물 추출물 및 영양성 요인 등으로 알려져 있다(Chen and Ainsworth, 1992; Sakai et al., 1996a; b). 그리고 생균제 또한 최근 틸라피아, 무지개송어 및 새우류 등에서 성장촉진 및 면역증강 효과가 입증되었다(Lin et al., 2004; Lara-Flores et al., 2003; Jeong et al., 2006). 목초액(wood vinegar 또는 smoke natural flavor)은 목재를 탄화시키는 과정에서 발생하는 연기를 냉각시켜 얻어지는 응축물을 일정기간동안 정제하게 되면 3개 층으로 분리되는데, 보통 위층(경질유)과 아래층(타르)을 분리제거한 가운데층의 수용액을 말하며, 구미지역에서는 오래전부터 목초액을 향균, 살균, 보존성 향상, 항산화효과, 가공식품의 향취개선 등을 목적으로 식품용 첨가제로 사용하

*Corresponding author: scbai@pknu.ac.kr

여 왔다 (Toth and Potthast, 1984; Pszczola, 1995; Guillen and Manzanos, 1996). 목초액의 주요 구성성분은 보통 물이 80-90%를 차지하고 나머지가 유기물인데, 유기물 중에는 항균력을 가진 초산을 비롯한 유기산과 패놀류가 주성분이며, 칼슘, 칼륨, 마그네슘, 나트륨 등의 무기질과 비타민 B₁, B₂ 등 200여 가지의 유기물로 구성되어 있고, pH 3-4 정도가 품질이 좋은 것으로 보고되어 있다 (Frag, 1989; Kim et al., 2001). 현재까지 일부 양식현장에서 양식기차제 소독 및 어병 방제 효과 목적으로 사용되어져 왔으며, 국내 양식어류 중 넙치 사료내 목초액 첨가효과에 따른 성장효과에 관한 연구결과는 보고되어졌으나 (Ahn et al., 2004), 목초액 농도별 첨가에 따른 성장 및 면역반응에 미치는 효과에 대한 연구는 부족한 상태이다.

따라서 본 실험은 국내 주요 양식 대상종인 넙치를 대상으로 사료내 목초액 농도별 첨가에 따른 성장 및 면역반응에 미치는 영향을 평가하며, 아울러 치어기 넙치 사료내 목초액 적정 첨가 농도를 밝히고자 실시하였다.

재료 및 방법

실험어 및 실험디자인

실험어는 넙치 치어를 사용하였으며, 2주간의 예비사육 후 60 L 사각수조에 평균무게 3.15±0.01 g (mean±SD) 인 넙치 치어 25마리를 각 실험구당 3반복으로 무작위 배치하였다. 각 실험수조는 유수식으로 유수량은 2-4 L/min로 조절하였다. 각 수조에 충분한 산소공급을 위해 에어스톤을 설치하였다. 수온은 전 실험기간동안 자연 수온 (20±2℃)에 의존하였다. 일일 사료공급량은 어체 중의 3-5% (건물량 기준)로 1일 2회 (오전 10시, 오후 4시) 총 6주간 공급 하였다.

실험사료

실험에 사용된 실험사료의 조성표와 일반성분은 Table 1에 나타내었다. 실험사료는 단백질원으로 북양어분 (white fish meal), 젤라틴 및 카제인을 사용하였고, 지질원으로 오징어 간유 (squid liver oil) 및 EPA, DHA 농축유를, 그리고 탄수화물 원으로 밀가루 (wheat meal)를 사용하였다. 실험사료의 조단백질 함량은 50%, 가용에너지는 18.0 kJ/g (protein, carbohydrate and lipid: 16.7, 16.7 and 37.7 J/g, respectively)으로 맞추어 조절하였고 (NRC, 1993), 실험사료는 원료를 혼합한 후 펠렛제조기로 압출·성형하여 밀봉상태로 -20℃에 냉동보관하여 사용하였다. 실험사료에 목초액 (Wood Vinegar, WV; Dongkang Timber Co., Ltd)을 0, 0.01, 0.025, 0.05, 0.1, 0.25, 0.5, 2.0%/kg diet를 각각 첨가하였다 (WV₀, WV_{0.01}, WV_{0.025}, WV_{0.05}, WV_{0.1}, WV_{0.25}, WV_{0.5}, WV_{2.0}).

어체측정 및 성분분석

모든 실험에 있어 어체 측정은 2주 간격으로 실시하였으며, 성장률을 측정하기 위하여 24시간 절식시킨 후 MS-222 (100 ppm)로 마취시켜 전체무게를 측정하였다. 실험종료 후, 증체를, 사료효율, 일간성장률, 단백질전환효율, 간중량지수, 비만

Table 1. Composition and proximate analysis of the basal diet (% of DM basis). ¹Han Chang Fishmeal Co., Pusan, Korea; ^{2,3}United States Biochemical, Cleveland, Ohio 44122; ⁴Young Nam Flour Mills Co., Pusan, Korea; ^{5,6}E-Wha Oil Co., Ltd., Pusan Korea; ^{7,8}Refer to Kim et al. (2002)

Ingredients	%
White Fish Meal ¹	59.0
Gelatin ²	2.5
Casein ³	2.0
Wheat meal ⁴	16.0
Fish oil ⁵	14.0
EPA-DHA (45%) ⁶	0.5
Vitamin premix ⁷	3.0
Mineral premix ⁸	3.0
Proximate analysis (% of dry matter basis)	20.5
Moisture	49.6
Crude protein	19.1
Crude lipid Crude ash	9.2

도 및 생존율을 조사하였다. 실험사료 및 전어체의 일반성분은 실험사료와 각 수조별로 3마리씩 무작위로 추출하여 분쇄한 전어체를 분석했으며, AOAC (2000)방법에 따라 수분은 상압가열건조법 (125℃, 3시간), 조단백질은 Kjeldahl 질소정량법 (N×6.25), 조회분은 직접회화법으로 분석하였다. 조지방은 샘플을 12시간 동결건조한 후 Soxtec system 1046 (Tacator AB, Sweden)을 사용하여 Soxhlet 추출법으로 분석하였다.

Lysozyme 활성 분석

Lysozyme의 활성을 평가하기위해 각각의 실험구 어류에서 분리한 혈청 0.1 mL과 0.05 M sodium phosphate buffer (pH 6.2)에 *Micrococcus lysodeikticus* (0.2 mg/mL)를 부유시킨 suspension 2 mL과 혼합하였다. 반응은 20℃ 조건에서 분광 흡광도계의 흡광도 530 nm에서 0.5분과 4.5분에 측정하였다. Lysozyme의 활성 단위는 분당 0.001의 흡광도 감소를 나타내는 효소의 양으로 정의하였다.

DPPH법을 이용한 항산화 활성 분석

넙치로부터 간을 분리하여 0.1 M PBS로 2회 washing 후 homogenizer를 이용하여 균질화하였다. 이 균질액을 4℃에서 30분간 15,000 g로 원심분리한 후 상층액을 분리하여 분석에 사용하였다. DPPH (0.1 mM) 1 mL에 위 상층액 100 µL를 넣고 혼합 후 0분과 60분 째에 Spectrophotometer를 이용하여 519 nm에서 측정 후 다음과 같은 공식에 의해 항산화능을 계산하였다.

$$\text{Inhibition rate (\%)} = (0 \text{ min} - 60 \text{ min}) \times 100 / 0 \text{ min}$$

공격실험

독성이 있는 *Edwardsiella tarda* 부유액 (1×10⁶ cfu/mL)을 1.5% NaCl이 첨가된 trypticase soy agar (RSA)에 27℃에서 48시간 배양하여 준비하였다. 어류당 박테리아 부유물을 0.1 mL씩 복강주사한 후 폐사를 기록하였다. 폐사어의 폐사원인을 확인하기 위해 매일 폐사된 어체로부터 신장을 채취하여 TSA에 배양하여 *E. tarda*의 존재를 확인하였다.

통계처리

모든 자료의 통계처리는 Computer Program Statistix 3.1 (Analytical Software, St. Paul MN, USA)로 분산분석 (ANOVA test)을 실시하여 최소유의차검정 (LSD: Least Significant Difference)으로 평균간의 유의성 ($P < 0.05$)을 검정하였다.

결과 및 고찰

6주간의 실험결과는 Table 2에 나타내었다. 증체율 및 일간 성장율에 있어서 $WV_{0.1}$ 을 공급한 실험구는 다른 실험구에 비해 유의하게 높은 결과를 나타내었으나 ($P < 0.05$), 다른 실험구간에는 유의한 차이가 없었다. 사료효율에 있어서 $WV_{0.1}$ 을 공급한 실험구가 유의하게 가장 높은 결과를 보였으며, $WV_{0.25}$, $WV_{0.5}$ 및 $WV_{2.0}$ 을 공급한 실험구는 대조구에 비해 유의하게 높은 결과를 나타내었으나 그 실험구간 내에서는 유의한 차이가 없었다. 단백질 전환효율에 있어서는 모든 실험구간에 유의한 차이가 나타나지 않았다. 생존율에 있어서도 모든 실험구간에 유의한 차이가 없었으며, 한 마리의 폐사도 관찰되지 않았다. 실험어의 전어체 일반성분 변화에 있어서는 모든 실험구간에 유의한 차이가 없었으며, 전어체내 수분, 조단백, 조지방 및 조회분 함량은 건조중량 기준으로 각각 $74.9 \pm 0.82\%$ (Mean \pm SD), $65.6 \pm 1.05\%$, $16.7 \pm 0.49\%$ 및 $14.4 \pm 0.36\%$ 으로 나타났었다. 최근 목초액은 축산업, 원예, 버섯재배, 의약품, 건강음료, 탈취제 등으로 활발히 사용되고 있으며 약 200여 종류 이상의 성분을 함유하고 있다 (Kim et al., 2001). 목초액에 함유된 유기물중 약 50% 이상이 초산이고 나머지는 미량성분 (유기 미네랄)으로 이루어져 있는데 (Hisasi, 1993) 이러한 성분들이 넙치의 성장 및 사료효율 촉진을 가져온 것으로 사료된다. 이와 관련하여, Ahn et al. (2004) 및 Park (2004)은 치어기 넙치 사료내 목초액을 첨가하였을 때 증체율

증진효과가 관찰되었음을 보고하였다. 육체에 있어서 사료내 목초액 1%를 첨가하였을 경우 대조구보다 증체율을 높이는 효과가 있음이 보고되어졌다 (Kim, 2007). DPPH를 이용한 항산화능 분석에서는 $WV_{0.01}$, $WV_{0.025}$ 및 $WV_{0.05}$ 가 대조구에 비해서 유의하게 높은 항산화능을 나타내었으며, 그 외의 그룹들은 대조구에 비해 유의한 차이가 없었다 (Table 3). 목초액이 실험어 혈청의 lysozyme 활성에 미치는 영향은 $WV_{0.25}$ 를 공급한 실험구가 대조구에 비해 유의하게 높은 lysozyme 활성을 나타내었으며, $WV_{0.01}$ 그룹을 제외한 그 이외의 목초액 첨가 사료 투여구들은 대조구와 통계적 유의성은 없었지만 대체로 높은 lysozyme 활성을 나타내었다 (Table 3). *Edwardsiella tarda*의 복강주사에 의한 공격실험결과는 Table 4에 나타내었다. 공격실험 후 4, 5, 6일째 누적폐사율에 있어 목초액 첨가구가 대조구에 비해 유의하게 낮게 나타났다. 공격실험 마지막 날인 7일째 $WV_{0.01}$ 실험구를 제외한 농도별 목초액 첨가 실험 사료를 공급한 실험구가 대조구에 비해 유의하게 낮은 누적폐사율을 나타내었으며, $WV_{0.05}$ 및 $WV_{0.1}$ 을 공급한 실험구가 전 실험구간에서 유의하게 가장 낮은 누적폐사율을 보였다. 목초액은 체내에서 발생하는 산소레디칼에 의한 세포막의 산화 및 여러 조직의 산화적 반응을 억제함으로써 어류의 건강을 증진시키는 것으로 사료되며, 또한 lysozyme 활성에 유의하게 좋은 효과를 나타내는 것으로 여겨진다. 어류에 있어서 lysozyme은 정의 효과가 있는 것으로 알려져 있으며 (Grinde, 1989), 이러한 lysozyme은 넙치에 있어서 *Aeromonas hydrophila*, *Pseudomonas fluorescens* 및 *Streptococcus*에 대해 높은 용균능을 가지는 것으로 보고하고 있다 (Kim et al., 1992). 치어기 넙치 사료내 목초액의 면역능력 증진 결과는 *E. tarda*로 공격실험 하였을 때, 목초액 투여구가 대조구에 비해 유의하게 낮은 초기 폐사율을 나타내는 것으로부터 잘 알 수 있

Table 2. Weight gain, feed efficiency, specific growth rate, protein efficiency ratio and survival for flounder fed experimental diet during six wks. Values are means from triplicate groups of fish where the means in each row with a different superscript are significantly different ($P < 0.05$). ¹Pooled standard error of mean: SD/\sqrt{n} . ²Weight gain (%) = [(final wt. - initial wt.)/initial wt.] \times 100. ³Feed efficiency (%) = (wet weight gain/dry feed intake) \times 100. ⁴Specific growth rate (%) = (loge final wt. - loge initial wt.)/days. ⁵Protein efficiency ratio = wet wt. gain/protein intake

	Treatments								Pooled SEM ¹
	WV_0	$WV_{0.01}$	$WV_{0.025}$	$WV_{0.05}$	$WV_{0.1}$	$WV_{0.25}$	$WV_{0.5}$	$WV_{2.0}$	
WG (%) ²	183 ^c	188 ^{bc}	190 ^{bc}	196 ^{bc}	218 ^a	202 ^{bc}	192 ^{bc}	191 ^{bc}	2.1
FE (%) ³	95 ^b	96 ^c	97 ^{de}	99 ^{de}	114 ^a	105 ^{bc}	103 ^{bc}	101 ^{cd}	1.4
SGR (%) ⁴	2.5 ^{bc}	2.5 ^{bc}	2.5 ^{bc}	2.5 ^{bc}	2.7 ^a	2.6 ^b	2.5 ^{bc}	2.5 ^{bc}	0.1
PER ⁵	2.1	2.1	2.0	2.3	2.3	2.1	2.2	2.2	0.2
Survival (%)	100	100	100	100	100	100	100	100	0.0

Table 3. Lysozyme activity and antioxidant activity of liver of oliver flounder fed the experimental diets for six wks. Values are means from triplicate groups of fish where the means in each row with a different superscript are significantly different ($P < 0.05$). ¹Pooled standard error of mean: SD/\sqrt{n}

	Treatments								Pooled SEM ¹
	WV_0	$WV_{0.01}$	$WV_{0.025}$	$WV_{0.05}$	$WV_{0.1}$	$WV_{0.25}$	$WV_{0.5}$	$WV_{2.0}$	
Antioxidant activity (%)	25.9 ^b	35.8 ^a	39.6 ^a	39.5 ^a	22.6 ^b	22.2 ^b	24.3 ^b	28.3 ^b	2.60
Lysozyme activity (U/mL)	2.19 ^b	2.13 ^b	2.63 ^b	2.38 ^b	2.44 ^b	3.69 ^a	2.31 ^b	2.75 ^b	0.18

Table 4. Cumulative mortality (%) after intraperitoneal injection of *Edwardsiella tarda* in cultured olive flounder, *Paralichthys olivaceus*. Values are means from triplicate groups of fish where the means in each row with a different superscript are significantly different ($P < 0.05$). ¹Pooled standard error of mean: SD/\sqrt{n}

Days	Treatments								Pooled SEM ¹
	WV ₀	WV _{0.01}	WV _{0.025}	WV _{0.05}	WV _{0.1}	WV _{0.25}	WV _{0.5}	WV _{2.0}	
4	86 ^a	67 ^b	50 ^c	50 ^c	33 ^d	35 ^d	43 ^c	45 ^c	1.8
5	90 ^a	73 ^b	72 ^b	74 ^b	61 ^c	81 ^b	79 ^b	76 ^b	1.9
6	100 ^a	88 ^b	78 ^b	78 ^b	70 ^c	81 ^b	85 ^b	79 ^b	1.5
7	100 ^a	100 ^a	91 ^b	83 ^c	70 ^c	91 ^b	91 ^b	85 ^b	1.3

며, 보체, 식세포와 lysozyme의 유기적인 작용으로 인해 용균능의 증가로 인한 면역반응의 증가로 사료된다. 앞서 언급한 목초액의 면역 기능 향상과 관련하여 이미 관련 연구결과들이 많이 보고되어져 있다. 천연유기산을 돼지 사료내 첨가하였을 때 장내 유해 미생물의 번식을 억제하는 효과와 생산력을 증가시킨다는 보고가 있으며 (Giesting and Easter, 1985), Carrie and Friedhelm (1999)에 의하면 가금용 사료에 천연 유기산을 첨가하였을 때 곰팡이균의 성장을 억제한다고 보고하였다. 목초액 또한 이러한 항곰팡이 및 항균의 효과가 큰 것으로 판단된다. 또한, 목초액을 사료에 첨가하여 사육한 소의 경우, 육질개선, 지방 산패도 및 총균수 감소 등의 효과를 가지고 이는 것으로 보고하고 있다 (Kook and Kim, 2003). 따라서, 본 실험의 결과를 통하여 목초액이 급속한 양식업의 팽창과 더불어 고밀도 사육과 같은 문제로 인해 생산성 저하 및 어병이 빈번하게 발생하고 있는 국내 양식산업에 성장촉진 및 사료효율을 개선하고 어류의 면역 반응을 증강시켜 생산성 향상 및 양식어류의 질병을 예방할 수 있는 사료첨가제로 사용이 가능함을 보여주었다. 넙치 치어의 경우 목초액을 0.05-0.1%를 사료에 첨가하는 것이 성장, 사료효율 및 면역반응 증진에 좋은 효과를 나타낼 수 있을 것을 사료된다.

사 사

본 연구는 (주)동강목재가 부경대학교 사료영양연구소에 의뢰한 산학협력에 의한 연구과제이다. 원활한 실험진행을 위해 많은 지원을 해주신 (주)동강목재 관계자 분들께 깊은 감사사를 드립니다.

참 고 문 헌

- Ahn, B.J., S.T. Cho, T.S. Jo, G.S. Jeong and S.C. Ji. 2004. Effect of wood carbonization products on growth and body composition of flounder, *Paralichthys olivaceus*. J. Kor. For. Eng., 23, 35-44.
- Anderson, D.P. and A.K. Siwicki. 1994. Duration of protection against *Aeromonas salmonicida* in brook trout immunostimulated with glucan or chitosan by injection or immersion. Prog. Fish Cult., 56, 258-261.
- AOAC. 2000. Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists, 16th ed., Association of Official Analytical Chemists, Inc., Arlington, VA, USA.
- Carrie, H. and B. Friedhelm. 1999. Efficacy of several organic acids against molds. J. Appl. Poul. Res., 8, 480-487.
- Chen, D. and A.J. Ainsworth. 1992. Glucan administration potentiates immune defense mechanisms of channel catfish, *Ictalurus punctatus* Rafinequ. J. Fish Dis., 15, 295-304.
- Farag, R.S. 1989. Antimicrobial activity of some Egyptian spice essential oils. J. Food Protect., 52, 665-670.
- Giesting, D.W. and R.A. Easter. 1985. Response of starter pigs to supplementation of corn-soybean meal diets with organic acid. J. Anim. Sci., 5, 1288-1294.
- Grinde, B. 1989. Lysozyme from rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson, as an antibacterial agent against fish pathogens. J. Fish Dis., 12, 95-104.
- Guillen, M.D. and M.J. Manzanos. 1996. Study of the components of an aqueous smoke flavoring by means of Fourier transform infrared spectroscopy and gas chromatography with mass spectrometry and flame ionization detectors. Adv. Food Sci., 18, 121-127.
- Lin H.Z., Z. Guo, Y. Yang, W. Zheng and Z.J. Li. 2004. Effect of dietary probiotics on apparent digestibility coefficients of nutrients of white shrimp *Litopenaeus vannamei* Boone. Aquacult. Res., 35, 1441-1447.
- Hisasi, Y. 1993. Promoting effect of wood vinegar compounds on the mycelial growth of two basidiomycete. Trans. Mycol. Soc. Jap., 141.
- Jeong, C.W., H.J. Choi, G. Yoo, S. Lee, Y.C. Kim, O.E. Okorie, J.H. Lee, K.D. Jun, S.M. Choi, K.W. Kim, Y.J. Kang, J.C. Kang, I.S. Kong and S.C. Bai. 2006. Effects of dietary probiotics supplementation on juvenile olive flounder, *Paralichthys olivaceus*. J. Kor. Fish. Soc., 39, 460-465.
- Kim, J.W., S.I. Park and S.K. Chun. 1992. Purification and antibacterial effect of lysozyme from flounder, *Paralichthys olivaceus*. J. Fish Pathol., 5, 87-92.
- Kim, Y.H., S.K. Kim, K.S. Kim and Y.H. Lee. 2001. Composition of constituents of commercial wood vinegar liquor in Korea. J. Kor. Soc. Appl. Biol.

- Chem., 7, 337-341.
- Kim, K.W., X.J. Wang and S.C. Bai. 2002. Optimum dietary protein level for maximum growth of juvenile olive flounder *Paralichthys olivaceus* (Temminck et Schlegel). *Aquacult. Res.*, 33, 673-679.
- Kim, Y.J. 2007. Effect of dietary supplementation with probiotics, illite, active carbon and hardwood vinegar on the performance and carcass characteristics of broiler. *Kor. J. Poult. Sci.*, 34, 165-172.
- Kook, K. and K.H. Kim. 2003. Effects of supplemental levels of bamboo vinegar in fattening hanwoo cow. *J. Anim. Sci.*, 45, 57-68
- Lara-Flores, M., A. Miguel, E. Beatriz and W. Lopez-Madrid. 2003. Use of the bacteria *Streptococcus faecium* and *Lactobacillus acidophilus*, and the yeast *Saccharomyces cerevisiae* as growth promoters in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquaculture*, 216, 193-201.
- NRC (National Research Council). 1993. Nutrient Requirements of Warm Water Fishes and Shellfishes. National Academic Press, Washington, D.C., USA, 1-102.
- Park, G.J. 2004. Effects of dietary smoke natural flavor and feed stimulants (BAISM) on growth and non-specific immune response in juvenile olive flounder, *Paralichthys olivaceus*. Ph.D. Dissertation. Pukyong National University, Korea.
- Pickering, A.D. 1992. Rainbow trout husbandry: management of the stress response. *Aquaculture*, 100, 125-139.
- Pszczola, D.E. 1995. Tour highlights production and uses of smoke-based flavors. *Food Technol.*, 49, 70-74.
- Sakai, M., M. Kobayashi and H. Kawauchi. 1996a. In vitro activation of fish phagocytic cells by GH, prolactin and somatolactin. *J. Endocrinol.*, 151, 113-118.
- Sakai, M., M. Kobayashi and H. Kawauchi. 1996b. Mitogenic effects of growth hormone and prolactin on chum salmon *Oncorhynchus keta* leucocytes in vitro. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, 53, 185-189.
- Toth, L. and K. Potthast. 1984. Chemical aspects of the smoking of meat and meat products. *Adv. Food Res.*, 29, 87-158.
- Wardle, C.S. 1981. Physiological Stress in Captive Fish. In: *Aquarium systems*. Hawkins, A.D. ed., Academic Press, London, U.K., 403-414.
- Wendelaar-Bonga, S.E. 1997. The stress response in fish. *Physiol. Rev.*, 77, 591-625.

2008년 6월 3일 접수

2008년 8월 11일 수리