

동애등에 유산균 발효물의 산천어 체지방 개선 효과

조현솔¹, 박무억², 홍선미^{1*}

¹환동해산업연구원, ²경상북도민물고기연구센터

Effect of Fermented Black Soldier Fly on the Body-Fat Improvement of Immature Masu Salmon (*Oncorhynchus masou*)

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 동애등에(*Hermetia illucens*) 유산균 발효물이 산천어 성장, 장내 미생물 및 체지방에 미치는 영향을 통해 사료로서의 가치를 확인하였다. 항어병 기능의 4종의 유산균(LAB)으로 동애등에 분말(5%, w/v)을 발효한 후(HiLAB), 산천어 사료첨가물로의 효능을 분석하였다. 사료 실증실험을 위해 총 300 마리의 산천어 미성어(약 14~15 g)를 공시하여 50마리씩 수조 6개에 임의 배치한 후 각 3수조씩 대조군과 실험군으로 분류하여 4주간 급이 후, 일간성장률, 장내 미생물 및 체지방 변화를 분석하였다. 4주 후에 일간성장률(SGR)은 대조군 0.52 %/일, 실험군 0.56 %/일로 실험군이 0.04 %p 더 높았으나 유의성($p < 0.05$)은 인정되지 않았다. 또한 식품의약품안전처에 고시된 19종 고시균과 접종한 2종의 비고시 유산균을 대상으로 4주차의 산천어 장내 미생물 분포 조사 결과, 실험군은 *L. lactis*가 61.8%, *L. mesenteroides* 4.6%, *L. brevis* 0.9% 및 *L. plantarum* 0.6%과 이 외 *E. faecium* 32.1% 비율로 유산균 5종이 확인되었으나, 대조군에서는 확인되지 않았다. 또한 산천어 체지방 분석 결과, 대조군과 실험군의 포화지방산에 대한 불포화지방산 비율(UFA/SFA)은 0.98 ug/g과 1.35 ug/g으로, 이는 실험군의 불포화지방산의 증가가 확인되었다. 특히, 실험군은 불포화지방산 중 ω -3(ALA, EPA, DHA), ω -6(LA, ETA) 및 ω -9(OA, EA)이 대조군보다 모두 높았다. 이들 결과는 4.5% HiLAB이 첨가된 사료첨가물은 산천어를 포함하는 어류 성장, 장내 유익균 증가 및 체지방의 개선 효과에 대한 가능성을 시사하며, 어류 외의 가축, 반려동물 등의 사료첨가물로서의 동애등에 연구의 기초자료로 활용될 것이다.

Abstract In this study, we investigated the effects of the utilization of fermented black soldier fly (*H. illucens*), BSF, larvae feed on the growth, changes in gut lactic acid bacteria (LAB) diversity and abundance, and body fat of masu salmon (*Oncorhynchus masou*). The efficacy of BSF larvae as a feed additive (replacement of 4.5% of the total feed), fermented by four LAB species with antibacterial and lipase activity (HiLAB), was evaluated. The experimental fish (approximate weight of 14-15 g) were reared in six tanks (50 fish/tank) for four weeks. The specific growth rate (SGR) of the control group (CONT) was 0.52%, whereas it was 0.56% in the experimental group (EXP). Thus, SGR in EXP was slightly higher (0.04 %p) than that of CONT, but without significance ($p < 0.05$). Four weeks later, the species distribution of LAB in the gut of EXP was established, which was as follows (in a descending order): *L. lactis* (61.8%), *E. faecium* (32.1%), *L. mesenteroides* (4.6%), *L. brevis* (0.9%), and *L. plantarum* (0.6%). The body fat of EXP masu salmon was higher than that of CONT, with contents of UFA and SFA of 0.98 and 1.35 ug/g, respectively. Furthermore, EXP had higher ω -3 (ALA, EPA, and DHA), ω -6 (LA and ETA), and ω -9 (OA and EA) fatty acid contents than CONT. These results indicate that feed addition of BSF larvae as a feed additive (replacement of 4.5% of the total feed), fermented by four LAB species with antibacterial and lipase activity could be utilized to promote the development of beneficial intestinal bacteria in fish, which can result in changes in the body fat contents and the distribution of ω -3, ω -6, and ω -9 fatty acids.

Keywords : Black Soldier Fly, Lactic Acid Bacteria, Microbiome, Fish Feed, Masu Salmon

본 연구는 농림축산식품부의 재원으로 농림식품기술기획평가원의 유용농생명자원산업화기술개발사업(121047-2)과 기술사업화지원사업(122055-03)의 지원을 받아 연구되었음.

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

email: hongsunmee@mire.re.kr

Received September 22, 2022

Revised October 20, 2022

Accepted January 6, 2023

Published January 31, 2023

1. 서론

최근 양식업과 축산업 사료 연구는 지속 가능한 대체 단백질로 곤충의 이점을 활용하여 안전성 확보, 장기적 저장과 유통, 사료계수, 면역 강화, 기타 영양성분의 활용 등에 집중되고 있다[1-5]. 사료로 사용되는 주요 곤충류는 일반 집파리 유충, 누에, 갈색거저리, 메뚜기, 흰개미가 있고, 최근에는 음식물쓰레기를 먹이로 하는 동애등에(*Black soldier fly*; *Hermetia illucens*)가 주목받고 있다[6]. 동애등에는 40% 이상의 단백질과 30% 이상의 지질 성분을 함유하고 있어 어류를 포함한 가축의 단백질 대체 원료이다[7,8]. 동애등에 유충의 지방산 조성은 포화지방산(Saturated Fatty Acid; SFA; 59.1%)이 불포화지방산(Unsaturated Fatty Acid; UFA; 37.4%)보다 높고, 포화지방산 중 라우릭산(Lauric acid; C12:0)은 35.72% 이상으로 전체 지방산 중 가장 높다[9,10] 라우릭산은 탄소수 6~12개로 구성된 중쇄지방산(medium chain fatty acid, MCFA)의 종류로 항균성이 있어 천연 항생제로 사용될 수 있어 주목받고 있다[11,12].

지방산은 탄소분자의 이중결합 여부에 따라 포화지방산(SFA)과 불포화지방산(UFA)으로 나누며, UFA는 이중결합수에 따라 단일불포화지방산(mono-unsaturated fatty acid; MUFA)와 두 개 이상의 다가불포화지방산(poly-unsaturated fatty acid; PUFA)로 분류한다. 지방의 질적으로는 MUFA와 PUFA는 좋은 지방(Good Fat)으로 SFA는 나쁜 지방(Bad Fat)으로 분류한다. 건강을 위한 지방 섭취는 MUFA와 PUFA의 양, omega-3(ω -3), omega-6(ω -6)의 비율이 중요함을 강조하고 있다[13].

유기물(분뇨, 음식물 등)의 분해자로써의 동애등에는 미생물에 의한 바이오공정(bioconversion)법을 적용해 유해 물질의 전환, 성분의 저분자화, 알리지 저감 등으로 안전성과 기능을 높이고 있다[14,15]. 유산균을 이용한 바이오컨버전 기술은 천연 항균 물질을 생산하고, 자체 분해 효소로 아미노산, 펩타이드, 지방, 탄수화물 등을 분해할 수 있다[16,17]. 또한 장내에서 아세트산, 프로피온산, 부티르산과 같은 단쇄 지방산(Short Chain Fatty Acids; SCFA)을 생산한다[18]. 이들은 장내 미생물 조절, pH, 세포 증식, 장 상피세포의 영양소로 작용하여 과민성 대장 증후군, 장염 개선, 비만과 심혈관 질환 감소 기능을 가진다[19,20].

산천어(*Oncorhynchus masou*; masou salmon)는 우리나라 대표적 민물고기로 연어과(Salmonidae)에 속

하는 냉수성 어종이다. 경상북도 민물고기연구센터(울진)는 산천어 치어를 양식하여 8~9월에 경북 왕피천 상류와 강원도 하천에 방류하여 건강한 산천어를 보존·육종한다. 산천어는 필수아미노산(트레오닌, 발린, 메티오닌, 이소루신, 루신, 페닐알라닌, 라이신, 알기닌, 히스티딘), 비타민C(600 ug/100g), 비타민E(200 ug/100g)과 올레산(oleic acid; C18:1) 등의 불포화 지방산이 풍부한 양식 어종이다[21].

본 연구에서는 경상북도 동해안 해수에서 분리한 항어병 유산균 4종과 동애등에를 바이오공정하여, 산천어 미성어 사료로 4.5%의 동애등에 유산균 발효물을 첨가하여 일간성장률, 장내 미생물 분포 및 산천어 체지방 변화 등을 조사하여 양식 어류의 사료첨가제로서의 유효성을 확인하였다.

2. 재료 및 방법

2.1 동애등에 유산균 발효물 제조

동애등에(*Hermetia illucens*; Hi)는 마이크로웨이브로 12~24 시간 건조 후, 7~8%로 착유한 분말을 시그널케어(경상북도, 청도군)에서 구입하여(2021. 04) -20℃ 보관하고 실험에 사용하였다. 유산균 접종을 위한 배지는 멸균 증류수에 분말 5%(w/v)을 넣고 121℃에서 15분간 멸균하여 준비하였다. 또한, 유산균은 환동해산업연구원(경상북도, 울진군)에서 분리하여 한국미생물보존센터에 기탁한 *Lactococcus lactis*_MIRE P1(L; KCCM13066P)과 *Leuconostoc mesenteroides*_MIRE TS01(Lm; KCCM13067P), *Lactobacillus plantarum*_MIRE TS55(Lp; KCCM13068P)과 *Lactobacillus brevis*_MIRE TS66(Lb; KCCM13069P) 4종을 사용하였다. 4종은 한국미생물보존센터에서 분양받은 비브리오균 1종(*Listonella anguillarum* KCTC 2711), 연쇄구균 2종(*Streptococcus parauberis* KCTC 3651, *Streptococcus iniae* KCTC 3657)의 총 3종에 대해 agar well disc diffusion 법으로 항균활성[1]과 1% 트리뷰티린(tributylin, MB cell, KOREA)이 포함된 LB agar plate로 리파아제 활성을 측정하였다[22; data not shown]. 항균활성과 효소활성이 확인된 유산균주 4종을 대상으로 동애등에 추출물의 생균수를 확인하였다(data not shown). 확인된 각 균주를 혼합하여 1×10^8 cfu/mL 농도로 1% 공접종하고 30 ± 1 ℃에서 24시간 동안 공배양하여 동애등에 유산균 발효물(HiLAB)을 제

조하고 액상 또는 동결건조하여 사료첨가물로 사용하였다. 이때 탄소원인 2% Galactose와 질소원인 0.5% yeast extract는 멸균 후 사용하였다(Sigma, USA).

2.2 산천어 사료 제조 및 성분 분석

산천어 미성어 사료는 국립수산물연구원 사료연구센터(경상북도, 포항)에서 대조 사료(4.5% 대두분)와 실험 사료(4.5% HiLAB)를 제조하였고(Table 1), 성분분석도 시행하였다. 제조 사료 20 g에 20 메시의 정제 해사(sea sand) 40 g을 혼합하고 105 °C의 오븐에서 5시간 건조하여, 상압가열 건조법으로 수분량(건조 후 사료 무게/건조 전 사료무게) x 100), 550 °C에서 3시간 건조하는 직접회화법을 이용하여 조회분 함량, 자동조단백질 분석기(Auto kjeldahl system; Bunchi, Switerland)를 이용한 질소 정량법으로 조단백질 함량, 에테르(ether) 추출법에 따라 조지방 함량을 측정하였다. 조섬유 함량은 AOAC 공정법으로 분석하였다[23].

Table 1. Feed composition for immature masu salmon (*O. masou*) used this study.

CONTENTS	CONT	EXP
LT fishmeal(Denmark)	40.00	40.00
Soybean meal	4.50	-
Hi_LAB	-	4.50
Wheat gluten	12.00	12.00
Tankage meal	12.00	12.00
Starch	6.70	7.20
Wheat flour	9.00	9.00
Vitamin Mix	1.00	1.00
Mineral Mix	1.00	1.00
Vitamin C	0.20	0.20
Vitamin E	0.10	0.10
MCP	0.50	0.50
Choline	2.50	2.50
Taurine	0.50	0.50
Fish oil	10.00	9.50
Total	100.00	100.00

* CONT, control feed; EXP, experimental feed.

2.3 시험어류 및 설계

실험어는 경상북도 민물고기연구센터(울진)에서 사육하는 산천어 치어(평균 약 14~15 g) 300마리를 사용하였다. 산천어 각 50마리는 사각 수조(1.0 ton) 6개에서 수돗물을 공급하는 순환여과식 시스템으로 평균 수온은

20~21 °C 이고, 공기발생기(aeration)를 설치하여 충분한 용존산소를 유지하며 광주기는 형광등을 이용하여 12L:12D 조건으로 유지되었다. 앞서 제조한 대조와 실험사료는 각 3개 수조에(150마리; 50마리/수조) 각각 하루에 두 번씩 총 4 주간 공급하였다(2021.08.13.~2021.09.12.).

2.4 산천어 성장

산천어는 실험 시작 전 전장(full-length) 체중(weight)을 측정하였고, 실험기간 중에는 1주 간격으로 4주 동안 측정하였다. 체중은 전자저울을 이용하여 소수 셋째 자리단위까지 측정하였다. 증가된 체중과 체중을 이용하여 아래 Eq. (1)의 일간 성장률(Specific growth rate, SGR; %)을 계산하였다. 수집된 데이터는 IBM SPSS Statistics software(ver. 28, IBM CO. NY USA)를 이용하였다. 대조군과 실험군의 두 사료 급이에 따른 성장률의 차이는 T-검정으로 분석하였으며, 통계적 유의성은 $p < 0.05$ 수준에서 검정하였다.

$$\text{SGR (\%/day)} = \{(\ln \text{ final fish average weight (g)} - \ln \text{ initial fish average weight (g)}) \div \text{experimental period (day)}\} \times 100 \quad (1)$$

2.5 산천어 장내 미생물 분포 분석

산천어는 급이 4주째에 대조군과 실험군 수조에서 각 12마리(수조당 4마리)를 임의로 선택한 후 배설물과 장 내용물을 제거하고 장 점액만을 모아 MRS broth (Gibco, USA)에서 2일간 37 °C 배양 후, 원심분리로 세균을 농축하였다. 농축된 박테리아의 genomic DNA를 추출하고(QIAamp DNA mini Kit; Qiagen USA), 5 ng/ul 로 정량 후 16s metagenomic sequencing library preparation (Illumina Inc, USA)로 라이브러리를 제작했다. 세균의 16s rDNA를 Bakt_341F (5'-CCTACGGGNGGCWGCAG-3')와 Bakt_805R (5'-GACTAC HVGGGTATCTAATCC-3')로 PCR(2x KAPA Hifi Hot start ready Mix, KAPA Bio, UK)을 수행하여 V10V2 (340-370 bp), V3-V4(440-460 bp) 사이즈에 따라 구분하고 Illumina MiSeq를 사용해 식품의약품안전처(<https://www.foodsafetykorea.go.kr/foodcode/>)에 고시된 유익 유산균주 19종을 대상으로 조사하였다.

2.6 산천어 지방산 분석

산천어는 급이 4주째에 대조군과 실험군 수조에서 각 12마리(수조당 4마리)를 임의로 선택한 후 내장을 제거하고 육질만을 모아 0.5 N 메탄올성 수산화나트륨(NaOH) 용액으로 30초간 처리하고, 14% 메탄올성 트리플루오로보란(trifluoroborane) 용액을 더해 가열하여 에스테르화(esterification) 하였다. 생성된 지방산 에스테르를 이소옥탄(iso-octane; C₈H₁₈; Sigma, USA)에 녹여 Gas chromatography (US/HP 6890, Agilent Technology, Youido, Korea)로 분석하였다. 표준 용액은 운데카노익산(Undecanoic acid; C₁₁H₂₂O₂; Sigma, USA)을 사용하고, GC 조건은 silica capillary column(Omegawas 205, 0.25 um)에 주입 온도는 225 ℃로 검출기는 285 ℃를 유지하였다. 컬럼 온도는 100 ℃에서 250 ℃까지 상승해서 15분간 유지하였다. 위의 과정을 2회 반복하여 지방산 함량을 분석하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1 동애등에 발효물의 유산균 성장 특성

동해안 해수(경북, 영덕) 유래 80종의 유산균에 대해 페이퍼 디스크법으로 비브리오균 1종과 연쇄구균 2종에 대한 항균기능을 스크리닝하여(data not shown), 항균 활성이 높은 4종의 균주를 선발하였다. 선발된 Ll(KCCM13066P), Lm(KCCM13067P), Lp(KCCM13068P)와 Lb(KCCM13069P) 4종을 대상으로 트리뷰티린의 분해 기능을 조사한 결과 Lp만이 활성환이 확인되어 리파아제 생성 기능이 있음을 확인하였다(data not shown). 동애등에 추출물의 유산균 배양 최적 조건을 확인하기 위해, 5% 동애등에 분말을 더한 추출물에 4종의 Ll(KCCM13066P), Lm(KCCM13067P), Lp(KCCM13068P)와 Lb(KCCM13069P)를 1%(1x10⁸ cfu/mL; 1.00E+08)씩 접종하여 30 ℃에서 24 시간 동안 배양한 후, 각각 8.00x10⁹ cfu/mL (8.00E+9)와 1.00x10¹¹ cfu/mL(1.00E+11), 3.00x10¹¹ cfu/mL (3.00E+11)와 3.70x10⁸ cfu/mL (3.70E+08) 이상의 생균수가 관찰되었다(Fig. 1). 이는 MRS 배지에서의 6.26x10⁹ cfu/mL (6.26E+9)와 1.20x10¹¹ cfu/mL (1.20E+11), 2.80x10¹¹ cfu/mL (2.80E+11)와 1.90x10¹¹ cfu/mL(1.90E+11) 생균수가 거의 유사하여 5%의 동애등에 추출물은 유산균 성장에 필요한 성분이 포함된 배지임을 확인하였다. 항균 및 효소 활성 증폭을 위해 4종을 각각 0.25% (1x10⁸ cfu/mL; 1.00E+08)씩 접종하여 공배양한 경우 동애등

에 추출물 배지에서 1.20x10¹⁰ cfu/mL (1.20E+10), MRS 배지에서는 2.40x10¹¹ cfu/mL (2.40E+11)이었다(Fig. 1).

다음으로 유산균 성장의 효과를 높이기 위해 탄소원으로 단당류인 2% galactose를 넣어 유산균 성장을 조사한 결과(Fig. 1), 단일 배양과 공배양 모두에서 성장 효과가 확인되었다. 특히, Lm(KCCM13067P)은 1.50x 10¹⁴ cfu/mL(1.50E+14)로 가장 생균수가 많았고, 4종 공배양의 경우도 1.40x10¹³ cfu/mL (1.40E+13) 으로 100~1,000 배 효과가 확인되었다. 동애등에 성분은 40~43% 조단백질, 30~35% 조지방, 8~9% 조탄수화물로 구성되며[6,7], 탄수화물 비율이 단백질과 지방에 비해 상대적으로 낮아 탄소원으로써의 galactose의 첨가가 유산균 성장 효과를 높이는 역할을 하는 것으로 생각된다. 질소원으로 0.5% yeast extract만을 넣어 생균수를 조사한 결과, 유의성있는 성장 효과는 없었지만(data not shown) 이전 결과에서 항균 기능에 영향을 주어 첨가하였다[1].

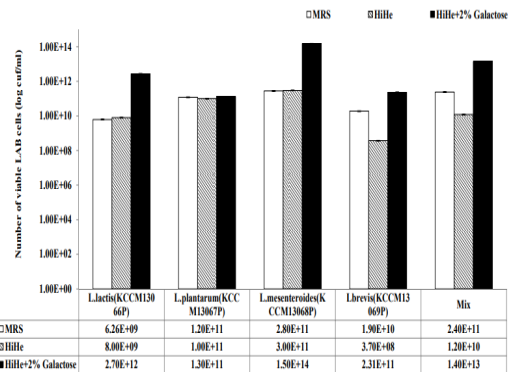


Fig. 1. Viable cells of Ll(KCCM13066P), Lm(KCCM13067P), Lp(KCCM13068P), Lb(KCCM13069P) and co-culture by adding 2% galactose.

유산균 성장 결과를 종합하여, 5% 동애등에 추출물에 2% galactose와 0.5% yeast extract를 더하여 121 ℃에서 15분간 멸균한 추출물에 Ll(KCCM13066P), Lm(KCCM13067P), Lp(KCCM13068P)와 Lb(KCCM13069P) 4종을 (1x10⁸ cfu/mL; 1.00E+08)를 각 0.25%(전체 1%)를 공접종하여 30 ℃에서 24시간 동안 배양한 배양물(HiLAB)을 산천어 사료 첨가물로 준비하였다. 사료의 제조 전에 HiLAB은 건조필름법(3M petrifilm, USA)을 이용하여 유해 기타 미생물의 존재를 확인한 결과 유산균 이외는 확인되지 않았다(data not shown).

3.2 산천어 사료 일반성분 및 성장 효능

국립수산과학원 사료연구센터(경상북도, 포항)에서 제조(Table 1)한 대조 사료(4.5% 대두분 함유)는 수분 2.86%, 조단백질 52.67%, 조지방 17.21%, 조회분 10.13%, 조탄수화물 0.13%이며 열량은 5.245 cal/g이었다(Table 2). 실험 사료(4.5% HiLAB)는 수분 2.45%, 조단백질 52.48%, 조지방 16.93%, 조회분 10.67%, 조탄수화물 0.20%이며 열량은 5.229 cal/g으로 대조군과 크게 차이가 없었다(Table 2). 제조된 사료의 기타 유해 미생물에 대한 안전성은 건조필름법(3M petrifilm, USA)으로 확인되었으며(data not shown), 실험 사료 내 유산균을 16s DNA 시퀀스로 확인한 결과, 접종된 유산균 4종 중 *Lm*(KCCCM13067P)이 우점종이었다(90%; data not shown).

Table 2. Analyzed composition of manufactured feed for immature masu salmon (*O. masou*) used this study.

Item	CONT	EXP
Moisture (%)	2.86	2.45
Crude Protein (%)	52.67	52.48
Crude Lipid (%)	17.21	16.93
Crude Ash (%)	10.13	10.67
Crude Fiber (%)	0.13	0.20
Energy (cal/g)	5.245	5.229

* CONT, control feed; EXP, experimental feed.

제조한 대조군과 실험군 사료는 4주간 급이하고, 급이 시작(0주) 후 4주차에 산천어 미성어 각 150마리에 대한 일간성장률(SGP; %/day)을 분석하였다(Fig. 2). 대조군은 0.52 %/day, 실험군은 0.56 %/day로, 실험군이 대조군에 비해 1일에 0.04 %p 정도 더 성장하는 것으로 나타났다. 4주간의 급이 실험의 기간의 짧아 그 유효성이 높지는 않고 유의성($p < 0.5$)이 적어 성장 효과를 위해 실험은 장기간 급이실험이 필요할 것으로 사료된다. 육계와 무지개송어의 동애등에 첨가물 사료 급이 연구[4,5]는 어분 대체로의 가능성을 인정되었지만 성장률이 없거나(육계) 0.02 %/day(무지개송어)로 조사되었다. 동애등에 유산균 발효물 첨가물 급이에 대한 산천어 성장에 유의성 확인은 실험 기간의 조정이 영향할 것으로 생각된다[4,5]. 본 연구에서 제조한 대조군과 실험군 사료 급이에 있어 두 그룹 모두 폐사율은 없었다(data not shown).

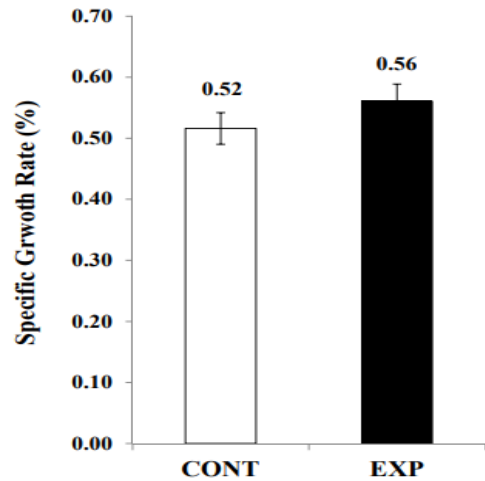


Fig. 2. The specific growth rate (SGR, %/day) for immature masu salmon (*O. masou*) fed diets during 4 weeks. CONT, control feed; EXP, experimental feed.

3.3 산천어 장내 미생물 분석

대조 사료와 실험 사료 급이 4주 후, 산천어 미성어 각각 12마리를 대상으로 장내 미생물을 조사하였다(Table 3). 식품의약품안전처에서 고시한 유익균 균주 19종 (<https://www.foodsafetykorea.go.kr/foodcode/>; 2020.10; 별표1-2~4)과 사료에 접종된 비고시균 *Leuconostoc mesenteroides*, *Lactobacillus brevis* 를 더해 전체 21종을 대상으로 조사하였다.

급이 4주차의 대조군 산천어 장에서는 21종 유산균 모두 확인되지 않았고, 실험군 산천어 장에서는 19종 중 5종의 유산균이 확인되었다(Table 3). 특히 HiLAB 사료 첨가물에 사용된 종인 *Lactococcus lactis*는 61.8%로 우점종으로 확인되었고, 접종하지 않은 *Enterococcus faecium*이 32.1%로 두 번째로 많아 2종의 합이 93.9%였다. 나머지 3종은 *Leuconostoc mesenteroides* 4.6%, *Lactobacillus brevis* 0.9%, *Lactobacillus plantarum* 0.6%로 확인되었다. 대조군에 존재하지 않는 유산균이 실험군의 산천어 장내에서 관찰된 것은 동애등에 유산균 발효물(HiLAB) 4.5% 첨가가 장내 유익균 증진 효과에 대한 가능성을 제시한다. 4주간의 짧은 급이 실험으로의 산천어 장내 유산균의 변화 유도는 지속적인 급이로 어류의 활동과 성장과 장내 유효물질 생산을 유도할 수 있을 것으로 생각된다.

Table 3. Distribution of Lactic Acid Bacteria (LAB) in intestine of immature masu salmon (*O. masou*) fed diets after 4 weeks.

	Item	Intestinal Bacteria (%)	
	LAB strain	CONT	EXP
Announce strains	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	-	-
	<i>Lactobacillus casei</i>	-	-
	<i>Lactobacillus gasseri</i>	-	-
	<i>Lactobacillus delbrueckii</i>	-	-
	<i>Lactobacillus helveticus</i>	-	-
	<i>Lactobacillus fermentum</i>	-	-
	<i>Lactobacillus paracasei</i>	-	-
	<i>Lactobacillus plantarum</i>	-	0.6
	<i>Lactobacillus reuteri</i>	-	-
	<i>Lactobacillus rhamnosus</i>	-	-
	<i>Lactobacillus salivarius</i>	-	-
	<i>Lactococcus lactis</i>	-	61.8
	<i>Enterococcus faecium</i>	-	32.1
	<i>Enterococcus faecalis</i>	-	-
	<i>Streptococcus thermophilus</i>	-	-
	<i>Bifidobacterium bifidum</i>	-	-
<i>Bifidobacterium breve</i>	-	-	
<i>Bifidobacterium longum</i>	-	-	
<i>Bifidobacterium animalis</i>	-	-	
Non-Announce strains	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	-	4.6
	<i>Lactobacillus brevis</i>	-	0.9
	Total (%)	0	99.875

* CONT, control feed; EXP, experimental feed.

3.4 산천어 지방산 변화

Table 4는 급이 4주 후, 장을 제거한 산천어의 지방산 함량 분석 결과이다. 대조군과 실험군의 산천어에서 18개의 지방산이 확인되었고, 팔미트산(palmitic acid; C16)과 올레산(oleic acid; C18:1)이 높은 함량으로 나타났다[21]. 팔미트산(palmitic acid; C16)은 대조군 18.88 ug/g, 올레산은 실험군에서 22.31 ug/g으로 더 높은 함량으로 측정되었다. 포화지방산은 대조군이 28.49 ug/g, 실험군이 22.82 ug/g이고, 불포화지방산의 MUFA는 대조군이 22.57 ug/g, 실험군이 24.61 ug/g이며, PUFA는 대조군 5.47 ug/g, 실험군 6.11 ug/g으로 실험군이 더 높게 측정되었다. 결과적으로 HiLAB이 포함된 사료 급이에 따라 산천어 육질내의 불포화지방산 함량 증가 효과는 이전의 동태등에 분말을 육계사료로 첨가했을 때 계란의 불포화지방산이 증가한

다는 결과와 일치한다[4]. Choi 등[4]은 동태등에 육계 사료 3%와 6%의 5주간 급여 실험은 포화지방산과 불포화지방산 함량비(UFA/SFA)가 톱밥을 더한 대조군에 비해 각각 0.19%와 0.15% 증가한다는 보고했다. 동태등에 유산균 발효물의 산천어 4주간 급여 결과는 0.37%의 증가를 보여, 불포화지방산 함량을 증가시키는 효과가 있음을 시사한다. 물론 육계(broiler; 조류)와 산천어(어류)로 종의 차이가 있지만 두 결과로 동태등에 사료 첨가물의 불포화지방산 증가 효과에 대한 가능성을 보인다. 또 HiLAB의 효과는 산천어 장내에 존재하는 단쇄 및 중쇄 지방산 생산 기능의 유산균의 부가도 기인한 것으로 생각된다[18].

Table 4. Fatty acid profile of immature masu salmon (*O. masou*) fed diets after 4 weeks.

	Free Fatty Acids (ug/g muscle)	<i>O. masou</i>	
		CONT	EXP
C14	Myristic acid	2.47±0.01	2.52±0.10
C16	Palmitic acid	18.88±0.44	15.18±0.36
C18	Stearic acid	6.18±0.15	4.99±0.12
C20:0	Eicosanoic acid	0.31±0.00	0.39±0.01
C22:0	Behenic acid	0.57±0.01	0.56±0.01
C24:0	Lignoceric acid	0.08±0.00	0.09±0.00
	SFA	28.49	22.82
C14:1	Myristoleic acid	0.37±0.01	0.45±0.01
C16:1	Palmitoleic acid	0.63±0.09	0.98±0.09
C18:1	Oleic acid	20.76±0.47	22.31±0.49
C18:2	Linoleic acid	2.91±0.07	3.14±0.07
C18:3	α -Linolenic acid	1.48±0.03	1.59±0.03
C20:3	Eicosatrienoic acid	0.02±0.00	0.03±0.00
C20:5	Eicosapentaenoic acid	0.38±0.01	0.44±0.01
C22:1	Erucic acid	0.30±0.01	0.34±0.01
C22:6	Docosahexaenoic acid	0.56±0.00	0.82±0.01
C20:4	Arachidonic acid	0.12±0.00	0.12±0.00
C20:1	Gadoleic acid	0.34±0.01	0.28±0.01
C24:1	Nervonic acid	0.16±0.00	0.14±0.00
	MUFA	22.57	24.61
	PUFA	5.47	6.11
	UFA/SFA	0.98	1.35

* CONT, control feed; EXP, experimental feed; SFA, saturated fatty acid; MUFA, mono-unsaturated fatty acid; PUFA, poly-unsaturated acid; UFA, unsaturated fatty acid.

산천어는 항염증 기능의 오메가3(ω -3)인 알파 리놀렌산(α -linolenic acid; ALA; C18:3), 에이코사펜타엔산

(eicosapentaenoic acid; EPA; C10:5), 도코사헥사엔산(docosahexaenoic acid; DHA; C22:6)이 풍부하여 종으로 알려져 있다[22]. HiLAB이 첨가된 사료 급이 군에서는 ω -3의 3종 모두 증가되었고, 또한 ω -6인 리놀렌산(linoleic acid; C18:2)과 에이코사펜타엔산(eicosapentaenoic acid; C20:5) 함량과 ω -9인 올레산(oleic acid; C18:1)과 에루스산(erucic acid; C22:1) 함량 역시 실험군이 대조군보다 높게 측정되었다. HiLAB 사료첨가물 급이는 오메가3, 6, 및 9의 불포화지방산 함량을 높이는 결과를 보였다(Table 4). 최 등[4]의 동애등에 분말의 육계(6%) 사료첨가물 실험이 불포화지방산 올레산과 포화지방산 팔미트산 함량만이 증가된 것에 비해 본 연구의 HiLAB 사료첨가물은 아라키돈산(Arachidonic acid; C20:4), 가돌레산(Gadoleic acid; C20:1)과 넬본산(nervonic acid; C24:1) 외의 9개의 불포화지방산 함량이 증가되었다. 이에 동애등에 유산균 발효물(HiLAB)의 첨가는 연어과인 산천어의 장내 유익균 증가 효과와 함께 성장 촉진과 체지방 중 불포화지방산의 증가를 유도하는 효과가 있는 것으로 사료된다.

4. 결론

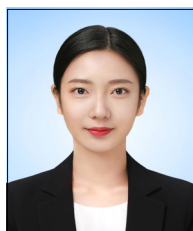
본 연구는 산천어 사료첨가물로서 동애등에 유산균 발효물의 어류 성장, 장내 유익균 증가 및 체지방 개선에 대한 효능 결과를 제시하였다. 4.5%의 동애등에 유산균 발효물(HiLAB)이 첨가된 산천어 사료는 유의성은 없었지만($p < 0.05$) 어류의 일간성장률의 미비한 증가가 확인되어 향후 장기간 급이 실험으로 성장 증가의 가능성을 제시하였다. 4주 급이 후의 산천어 장내 미생물 분석은 HiLAB이 첨가된 실험군 장에서는 대조군에서 확인되지 않은 5종의 유산균이 관찰되어 어류 장내에서 유익균 증가도 확인되었다. 또한 체지방 분석은 실험군 산천어의 불포화지방산인 MUFA와 PUFA 모두 높았고, 이는 포화지방산에 대한 불포화지방산비율에 있어 대조군이 0.98 ug/g, 실험군이 1.35 ug/g으로 확인되어 HiLAB 급이가 산천어의 체지방의 변화의 영향을 줄 수 있음을 시사하였다. 결과적으로 동애등에 유산균 발효물(4.5%) 첨가는 단기간의 급이 실험으로 성장 영향은 미비하였지만 장내 유익균 증가와 체지방 개선 등의 효과에 유효함을 확인하였다. 이는 향후 사료첨가물로서의 동애등에 연구에 있어 다양한 어종과 가축과 반려동물 확대 적용에 기초적 자료로 활용될 수 있을 것으로 사료된다.

References

- [1] H. S. Jo, M. E. Park, S. M. Hong, "Effect of Dietary supplementation of fermented mealworm on the growth of juvenile stone flounder", *Journal of the Korea Academia-Industrial cooperation Society*, Vol.22, No.4, pp.312-320, Apr. 2021. DOI: <https://doi.org/10.5762/KAIS.2021.22.4.312>
- [2] K. Digiacomo, B. J. Leury, "Review: Insect meal: a future source of protein feed for pigs?", *Animal*, Vol.13, No.12, pp.3022-3030, Dec. 2019. DOI: <https://doi.org/10.1017/S1751731119001873>
- [3] T. Stadlander, A. Stamer, A. Buser, J. Wohlfahrt, F. Leiber, "Hermetia illucens meal as fish meal replacement for rainbow trout on farm", *Journal of Insects as Food and Feed*, Vol.3, No.3, pp.165-175, Sep. 2017. DOI: <https://doi.org/10.3920/jiff2016.0056>
- [4] Y. C. Choi, K. H. Park, S. H. Nam, B. G. Jang, J. H. Kim, "The Effect on Growth Performance of Chicken Meat in Broiler Chicks by Dietary Supplementation of Black Soldier Fly Larvae, Hermetia illucens (Diptera : Stratmyidae)", *Journal of Sericultural and Entomological Science*, Vol.51, No.1, pp.30-35, Apr. 2013. DOI: <https://doi.org/10.7852/jses.2013.51.1.30>
- [5] K. H. Park, Y. C. Choi, S. H. Nam, S. H. Kim, S. Y. Kim, "Nutritional value of black soldier fly, Hermetia illucens (Diptera: Stratiomyidae) as a feed supplement for fish", *Journal of Sericultural and Entomological Science*, Vol.51, No.2, pp.95-98, Nov. 2013. DOI: <https://doi.org/10.7852/jses.2013.51.2.95>
- [6] J. G. Kim, Y. C. Choi, J. Y. Choi, W. T. Kim, G. S. Jeong, "Ecology of the black soldier fly, Hermetia illucens (Diptera: Statmyidae) in Korea", *Korean journal of applied entomology*, Vol.47, No.4, pp.337-343, Dec. 2008. DOI: <https://doi.org/10.5656/KSAE.2008.47.4.337>
- [7] S. StHilaire, C. Sheppard, J. K. Tomberlin, S. Irving, L. Newton, "Fly prepupae as a feedstuff for rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*", *Journal of the world aquaculture society*, Vol.38, No.1, pp.59-67, Mar. 2007. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1749-7345.2006.00073.x>
- [8] S. Diener, C. Zurbrugg, K. Tockner, "Conversion of organic material by black soldier fly larvae: establishing optimal feeding rates", *Waste Management & Research*, Vol.27, No.6, pp.603-610, Jun. 2009. DOI: <https://doi.org/10.1177/0734242X09103838>
- [9] T. Stadlander, A. Stamer, A. Buser, J. Wohlfahrt, F. Leiber, "Hermetia illucens meal as fish meal replacement for rainbow trout on farm", *Journal of Insects as Food and Feed*, Vol.3, No.3, pp.165-175, Sep. 2017. DOI: <https://doi.org/10.3920/jiff2016.0056>
- [10] N. Ewald, A. Vidakovic, M. Langeland, A. Kiessling, S. Sampels, "Fatty acid composition of black soldier fly larvae (*Hermetia illucens*) - Possibilities and limitations for modification through diet", *Waste Management*, Vol.102, No.1, pp.40-47, Feb. 2020.

- DOI: <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2019.10.014>
- [11] J. O. Zeitz, J. Fennhoff, H. Kluge, G. I. Stangl, K. Eder, "Effects of dietary fats rich in lauric and myristic acid on performance, intestinal morphology, gut microbes, and meat quality in broilers", *Poultry Science*, Vol.94, No.10, pp.2404-2413, Oct. 2015.
DOI: <https://doi.org/10.3382/ps/pev191>
- [12] B. H Kim, H. T. Bang, J. Y. Jeong, M. J. Kim, K. H. Kim, "Effects of black soldier fly larvae (*Hermetia illucens*) oil on cecal microbiota in broilers", *Korean Journal of Agricultural Science*, Vol.47, No.2, pp.219-227, Apr. 2020.
DOI: <https://doi.org/10.7744/kjoas.20200012>
- [13] Y. R. Lee. "Choosing Healthy Fats", *J korean Diabetes*, Vol.16, No.3, pp.205-211, Sep. 2015.
DOI: <http://dx.doi.org/10.4093/jkd.2015.16.3.205>
- [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, Jan. 2009.
DOI: <https://dx.doi.org/10.5352/JLS.2009.19.1.087>
- [15] 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, Jul. 2015.
DOI: <https://doi.org/10.1080/23308249.2015.1052365>
- [16] J. A. Reis, A. T. Paula, S. N. Casarotti, A. L. B. Penna. "Lactic Acid Bacteria Antimicrobial Compounds: Characteristics and Applications", *Food Engineering Reviews*. Vol.4, No.2, pp.124-140, Apr. 2012.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s12393-012-9051-2>
- [17] M. Liu, J. R. Bayjanov, B Renckens, A. Nauta, R. J. Siezen. "The proteolytic system of lactic acid bacteria revisited: a genomic comparison", *BMC Genomics*. Vol.11, No.36, pp.36-51, Jan. 2010.
DOI: <https://doi.org/10.1186/1471-2164-11-36>
- [18] M. K Paulina, S. Katarzyna. "The Effect of Probiotics on the Production of Short-Chain Fatty Acids by Human Intestinal Microbiome", *Nutrients* Vol.12, No.4, pp.1107, Apr. 2020.
DOI: <https://doi.org/10.3390/nu12041107>
- [19] 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, Sep. 2018.
DOI: <https://doi.org/10.1186/s12866-018-1260-2>
- [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, Aug. 2020.
DOI: <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12613>
- [21] H. T. Oh, S. H. Kim, S. J. Yoo, H. J. Choi, M. J. Chung, "Component Analysis of Masou salmon (*Oncorhynchus masou*)", *Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition*, Vol.37, No.7, pp.886-890, Jul. 2008.
DOI: <https://doi.org/10.3746/jkfn.2008.37.7.886>
- [22] A. Dellali, H. A. Karam, N. E. Karam. "Lipase and esterase activities of lactic acid bacteria isolated from different biotopes", *African Journal of Biotechnology*. Vol.19, No.4, pp.156-164, Mar. 2020.
DOI: <http://www.doi.org/10.5897/AJB2020.17106>
- [23] N. Thiex, "Evaluation of Analytical Methods for the Determination of Moisture, Crude Protein, Crude Fat, and Crude Fiber in Distillers Dried Grains with Solubles", *Journal of AOAC international*, Vol.92, No.1, pp.61-73, Oct. 2009.
DOI: <https://doi.org/10.1093/jaoac/92.1.61>

조 현 솔(Hyun Sol Jo) [정회원]



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

<관심분야>
미생물생명공학, 포스트바이오틱스, 산업곤충

박 무 역(Moo Eog Park) [정회원]



- 1994년 2월 : 제주대학교 대학원 수산생물학과 (이학석사)
- 2000년 8월 : 제주대학교 대학원 수산생물학과 (이학박사)
- 1998년 10월 ~ 2016년 1월 : 경북 수산자원연구원 지방해양수산연구소
- 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 규슈대학교 농생명과학대학원 PostDoc
- 2010년 1월 ~ 현재 : 환동해산업연구원 책임연구원

<관심분야>

재조합단백질, 생물공학, 해양유산균, 산업곤충