

사료내 다양한 첨가제가 넙치 (*Paralichthys olivaceus*) 치어의 성장 및 비특이적 면역반응에 미치는 영향

김강웅[†] · 김경덕 · 이봉주 · 이진혁 · 배승철* · 최윤희* · 한현섭
(국립수산과학원 · *부경대학교)

Effects of Dietary Inclusion of Various Additives on Growth Performance and Immune Responses in Juvenile Olive Flounder(*Paralichthys olivaceus*)

Kang-Woong KIM[†] · Kyoung-Duck KIM · Bong-Joo LEE

Jin-Hyeok LEE · Sungchul C. BAI* · Youn-Hee CHOI* · Hyon-Sob HAN

([†]National Fisheries Research & Development Institute · *Pukyong National University)

Abstract

This study was conducted to investigate the effects of dietary inclusion of various additives Solid sulfur, fucoidan, and glucan on growth performance and immune responses in Juvenile olive flounder *paralichthys olivaceus*. Six experimental diets supplemented with : no additives (CON); 0.5 and 1.0% solid sulfur (S); 0.2 and 0.4% fucoidan (F); 0.1% glucan (G) of these additives diet on a dry-matter basis. Fish averaging 8.2±0.17g were fed one of six experimental diets in triplicate groups for 6 weeks. By the end of the feeding trial, weight gain, feed efficiency, specific growth rate, protein efficiency ratio, hepatosomatic index and condition factor of fish fed diet CON were significantly lower than those of fish fed the all additives diets ($P < 0.05$). In challenge test, fish were infected by intraperitoneal injection of 0.1 ml bacterial suspension with *Edwardsiella tarda* per fish after the feeding trial. As a result fish fed All additive diet showed a lower cumulative mortality than did fish fed CON diet throughout the challenge test. In conclusion, these results indicated that solid sulfur, fucoidan and glucan enhanced the growth, feed efficiency and non-specific immune activity of juvenile flounder and protect the fish against microbial infections.

Key words : Olive flounder, Additive, Solid Sulfur, Fucoidan, Glucan

1. 서론

우리나라 주요 어류양식 어종인 넙치는 2012년 생산량이 39,371톤(국내 천해 어류양식 총 생산량의 52%)으로 국내 어류양식에서 가장 생산량이 많은 어종이다(FAO, 2012). 넙치는 최근 양식업

의 발달함에 따라 고밀도 사육 등의 인위적인 환경 때문에 자연 상태에서는 문제되지 않았던 스트레스의 증가 및 면역력 감소로 인한 질병 등의 문제점이 발생하였다(Kwon and Jung, 2012). 이러한 이유로 최근에는 배합사료에 여러 가지 기능성 물질들을 사용하여 성장 촉진 및 사료효율 증

[†] Corresponding author : 054-230-3620, kangwoongkim@korea.kr

* 본 연구는 국립수산과학원(친환경 실용배합사료 개발 및 품질관리 연구, RP-2013-AQ-160)의 지원에 의해 운영되었음.

가 그리고 면역능력 활성화 등을 연구하여 배합사료의 품질을 향상 시키는 연구가 진행되고 있다 (Kim et al., 2009a; Kim et al., 2009b; Kim et al., 2011). 현재 연구되어진 넙치에 대한 사료첨가제로는 천연단백질 자원을 6 N HCl로 24시간 가수분해한 후 NaOH로 중화한 산 가수분해 물질 (KH)과 클로렐라가 사료효율 및 섭취촉진 효과가 있는 것으로 보고되어 졌으며(Choi et al., 2002; Kim et al., 2002), 이 밖에 송강약돌(Choi et al., 2004), 목초액(Lee et al., 2008), 해조류 혼합물(Kim et al., 2009)등 넙치의 배합사료 기능성 원료들로서의 첨가가 연구 진행된 바 있다.

이러한 기능성 원료들 이외에도 다양한 기능성을 지닌 첨가제들이 연구 되어졌는데, 푸코이단이나 유황 그리고 글루칸과 같은 물질들이 연구되고 있다. 푸코이단은 항 스트레스 효과, 콜레스테롤 저하 작용이나 항종양 작용을 가지는 것으로 보고되어 졌으며(Brunner et al., 1998; Del Bigio et al., 1999; Piao et al., 2004), 유황은 사료에 첨가 시 성장과 사료효율을 개선시켰다는 연구가 보고되었지만(Van weerdn et al., 1976), 강한 독성으로 인해 제독을 해주지 않으면 부작용이 생긴다고 보고되었다(Lee et al., 2010). 글루칸은 이전 실험에서 0.1%미만을 첨가 시 성장과 사료효율 증진, 질병 저항성에 좋은 효과가 나타났다고 보고되었다(Kim et al., 2006).

본 연구에서는 넙치의 첨가제로서 유황과 푸코이단, 글루칸 등의 첨가 물질을 사용하여 넙치용 배합사료의 기능을 향상시키고자 하였다.

II. 연구내용 및 방법

1. 실험사료 및 실험설계

넙치 실험에 사용된 실험사료의 조성 및 일반 성분은 Table 1과 같다. 대조 사료는 어분을 주

단백질원으로 사용하여 사료내 단백질 50%, 지질 12.5%가 되도록 Moist pellet 사료를 제조하였다. 실험사료에는 대조 사료(CON)를 셀룰로스 대신에 고체유황(신원무역, 서울, 한국) 0.5%와 1.0%(S0.5, S1.0), 푸코이단(수협사료, 의령, 한국) 0.2%와 0.4%(F0.2, F0.4), β -글루칸(수협사료, 의령, 한국) 0.1%(G0.1)를 첨가하였다. 모든 실험사료는 포장하여 -20℃에 냉동 보관하면서 사용하였다.

2. 실험어 및 사육관리

실험어는 평균무게 8.2±0.17 g(mean±SD) 인 넙치 치어를 300L PP원형수조에 25마리씩 수용하여 실험구당 3반복으로 무작위 배치하였다. 사료는 만복으로 1일 2회(오전 10시, 오후 4시) 공급하였다. 사육실험은 6주간 실시하였으며, 실험기간 동안의 평균수온은 18.2±1.01℃였다.

3. 어체측정 및 성분분석

실험어는 실험 시작과 종료시에 MS-222 100ppm에 마취하여 전체무게를 측정하였다. 실험사료별 사육효과를 평가하기 위해 증체율, 사료효율, 단백질전환효율, 일간성장률, 비만도, 간중량지수 및 생존율을 조사하였다. 실험사료 및 전어체의 시료를 취하여 일반성분 분석을 실시하였다. 각각의 샘플은 마쇄하여 사용하였으며, AOAC(2002)의 방법에 따라 수분은 105℃의 dry oven에서 6시간 건조 후 측정하였으며, 조단백질(N×6.25)은 Auto Kjeldahl System (Gerhardt VAP500T/TT125, KG, Germany)을 사용하여 분석하였다. 조지방은 조지방 추출기(Velp SER 148, Usmate, Italy)를 사용하여 ether로 추출한 후 측정하였다.

사료내 다양한 첨가제가 넓치 (*Paralichthys olivaceus*) 치어의 성장 및 비특이적 면역반응에 미치는 영향

<Table 1> Composition (% of dry matter basis) of the experimental diets for juvenile olive flounder

Ingredient	Diet					
	CON	S0.5	S1.0	F0.2	F0.4	G0.1
Fish meal ¹⁾	67.0	67.0	67.0	67.0	67.0	67.0
Corn gluten meal ¹⁾	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0
Soybean meal ¹⁾	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0
Dextrin ²⁾	13.0	13.0	13.0	13.0	13.0	13.0
Squid liver oil ³⁾	7.0	7.0	7.0	7.0	7.0	7.0
Vitamin premix ⁴⁾	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0
Mineral premix ⁵⁾	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0
Choline	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
CMC ^{2,6)}	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5
Additive ⁷⁾	0.0	0.5	1.0	0.2	0.4	0.1
Cellulose ²⁾	1.0	0.5	0	0.8	0.6	0.9
Proximate analysis						
Moisture	23.2	24.2	23.1	22.4	23.5	24.5
Crude protein	49.6	50.1	50.0	49.8	50.7	50.1
Crude lipid	12.5	12.4	12.2	12.6	12.5	12.3
Crude ash	10.8	11.0	10.9	10.5	10.8	10.6

¹⁾Provided by Su-hyup Feed, Korea

²⁾United States Biochemical, Cleveland, U.S.A

³⁾Ehwa Fat and Oil Industry, Korea

⁴⁾Vitamin premix(mg/1kg Diet) : Vitamin C, 300; Pantothenic acid, 150; Choline, 3000; Inositol, 150; menadione, 6; Niacin, 150; Pyridoxine, 15; Riboflavin, 30; Thiamine, 15; Vitamin E, 201; Retinol, 6; Biotin, 1.5; Folic acid, 5.4; Vitamin B12,0.06.

⁵⁾Mineral premix(mg/1kg Diet) : Aluminium, 1.2; Calcium, 5000; Chlorine, 100; Copper, 5.1; Cobalt, 9.9; Sodium, 1280; Magnesium, 520; Phosphorus, 5000; Potassium, 4300; Zinc, 27; Iron, 40.2; Iodine, 4.6; Selenium, 0.2; Mangan, 9.1.

⁶⁾Carboxymethylcellulose

⁷⁾Additive: S=Solid sulfur , F=Fucoidan, G=Glucan

4. 혈청분석

혈청 성분 분석을 위해 실험 종료시에 실험어를 수조당 5마리씩 무작위로 추출, 일회용 주사기를 사용하여 실험어의 미부정맥에서 혈액을 채혈하였다. 채혈된 혈액은 원심분리 관에 넣고 실온에 30분간 방치한 후 3,000rpm에서 10분간 원심분리 하였다. 혈액샘플의 총 단백질은 biuret법으로, 글루코스는 효소법으로 그리고 GOT (glutamic oxaloacetic acid)와 GPT (glutamic pyruvic acid)는 Reitman-Frankel법으로 분석하였다.

5. 면역반응 및 병원성 균주 저항실험

면역반응을 나타내는 라이소자임 활성은 Parry et al. (1965)의 turbidimetric 방법을 이용하여 측정

하였다. 공격실험을 위하여 사육실험을 마친 실험어를 실험구별로 10마리씩 수용하여 1 x 10⁶ cfu/ml 농도의 *Edwardsiella tarda* 균 0.1 ml 씩을 실험어의 복강에 주사하고, 일별 누적폐사율을 조사하였다.

6. 통계처리

실험의 분석결과는 각각의 군별로 평균과 표준편차(mean± S.D.)를 사용하여 표기 하였으며, 모든 자료는 Windows용 SPSS 프로그램(Statistical Package for Social Science, SPSS Inc, Chicago, IL, USA)을 이용하여 처리하였고, 반복측정에 의한 ANOVA test를 한 후 Duncan's multiple range test로 유의성 검증을 실시하였다. 모든 통계적 유의수준은 P < 0.05 에서 결정되었다.

<Table 2> Growth performance of juvenile olive flounder fed the experimental diets for 6 weeks

	Diet ¹⁾						Pooled SEM ¹¹⁾
	CON	S 0.5	S 1.0	F 0.2	F 0.4	G 0.1	
IW ²⁾	8.19	8.24	8.23	8.17	8.24	8.21	0.01
FW ³⁾	27.93	30.90	29.96	31.62	33.21	31.85	0.74
WG ⁴⁾	241 ^d	275 ^b	264 ^c	287 ^{ab}	303 ^a	288 ^{ab}	8.88
FE ⁵⁾	82.0 ^d	93.2 ^b	90.4 ^{bc}	95.7 ^{ab}	99.6 ^a	98.0 ^a	2.60
PER ⁶⁾	1.61 ^d	1.86 ^b	1.81 ^{bc}	1.91 ^{ab}	1.99 ^a	1.96 ^a	0.06
SGR ⁷⁾	2.27 ^c	2.39 ^b	2.35 ^b	2.44 ^{ab}	2.51 ^a	2.47 ^a	0.04
HSI ⁸⁾	2.31 ^c	2.45 ^b	2.41 ^b	2.50 ^{ab}	2.55 ^a	2.49 ^{ab}	0.03
CF ⁹⁾	1.48 ^c	1.70 ^{ab}	1.68 ^b	1.75 ^a	1.79 ^a	1.74 ^{ab}	0.04
Survival ¹⁰⁾	96.0	98.7	97.3	98.7	98.7	97.3	0.45

¹⁾Values are means form triplicate groups of fish where the values in each row the different superscripts are significantly different (P<0.05).

²⁾IW: Initial weight (g/fish)

³⁾FW: Final weight (g/fish)

⁴⁾WG: Weight gain (%) = (final weight - initial weight) × 100 / initial weight

⁵⁾FE: Feed efficiency (%) = (wet weight gain / dry feed intake) × 100

⁶⁾PER: Protein efficiency ratio = wet weight gain / protein intake

⁷⁾SGR: Specific growth rate (%/day) = (loge final weight - loge initial weight)×100/days

⁸⁾HSI: Hepatosomatic index = Liver weight / body weight × 100

⁹⁾CF: Condition factor = 100 × Body weight / Total Body Length³

¹⁰⁾Survival (%) =Number of fish at end of experiment / Number of fish stocked × 100

¹¹⁾Pooled SEM: Pooled standard error of mean: SD/.

Ⅲ. 결과 및 고찰

3종의 사료첨가제를 이용한 넙치 치어의 증체율, 사료효율, 단백질전환효율, 일간성장률, 간 중량지수, 비만도 및 생존율에 대한 실험결과는 Table 2에 나타내었다. 본 실험에서 첨가제가 포함된 실험구 S0.5, S1.0, F0.2, F0.4 G1.0 실험구가 대조구(CON)보다 성장 및 사료효율이 향상되었다(P<0.05). 푸코이단 첨가된 F0.2 실험구와 F0.4 실험구는 차이는 없었다(P>0.05). 사료내 첨가량을 늘렸을 때 전체적으로 높아지는 경향이 나타났다. 반면 고체유황이 첨가된 실험구 S1.0은 실험구 S0.5에 비해 증체율이 유의적으로 낮아지는 경향을 보였으며, 사료효율 단백질전환효율, 일간 성장률, 간중량지수 및 비만도 역시 사료내 첨가량을 늘렸을 때 오히려 감소하는 경향을 보였다

(P<0.05). 이런 결과는 유황의 독성 때문이라 보여지며, 이와 유사한 결과에서도 유황함량의 증가가 육계의 체중을 감소시킨다는 보고가 있었다 (In et al., 2012). 마지막으로 글루칸이 첨가된 실험구 G0.1은 3종의 첨가제 중 유황이 첨가된 실험구 S0.5, S1.0와 푸코이단이 첨가된 실험구 F0.2에 비해 전체적으로 높은 경향이 나타났으며, 실험구 F0.4에 비해서는 낮은 경향이 나타났다. 모든 실험구 중 푸코이단이 들어있는 F0.2 및 F0.4 실험구는 다른 실험구보다 효과가 좋았으며, 특히 F0.4 실험구에서 가장 좋은 효과를 나타내었다.

사료 첨가제의 효능은 어종과 사료원의 조성과 품질 등에 따라 달라지기 때문에 이에 대한 고려가 필요하며(Lindsay et al., 1984; Kono et al., 1987; Shiau and Yu, 1999), 사료의 품질이 우수하

고 양식 대상 종에 필요한 영양소와 물질을 충분히 함유하고 있는 사료에는 첨가제의 효능이 발휘되지 못할 수 있다(Lee et al., 2000). 첨가제의 종류에 따라서 함량 이상의 농도를 사용하는 것은 효과가 없거나 오히려 부작용이 나타날 수 있기 때문에 사용에 주의가 필요하다(Shiau and Yu, 1999).

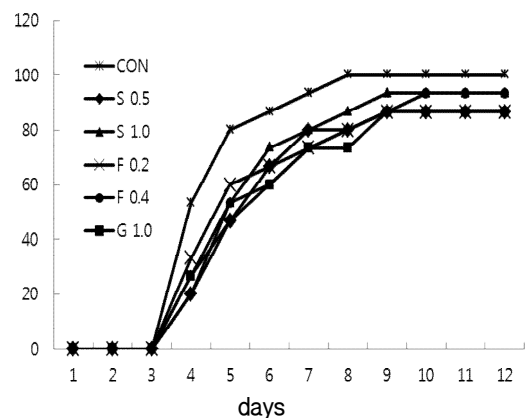
실험어의 혈청내 글루코스, 총단백질, GPT, GOT의 함량을 <Table 3>에 나타내었다. 혈청내 글루코스 및 GPT 함량은 첨가제가 포함된 실험구들에서 대조구보다 유의적으로 낮게 나타났다($P < 0.05$). 일반적으로 글루코스는 탄수화물대사의 척도를 나타내는 것으로 대사가 원활할 때 감소하기 때문에 첨가제에 의해 대사효율이 향상되었을 가능성이 높다(Choi et al., 2002). GPT는 당, 지질, 단백질 대사에 관여하는 효소로 간, 심장 및 근육 등의 조직 손상의 지표로 사용되며, 대개 간에 장애가 있을 경우 수치가 증가한다. 대조구의 GPT 수치가 건강상태를 벗어나는 수치는 아니지만 사료에 첨가제가 함유될 경우 건강도 향상에 도움이 되는 것으로 생각된다. 이전 실험에서는 흰쥐의 복강내 푸코이단 추출물을 투여해 관찰한 결과 대조군에 비해 GPT 수치가 40% 감소한 것을 볼 수 있었다(Kang et al 2006). 글루칸 역시 GPT 수치가 대조구에 비해 감소하는 것을 이전 실험에서 관찰 할 수 있었다(Kim et al., 2006). 총단백질 및 GOT는 모든 실험구에서 차이를 보이지 않았다($P > 0.05$).

사육실험 종료 후, 실험사료를 섭취한 치어기 넙치의 전어체 일반성분 분석결과는 <Table 4>에 나타내었다. 모든 실험에서 일반성분은 차이를 보이지 않았다.

실험어의 비특이적 면역반응의 실험 결과는 <Table 5>에 나타내었다. 비특이적 면역반응의 지표로 사용되는 라이소자임 활성도는 면역반응이 일어나면 그 수치가 증가한다. 본 실험에서는 실험구에 따라 유의적인 차이를 보였으며, 이는 첨가제 종류 및 함량에 따라 면역효과가 다르게

나타나는 것으로 판단된다. 대조구와 비교하여 첨가제 실험구가 높은 라이소자임 활성도를 보였다. 푸코이단의 경우 가장 높은 활성도를 보였는데, 이전 실험결과 1.0 mg/mL의 푸코이단이 대조구에 비해 387% 가량 면역세포의 생육도가 활성화된 결과와 유사하였다(Kim et al., 2010; Ha et al., 2008). 글루칸의 경우 이전 실험결과 0.05와 0.1을 첨가한 넙치에서 라이소자임 활성도가 높은 결과를 보였다(Kim et al., 2006). 반대로 유허의 경우 이전 실험결과 육계에서 면역기능을 증대 할 수 없다고 보고되었다(Park et al., 2003). 이러한 결과는 종에 따라 첨가제의 효능이 다르게 나타난다고 볼 수 있다. 또한 고체 유허 첨가된 실험구 S0.5는 실험구 S1.0 실험구에 비해 유의적으로 높게 나타났는데($P < 0.05$), 이것은 일정 함량 이상의 유허 첨가는 오히려 효과가 떨어지는 것으로 판단된다.

공격실험에서는 복강주사 후 4일째에 모든 실험구에서 폐사가 일어나기 시작하였으며, 대조구는 8일째에 전량 폐사하였다. 하지만, 첨가제가 포함된 실험구들은 폐사 진행속도가 더디게 나타나 *Edwardsiella tarda* 균에 대한 저항성이 있는 것으로 사료된다(Fig 1).



[Fig 1] Cumulative mortality (%) after intraperitoneal injection of *E. tarda* in cultured olive flounder, *Paralichthys olivaceus*

이전 실험결과 유허에 있어서 향균실험 결과 향균효과가 있음을 보여주었으며(Weld and Gunther, 1947), 어류에 있어서 세균의 감염에 대한 방어능력을 증가시키는 글루칸의 효과는 이전 실험결과와 유사하게 나타났다(Roberten et al., 1990; Raa et al., 1992 Yoshida et al., 1996). 그러나 일부의 결과에 따르면 글루칸 투여가 어류의 방어능력 생성에 도움을 주지 않는 결과도 있다(Ogier et al., 1996).

이상의 실험결과를 종합하여 보면, 본 실험에 사용된 고체유허, 푸코이단, 글루칸은 넙치 사료

에 첨가했을 때 사료효율 및 단백질효율 증대에 효과가 있는 것으로 사료된다. 하지만, 면역 증대 효과는 첨가제의 종류 및 함량에 따라 다소 차이가 있었다. 고체유허, 푸코이단, 글루칸은 면역효과도 있는 것으로 판단되지만 고체유허의 경우 일정 함량 이상을 첨가할 경우 그 효과가 떨어지는 것을 관찰 할 수 있다. 이번 실험에 사용한 첨가제 효과들 중 특히, 푸코이단 0.4%는 성장 및 면역 효과에서 다른 첨가제들보다 우수한 결과를 보였기 때문에 앞으로 경제성이 확보된다면 양어사료에 이용 가능할 것으로 생각된다.

<Table 3> Hematological change of the plasma in juvenile olive flounder fed the experimental diets for 6 weeks

	Diet ¹⁾						Pooled SEM ²⁾
	CON	S 0.5	S 1.0	F 0.2	F 0.4	G 0.1	
Glucose (mg/dL)	44.9 ^a	34.4 ^b	36.3 ^b	33.7 ^b	35.5 ^b	32.9 ^b	1.79
Total Protein (g/dL)	2.9	2.6	2.7	2.8	2.9	2.9	0.05
GOT (IU/L)	37.6	38.2	38.5	38.5	37.4	37.1	0.24
GPT (IU/L)	43.7 ^a	37.9 ^b	37.4 ^b	37.1 ^b	37.4 ^b	36.5 ^b	1.09

¹⁾Values are means form triplicate groups of fish where the values in each row the different superscripts are significantly different (P<0.05).

²⁾Pooled SEM: Pooled standard error of mean: SD/.

<Table 4> Proximate composition of whole body in juvenile olive flounder fed experimental diets for 6 weeks

	Diet ¹⁾						Pooled SEM ²⁾
	CON	S 0.5	S 1.0	F 0.2	F 0.4	G 0.1	
Moisture	73.6	74.2	72.9	72.8	73.1	73.5	1.29
Crude protein	18.4	18.5	18.6	18.4	18.7	18.6	0.12
Crude lipid	3.2	3.2	3.3	3.3	3.2	3.04	0.09
Ash	3.1	3.2	3.1	3.3	3.1	3.2	0.04

¹⁾Values are means form triplicate groups of fish where the values in each row the different superscripts are significantly different (P<0.05).

²⁾Pooled SEM: Pooled standard error of mean: SD/.

사료내 다양한 첨가제가 넙치 (*Paralichthys olivaceus*) 치어의 성장 및 비특이적 면역반응에 미치는 영향

<Table 5> Non-specific immune factor in juvenile olive flounder fed the experimental diets for 6 weeks

	Diet ¹⁾						Pooled SEM ²⁾
	CON	S 0.5	S 1.0	F 0.2	F 0.4	G 0.1	
Lysozyme activity (u/ml)	50c	650 ^a	450 ^b	940 ^a	1225 ^a	770 ^a	165.67

¹⁾Values are means form triplicate groups of fish where the values in each row the different superscripts are significantly different (P<0.05).

²⁾Pooled SEM: Pooled standard error of mean: SD/.

Reference

- AOAC(2002). Official Methods of Analysis, 16th edition. AOAC International, Arlington, Virginia..
- Brunner, G. · Reimbold, K. · Meissauer A. · Schirmacher. V & Erkell, L. J.(1998). Sulfated glycosaminoglycans enhance tumor cell invasion in vitro by stimulating plasminogen activating, Exp Cell Res. 239, 301~310.
- Choi, Y. J. · Lee, N. J. · Cho Y. J. & Bai, S. C.(2002). Identification of feeding stimulants to improve efficiency of diet for flatfish, J. Korean. Fish. Soc. 35, 196~200.
- Choi, S. M. · Ko, S. H. · Park, G. J. · Lim, S. R. · Yu, G. Y. · Lee, J. H. & Bai, S. C.(2004) Utilization of Song-Gang stone as the dietary additive in juvenile olive flounder, *Paralichthys olivaceus*, Journal of Aquaculture 17, 39~45.
- Del Bigio, M. R. · Yan, H. J. · Campbel, T. M. & Peeling, J.(1999). Effect of fucoidan treatment on collagenase-induced intracerebral hemorrhage in rats, Neurol Res 21, 415~419.
- FAO. 2012. Fishstat plus, universal software for fishery statistical time series. Food and Aquaculture Organization, United Nations, Rome, Electronic webpage.
- Ha, J. H · Kwon, M. C. · Han, J. G. · Jin, L. · Jeong, H. S. · Choi G. P. · Park, U. Y. · You, S. G. & Lee, H. Y.(2008). Enhancement of immunodulatory activities of low molecular weight fucoidan isolated from hizikia fusiforme, Korean Journal of Food Science and Technology 40, 545~550.
- In, D. C. · Yu, D. H. · Park, C. & Park, J. H.(2012). Physiochemical analysis, toxicity test and anti-bacterial effect of practically detoxified sulfur. Korean Journal of Veterinary, Service 35, 197~205.
- Kang, K. S. · Nam, C. S. Park, E. K & Ha, B. J.(2006). The enzymatic regulatory effects of *Laninaria japonica* Fucoidan Extract in hepatotoxicity, Journal of Life Science 16, 1104~1108.
- Kim, K. D. · Seo, J. Y. · Hong, S. H. · Byun, H. G · Kim, K. W. · Son, M. H. & Lee, S, M.(2011). Effect of dietary inclusion of various additives on growth performance, hematological parameters, fatty acid composition, gene expression and histopathological changes in juvenile olive flounder *Paralichthys olivaceus*, Journal of aquaculture 19, 231~235.
- Kim, K. W. · Bai, S. C. · Koo, J. W. · Wang, X. J. & Kim, S. K.(2002). Effect of dietary *Chlorella Ellipsoidea* supplementation on growth, blood characteristics, and whole-body composition in juvenile japanese flounder (*Paralochthys olivaceus*), Journal of the World Aquaculture Society 33, 425~431.
- Kim, K. W. · Kwon, M. G. · Kim, K. D. Kim · Son, M. H. Son · Park, M. A. & Kim, S. K. (2010). Effects of Extruded Pellet on Growth and Health Parameters in Farm Cultured Olive Flounder *Paralichthys Olivaceus*, Jour. Fish. Mar. Sci. Edu. 22(4), 529~536.
- Kim, K. W. · Heo, S. B. · Kim, K. D. · Son, M. H. · Park, M. W. & Bai, S. C.(2009b). A commercial farm feeding trial to evaluate the laboratory formulated extruded pellet for olive flounder in the East Sea, Jour. Fish. Mar. Sci. Edu. 21(4), 556~561.
- Kim, K. W. · Heo, S. B. · Kim, K. D. · Son, M. H. · Park, M. W. & Bai, S. C.(2009a). Evaluation of the improving extruded pellet for juvenile olive

- flounder *Paralichthys olivaceus*, Jour. Fish. Mar. Sci. Edu, 21(4), 562~567.
- Kim, Y. C. · Kim, K. W. · Lee, S. H. · Park, G. J. · Okorie, E. O. · Kang, Y. J. & Bai, S. C.(2006). Effects of dietary β -1,3glucan on growth and immune responses in juvenile olive flounder, *Paralichthys olivaceus*, Journal of Aquaculture 19, 247~253.
- Kim, S. S. · Jang, J. W. · Lim, S. J. · Jeong, J. B. · Lee, S. M. · Kim, K. W. · Son, M. H. & Lee, K. J.(2009). Effects of dietary supplementation of alga mixtures (*Hizikia fusiformis* and *Ecklonia cava*) on innate immunity and disease resistance against *Edwardsiella tarda* in olive flounder, Kor J Fish Aquaculture Sci 42, 614~620.
- Kono, M. · Matsui, T. & Shimizu, C.(1987). Effect of chitin, chitosan and cellulose as diet supplements on the growth of cultured fish, Nippon Suisan Gakkaishi 53, 125~129.
- Kwon, M. K. & Jung, S. H. (2012). Comparative study of Pathogenicity following single or coinfection with *Edwardsiella tarda* and *Streptococcus iniae* in olive flounder, Jour. Fish. Mar. Sci. Edu, 24(4), 591~601.
- Lee, S. M. · Kim, D. J. · Kim, J. K. · Hur, S. B. · Lee, J. K. & Lim, H. K.(2000). Effects of *Kluyveromyces fragilis*, *Candida utilis* and brewer's yeast as an additive in the diet on the growth and body composition of juvenile Korean rockfish(*Sebastes schlegelii*), J. Korean Fish. Soc 33, 463~468.
- Lee, S. M. · Park, G. J. & Bai, S. C.(2008). Effects of dietary wood vinegar supplementation on growth and immune responses of juvenile olive flounder, *Paralichthys olivaceus*, J. Korean fish Soc 41, 248~252.
- Lee, J. S. · Kwon, J. K. · Han, S. H. · An, I. J. · Kim, S. J. · Lee, S. H. · Park, Y. S. · Park, B. K. · Kim, B. S. · Kim, S. K. · Kim I. H. · Choi, C. S. & Jung, J. Y.(2010). Toxicity study of detoxication sulphur at 3 months post-treatment in rats, Journal of Food Hygiene and Safety 25, 263~268.
- Lindsay, G. J. H. · Walton, M. J. · Adron, J. W. · Fletcher, T. C. · Cho, C. Y. & Cowey, C. B.(1984). The growth of rainbow trout(*Salmo gairdneri*) given diets containing chitin and its relationship to chitinolytic enzymes and chitin digestibility, Aquaculture 37, 315~334.
- Ogier, D. B. · Quentel, C. · Fournier, V. · Lamouer, F. & LeGouvello, R.(1996). Effects of long-term oral administration of β -glucan as an immunostimulant or and adjuvant on some non-specific parameters of the immune response of turbot *Scophthalmus maximus*, Diseases of Aquatic Organisms 26, 139~147.
- Park, J. H. · Ryu, M. S. · Lee, Y. E. · Song, G. S. & Ryu, K. S.(2003). A comparison of fattening performance, physico-chemical properties of breast meat, vaccine titers in cross bred meat type hybrid chicks fed sulfur, Korean Journal of Poultry Science 30, 211~217.
- Parry, R. M. · Chandau, R. C. & Shahani, R. M.(1965). A rapid and sensitive assay of muramidase, Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 119, 384~386.
- Piao, X. L. · Park, I. H. · Baek, S. H. · Kim H. Y. · Park, M. K. & Park, J. H.(2004). Antioxidative activity of furanocoumarins isolated from *Angelicae dahuricae*, J Ethnopharmacil 93, 243~246.
- Raa, J. · Torstad, G. · Engstad, R. & Robertsen, B.(1992). The use of immunostimulants to increase resistance of aquatic organisms to microbial infections.. In: Shariff, M., Subasighe, R.P., Arthur, J.R. (Eds.), Diseases in Asian Aquaculture Vol. 1. Fish Health Section, Asian Fisheries Society, Manila, Philippines, 39~50.
- Robertsen, B. · Rorstad, G. · Engstad, R. & Raa, J.(1990) Enhancement of non-specific disease resistance in Atlantic salmon, *Salmo salar* L., by a glucan from *Saccharomyces cerevisiae* cell walls, Journal of Fish Diseases 13, 391~400.
- Shiau, S. Y. & Yu, Y. P.(1999). Dietary supplementation of chitin and chitosan depresses growth in tilapia, *Oreochromis niloticus* × *O. aureus*, Aquaculture 179, 439~446.
- Van Weerden, E. J · Schutte, J. B. & Srijtsma, J. E.(1976). Relation between methionine and inorganic sulphate in broiler rations, Poultry Sci 55, 1476.
- Weld, J. T. & Gunther, A.(1947) The antibacterial

사료내 다양한 첨가제가 넙치 (*Paralichthys olivaceus*) 치어의 성장 및 비특이적 면역반응에 미치는 영향

properties of sulfur, The Rockefeller university
Press 85, 531~542.

Yoshida, T. · Kruger, R. and Inglis V.(1995).
Augmentation of non-specific protection in african
catfish, *Clariagaripepinus* (Burchell), by the
long-term oral administration of immunostimulants,
Journal of Fish Diseases 18, 195~198.

-
- 논문접수일 : 2013년 08월 30일
 - 심사완료일 : 1차 - 2013년 10월 08일
 - 게재확정일 : 2013년 10월 15일