

<원 저>

양계 사료첨가제로서 감태 추출 부산물로 인한 체중증가 및 방어효능 평가

박소연^{1,†} · 김정오^{1,†} · 박보경¹ · 김기주¹ · 박근태² · 한종권² · 한태욱^{1,*}

¹강원대학교 수의과대학 및 동물의학종합연구소, ²㈜미래자원 ML

(접수: 2016년 4월 27일, 수정: 2016년 8월 17일, 게재승인: 2016년 10월 4일)

Application of *Ecklonia cava Kjellman* by-product as a feed additive: enhancing weight gain, immunity and protection from *Salmonella* infection in chickens

Soyeon Park^{1,†}, Chung Yoh Kim^{1,†}, Bokyoung Park¹, Kiju Kim¹, Keuntae Park², Jong Kwon Han², Tae-Wook Hahn^{1,*}

¹Department of Veterinary Medicine & Institute of Veterinary Science, Kangwon National University, Chuncheon 24341, Korea

²Milae Resources ML Co. Ltd., Seoul 05542, Korea

(Received: April 27, 2016; Revised: August 17, 2016; Accepted: October 4, 2016)

Abstract: The *Ecklonia cava Kjellman* by-product (ECBP) as a feed additive was evaluated in improvement of productivity and immune enhancement against *Salmonella Gallinarum* (SG). Lohmann Brown chickens proved SG-free were randomly divided into 3 groups of 8 chickens each. Chickens were fed with the experimental diet treatment: T0, Non treatment-commercial feed; T1, commercial feed with 0.5% ECBP; T2, commercial feed with 0.1% *Lactobacillus plantarum*. In this study, we evaluated the effect of T1 and T2 groups on the body weight and protective efficacy against SG in chickens. The results demonstrated that treatment of T1 group as a feed additive affected significantly body weight gaining in chickens. In addition, T1 group showed a significant different colonization of SG when compared to T2 and T0 groups. We also studied that serum IgG and interferon- γ levels were significantly different compared with other treatment groups. Therefore, we suggest that ECBP can be used as a good candidate of feed additives in chicken industry.

Keywords: *Ecklonia cava Kjellman*, *Salmonella Gallinarum*, food additives

서 론

가축 사료에 항생제 오남용 및 이로 인한 미생물의 항생제 내성 획득 방지를 위해 2011년 7월 사료첨가 항생제 사용이 전면 금지되었고, 이를 대체하기 위한 사료첨가제 개발 연구가 활발히 진행되고 있다 [15, 16, 18, 21]. 천연물질 및 유산균을 이용한 양계 사료첨가제 효능 및 개발 연구가 많이 이루어졌으며, 이처럼 사료첨가제 사용 시 가축의 생산성을 증진하는 데 효과가 있는 것으로 보고되었다 [9, 14, 17, 23].

그중 갈조류에 속하는 감태(*Ecklonia cava kjellman*)는 플로로탄닌(phlorotannin), 라미나린(laminarin), 푸코이딘(fucoidin), 폴리페놀(polyphenols) 등과 같은 다당류 생리활성 물질을 다

량 함유하고 있으며 [1], 사람에게서 항산화 작용뿐만 아니라 항암 및 항미생물 작용 등 기능성 소재로 증명되어 건강기능식품으로 상용화되었다 [2, 10, 20]. 이와 같이 감태가 사람에게서 영양학적·면역기능학적 효능이 보고되었으나, 양계를 포함한 가축에서 감태 연구가 많지 않은 실정이므로, 감태의 사료첨가제로서의 효능평가는 중요한 의미를 가진다.

양계에서 크게 문제시 되는 가금티푸스(fowl typhoid)는 *Salmonella Gallinarum*(SG)에 의해 발생하는 전염성 및 폐사율이 높은 질병이며 [7, 25], 난계대 전파로 인한 이차적인 생산성 감소를 일으킨다 [3, 27]. 육계보다 산란계가 SG 감염에 감수성이 높은 것으로 보고되었다 [13]. 또한, 육계뿐만 아니라, 산란계에서 체중감소는 골격발달 저하 및 성장을 지

*Corresponding author

Tel: +82-33-250-8671, Fax: +82-33-256-5925

E-mail: twahn@kangwon.ac.kr

[†]The first two authors contributed equally to this work.

연시켜 결과적으로 큰 경제적인 손실을 준다.

따라서, 본 연구에서는 폴리페놀을 추출하고 남은 감태 부산물(*Ecklonia cava Kjellman* by-product [ECBP])을 양계 사료첨가제로 활용하고자 하였고, 선행연구에서 효능이 입증된 유산균 사료첨가제를 대조군으로 두어 ECBP 사료첨가제 급여군과의 체중 및 SG 감염으로부터 닭의 면역학적 효능을 비교 평가하고자 하였다.

재료 및 방법

실험동물

부화 후 1주령된 SG 음성인 로만 브라운(Lohmann Brown) 산란계 24수를 공시하였다. 본 실험을 위해 실험동물을 군별로 8수씩 분배하여 2개의 실험군 및 대조군으로 구성하였고(Table 1), 70일 동안 chicken isolator(SK-F002S; 쓰리사인, 대한민국)에서 사육하였다. 동물실험은 강원대학교 동물실험윤리위원회의 승인(KW-151130-1)하에 실시하였고, 동물실험윤리지침을 준수하였다.

시험사료 제조 및 급여

ECBP은 제주도 감태로부터 주정(20~30%)으로 폴리페놀 성분을 추출하고 남은 추출박으로 일반사료(농협사료, 대한민국)와 혼합 후 0.5% ECBP 시험사료를 제조하였다. 시험사료의 대조군으로서 김치유산균 사균을 사용하기 위해 [19], 바이오제닉스코리아(대한민국)의 nF1제품을 사용하였다. nF1은 김치유산균인 *Lactobacillus plantarum*(LP) 균주를 배양하여, 가열살균-나노화 처리기술로 살균한 유산균이다.

시험사료 급여는 일반사료군(T0, non-treatment), 0.5% ECBP 첨가군(T1, ECBP), 0.1% 유산균 사균 첨가군(T2, LP)으로 부화 1일부터 10주 동안 닭에 급여하였다. 준비된 사료와 음수는 시험군과 대조군이 자유롭게 섭취할 수 있도록 급여하였다.

체중 측정 및 채혈

사료급여 후 체중 변화를 평가하기 위해, 1, 2, 4, 6, 7, 10주령에 실험 및 대조군의 체중을 측정하였다. 면역학적 평가를 위해 1, 2, 6, 7, 9주령에 모든 군의 경정맥에서 채혈하였고, 혈청분리는 $6,010 \times g$ 로 4°C에서 10분 동안 원심분리한 후 -20°C에 보관하였다.

공격접종

시험사료 급여 8주 후(9주령), 공격접종을 하기 위해 병원성 있는 SG 국내 분리주(HID2105)를 42 µg/mL nalidixic acid(NA) 항생제(Duchefa Biochemie, the Netherlands)가 첨가된 LB 배지(Difco Laboratories, USA)에서 배양하였고, 1.6×10^7 colony-forming unit(CFU)/0.5 mL씩 경구 접종하였다.

방어효능 평가

공격접종 9일 후(10주령), 일괄적으로 도태하여 닭의 간과

비장 샘플을 분리하였고 Tissue Lyser II(Qiagen, USA)를 사용하여 조직을 파쇄하였다. 조직 파쇄액에 phosphate-buffered saline(PBS; pH 7.2)을 첨가하여 10진식 계단희석을 하였고, 42 µg/mL NA가 첨가된 LB agar에 도말 및 배양한 후 CFU/g를 측정했다.

면역학적 평가

혈청 immunoglobulin(Ig) G 수준을 평가하기 위해 indirect enzyme linked immunosorbent assay(ELISA)를 실시하였다 [4, 24]. 포르말린(formalin)으로 불활성화시킨 전 세포 파쇄액을 코팅항원으로 사용하였고, 0.05 M sodium bicarbonate buffer(pH 9.6)를 첨가하여 10 µg/mL 농도로 준비하였다. MaxiSorp 96-well plate(Nunc, Denmark)에 100 µL/well씩 분주 후 4°C에서 16시간 동안 코팅하였다. 0.05% PBS-Tween 20로 well을 3회 세척한 후 2% bovine serum albumin(BSA)/PBS로 2시간 동안 blocking하였다. 1% BSA/PBS로 400배 희석한 닭 혈청(1차 항체)을 100 µL/well씩 분주하고 37°C에서 1시간 동안 반응하였고, 20,000배 희석한 2차 항체(goat anti-chicken HRP conjugated; Bethyl Laboratories, USA)를 100 µL/well씩 분주하여, 37°C에서 1시간 동안 반응하였다. 각 plate를 3회 세척한 후, 3,3',5,5'-tetramethylbenzidine(SurModics, USA)를 첨가 후 3분간 암반응하였고, 2 N 황산(H₂SO₄)을 첨가 후 ELISA microplate reader(Bio-Rad Laboratories, USA)로 흡광도(OD₄₅₀)를 측정하였다.

혈청의 interferon(IFN)-γ 농도를 측정하기 위해, Chicken IFN-γ Do-It-Yourself ELISA Kit(Kingfisher Biotech, USA)를 구입하였고, 실험은 제조사의 방법으로 수행하였다.

통계분석

통계학적 유의성을 평가하기 위하여, GraphPad Prism 5.02(GraphPad Software, USA)을 사용하였으며, 모든 시험군 및 대조군의 평균값과 표준편차(SD) 값은 *t*-tests(and nonparametric tests) 및 one-way analysis of variance로 검정하였다. 사후검정은 닭의 체중 값, 혈청 수준에서 IgG (OD₄₅₀) 값 및 IFN-γ(pg/mL) 값은 Mann-Whitney test, 방어효능 평가(log, CFU/g)는 Bonferroni's multiple comparison test를 이용하였다. *P* 값은 0.05 미만을 유의한 것으로 간주하였다.

결 과

ECBP와 LP 사료 첨가제 급여 후 닭 체중 변화

최종 함량이 0.5% ECBP와 0.1% LP가 되도록 혼합한 각각의 사료를 급여한 후, 각 T1과 T2군의 평균체중을 일반사료만 급여한 T0군의 체중과 비교하였다(Table 2; Fig. 1). 입식 후 모든 군의 평균체중이 거의 동일 하였으나, 각 사료 첨가군에서 급여 후 2주령부터 T1의 평균체중이 T0보다 9.0%로 유의적으로 증가함을 확인하였다($p < 0.05$). 시험 사

Table 1. A dietary treatment scheme of T0, T1 and T2 groups

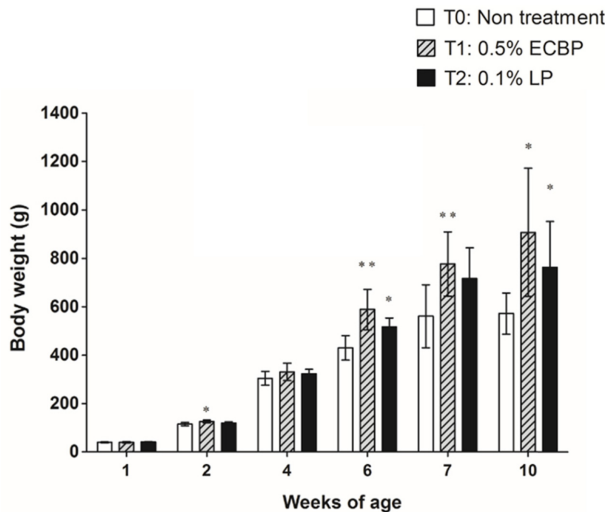
Group	Number	Treatments	Feed
T0	8	Non-treatment	Commercial feed (NongHyup Feed, Korea)
T1	8	0.5% ECBP	
T2	8	0.1% LP	

T0, Non-treatment; T1, 0.5% *Ecklonia cava* Kjellman by-product (ECBP); T2, 0.1% *Lactobacillus plantarum* (LP).

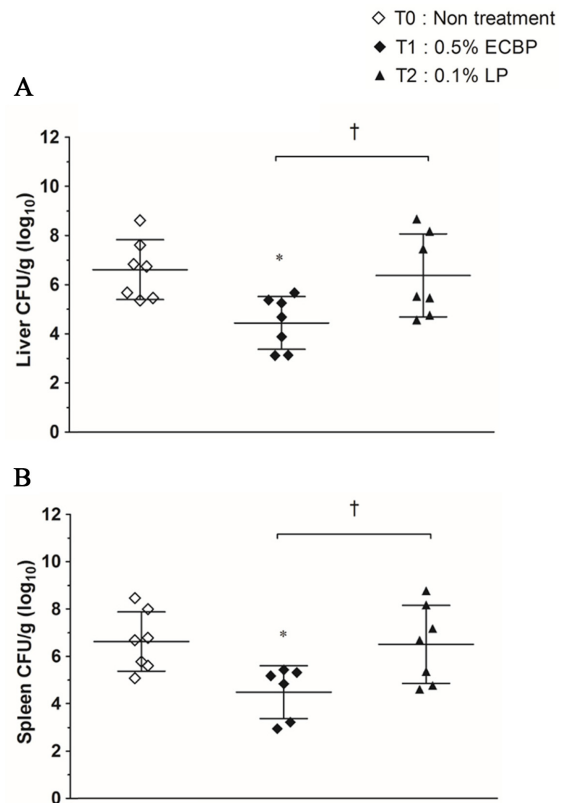
Table 2. Effect of feed additive of T1 and T2 on the body weight mean \pm SD of chickens

Age (wk)	Group body weight % (constant body weight percent when compared to the T0 group)		
	T0	T1	T2
1	100	99.9	102.6
2	100	109.0*	103.6
4	100	108.8	106.2
6	100	136.7**	120.2*
7	100	138.5**	127.8
10	100	152.8*	128.6*

Asterisk (*) or asterisks (**) is statistically different at $p < 0.05$ or $p < 0.01$ when compared to the T0. Data analysis was performed with GraphPad Prism 5.02.

**Fig. 1.** Effect of T1 and T2 feed additives on weight gain of chickens. Asterisk (*) or asterisks (**) is statistically different at $p < 0.05$ or $p < 0.01$ when compared to the T0. Data analysis was performed with GraphPad Prism 5.02.

료첨가제 급여 후 6주령에서는 T1과 T2의 평균체중이 T0보다 36.7%, 20.2%로 유의적으로 증가한 것을 확인할 수 있었으며(T1, $p < 0.01$; T2, $p < 0.05$), 이러한 추이는 실험 종료지점(10주령)에서 T1과 T2의 체중이 52.8%와 28.6%로 T0보다 확연히 증가했음을 확인하였다($p < 0.05$).

**Fig. 2.** Colony-forming unit (CFU) of *Salmonella* Gallinarum (SG) detected in liver (A) and spleen (B) from the chickens after challenge with virulent SG strain (HID2105). Asterisk (*) is statistically different at $p < 0.05$ when compared to the T0. Dagger (†) is statistically different at $p < 0.05$ when compared to the T2. Data analysis was performed with GraphPad Prism 5.02.

ECBP와 LP 사료 첨가제 급여한 닭에 공격접종 후 SG에 대한 방어효능 평가

각 사료첨가제 급여 후 닭의 SG에 대한 방어효능을 평가하기 위해, 9주령 모든 군에 공격접종 후 모든 군을 일괄적으로 도태시켰으며, 닭의 간과 비장조직에서 SG 균주를 검출하였다(Fig. 2). 그 결과 T1군과 T2군의 SG 검출 값(log₁₀ CFU/g)은 간에서는 4.4 ± 1.1 , 6.4 ± 1.7 , 비장에서는 4.5 ± 1.1 과 6.5 ± 1.6 씩 검출되었고, 그중 T1군이 일반사료만 급여한 T0군(간, 6.6 ± 1.2 ; 비장, 6.6 ± 1.3)보다 유의적으로 1.5배(log₁₀) 감소하였다(T1, $p < 0.05$). 또한 간과 비장에서 T1군은 사료첨가제 대조군인 T2군보다 1.5배, 1.4배(log₁₀) SG균이 유의적으로 감소함으로써(T1, $p < 0.05$), T1 시험사료가 SG에 대한 뛰어난 방어효능을 확인하였다. 반면, T2군과 T0군은 간과 비장에서 SG 검출 값이 처리군 간에 유의적인 차이가 없었으며, T2군의 방어효능이 없음을 확인하였다.

ECBP와 LP 사료 첨가제 급여한 닭에서 면역효능평가

사료첨가제 급여 후 1, 2, 6, 7, 9주령에서 얻은 닭 혈청에서 체액성 면역지표인 IgG level(Fig. 3)과 세포매개성 면역지표인 IFN- γ 농도(Fig. 4)를 ELISA기법을 이용하여 시험

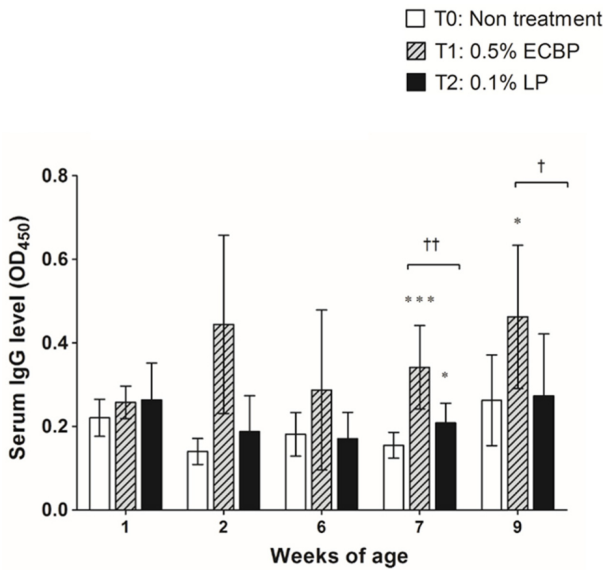


Fig 3. Serum immunoglobulin (Ig)G level (OD₄₅₀) in chickens. Data analysis was performed with GraphPad Prism 5.02. Asterisk (*) or Asterisks (***) is statistically different at $p < 0.05$ or $p < 0.001$ when compared to the T0. Dagger (†) or Daggers (††) is statistically different at $p < 0.05$ or $p < 0.01$ when compared to the T2.

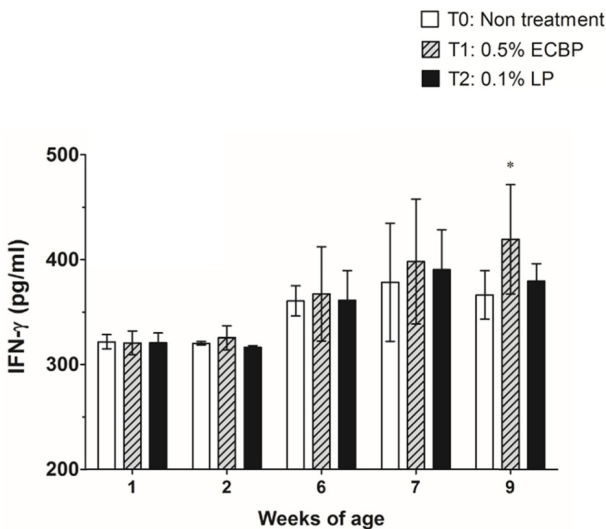


Fig 4. Serum interferon (IFN)- γ in chickens. Data analysis was performed with GraphPad Prism 5.02. Asterisk (*) is statistically different at $p < 0.05$ when compared to the T0.

군 간의 면역효능을 비교 평가하였다.

T1, T2군을 T0군과 IgG level(OD₄₅₀)을 비교하였을 때, 1 주령에서는 모든 군의 혈청 IgG level이 큰 차이가 없었으나, 2주령에서 T1군이 0.444 ± 0.2로 T0군(0.14 ± 0.0)과 T2군(0.187 ± 0.1)보다 유의적으로 높게 나타났다(T1, $p < 0.05$). 또한, 7주령과 9주령에서도 T1군이 0.341 ± 0.1, 0.462 ± 0.2으로, T0군, T2군과의 유의적인 차이를 확인하였다. 반면, T2군과 T0의 유의적인 차이를 확인할 수 없었다(Fig. 3).

세포매개성 면역지표인 IFN- γ 농도평가에서, T1, T2군을 T0군과 IFN- γ (pg/mL)을 비교하였을 때, 9주령에서 T1군이 419.3 ± 52.1로 T0군(366.2 ± 23.3)보다 1.14배 유의적인 차이를 확인하였으며, T2군(379.5 ± 16.7)과는 유의적인 차이가 없었다(Fig 4).

고찰

사료 내 항생제 첨가가 금지되면서, 항생제를 대체할 수 있는 가축의 생산성 증대 및 질병 예방에 효과적인 사료첨가제 개발연구에 관심이 집중되고 있다 [11, 15, 21]. 본 연구에서는 ECBP를 활용하여 양계 사료첨가제로서 효능을 평가하였다.

선행연구에 따르면, 감태(*Ecklonia cava kjellman*)와 김치유산균(*Lactobacillus plantarum*)은 산란계뿐만 아니라 육계에서도 체중증가 및 면역반응 증진과 관련이 있는 것으로 보고되었다 [1, 2, 10, 20]. 이뿐만 아니라, 김치유산균을 사료첨가제로 활용한 연구에서는 육계에서 혈청 내 IgG 수준과 F양의 크기 증대 및 골격 발달과 연관된 단백질과 칼슘 이용률이 대조군보다 유의적으로 증가함이 보고되었다 [17, 22, 23].

본 연구에서도 ECBP가 닭의 체중증가에 관여함을 확인하였고, 본 논문에는 제시되지 않았으나 추가로 0.1% ECBP를 첨가한 군을 일반사료 대조군과 비교하였을 때에도 0.1% ECBP군의 체중증가를 확인하였다. 이는 감태가 갈조류 중 비교적 높은 지방산과 비타민B₂ 함량을 보이며, 아미노산 조성이 양호한 점에 기인한다고 판단되며, ECBP가 폴리페놀을 제외하고도 다양한 생리활성 물질들로 인해 이와 같이 닭의 체중증가 및 면역력에 영향을 준 것으로 생각한다 [1, 10, 25]. Gahan 등 [8]의 연구에 의하면, 양돈 사료 내 해조류 구성성분인 푸코이딘과 라미나린의 첨가 시 자돈의 체중과 사료섭취량을 증가시키고 사료 요구율을 개선하는 것으로 보고되었다 [5, 6].

시험사료인 ECBP를 닭에 급여한 후 면역증강 효과와 SG 감염 후 균의 재분리를 통해 감염에 대한 방어효능을 평가하였다. T1군이 T0군과 T2군에 비해 균의 재분리가 닭의 간과 비장에서 모두 유의적으로 낮게 검출되었으나, T2군은 T0군과 큰 차이를 보이지 않았다.

선행연구에 따르면, 닭에서 유산균을 사료첨가제로 활용하였을 경우 일반사료 대조군보다 회장 및 맹장에서 유산균에 의한 유익균의 유의적인 증가를 확인하였으며, 이로 인해 장 내에서 pH를 저하하고 각종 항생물질을 생성하여 병원성 미생물을 억제한다고 밝혔다 [23]. 또한, 김치유산균의 경우도 유기산 생성 능력, 병원성 미생물의 생육 저해 능력, 육계에서의 체중증가 및 사료 효율 개선효과를 확인하였다 [2, 10, 22, 26]. 이로 미루어 보았을 때, LP급여군인 T2군에서는 닭의 체중증가효과를 확인하였으나, 생균과 사균의 면역활성 차이로 병원성 미생물 저항성(SG균의 생육 저해)을 관찰하지 못한 것으로 추정된다.

또한, 시험군 T1군과 T2군의 SG 감염에 대한 방어효능

차이를 분석하기 위해 체액성 및 세포매개성 면역지표인 IgG와 IFN- γ 를 평가하였고, 그중 T1군이 혈청 IgG와 IFN- γ 가 유의적으로 증가됨을 확인하였다. 본 연구결과와 달리, 이전 연구결과에서는 ECBP가 직접적으로 IFN- γ 증가에 영향을 미치지 않지만 IL-2와 IL-6가 유의적으로 증가한 것이 확인되었고 [12], 이는 본 연구에서 ECBP가 비특이적으로 IFN- γ 증가에 영향을 미친 것으로 추측되며, 추가적인 실험이 필요한 것으로 생각한다. 이외에도 ECBP가 면역증진 효능의 또 다른 지표인 tumor necrosis factor(TNF)- α 농도를 *in vitro*와 *in vivo*에서 모두 증가시키는 것으로 보고되었다. 해조류 추출물을 마우스 림프구에 처리하였을 경우 B세포로부터 IgG 분비 증가 및 대식세포로부터는 TNF- α 분비가 증가함을 확인하였다 [19]. 또한, 0.1% ECBP를 가금류에 급여한 후 인공적으로 *Salmonella*균을 감염시켰을 때 시험군의 TNF- α 농도가 대조군보다 증가함으로써 시험군의 폐사율이 감소한 것으로 보고되었다 [12]. 이는 닭에 ECBP를 급여하면 면역력을 증진하여 병원성 세균으로부터 보호할 수 있는 방어효능에 기여함을 간접적으로 시사한다.

최종적으로 결과를 종합하였을 때 ECBP가 닭의 체중증가 효과와 자체 면역증진을 통해 SG 감염 저항성에 기여한 것을 간접적으로 확인하였고, 향후 ECBP가 기능성 양계 사료 첨가제로써 활용이 가능할 것으로 보인다.

감사의 글

본 연구는 중소기업 융복합기술개발사업(grant No. S2241165) 연구비 지원과 강원대학교 동물의학종합연구소의 기술지원으로 이루어졌습니다.

References

- Ahn G, Hwang I, Park E, Kim J, Jeon YJ, Lee J, Park JW, Jee Y. Immunomodulatory effects of an enzymatic extract from *Ecklonia cava* on murine splenocytes. *Mar Biotechnol* (NY) 2008, **10**, 278-289.
- Ahn MJ, Yoon KD, Min SY, Lee JS, Kim JH, Kim TG, Kim SH, Kim NG, Hur H, Kim J. Inhibition of HIV-1 reverse transcriptase and protease by phlorotannins from the brown alga *Ecklonia cava*. *Biol Pharm Bull* 2004, **27**, 544-547.
- Berchieri A Jr, Murphy CK, Marston K, Barrow PA. Observations on the persistence and vertical transmission of *Salmonella enterica* serovars Pullorum and Gallinarum in chickens: effect of bacterial and host genetic background. *Avian Pathol* 2001, **30**, 221-231.
- Chang C, Kim S. Studies on avian infectious bronchitis: II. Standardization of an indirect enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for antibody measurement. *Korean J Vet Res* 1989, **29**, 503-515.
- Choi Y, Goel A, Hosseindoust A, Lee S, Kim K, Jeon S, Noh H, Kwon IK, Chae B. Effects of dietary supplementation of *Ecklonia cava* with or without probiotics on the growth performance, nutrient digestibility, immunity and intestinal health in weanling pigs. *Ital J Anim Sci* 2016, **15**, 62-68.
- Choi Y, Hosseindoust A, Goel A, Lee S, Kwon IK, Chae BJ. Effects of *Ecklonia cava* as fucoidan-rich algae on growth performance, nutrient digestibility, intestinal morphology and caecal microflora in weanling pigs. *Asian-Australas J Anim Sci* 2016. Epub ahead of print. doi: 10.5713/ajas.16.0102.
- de Jong HK, Parry CM, van der Poll T, Wiersinga WJ. Host-pathogen interaction in invasive salmonellosis. *PLoS Pathog* 2012, **8**, e1002933.
- Gahan DA, Lynch MB, Callan JJ, O'Sullivan JT, O'Doherty JV. Performance of weanling piglets offered low-, medium- or high-lactose diets supplemented with a seaweed extract from *Laminaria* spp. *Animal* 2009, **3**, 24-31.
- Gusils C, Chaia AP, González S, Oliver G. *Lactobacilli* isolated from chicken intestines: potential use as probiotics. *J Food Prot* 1999, **62**, 252-256.
- Jung EY, Lee SK. Anti-oxidant activities and regeneration effect in HaCaT cell line by Jeju Island aboriginal *Ecklonia cava*. *J Korean Soc Cosmetol* 2007, **13**, 1071-1077.
- Kim HJ, Lee BK, Seok HB. Production of multiple probiotics and the performance of laying hens by proper level of dietary supplementation. *Korea J Poult Sci* 2011, **38**, 173-179.
- Kim KS, Lee SK, Choi YS, Ha CH, Kim WH. Effects of dietary of by products for seaweed (*Euclima spinosum*) ethanol production process on growth performance, carcass characteristics and immune activity of broiler chicken. *Korean J Poult Sci* 2013, **40**, 105-113.
- Kim KS, Lee YJ, Kang MS, Han SU, Oh BK. Comparison of resistance to fowl typhoid among crossbreed chickens artificially infected with *Salmonella gallinarum*. *Korean J Poult Sci* 2002, **29**, 59-75.
- Kim SH, Park SY, Yu DJ, Na JC, Choi CH, Park YY, Lee SJ, Ryu KS. Effects of supplemental *Lactobacillus* spp. on performance and cecum microflora in broiler. *Korean J Poult Sci* 2000, **27**, 37-41.
- Ko YH, Yang HY, Kang SY, Kim ES, Jang IS. Effects of a blend of *Prunus mume* extract as an alternative to antibiotics on growth performance, activity of digestive enzymes and microflora population in broiler chickens. *J Anim Sci Technol* 2007, **49**, 611-620.
- Lee J, Shin Y, Kim K. Screening of bifidobacteria for the development of probiotics inhibiting intestinal pathogenic bacteria. *Korean J Microbiol Biotechnol* 2014, **42**, 211-218.
- Lee JH, Kim SY, Lee JY, Ahammed M, Ohh SJ. Effect of dietary live or killed Kimchi lactic acid bacteria on growth performance, nutrient utilization, gut microbiota and meat characteristics in broiler chicken. *Korean J Poult Sci* 2013, **40**, 57-65.
- Lee JS, Lee SH, Jang YM, Lee JD, Lee BH, Jung JY. Macrophage and anticancer activities of feed additives on β -glucan from *Schizophyllum commune* in breast cancer cells. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 2011, **40**, 949-955.
- Liu JN, Yoshida Y, Wang MQ, Okai Y, Yamashita Y. B cell stimulating activity of seaweed extracts. *Int J Immunopharmacol* 1997, **19**, 135-142.
- Mabeau S, Fleurence J. Seaweed in food products: biochemical and nutritional aspects. *Trends Food Sci Technol* 1993, **4**, 103-107.
- Park BS. Determination of optimal added-levels of inuloprebiotics for promotion of growing performance in broiler chickens. *J Life Sci* 2011, **21**, 684-692.

22. **Park KT, Oh M, Nam J, Ji K, Han JK.** Characterization of mutant strain, *Lactobacillus paracasei* ML-7 isolated from Kimchi, and its effect on the growth of broiler. Korean J Food Sci Technol 2014, **46**, 148-152.
23. **Park SY, Kim SH, Yu DJ, Lee SJ, Ryu KS.** Effects of supplemental *Lactobacillus* on broiler performance. Korean J Poult Sci 2001, **28**, 27-40.
24. **Schneid ADS, Rodrigues KL, Chemello D, Tondo EC, Ayub MAZ, Aleixo JAG.** Evaluation of an indirect ELISA for the detection of *Salmonella* in chicken meat. Braz J Microbiol 2006, **37**, 350-355.
25. **Shivaprasad HL.** Fowl typhoid and pullorum disease. Rev Sci Tech 2000, **19**, 405-424.
26. **Wang L, Liu C, Chen M, Ya T, Huang W, Gao P, Zhang H.** A novel *Lactobacillus plantarum* strain P-8 activates beneficial immune response of broiler chickens. Int Immunopharmacol 2015, **29**, 901-907.
27. **Williams JE, Dillard LH, Hall GO.** The penetration patterns of *Salmonella typhimurium* through the outer structures of chicken eggs. Avian Dis 1968, **12**, 445-466.