

사료내 녹차 첨가가 넙치 유어기의 면역성 및 세균 공격성에 미치는 영향

조성환*, 이상목, 박범희, 지성춘, 권문경¹, 김이청¹, 이종하¹, 박상언¹, 한형균¹

한국해양대학교 해양환경생명과학부, ¹국립수산과학원 동해수산연구소

Effect of Dietary Inclusion of Various Sources of Green Tea on Immune System and Challenging Test of Juvenile Olive Flounder *Paralichthys olivaceus*

Sung Hwoan Cho*, Sang Mok Lee, Byum Hee Park, Sung Choon Ji, Mun-Gyeong Kwon¹,
Yi-Cheong Kim¹, Jong Ha Lee¹, Sangeun Park¹ and Hyo Young Kyun Han¹

Division of Marine Environment & BioScience, College of Ocean Science and Technology,
Korea Maritime University, Busan 606-791, Korea

¹East Sea Fisheries Research Institute, National Fisheries Research Development and Institute, Gangnung 210-861, Korea

Effect of dietary inclusion of various sources of green tea on growth, immune system and challenging test of juvenile olive flounder *Paralichthys olivaceus* was investigated. Five experimental diets with triplicates were prepared: control, raw leaves, dry leaves, by-product and extract. Twenty five (an initial body weight of 52.5 g) were randomly distributed into 15 of 180 L flow-through tanks. Nutrient requirements of the experimental diets satisfied growth of juvenile olive flounder. The feeding trial lasted for 7 weeks. After 7-week feeding trial, blood were sampled from three randomly chosen fish for serum analysis of lysozyme and bactericidal activity, and ten fish were infected with *Edwardsiella tarda* for challenging test from each tank. Weight gain (g/fish) of fish fed the diet containing extract and control diet was significantly higher than that of fish fed the other diets. Feed efficiency ratio for fish fed the diet containing extract and control diet was significantly higher than that for fish fed the diets containing raw leaves and by-product, but not significantly different from that for fish fed the diet containing dry leaves. Serum lysozyme activity (units/ml) of fish fed the diets containing dry leaves and extract was significantly higher than that of fish fed the diets containing raw leaves and by-product, but not significantly different from that of fish fed the control diet. Serum bactericidal activity ($\times 10^6$ bacteria/ml) of fish fed the diet containing dry leaves and extract was significantly lower than that of fish fed the diets containing raw leaves, by-product and control diet in 3 hour. However, serum bactericidal activity of fish fed the diet containing extract was significantly lower than that of fish fed the other diets in 6 hour. And serum bacterial activity was low in fish fed the diets containing dry and raw leaves, by-product, and control in 6 hour in order. Accumulative mortality (%) of fish fed the control diet was low compared to that of fish fed the diets containing raw leaves and by-product, but high compared to that of fish fed the diets containing dry leaves and extract although no significant difference was found among treatments. In considering above results, dietary inclusion of extract and dry leaves of green tea seemed to be highly effective to improve immune system and endurance against *E. tarda* infection of juvenile olive flounder.

Keywords: Green tea, Olive flounder, Immune system, Challenging test

서 론

넙치는 국내에서 1970년대 말 종묘생산기술이 개발되어 보급된 이후 최근까지 양식 생산량이나 가치의 면에서 해산어양식 대표종으로 인식되어져 왔으며, 2005년 국내 넙치양식 생산

양은 약 40,059톤으로 당년도 어류양식 총생산량(약 80,000톤)의 49% 이상을 차지하며, 또한 그 가치는 약 35백억 원으로서 양식 생산된 어류 총금액(약 72 백억 원)의 48% 이상을 차지하고 있는 것으로 나타났다(KNSO, 2006). 따라서 지금까지 넙치의 효율적인 생산을 위하여 사료내 영양염 요구량(Lee et al., 2000a, b; Kim et al., 2002b; Lee et al., 2002), 첨가제 효과(Kim et al., 1998; Koo et al., 2001), 어분대체 단백질원 효과

*Corresponding author: chosunh@hhu.ac.kr

(Kikuchi et al., 1994a, b; Cho et al., 2005a, b), 적정 사료공급 횟수(Lee et al., 2000b) 및 넙치의 양성관리 기술개발(Kim et al., 2002a; Cho, 2005) 등에 대한 많은 연구가 수행된 바 있다. 특히 사료첨가제로서 어보산(Obosan)을 사료내에 첨가하였을 경우 넙치의 성장이 개선될 뿐만 아니라 근육의 품질이 개선되며, 혈청 콜레스테롤 함량을 낮추는 효과가 있는 것으로 보고 된 바 있으며(Kim et al., 1998; Lee et al., 1998; Kim et al., 2000), 어보산은 상용화되어 양식산업 현장에서 널리 이용되고 있다.

녹차는 오래전부터 차 음료로서 국내외적으로 애용되고 있으며, 최근 웰빙 문화의 보급과 더불어 녹차에 대한 관심이 더욱 높아지고 있다. 녹차에는 카테킨(Catechin)이 다량으로 함유되어 혈청 콜레스테롤 함량 감소나 저밀도지방단백(Low density lipoprotein) 콜레스테롤 감소(Ryang, 1991; Kono et al., 1996; Back et al., 2002), 중금속 독성 완화(Lee and Kim, 1995; Choi et al., 2003) 및 항산화제 효과(Park, 2002) 등에 효능이 있는 것으로 알려져 있으나, 이들 대부분의 연구는 육상동물이나 사람을 대상으로 수행된 연구 결과들이다. 그러나 Park et al. (1999)에 의하면 녹차 추출물을 배지에 첨가할 경우 8종의 어명 세균 감염시 필요한 효소인 collagenase 활성 억제에 효과가 있다고 보고 된 바 있으며 그들의 연구가 녹차를 수산분야에 적용시킨 유일한 연구이다.

위에서 언급한 것처럼 녹차는 육상동물에 있어서도 여러 가지 우수한 기능이 보고 된 바 있기 때문에 어류양식업에 적용시킴으로서 새로운 사료첨가제로서 개발 가능성이 아주 높으며, 이를 이용하여 차별화되고 부가가치가 높은 넙치를 생산함으로서 침체되어 있는 어류양식업의 발전을 가져올 수 있을 것으로 기대된다. 따라서 본 연구는 사료내 다양한 녹차 원료 첨가가 넙치 유어기의 성장, 면역성 및 세균 공격성에 미치는 영향을 조사하였다.

재료 및 방법

실험어 및 실험 조건

실험어로 이용된 넙치 유어는 일정한 크기의 개체를 거제시의 개인양어장에서 구입하여 실험실로 운반하였으며, 사육실험을 시작하기 전에 2주 동안 사육환경에 적응시켰다. 적응기간 동안에는 상업용 부상사료(수혈: 조단백질 함량 52% 및 조지질 함량 11%)를 1일 2회 공급하여 주었다. 25마리의 유어(시작 시 무게: 52.5 g)를 15개의 180 L 유수식 탱크(수량: 150 리터)에 수용하였으며, 이때 환수량은 탱크 당 6.5 L/min이었다. 사육수는 모래 여과된 자연해수이었으며, 각 수조에는 aeration을 공급하여 주었다. 실험기간동안의 사육수온은 17.0~23.5°C의 범위로서, 평균수온은 21.6±1.46°C이었다.

실험 디자인 및 실험 사료의 준비

본 실험에는 총 5종류[대조구(Control), 생잎(Raw leaves), 건조잎(Dry leaves), 부산물(By-product) 및 액기스(Extract)]의 실

험사료구가 준비되었으며, 각 실험구는 3 반복구를 두었다. 어분, 탈피대두박 및 콘글루텐분을 주요 단백질원으로 이용하였으며, 소맥분과 오징어 간유를 각각 주요 탄수화물 및 지질원으로 이용하였다. 경남 하동군 소재 한밭제다에서 녹차원료를 구입하여 5% 소맥분 대신에 5% 녹차 생잎, 건조잎 및 부산물을 첨가하여 실험사료를 제조하였다. 실험사료 원료는 분쇄기에서 각각 분쇄한 후 혼합기에서 잘 혼합하여 물과 3:1의 비율로 섞어서 펠렛제조기를 이용하여 실험사료를 제조하였다. 그러나 녹차액기스 첨가구는 녹차액기스를 전라남도 보성녹차에서 구입하여 이용하였으며, 액기스 첨가구는 대조구와 동일한 사료원료에 물 대신에 일부를 녹차액기스로 대체하였다. 이때 녹차농도가 다른 실험사료와 동일하게 5% 되게끔 조절하여 실험사료를 제조하였다. 제조한 실험사료는 밤동안 실온에서 건조시킨 후 -20°C 냉동고에 보관하면서 필요시마다 소량씩 사용하였다. 실험사료의 주요 영양염은 넙치 유어기 영양염 요구량을 모두 충족시켜 주게끔 제조되었다(Lee et al., 2000a, 2002; Kim et al., 2002a). 실험사료의 조단백질 함량은 55.1~56.0%, 조지질 함량은 9.1~9.7%의 범위이었으며, 에너지 함량은 4.1 kcal/g으로 모두 동일하였다. 모든 실험어는 손으로 만복시까지 1일 2회(오전 09:00와 오후 17:00) 사료를 공급하여 주었으며, 총 실험기간은 7주간이었다.

채혈

실험사료 공급 7주 후 각 실험구에서 넙치를 무작위로 3마리씩 샘플하여 50 ppm의 아미노안식향산 에틸수용액으로 마취한 후, 미부정맥에서 채혈하여 혈청을 분리하였으며 분리된 혈청을 이용하여 면역능 실험에 사용하였다.

Lysozyme activity

Lysozyme 활성은 Parry et al. (1965)의 turbidimetric method를 이용하여 측정하였다. 즉 *Micrococcus lysodeikticus* (0.2 mg/ml) 혼탁액 (pH 6.2) 950 μl와 혈청 50 μl를 혼합하여 25°C에 30초 및 4분 30초 반응시킨 후 530 nm에서 흡광도를 측정하였다. Lysozyme 활성은 units/ml로 나타내었으며, 1 unit는 흡광도 값이 0.001/min 감소한 값으로 표시하였다.

혈청의 세균 살해능

혈청 내 보체에 의한 세균 살해능의 조사는 Yoo et al. (1992)의 방법에 따라서 실험하였다. 각 혈청은 GVB²⁺ (Gelatin veronal buffer: VB 200 ml, 0.03 M CaCl₂-2H₂O 5 ml, 2% gelatin 50 ml, DW 740 ml, pH 7.4)를 사용하였다. 모든 시료는 GVB²⁺로 5배 희석한 후 7×10⁶ cfu/ml로 조정된 *Escherichia coli* ATCC25922 세균 부유액과 1:1로 혼합하여 실험하였다. 생균수의 측정은 세균과 희석된 신선 혈청 혼합액을 20°C로 조정된 진탕배양기로 반응시키면서 0, 1, 3, 6 시간 경과 할 때마다 단계 희석하여 Miles and Misra (1938)에 따라 균 집락수로 계산하였다.

세균 공격 실험

녹차가 첨가된 사료의 공급이 넙치의 항병력에 미치는 영향을 조사하기 위하여 병원성 세균인 *Edwardsiella tarda* FSW910410 균주로서 10마리의 무작위로 추출된 넙치에게 공격실험을 실시하였다. 즉, 시험 균주는 TSA 배지에서 27, 24시간 배양한 후 침군하여, 멸균생리식염수로 1×10^8 cfu/ml (OD 600 nm=0.3)이 되도록 혼탁시켜 넙치의 복강에 0.1 ml씩 주사한 후 사망하는 개체를 제거하여 주었다.

통계분석

One-way ANOVA와 Duncan's multiple range test (Duncan, 1955)로서 SAS version 9.1 (SAS Institute, Cary, NC, USA) 프로그램을 이용하여 각 실험구간의 유의성을 검정하였다.

결과 및 고찰

넙치의 성장 및 사료 이용성

다양한 녹차원료를 포함한 실험사료를 7주간 공급한 후 넙치의 생존율(%), 어체중증가(g/fish) 및 사료전화효율(feed efficiency ratio, FER)은 Table 1에 나타내었다. 실험 종료시 사료의 종류에 따른 넙치의 생존율에는 유의적인 차이가 없었다 ($P>0.05$). 그러나 녹차엑스를 첨가한 사료를 공급한 실험구에서 어체중증가는 대조구와 유의적인 차이는 없었지만($P>0.05$), 녹차 생잎, 건조잎 또는 부산물을 첨가한 실험구에 비하여 유의적으로($P<0.05$) 우수한 것으로 나타났다. 그리고 녹차엑스를 첨가한 실험구에서의 사료전환효율은 대조구와 유의적인 차이는 없었지만($P>0.05$), 녹차 생잎, 건조잎 또는 부산물을 첨가한 실험구에 비하여 유의적으로($P<0.05$) 우수한 것으로 나타나서 어체중증가의 경향과 유사하게 나타났다. 녹차부산물을 첨가한 실험구에서의 사료전환효율이 가장 낮은 것으로 나타났다. 녹차부산물을 첨가한 실험구를 제외한 다른 실험구에서의 성장 및 사료전환효율이 대조구에 비하여 낮은 것은 녹차 생잎, 건조잎 또는 부산물의 넙치 성장에로의 이용성이 소맥분에 비하여 낮은 것에 기인한 것으로, 이는 녹차 생잎, 건조잎 또는 부산물의 높은 섬유질 함량에서 기인한 것으로 생각된다. 그러나 어보산을 사료에 첨가하였을 때 넙치의 성장과 사료전환효율이 개선되었다(Kim et al., 1998; Lee et al., 1998).

Table 1. Survival (%), weight gain (g/fish) and feed efficiency ratio (FER) of juvenile olive flounder fed the experimental diets containing various sources of green tea for 7 weeks (Mean \pm SE)

Sources	Initial weight of fish (g/fish)	Final weight of fish (g/fish)	Survival (%)	Weight gain (g/fish)	FER
Control	52.5 \pm 0.03	119.9 \pm 1.78 ^a	96.7 \pm 1.67	67.5 \pm 1.81 ^a	0.96 \pm 0.012 ^a
Raw leaves	52.4 \pm 0.04	101.8 \pm 3.83 ^b	100 \pm 0.00	49.4 \pm 3.80 ^b	0.86 \pm 0.016 ^{bc}
Dry leaves	52.5 \pm 0.05	107.5 \pm 3.11 ^b	96.7 \pm 1.67	55.0 \pm 3.13 ^b	0.91 \pm 0.023 ^{ab}
By-product	52.6 \pm 0.08	103.1 \pm 0.55 ^b	100 \pm 0.00	50.6 \pm 0.49 ^b	0.84 \pm 0.019 ^c
Extract	52.5 \pm 0.01	119.6 \pm 4.29 ^a	98.3 \pm 1.67	67.1 \pm 4.28 ^a	0.96 \pm 0.027 ^a

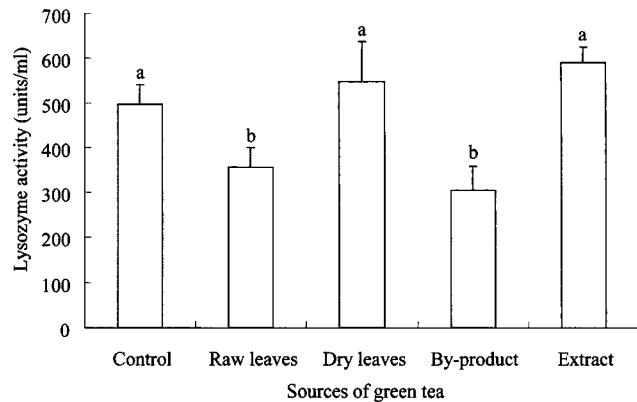


Fig. 1. Lysozyme activity (units/ml) in the serum of juvenile olive flounder fed the experimental diets containing various sources of green tea.

Lysozyme 활성

녹차 건조잎과 액기스를 첨가한 실험구에서 lysozyme 활성은 유의적인 차이는 없었지만($P>0.05$), 대조구에 비하여 다소 높게 나타났으며, 녹차 생잎과 부산물을 첨가한 실험구에 비해서는 유의적으로 높은 lysozyme 활성을 나타내었다(Fig. 1). 유사하게 중국산 약재 *Astragalus radix* 추출액을 0.1%와 0.5% 사료에 첨가하여 3주간 나일텔라파아, *Oreochromis niloticus*에 공급하였을 때 lysozyme 활성이 향상되었고, 3주간 공급하였을 때 식세포의 식작용이 향상되었다(Yin et al., 2006). 어류 혈청 중의 lysozyme은 세균 세포벽의 삼투압 작용에 손상을 주어 용균시키며 lysozyme의 존재 부위와 활성은 어종에 따라 다른 것으로 알려져 있다. Roed et al. (2002)는 무지개송어에 있어서 lysozyme 활성은 면역 체계 및 질병에 대한 저항성에 크게 영향을 미친다고 보고하였다. 그리고 β -glucan을 주사하거나(Park et al., 1996), 구기자 또는 크롬을 사료에 첨가하여 공급하였을 때 lysozyme 활성이 높아진다고 보고 된 바 있다(Kwon et al., 1999; Gatta et al., 2001). 또한 사료내 5% 미역을 첨가한 사료를 공급한 넙치에 *E. tarda* 감염시 혈청 lysozyme 활성과 넙치의 생존율이 향상되었고(Kwon et al., 2003), 참돔에게 투여하였을 때 *Pasteurella piscicida*에 대한 저항력이 향상되었다(Satoch et al., 1987).

혈청의 세균 살해능

혈청의 세균 살해능 조사 결과는 Fig. 2와 같다. 1시간에서

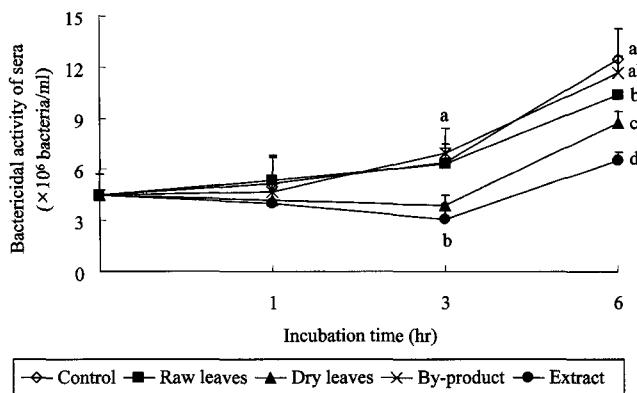


Fig. 2. Bactericidal activity ($\times 10^6$ bacteria/ml) in the serum of juvenile olive flounder fed the experimental diets containing various sources of green tea.

의 세균 살해능은 유의적인 차이가 없었지만($P>0.05$), 3시간에서의 세균 살해능은 녹차 건조잎과 엑기스를 첨가한 실험구에서 살해능이 녹차 생잎과 부산물 또는 대조구에 비하여 유의적으로($P<0.05$) 낮게 나타났다. 6시간에서의 세균 살해능은 녹차 엑기스, 건조잎, 생잎, 부산물 및 대조구의 순으로 나타났으며, 대조구에 비하여 엑기스, 건조잎 및 생잎은 유의적으로($P<0.05$) 낮게 나타났다. 본 실험의 결과와 유사하게 녹차 polyphenols 또는 엑기스 추출물이 사람이나 실험동물의 여러 가지 질병 관련 bacteria에 대한 세균 살해능을 가진다고 보고하였다(Diker et al., 1991; Sakanaka et al, 2000; Yukiko and Yoshiko, 2005). 잉어를 여러 가지 스트레스 요인인 저산소, 절식 또는 고염분에 노출시킬 때 혈청 중의 세균 살해능이 떨어졌다(Hajii et al., 1990).

세균 공격 실험

다양한 녹차 원료를 첨가한 사료를 공급한 후 병원성 세균에 대한 항병력의 변화를 조사하기 위하여 *E. tarda*을 복강 주사한 후 넙치의 누적폐사율을 조사하였다(Fig. 3). 세균 공격실험 결과, 모든 폐사어에서는 *E. tarda* 균이 분리되었다. 그리고 복강 주사 2 일째부터 폐사가 나타나기 시작하여 4일 동안 폐사는 계속되었으며 녹차 생잎과 부산물을 첨가한 실험구에서의 누적폐사율은 대조구에 비하여 높게 나타났으며 녹차 건조잎과 엑기스를 첨가한 실험구에서는 대조구에 비하여 낮은 누적폐사율을 보였으나 실험구간에 유의적인 차이는 없었다($P>0.05$). 그러나 Park et al. (1999)은 8종의 어병 세균에 대하여 녹차추출물의 첨가 효과를 조사한 결과, 특히 *E. tarda*의 collagenase 활성에 효과적이라고 보고하였다. Yukiko and Yoshiko (2005)는 녹차 엑기스가 *E. coli*뿐만 아니라 *Clostridium botulinum*과 *Bacillus cereus*와 같은 박테리아 포자의 증식을 억제한다고 보고하였다. 사료내 5% 미역을 첨가한 사료를 넙치에 공급시 수온변동에 따른 스트레스 상태에서 *E. tarda* 감염에 대한 저항

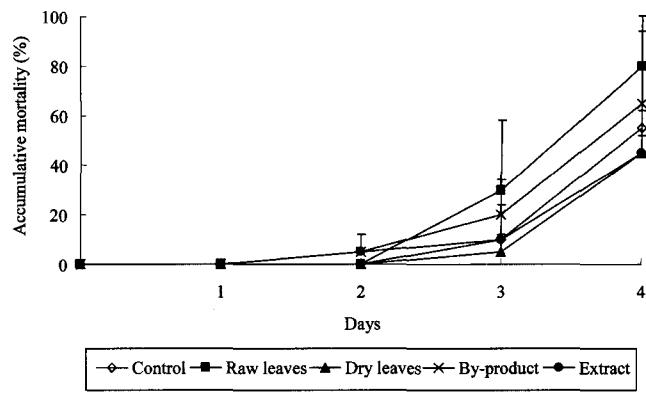


Fig. 3. Accumulative mortality (%) of juvenile olive flounder after *Edwardsiella tarda* infection.

성을 높였다(Kwon et al., 2003). 또한 사료내 3% 속을 첨가하여 넙치에게 공급하였을 때 넙치의 lysozyme 활성에는 차이가 없었지만, *E. tarda* 감염시 넙치의 생존율이 개선되었다(Kwon et al., 2002).

다양한 녹차원료가 포함된 사료의 공급에 따른 넙치의 사료 이용성 및 혈청학적 측면에서의 개선 효과를 조사한 결과는 다른 연구에 발표할 것이다. 이상의 결과를 고려할 때 넙치의 성장의 측면에서는 사료내 녹차엑기스 첨가가 효율적이었으나, 면역성 향상과 세균공격성에 대한 내성 향상 측면에서는 녹차엑기스와 건조잎의 첨가가 효과적인 것으로 판단된다.

요 약

사료내 다양한 녹차 원료 첨가에 따른 넙치 유어기의 성장, 면역성 및 세균 공격성에 미치는 영향을 조사하였다. 녹차엑기스를 첨가한 사료를 공급한 실험구에서 어체중증가는 대조구와 유의적인 차이는 없었지만, 녹차 생잎, 건조잎 또는 부산물을 첨가한 실험구에 비하여 유의적으로 우수한 것으로 나타났다. 그리고 녹차엑기스를 첨가한 실험구에서의 사료전환효율은 대조구와 유의적인 차이는 없었지만, 녹차 생잎, 건조잎 또는 부산물을 첨가한 실험구에 비하여 유의적으로 우수한 것으로 나타났다. 녹차 건조잎과 엑기스를 첨가한 실험구에서 lysozyme 활성은 유의적인 차이는 없었지만, 녹차 생잎과 부산물을 첨가한 실험구에 비해서는 유의적으로 높은 lysozyme 활성이 나타났다. 3시간에서의 세균 살해능은 녹차 건조잎과 엑기스를 첨가한 실험구에서 살해능이 녹차 생잎과 부산물 또는 대조구에 비하여 유의적으로 낮게 나타났다. 또한 6시간에서의 세균 살해능은 녹차 엑기스, 건조잎, 생잎, 부산물 및 대조구의 순으로 나타났으며, 대조구에 비하여 엑기스, 건조잎 및 생잎은 유의적으로 낮게 나타났다. 세균 공격실험 결과, 복강 주사 2 일째부터 넙치의 폐사가 나타나기 시작하여 4일 동안 폐사는 계속되었으며 녹차 생잎과 부산물을 첨가한 실험구에서의 누적폐사율

은 대조구에 비하여 높게 나타났으며 녹차 건조잎과 엑기스를 첨가한 실험구에서는 대조구에 비하여 낮은 누적폐사율을 보였으나 실험구간에 유의적인 차이는 없었다. 따라서 녹차엑기스와 건조잎의 사료내 첨가는 넙치의 면역성 향상과 세균공격성에 내성 향상 면에 있어서 아주 효과적인 것으로 판단된다.

감사의 글

본 논문은 해양수산부 해양한국발전프로그램(Korea Sea Grant Program)의 영남 SEA GRANT 대학사업단(SGCP-05-16-FA06) 연구개발사업의 지원으로 수행되었습니다.

참고문헌

- Back, S. N., J. L. Yang, H. H. Jin and Y. H. Kim, 2002. Effects of green tea consumption on serum lipid profiles. *Korean J. Nutr.*, 35, 854–862.
- Cho, S. H., 2005. Compensatory growth of juvenile flounder *Paralichthys olivaceus* L. and changes in biochemical composition and body condition indices during starvation and after refeeding in winter season. *J. World Aquacult. Soc.*, 36, 508–514.
- Cho, S. H., S. Lee, B. Park, I. Park, C. Y. Choi, S. Lee, B. H. Min, S. B. Hur and J. Jo, 2005a. Effect of partial replacement of fish meal with squid liver mealTM in the diet on growth and body composition of juvenile olive flounder *Paralichthys olivaceus* during the winter season. *J. Fish. Sci. Tech.*, 8, 65–69.
- Cho, S. H., S. Lee, B. Park, I. Park, C. Y. Choi, S. Lee, B. H. Min, S. Hur and Y. S. Lim, 2005b. Effect of partial dietary substitution of meat meal for fish meal on the growth and body composition of the juvenile olive flounder *Paralichthys olivaceus*. *J. Fish. Sci. Technol.*, 8, 138–141.
- Choi, J., I. Rhee, K. Park, J. Kim and S. Rhee, 2003. Action of green tea catechin on bone disorder in chronic cadmium-poisoned rats. *Life Sci.*, 73, 1479–1489.
- Diker, K. S., M. Akan, G. Hascelik and M. Yurdakok, 1991. The bacterial activity of tea against *Compylobacter jejuni* and *Compylobacter coli*. *Lett. Appl. Microbiol.*, 12, 34–35.
- Duncan, D. B., 1955. Multiple range and multiple F tests. *Biometrics*, 11, 1–42.
- Gatta, P. P., K. D. Thompson, R. Smullen, A. Piva, S. Test and A. Adams, 2001. Dietary organic chromium supplementation and its effect on the immune responses of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Fish Shellfish Immunol.*, 11, 371–382.
- Hajii, N., H. sugita, S. Ishii and Y. Deguchi, 1990. Serum bactericidal activity of carp (*Cyprinus carpio*) under supposed stressful rearing conditions. *Bull. Coll. Agr. Vet. Med.*, 47, 50–54.
- Kikuchi, K., T. Furuta and H. Honda, 1994a. Utilization of soybean meal as a protein source in the diet of juvenile Japanese flounder, *Paralichthys olivaceus*. *Suisanzoshoku*, 42, 601–604.
- Kikuchi, K., T. Furuta and H. Honda, 1994b. Utilization of feather meal as a protein source in the diet of juvenile Japanese flounder. *Fish. Sci.*, 60, 203–206.
- Kim, D. S., J. H. Kim, C. H. Jeong, S. Y. Lee, S. Lee and Y. B. Moon, 1998. Utilization of Obosan (dietary herbs) I. Effects of survival, growth, feed conversion ratio and condition factor in olive flounder, *Paralichthys olivaceus*. *J. Aquacult.*, 11, 213–221.
- Kim, J. H., Y. B. Moon, C. H. Jeong and D. S. Kim, 2000. Utilization of dietary herb Obosan. III. Growth of juvenile olive flounder, *Paralichthys olivaceus*. *J. Aquacult.*, 13, 231–238.
- Kim, J., S. Shin, K. Cho and S. Lee, 2002a. Effect of daily and alternate day feeding regimens on growth and food utilization by juvenile flounder *Paralichthys olivaceus*. *J. Aquacult.*, 15, 15–21.
- Kim, K. D., S. M. Lee, H. G. Park, S. Bai and Y. H. Lee, 2002b. Essentiality of dietary n-3 highly unsaturated fatty acids in juvenile Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*). *J. World Aquacult. Soc.*, 33, 432–440.
- KNSO (Korea National Statistical Office), 2006. KOSIS Statistical DB, Daejeon, Korea.
- Kono, S., K. Shinchi, K. Wakabayashi, S. Honjo, I. Todoroki, Y. Sakurai, K. Imanishi, H. Nishikawa, S. Ogawa and M. Katsumura, 1996. Relation of green tea consumption to serum lipids and lipoproteins in Japanese Men. *J. Epidemiol.*, 6, 128–133.
- Koo, J., S. C. Bai, K. Kim and S. Kim, 2001. Optimum dietary level of *Chlorella* powder as a feed additive for growth performance of juvenile olive flounder, *Paralichthys olivaceus*. *J. App. Aquacult.*, 11, 348–359.
- Kwon, M. G., Y. C. Kim, Y. C. Shon and S. I. Park, 1999. The dietary effects of kugija, *Lycium chinense*, on immune responses of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*, to *Edwardsiella tarda*. *J. Fish Pathol.*, 12, 73–81.
- Kwon, M., Y. Lee, S. Park, B. Kim and S. Park, 2002. The effects of charcoal in diet on the immune responses of flounder, *Paralichthys olivaceus*. *J. Fish Pathol.*, 15, 17–24.
- Kwon, M., S. U. Park, J. D. Bang, B. Cho, S. Lee and S. Park, 2003. The effects of supplementary diets on the water temperature stress in olive flounder, *Paralichthys olivaceus*. *J. Fish Pathol.*, 16, 183–191.
- Lee, J. and G. Kim, 1995. The detoxification effects of Korean green tea in lead administered rats. *The Koshin Journal of Health Science*, 5, 43–49.
- Lee, K. H., Y. S. Lee, J. H. Kim and D. S. Kim, 1998. Utilization of Obosan (dietary herbs) II. Muscle quality of olive flounder, *Paralichthys olivaceus* fed with diet containing Obosan. *J. Aquacult.*, 11, 319–325.
- Lee, S., S. H. Cho and K. D. Kim, 2000a. Effects of dietary protein and energy levels on growth and body composition of juvenile flounder (*Paralichthys olivaceus*). *J. World Aquacult. Soc.*, 31, 306–315.
- Lee, S. M., S. H. Cho and D. Kim, 2000b. Effects of feeding frequency and dietary energy level on growth and body composition of juvenile olive flounder (*Paralichthys olivaceus*). *Aquacult. Res.*, 12, 917–923.
- Lee, S., C. S. Park and I. C. Bang, 2002. Dietary protein requirement of young Japanese flounder *Paralichthys olivaceus* fed isocaloric diets. *Fish. Sci.*, 68, 158–164.
- Miles, A. A. and S. S. Misra, 1938. The estimate of the bacteri-

- cidal power of the blood. *J. Hygiene*, 38, 873–885.
- Park, S. W., Y. G. Kim and D. L. Choi, 1996. Increase in phagocytic activity of peripheral neutrophil and lysozyme activity of blood serum in Korea catfish (*Silurus asotus*) intraperitoneally injected with β -glucan. *J. Fish Pathol.*, 9, 87–93.
- Park, S., S. Park, M. Huh and Y. Hong, 1999. Inhibitory effect of green tea extract on collagenase activity and growth of fish pathogenic bacteria. *J. Fish Pathol.*, 12, 83–88.
- Park, C., 2002. Antibacterial and antioxidative activity of green tea in mayonnaise. *J. Life Resources Industry*, 6, 20–37.
- Parry, R. M., R. C. Chandau and R. M. Shahani, 1965. A rapid and sensitive assay of muramidase. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 119, 384–386.
- Roed, K. H., S. Fevolden and K. T. Fjalestad, 2002. Disease resistance and immune characteristics in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) selected for lysozyme activity. *Aquaculture*, 209, 91–101.
- Ryang T., 1991. The effect of green tea extracts on human body. Annual Bulletin of Seoul Health Junior College, 11, 185–189.
- Sakanaka, S., L. R. Juneja and M. Taniguchi, 2000. Antimicrobial effects of green tea polyphenols on thermophilic spore-forming bacteria. *J. Biosci. Bioeng.*, 1, 81–85.
- Satoh, K., H. Nakagawa and S. Kasahara, 1987. Effect of ulva meal supplementation on disease resistance of red seabream. *Nip. Sui. Gak.* 53, 1115–1120.
- Yin, G., G. Jeney, T. Racz, P. Xu, X. Jun and Z. Jeney, 2006. Effect of two Chinese herbs (*Astragalus radix* and *Scutellaria radix*) on non-specific immune response of tilapia, *Oreochromis niloticus*. *Aquaculture*, 243, 39–47.
- Yoo, B., S. Chun and S. Park, 1992. Bacterial action by complement of fish serum. *J. Fish Pathol.*, 5, 9–18.
- Yukiko, H. and S. Yoshiko, 2005. Antibacterial action on pathogenic bacteria by green tea catechins. *Food Sci. Industry*, 38, 31–35.

원고접수 : 2006년 3월 17일

수정본 수리 : 2006년 4월 27일