(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2022-0095261
(43) 공개일자 2022년07월07일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A23K 10/20 (2016.01) *A23K 10/22* (2016.01)
A23K 10/30 (2016.01) *A23K 10/40* (2016.01)
A23K 20/147 (2016.01) *A23K 20/158* (2016.01)
A23K 20/163 (2016.01) *A23K 20/174* (2016.01)
A23K 40/10 (2016.01) *A23K 50/80* (2016.01)
(52) CPC특허분류
A23K 10/20 (2016.05)
A23K 10/22 (2016.05)
(21) 출원번호 10-2020-0184599
(22) 출원일자 2020년12월28일
심사청구일자 2020년12월28일

(71) 출원인
세종대학교산학협력단
서울특별시 광진구 능동로 209 (군자동, 세종대학교)
그린테코 주식회사
경기도 화성시 동탄대로 677-12 (영천동) 효성아이씨티타워 612호,613호
(72) 발명자
윤은영
경기도 성남시 분당구 정자로 56 109동 1401호
황두선
경기도 수원시 권선구 매실로 70 101동 1303호
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
이준혁

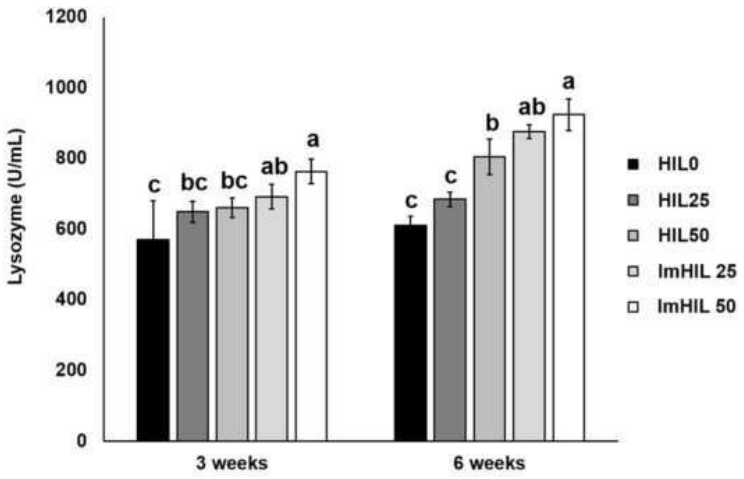
전체 청구항 수 : 총 6 항

(54) 발명의 명칭 **면역유도된 동애등에 분말을 포함한 어류 사료 및 이의 제조방법**

(57) 요 약

본 발명은 면역유도 동애등에 분말이 함유되어 어류의 혈액 내 아스파테이트아미노전이효소(AST)의 함량을 감소시키고, 라이소자임의 활성을 높여 병원체 감염으로부터 방어효능을 향상시키는 어류 사료 및 이의 제조방법에 관한 것이다.

대 표 도 - 도6



(52) CPC특허분류
A23K 10/30 (2016.05)
A23K 10/40 (2021.08)
A23K 20/147 (2016.05)
A23K 20/158 (2016.05)
A23K 20/163 (2016.05)
A23K 20/174 (2016.05)
A23K 40/10 (2016.05)
A23K 50/80 (2016.05)
A23V 2200/324 (2013.01)

(72) 발명자
이상훈
경기도 성남시 분당구 동판교로 155, 702동 1703호
(삼평동, 봇들마을7단지아파트)
김인덕
경기도 군포시 용호2로 51(당동, 쌍용아파트) 101
동 2001호
윤인숙
경기도 성남시 분당구 동판교로 155, 702동 1703호
(삼평동, 봇들마을7단지아파트)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	1545021163
과제번호	318018033HD030
부처명	농림축산식품부
과제관리(전문)기관명	농림식품기술기획평가원
연구사업명	농생명산업기술개발(R&D)
연구과제명	바이오에너지 생산용 유망 곤충종 발굴 및 부산물 이용 양어사료 개발
기 여 율	70/100
과제수행기관명	세종대학교산학협력단
연구기간	2020.01.01 ~ 2020.12.31

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	1545020940
과제번호	318018033SB010
부처명	농림축산식품부
과제관리(전문)기관명	농림식품기술기획평가원
연구사업명	농생명산업기술개발(R&D)
연구과제명	곤충으로부터 지질 대량 자동 추출 시스템 개발 및 산업화
기 여 율	30/100
과제수행기관명	그린테코(주)
연구기간	2020.01.01 ~ 2020.12.31

명 세 서

청구범위

청구항 1

면역유도된 동애등에 분말 20~60중량%를 포함하는 어류 사료.

청구항 2

제 1항에 있어서, 상기 면역유도된 동애등에 분말은 면역유도액 주입 후 12시간 내지 72시간 경과된 동애등에 유충이 분쇄된 것을 특징으로 하는 어류 사료.

청구항 3

제 1항에 있어서, 상기 어류 사료는 면역유도된 동애등에 분말 20~60중량%, 어분 20~60중량%, 어유 5~15중량%, 밀가루 2~15중량%, 전분 2~10중량% 및 미네랄 또는 비타민 혼합물 1~5중량%를 포함하는 것을 특징으로 하는 어류 사료.

청구항 4

제 1항에 있어서, 상기 어류 사료는 단백질 함량 40~50중량%, 지방 10~20중량%, 탄수화물 14~24중량% 및 잔량으로 물을 포함한 기타 성분을 포함하는 것을 특징으로 하는 어류 사료.

청구항 5

제 1항에 있어서, 상기 어류 사료는 면역유도 동애등에 분말이 함유되어 어류의 혈액 내 아스파테이트아미노전이효소(AST)의 함량을 감소시키고, 라이소자임의 활성을 높여 병원체 감염으로부터 방어효능을 향상시키는 것을 특징으로 하는 어류 사료.

청구항 6

면역유도된 동애등에 분말 20~60중량%, 어분, 밀가루, 전분 및 미네랄 또는 비타민 혼합물을 액체 상태인 어유에 혼합하는 단계 ;

물을 넣어 반죽기에서 반죽하는 단계 ;

반죽물을 압착하여 펠릿으로 제형화하는 단계 ;

소정시간 건조하여 소정 크기로 절단하는 단계를 포함하는 어류 사료 제조 방법.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 면역유도된 동애등에 분말을 포함한 어류 사료 및 이의 제조방법에 관한 것으로, 더욱 상세하게는 면역유도 동애등에 분말이 함유되어 어류의 혈액 내 아스파테이트아미노전이효소(AST)의 함량을 감소시키고, 라이소자임의 활성을 높여 병원체 감염으로부터 방어효능을 향상시키는 어류 사료 및 이의 제조방법에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0002] 근래, 양식어류의 생산량은 비약적으로 증가하고 있고, 뿐만 아니라 육상수조식 양식업계를 중심으로 대형화, 기업화가 신속하게 진행되고 있다. 이와 같이 국내 어류 양식은 단위 면적당 생산량이 증가하고 있다.

[0003] 반면, 양식어류의 사육환경은 점차 악화되고 있다. 예를 들면, 양식 사육장에서의 혼합 감염 질병의 연중 발생, 해양 오염의 증가, 사료비 증가, 어가의 하락 등이 양식어류의 사육 환경에 부정적 영향을 미치고 있다. 특히,

양식장에서의 감염 질병의 발생, 해양 오염의 증가, 항생제의 오남용으로 인한 항생제 내성 균주의 출현 등의 문제가 대두되고 있다.

[0004] 최근 항생제 사용에 대한 정부 차원의 규제가 전 세계적으로 강화됨에 따라 항생제를 대체할 수 있는 수단에 대한 관심이 증대하고 있다. 현재 사용되고 있는 대부분의 항생제는 화학적인 합성을 통해 제조된 것으로서 고비용이 소요되며, 환경 오염 및 생체 부작용을 유발하는 등 많은 한계를 가지고 있다.

[0005] 최근 항생제 오남용에 따른 내성균주를 퇴치할 수 있는 새로운 작용기작을 가지는 천연항생제 개발이 모색되고 있다. 동애등에와 같은 곤충은 불량환경에서 오랜 진화의 역사를 통해 자기방어를 위한 강력한 항균물질을 보유하고 있어, 화학항생제를 대체할 수 있는 천연항생제 개발소재로서 매우 우수한 것으로 파악되고 있다

[0006] 한국등록특허 10-1796766호는 락토바실러스 카제이(Lactobacillus casei)의도입으로 면역화된 동애등에 유충에서 분리된 친환경적이고 항균 활성이 우수한 펩타이드 분획물 및 이를 포함하는 항균 조성물을 개시하고 있다.

[0007] 상기 등록특허에서 추출하는 항균성 펩타이드는 면역 유도된 동애등에 유충으로부터 체액을 추출한 후 체액에서 20kDa 또는 22kDa의 펩타이드를 분획(분리)하고, 이를 식품이나 사료에 첨가하고 있으나, 분획되는 펩타이드의 함량이 소량이고, 분리에 시간이 많이 소요되어 면역유도된 유충을 통해 항생제 추출물만을 생산하는 공정은 효율성과 경제성이 낮다는 문제가 있었다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0008] 본 발명은 면역 증강 효과를 제공하면서 대량 생산 가능한 양식어류의 사료를 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

[0009] 본 발명은 면역유도된 동애등에 분말 20~60중량%를 포함하는 어류 사료에 관련된다.

[0010] 본 발명은 면역유도된 동애등에 분말 20~60중량%, 어분, 밀가루, 전분 및 미네랄 또는 비타민 혼합물을 액체 상태인 어유에 혼합하는 단계, 물을 넣어 반죽기에서 반죽하는 단계, 반죽물을 압착하여 소정 형상으로 제형화하는 단계 및 소정시간 건조하여 소정 크기로 절단하는 단계를 포함하는 어류 사료에 관련된다.

발명의 효과

[0011] 본 발명의 양식어류 사료는 면역유도 동애등에 분말이 함유되어 어류의 혈액 내 아스파테이트아미노전이효소(AST)의 함량을 감소시키고, 라이소자임의 활성을 높여 병원체 감염으로부터 방어효능을 향상시킬 수 있다.

[0012] 본 발명은 면역유도 등애동에 유충으로부터 발현된 다양한 펩타이드를 가지는 등애동에 분말을 어류 사료의 단백질원과 천연 항생물질로 사용하므로 항생제 오남용 문제없이 면역 증강 효과를 제공하면서 대량 생산 가능한 양식어류의 사료로 제공할 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0013] 도 1은 면역이 유도된 HIL의 AMP 발현 양상을 측정한 그래프이다.

도 2는 면역이 유도된 HIL 추출물의 HIL 추출물의 radial diffusion assay 결과를 보여준다.

도 3은 실시예와 비교예에서 제조된 동애등에 분말이 포함된 무지개송어용 배합사료의 사진이다.

도 4는 무지개송어의 사육수조 및 시료채취 과정을 촬영한 것이다.

도 5는 무지개송어용 HIL 배합사료를 급여한 무지개송어 혈액 내 IGF-1수치를 비교한 것이다.

도 6은 무지개송어용 HIL 배합사료를 급여한 무지개송어 혈액 내 라이소자임 활성의 처리구간을 비교한 것이다.

도 7은 무지개송어용 HIL 배합사료를 급여한 무지개송어 혈액 내 IgM 함량의 처리구간을 비교한 것이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0014] 이하에서는 첨부한 도면을 참조하여 본 발명을 설명하기로 한다. 그러나 본 발명은 여러 가지 상이한 형태로 구현될 수 있으며, 따라서 여기에서 설명하는 실시예로 한정되는 것은 아니다.

[0015] 어떤 부분이 어떤 구성요소를 "포함"한다고 할 때, 이는 특별히 반대되는 기재가 없는 한 다른 구성요소를 제외하는 것이 아니라 다른 구성요소를 더 구비할 수 있다는 것을 의미한다.

[0016] 본 명세서에 달리 정의되어 있지 않으면, 사용된 모든 기술 및 과학 용어는 당업계에 통상의 기술자가 통상적으로 이해하는 바와 같은 의미를 가진다.

[0017] 본 명세서에 포함되는 용어를 포함하는 다양한 과학적 사전이 잘 알려져 있고, 당업계에서 이용 가능하다. 본 명세서에 설명된 것과 유사 또는 등가인 임의의 방법 및 물질이 본원의 실행 또는 시험에 사용되는 것으로 발견되나, 몇몇 방법 및 물질이 설명되어 있다. 당업자가 사용하는 맥락에 따라, 다양하게 사용될 수 있기 때문에, 특정 방법학, 프로토콜 및 시약으로 본 발명이 제한되는 것은 아니다.

[0018] 이하 본 발명을 더욱 상세히 설명한다.

[0019] 본 발명의 양식어류 사료는 면역유도된 동애등에 분말을 포함한다.

[0020] 상기 면역유도된 동애등에 분말은 면역유도 물질 주입 후 12시간 내지 72시간, 바람직하게는 18~48시간 경과된 동애등에 유충이 분쇄된 분말이다.

[0021] 상기 등애동에 유충은 면역 유도 후 바람직하게는 18~48시간, 24시간 경과시 최대의 항균 펩타이드의 발현을 보여주었다.

[0022] 상기 면역유도 물질은 생체에 독성이 없으면서 면역 능력을 조절(항균 펩타이드 생성)하는 효과를 가지는 물질이 될 수 있다. 예를 들면, 면역 유도 물질은 유산균인 락토바실러스 플란타륨(Lactobacillus plantarum), 락토바실러스 카제이(Lactobacillus casei), 생체반응조절 물질(BRM : Biological Response Modifier)이 될 수 있으며, 구체적으로, AHCC(Active Hexose Correlated Compound), Polysaccarides, Polysaccaride peptides, Nucleosides, Triterpenoids 등이 될 수 있다.

[0023] 상기 어류 사료는 면역유도된 동애등에 분말 20~60중량%, 바람직하게는 40~60중량%, 더욱 바람직하게는 45~55중량%, 어분 20~60중량%, 어유 5~15중량%, 밀가루 2~15중량%, 전분 2~10중량% 및 미네랄 또는 비타민 혼합물 1~5중량%를 포함할 수 있다.

[0024] 상기 면역유도된 동애등에 분말이 40~60중량%인 경우 무지개송어의 면역증강 효과 측면에서 유리하다.

[0025] 상기 어류 사료는 영양 보충제, 소화 및 흡수 향상제 등과 같은 성분을 추가로 포함할 수 있다.

[0026] 상기 어류 사료는 단백질 함량 40~50중량%, 지방 10~20중량%, 탄수화물 14~24중량% 및 잔량으로 물을 포함할 수 있다.

[0027] 상기 어류 사료는 면역유도 동애등에 분말이 함유되어 어류의 혈액 내 아스파테이트아미노전이효소(AST)의 함량을 감소시키고, 라이소자임의 활성을 높여 병원체 감염으로부터 방어효능을 향상시킬 수 있고, 또한 세포에 독성이 유발될 경우 활성을 나타내는 IgM의 수치도 동애등에 분말 첨가시 대조군인 어분 100% 처리구보다 감소되었다.

[0028] 본 발명의 양식어류 사료 제조방법은 면역유도된 동애등에 분말 20~60중량%, 어분, 밀가루, 전분 및 미네랄 또는 비타민 혼합물을 액체 상태인 어유에 혼합하는 단계, 물을 넣어 반죽기에서 반죽하는 단계, 반죽물을 압착하여 펠릿으로 제형화하는 단계 및 소정시간 건조하여 소정 크기로 절단하는 단계를 포함한다.

[0029] 상기 면역유도된 동애등에 분말의 제조는 앞에서 상술한 내용을 참고할 수 있다.

[0030] 상기 혼합단계는 동애등에 분말 20~60중량%, 어분 20~60중량%, 밀가루 2~15중량%, 전분 2~10중량% 및 미네랄 또는 비타민 혼합물 1~5중량%를 어유 5~15중량%에 넣어 혼합할 수 있다.

[0031] 상기 사료는 성분들의 분쇄 정도에 따라 경점성의 조립 또는 과립 물질로 제조될 수 있으며 메쉬로 공급되거나 추가 가공 및 포장을 위해 원하는 분리된 형상으로 형성될 수 있다. 또한, 상기 조성물은 저장을 위해 펠렛화, 팽창화 또는 압출 공정을 거칠 수 있으며, 저장의 용이성을 위해 건조되어 유통될 수도 있다.

[0033] 이하 실시예를 통해, 본 발명을 더욱 상술하나 하기 실시예에 의해 본 발명이 제한되지 아니함은 자명하다.

[0035] **면역유도 아메리카동애등에 유충(*Hermatia illucens* larvae, HIL)의 면역 유도 조건 및 항균활성 검정**

[0036] (1) HIL 체내 다양한 항균펩타이드(antimicrobial peptide, AMP) 최대 발현시기 결정

[0037] 본 연구에서는 면역이 유도된 HIL을 사용하여 어류에 면역을 강화할 수 있는 사료를 개발하고자 종령인 HIL에 다양한 AMP를 유도하였다. 유충의 체강에 유산균인 *Lactobacillus plantarumi* 1×10^{10} CFU/mL를 시침핀으로 찔러 면역을 유도한 후 6, 12, 18, 24, 48, 72시간 경과 후 AMP 발현량을 qRT-PCR을 통하여 확인하였다. 아메리카동애등에의 AMP인 cecropin 1과 defensin의 발현양상을 확인한 결과 2종의 AMP 모두 면역유도 후 24시간 경과시 발현이 최대인 것을 확인하였다(도 1 참고). 따라서 세균 주입 후 24시간 경과한 동애등에를 무지개송어 사료 제조를 위한 시료로 사용하였다..

[0038] (2) 면역이 유도된 HIL의 항균활성 검정

[0039] 면역이 유도된 HIL 추출물을 제조하기 위하여 20% glacial acetic acid (20% AcOH)를 추출용매로 48시간 침지 방법으로 추출물을 제조하였다. 제조된 추출물은 어병을 일으키는 2종의 균주를 대상으로 radial diffusion assay (RDA)와 최소저해활성분석 (minimal inhibitory concentration assay, MIC)를 실시하여 항균활성을 검정하였다. 2종의 균주는 다양한 해수어와 담수어에 패혈증을 일으키며 인간에게도 피해를 주는 인수공통감염병 균주인 *Edwardsiella tarda*와 탈장, 복부팽만, 간 출혈을 일으키는 Vibrio harveyi를 사용하였다. HIL 추출물의 radial diffusion assay 결과(도 2, 표 1 참고) 농도의존적으로 2종의 세균에 항균활성을 나타냈으며, MIC는 1×10^{5} CFU/200㎍인 것으로 나타났다(표 2). 따라서 면역유도한 동애등에 유충 체내에 다양한 항균펩타이드를 함유하고 있으므로 면역유도 동애등에 유충으로 사료제조시 다양한 어류 병원성 미생물을 저해할 것이라 추측할 수 있었다.

표 1

[0040]

Size of inhibition zone (cm)			
추출물농도 (㎍) 균주	0	500	1000
Edwardsiella tarda	0.3	1.1	1.9
Vibrio harveyi	0.3	1.3	1.7

표 2

[0041]

Minimal inhibitory concentration (O.D 600)			
추출물농도 (㎍) 균주	100	150	200
-	0.042	0.041	0.040
Edwardsiella tarda	1.152	1.195	0.043
Vibrio harveyi	1.145	1.103	0.041

[0042] **무지개송어(*Oncorhynchus mykiss*, rainbow trout)용 HIL 배합사료에 이용할 원료의 조성분 분석**

[0043] 탈지 동애등에 유충 분말(*Hermetia illucens* larva, HIL)을 (주)그린테코로부터 분양을 받아 이를 이용하여 무지개송어 사료를 배합하였다. 무지개송어 사료의 원료는 어분, 밀가루, 밀기울, 탈지 동애등에 유충 분말, α-전분, 미네랄 혼합물, 비타민 혼합물이며, 각 원료의 조성분 분석은 표 1과 같다. 일반적인 아메리카 동애등에의 지방함량은 34.8%이며, 무지개송어용 배합사료에 사용된 아메리카 동애등에의 조성분 분석 결과, 면역을 유도하지 않은 동애등에 유충 분말(HIL)에서 지방이 11%로 분석되어 23%가량 탈지가 되었으며, 면역을 유도한 동애등에(Immunized *Hermetia illucens* larva, ImHIL)의 경우 지방이 2%로 분석되어 32% 가량 탈지가 되어 조지방 함량에서 차이가 있었고 추후 이에 대한 표준화가 이루어져야 보다 품질이 균일한 사료가 재현성있게 제조될 것이라 생각되었다(아래 표 3 참고).

표 3

[0044] (g/100g)

원료 항목	어분	밀가루	밀기울	α-전분	일반 동애등에	면역유도 동애등에
수분	6.73 ± 0.27	13.11 ± 0.25	13.88 ± 0.11	7.64 ± 0.16	4.04 ± 0.03	3.72 ± 0.02
조단백질	65.09 ± 0.99	13.32 ± 0.22	14.8 1 ±0.41	0.14 ± 0.03	48.22 ± 0.67	46.94 ± 0.45
조지방	7.61 ± 0.01	1.55 ± 0.22	3.15 ± 0.12	-	11.30 ± 0.67	2.14 ± 0.05
탄수화물	2.12 ± 1.18	70.72 ± 0.18	56.27 ± 0.86	92.19 ± 0.08	12.41 ± 0.58	21.26 ± 0.76
조섬유	0.22 ± 0.03	0.24 ± 0.01	7.81 ± 0.30	-	7.97 ± 0.08	7.37 ± 0.07
조회분	17.98 ± 0.49	0.78 ± 0.03	3.91 ± 0.18	-	15.78 ± 0.02	18.33 ± 0.16
요소	0.25 ± 0.02	0.30 ± 0.05	0.18 ± 0.04	-	0.28 ± 0.00	0.24 ± 0.01

[0045] **실시예 1, 2, 비교예 1~3 : 무지개송어용 배합사료 제조**

[0046] 사료로 사용할 각 원료의 조성분 분석 결과를 바탕으로 각 사료의 영양성분 비율을 단백질 45%, 조지방 15%, 탄수화물 19%, 회분 12%가 되게 설정하여 사료를 제작하였다(아래 표 4 참고). 동애등에 분말은 일반 동애등에 분말과 면역이 유도된 동애등에 분말 2가지를 사용하였으며 기존 어류사료 중 단백질원인 어분을 각각 25%, 50% 대체하였다. 사료는 분말상태인 어분, 밀가루, 밀기울, α-전분, 동애등에 분말, 미네랄 혼합물, 비타민 혼합물과 액체상태인 어유를 혼합한 뒤 60%의 증류수를 섞어 반죽기에 넣고 30분간 반죽한 후, 민서기로 압착 및 펠렛으로 제형화 하였다. 이후 제형화된 사료는 3일간 자연 건조하였고, 건조된 사료를 길이가 0.5㎜가 되게 절단하여 무지개송어 사료로 사용하였다(도 3참고).

표 4

[0047] (g/kg)

사료 원료	HIL0 비교예 1	HIL25 비교예 2	HIL50 비교예 3	ImHIL25 실시예 1	ImHIL50 실시예 2
어분	650	470	285	480	310
어유	100	80	63	100	105
일반 동애등에	-	250	500	-	-
면역유도 동애등에	-	-	-	250	500
밀가루	200	150	102	120	35
α-전분	50	50	50	50	50
미네랄 혼합물	10	10	10	10	10
비타민 혼합물	10	10	10	10	10

[0048]

[0049] **무지개송어용 HIL 배합사료의 조성분 분석**

[0050] 표 4의 비율로 제조한 무지개송어 배합사료의 조성분 분석 결과, 단백질 함량은 HIL0 (483.3 g/kg), HIL25 (476.2 g/kg), HIL50 (470.8 g/kg), ImHIL25 (476.4 g/kg), ImHIL50 (473.7 g/kg)으로 모두 비슷한 단백질 함량을 나타냈다. 지방함량은 HIL0 (162.3 g/kg), HIL25 (167.3 g/kg), HIL50 (188.5 g/kg), ImHIL25 (157.2 g/kg), ImHIL50 (187.6 g/kg)로 분석되어, 동애등에 분말의 대체율이 높은 사료에서 지방함량이 더 높았다(아래 표 5 참고). 에너지값 또한 5가지 사료간에 유의한 차이가 없었으므로 원료의 성분 분석 결과를 토대로 단백질:지방:탄수화물 비율을 45:15:19로 계산하여 배합한 사료가 잘 제조되었음을 아래 표 6에서 확인할 수 있었다.

표 5

[0051] (g/100g)

처리구 원료	HIL0	HIL25	HIL50	ImHIL25	ImHIL50
수분	5.66 ± 0.04	6.00 ± 0.06	6.26 ± 0.07	6.31 ± 0.13	6.17 ± 0.08
조단백질	45.59 ± 0.37	44.93 ± 0.20	44.42 ± 0.16	44.95 ± 0.05	44.70 ± 0.21
조지방	15.31 ± 0.21	15.79 ± 0.06	17.79 ± 0.05	14.83 ± 0.18	17.70 ± 0.20
탄수화물	18.44 ± 0.13	18.96 ± 0.22	14.50 ±0.05	15.56 ± 0.11	14.78 ± 0.35
조섬유	0.94 ± 0.01	0.35 ± 0.05	2.15 ± 0.10	4.88 ± 0.12	1.82 ±0.08
조회분	13.24 ± 0.02	13.07 ± 0.08	14.07 ± 0.21	12.66 ± 0.04	14.78 ± 0.35
요소	0.83 ± 0.01	0.92 ± 0.11	0.83 ± 0.10	0.83 ± 0.01	0.82 ± 0.08
칼로리 (Kcal)	490.00 ± 1.13	489.90 ± 0.56	491.95 ± 4.74	480.80 ± 2.55	498.15 ± 4.46

표 6

[0052] (cal/g)

사료	HIL0	HIL25	HIL50	ImHIL25	ImHIL50
에너지값 (Kcal)	490.00 ± 1.13	489.90 ± 0.56	491.95 ± 4.74	480.80 ± 2.55	498.15 ± 4.46

[0053] **무지개송어에 HIL 배합사료를 급여 후 발육에 미치는 영향분석**

[0054] **가. 사육방법, 사육기간 및 시료채취 방법**

[0055] 본 연구에서 제조한 HIL 배합사료의 무지개송어 발육 및 면역력에 미치는 영향 분석은 총 6주간 급여 후 평가되었다. 제조한 사료를 무지개송어 무게의 2%의 무게로 매일 급여하며 18℃에서 무지개송어를 양식하였다(도 4A). 무지개송어는 알, 치어, 청소년기, 성어의 단계로 발육하며, 청소년기의 경우 다시 parr와 smolt의 단계를 거친다. 실험에 사용된 무지개송어는 최초 parr 단계(도 4B)였으며, 실험이 종료된 때는 바다로 가기 위해 은백색의 광택이 나기 시작하는 smolt 단계(그림 4E)로 성장하였다. 본 연구에 사용한 무지개송어의 초기무게는 174.45 ± 8.95 g, 길이는 24.63 ± 0.43 cm였다. 본 연구에서 제조한 HIL 배합사료의 무지개송어에 미치는 영향을 평가하기 위해 무지개송어 시료는 양식 후 3주차와 6주차에 각각 해부하여 혈액, 근육, 간을 분리하여 준비하였다(도 4 참고). 도 4C는 무지개 송어의 혈액 채취 과정을, 도 4D는 채취된 간, 아가미, 근육을 촬열한 것이다.

[0056] **나. HIL 배합사료의 무지개송어 생존율에 미치는 영향 분석**

[0057] 생존율은 계산식으로 계산하였으며, 식은 다음과 같다.

[0058] 생존율 = {(최초개체수-폐사개체수)/최초개체수} × 100

[0059] 생존율의 경우 6주차 HIL25 처리구에서 1마리만이 폐사하였고 다른 처리구에서는 폐사개체수가 발생하지 않았다(하기 표 7 참고). 따라서 모든 사료 처리구에서 무지개송어의 생존율이 저하되지 않고 양호함을 확인할 수 있었다.

표 7

[0060] (%)

처리구 기간(주)	HIL0	HIL25	HIL50	ImHIL25	ImHIL50
3	100 ± 0.00[a]	100 ± 0.00[a]	100 ± 0.00[a]	100 ± 0.00[a]	100 ± 0.00[a]
6	100 ± 0.00[a]	96.7 ± 2.65[a]	100 ± 0.00[a]	100 ± 0.00[a]	100 ± 0.00[a]

[0061] **다. HIL 배합사료의 무지개송어 증체량에 미치는 영향 분석**

[0062] 무지개송어의 증체량은 계산식으로 계산하였으며, 계산식은 다음과 같다.

[0063] 증체량(%) = [{최종무게(g)-최초무게(g)} / 최초무게(g)]×100

[0064] 3주차까지는 HIL0 (16.12%), HIL25 (15.74%), HIL50 (14.51%), ImHIL25 (13.87%), ImHIL50 (12.82%)로 어분을 대체하지 않은 처리구의 증체량이 가장 높았으나, 6주차에서는 HIL0 (32.85%), HIL25 (37.10%), HIL50 (33.73%), ImHIL25 (33.52%), ImHIL50 (32.51%)로 HIL25 처리구가 증체량이 가장 높은 것으로 나타났다(아래 표 8 참고). 따라서 6주차에는 일반 동애동애 유충 분말로 기존 어분을 25% 대체한 HIL25 처리구에서 증체량이 다소 높게 나타났지만 다른 처리구와 통계적 유의성은 나타나지 않아서 모든 사료의 증체량에 미치는 영향이 유사함을 알 수 있었다.

표 8

[0065] (%)

처리구 기간(주)	HIL0	HIL25	HIL50	ImHIL25	ImHIL50
3	16.12 ± 0.94[a]	15.75 ± 6.20[b]	14.51 ± 0.99[b]	13.87 ± 1.54[b]	12.82 ± 2.52[c]
6	32.85 ± 0.86[a]	37.10 ±7.93[a]	33.73 ± 5.68[a]	33.52 ± 6.10[a]	32.51 ± 3.69[a]

[0066] **라. HIL 배합사료를 급여한 무지개송어 혈액 내 적혈구 숫자 계수(Red blood cell count, RBC)**

[0067] 적혈구 수 측정은 무지개송어의 혈액을 채취하여 혈구계수기로 측정하였다. 적혈구 수의 측정은 무지재송어의 생리학적 부분과 건강에 대한 간접적인 지표임과 동시에 미량원소, 사료의 질을 확인하는 지표로 사용된다(Maita., 2007). 무지개송어의 정상 적혈구수는 $0.71\times10^6/mm^3$에서 $1.73\times10^6/mm^3$이며(McCarthy et al., 1975), 모든 처리구에서 유의적인 차이없이 적혈구 수가 유사하였고, 모두 정상 범위의 적혈구 수가 관찰됨을 확인하였다(아래 표 9 참고).

표 9

[0068] ($10^6/mm^3$)

처리구 기간(주)	HIL0	HIL25	HIL50	ImHIL25	ImHIL50
3	1.01 ± 0.17[a]	0.87 ± 0.28[a]	0.98 ± 0.31[a]	0.99 ± 0.25[a]	1.06 ± 0.26[a]
6	0.85 ± 0.27[a]	0.72 ± 0.24[a]	0.85 ± 0.24[a]	0.80 ± 0.17[a]	0.97 ± 0.20[a]

[0069] ※ 최초 무지개 송어 RBC : 0.83 ± 0.03

[0070] **마. HIL 배합사료를 급여한 무지개송어의 혈액 내 적혈구용적율(hamatocrit) 측정**

[0071] 적혈구용적율(hamatocrit) 측정은 혈액 채취 직후 헤마토크리트용 원심기를 이용하여 측정하였다. 모세관에 혈액을 주입한 후 12,000 rpm, 15분간 원심분리한 후 적혈구가 차지하는 용적율을 계산하였다. 정상적인 무지개송어의 적혈구용적율은 30~49%이며(McCarthy et al., 1975)이다. 최초 무지개송어의 적혈구용적율은 34.53%였고, 3주차에는 HIL0 처리구에서 적혈구용적이 가장 높았고, HIL25에서 가장 낮았다. 6주차에는 HIL0, HIL50, ImHIL50에서 높은 적혈구 용적이 측정되었으며 HIL25에서 가장 낮은 것으로 나타났다. 또한 모든 처리구의 적혈구용적은 정상범위로 측정되었다(표 10).

표 10

[0072] (%)

처리구 기간(주)	HIL0	HIL25	HIL50	ImHIL25	ImHIL50
3	38.93 ± 0.06[a]	30.76 ± 0.04[c]	35.05 ± 0.03[b]	36.30 ± 0.05[b]	32.51 ± 0.02[c]

6	38.00 ± 0.06[a]	30.29 ± 0.04[c]	38.97 ± 0.03[a]	35.98 ± 0.05[b]	38.20 ± 0.02[a]

[0073] ※ 최초 무지개 송어 Haematocrit : 34.53 ± 0.76

[0075] **바. HIL 배합사료의 무지개송어 일간성장률(specific growth rate)에 미치는 영향 분석**

[0076] 무지개송어의 일간성장률은 계산식으로 계산하였으며, 식은 다음과 같다.

[0077] (%/day) = {(ln최종무게-ln최초무게) / 일수}×100

[0078] 무지개송어용 HIL 배합사료를 급여한 무지개송어의 일간성장률은 HIL0 (0.352 g), HIL25 (0.388 g), HIL50 (0.361 g), ImHIL25 (0.300 g), ImHIL50 (0.348 g)으로 HIL25 처리구에서 가장 높은 일간성장률을 보였다(아래 표 11 참고).

표 11

[0079] (g)

처리구	HIL0	HIL25	HIL50	ImHIL25	ImHIL50
일간성장률	0.352 ± 0.017[b]	0.388 ± 0.012[a]	0.361 ± 0.011[b]	0.300 ± 0.020[b]	0.348 ± 0.033[b]

[0080] **사. HIL 배합사료의 무지개송어 사료효율에 미치는 영향 분석**

[0081] 사료계수는 물고기가 1 g 성장하는데 필요한 사료의 양이며, 이것의 역수가 사료효율이다. 무지개송어의 사료효율은 계산식으로 계산하였으며, 식은 다음과 같다.

[0082] 사료효율(%) = (증체량/사료섭취량) × 100

[0083] 무지개송어용 HIL 배합사료를 급여한 무지개송어의 사료효율은 3주차에는 HIL0에서 가장 높았고 ImHIL50에서 가장 낮았으며, 6주차에는 HIL25 처리구가 다소 높았지만 HIL 함유 모든 처리구간 통계적 유의한 차이는 없었으며 동애등에가 함유되지 않은 HIL0에 비해 사료효율이 유의적으로 높음을 알 수 있었다(아래 표 12 참고).

표 12

[0084] (%)

처리구 기간(주)	HIL0	HIL25	HIL50	ImHIL25	ImHIL50
3	76.68 ± 10.2[a]	76.60 ± 24.18[a]	71.14 ± 5.05[a]	68.40 ± 7.72[b]	59.15 ± 6.75[b]
6	44.49 ± 1.44[b]	59.36 ± 13.08[a]	52.99 ± 13.08[a]	54.51 ± 17.07[a]	51.60 ± 7.90[a]

[0085] **아. HIL 배합사료의 무지개송어 비만도(condition factor)에 미치는 영향 분석**

[0086] 비만도는 물고기의 무게와 길이의 비율로서 1.10에서 1.20정도가 보통이며 1.10의 미만은 영양상태가 좋지 않음을 나타낸다(Barnham and Bacter., 2003). 무지개송어의 비만도는 계산식으로 계산하였으며, 식은 다음과 같다.

[0087] 비만도 = {무게(g)/길이(cm^3)} × 100

[0088] 무지개송어용 HIL 배합사료를 급여한 무지개송어의 비만도는 3주차에는 동애등에 분말이 포함된 모든 처리구에서 유의미하게 더 높은 값을 나타냈으며, 6주차에는 HIL0 및 ImHIL50가 1.18로 가장 높은 비만도를 나타내었다. 또한 모든 처리구의 무지개송어가 1.14에서 1.19 범위의 정상적인 비만도를 나타냄을 확인하였다(아래 표 13 참고).

표 13

[0089]

처리구 기간(주)	HIL0	HIL25	HIL50	ImHIL25	ImHIL50
3	1.14 ± 0.00^{b}	1.18 ± 0.03^{a}	1.18 ± 0.05^{a}	1.19 ± 0.03^{a}	1.19 ± 0.02^{a}
6	1.18 ± 0.02^{a}	1.15 ± 0.08^{b}	1.17 ± 0.01^{a}	1.15 ± 0.01^{b}	1.18 ± 0.01^{a}

[0090] **자. HIL 배합사료의 무지개송어 간중량 지수에 미치는 영향 분석**

[0091] 간중량 지수는 체중 중 간의 무게가 차지하는 비율로, 간중량 지수가 높을수록 건강한 상태를 유지하고 있다고 볼 수 있다(Maita., 2007). 무지개 송어의 간중량 지수는 계산식으로 계산하였으며, 식은 다음과 같다.

[0092] 간중량지수(%) = {(간중량(g)/체중(g)) × 100

[0093] HIL 배합사료를 급여한 무지개 송어의 3주차 대비 6주차 간중량 지수는 ImHIL25와 ImHIL50에서 가장 크게 증가한 것으로 측정되었다(아래 표 14 참고).

표 14

[0094] (%)

처리구 기간(주)	HIL0	HIL25	HIL50	ImHIL25	ImHIL50
3	0.83 ± 0.18^{b}	0.91 ± 0.13^{a}	0.83 ± 0.10^{b}	0.85 ± 0.23^{b}	0.77 ± 0.11^{c}
6	0.86 ± 0.12^{b}	0.95 ± 0.22^{a}	0.86 ± 0.06^{b}	0.98 ± 0.30^{a}	0.89 ± 0.10^{b}
변화량	103.61	104.40	103.61	115.29	115.58

[0095] **차. HIL 배합사료의 무지개송어 인슐린유사생장인자(insulin-like growth factor-1, IGF-1)에 미치는 영향 분석**

[0096] 인슐린 유사생장인자는 인슐린과 구조가 비슷한 분자량 7,500의 폴리펩타이드로 이루어진 성장인자로, 세포의 증식이나 단백질 생합성에서 생장호르몬의 작용을 매개하는 역할을 한다(Maita., 2007). 무지개송어의 혈청에서 IGF-1의 수치를 측정한 결과, 사료 급여후 3주 후보다 6주 후에 IGF-1의 수치가 증가하였으며, 특히 ImHIL50의 처리구에서 유의적으로 2.5배가량 증가한 수치를 나타냈다.

[0097] **HIL 배합사료를 급여한 무지개송어 구성 성분 분석**

[0098] **가. HIL 배합사료를 급여한 무지개송어 조성분 분석**

[0099] HIL 배합사료를 무지개송어에 급여한 후 6주 경과시 조성분 분석을 실시하였다. 그 결과, 단백질, 탄수화물, 회분, 수분은 모든 사료 처리구에서 유의미한 차이를 보이지 않아 유사하였다. 하지만 지방의 경우, HIL25 및 HIL50 사료를 급여한 처리구에서 지방함량이 높은 것으로 나타났는데, 이는 면역유도를 하지 않은 일반 동애등에 분말(HIL)의 비교적 높은 지방함량으로 인해 배합사료 내 지방함량을 모든 사료에서 일정하게 하기 위해 일반 동애등에 분말 첨가 사료의 경우 타 처리구에 비해 첨가된 어유의 양이 적고 양질의 동애등에 유충 지방 함량이 높았기 때문이라 추측되었다(아래 표 15).

표 15

[0100] (g/100g)

처리구 분석항목	HIL0	HIL25	HIL50	ImHIL25	ImHIL50
단백질	19.42 ± 0.10^{a}	19.92 ± 0.06^{a}	20.01 ± 0.06^{a}	20.35 ± 0.03^{a}	19.61 ± 0.09^{a}
지방	2.88 ± 0.10^{c}	3.19 ± 0.17^{b}	5.15 ± 0.42^{a}	2.52 ± 0.11^{c}	2.63 ± 0.21^{c}

탄수화물	0.00 ± 0.00[a]	0.00 ± 0.00[a]	0.02 ± 0.00[a]	0.01 ± 0.00[a]	0.01 ± 0.00[a]
회분	1.38 ± 0.06[a]	1.41 ± 0.05[a]	1.36 ± 0.05[a]	1.44 ± 0.04[a]	1.37 ± 0.02[a]
수분	76.31 ±0.04[a]	75.48 ± 0.13	73.46 ± 0.04[a]	75.68 ± 0.13[a]	76.38 ± 0.06
열량	103.60 ± 0.78[b]	108.40 ± 1.37[b]	126.43 ± 3.90[a]	104.08 ± 0.83[b]	102.10 ± 1.69[b]

[0101] **나. HIL 배합사료를 급여한 무지개송어의 지방산 조성분석**

[0102] HIL 배합사료를 무지개 송어에 급여 후 6주 경과 시 지방산 조성을 분석하였다(표 17, 표 18). 그 결과, HIL25 및 HIL50 사료를 급여한 처리구에서 높은 불포화지방산 함량을 나타내는 것을 확인하였고(표 16), 올레인산, 리놀레산, 리놀렌산의 함량이 다른 처리구에 비해 높은 것을 확인하였다(표 17). 이는 탈지가 충분히 되지 않은 일반 동애등에 유충 분말(HIL)의 높은 곤충 지방함량으로 인해 다른 사료보다 함유된 어유의 양이 줄어들고 불포화지방산이 풍부한 동애등에 분말의 지방이 포함되었기 때문이라고 생각된다.

표 16

[0103]

처리구	HIL0	HIL25	HIL50	ImHIL25	ImHIL50
비 율 (SFA : USFA)	37.5 : 62.5	32.4 : 67.6	33.6 : 66.4	33.6 : 66.4	47.7 : 52.3

[0104] ※ SFA:포화지방산, USFA:불포화지방산

[0105] ※ 어유 SFA:USFA = 35.5:64.5,

[0106] ※ 동애등에 유충 SFA:USFA = 41.62:58.38

표 17

[0107] (g/100g)

처리구 분석항목	HIL0	HIL25	HIL50	ImHIL25	ImHIL50
Myristoleic (C14:1)	0.001	0.001	0.003	0.001	0.001
Palmitoleic (C16:1)	0.103	0.106	0.248	0.088	0.09
Oleic acid (C18:1 trans)	0.01	0.013	0.021	0.008	0.103
Oleic acid (C18:1 Cis)	0.657	0.726	1.42	0.559	0.01
Linoleic (C18:2, trans)	0.006	0.007	0.012	0.007	0.005
Linoleic (C18:2 Cis)	0.374	0.444	0.743	0.312	0.34
Trans linoleic acid (C18:3 trans)	0.029	0.03	0.055	0.024	0.03
Linolenic (C18:3n-3)	0.059	0.076	0.127	0.096	0.055
Gadoleic acid (C20:1)	0.037	0.045	0.088	0.032	0.037
Eicosadienoic (C20:2)	0.034	0.043	0.069	0.027	0.03
Dihomo-gamma-linoleic acid (C20:3n-6)	0.015	0.16	0.025	0.011	0.013
Erucic acid (C22:1n-9)	0.006	0.006	0.013	0.005	0.006
Eicosatrienoic (C20:3n-3)	0.004	0.006	0.01	0.004	0.004
Arachidonic (C20:4n-6)	0.026	0.026	0.032	0.019	0.018
Brassic acid (C22:2)	0.012	0.016	0.026	0.01	0.012
EPA (C20:5n-3)	0.08	0.079	0.11	0.059	0.058
Nervonic (C24:1)	0.011	0.012	0.016	0.008	0.008
DHA (C22:6n-3)	0.343	0.34	0.388	0.248	0.229
불포화지방산 합계	1.325	1.651	2.811	1.165	0.714

[0108]

표 18

[0109] (g/100g)

처리구 분석항목	HIL0	HIL25	HIL50	ImHIL25	ImHIL50
Capic acid (C10:0)	0.003	0.002	0.003	0.002	0.003
Lauric acid (C12:0)	0.086	0.043	0.085	0.044	0.079
Myristic acid (C14:0)	0.077	0.078	0.142	0.058	0.07
Pentadecanoic acid (C15:0)	0.006	0.007	0.011	0.005	0.005
Palmitic acid (C16:0)	0.485	0.505	0.904	0.374	0.382
Heptadecanoic acid (C17:0)	0	0.01	0.014	0	0
Stearic acid (C18:0)	0.125	0.133	0.238	0.101	0.103
Arachidic acid (C20:0)	0.005	0.006	0.011	0.004	0.005
Heneicosanoin acid (C21:0)	0.004	0.002	0.005	0	0
Behenic acid (C22:0)	0.003	0.004	0.007	0.002	0.003
Lignoceric acid (C24:0)	0.002	0.002	0.004	0.002	0.002
포화지방산 합계	0.796	0.792	1.424	0.92	0.652

[0111] 동애등에의 면역유도 여부가 무지개송어 면역 증강에 미치는 영향 분석

[0112] 가. HIL 배합사료를 급여한 무지개송어의 혈액 내 aspartate aminotransferase (AST) 분석

[0113] AST는 간세포에 존재하는 효소로, 세포가 손상을 받을 경우 농도가 증가하여, 간관련 질병의 지표로 사용되고 있다(Huang et al., 2006). AST 수치는 최초 무지개 송어에서의 67.57 U/L보다 3주차와 6주차에서 감소한 AST 수치를 확인하였다. 3주차에 AST 수치는 처리구간 유의차 없이 유사하였고, HIL50에서 가장 높았고 ImHIL50에서 가장 낮은 값을 나타냈다. 6주차에는 면역유도한 동애등에 분말이 포함된 사료를 급여한 처리구에서 보다 낮은 AST 수치를 보였다. 또한 동애등에 대체율이 같은 처리구간의 비교에서는 면역을 유도한 동애등에가 포함된 처리구에서 더 낮은 AST 수치를 나타내었다(표 19).

표 19

[0114] (U/L)

처리구 기간(주)	HIL0	HIL25	HIL50	ImHIL25	ImHIL50
3	31.90 ± 9.50^{a}	37.44 ± 18.8^{a}	38.67 ± 16.38^{a}	33.78 ± 15.87^{a}	29.64 ± 14.10^{a}
6	30.57 ± 6.19^{ab}	28.58 ± 2.39^{ab}	33.16 ± 11.48^{ab}	23.78 ± 9.89^{c}	27.97 ± 9.60^{bc}

[0115] ※ 최초 무지개 송어 AST : 67.57 ± 16.72

[0116] 나. HIL 배합사료를 급여한 무지개송어 혈액 내 라이소자임(lysozyme) 활성 분석

[0117] 라이소자임은 세균의 세포벽을 파괴하는 효소로 숙주의 면역 방어에 중요한 부분을 담당한다(Kim. 2009). 3주차와 6주차의 라이소자임 활성의 비교 결과, HIL50, ImHIL25, ImHIL50에서 유의미하게 증가하는 것을 확인하였다. 처리구간의 비교에서는 면역유도된 동애등애 분말이 포함된 처리구에서 더 높은 라이소자임활성을 확인하였다(도 6). 이러한 라이소자임 활성의 증가는 병원체 감염으로부터 방어효능을 높이는 것으로 보고되어 있어(Kim. 2009), 면역동애등에 유충 분말 첨가는 무지개송어의 세균에 대한 방어력을 높을 것이라 추정할 수 있었다.

[0118] 다. HIL 배합사료를 급여한 무지개송어 혈액 내 면역글로불린 M(Immunoglobulin M, IgM) 분석

[0119] 면역글로불린 M(IgM)은 외부 병원체에 감염되었을 때 최초로 생산되는 항체이다. 외부 병원체에 의해 가장 먼저

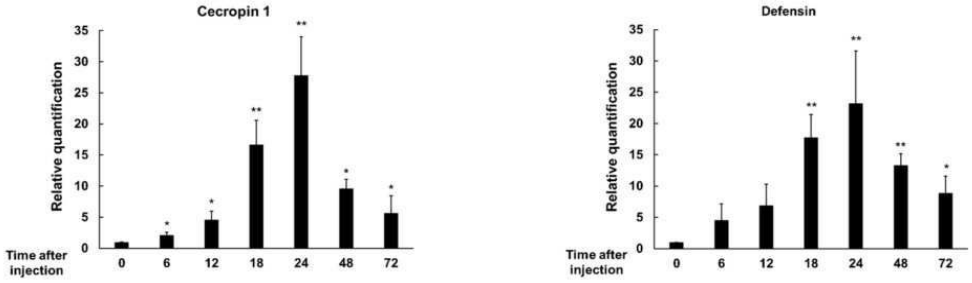
발현되므로 중요한 면역지표로 활용되고 있다(Mashoof and Criscitiello. 2016),. 처리구간 비교 결과, 면역동애등에 분말이 포함된 처리구에서 다소 낮은 IgM양이 검출되었다(도 7). IgM은 세포에 독성이 유발되거나 독성과 유사한 반응에서 활성을 나타내므로(Mashoof and Criscitiello. 2016), 면역동애등에 유충 분말이 함유된 배합사료 급여는 면역증강 효과가 있음을 알 수 있었다.

[0120] 이상의 결과를 통해, 면역유도 동애등에 분말이 포함된 배합사료를 급이한 무지개 송어에서 간세포의 손상으로 발생되는 AST의 양이 줄어들었고, 라이소자임의 활성이 높아져 병원성 세균에 의한 세포 독성 유발 빈도가 낮아지므로 IgM의 양도 줄어들었다고 추정할 수 있었다. 따라서 면역유도 동애등에 유충 분말은 무지개 송어의 성장에도 양호한 영향을 미쳤고, 불포화지방산인 올레산 함량이 체내에 다소 높았으며, 면역증강 효과를 유발함을 알 수 있었다.

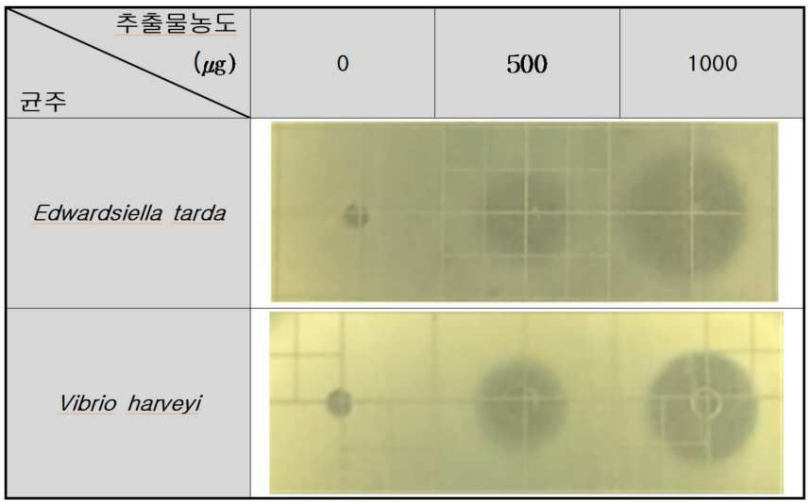
[0122] 본 명세서와 도면에 개시된 본 발명의 실시 예들은 본 발명의 기술 내용을 쉽게 설명하고 본 발명의 이해를 돕기 위해 특정 예를 제시한 것뿐이며, 본 발명의 범위를 한정하고자 하는 것은 아니다. 여기에 개시된 실시예들 이외에도 본 발명의 기술적 사상에 바탕을 둔 다른 변형 예들이 실시 가능하다는 것은 본 발명이 속하는 기술분야에서 통상의 진 자에게 자명한 것이다.

도면

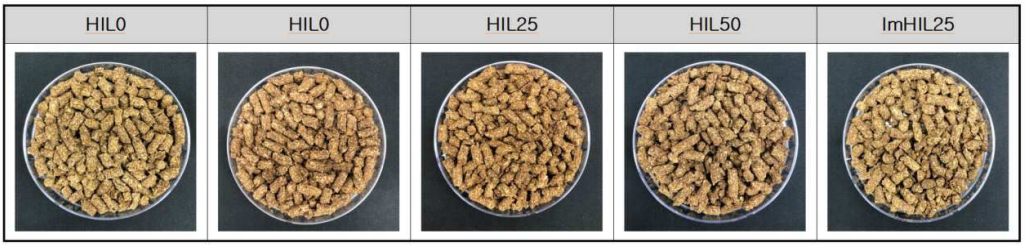
도면1



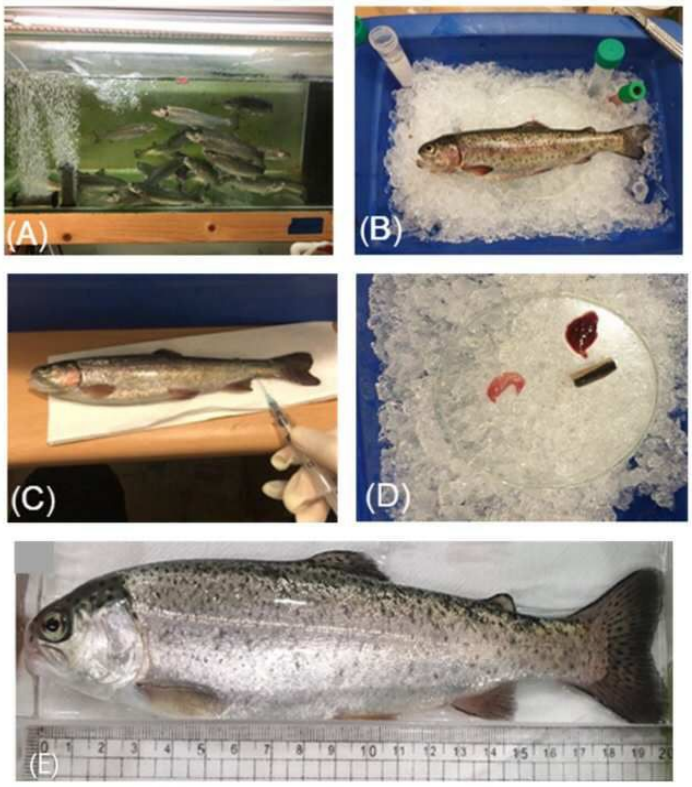
도면2



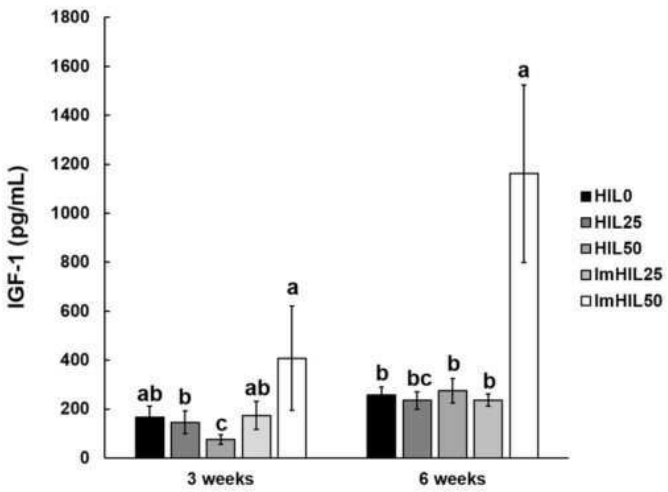
도면3


HIL0
HIL0
HIL25
HIL50
ImHIL25

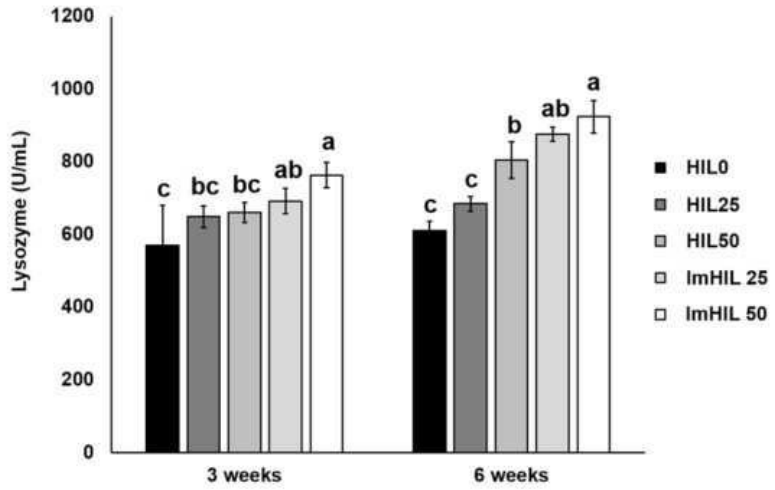
도면4


(A)
(B)
(C)
(D)
(E)

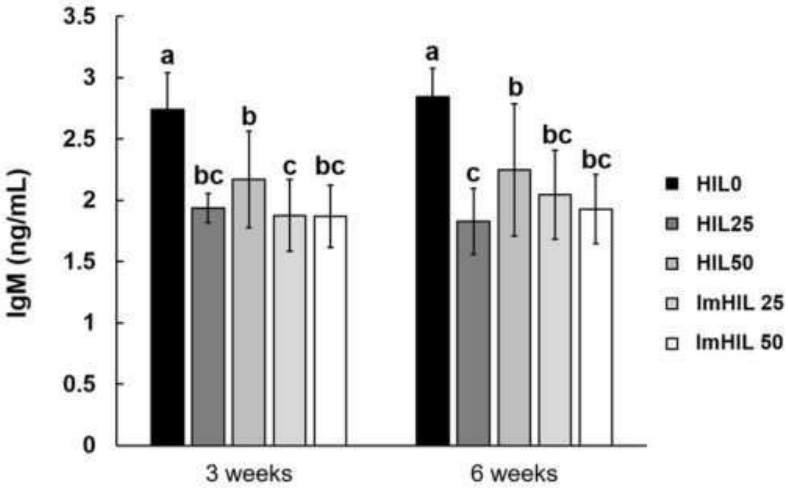
도면5


IGF-1 (pg/mL)
1800
1600
1400
1200
1000
800
600
400
200
0
ab
b
c
ab
a
b
bc
b
b
a
3 weeks
6 weeks
HIL0
HIL25
HIL50
ImHIL25
ImHIL50

도면6


Lysozyme (U/mL)
1200
1000
800
600
400
200
0
c
bc
bc
ab
a
c
c
b
ab
a
3 weeks
6 weeks
HIL0
HIL25
HIL50
ImHIL 25
ImHIL 50

도면7


IgM (ng/mL)
3.5
3
2.5
2
1.5
1
0.5
0
a
bc
b
c
bc
a
c
b
bc
bc
3 weeks
6 weeks
HIL0
HIL25
HIL50
ImHIL 25
ImHIL 50