

사료내 갈색거저리 유산균 발효물 첨가의 돌가자미 치어 성장 효과

조현솔¹, 박무억², 홍선미^{1*}

¹환동해산업연구원, ²경상북도민물고기연구소

Effect of Dietary Supplementation of Fermented Mealworm on the Growth of Juvenile Stone Flounder (*Kareius bicoloratus*)

Hyun Sol Jo¹, Moo Eog Park², Sun Mee Hong^{1*}

¹Marine Industry Research institute for East sea rim (MIRE)

²Gyeongbuk Research Center Freshwater Fish

요약 본 연구는 치어 돌가자미(*Kareius bicoloratus*) 성장에 도움을 줄 수 있는 사료첨가물 개발을 위해 갈색거저리 유충 분말배지(5%)에 어병 항균 기능을 가지는 유산균을 발효 한 후, 사료첨가물로서의 효능을 실험하였다. 어류 병원체(비브리오균, 연쇄상구균)에 대한 항균기능을 가진 유산균(LAB; *L. plantarum*, *W. paramesenteroides*, *P. acidilactici*)으로 발효한 갈색거저리 추출 발효물의 양어 성장 실증실험을 위해 총 600 마리의 치어 돌가자미(약 5~6 g)를 공시하여 100마리씩 수조 6개에 임의 배치한 후 각 3수조씩 대조군과 실험군으로 분류하여 6주간 평균 전장과 체중을 측정하였다. 6주 후에 대조군의 전장 평균은 8.26 cm, 실험군은 8.42 cm이며, 대조군의 체중 평균은 19.71 g, 실험군은 20.28 g으로 HeTm_LpWpPa 첨가에 있어 성장효과가 증대됨을 확인하였다. 6주간의 증체율은 대조군 223.26%, 실험군 248.76%로 HeTm_LpWpPa 첨가군이 25.5%p 성장효과가 높고, 6주 동안의 일간성장률은 대조군 2.79%/일, 실험군 2.98%/일로 실험군이 0.19%p 더 높았다. 또한 평균 체중 이하의 개체 수에 있어서도 3주째에는 대조군 27마리(9%), 실험군 9마리(3%)이고, 6주째에는 대조군 17마리(5.7%), 실험군 3마리(1%)로 실험군에서는 평균 체중 이하가 1%로 균일한 성장 효과가 있었다. 이들 결과는 동애등에 유충 추출 유산균 발효물(HeTm_LpWpPa) 사료 첨가물의 10% 내외까지 사용은 돌가자미를 포함하는 양어 치어의 성장 촉진에 유효할 것을 시사한다.

Abstract In this study, we aimed to develop a feed additive that can promote the growth of stone flounder (*Kareius bicoloratus*). To this end, we fermented mealworm medium (5%, w/v) with lactic acid bacteria (LAB) with antibacterial function (HeTm_LpWpPa) and evaluated its efficacy as a feed additive. Fish (approximately 5-6 g) were reared in six completely recirculating tanks (100 fish/tank) for 6 weeks. The total length of fish with and without HeTm_LpWpPa supplementation was 8.26 and 8.42 cm and body weight was 19.71 and 20.28 g, respectively, at 6 weeks. The weight gain of the control and experimental groups was 223.26% and 248.76%, respectively. The specific growth rate at 6 weeks was 2.79% (control) and 2.98% (experimental), and the growth rate of the experimental group was slightly higher (0.19%) than that of the control group. At the end of the experiment (i.e. 6 weeks), the number of fish below the mean weight in the experimental group was 3 (1%) and that in the control group was 17 (5.7%). These results indicate that feed supplementation of 10% HeTm_LpWpPa could be utilized to promote the growth of flounder in farming.

Keywords : Feed Additives, Mealworm, Lactic Acid Bacteria, Antibacterial, Growth

본 연구는 농림축산식품부의 재원으로 농림식품기술기획평가원의 맞춤형 혁신식품 및 천연안심신소재 기술개발사업 (119027-3)과 농식품연구성과후속지원(818011-2)의 지원을 받아 연구된 것임

*Corresponding Author : Sun-Mee Hong(Marine Industry Research institute for East sea-rim, MIRE)

email: hongsunmee@mire.re.kr

Received January 21, 2021

Revised February 22, 2021

Accepted April 2, 2021

Published April 30, 2021

1. 서론

양식업에 있어 어류 사료는 단백질 함량이 높은 어분(fish meal)을 주요 단백질원으로 사용하고 있다. 그러나 어분의 주요 어종인 명태, 대구, 멸치, 정어리 등의 어획량 감소로 어분생산량이 감소하면서 수요와 공급량의 균형이 어려워지자 이를 해결하고자 대두분(soybean)과 곤충분말(insect powder) 등이 어분 대체물로 관심 받고 있다. 국제연합식량농업기구(Food and Agriculture Organization of the United Nations; FAO)의 Animal feed resources information system (<https://www.feedipedia.org/node>) 에서는 가축 및 어류 사료로 이용되는 사막 비황(*Schistocerca gregaria*), 일반 집파리 구더기(*Musca domestica*) 및 누에(*Bombyx mori*)를 비롯한 곤충사료에 대해 공급원, 가공, 사료주기 지침, 사료 주기 실험 및 영양특성에 대한 범주에 대해 제공하고 있다. 최근 국내도 갈색거저리 [1]와 동애등에 [2-6] 등의 영양성분이 육계, 돼지, 조피볼락, 메기 등의 사료첨가제로의 기능, 가치, 효능 등이 발표되었다. 특히, 식용곤충으로 등록된 갈색거저리 (*Tenebrio molitor*; Tm)는 단백질 52.6 %, 지방 34.4 %의 고단백질로 조피볼락 [1]의 사료원으로써의 영양학적 가치가 인정되었다. 또한 갈색거저리 추출물은 간암 세포 활성화 [7], 항비만 [8] 등에 효과적인 것으로 알려져 있으며 농촌진흥청의 연구결과도 이들이 유효성을 입증하고 있다. 그러나 어분대체와 그들의 유효물질을 사용하기 위한 대량생산과 공급에 있어 식용곤충은 가격경쟁에서 기존 어분을 대체하기는 어려울 것으로 전망되고 있다. 이에 대한 대처방안으로 소량이지만 기능성을 높이는 사료첨가제 개발은 그 가능성을 높일 것이다.

가축과 어류의 사료 내 성장촉진용 항생제 사용이 금지(2011년)됨에 따라 인체에 무해한 항생제와 항균제 물질에 관심과 연구가 높아지고 있다. 이에 대한 대안으로 식물성 물질 [9-13] 또는 GRAS(Generally Recognized as Safe) 균주 중 하나인 유산균(프로바이오틱스, probiotics)을 가축 또는 어류 사료에 첨가한 친환경적인 연구 성과가 보고되고 있다 [14-16]. 프로바이오틱스로서의 유산균은 인간뿐만 아니라 가축, 어류의 장내 세균총 개선과 면역증대, 항산화, 성장발달 등에도 영향을 주는 것으로 알려져 최근 이들의 먹이인 프리바이오틱스(Prebiotics) [17-19]와 2차 대사물질인 포스트바이오틱스(Postbiotics) [20]에 대한 연구가 활발하다. 이는 양식장의 항생제 사용량 감소, 어류 체내에 유해 항생물질 축적

감소, 어류 폐사량 감소 등의 효과 및 산업적 가치가 높아 기대되는 연구 분야이다.

양식 어류의 근집생활로 면역력이 약한 치어를 대상으로 항생제, 백신 등을 투여할 경우 백신투여의 스트레스, 약해 등으로 어류 질병 예방을 위한 대책연구가 필요하다고 할 수 있다. 식물, 미생물 등을 대상으로 하는 천연소재, 물질, 등의 발굴과 활용이 필요한 상황에서 성분의 유효물질과 기능을 최대화할 수 있는 방법으로 프로바이오틱스의 먹이인 프리바이오틱스에 대한 연구가 활발하다 [9-13]. 천연물의 기본적인 일반성분은 질소원(nitrogen) 또는 탄소원(carbon)의 원료로 유산균의 기본 성장배지로 사용할 수 있다 [9-13].

우리나라 전 연해에 분포하는 돌가자미(*Kareius bicoloratus*; stone flounder)는 주로 경상북도와 강원도의 동해안에서 쉽게 어획되는 종이다. 경북 영덕에 위치한 경북수산자원연구원은 치어를 양식하여 8~9월에 동해에 방류함으로써 건강한 돌가자미를 보존·육종한다.

본 연구에서 경북 동해의 돌가자미의 사료첨가제 개발을 위해 사용된 식용곤충인 갈색거저리는 이미 이전 연구에서 조피볼락의 사료원으로써 영양이 우수하고 소화율도 어분과 비슷하여 이를 대체할 수 있다 [1]는 연구결과에 따라 우수성은 입증되었지만 산업화에 대한 경제성 문제를 남겨두고 있다. 양어사료 중 어분 가격 상승으로 이를 대체할 단백질원으로 주목받는 대두분(3,000원/kg) 대비 갈색거저리(30,000원/kg)의 가격이 높아 이를 회피할 기능적 배합비율인 10 %가 경제적 분석이 가능할 것으로 사료된다. 소량의 투여로 갈색거저리의 영양과 기능성을 상승시킬 수 있는 연구를 위해 어병에 대한 항균 기능을 가지는 물질을 생성하는 유산균과 발효 공정 중에 생산되는 항균 물질 대사체(포스트바이오틱스) 생산이 중요하다 [14, 18].

본 연구에서는 프로바이오틱스로서 동해 해수에서 분리한 어병 항균성 유산균 3종을 프리바이오틱스로서 식용곤충인 갈색거저리 열수추출물에 배양한 후, 배양물을 기존의 돌가자미 사료에 10 %를 첨가하여 체장, 체중, 성장률 등을 조사하여 양식 어류의 사료첨가제로서의 가능성을 확인하고자 수행하였다.

2. 재료 및 방법

2.1 시험어류 및 설계

실험어는 경상북도 수산자원연구원(영덕)에서 사육하

는 돌가자미(*Kareius bicoloratus*; stone flounder) 치어(평균 약 5~6 g) 600마리를 사용하였다. 실험을 위해 돌가자미는 대형 원형 수조(1.5 ton) 6개에 각 100마리씩 무작위로 선택하여 2주 이상 순치하였다. 각 실험수조는 해수를 공급하는 순환여과식 시스템으로 평균 수온은 20~21 °C 이고, 공기발생기(aeration)를 설치하여 충분한 용존산소를 유지하였으며 광주기는 형광등을 이용하여 12L:12D 조건으로 유지되었다. 순치 중 시판 배합사료(Love Larva no 4, Japan)를 하루에 두 번(09:00와 16:00) 공급하였고 이후에는 3개 수조(300마리; 100마리/수조)는 대조군으로 시판 배합사료 100 %를 나머지 3개 수조(300마리; 100마리/수조)는 실험사료(시판사료:갈색거저리 추출 발효물= 90:10; w/w)를 하루에 두 번 6주간 공급하였다.

2.2 항균성 유산균주 선발 및 특성

해수 1 %을 0.1 % BCP (Bromocresol purple, Sigma, USA)가 첨가된 MRS (Difco, USA) agar 배지에 도말하여 37°C에서 1일간 배양한 후 BCP와의 반응에 의해 노란색 콜로니를 형성하는 균주를 유산균으로 1차 선별하였다. 2차 선별은 한국미생물보존센터에서 분양받은 비브리오팀(*Listonella anguillarum* ACTC19264), 연쇄구균 2종(*Streptococcus parauberis* ACTC35668, *Streptococcus iniae* ACTC 29177), 리스테리아균(*Listeria monocytogenes* ACTC15313)에 대한 항균활성 실험을 수행하였다. 항균활성은 agar well disc diffusion method로 측정하였다. 상기 균주를 액체배지에서 접종하고 37 °C에서 24시간 배양하여 활성화시킨 다음 고체평판배지에 각각 200 ul씩 분주하고 멸균된 유리병으로 고르게 도포한 후 30분 간 건조시켰다. 건조된 배지 위에 멸균 paper disc (8mm, Advantec, Japan)를 올리고 유산균배양액을 30 ul 흡수시킨 후 24시간 후 항균효과가 있는 균을 2차 선별하였다.

선발된 균주는 Mini genomic DNA extraction kit (Promega, USA)를 이용하여 genomic DNA를 추출한 후 이를 주형으로 사용하고, 27F (5'- AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3')와 1492R (5'- GGTTACCTTGTTACGACTT-3') 프라이머 및 AccPower PCR premix kit(Bioneer, Korea)를 이용하여 TaKaRa PCR Thermal Cycler(TaKaRa, Japan)으로 각 균주의 16S rRNA 유전자 부위를 증폭하였다. 증폭된 산물은 PCR clean-up Gel extraction (Macherey Nagel, USA)으로 정제한 뒤 ABI3730 DNA analyzer (Applied Bioystems,

USA)로 유전자 서열을 분석하였다. 확인된 항균성 유산균 균주는 *Lactobacillus plantarum* (Lp; KCCM12299P), *Weissella paramesenteroides* (Wp; KCCM12301), *Pediococcus adilactici* (Pa; KCCM12472P)로 한국미생물보존센터에 각각 2018년 8월과 2019년 3, 8월에 기탁하였다.

위의 방법은 최종 갈색거저리 추출 발효물에 대해서 같은 방법으로 항균활성을 분석하였다.

2.3 갈색거저리 발효물 제조 및 미생물 안정성

갈색거저리 열수추출물은 종령 유충 분말(Tm; 동의보급) 100 g과 멸균 증류수 900 ml (1:9, w/v)를 넣고 혼합한 후, 초음파를 750 watt, 10 kHz에서 10초 간격으로 5분 간 조사하였다(Sonics Vibra-Cell, USA). 그다음, 60 °C의 열수에서 4~6시간 진탕 후, 이를 갈색거저리 열수추출물(Hot water extracted Tm; HeTm)로 사용하였다. 앞서 선발된 Lp, Wp, Pa 균주의 갈색거저리 열수추출물에서의 생균수는 확인하였으며(data not shown), 확인된 각 균주를 혼합하여 1×10^8 cfu/ml 농도로 1 % 공점중하고 30 ± 1 °C에서 24시간동안 공배양하여 갈색거저리 유충추출발효물(HeTm_LpWpPa)을 제조하고 액상 또는 동결건조하여 사료첨가물로 사용하였다.

유해 미생물 존재 유무를 확인하기 위하여 건조필름법(3M petrifilm, USA)을 이용하였다. 시료로 갈색거저리 유충분말의 1 %(w/v) 수용액, 갈색거저리 유충 열수추출물 동결건조 분말 1 % (HeTm, w/v) 수용액, 갈색거저리 유충 열수추출물 유산균 발효물(30 °C, 24시간 배양)의 분말 1 % (HeTm_LpWpPa; w/v) 수용액을 사용하였다. 각각 시료 1 ml에 멸균생리식염수 9 ml을 넣어 희석시킨 것을 시험용액으로 준비하여 리스테리아(EL), 일반세균(AC), 효모 및 곰팡이(YM), 대장균(CC) 측정용 petrifilm™ (3M, USA)에 1 ml 점중하고 37 ± 1 °C에서 24시간 배양하였다.

2.4 갈색거저리 추출발효물의 중금속 분석

갈색거저리 유충 추출물(HeTm)과 갈색거저리 유충 추출물 유산균 발효물(HeTm_LpWpPa)의 분말 내의 중금속 성분을 조사하였다. Tm 분말과 HeTm_LpWpPa 분말에 대한 1 % (w/v)의 수용액을 검액으로 사용하였고 모든 분석 실험은 식품공전의 일반 시험법에 따라 수행되었다. 비소(As)와 카드뮴(Cr)은 1 % (w/w) 시험 용액을 질산으로 처리하고 유도결합플라즈마 발광분광기

(Inductively Coupled Plasma Atomic Emission Spectrometry, ICP-MS, KHSI-A-158)에 주입하여 함량 분석을 진행하였다.

크롬의 경우는 시료의 일정량을 마이크로웨이브 (Microwave MARS CEM, KSHI-A-063)에 넣어 질산 등으로 처리하여 분해한 뒤 플라스크에 옮겨 증류수를 채워 용액으로 조제하였고, 유도결합플라즈마 발광분광기 (Inductively Coupled Plasma Atomic Emission Spectrometry, ICP-MS agilent 7700, KHSI-A-059)로 성분분석을 수행하였다. 실험은 한국고분자시험연구소(KOPTRI)에 수행하였다.

2.5 돌가자미 성장 분석

돌가자미는 실험 시작 전 전장(full-length) 체중(weight)을 측정하였고, 실험기간 중에는 2주 간격으로 측정하였다. 측정 시의 어류의 스트레스를 최소화하기 위해 0.05 % (v/v) 2-phenoxyethanol (Sigma, USA) 수용액에서 마취시키고 공기 노출 시간도 최소화하였다. 체중은 전자저울을 이용하여 소수 셋째 자리단위까지 측정하였다.

증가 된 전장과 체중을 이용하여 아래 (1), (2)식에 따라 증체율(Incremental body rate; %)과 일간 성장률(Specific growth rate, SGR; %)을 계산하였다.

$$\text{증체율(\%)} = \frac{\{\text{최종 어류 체중(g)} - \text{최초 어류 체중(g)}\} \div \text{최초 어류 체중}}{\times 100} \quad (1)$$

$$\text{일간 성장률(\%/일)} = \frac{\{\ln \text{최종 어류 평균 체중(g)} - \ln \text{최초 어류 평균 체중(g)}\} \div \text{사육기간(일)}}{\times 100} \quad (2)$$

3. 결과 및 고찰

3.1 갈색거저리 유산균 발효물의 특성

동해안 해수에서 MRS_BCP 배지에서 노란색을 띠는 100종의 유산균을 1차 분리하여 MRS 액체 배지에 30 °C, 24시간 배양한 후, 어병균 비브리오균(*Vibrio anguillarum* ACTC 19264), 연쇄상구균 2종(*Streptococcus parauberis* ACTC 35668, *S. iniae* ACTC 29177)과 환경오염균인 리스테리아균(*Listeria monocytogenes* ACTC15313) 4종에 대해 항균기능을 가지는 유산균 3종을 선별한 후 16s rDNA 염기서열을 NCBI blast로 검색한 결과, 락토바실러스

플란티움(*L. plantarum* MK311261.1), 웨이셀라 파라메센테로이드스(*W. paramesenteroides* C094432.1)과 페디오코쿠스 에시디락티시(*P. acidilactici* LC311071.1) 99 % 유사성을 가지는 균주임을 확인하였다. 이들을 한국미생물보존센터에 기탁하였고 갈색거저리 추출물을 발효하기 위해 사용하였다. Fig. 1은 본 연구의 갈색거저리 사료첨가물 생산 공정과 실험에 대한 모식도이다.

갈색거저리는[1] 유산균 성장에 필요한 질소원(nitrogen)으로 50.6 %의 단백질을 가지고 있어 선발한 Lp, Wp와 Pa를 각각 30 °C, 24시간동안 배양한 경우 1×10^9 이상의 생균수를 나타내어 유산균 성장에 우수한 배지임을 확인하였다(data not shown). 우리는 항균성 유산균 3종을 공배양하여 어병과 환경오염균에 대한 항균성을 높이고자 하였다. 단일 배양물에 대한 항균력 대비 공배양물은 2 ~ 3배 이상의 항균력을 확인하였다(data not shown).

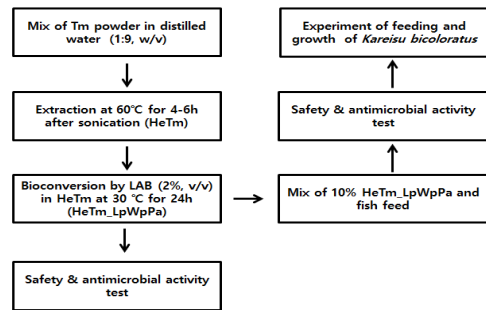


Fig. 1. Process flow chart for HeTm_LpWpPa production and feeding experiment.

갈색거저리 추출물(HeTm)에서의 LpWpPa 3종은 1.18×10^9 cfu/ml의 생균수가 계수되었고 이는 유산균 생육배지인 MRS배지에서의 생균수인 1.08×10^9 cfu/ml보다 많은 유산균이었다. 이에 우리는 갈색거저리에 부족한 탄소원을 2 %의 텍스트로스를 대체 첨가하여 생균수를 증가를 유도하였지만 6.0×10^8 cfu/ml로 감소하였다(Fig 1). 갈색거저리 열수추출물은 탄소원(carbon)인 텍스트로스의 첨가 없이도 본 연구에 사용한 3종의 유산균 성장에 우수한 배지임이 확인되었다. 이후 분말상태인 대조사료와의 배합을 맞추기 위해 갈색거저리 추출발효물(HeTm_LpWpPa)는 동결건조 분말화 하였다. 동결건조 후 유산균의 생균수는 1.3×10^9 cfu/ml로 동결건조의 영향은 없는 것을 확인하였다(Fig 1).

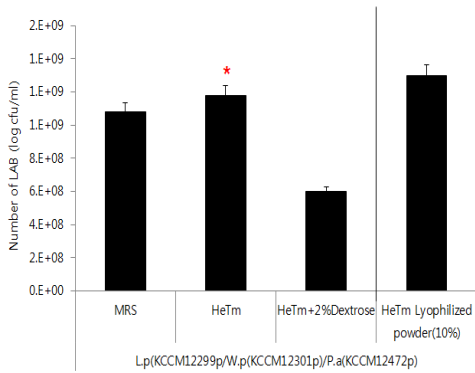


Fig. 2. Count of viable cells co-cultured with *L. plantarum*, *W. paramesenteroides*, *P. acidilactici* at 30 °C during 24h according to the medium condition and lyophilized TmLAB's powder.

갈색거저리 파우더(Tm), 추출물(HeTm)과 추출발효물(HeTm_LpWpPa)의 기타 미생물에 대한 오염을 확인하기 위해 3M의 리스테리아(EL), 일반세균(AC), 효모 및 곰팡이(YM), 대장균(CC)의 페트리필름에서 확인한 결과, 갈색거저리(Tm)에서는 리스테리아와 일반세균과 소수의 대장균도 확인되었지만 갈색거저리의 열수추출물(HeTm)과 열수추출발효물(HeTm_LpWpPa)에서는 기타 미생물은 확인되지 않았다(data not shown). 이는 갈색거저리의 열수처리로 기타 미생물을 멸균 할 수 있는 것으로 확인되었지만 이는 원료인 갈색거저리의 보관, 유통 상황에 따라 기타 미생물의 발생요인이 될 수 있는 것으로 생각된다.

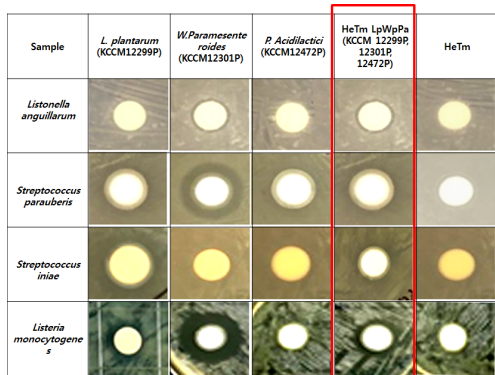


Fig. 3. Antibacterial activity of each LAB and HeTm_LpWpPa against pathogens. Control is *T. molitor* powder extracted by hot water(HeTm).

다음으로 우리는 갈색거저리 추출 발효물(HeTm_LpWpPa) 내의 중금속 성분을 분석하여 안전성을 확인하였다.

Table 1에서 보는 바와 같이 크롬은 0.0002 ug/kg, 카드뮴은 0.0057 mg/kg, 비소는 0.083 mg/kg, 수은은 0 mg/kg으로 측정되었다. 기존 갈색거저리 분말은 크롬 0.0226 ug/kg, 카드뮴 0.0064 mg/kg, 비소 0.094 mg/kg, 수은이 각각 0.0008 mg/kg으로 측정되어 발효물과 비교하였을 때 크롬은 113배 감소되고 카드뮴, 비소, 수은 모두 감소하여 갈색거저리 추출 발효물이 중금속으로부터 안전함을 확인하였다.

Table 1. Comparison of heavy metal content in *T. molitor* powder(Tm) and *T. molitor* fermented with LAB (HeTm_LAB). As, aluminum silicate; Cd, cadmium; Cr, chromium; Hg, mercury

Heavy Metal	unit	Tm	HeTm_LAB
As	mg/kg	0.094	0.088
Cd	mg/kg	0.0064	0.0057
Cr	ug/100g	0.0226	0.0002
Hg	mg/kg	0.0008	0

어병균에 대한 항균성 유산균이 갈색거저리 추출물에서 배양된 후의 항균기능을 확인한 결과, *L. plantarum* (KCCM12299P), *W. paramesenteroides* (KCCM12301P), *P. acidilactici* (KCCM12472P)의 각 배양물과 이들의 공배양물에서는 비브리오균(*L. anguillarum*), 연쇄상구균 2종(*S. parauberis*, *S. iniae*)와 리스테리아(*L. monocytogenes*)에 대한 항균성을 나타내었다(Fig 2). 단일 배양 후의 항균성 저하를 공배양에 의해 그 스펙트럼 앞서 언급한 어병 및 환경균에 대해 유지할 수 있었다. 본 연구에서 제조한 갈색거저리 유산균 발효물은 어병균 억제 기능을 포함하는 사료임이 확인되었다.

3.2 돌가자미 성장과 일간성장을 분석

제조한 갈색거저리 추출 유산균 발효물이 어류 성장에 미치는 영향을 확인하기 위해 돌가자미 대조군 300마리와 실험군 300마리를 대상으로 실험하였다. 대조군에는 기존에 사용하는 일본제품인 배합사료(Love Larva no 4, Japan)를 하루 2회 급여하고, 실험군에는 10%의 갈색거저리 추출 유산균 발효 분말(HeTm_LpWpPa)을 혼합하여 같은 횟수로 6주간 급여 하였다.

제조한 사료의 종류에 따른 돌가자미 300마리에 대한 평균 체장과 체중의 측정값은 Table 2,3에 제시하였다. Table 2에서 보는 바와 같이 사료 급여 직전(0일차)의 돌가자미 치어의 대조군 300마리의 평균 체장은 6.145

± 0.773 cm, 실험군 300마리의 표준 체장은 6.092 ± 0.704 cm로 실험군의 체장이 대조군에 비해 근소하게 작은 것으로 나타났다.

각 사료 급이 시작으로부터 3주 경과 후, 대조군(일반 사료 급여) 치어의 평균 체장은 7.2±1.038 cm, 실험군은 7.258 ± 0.833 cm로 양 그룹 간의 평균 체장이 비슷하게 측정되었다. 6주 후 대조군(일반사료 급여) 8.263 ± 1.198 cm, 실험 사료는 8.423 ± 1.010 cm로 대조군보다 갈색겨저리 추출 발효물이 첨가된 실험 사료를 급여한 실험군의 체장이 더 길었다(Table 2).

Table 2. Initial and final average height of 300 *Kareius bicoloratus* (stone flounder) fed at different feeding for 6 weeks

Item	Average height (cm)		
	0	3	6
Fish age (weeks)			
Control (LoveLarva)	6.145 ± 0.773	7.2 ± 0.38	8.263 ± 1.198
Experiment (LoveLarva + 10 % HeTm_LpWpPa)	6.092 ± 0.704	7.258 ± 0.833	8.423 ± 1.010

Table 3에서 보는 바와 같이 평균 체중에 있어서 실험 시작 시점(0일차)의 돌가자미 치어의 대조군 300마리의 체중은 6.098 ± 2.389 g, 실험군 300마리의 표준 체장은 5.815 ± 1.977 g으로 실험군의 체중이 다소 적게 측정되었다. 각 사료의 급이 시작 3주 후, 대조군(일반 사료 급여)의 체중은 11.817 ± 5.548 g, 실험군의 체중은 12.217 ± 4.588 g으로 갈색겨저리 유충의 추출 발효물을 첨가한 사료를 급여한 실험군의 평균 체중이 대조군에 비해 더 증가함을 확인하였다. 사료 급여급이 6주 후의 대조군 평균 체중은 19.714 ± 8.796 g, 실험군은 20.281 ± 7.123 g으로 나타나, 일반사료 급여 시 보다 갈색겨저리 추출 발효물이 첨가된 사료가 급여된 실험군에서의 돌가자미 치어 체중이 더 무거웠다(Table 3).

Table 3. Initial and final average weight of 300 *Kareius bicoloratus* (stone flounder) fed at different feeding for 6 weeks

Item	Average weight (g)		
	0	3	6
Fish age (weeks)			
Control (LoveLarva)	6.098 ± 0.389	11.817 ± 5.548	19.714 ± 8.796
Experiment (LoveLarva + 10 % HeTm_LpWpPa)	5.815 ± 1.977	12.217 ± 4.588	20.281 ± 0.123

돌가자미 실험 시작 시점(0일차) 치어의 평균 체중은 대조군의 경우 6.098 ± 2.389 g, 실험군은 5.815±1.977 g으로 체장과 체중 모두 약 6.0 cm 및 6.0 g을 기준으로 해서 각 사료 급여 시작 후 0일차, 3주차, 6주차에서의 체중이 미달인 개체를 조사하였다(Table 4). 측정 시의 체중이 6.0 g 미만인 경우 또는 체장이 6.0 cm 미만인 경우에 체중 미달로 판단하였다. 사료 급이 직전(0일차) 대조군 수조에서는 체중 미달 개체 수가 129마리, 실험군 수조에서는 체중 미달인 개체 수가 137마리였고, 3주 경과 후에는 대조군 수조의 체중 미달 개체가 27마리, 실험군 수조에서는 9마리로 나타났으며, 실험 시작 후 6주가 과한 시기에는 대조군에서의 체중 미달 개체 수가 17마리, 실험군에서의 체중 미달 개체는 3마리였다.

체중 미달 개체 수를 전체 실험 대상이 되는 300 마리에 대한 비율(%)로 계산하면 대조군의 0일차, 3주, 및 6주에 각각 43 %, 9 %, 및 5.7 %의 비율로 나타났으며, 실험군에서는 0일차 45.5 %에서 시작하여 3주 및 6주에 각각 3 % 및 1 % 수준으로 체중 미달 개체 수가 줄었다.

따라서 갈색겨저리 유충 추출물의 유산균 발효물을 사료에 첨가한 경우에 돌가자미 치어의 성장이 고르게 평균화되는 것으로 확인되었다.

Table 4. Comparison of number of below the initial average weight according to HeTm_LpWpPa feeding for 6 weeks

Period (weeks)		0	3	6
No of below the initial average weight (fish)	Control	129	27	17
	Experiment	137	9	3
Percentage of below the initial average weight (%)	Control	43	9	5.7
	Experiment	45.7	3	1

증체율에 있어서는 대조군인 일반사료 급여군에서 급이 시작 후 3주째에는 93.77 %의 증체율을 보였고, 실험군에서는 급이 시작 후 3주째에 110.08 %로 나타나 실험군에서의 증체율이 더 높았으며, 실험 개시 6주 후에도 대조군에서의 증체율은 223.26 %, 실험군의 증체율은 248.76 %로 실험군에서의 증체율이 대조군에서보다 25.5 %p 정도 더 높았다(Fig 3).

일간 성장률(%/일)은 0일차에서 3주째에 대조군은 3.14 %/1일, 실험군은 3.52 %/1일로, 실험군에서 대조군보다 1일에 약 0.4 %p 정도가 더 성장하였으며, 3주차에서 6주차 사이의 일간 성장률은 대조군은 2.42 %/1

일, 실험군은 2.43 %/일로 나타났다. 실험이 수행된 6주간(0일차 내지 6주차) 평균 일간 성장률은 대조군은 2.79 %/일, 실험군은 2.98 %/일로, 양 그룹의 일간 성장률 격차는 약 0.19 %p 정도였다(Fig 4).

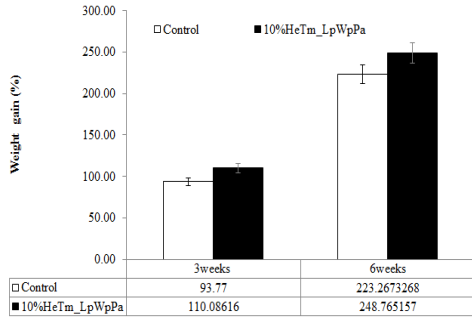


Fig. 4. The weight increases of *Kareius bicoloratus* (stone flounder) fed diets containing 10 % HeTm_LpWpPa as replacement for fishmeal Control is LoveLarva.

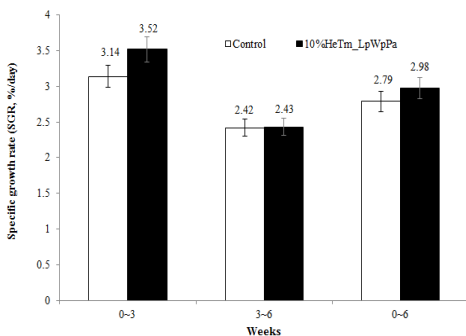


Fig. 5. The specific growth rate (SGR, %/days) of *Kareius bicoloratus* (stone flounder) fed diets containing 10% HeTm_LpWpPa as replacement for fishmeal Control is LoveLarva.

본 연구의 결과에서 갈색거저리 유충 추출물의 유산균 발효물은 돌가자미 사료 첨가제로써 비브리오팀, 연쇄상구균증, 리스테리아증에 대한 예방, 개선 또는 치료용으로 활용될 수 있으며 또한 50.6 %의 조단백질을 가지는 동애등에 갈색거저리를 활용함으로써 어분 대체 효과도 있을 것으로 사료된다. 기존 양식업에서 항생제 투여를 위한 주사법이 아닌 사료 첨가물로써 항균 효과가 있어 향후 항균성 유산균의 스펙트럼을 다각화하여 사료 첨가물 내의 항균성 유산균 스펙트럼을 다각화하여 적용한다면 영양, 항균기능, 항생제 저감, 어류 스트레스 저하 등의 효과도 기대할 수 있을 것이다.

References

- [1] T. H. Jang, S. M. Jung, E. Kim, Y. S. Lee, S. M. Lee, "Nutritional value and digestibility of *Tenebrio molitor* as a feed ingredient for rockfish (*Sebastes schlegelii*)", *Journal of Fisheries and Marine Sciences Education*, Vol.29, No.3, pp.888-898, 2017. DOI: <https://doi.org/10.13000/JFMSE.2017.29.3.888>
- [2] Y. H. Choi, S. Y. Yoon, S. M. Jeon, J. Y. Lee, "Effect of different levels of *Hermetia illucens* on growth performance and nutrient digestibility in weaning pigs", *Journal of the Korea Academia-Industrial cooperation Society*, Vol.20, No.9 pp.255-261, 2019. DOI: <https://doi.org/10.5762/KAIS.2019.20.9.255>
- [3] S. Y. Ji, K. H. Park, K. H. Kim, H. S. Lee, G. S. Choi, Y. J. Lim, R. Yu, I. H. Choi, T. H. Chung, "Influence of *Hermetia illucens* larvae-derived functional feed additives on immune function of broilers", *Journal of Environmental Science International*, Vol.27, No.12 pp.1305-1307, 2018. DOI: <https://doi.org/10.5322/JESI.2018.27.12.1305>
- [4] S. Smetana, E. Schmitt, Alexander Mathys, "Sustainable use of *Hermetia illucens* insect biomass for feed and food: Attributional and consequential life cycle assessment", *Resources, Conservation and Recycling*, Vol.144, pp.285-296, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.resconrec.2019.01.042>
- [5] M. E. Abd El-Hack, M. E. Shafi, W. Y. Alghamdi, V. Tufarelli, "Black soldier fly (*Hermetia illucens*) meal as a promising feed ingredient for poultry: A comprehensive review", *Agriculture*, Vol.10, No.8, pp.339-370, 2020. DOI: <https://doi.org/10.3390/agriculture10080339>
- [6] S. H. Kim, C. H. Bae, J. H. Yun, J. Sim, H. S. Han, "Evaluation of black soldier fly meal as a dietary animal protein source replacing fish meal in Korean catfish *Silurus asotus*", *Journal of Fisheries and Marine Sciences Education*, Vol.31, No.6, pp.1495-1502, 2019. DOI: <https://doi.org/10.13000/JFMSE.2019.12.31.6.1495>
- [7] J. E. Lee, A. J. Lee, D. E. Jo, J. H. Cho, K. J. Youn, E. Y. Yun, J. S. Hwang, M. Jun, B. H. Kang, "Cytotoxic effects of *Tenebrio molitor* larval extracts against Hepatocellular carcinoma", *Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition*, Vol.44, No.2 pp.200-207, 2015. DOI: <https://doi.org/10.3746/jkfn.2015.44.2.200>
- [8] M. C. Seo, T. W. Goo, M. Y. Chung, M. H. Baek, J. S. Hwang, M. A. Kim, E. Y. Yun "Tenebrio molitor larvae inhibit adipogenesis through AMPK and MAPKs signaling in 3T3-L1 adipocytes and obesity in high-fat diet-induced obese mice", *International Journal of Molecular Sciences*, Vol.18, No.3 pp.518-532, 2017. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms18030518>
- [9] A. Biswas, H. Araki, T. Sakata, T. Nakamori, K. Takii, "Optimum fish meal replacement by soy protein

concentrate from soymilk and phytase supplementation in diet of red sea bream, *Pagrus major*", *Aquaculture*, Vol.506, pp.51-59, 2019.
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.03.023>

[10] C. M. A Caipang, J. Mabuhay-Omar, M. M. Gonzales Plasus, "Plant and fruit waste products as phytogetic feed additives in aquaculture", *AACL Bioflux* Vol.12, No.1 pp.261-268, 2019.
DOI: <http://www.bioflux.com.ro/docs/2019.261-268>

[11] F. Norambuena, K. Hermon, V. Skrzypczyk, J. A. Emery, Y. Sharon, A. Beard, G. M. Turchini, "Algae in fish feed: performances and fatty acid metabolism in juvenile atlantic salmon", *PLOS ONE*, Vol.10, No.4 pp.1-17, 2015.
DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0124042>

[12] H. Nakagawa, "Usefulness of waste algae as a feed additive for fish culture", *Developments in Food Science*, Vol.42, pp.243-252, 2004.
DOI: [https://doi.org/10.1016/S0167-4501\(04\)80026-8](https://doi.org/10.1016/S0167-4501(04)80026-8)

[13] M. G. Mustafa, S. Wakamatsu, T. A. Takeda, T. Umino, "Effects of algae meal as feed additive on growth feed efficiency and body composition in red sea bream", *Fisheries Science*, Vol.61, No.1 pp. 25-28, 1995.
DOI: <https://doi.org/10.2331/fishsci.61.25>

[14] K. Jhon, M. C. Kim, Y. H. Kim, M. S. Heo, "Effects of the culture broth of lactic acid bacteria cultured in herb extracts on growth promotion and nonspecific immune responses of aquacultured fish", *Journal of Life Science*, Vol.19, No.1, pp.87-93, 2009.
DOI: <https://dx.doi.org/10.5352/JLS.2009.19.1.087>

[15] S. Camila, L. Yanett, R. Carlos, "Probiotic bacteria as an healthy alternative for fish aquaculture", 28, *Web of Science*, 2017, 115-132
DOI: <https://dx.doi.org/10.5772/intechopen.71206>

[16] K. M. Wanka, T. Damerau, B. Costas, A. Krueger, S. Wuertz, "Isolation and characterization of native probiotics for fish farming", *BMC Microbiology* Vol.18, No.119, pp.1260-1262, 2018.
DOI: <https://doi.org/10.1186/s12866-018-1260-2>

[17] N. Akhter, B. Wu, A. M. Memon, M. Mohsin, "Probiotics and prebiotics associated with aquaculture: A review", *Fish & Shellfish Immunology* Vol.45, No. 2 pp.733-741, 2015.
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2015.05.038>

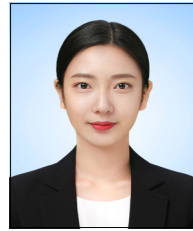
[18] S. H. Hoseinifar, M. A. Esteban, A. Cuesta, Y. Z. Sun, "Prebiotics and fish immune response: A review of current knowledge and future perspectives", *Reviews in Fisheries Science & Aquaculture*, Vol.23, No.4 pp.315-328, 2015.
DOI: <https://doi.org/10.1080/23308249.2015.1052365>

[19] S. Ganguly, K C. Dora, S. Sarkar, S. Chowdhury, "Supplementation of prebiotics in fish feed: a review", *Rev Fish Biol Fisheries* Vol.23, pp.195-199, 2020.
DOI: <https://doi.org/10.1007/s11160-012-9291-5>

[20] M. Moradi, S. A. Kousheh, H. Almasi, A. Alizadeh, A. Lotfi, "Postbiotics produced by lactic acid bacteria: The next frontier in food safety", *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, Vol.19, No.6 pp.3390-3415, 2020.
DOI: <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12613>

조 현 슬(Hyun Sol Jo)

[정회원]



- 2019년 9월 ~ 2020년 9월 : 환동해산업연구원 연구원
- 2020년 2월 : 영남대학교 미생물생명공학과 (이학석사)
- 2020년 10월 ~ 현재 : 환동해산업연구원 원급연구원

<관심분야>

미생물생명공학, 포스트바이오틱스

박 무 억 (Moo Eog Park)

[정회원]



- 1994년 2월 : 제주대학교 대학원 수산생물학과 (이학석사)
- 2000년 8월 : 제주대학교 대학원 수산생물학과 (이학박사)
- 1998년 10월 ~ 2016년 1월 : 경북 수산자원연구원 지방해양수산 연구사
- 2016년 1월 ~ 2021년 1월 : 경북수산자원연구원 생산과장 (연구관)
- 2021년 1월 ~ 현재 : 경북 수산자원연구원 민물고기연구센터 소장

<관심분야>

수산양식

홍 선 미(Sun Mee Hong)

[정회원]



- 1999년 2월 : 경북대학교 농업생명과학대학 (농학석사)
- 2005년 2월 : 경북대학교 농업생명과학대학 (농학박사)
- 2002년 3월 ~ 2005년 2월 : 농촌진흥청 국립농업과학원 연구원

- 2005년 3월 ~ 2006년 11월 : 농촌진흥청 국립농업과학원 PostDoc
- 2006년 12월 ~ 2009년 12월 : 일본 큐슈대학교 농생명과학대학원 PostDoc
- 2010년 1월 ~ 현재 : 환동해산업연구원 책임연구원

〈관심분야〉

재조합단백질, 포스트게놈, 해양유산균, 양어사료(곤충)