

碩 士 學 位 論 文

有用微生物과 韓藥材(漢方泉·魚力泉)의
添加가 넙치(*Paralichthys olivaceus*)의
生理活性에 미치는 特性 및 效果

指導教授 盧 暹



濟 州 大 學 校 產 業 大 學 院

海 洋 生 物 生 產 學 科

朱 海 城


2003

有用微生物과 韓藥材(漢方泉·魚力泉)의
添加가 넙치(*Paralichthys olivaceus*)의
生理活性에 미치는 特性 및 效果

指導教授 盧 暹

이 論文을 理學碩士 論文으로 提出함

2003年 7月

 濟州大學校 産業大學院
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY
海洋生物生産學科
朱海城

朱海城의 理學碩士 論文을 認准함

2003年 7月

審査委員長 여인규 印

委 員 이경준 印

委 員 노섭 印

목 차

List of Tables	i
List of Figures	ii
Summary	iii
I. 서론	1
II. 재료 및 방법	4
1. 실험첨가제의 제조	4
2. 실험사료내의 병원미생물수의 변화	5
3. 사료내 병원미생물수 측정과 분리 및 동정	5
4. 혈액분석 및 항산화효소 분석	5
5. 공기 중 노출에 따른 생존기간 및 림포시스티스 감염에 따른 사망개체수	7
6. 통계처리	7
III. 결과	8
1. 성장 및 생존율	8
2. 사료 내의 병원 미생물의 변화	11
3. 혈액성분분석 및 공기노출에 대한 분석	15
4. 항산화효소의 활성 변화	18
5. 림포시스티스 감염에 따른 사망개체수	21
IV. 고찰	23
V. 요약	27

VI. 참고문헌	28
감사의 글	34



List of Tables

Table 1. Composition and nutrient content of diet

Table 2. Free amino acids composition in Marinepia, Hanbangchun and Olyukchun.

Table 3. Total length, body weight, condition factor and survival of olive flounder fed four experimental diets containing different levels of feed additive.

Table 4. Concentrations of microorganisms in Hanbangchun and Olyukchun.

Table 5. Density change of microorganism within experimental feeds with or without the addition of the Hanbangchun and Olyukchun.

Table 6. Hepatosomatic index, Red blood cell(RBC), hematocrit(Ht), and hemoglobin(Hb) concentration of olive flounder fed four experimental diet.

List of Figures

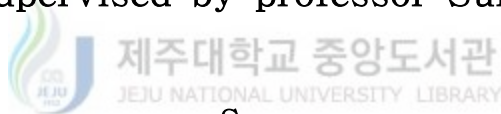
- Fig. 1. Effect of dietary Hanbangchun and Olyukchun on the hepatosomatic index (HSI) of olive flounder, *Paralichthys olivaceus*. Vertical bars represent the SE of mean for five experiments.
- Fig. 2. Effect of dietary Hanbangchun and Olyukchun on protein contents in the hepatocytes of olive flounder, *Paralichthys olivaceus*. Vertical bars represent the SE of mean for five experiments.
- Fig. 3. Effect of dietary Hanbangchun and Olyukchun on the protein contents in the blood of olive flounder, *Paralichthys Olivaceus*. Vertical bars represent the SE of mean for five experiments.
- Fig. 4. Survival time of olive flounder when exposed in the air with addition of different new feed additive concentration. Vertical bars represent the SE of mean for five experiments.
- Fig. 5. Effect of dietary Hanbangchun and Olyukchun on the hepatic superoxide dismutase (SOD) activity of olive flounder, *Paralichthys olivaceus*. Vertical bars represent the SE of mean for five experiments.
- Fig. 6. Effect of dietary Hanbangchun and Olyukchun on the hepatic catalase (CAT) activity of olive flounder, *Paralichthys olivaceus*. Vertical bars represent the SE of mean for five experiments.
- Fig. 7. The death number of olive flounder during lymphocystis infection with addition of different new feed additive concentration for one month.

Character and Effects of Additives of Effective Microorganisms
and Herb Medicine(Hanbangchun · Olyukchun) on Enhance
Physiological Vitality in Olive Flounder
(*Paralichthys olivaceus*)

Hae-Sung Zoo

Department of Marine Production
Graduate School of Industry
Cheju National University

Supervised by professor Sum-Rho



Summary

This study was investigated to examine the effects of dietary additives of oriental folk medicine on enhancement of physiological and nutritional performances in olive flounder (*Paralichthys olivaceus*). The additives consisted of Hanbangchun and Olyukchun which are mixture of 15 herb medicines and useful microorganisms. The additives are supplemented into diets by concentrations of 0 (control), 0.3, 0.6, and 0.9%. Level 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. Body weight and condition factor of fish fed diets containing 0.3 and 0.6% of the

additives were significantly increased than that of fish fed control ($P < 0.05$). Red blood cell, hematocrit and hemoglobin were significantly increased at 0.6, 0.3 and 0.9%, respectively. Hepatosomatic index in 0.3 and 0.6% groups were significantly increased. Total serum protein was increased in all the groups of the additives, but the protein concentration in liver was higher in the control group. Survived times of fish was the longest in the 0.6% groups and followed by that in the 0.3 and in the 0.9% groups. The death rate of olive flounder due to lymphocystis significantly decreased by the additives in a concentration dependent way. Higher activities of superoxide dismutase and catalase which are involved in physiological defence mechanism were found in the dietary groups of 0.6% and 0.3% addition, respectively. The findings in this study suggest that the dietary additives, Hanbangchun and Olyokchun, can enhance immunity and tolerance of olive flounder against stress and hypoxic condition by increasing activities of body antioxidant enzymes.

Key words; Fish feed additives, Microorganism, Lymphocystis, Herb medicine, Superoxid dismutase (SOD), Catalase (CAT), Pathological microorganisms, Olive flounder (*Paralichthys olivaceus*)

I. 서 론

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 양식산 어류의 환경개선, 사료의 질적 개선 등의 연구가 절실히 요구되고 있으며 많은 연구가 진행되고 있다. 사료효율을 높이기 위하여 성장호르몬을 적정농도로 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 내병성 증진 효과가 보고된 바 있다(Nakagawa et al., 1981; Satoh et al., 1987). 김 등(1998)은 한방사료 첨가제를 이용하여 넙치의 생존율, 성장 및 사료효율 향상에 영향을 미치는 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 80여종의 미생물을 탱크에서 배양한 액상의 것으로 통기혐기성 미생물과 호기성미생물이 공존, 공생하면서 상승효과를 발휘하도록 배양한 것이다(比嘉, 1995). 특히, 유용미생물은 광합성세

균을 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 연동운동을 촉진시켜 소화 흡수를 돕고, 생성된 산은 다시 ammonia와 amine을 이온형태로 전환시킴으로써 유해 물질의 장내 흡수를 억제시키는 것으로 알려져 있다(Kalač et al., 2000; Rinkinen et al., 2003). 그리고 *Bacillus subtilis*는 항진균성 항생물질로 iturin을 생산하는 것으로 알려져 있다(Lancini and Lorenzetti, 1993). 이러한 유용 미생물에 의해 생성되는 물질들은 농, 축산업, 환경, 보건, 식품 등에 광범위하게 이용되고 있다. 어류에 있어서는 최근, 송 등(2002)은 유용미생물을 포함한 감귤 발효액을 이용하여 사육한 넙치에서 사료 효율의 증가와 장활성증대로 성장과 생리 활성에 효과적인 결과를 나타낸 것으로 보고하고 있다.

일반적으로 사육동물의 건강 및 영양 상태를 파악하기 위해 혈액성상의 변화에 많은 연구가 진행되었다. 어류의 경우는 수생환경이라는 특수한 환경 속에서 생활을 하고 있어 여러 가지 외부의 요인으로 인해 생리적인 변화가 다양할 뿐만이 아니라 관찰에도 많은 어려움이 있어 그다지 활발한 연구가 이루어지지 않았다. 그러나 최근에는 어류양식이 활발해지고 이에 따른 영양관리, 질병관리 및 환경에 대한 스트레스의 분석이라는 측면에서 혈액성상의 농도 변화에 대한 다양한 연구가 진행되고 있다(Ikeda and Minami, 1982; Perez et al., 1988; Peterson, 1990; Haney et al., 1992). 일반적으로 어류의 혈액성상은 같은 어종에서도 서식환경 등의 변화에 따라 변화하는 것으로 알려져 있다(Nakagawa et al., 1977; Ferrer et al., 1994).

이처럼 한약제와 유용미생물은 각각 어류의 사육에 있어 유익한 효과를 거두고 있다. 따라서 본 연구에서는 (주)제주축산연구소에서 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 질 개선, 어체의 생리활성, 질병 및 저산소 내성 증대에 미치는 영향을 조사하여 새로운 사료첨가제로서의 이용성을 판별하고자 하였다.



II. 재료 및 방법

1. 실험첨가제의 제조

사료첨가제는 유용미생물(유산균, 바실러스균, 효모 및 광합성균)과 당귀(승업초), 작약 등 15종의 한약재를 첨가하여 발효 부숙시켜 제조한 액상첨가제(어력천)와 어력천을 넙치용 사료인 마린피아(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 수협마린피아, 어력천 및 한방천의 일반성분과 유리아미노산 조성은 국가공인검사기관(주, 과학기술분석센터)에 의뢰하여 분석하였으며, 그 결과는 Table 1 및 2에 나타내었다. 사료첨가제의 농도는 어력천과 한방천을 1:2의 비율로 생사료에 첨가하여 최종농도가 0, 0.3, 0.6 및 0.9%가 되도록 각각 첨가하였다. 실험어는 평균전장과 체중이 각각 7.7 ± 0.39 cm 및 3.9 ± 0.7 g의 넙치 치어로 콘크리트 사각수조 ($5 \times 5 \times 0.9$ cm)에 총 4개의 실험구로 나누어 2반복으로 1,000마리씩 각 수조개체 군의 크기에 유의차이가 없도록 배치한 후 각각의 실험농도로 첨가한 모이스트 펠렛(MP)을 1일 3-5회 매일 반복 공급하여 사육하였다. 유수량은 18~22회전/일이 되도록 하였다.

2. 실험사료내의 병원미생물수의 변화

병원미생물은 실험사료로 제작된 4가지 실험구의 습사료(MP사료)에서 분리하여 무균 배양하였다. 분리균은 Mac-Faddin (2000)의 방법에 따라 생물학적, 생화학적 성장시험을 실시한 후, Bergey's manual of systematic bacteriology (1984)에 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.

3. 사료내 병원미생물수 측정과 분리 및 동정

병원미생물의 측정은 Buck and Cleverdon(1960)의 방법으로 PPES-II 배지에 평판도말법으로 접종하여 나타난 집락을 CFU(colony forming unit)로 계산하였다. 병원미생물의 분리에서 *Edwardsiella tarda*는 간이동정법(Wyatt et al., 1979), Cipriano et al(1990) 의한 방법으로 *Vibrio anguillum* 및 *Streptococcus* sp.를 분리 하였다.

4. 혈액분석 및 항산화효소 분석

사료첨가제의 공급에 따른 혈액분석 및 항산화효소의 분석은 실험 사육 8개월 후의 장기복용 후에 조사하였다. 혈청은 실험어의 미부동맥으로부터 주사기로 채혈하여 헤파린이 처리되지 않는 원심관에 담아 상온에서 약 30분간 자연 응고시킨 후 원심분리(3,000rpm, 20분)하여 상등액인 혈청을 얻

었다. 혈중단백질량은 Lowry et al.(1951)의 방법에 준하여 bovine serum albumin을 표준품으로 하여 측정하였다.

실험어는 4주 간격으로 어체 측정을 실시하여 전장, 체중을 측정하였고 실험종료시에 간중량지수(Hepatosomatic index, HSI) 및 비만도(Condition factor, CF)를 조사하였다. 그리고 각 실험구별로 실험어 5마리씩을 무작위 추출하여 미부 동맥에서 적혈구용피펫으로 혈액을 채혈한 후 Hend's diluting solution으로 200배 희석하여 혈구계산판으로 적혈구수(RBC)를 계수하였다. 적혈구용적비(Ht)는 혈액을 헤마토크리트관에 채혈한 후 원심분리(4000 rpm, 30분)하여 혈액에 대한 적혈구의 용적비를 구하여 나타내었다. 헤모글로빈농도(Hb)는 시안메타헤모글로빈법을 이용하여 측정하였다

효소의 활성측정을 위한 시료는 우선 간장을 적출하여 약 1g을 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 800g로 15분간 4℃조건에서 원심분리하였다. 원심분리한 상층액을 수거하여 10,000 g 20분간 4℃조건하에서 원심분리하여 상층액을 효소측정시료로 준비하였다.

SOD의 측정은 효소측정시료에 50 mM phosphate buffer (pH 8.24)를 2.61 ml/g 첨가하여 3 mM pyrogallol 90 μ l를 첨가하여 알카리상태에서 pyrogallol의 자동산화율이 억제되는 양을 측정하는 Marklund and Marklund (1974)의 방법으로 325 nm에서 흡광도를 분광광도계로 측정하여 구하였다. 그리고 효소활성의 1단위는 반응액 중의 pyrogallol의 산화를 50% 억제하는 효소의 양으로 정하였다. Catalase는 50 ml의 67 mM phosphate buffer (pH7.0)에 90 μ l의 30% hydrogen peroxide를 혼합하여 효소측정시료를 20 μ l를 넣어 240 nm에서 흡광도를 분광광도계로 측정하여 구하였다.

5. 공기 중 노출에 따른 생존시간 및 림포시스티스 감염에 따른 사망 개체수

개체의 공기중에서 생존시간을 조사함으로써 호흡기능의 효율을 평가할 수 있다. 혈액 중의 헤모글로빈의 산소결합능이 높으면 저산소 상태에 있어서도 산소를 조직에 효율적으로 운반할수 있어 공기 중에서도 보다 장시간 생존이 가능하다. 실험종료시의 대조구와 실험구으로부터 5마리씩 취하여 플라스틱용기에 젖은 신문지를 깔고, 그 위에 실험어를 놓고 아가미 운동이 멈추는 것을 사망으로 기준하여 공기 중에서의 생존시간을 측정하였다.

림포시스티스의 감염은 실험 도중 11월에 자연적으로 발생하였다. 이에 따른 사망개체수를 1일 단위로 계수하여 최종 림포시스티스의 증상이 외부적으로 관찰되지 않은 시기까지의 합계를 구하여 개체수로 나타내었다.



6. 통계처리

실험결과의 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.

Ⅲ. 결 과

1. 성장 및 생존율

실험 시작 시의 평균 전장은 7.7 ± 0.4 cm이었으며, 실험 종료시 대조구에서 29.6 ± 1.5 cm이었고, 0.3%, 0.6% 그리고 0.9% 실험구에서는 각각 31.0 ± 1.5 , 31.3 ± 1.5 그리고 30.3 ± 1.2 cm로 성장하여 0.6% 실험구에서 성장이 가장 높았으나 유의한 차이는 나타나지 않았다(Table 3, $P > 0.05$). 그러나 실험시작 시의 평균 체중은 3.9 ± 0.7 g 이었으며, 실험 종료시 대조구에서 326.5 ± 59.1 g로 성장하였고 0.3%, 0.6% 및 0.9% 실험구에서는 375.8 ± 61.5 , 370.4 ± 63.1 및 351.0 ± 45.6 g 으로 각각 성장하여 0.3과 0.6% 실험구에서 유의한 체중 증가효과를 나타내었다(Table 3, $P < 0.05$). 이에 따른 비만도는 대조구에서 12.46 ± 0.64 이었고 0.3, 0.6 그리고 0.9% 실험구에서 각각 12.61 ± 0.73 , 12.60 ± 0.58 그리고 12.65 ± 0.61 로 대조구에 비해 다소 높은 수치를 나타내었다(Table 1, $P < 0.05$). 사육기간 중의 생존율은 대조구에서 77.95% 이었고, 0.3, 0.6 그리고 0.9% 실험구에서 각각 84.25, 89.00 그리고 94.90%로 첨가농도가 증가할수록 생존율이 높아지는 결과를 나타내었다(Table 3).

Table 1. Composition and nutrient content of diet

Ingredient	Unitmate analysis		
	Marinepia	Hanbangchun	Olyukchun
Moisture (%)	10.02	13.71	97.08
Crude protein (%)	40.86	40.19	0.34
Crude fat (%)	5.71	5.67	0.10
Cruded ash (%)	9.25	9.17	0.25
Carbohydrate (%)	34.16	31.26	2.23
Ca (%)	1.95	1.87	0.02
P (%)	1.27	1.21	0.01
Fe (ppm)	519.44	485.65	25.44
Mn (ppm)	41.77	43.10	1.43
Zn (ppm)	149.58	139.70	1.45
Cu (ppm)	14.97	13.56	0.46

Table 2. Free amino acids composition in Marimepia, Hanbangchun and Olyukchun

Free amino acid	Marinepia (ppm)	Hanbangchun (ppm)	Olyukchun (ppm)
Aspartic acid	91.9	358.2	167.5
Threonine	337.8	605.5	62.5
Serine	225.9	584.2	68.4
Glutamic acid	328.8	8.1	308.0
Proline	206.1	2.1	112.8
Glycine	220.6	2.1	66.1
Alanine	766.3	2.4	121.9
Valine	340.2	2.0	102.8
Isoleucine	222.5	1.7	49.9
Leucine	550.4	3.6	87.2
Tyrosine	212.4	1.4	59.2
Phenylalanine	287.8	1.8	84.9
Histidine	1642.7	1.3	74.4
Lysine	561.6	1.8	76.2
Arginine	869.4	1.9	45.3
Total	6864.2	1578.3	1487.1

Table 3. Total length, body weight, condition factor and survival of olive flounder fed four experimental diets containing different levels of feed additive

Experimental group	Initial		Final		CF	Survival rate (%)
	T.L.(cm)	B.W.(g)	T.L.(cm)	B.W.(g)		
Control	7.7±0.4	3.8±0.7	29.6±1.5	326.5±59.1	12.46±0.64	77.95
0.3%	7.6±0.2	3.8±0.9	31.0±1.5	375.8±51.5 *	12.61±0.73 *	84.25
0.6%	7.6±0.8	3.9±0.9	31.3±1.5	370.4±43.1 *	12.60±0.58 *	89.00
0.9%	7.5±0.5	3.8±0.9	30.3±1.2	351.0±45.6 *	12.65±0.61 *	94.40



제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

* $P < 0.05$ for control.

2. 사료 내의 병원 미생물의 변화

한방천 및 어력천내의 유용미생물의 조성은 Table 4에 나타내었다. 한방천에는 *Bacillus subtilis*가 1.8×10^8 CFU/g로 가장 많이 존재하였으며, 어력천에는 *Saccharomyces cerevisiae*가 1.4×10^8 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 5). 그 결과 대조구에서는 각각 1.4×10^4 , 8.9×10^3 및 5.9×10^3 CFU/g 이었고, 0.3% 처리구에서는 2.8×10^2 , 3.2×10^3 그리고 2.9×10^3

CFU/g 으로 각각 2, 35.9 그리고 50% 감소하였고, 0.6% 처리구에서는 1.4×10^2 , 1.2×10^3 및 2.3×10^3 CFU/g으로 1, 13 그리고 39.6% 감소하였으며 0.9% 처리구에서는 5.1×10^3 , 2.7×10^3 그리고 1.8×10^3 CFU/g 으로 36.4, 30.3 그리고 31.06% 수준까지 감소하였다(Table 5).

Table 4. Concentrations of microorganisms in Hanbangchun and Olyukchun

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

Table 5. Density change of microorganism within experimental feeds with or without the addition of the Hanbangchun and Olyukchun

Analysis item	Analysis results (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

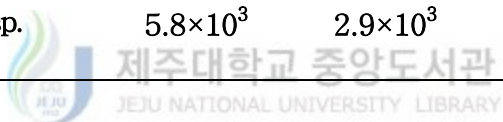


Table 6. Hepatosomatic index, Red blood cell(RBC), hematocrit(Ht), and hemoglobin(Hb) concentration of olive flounder fed four experimental diet

	Experimental group			
	Control	0.3%	0.6%	0.9%
HSI(%)	1.96±0.26 ^a	2.30±0.32 ^a	2.07±0.39 ^a	1.96±0.21 ^a
RBC(×10 ⁶ cell/μℓ)	2.90±0.42 ^a	2.90±0.74 ^a	4.05±0.17 ^b	2.61±0.24 ^a
Ht(%)	30.3±9.0 ^b	41.5±5.5 ^a	33.1±6.9 ^b	29.8±5.8 ^b
Hb(g/dℓ)	4.00±1.51 ^b	3.28±1.40 ^b	3.79±0.54 ^b	4.78±1.23 ^a

Values(Mean±S.D.) with different superscript in the same column are significantly different ($P<0.05$).

3. 혈액성분분석 및 공기노출에 대한 내성

사료첨가제를 이용하여 넙치의 간중량지수는 대조군에 비하여 0.3%의 투여군에서 유의하게 높은 수치를 나타내었다(Fig. 1, $P < 0.01$). 간세포내의 단백질량은 대조군에서 가장 높고 사료첨가제의 투여군에서는 대조군에 비하여 전 실험군에서 유의하게 낮은 수치를 나타내었다(Fig. 2, $P < 0.01$). 이에 반하여 혈중단백질량은 대조군에서 가장 낮고 사료첨가군에서 높은 수치를 나타내었다(Fig. 3).

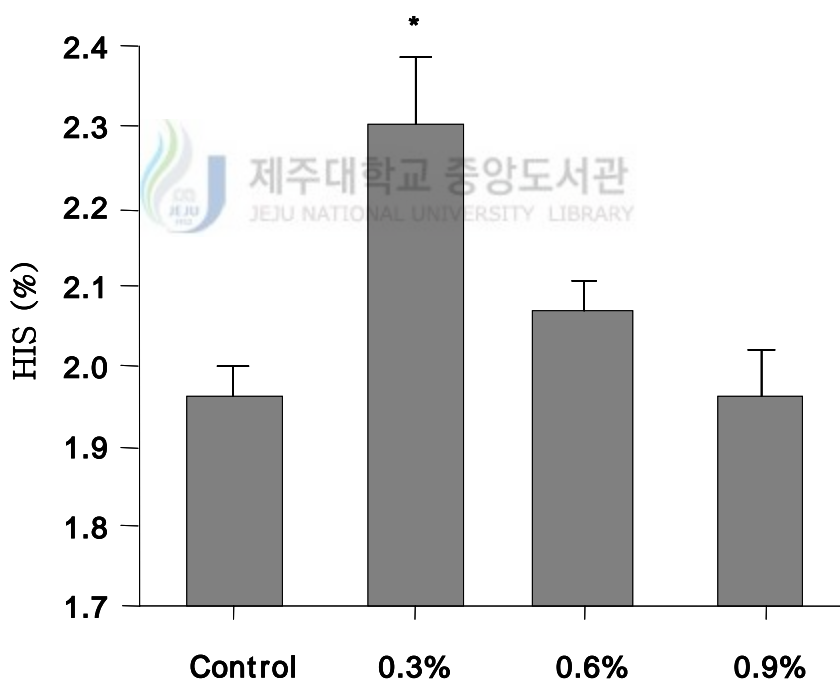


Fig.1. Effect of dietary Hanbangchun and Olyukchun on the hepatosomatic index (HSI) of olive flounder, *Paralichthys olivaceus*. Vertical bars represent the SE of mean for five experiments. * $P < 0.01$ for control.

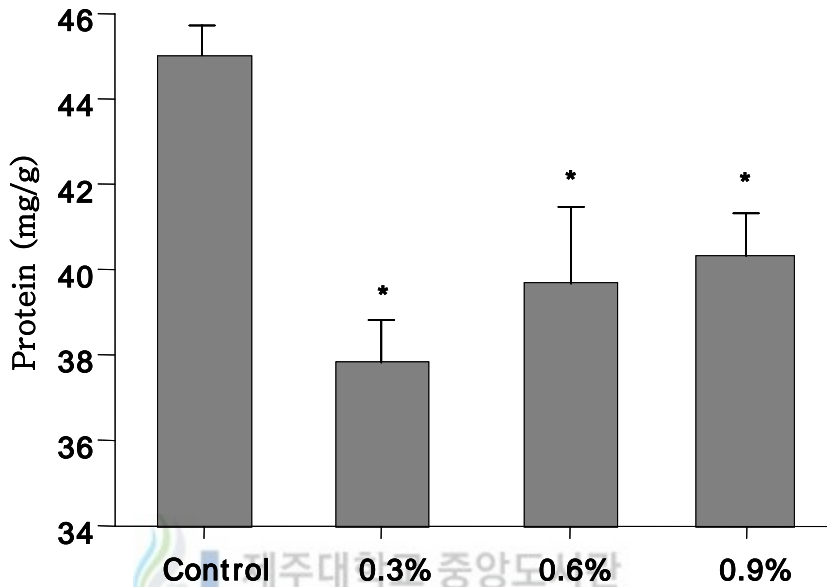


Fig. 2. Effect of dietary Hanbangchun and Olyukchun on protein contents in the hepatocytes of olive flounder, *Paralichthys olivaceus*. Vertical bars represent the SE of mean for five experiments. * $P < 0.01$ for control.

RBC는 대조구에서 $2.90 \pm 0.42 \times 10^6 \text{ cell}/\mu\text{l}$ 이었고, 0.3, 0.6 및 0.9% 실험구에서 각각 $2.90 \pm 0.74 \times 10^6$, $4.05 \pm 0.17 \times 10^6$ 및 $2.61 \pm 0.24 \times 10^6$ 로 0.6%의 실험구에서 가장 높게 나타났다(Table 2, $P < 0.05$). Ht는 대조구에서 $30.3 \pm 9.0\%$ 이었고 0.3, 0.6 및 0.9% 실험구에서 각각 41.5 ± 5.5 , 33.1 ± 6.9 및 $29.8 \pm 5.8\%$ 로 0.3% 실험구에서 가장 높았다(Table 6, $P < 0.05$). Hb 농도는 대조구에 비해 0.9% 실험구만이 유의한 증가를 나타내었다(Table 6, $P < 0.05$).

아가미운동의 정지를 기준으로 측정한 평균생존시간은 대조구가 64분으로 나타났으며, 0.3, 0.6 및 0.9%실험구에서 각각 91분, 106분 및 74분으로, 0.6%를 첨가한 실험구가 가장 긴 생존을 나타내었다(Fig. 4).

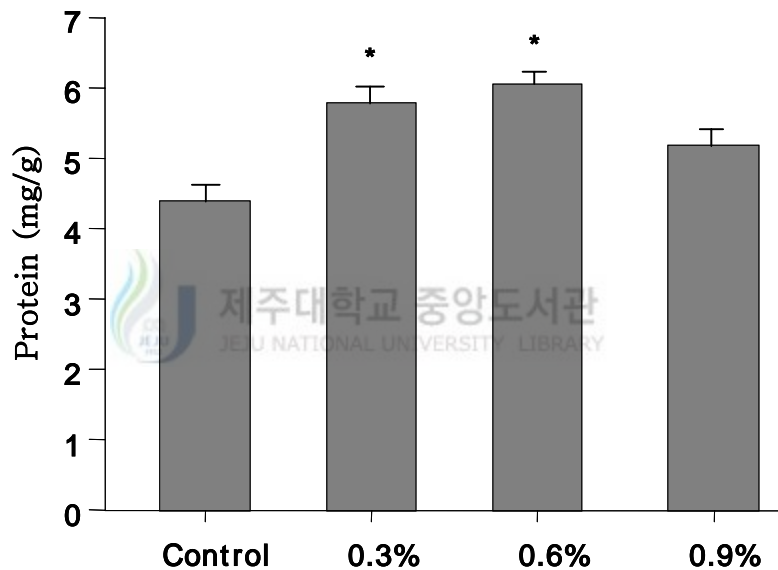


Fig. 3. Effect of dietary Hanbangchun and Olyukchun on the protein contents in the blood of olive flounder, *Paralichthys Olivaceus*. Vertical bars represent the SE of mean for five experiments. * $P < 0.01$ for control.

4. 항산화효소의 활성 변화

스트레스에 의하여 증가하는 간장내 항산화효소의 변화는 Fig. 5 및 6에 나타내었다. SOD의 변화는 0.6%의 첨가군에 있어서 유의한 증가를 나타내었으며, 다른 실험군에서는 대조군과 유사한 수치를 나타내었다(Fig. 5, $P>0.05$). 한편 CAT는 0.3% 첨가군에서 가장 높은 수치를 나타내었으며, 0.6% 첨가군도 대조군에 비하여 유의한 증가를 나타내었다((Fig. 6, $P<0.05$). 그러나 0.9% 첨가군에서는 유의한 차이는 나타나지 않았으나 대조군에 비해 다소 낮은 수치를 나타내었다.



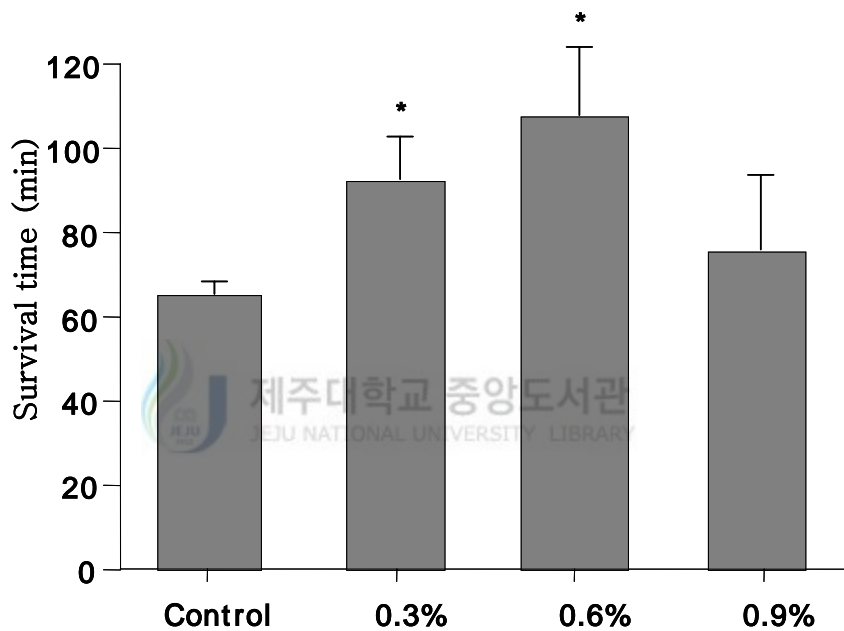


Fig. 4. Survival time of olive flounder when exposed in the air with addition of different new feed additive concentration. Vertical bars represent the SE of mean for five experiments. * $P < 0.01$ for control

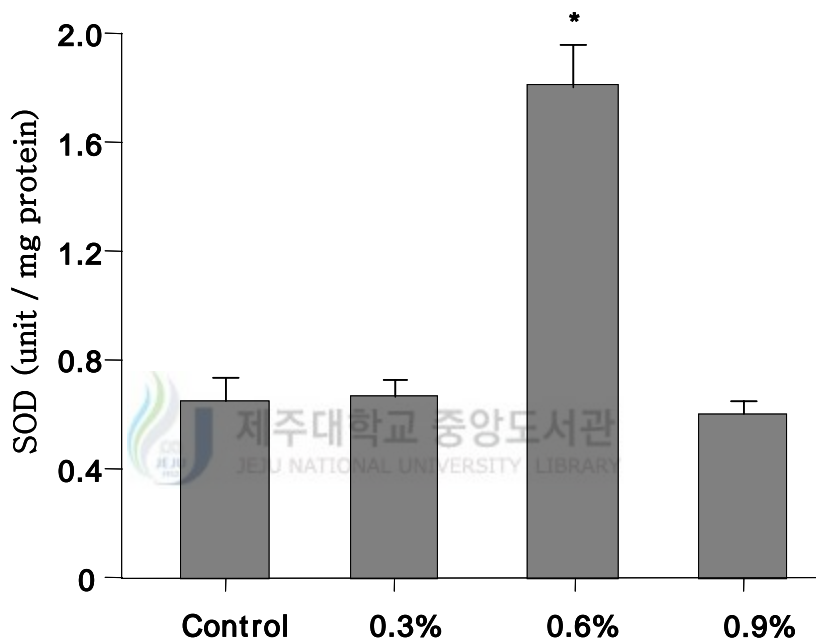


Fig. 5. Effect of dietary Hanbangchun and Olyukchun on the hepatic superoxide dismutase (SOD) activity of olive flounder, *Paralichthys loivaceus*. Vertical bars represent the SE of mean for five experiments. * $P < 0.01$ for control.

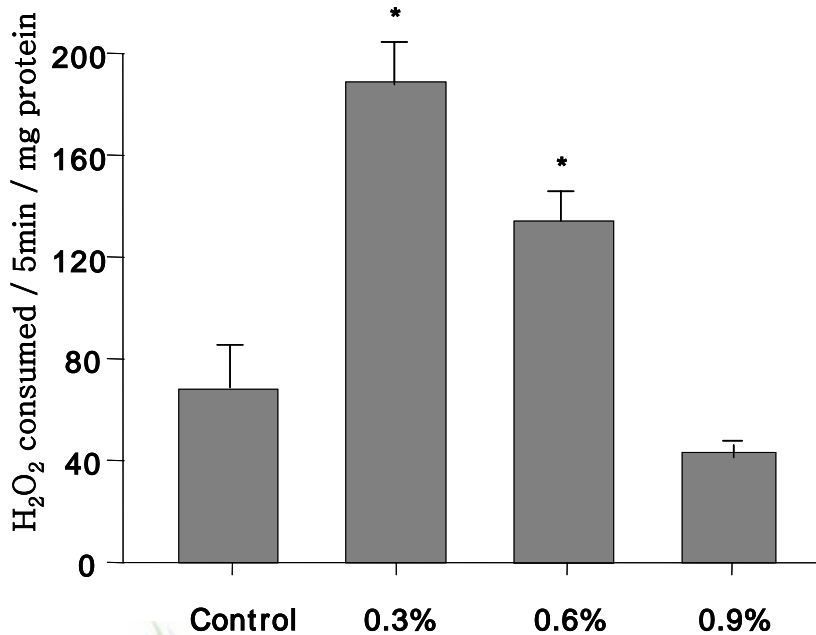


Fig. 6. Effect of dietary Hanbangchun and Olyukchun on the hepatic catalase (CAT) activity of olive flounder, *Paralichthys olivaceus*. Vertical bars represent the SE of mean for five experiments. * $P < 0.01$ for control.

5. 림포시스티스 감염에 따른 사망개체수

림포시스티스의 자연 감염에 따른 사망개체수는 전체실험개체 중에서 374미였는데 비하여 0.3, 0.6 및 0.9% 실험구에서는 243미, 148미 및 55미로 첨가제의 농도 의존적으로 사망개체수가 감소하는 결과를 나타내었다 (Fig. 7). 또한 실험 후 최종 생존율에 있어서도 대조구에서 약 78%, 그리고 0.3, 0.6 및 0.9%에서 각각 84.3, 89.0 및 94.4%로 첨가농도가 높을수록 생존율이 높았다(Table 3).

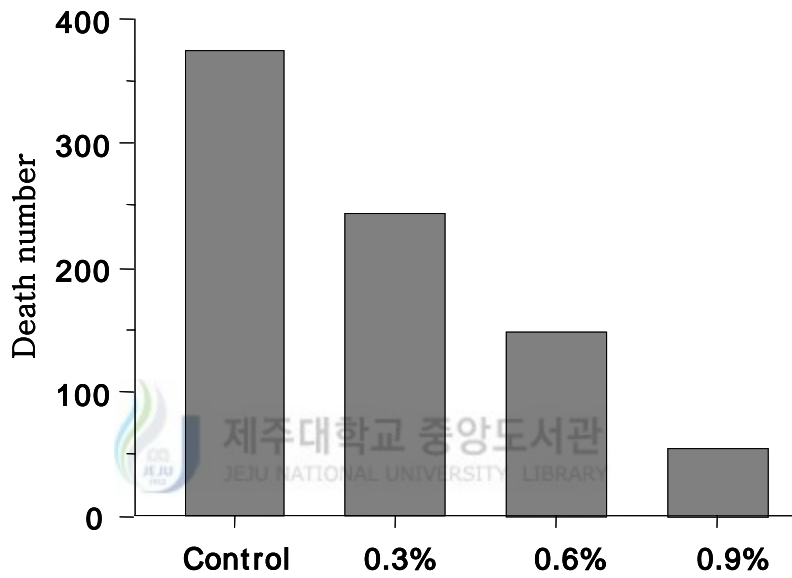


Fig. 7. The death number of olive flounder during lymphocystis infection with addition of different new feed additive concentration for one month

IV. 고 찰

최근 사료 효율 개선과 양식어류의 사료효율 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 양식어에 공급함으로써 사료효율의 증가 및 장 활성증대를 가져오는 것으로 보고하고 있다. 이처럼 최근에는 다양한 미생물과 물질을 이용한 기능성사료첨가제의 연구가 활발히 이루어지고 있다고 할 수 있다. 본 연구에서는 유용미생물과 한방재를 이용하여 새로운 기능성 사료첨가제의 개발을 시도하였다.

식물자원의 첨가제를 이용하여 사육한 어류의 비만도가 비첨가군에 비해 감소한다는 연구결과가 다수 보고되고 있다(Nakagawa et al., 1982, 1985; Nakagawa and Kasahara, 1986; Kim and Choi, 1996). 그러나 48주간의 장기투여로 대조군에 비해 약 10%의 비만도 증가를 가져온 것으로 보고하고 있다. 본 연구에서도, 첨가군에서 다소 높은 수치를 나타내어 한약재의 첨가에 따른 유사한 결과를 나타내었다.

한편, 김 등(1998)은 한약재의 첨가제를 투여하여 양식어류의 성장을 향상시킬 뿐만 아니라 질병예방에 효과적인 것으로 보고하고 있다. 그러나 한약재는 특성상 장기투여의 경우 부작용의 발생이 일반적으로 우려되지만 본 연구에서 사용된 15종의 한약재는 생존율의 향상 및 비만도의 증대를 가져오는 것으로 보아 안정적인 사료첨가제로 여겨진다.

또한 유용미생물을 사용하여 넙치의 성장촉진은 물론 장의 활성증대를

가져오는 것으로 알려져 있다(송 등, 2002). 본 연구에서 사용된 유용미생물은 유산균, 바실러스균, 효모 및 광합성균으로 기존의 연구결과와 유사한 결과로 생존율 및 체중의 증가를 가져왔다. 더욱이 본 연구에서는 치어기에서 성어기의 상품크기에 이르기까지 지속적인 사료공급과 현장규모의 측면에서 상기의 결과를 나타냄으로서 현장에서의 직접적인 접목이 가능할 것으로 여겨진다.

본 연구에서 첨가사용한 한방천과 어력천의 혼합 첨가는 제조된 MP사료 내의 병원미생물 수를 감소시키는 효과를 나타내었다. 수중에는 *Vibrio anguillarum* 및 *Streptococcus* sp.와 같은 질병의 원인균이 항시 존재하며 어류에 감염되어 질병을 유발시키는 것으로 알려져 있다(Ishihara et al., 1982; Jo et al., 1979). Manickam et al(1994)에 의하면 유산균은 젖산과 과산화수소를 포함해서 살균제와 정균제의 역할을 하는 중요한 박테리오킨을 생산하여 경쟁세균의 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, Bacillus균을 다량으로 포함하고 있어 체내생리 활성 증대뿐만이 아니라 수중에 존재하는 질병의 병원균과도 경쟁하여 그 성장을 억제함으로써 질병에 대한 내성을 증대시킴과 동시에 사육환경의 개선에 효과가 기대된다고 여겨진다.

한편, 혈청단백질량은 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 첨가균에서 가장 높은 혈중단백질량을 나타내었으며, 대조군에서 가장 낮은 수치를 나타내었다. 그러나 간장내의 단백질량을 조사한 결과 이와는 반대의 수

치를 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.

일반적으로 어류의 RBC, Hb 및 Ht의 감소는 빈혈을 유발시키는 것으로 알려져 있으며 이러한 감소현상은 외부의 독성물질의 노출에 의해 더욱 뚜렷하게 나타난다(Garg et al., 199; Edosa et al., 1994; Khattak et al., 1996). 본 연구에서는 새로운 사료첨가제를 사용함으로써 유의적으로 증가된 수치를 나타내어 활성의 증대, 산소의 운반능력이 증대된 것으로 여겨진다. 이에 따라 실제적으로 공기노출에 따른 생존율을 파악함으로써 산소내성을 조사한 결과, 아가미운동의 정지를 기준으로 측정한 평균생존시간은 0.6%를 첨가한 실험구가 가장 긴 생존을 나타내었다. 공기 중에서 장기간 생존 가능한 개체는 혈액의 헤모글로빈의 산소결합능력이 높을 경우, 저산소의 환경조건에서 효율 높게 산소를 조직으로 운반가능한 결과로 여겨진다. 따라서 본 연구에서는 한약재와 유용미생물의 첨가를 통하여 저산소 상태에서 강한 생리활성을 가져 수송 운반에 따른 스트레스에 강한 어류의 생산이 가능할 것으로 여겨진다.

SOD는 superoxide radical을 환원시켜 H_2O_2 로 전환시키며 이때 생성된 CAT등의 작용에 의해 H_2O 로 무독화 됨으로서 산소독으로부터 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, 급성카드뮴에 중독이 일어나게 되면 SOD의 활성이 급격히 감소하게 되나, 비타민 E의 투여에 의해 SOD의 활성이 다시 증가하는 결과를 나타내는 것으로 보고 되고 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 사료첨가제의 첨가로 인해

0.6%군에서의 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 어체내의 항산화효소의 활성이 증대되어 외부 스트레스 작용에 대한 내성을 증대시킴으로서 어체의 활성 증대에 좋은 효과를 가져 올 것으로 기대된다.

권 (1998)은 한약재중 구기자 3%를 사료에 첨가하여 먹인 넙치에서도 대표적인 병원성 세균인 *Edwardsiella tarda*에 대한 방어능력이 향상되었다고 보고하고 있다. 사료내 한약재인 어보산 0.3% 첨가시에도 대조구보다 생존율이 향상되는 것으로 알려져 있다(김 등, 1998). 그러나 이러한 한약재를 이용한 사료첨가제는 어류의 생존률 향상에 효과적이지만 한약재의 특성상 한 가지만을 장기 투여할 때, 부작용이 우려됨으로 여러 성분을 혼합첨가하여 제조함으로써 각 성분의 상승작용을 최소화해야 하는 것으로 보고하고 있다(김, 1998). 이상에서와 같이 본 연구에서 사용된 15종의 한약재와 유용미생물은 상호보완적으로 작용하여 생존율의 향상 및 림포시스 티스에 대한 내병성효과를 나타낸 것으로 여겨진다.

이상의 결과로 유용미생물과 한약재를 혼합한 첨가제는 현재 사용 중인 습사료의 질적 개선 및 환경의 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. 또한, 저산소에 대한 내성의 증대가 이루어질 것으로 추측된다. 이러한 점에서 차후에 병원성 미생물을 이용한 실질적인 항병성에 대한 검토가 이루어져야 할 것으로 여겨진다.

V. 요약

본 연구에서는 유용미생물과 한약재가 포함된 새로운 사료첨가제의 세가지 농도(0.3, 0.6 및 0.9%)에 따른 넙치의 생리활성증대에 미치는 영향을 조사하였다. 또한, 새로운 사료의 특성에 대해서도 조사하였다. 양식에 일반적으로 사용되는 습사료의 병원미생물(*Edwardsiella tarda*, *Vibrio anguillarum* and *Streptococcus* sp.)은 모든 첨가군에 있어서 첨가제의 농도의존적으로 유의한 감소를 나타내었다. 평균체중 및 비만도는 0.3 및 0.6%실험구에서 대조구에 비해 유의하게 증가하였다. RBC, Ht 및 Hb는 각각 0.6, 0.3 및 0.9% 실험구에서 유의한 증가를 나타내었다. 간중량지수는 0.3 및 0.6%의 첨가군에서 유의하게 증가하였다. 혈중의 단백질량은 모든 첨가군이 유의한 증가를 나타내었으나, 간장내의 단백질량은 대조군이 높은 수치를 나타내었다. 공기노출에 따른 평균생존시간은 0.6%에서 가장 길게 생존하였고, 0.3과 0.9%실험구가 그 뒤를 따랐다. 림포시스티스의 감염에 따른 사망률은 첨가제의 농도 의존적으로 낮아지는 결과를 나타내었다. 생체방어기작을 하는 SOD 및 CAT는 0.6% 및 0.3% 첨가군에서 각각 높은 활성을 나타내었다. 이상의 결과로 새로이 개발된 사료첨가제의 사용으로 넙치의 항산화효소의 활성을 증대시켜 어류의 스트레스 면역증대를 기대할 수 있을 것으로 여겨진다. 또한 새로이 개발된 사료첨가제의 사용으로 저산소에 대한 내성의 증대와 질병에 대한 내성의 증대가 이루어질 것으로 추측된다.

VI. 참 고 문 헌

- Bentinck, S.J., M.H. Bebeau, 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. Oceanogr.*, 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.
- Edosa, O., G.E. Thomas and C.O. Paul, 1994. Chronic effects of formalin on erythrocyte counts and plasma glucose of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. *Asian Fish. Sci.*, 7 : 1-6.
- Fasaic, K. and J. Palackova, 1990. Total protein and serum fraction values in two-year carp (*Cyprinus carpio* L.). *Acta. Bio. Iugosl. E. Ichthyol.*, 22, 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.
- Garg, V., S.D. Tyagi, N. Singh and S.C. Agarwal, 1991. Thallium nitrate induced haematobiochemical analysis of *Heteropneustes fossilis* blood. *J. Environ. Biol.*, 12(3) ; 136-141.
- Haney, D.C., D.A. Hursh, M.C. Mix and J.R. Winton. 1992.

- Physiological and haematological changes in chum salmon artificially infected with erythrocytic necrosis virus. *J. Aquat. Anim. Health*, 4, 48-57.
- Ikeda, Y. and T. Minami. 1982. Hematological and hemochemical assessment on streptococcal infection in cultured yellowtail. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.*, 48, 1383-1388.
- 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. Křížke and T. Pelikánová, 2000. The effects of lactic acid bacteria inoculants on biogenic amines formation in sauerkraut. *Food Chem.*, 70 : 355-359.
- Khattak, I.U.D. and M.A. Hafeez, 1996. Effect of malathion on blood parameters of the fish, *Cyprinion watsoni*. *Pak. J. Zool.*, 28(1) :45-49.
- Kim, J.Y. and M.S. Choi, 1996. Effects of dietary *Enteromorpha compressa* on growth and blood properties in Israeli strain of common carp (*Cyprinus carpio*). *J. Aquacult.*, 9 : 151-157.
- Lancini, G. and R. Lorenzetti, 1993. Biotechnology of antibiotics and other bioactive microbial metabolites. New York : Plenum.
- 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. Onvovement 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 poibioics 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 chrorella-extract supplement in the diet on resisting power against disease of cultured Ayu. *Aquaculture*, 29 : 109-116.
- Nakagawa, H., H. Kumai, M. Nakamura and S. Kasahara, 1985. Effect of algae supplemented diet on serum and body constituents of cultures yellow tail. *Bull. Soc. Sci. Fish.*, 51 : 279-286.
- Nakagawa, H., S. Kasahara, E. Uno, T. Minami and K. Akira, 1981. Effects of chrorella-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.
- Perez, J., S. Zauny and M. Carrillo, 1988. Effects of diet and feeding time on daily variations in plasma insulin, hepatic cAMP and other

- metabolites in a teleost fish, *Dicentrarchus labrax* L. Fish Physiol. Biochem., 5 : 191-197.
- Peterson, M.S., 1990. Hypoxia-induced physiological changes in two mangrove swamp fishes: Sheepshead minnow, *Cyprinodon variegatus* Lacepede and sailfin molly, *Poecilia latipinna* (Lesueur). Comp. Biochem. Physiol., 97A : 17-21.
- 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(2) : 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.
- Robinson-Wilson, E. F and W. K. Seim, 1975. The lethal and sublethal effects of a zirconium process effluent on juvenile salmonids. Wat. Res. Bull., 11 : 975-986.
- 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.
- 권문경, 1998. 구기자 투여 및 백신 처리가 나일 틸라피아, *Oreochromis niloticus*의 반응에 미치는 효과. 부경대학교 석사논문, 62PP
- 김관유 · 이순재, 2000. 식이 Vitamin E가 급성 카드뮴중독 흰쥐 간조직의 항산화계에 미치는 영향. 한국영양학회지, 33(1) : 33-41.
- 김종현, 1998. 한방사료 첨가제인 어보산이 전 암컷 넙치의 성장, 체성분, 혈액성분 및 육질에 미치는 영향. 부경대학교 박사논문, 73pp.
- 김동수 · 김종현 · 정창화 · 이상윤 · 이상민 · 문영봉, 1998. 한방 사료 첨가제인 어보산의 효과, I. 넙치의 생존율, 성장, 사료효율 및 비만도에 미치는 영향. 한국양식학회지, 11(2) : 213-221.
- 박옥연 · 장동성 · 조학래, 1992. 한약재 추출물의 항균효과 검색. 한국시영학회지, 21 : 91-96.
- 송영보 · 문상욱 · 김세재 · 이영돈, 2002. 상품사료에 첨가한 감귤발효액이 치어기 넙치, *Paralichthys olivaceus*의 성장에 미치는 영향. 한국양식학

- 회지, 15(2) : 103-110.
- 안현숙 · 서소영 · 김해리, 1998. 비타민 E 보강식이가 KK마우스에서 간조직의 항산화계 효소 활성도에 미치는 영향. 한국식품영양과학회지, 27(1) : 149-159.
- 이경희 · 이영순 · 김종현 · 김동수, 1998. 한방 사료 첨가제인 어보산의 효과, II. 어보산 첨가사료로 사육한 넙치의 육질에 대한 연구. 한국양식학회지, 11(3) : 319-325.
- 이영돈 · 송영보 · 문순주 · 박승림 · 문영배, 2000. 키토산 올리고당을 투여한 넙치, *Paralichthys oliaceus*의 성장 효과. 춘계수산관련학회 공동학술대회요약집. 290-291.



감사의 글

본 논문이 완성되기까지 논문지도는 물론 개인사정으로 인하여 학업을 중단하려고 했던 저에게 포기하지 않고 늦각이 졸업을 할 수 있도록 심적으로 많은 도움을 주신 노섭 교수님께 정말로 깊은 감사의 마음을 전 해 올리며, 더욱이 본 논문을 완성할 수 있도록 이끌어 주신 여인규 교수님, 이경준 교수님의 그 각별한 뜻을 소중히 간직하겠습니다. 그리고 평소 관심을 갖고 대해주신 정상철 교수님, 이기완 교수님, 이영돈 교수님 및 최광식 교수님께도 감사드립니다.

아울러 자료수정 및 논문발표를 위해 성심 성의껏 도와주신 양문후 조교 및 실험실원들과 증식학과 최영웅 조교, 그리고 이 연구를 위해 도움을 주신 (주)제우축산연구소 김영후 대표이사님께도 감사드립니다. 그리고, 학업을 무사히 마칠 수 있도록 배려와 성원을 보내주신 남미(南美) 파라과이 VICTORIA S.A 박구배 회장님과 직원들께 깊은 감사를 드립니다.

뿐만 아니라, 오늘에 이르기까지 항상 변함없이 용기와 희망을 주신 금곡(金谷) 하병국 선생님, 자나깨나 자식 잘 되기만을 바라시는 시골 부모님, 어려운 상황에 처할수록 참사랑의 진가를 확인시켜준 영원한 나의 동반자와 사랑하는 나의 두 아들 성환, 성필에게 이 논문을 바칩니다.

「고난 가운데 꽃피운 영광만이 진실로 영원한 가치가 있다」는 말을 되새기며 이 과정이 끝이 아닌 새로운 도전이라는 각오로 더욱 정진하겠습니다. 다시 한번 지금까지 격려해주신 주위의 모든 분들에게 진심 어린 감사의 말씀을 드립니다.