

JFMSE, 30(4), pp. 1200~1207, 2018. 수산해양교육연구, 제30권 제4호, 통권94호, 2018.

수용성 규산염의 항균효과와 첨가량에 따른 흰다리새우(Litopenaues vannamei) 생산성 변화

김근섭·김홍국·최영호·김병수[†] (공주대학교)

Antimicrobial Effects of Water Soluble Silicate and Improvement and Productivity Growth in *Litopenaues vannamei(L. vannamei)*

Geun-Seop KIM · Hong-Kook KIM · Yeong-Ho CHOE · Byeong-Soo KIM (KongJu National University)

Abstract

This study was conducted to investigate the antibaterial effect of water soluble silicate(Na₂SiO₃•10H₂O, WSS) against gram vibrio bacteria Staphylococcus aureus and gram negative *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *vibrio harveyi*, *Edwardsiella tarda* and effect on productivity about growth, feed conversion ratio(FCR), survival rate in *L. vannamei*. The WSS showed better effect on gram negative bacteria than on gram positive bacteria. The minimum inhibitory concentration of WSS 1.625%(v/v) for *E. coli*, *Sal. typhimurium*, *V. harveyi* and 0.8125%(v/v) for *E. tarda*. The shrimp were feed with or without WSS supplement($1m\ell/80L \sim 0.01m\ell/80L$) for experimental period. The initial total mean weight of shrimp is $3.04\pm0.02g$. The final mean weight of shrimp is 7.99g on $1m\ell/80L$ group and 6.48g on without WSS group. The difference of body weight gain between $1m\ell/80L$ group and without WSS group is 1.5g. FCR in all experimental groups was $3.19 \sim 3.55$, but 2.89 in $1m\ell/80L$ group. WSS had no effect on survival rate. The Superoxide dismutase(SOD) activity of all WSS supplement groups were higher than without WSS group. These results suggest that WSS can play role of antibaterial supplement and improved productivity in shrimp aquaculture farm.

Key words: Water soluble silicate, Feed additive, Anti-bacterial effect, Productivity

I. 서 론

새우는 범세계적으로 많은 사람들이 즐겨먹는 음식으로서 수산물 중에서 전 세계의 새우 생산 량은 2012년 768만 톤으로 이 가운데 절반 이상 인 432만 톤이 양식으로 생산되었다.

양식 새우의 생산량은 2012년까지 증가세를 보

였으나, 주요 생산국에서의 양식 새우의 대량 폐사가 발생하여 큰 폭으로 감소하였으며, 특히 대표적인 양식종인 흰다리새우의 경우 조기치사 증후군(Early mortality syndrome; EMS) 등의 질병으로 인한 생산량이 급감하여 세계적으로 새우의생산에 영향을 주고 있다(FAO, 2009).

국내에서 1996년부터 새우양식이 본격화 되면

[†] Corresponding author: 041-330-1534, bskim@kongju.ac.kr

^{*} 본 연구는 산업통상자원부와 한국산업기술진흥원의 지역특화산업육성(R&D) 기술개발사업(R0005541)으로 수행된 연구결과입니다.

서 새우의 대량생산을 위하여 다량의 사료가 투입됨에 따라 수질악화와 양식장의 노후 및 비브리오 및 바이러스 등에 의한 피해에 직면하였다 (Korean ministry of oceans and fisheries, 2005; Paek, et al., 2001). 이에 따라서 새우양식에서의 환경변화를 제어하여 적절한 수질환경의 조성을 위하여 각종 첨가제의 사용과 질병의 치료 및 예방을 위하여 항생제들을 사료에 첨가해 사용하고 있는 실정이다(Lim et al., 2004).

규소(Si)는 무기질로 분류되고 황토에 다량으로 포함되어 있으며 골격과 관절의 형성에 영향을 미치고 어류에서의 체내 미네랄 함량에 영향을 미치는 것으로 보고되었다(KÜÇÜKBAY et al., 2008; Sahin et al., 2006). 또한 곰팡이의 성장을 억제 할뿐만 아니라 Escherichia coli, Salmonella spp, Enterococcus faecalis, Staphylococcus aureus 등 그람양성균과 그람음성균에 대해서도 영향을 끼친다고 보고되었다(Li et al., 2009; Vattem et al., 2012). 규석에 다량 포함되어 있는 이산화 규소(Silicon dioxide, SiO2)는 고온의 조건에서 산소와 수산화물과의 반응으로 다양한 형태의 규소복합체를 생성한다(Nordström et al., 2011).

하지만 수용성 규산염은 양식장에서의 수질관리를 위하여 활발히 사용되지만, 규산염이 흰다리 새우의 생장에 관련된 연구는 부족한 실정이다. 이에 본 연구에서는 수용성 규산염 복합체중 Na₂SiO₃·10H₂O의 생태독성평가와 양어장에서의 주요 세균성 질병의 원인으로 알려져 있으며 새우에서의 비브리오증을 유발하여 대량폐사의원인이되는 Vibrio harveyi와 양식 어류에서 에드워드증으로 인한 폐사를 유발하는 Edwardsiella tarda를 포함하는 병원균에 대한 항균 효과를 확인하고 실험실 환경에서의 흰다리 새우(Litopenaues vannamei)의 생장에 미치는 영향을조사하였다.

Ⅱ. 재료 및 방법

1. 수용성 규산염

실험에 사용된 수용성 규산염은 규석을 분쇄하여 1650℃에서 8시간 이상 가열하여 용해한 뒤분말형태의 규산염(Silicate, SiO₃) 추출하고 물속에서 규산 26%의 농도로 2시간 이상 비등시켜용해하여 제조하였다. 제조한 수용성 규산염은사료표준분석방법에 따라 수분, 칼륨(K), 나트륨(Na), 아연(Zn), 철(Fe), 망간(Mn), 규산(Si), 염소(Sl), 셀레늄(Se)을 분석하였다.

<Table 1> Composition of Water soluble silicate1

Ingredients	Contents				
Moisture (%)	53.29 ± 0.51				
K (ppm)	362.95 ± 29.64				
Na (ppm)	67,884.01 ± 823.98				
Zn (ppm)	1.29 ± 0.19				
Fe (ppm)	70.63 ± 0.44				
Mn (ppm)	1.17 ± 0.22				
Si (%)	26.33 ± 0.06				
Cl (ppm)	N/D ²				
Se (ppm)	N/D				

1) Each of values were described mean ± S.D

2) N/D: Not detected

2. 생태독성시험(급성독성시험)

수용성 규산염의 생태독성시험은 수질오염공정시험(2012)를 따라 시행하였으며 시험에 사용된 물벼룩은 *Daphnia magna*를 사용하였다. 수용성 규산염의 농도 50 mg/L, 250 mg/L, 500 mg/L로 설정하였으며, 침전시간은 10분, 30분, 12시간으로 설정하여 진행하였다.

3. 시험균주 및 배양

시험균주는 그람양성균인 Staphylococcus aureus KCTC 1927과 그람음성균인 Escherichia coli KCTC 1682, Salmonella typhimurium ATCC 13311,

Vibrio harveyi KCCM 40865, Edwardsiella tarda KCTC 12267을 한국생물자원센터(Korea Collection for Type Cultures, KCTC), 한국미생물보존센터 (Korea Culture Center of Microorganisms, KCCM), American Type Culture Collection(ATCC)에서 분양 받아 사용하였다. Staphylococcus aureus, Escherichia coli, Salmonella typhimurium, Edwardsiella tarda는 Mueller-Hinton broth(MHB)를 이용하여 37℃에서 배양하였고, vibrio harvevi는 Marine broth(MB)를 이용하여 26℃에서 배양하였 다. 모든 배양은 호기조건으로 진행되었다.

4. 디스크 확산법(Disk diffusion assay)

37℃에서 24시간동안 MHB와 MB에서 배양된 시험균주를 멸균된 Phosphate Buffered Saline(PBS) 에 McFarland 0.5에 맞춰(Optical Density 625nm = 0.1) 현탁하여 Muller-Hinton Agar(MHA)와 Marine Agar(MA, BD, USA)에 도말한 disk(8mm) 에 수용성 규산염 50 μl를 접종한 하 ○ Staphylococcus aureus, Escherichia coli. Salmonella typhimurium, Edwardsiella tarda : 3 7℃에서 24시간 배양하였고, vibrio harveyi는 6℃에서 24시간 배양하였다. 음성대조군은 증류 수를 사용하였으며, 양성대조군으로는 Cefotaxime Sodium(Sigma, USA)을 사용하였다.

5. 최소성장억제농도 측정(MIC)

CLSI의 기준(CLSI-A10, CLSI-M45)에 따라서 수용성 규산염을 13 × 100 mm tube에 수용성 규산염제를 Mueller hinton II Broth(CAMHB, BD, USA)를 이용하여 2배씩 단계희석하여 13%, 6.5%, 3.25%, 1.625%, 0.8125%, 0.40625%로 준비하였으며, 37℃에서 24시간동안 MHB와 MB에서배양된 시험균주를 멸균된 Phosphate Buffered Saline(PBS)에 McFarland 0.5에 맞춰(OD625=0.1) 현탁한 뒤, CAMHB를 이용하여 10배 희석한 현

탁액을 1mL 튜브에 접종하였고 CAMHB와 시험 균을 접종한 튜브를 대조군으로 사용하였다. 접 종이 완료된 tube는 37℃에서 20시간 배양하여 균의 생장여부를 육안으로 관찰하고 균이 성장하 지 않은 최소 농도를 최소성장억제농도로 하였 다.

6. 사양시험

실험에 사용된 새우는 충남 당진에 위치한 ㈜ 네오엔비즈에서 구입하여 사용하였으며, 사양실험 이전에 5일의 순치기간을 두었다. 사양시험은 120L의 플라스틱 수조에 충남 태안에서 20 ㎞에서 여과된 여과해수 80L를 채워 사용하였으며, 주 2회 40L씩 여과해수를 이용하여 절반씩 환수와 함께 수조청소를 해주었다. 그룹 당 25미의 새우를 넣고, 여과장치와 에어레이션 장치를 구비하여 60일간 실험을 실시하였으며, 실내 히터를 이용하여 대기의 온도를 28±2℃로 유지하였다. 사양실험간의 사료는 Ø1.4 × 2 EP 사료(CJ, Korea)를 먹이망을 이용하여 1일 2회(08:00, 20:00) 총 중량의 3% 급여하였다.

새우의 증체량은 매주 1회 그룹별 총 새우의 무게를 마리수로 나누어 측정하였으며, 증체량과 사료효율, 생존율을 <Table 2>의 방법으로 측정 하였으며, 같은 조건의 빈 수조의 사료량(CF0)과 12시간 후 회수한 사료량(CFr)을 계산하여 사료 의 자연소모율(F1)을 추가적으로 적용하여 실제 사료섭취량을 계산하였다.

<Table 2> The Growth parameter calculate of shrimp

- Weight gain (g) = Fianl weight (g) Initial weight (g)
- Total feed given (g) = Initial feed given (g) Dry feed resideu (g)
- Food conversion ratio (FCR) = Total feed given (g) / Wet shrimp weight gain (g)
- Survival rate (%) = Total number of shrimp survived / Initial number of shrimp stock \times 100

7. SOD 활성도 측정

사양시험이 종료된 후 시험그룹별로 무작위로 새우를 3마리를 채집하였으며 측정하기 전까지 -20℃에서 보관하였다. 냉동 새우의 등쪽 근육 100 mg을 Phosphate buffer saline(PBS)에 넣고, 호 모게나이저를 이용하여 잘게 분쇄하였다. 분쇄한 시료를 4℃, 6,000g에서 원심분리하여 그 상등액 을 65℃에서 5분간 두었다(Mccord & Fridovich, 1969). 새우의 Suoeroxide dismutase(SOD) 활성의 측정은 Ransod kit(Roche, Switzerland)를 이용하여 측정하였으며 단백질의 변성을 피하기 위하여 모 든 실험은 얼음에서 진행하였다. 1.5째 튜브에 시 료 5세를 넣고 0.05 mM xanthine과 0.025 mM 2-(4-iodophenyl)-3-(4-nitrophenol)-5-phenyltetrazolium chloride(INT)을 50 mM CAPS (pH 10.2), 0.94 mM EDTA가 포함된 용액에 녹인 mixed substrate 170 ル와 xanthine oxidase 25μl를 넣고 반응시켜 흡광 도 505 nm에서 효소 첨가 후 30초와 3분 흡광도 를 측정하였으며, SOD의 표준곡선을 위한 Standard는 Ransod kit를 이용하였다. 1 unit의 SOD는 50%의 xanthine 감소율에 필요한 양으로 정의되며, 특이적 활성도는 SOD unit/ml로 표현하 였다(Biagini et al., 1995).

8. 통계처리

실험에서의 결과는 평균값 ± 표준오차로 나타내었다. 통계학적 유의성 분석은 Student's t-test로 나타내었다(P<0.05).

Ⅲ. 결과 및 고찰

1. 수용성 규산염의 급성독성

수용성 규산염의 물벼룩(Daphnia magna)를 이용한 급성독성시험에서는 물벼룩의 유형저해를 관찰할 수 없었으며, 모든 실험군에서 독성이 나타나지 않았다(<Table 3>).

2. 수용성 규산염의 항균활성

수용성 규산염의 디스크 확산법을 이용한 항균 활성 확인은 <Table 4>와 같다. 수용성 규산염을 S. aureus KCTC 1927, E. coli KCTC 1682, Sal. typhimurium ATCC 13311, V. harveyi KCCM 40865, E. tarda KCTC 12267에 50 μl/disk를 접종 한 결과, 그람양성균인 S. aureus에서 12mm의 clear zone이 생성되었다. 그람음성균에서는 Sal. typimurium ATCC 13311에서의 clear zone이 22mm로 가장 효과가 뛰어났으며, 이어 V. harveyi KCCM 40865의 경우 20mm, E. coli KCTC 12267 19mm로 효과가 나타났다. 디스크 확산법에서의 실험결과가 Yoon et al., 2010; Nordström et al., 2011이 보고한 결과와 비슷한 결과를 확인할 수 있었다. 이를 토대로 수용성규 산염이 그람양성균 보다는 그람음성균에 더욱 효 과가 뛰어나다고 판단됨에 따라 E. coli KCTC 12267, Sal. typhimurium ATCC 13311, V. harveyi KCCM 40865, E. tarda KCTC 12267의 성장을 억 제하는 최소저해농도를 확인하기 위한 MIC test 를 진행하였다.

<Table 3> Acute toxity of Water-soluble silicate on Daphnia magna

Crown	50 mg/L		250 mg/L			500 mg/L			
Group	10 min	30 min	720 min	10 min	30 min	720 min	10 min	30 min	720 min
EC ₅₀	-	-	-	-	-	-		-	-
TU ¹	-	-	-	-	-	-	-	-	-

1) Toxity unit: 100/EC50 (%)

<Table 4> Antimicrobial Activities of Water-soluble silicate by Disk Diffusion Assay

(Unit: mm)

Group	Gram(+)	Gram(-)							
	S. aureus KCTC 1927	E. coli KCTC 1682	Sal. typhimurium ATCC 13311	V. harveyi KCCM 40865	E. tarda KCTC 12267				
Negative Control ¹	N/D ⁴	N/D	N/D	N/D	N/D				
Positive Control ²	30	31	25	30	33				
WSS ³ $50\mu\ell/\text{disk}$	12	19	22	20	12				

¹⁾ Negative control: D.W, 2) Positive control: Cefotaxime sodium, 3) Water-soluble silicate, 4) N/D: Not detected

<Table 5> Minimum Inhibitory Concentration (MIC) of Water-soluble silicate against Gram negative bacteria

Group	Water-soluble silicate MIC Concentraion ¹ (%)								
	13%	6.5%	3.25%	1.625%	0.8125%	0.40625%	NC ²	GC ³	
E. coli KCTC 1682	-	-	-	-	+	+	-	+	
Sal. typhimurium ATCC 13311	-	-	-	-	+	+	-	+	
V. harveyi KCCM 40865	-	-	-	-	+	+	-	+	
E. tarda KCTC 12267	-	-	-	-	-	+	-	+	

¹⁾ MIC Concentration: %, V/V, 2) NC: Negative control, 3) GC: Growth control

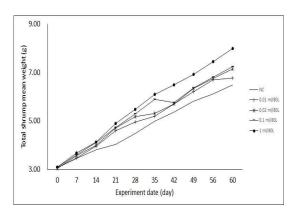
3. 수용성 규산염의 그람음성균에 대한 최 소저해농도

수용성 규산염의 디스크 확산법을 이용한 항균활성을 확인한 결과, 그람양성균에서 보다 그람음성균에서의 효과가 비교적 뛰어나, 수용성 규산염의 그람음성균에 대한 최소저해 농도를 확인하였다. 13% ~ 0.40625%의 수용성 규산염의 각농도에 대한 최소저해능을 확인한 결과 *E. coli* KCTC 1682, *Sal. typimurium* ATCC 13311, V. harveyi KCCM 40865에서는 1.625%의 농도까지시험균의 성장을 억제하였으며, *E. tarda* KCTC 12267의 경우 0.8125%의 농도까지 성장이 억제된 것을 확인하였다(<Table 5>). 음성 대조군에서는시험균의 성장은 관찰할 수 없었으며, 양성 대조

군에서는 정상적인 시험균의 성장을 관찰할 수 있었다(<Table 4>). 수용성 규산염은 그람음성균에 대한 항균활성을 보이고 특히 해양박테리아인 *E. tarda*와 *V. harveyi*에 대한 항균효과가 뛰어나는 것을 확인할 수 있었다.

4. 사양시험

수용성 규산염이 lab-scale의 새우사양실험을 통한 생산성의 변화를 확인하기 위하여 시험 0, 7, 14, 21, 28, 35, 42, 49, 56, 60일의 실험군의 전체 평균 체중을 측정하였다([Fig 1]). 시험 시작일의 각 실험군의 평균 체중을 측정한 결과, 대조군 3.08g, 1 ml/80L군에서 3.09g, 0.1 ml/80L군에서 3.09g, 0.02 ml/80L군에서



[Fig. 1] Total shrimp mean weight in difference water soluble silicate additive

3.06g으로 측정되었으며 총 실험군의 평균 무게는 3.08±0.02g으로 측정되었다(<Table 6>). 시험개시 7일차의 무게를 측정한 결과, 평균 무게가 1 ml/80L의 실험군에서 3.68g으로 측정되었으며 대조군은 3.45g으로 측정되었다. 사양시험 중간단계인 35일차의 체중은 1ml/80L 실험군 6.09 g, 0.1 ml/80L군 5.88 g, 0.02 ml/80L군 5.30g, 0.01 ml/80L군 5.20g, 대조군 4.99g으로 고농도 실험군인 1 ml/80L군의 무게가 대조군과 대비하여 1g 이상이 차이나는 것을 확인하였다. 시험 종료일인 60일차의 각 실험군의 무게 평균은 대조군 6.48g, 1 ml/80L 7.99g, 0.1 ml/80L 7.24g, 0.02 ml/80L 7.14g, 0.01 ml/80L 6.76g 으로 측정되었다(<Table 5>). 대조군 대비 각 실험군의 증체량은 1 ml/80군이 1.5g 높은 것을 확인하였으며, 농도 의존적

인 경향을 보이며 0.1 ml/80L군과 0.02 ml/80L군은 각각 0.76g과 0.66g으로 측정되었으며 0.01 ml/80L군은 0.28g으로 차이가 미미하였다(<Table 6>).

수용성 규산염의 투여에 따른 사료효율(FCR) 은 투여용량에 의존하는 경향을 나타내었으며 대조군 3.55, 1 ml/80L군 2.89, 0.1 ml/80L군 3.22 0.02 ml/80L군 3.19, 0.01ml/80L에서 3.47을 기록하 였다.

수용성 규산염의 lab-scale culture에서의 생존율은 증체량을 확인할 때 남아있는 마릿수를 측정하였다. 대조군에서의 생존율은 76%로 나타났으며, 투여 농도별로 각각 80%, 80%, 76%, 72%로나타났다(<Table 6>). 수용성 규산염을 투여한 그룹과 그렇지 않은 대조군의 성장수치를 비교하여볼 때, lab-scale 사양시험에서 수용성 규산염의투여는 흰다리새우의 성장에 효과가 있는 것으로여겨진다.

5. SOD 활성

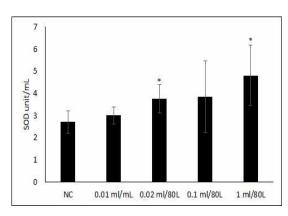
새우에서의 SOD는 병원성 미생물에 의한 감염, 환경의 변화 등에 기인하는 산화 스트레스반응으로 생성되는 활성산소종이 생성되며, 이에따른 체내의 방어기전으로서 SOD와 같은 항산화효소가 생성되어 항산화 작용을 하는 것으로 알려져 있다(Campa-Córdova et al., 2002)

<Table 6> Growh performance of the *Lipopenaues vannamei* depending on different concentration of Water-soluble silicate treatment¹

Group	Initial total mean weight (g)	Final total mean weight (g)	Survival rate (%)	Weight gain (g)	Food conversion ratio (FCR)
Control	3.08	6.48	76	3.40	3.55
0.02 ml / 80 L	3.04	7.14	76	4.10	3.19
0.1 ml / 80 L	3.09	7.24	80	4.15	3.22
1 ml / 80 L	3.09	7.99	80	4.90	2.89

¹⁾ Each of values were described mean (total shrimp values / total number of shrimps)

수용성 규산염 농도별 첨가에 따른 SOD 활성 도의 차이는 아래의 [Fig. 2]와 같이 나타났다. 대 조군의 SOD 활성도는 2.71±0.51 unit/ml이였으며, 실험군에서는 규산염을 첨가한 농도의존적으로 나타나는 경향을 보였다. 1 ml/80L군 4.81±1.37 unit/ml으로 나타났으며 대조군에 비하여 SOD 활 성도가 2.10 unit/ml 높은 것으로 나타났으며 (P<0.05), 0.1 ml/80L를 첨가한 실험군의 SOD 활 성도는 3.85±1.61 unit/ml으로 나타났으나 유의적 인 차이는 없었다. 0.02 ml/80L로 규산염을 첨가 한 실험군은 3.76±0.64 unit/ml로 나타났으며 (P<0.05), 0.01 ml/80L으로 규산염을 첨가한 저농 도 실험군에서 3.01±0.39 unit/ml으로 SOD 활성도 의 차이가 미미한 것을 알 수 있었다. 수용성 규 산염의 투여는 흰다리새우의 SOD 활성도를 높여 새우의 생산성에 긍정적인 역할을 하는 것으로 판단된다.



[Fig. 2] Superoxide dismutase (SOD) activity of Litopenaeus vannamei with or without each of concentration water soluble silicate(*P<0.05)

본 연구를 통하여, 수용성 규산염은 일반적인 병원성 균주뿐만 아니라 해양 병원균인 Vibrio harveyi와 Edwardsiella tarda대한 항균효과를 가지 고 있으며, 흰다리새우의 생산성 향상에도 긍정 적인 영향을 미치는 것으로 보인다. 따라서 수용 성 규산염의 사용은 흰다리새우의 생산의 향상에 기여할 것으로 여겨진다.

References

- Biagini, G. · Sala, D. Zini, I.(1995). Diethyldithiocarbamate, a superoxide dismutase inhibitor. counteracts the maturation ischemic-like lesions caused by endothelin-1 intrastriatal injection. Neuroscience letters, 190(3), 212~216.
- Clinical and Laboratory Standards Institute(2012).

 Methods for antimicrobial dilution and disk susceptibility testing of infrequently isolated or fastidious bacteria. CLSI M45-A. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA.
- Clinical and Laboratory Standards Institute(2012). Methods for antimicrobial dilution and disk susceptibility testing of infrequently isolated or fastidious bacteria. CLSI M45-A. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA.
- Campa-Córdova, A. I. · Hernández-Saavedra, N. Y. · De Philippis, R. & Ascencio, F.(2002). Generation of superoxide anion and SOD activity in haemocytes and muscle of American white shrimp (Litopenaeus vannamei) as a response to β-glucan and sulphated polysaccharide. Fish & Shellfish Immunology, 12(4), 353~366.
- FAO, Food and Agricultural Organization of the United Nations (2009), Fishstat Plus.
- Küçükbay, F. Z. Yazlak, H. Sahin, N. Akdemir, F. Orhan, C. Juturu, V. & Sahin, K.(2008). Effects of dietary arginine silicate inositol complex on mineral status in rainbow trout (Oncorhynchus mykiss). Aquaculture nutrition, 14(3), 257~262.
- Li, Y. C. · Bi, Y. · Ge, Y. H. · Sun, X. J. & Wang, Y.(2009). Antifungal activity of sodium silicate on Fusarium sulphureum and its effect on dry rot of potato tubers. Journal of food science, 74(5).
- Lim, H. J. Park, J. H. and Jang, I. K.(2004). Effect of probiotics on water quality in the shrimp (Fenneropenaeus chinensis) ponds. Korean Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 37(2), 91-97.
- McCord, J. M. & Fridovich, I.(1969). Superoxide dismutase an enzymic function for erythrocuprein (hemocuprein). Journal of Biological chemistry,

244(22), 6049~6055.

Nordström, J. · Nilsson, E. · Jarvol, P. · Nayeri, M. · Palmqvist, A. · Bergenholtz, J. & Matic, A.(2011). Concentration-and pH-dependence of highly alkaline sodium silicate solutions. Journal of colloid and interface science, 356(1), 37~45.

Paek, N. · Lim, Y. & Kim, Y.(2001). anti-bacterial activity and growth promotion in aquacultured fish by probiotics. Korean journal of applied microbiology and biotechnology, 29(1), 56~61.

Sahin, K. · Onderci, M. · Sahin, N. · Balci, T. A. · Gursu, M. F. · Juturu, V. & Kucuk, O.(2006). Dietary arginine silicate inositol complex improves bone mineralization in quail. Poultry science, 85(3), 486~492.

Vattem, D. A. Maitin, V. & Richardson, C. R. (2012). Evaluation of anti-bacterial and toxicological effects of a novel sodium silicate complex. Research Journal of Microbiology, 7(3), 191.

Yoon, M. Y. · Kim, D. I. & Park, J. K.(2010). Evaluation of the anti-bacterial activity and treatment of acne with silicon dioxide-ionized loess. Biotechnology and Bioprocess Engineering, 15(5), 739~744.

Received: 03 April, 2018Revised: 03 May, 2018Accepted: 16 May, 2018