

넙치(*Paralichthys olivaceus*)용 고효율 곤충배합사료 양식현장적용 평가

허상우 · 이진혁 · 이승한 · 정성목 · 김강웅*

국립수산과학원 사료연구센터

Effects of Worm-based Extruded Pellets on Growth Performance of Olive Flounder *Paralichthys olivaceus* in Commercial Aquafarms

Sang-Woo Hur, Jin-Hyuk Lee, Seunghan Lee, Seong-Mok Jeong and Kang-Woong Kim*

Aquafeed Research Center, National Institute of Fisheries Science, Pohang 37517, Republic of Korea

We evaluated a worm-based extruded pellet diet with black soldier fly *Hermetia illucens* larvae (BSF) meal and BSF oil for olive flounder *Paralichthys olivaceus* through field feeding experiments at a commercial aquafarm. We prepared two experimental diets by replacing fish meal and fish oil with BSF meal and BSF oil (BEP-1, BSF meal 7%, BSF oil 1%) and (BEP-2, BSF oil 2%), respectively. We prepared raw-fish based moist pellets (MP) for comparison between the two experimental diets. We distributed the olive flounder (220±6.29 g) in square (10 m×10 m×1 m) concrete, 100 ton tanks at a density of 1,600 fish per tank (n=3) in triplicate for each dietary treatment. We fed the diets to the fish to apparent satiation for 7 months. At the end of the feeding trial, we found no substantial differences between the groups in terms of growth performance, survival, or feed utilization. None of the diet groups showed any changes in either hematological or non-specific immune responses. The histological observation of the intestine showed that the goblet cell number and cholecystokinin-producing cell activity increased in the fish fed the BEP diet compared with the those of the fish fed the MP diet. These results indicated that dietary BSF meal and oil can be used for olive flounder without compromising growth or, hematological and histological parameters.

Keywords: Olive flounder, Worm-based extruded pellet, Growth, Feed utilization, Digestive activity

서론

우리나라 양식산업에서 사용되는 사료는 크게 배합사료와 생사료로 나눌 수 있다. 배합사료는 생사료에 비해 영양적으로 균형 잡힌 사료를 만들 수 있고 취급이 용이하다는 장점을 지니고 있다. 또한, 생사료는 불안정한 물성에 의해 유실량이 많아 연안 수질오염을 야기시키는 반면 배합사료는 안정적인 물성으로 인해 유실량이 적어 수질오염을 방지할 수 있지만, 일반적인 넙치 양식장에서 배합사료의 사용비율은 생사료에 비해 낮다(Kim et al., 2014b). 대부분 양어사료를 사용하는 소비자들은 생사료가 배합사료에 비해 상대적으로 저렴하고, 성어기 성장이 우수하다고 인식하는 경향이 있다(Son et al., 2013). 현재 배합사료에 대한 양어사료 소비자들의 인식개선을 위해 배합사료의 질적 향상을 통한 고품질 배합사료를 개발하고자 하는 연구가

수행되고 있으며, 최근에는 생사료와 비교하여 대등한 성장률을 보이는 배합사료 개발연구가 보고되기도 하였다(Kim et al., 2014a). 넙치(*Paralichthys olivaceus*)는 육식성이 매우 강하고 높은 단백질(52~56%)과 지질(8~12%)을 요구하여(Kim et al., 2002, 2004), 배합사료 내 많은 양의 어분과 어유가 사용되고 있다. 어분과 어유의 생산을 위해서는 대량의 어족자원이 소모된다. 현재 해양생태계 보호를 위해 전 세계적으로 어족자원의 소모를 줄이고, 지속가능한 양식을 실현하기 위한 노력이 이루어지고 있으며, 이를 위한 방법 중 하나로 어분과 어유의 사용을 줄이는 연구가 진행 중이다(Hardy, 2010). 어분과 어유를 대체하기 위해 다양한 동·식물성 원료가 활용되고 있으며, 최근에는 미래식량자원으로 선정된 곤충을 사료원료로 이용하는 연구가 진행되고 있으며(Jang et al., 2017; Hua, 2021; Terova et al., 2021), 그 중 국내에서 대표적으로 사용되는 곤충원료는 동애

*Corresponding author: Tel: +82. 54. 230. 3600 Fax: +82. 54. 232. 3697

E-mail address: kangwoongkim@korea.kr



This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

<https://doi.org/10.5657/KFAS.2022.0533>

Korean J Fish Aquat Sci 55(5), 533-540, October 2022

Received 8 August 2022; Revised 5 September 2022; Accepted 14 October 2022

저자 직위: 허상우(연구사), 이진혁(연구원), 이승한(연구사), 정성목(연구사), 김강웅(연구관)

등에(*Hermetia illucens*)이다. 동애등에는 생활폐기물을 주로 먹이로 하며 생산되는 대표적인 환경정화 곤충이다. 또한, 고밀도 사육이 가능함에 따라 대량생산이 가능하고, 건조를 통한 장기 보관이 가능하여 산업적으로 이용가치가 크다(Makker et al., 2014; Van Huis et al., 2020). 높은 단백질(45% 이하)과 지질(10–30%)을 함유하고 있으며, 어분과 유사한 아미노산 조성을 지녀 영양적인 측면에서 매우 우수하다(Fisher et al., 2020). 이 밖에도 동애등에 유충에서는 천연항생제가 포함되어 있다고 보고되었으며, 탈지동애등에 분말 생산 과정에서 생기는 부산물인 동애등에 유에는 리놀레산(C18:2n6c)과 같은 불포화 지방산을 다량 함유하고 있어 사료 내 지질원으로 활용이 가능할 것으로 보고되어 사료원료로서의 가치가 높아지고 있다(Newton et al., 2008; Li et al., 2016). 이러한 연구결과들을 활용하여 동애등에 원료를 이용하여 다양한 양식대상종의 원료이용성 연구들이 진행되었다(Park et al., 2013; Kim, 2020; Shin et al., 2020). 하지만 대부분의 연구들이 실험실 규모로 이루어졌기 때문에 양식현장을 대상으로 한 연구가 필요하다. 따라서 본 연구는 배합사료 내 어분과 어유를 각각 동애등에 분과 동애등에 유를 이용하여 대체한 사료를 개발하고 이를 비교 및 검증하기 위해 제주도 내 양식장에서 사육실험을 진행하였다.

재료 및 방법

실험사료 및 실험어 사육관리

실험사료 3종[BEP (black soldier fly *H. illucens* larvae extruded pellet, 동애등에 배합사료)-1 (동애등에 분말 7%+유 1%), BEP-2 (동애등에 유 2%), MP (moist pellet; 생사료, 고등어)을 공급하여 사육실험을 수행하였으며, 실험사료 배합비는 Table 1에 나타내었다. 실험에 사용된 사료들 중 생사료인 MP 사료는 현장실험을 진행하는 제주도내 양식장에서 자체적으로 제조하여 사용하였다. 배합사료인 BEP-1 사료는 곤충분 7% 곤충유가 1%를 배합사료 안에 첨가하여 제조하였고, BEP-2 사료는 곤충유 2%를 첨가하여 제조하였으며, (주)제주어류양식수협(Jeju, Korea)에 위탁 생산하였고, 실험어 성장 단계에 따라 5 mm, 7 mm, 9 mm 및 11 mm로 제작하여 공급하였다. 제조된 사료는 사육실험은 제주도 서귀포시 소재에 위치한 육상수조식 넙치양식장에서 수행되었다. 최초 평균무게 220 g의 넙치를 사각 콘크리트 100톤 수조(10 m × 10 m × 1 m)에 1,600 마리씩 3반복으로 수용하여 7개월 동안 사육하였다. 사육기간 동안 사육수는 지하수와 해수를 7:3 비율로 혼합하여 일정 수온을 유지하여 양식하였다. 사육기간 중 사육수 평균수온은 18.9±0.6°C를 유지하였고, 염분농도는 33±1 psu였으며 용존산소는 8.6–9.8 mg/L 범위로 나타났다.

실험어 성장 측정 및 샘플링

사육실험 종료 후, 성장, 사료효율 및 생존율을 측정하기 위해

실험어를 24시간 절식시키고 체중 및 체장을 측정하였다. 성장은 3개월마다 각 수조별로 무게 측정 후 월별 성장결과를 관찰하였고, 최종측정 후 각 수조별로 사료섭취량, 사료계수 및 생존율을 계산하였다. 또한 최종측정이 완료된 실험어를 각 수조마다 6마리씩 무작위로 선별하여 200 ppm 2-phenoxyethanol (Sigma-Aldrich, St. Louis, MI, USA; 77699) 용액으로 마취시켰다. 혈액샘플 채취는 해파린 처리된 주사기를 이용하여 넙치의 미부동맥에서 이루어졌으며, EDTA tube에 보관 후 원심분리기(5,000 rpm, 10분, Centrifuge; DAIHAN Scientific, Won-

Table 1. Dietary formulation and proximate composition of the experimental diets for olive flounder *Paralichthys olivaceus*

Ingredients	BEP-1	BEP-2	MP
Fish meal (Chile)	63.00	70.00	
Black soldier fly larvae meal	7.00	0.00	
Soybean meal	2.00	2.00	
Wheat gluten	3.20	3.20	
Starch	6.92	6.92	
Wheat flour	10.00	10.00	
Fish oil	2.00	1.00	
Black soldier fly larvae oil	1.00	2.00	
Vitamin C	0.50	0.50	
Vitamin E	0.50	0.50	
Vitamin mixture ¹	1.00	1.00	
Mineral mixture ²	1.00	1.00	
Mono calcium phosphate	0.50	0.50	
Taurine	0.50	0.50	
Choline chloride	0.50	0.50	
Cellulose	0.38	0.38	
Farm-made feed (raw fish)			100.00
Proximate composition (% of dry matter)			
Moisture	0.87	0.15	70.1
Crude protein	56.30	56.04	54.1
Crude lipid	9.11	9.12	33.9
Crude ash	12.88	12.14	7.2

¹Mineral premix contained the following ingredients (g/kg premix): NaCl, 43.3; MgSO₄ · 7H₂O, 136.5; NaH₂PO₄ · 2H₂O, 86.9; KH₂PO₄, 239; CaHPO₄, 135.3; Ferric citrate, 29.6; ZnSO₄ · 7H₂O, 21.9; Ca-lactate, 304; CuCl₂, 0.2; AlCl₃ · 6H₂O, 0.15; KI, 0.15; MnSO₄ · H₂O, 2.0; CoCl₂ · 6H₂O, 1.0. ²Vitamin premix contained the following amount which were diluted in cellulose (g/kg premix): L-ascorbic acid, 121.2; DL- α -tocopheryl acetate, 18.8; thiamin hydrochloride, 2.7; riboflavin, 9.1; pyridoxine hydrochloride, 1.8; niacin, 36.4; Ca-D-pantothenate, 12.7; myo-inositol, 181.8; D-biotin, 0.27; folic acid, 0.68; p-aminobenzoic acid, 18.2; menadione, 1.8; retinyl acetate, 0.73; cholecalciferol, 0.003. BEP, Black soldier fly *Hermetia illucens* larvae; MP, Moist pellet.

ju, Korea)로 원심분리하여 상층액을 분리하고 1.5 mL micro tube에 넣어 -70°C 냉동 보관하였다. 이 후 조직학적 분석을 위해 넙치에서 간과 장을 적출한 뒤 Bouin's solution에 고정하였다. 남은 실험어는 carcass 일반성분 분석을 위해 -20°C 냉동 보관하였다.

일반성분분석

사료원료, 실험사료, carcass에 대한 일반성분분석은 AOAC (2000) 방법에 따라 진행하였다. 수분은 상압가열건조법 (125°C, 3h), 조회분은 직접회화로법(550°C, 6 h)으로 분석하였다. Auto Kjeldahl System (Gerhardt VAP500T/TT125; C. Gerhardt GmbH & Co. KG, C., Königswinter, Germany) 질소 정량법(N×6.25)을 사용하여 분석하였다. 조지질은 조지질 추출기(VELPSEER 148; Solvent Extractors; Velp Scientifica^{TA}, Usmate Velate, Italy)를 사용하여 ether로 추출한 후, 측정하였다.

생화학적분석

최종측정 후 넙치에서 분리된 혈장은 total protein, glucose, cholesterol, triglyceride 분석을 위해 자동습식 생화학 분석기 (Clinical chemistry analyzer; Thermo Fisher Scientific, Vantaa, Finland)를 이용하여 제조사의 매뉴얼에 따라 분석되었다. 또한 혈액 내 면역 항산화 효소인 immunoglobulin M (IgM), lysozyme (LZM), interleukin 1 beta (IL-1β), superoxide dismutase (SOD) 및 glutathione peroxidase (GPx)을 분석하기 위해 ELISA kit (CUSABIO, Houston, TX, USA)를 활용하여 분석하였다. 면역 및 항산화 분석 kit 정보는 다음과 같다: IgM ELISA kit (C2201082217), LZM ELISA kit (K09220106), IL-1β ELISA kit (J08220198), SOD ELISA kit (K0220107), GPx ELISA kit (K0422101).

조직화학적 및 면역조직화학적 분석

조직학적 관찰을 위해 Bouin's solution에 고정된 간 및 장 조직을 파라핀 절편법에 의해 두께 5 μm의 절편을 제작한 후, Hansen's hematoxylin과 0.5% eosin (HE)으로 비교 염색하였다. 간과 장의 절편을 촬영한 후, 실험사료 공급에 따른 조직학적 변화를 조사하였으며, 소화활성유도 인자인 goblet cell의 관찰을 위하여 AB-PAS (alcian blue-periodic acid schiff) 염

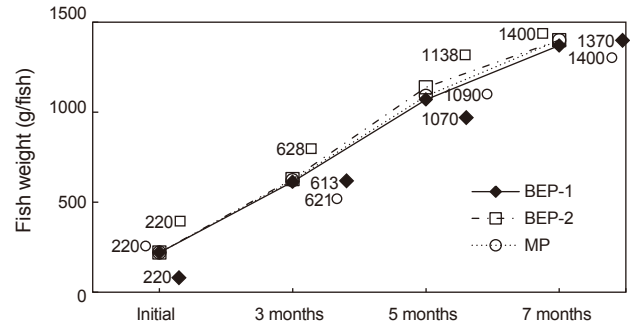


Fig. 1. Changes in mean body weight of olive flounder *Paralichthys olivaceus* fed the three experimental diets for 7 months. BEP, Black soldier fly *Hermetia illucens* larvae; MP, Moist pellet.

색을 실시하였다. 주요 소화호르몬인 cholecystokinin (CCK) producing cell의 관찰을 위하여 면역조직화학법(avidin-biotin complex, ABC method)을 이용하여 활성도를 분석하다.

통계분석

모든 자료의 통계처리는 IBM SPSS 19 software package를 이용하여 One-way ANOVA test를 실시하였으며, 실험구간의 비교를 위한 사후검정은 Tukey's HSD test 방법으로 평균간의 통계적 유의성을 결정하였다.

결과 및 고찰

실험사료를 7개월동안 공급한 넙치의 월별 성장, 사료계수 및 생물지표 결과를 Fig. 1과 Table 2에 나타내었다. 이번 연구의 성장결과 모든 실험구의 최종 평균무게는 1,370 g, 생존율은 82.3% 이상으로 동태동에 원료를 첨가한 BEP-1과 BEP-2사료를 공급한 넙치의 성장이 MP 사료를 공급한 넙치와 비교하였을 때 동등한 성장을 보였다. 이전의 연구결과 역시 넙치 현장실험을 통해 배합사료와 생사료를 비교하였을 때 성장에 유의적인 차이가 없는 결과들을 확인할 수 있었다(Kim et al., 2009a, 2009b, 2014a). 이전 연구결과 다양한 양식 대상어종에서 어분을 곤충원료로 대체하기 위한 연구들이 진행되었는데, 치어기 넙치에 어분을 곤충원료를 통해 40% 이하 대체된 사료를 공급하였을 때 성장에 문제가 없다고 보고하였고(Jeong et al.,

Table 2. Feed utilization, survival and biological indices of the olive flounder *Paralichthys olivaceus* fed the experimental diets for 7 months¹

	Diets			P-value
	BEP-1	BEP-2	MP	
Feed conversion ratio	1.19±0.10 ^{ns}	1.13±0.03	1.07±0.07	0.2342
Daily feed intake (%/day)	0.95±0.08 ^{ns}	0.91±0.03	0.87±0.05	0.3215
Survival (%)	82.3±2.9 ^{ns}	84.4±6.7	87.1±1.9	0.5509

¹Values are mean of triplicates and presented as mean±SD. The lack of superscript letter indicates no significant differences among treatments. BEP, Black soldier fly *Hermetia illucens* larvae; MP, Moist pellet.

2021), 대서양연어에 동애등에 분말을 이용하여 어분을 100% 대체하였을 때 성장에 차이가 없다고 보고되었으며(Belghit et al., 2019), 동애등에 분말을 활용한 사료를 터봇에게 공급하였을 때 동애등에 분말의 대체율이 증가함에 따라 성장이 유의하게 감소하는 결과가 보고되었다(Kroeckel et al., 2012). 이전의 연구결과들을 종합하였을 때 어종에 따라 곤충원료로 어분을 대체하였을 때 성장이 달라지는 것을 확인할 수 있었지만, 이번 현장실험결과에서 어분을 동애등에 분말로 대체하였을 때 성장에 차이가 없는 것을 확인할 수 있었다. 사료계수와 일일사료섭취율에서는 BEP-1 및 BEP-2 실험구와 MP 실험구에서 유의적인 차이가 없었고($P>0.05$), Kim et al. (2009b)의 연구에서도 생사료와 배합사료 사용에 따른 사료효율의 차이는 없었다. 사육실험 종료 후 배합사료와 생사료의 사료계수를 비교한 결과 BEP-1 및 BEP-2 실험구와 MP 실험구에서 유의적인 차이가 없었지만, 실제 현장에서 사료를 공급하였을 때 생사료가 배합사료에 비해 3배 가까이 공급하는 것을 확인할 수 있었다. 이러한 결과는 생사료가 배합사료에 비해 수분함량이 높기 때문이라 판단된다. 이전 연구에서 생사료는 배합사료에 비해 점결력이 매우 떨어지며, 수분함량이 높아 사료를 공급할 때 수중에 유실양이 EP에 비해 매우 많기 때문에 사료효율이 저하된 것이라 보고되었다(Kim et al., 2009a). 또한 사료내 동애등에를 첨가하였을 때 사료계수에 긍정적인 영향을 주었다는 연구가 진행되었는데, 이전 연구에서 동애등에 분말을 사료내 첨가하여 공급할 경우 무지개송어 장내 유익균을 증가시키고 유해균을 감소시키는 등 장내 균총을 긍정적으로 변화시킨다고 보고되었다(Gaudio et al., 2021; Randazzo et al., 2021). 현재 넙치 양식경영비에서 사료비가 30–35% 이상을 차지하는 만큼 생사료와 동등한 성장 및 사료계수를 가지는 곤충배합사료를 사용하는 것이 경영적인 측면에서 우수하다고 사료된다(Hwang and Kim, 2009).

Carcass에 대한 일반성분분석 결과는 Table 3에 나타내었다. 어체 내 조회분은 실험구 사이에 유의적인 차이가 없었으나 조지질은 MP 실험구(10.7%)가 BEP-1 실험구(7.14%)와 BEP-2

실험구(6.60%)에 비해 유의적으로 높았다($P<0.05$). 여러 연구에서 공급되는 사료 내 지질함량이 증가할수록 전어체 또는 근육 내 지질 함량이 증가하는 결과를 보였다(Kim et al., 2004; Lee and Kim 2005). 본 연구에서 사용된 생사료의 지질함량(33.9%)은 BEP-1의 지질함량(10.2%)과 BEP-2의 지질함량(10.9%)에 비해 높았기 때문에 이전 연구와 마찬가지로 MP 실험구의 지질 함량이 다른 두 실험구에 비해 높은 것으로 판단된다. 넙치와 같은 해산어류들은 체내 지질대사에 필요한 고도불포화지방산(DHA, EPA)을 외부 먹이를 통해 공급받는데, 이번 실험에 사용된 동애등에 분말 및 갈색거저리와 같은 곤충원료들이 어분에 비해 고도불포화지방산 함량이 낮아 체내 이용성이 떨어져 전어체 지질 함량이 낮아졌다고 판단된다. 이전 치어기 터봇의 동애등에 어분대체 연구결과 어분 대체율이 높아질수록 치어기 터봇의 실험사료 및 실험어 전어체 고도불포화 지방산이 낮아졌고, 또한 전어체 지질함량이 낮아지는 결과가 보고되었다(Kroeckel et al., 2012). 이번 현장실험에서는 넙치 실험사료에 지방산을 분석하지 않았지만, 기존 연구들에서 동애등에 분말 및 갈색거저리 분말과 같이 곤충원료에서 어분에 비해 고도불포화 지방산이 낮은 것을 확인할 수 있었다(Kroeckel et al., 2012; Zhou et al., 2017; Jeong et al., 2022).

Carcass의 수분과 조단백질 함량이 MP 실험구가 BEP-2 실험구에 비해 유의적으로 낮은 이유는 어체조성 중 지질 함량이 증가하였기 때문에 상대적으로 낮게 나타난 것으로 사료된다.

혈액분석 결과는 Table 4에 나타내었다. 모든 혈액학적 분석 항목에서 모든 실험구 사이에 유의적인 차이가 없었다($P>0.05$). 하지만 경향적으로 glucose 수치는 MP 실험구가 가장 높았다. Triglyceride와 cholesterol 수치는 MP 실험구가 가장 낮았다. 어류는 스트레스가 증가함에 따라 catecholamine의 분비하며 catecholamine은 간에서 glycogen을 glucose로 전환시킨다(Kim et al., 2017). 결국 스트레스가 증가할수록 혈중 glucose 수치가 증가하게 된다. 생사료는 사료를 공급할 때 유실량이 많아 사료공급 후 수질이 악화되고, 수질개선을 위해 환

Table 3. Carcass composition (% of wet weight) of olive flounder *Paralichthys olivaceus* fed the experimental diets for 7 months¹

	Diets			P-value
	BEP-1	BEP-2	MP	
Moisture	68.6±0.23 ^{ab}	69.8±1.55 ^a	66.0±1.86 ^b	0.0477
Crude protein	20.5±0.06 ^a	19.5±0.31 ^b	19.2±0.42 ^b	0.0039
Crude lipid	7.14±0.57 ^b	6.60±1.49 ^b	10.7±0.93 ^a	0.0062
Crude ash	3.47±0.15 ^{ns}	3.28±0.13	3.42±0.34	0.5901

¹Values are mean of triplicates and presented as mean±SD. The lack of superscript letter indicates no significant differences among treatments. BEP, Black soldier fly *Hermetia illucens* larvae; MP, Moist pellet.

Table 4. Hematological parameters of olive flounder *Paralichthys olivaceus* fed the experimental diets for 7 months¹

	Diets			P-value
	BEP-1	BEP-2	MP	
TP ²	5.43±0.49 ^{ns}	6.23±0.21	6.26±1.22	0.5404
Gc ³	15.5±6.94 ^{ns}	16.7±8.00	24.9±6.53	0.4568
TG ⁴	228±132.3 ^{ns}	330±65.0	170±96.6	0.3995
Chol ⁵	412±116.8 ^{ns}	365±141.4	236±15.8	0.3581

¹Values are mean of triplicates and presented as mean±SD. The lack of superscript letter indicates no significant differences among treatments. ²Total protein (g/dL). ³Glucose (mg/dL). ⁴Triglyceride (mg/dL). ⁵Cholesterol (mg/dL). BEP, Black soldier fly *Hermetia illucens* larvae; MP, Moist pellet.

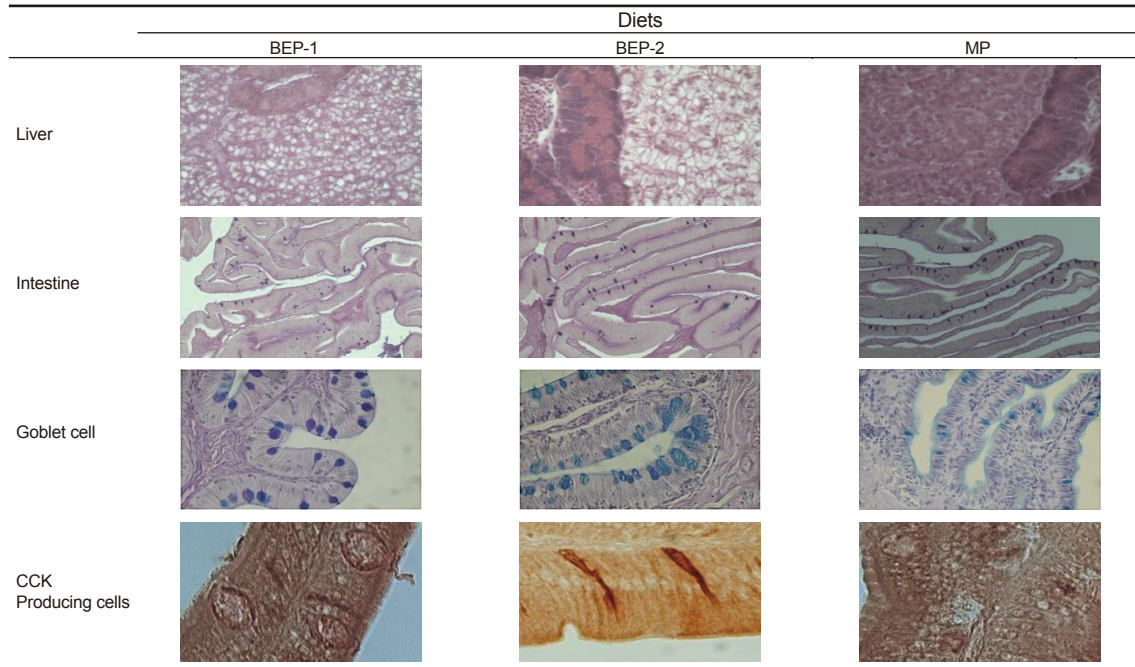


Fig. 2. Histochemical and immunohistochemical analysis of the liver and intestine of olive flounder *Paralichthys olivaceus*. BEP, Black soldier fly *Hermetia illucens* larvae; MP, Moist pellet.

수를 오랫동안 진행한다. MP 실험구의 glucose 수치가 높았던 이유는 이러한 환경적 스트레스로 인한 것으로 추측된다. 또한 MP 실험구의 cholesterol 및 triglyceride의 수치가 배합사료를 공급한 실험구에 비해 낮게 나타나는 경향을 보였는데, 일반적으로 어류의 간, 근육 등 조직에 장애가 발생할 경우 간세포의 지방 대사기능이 감소하여 중성지방수치가 낮아지는 연구가 보고되었다(Kim et al., 2005).

비특이적 면역학적 분석 결과는 Table 5에 나타내었다. 본 연구에서는 IL-1 β , GPx 활성이 증가하는 경향을 보이긴 하였으나 모든 면역분석항목(IL-1 β , GPx, IgM, LZM and SOD)에서 실험구 사이에 유의적인 차이는 없었다($P>0.05$). 곤충은 항균 펩타이드와 여러 생리활성물질을 함유하고 있다고 보고되었고(Ravi et al., 2011), 사료 내 곤충박을 첨가하여 공급할 경우 어류의 면역력과 질병저항성을 향상시킬 수 있다고 보고되었다. 새우사료 내 동애등에 분말을 첨가하여 공급한 경우에는 새우의 비특이적 면역력과 항산화효소 활성을 증가시키는 것으로 보고되었다(Shin et al., 2020, 2021). 또한 노란 메기 사료내 동애등에 분말을 25%를 첨가하였을 때 LZM 활성이 증가했다고 보고되었고(Xiao et al., 2018), 치어기 큰입선농어 사료내 동애등에 분말 및 유를 첨가하였을 때 LZM 및 면역관련 유전인자 활성이 증가한다고 보고하였다(Hender et al., 2021).

조직학적 관찰결과는 Fig. 2에 나타내었다. 간 조직을 관찰한 결과 각 실험구 사이에 간조직 변화가 관찰되었다. 사료 내 곤충분을 첨가할 경우 키틴에 의해 간 조직학적 변화가 나타난다

고 보고되었다(Elia et al., 2018). 또한, 키틴은 간 지질 축적에 영향을 줄 수 있으며, 장염증을 유발하기도 한다(Zarantoniello et al., 2018). 이번 연구에서도 곤충배합사료 공급구에서 생사료 공급구에 비해 간조직내 지방축적이 높게 관찰되었다. 이 밖에도 곤충의 키틴은 poly-b,4-N-acetyl-glucosamine 이기 때문에 어류가 다량 섭취할 경우 소화장애가 생길 수 있다고 보고되었다(Shiau and Yu, 1999). 하지만 사료 내 동애등에 분을 첨가할 경우 장내 염증발생을 예방해 준다고 보고되기도 하였으며

Table 5. Non-specific immune parameters of olive flounder *Paralichthys olivaceus* fed the experimental diets for 7 months¹

	Diets			P-value
	BEP-1	BEP-2	MP	
IgM ²	9.07 $\pm$ 3.18 ^{ns}	7.02 $\pm$ 0.37	10.8 $\pm$ 2.22	0.2047
LZM ³	25.4 $\pm$ 11.9 ^{ns}	21.4 $\pm$ 13.1	22.0 $\pm$ 3.16	0.9042
IL-1 β ⁴	5.65 $\pm$ 3.12 ^{ns}	5.63 $\pm$ 0.31	2.64 $\pm$ 0.64	0.2756
SOD ⁵	9.71 $\pm$ 2.59 ^{ns}	7.19 $\pm$ 0.29	9.01 $\pm$ 2.02	0.3159
GPx ⁶	2176 $\pm$ 578 ^{ns}	1697 $\pm$ 120	1402 $\pm$ 135	0.1600

¹Values are mean of triplicates and presented as mean SD. The lack of superscript letter indicates no significant differences among treatments. ²Immunoglobulin M (μ g/mL). ³Lysozyme (ng/mL). ⁴Interleukin-1 β (pg/mL). ⁵Superoxide dismutase (U/mL). ⁶Glutathione peroxidase (ng/mL). BEP, Black soldier fly *Hermetia illucens* larvae; MP, Moist pellet.

(Kumar et al., 2021), 대서양 연어 사료 내 동애등에 분을 사용하여 어분을 대체한 경우 소화율이 높아지기도 하였다(Fisher et al., 2020). 이 밖에도 동애등에 분을 사료 내 어분을 대체하는데 사용하였음에도 장내 goblet cell과 CCK-producing cell 활성도가 대조구와 차이가 없었다(Wang et al., 2019). 이번 연구에서도 BEP-1과 BEP-2 실험구에서 대조구 대비 장 점막주름이 복잡한 형태로 잘 발달되어 소화·흡수 면적을 높였으며, 소화활성을 유도하는 goblet cell 및 소화호르몬 CCK-producing cell 분포가 높게 관찰되었다. 추후 혈액 내 주요 소화호르몬 및 소화효소 활성 비교 분석을 통한 소화활성도 분석이 필요하다고 사료된다.

따라서 본 연구들을 종합한 결과, 동애등에 분 또는 동애등에 유를 각각 7%, 1%씩 사용한 배합사료는 양식현장에서 생사료와 비교하더라도 넙치의 성장, 사료계수, 건강도, 비특이적 면역력에 차이 없이 사용이 가능할 것으로 판단되어 동애등에 분 또는 동애등에 유가 첨가된 배합사료를 생사료 대신 사용하게 된다면 효율적인 양식경영에 도움이 될 것으로 판단된다.

사 사

이 논문은 국립수산물과학원 수산시험연구사업(양어용 배합사료 실용화 및 안전성 연구R2022016)의 지원으로 수행된 연구입니다.

References

- AOAC (Association of Official Analytical Chemists). 2000. Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists, 17th Edition. Cunniff P, ed. Association of Official Analytical Chemists, Inc., Arlington, VA, U.S.A.
- Belghit I, Liland NS, Gjesdal P, Biancarosa I, Menchetti E, Li Y, Waagbo R, Kroghdahl A and Lock EJ. 2019. Black soldier fly larvae meal can replace fish meal in diets of sea-water phase Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Aquaculture* 503, 609-619. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2018.12.032>.
- Elia AC, Capucchio MT, Caldaroni B, Magara G, Dörr AJM, Biasato I, Biasibetti E, Righetti M, Pastorino P, Prearo M, Gai F, Schiavone A and Gasco L. 2018. Influence of *Hermetia illucens* meal dietary inclusion on the histological traits, gut mucin composition and the oxidative stress biomarkers in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture* 496, 50-57. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2018.07.009>.
- Fisher HJ, Collins SA, Hanson C, Mason B, Colombo SM and Anderson DM. 2020. Black soldier fly larvae meal as a protein source in low fish meal diets for Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Aquaculture* 521, 734978. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.734978>.
- Gaudio G, Marzorati G, Faccenda F, Weil T, Lunelli F, Cardinaletti G and Tibaldi E. 2021. Processed animal proteins from insect and poultry by-products in a fish meal-free diet for rainbow trout: Impact on intestinal microbiota and inflammatory markers. *Int J Mol Sci* 22, 5454. <https://doi.org/10.3390/ijms22115454>.
- Hardy RW. 2010. Utilization of plant proteins in fish diets: effects of global demand and supplies of fishmeal. *Aquac Res* 41, 770-776. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2009.02349.x>
- Hender A, Siddik MAB, Howieson J and Fotadar R. 2021. Black soldier fly, *hermetia illucens* as an alternative to fishmeal protein and fish oil: impart growth, immune response, mucosal barrier status and flesh quality of juvenile barramundi, *lates calcarifer* (Bloch, 1790). *Biology* 10, 505. <http://doi.org/10.3390/biology10060505>.
- Hua K. 2021. A meta-analysis of the effects of replacing fish meals with insect meals on growth performance of fish. *Aquaculture* 530, 735732. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.735732>.
- Hwang JW and Kim DH. 2009. An economic feasibility comparison of the extruded pellets and moist pellet on olive flounder culture farms. *J Fish Bus Adm* 40, 189-205.
- Jang TH, Jung SM, Kim E, Lee YS and Lee SM. 2017. Nutritional value and digestibility of *Tenebrio molitor* as a feed ingredient for Rockfish (*Sebastes schlegelii*). *J Fish Mar Sci Edu* 29, 888-898. <https://doi.org/10.13000/JFMSE.2017.29.3.888>.
- Jeong SM, Khosravi S, Yoon KY, Kim KW, Lee BJ, Hur SW and Lee SM. 2021. Mealworm, *Tenebrio molitor*, as a feed ingredient for juvenile olive flounder, *Paralichthys olivaceus*. *Aquac Rep* 20, 100747. <http://doi.org/10.1016/j.aqrep.2021.100747>.
- Jeong SM, Khosravi S, Kim KW, Lee BJ, Hur SW, You SG and Lee SM. 2022. Potential of mealworm, *Tenebrio molitor*, meal as a sustainable dietary protein source for juvenile black porgy, *Acanthopagrus schlegelii*. *Aquac Rep* 22, 100956. <http://doi.org/10.1016/j.aqrep.2021.100956>.
- Kim JH, Kim KW, Bae SH, Kim SK, Kim SK and Kim JH. 2017. Alterations in hematological parameters and antioxidant responses in the biofloc-reared flatfish *Paralichthys olivaceus* following ammonia exposure. *Korean J Fish Aquat Sci* 50, 750-755. <https://doi.org/10.5657/KFAS.2017.0750>.
- Kim KW, Wang XJ and Bai SC. 2002. Optimum dietary protein level for maximum growth of juvenile olive flounder *Paralichthys olivaceus* (Temminck et Schegel). *Aquac Res* 33, 673-679. <http://doi.org/10.1046/j.1365-2109.2002.00704.x>.
- Kim KW, Wang XJ, Choi SM, Park GJ and Bai SC. 2004. Evaluation of optimum dietary protein-to-energy ratio in juvenile olive flounder *Paralichthys olivaceus* (Temminck et Schegel). *Aquac Res* 44, 250-255. <http://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2004.01003.x>.
- Kim KW, Kang YJ, Kim KM, Lee HY, Kim KD and Bai SC. 2005. Long-term evaluation of extruded pellet diets compared to raw fish moist pellet for growing flounder *Paralichthys olivaceus*. *J Fish Aquat sci* 18, 225-230.

- Kim KW, Kang YJ, Lee HY, Kim KD, Choi SM, Bai SC and Park HS. 2006. Commercial scale evaluation of practical extruded pellet feed for the olive flounder (*Paralichthys olivaceus*). Korean J Fish Aquat Sci 39, 100-105. <https://doi.org/10.5657/kfas.2006.39.2.100>.
- Kim KW, Kang YJ, Kim KD, Son MH, Choi SM, Bai SC and Lee KJ. 2009b. Evaluation of extruded pellet for growth performance of olive flounder *Paralichthys olivaceus* in Jeju farm field. Korean J Fish Aquat Sci 42, 604-608. <https://doi.org/10.5657/kfas.2009.42.6.604>.
- Kim KW, Kim KD, Lee BJ, Han HS, An CM, Lee KJ, Bai SC and Kim SS. 2014a. Comparative evaluation of extruded and moist pellets for development of high efficiency extruded pellets in olive flounder *Paralichthys olivaceus*. Korean J Fish Aquat Sci 47, 801-809. <https://doi.org/10.5657/KFAS.2014.0801>.
- Kim KW, Wang X, Choi SM, Park GJ and Bai SC. 2004. Evaluation of optimum dietary protein-to-energy ratio in juvenile olive flounder *Paralichthys olivaceus* (Temminck et Schlegel). Aquac Res 35, 250-255. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2004.01003.x>.
- Kim SS, Kim KW, Kim KD, Lee BJ, Lee JH, Han HS, Kim JW and Lee KJ. 2014b. Comparison of extruded and moist pellets for growth performance, water quality and histology of olive flounder *Paralichthys olivaceus* in Jeju fish farm. J Fish Mar Sci Edu 26, 667-675. <https://doi.org/10.13000/JFMSE.2014.26.3.667>.
- Kim YO. 2020. Utilization of black soldier fly meal as a replacement of fishmeal in the diet of juvenile mandarin fish *Siniperca scherzeri*. J Fish Mar Sci Edu 32, 388-397. <https://doi.org/10.13000/JFMSE.2020.4.32.2.388>.
- Kroeckel S, Harjes AGE, Roth I, Katz H, Wuertz S, Susenbeth A and Schulz C. 2012. When a turbot catches a fly: Evaluation of a pre-pupae meal of the black soldier fly (*Hermetia illucens*) as fish meal substitute - Growth performance and chitin degradation in Juvenile turbot (*Psetta maxima*). Aquaculture 364-365, 345-352. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2012.08.041>.
- Kumar V, Fawole FJ, Romano N, Hossain MS, Labh SN, Overturn K and Small BC. 2021. Insect (black soldier fly, *Hermetia illucens*) meal supplementation prevents the soybean meal-induced intestinal enteritis in rainbow trout and health benefits of using insect oil. Fish Shellfish Immunol 109, 116-124. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2020.12.008>.
- Lee SM and Kim KD. 2005. Effect of various levels of lipid exchanged with dextrin at different protein level in diet on growth and body composition of juvenile flounder *Paralichthys olivaceus*. Aquac Nutr 11, 435-442. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2095.2005.00372.x>.
- Li S, Ji H, Zhang B, Tian BZ, Zhou J and Yu Haibo. 2016. Influence of black soldier fly (*Hermetia illucens*) larvae oil on growth performance, body composition, tissue fatty acid composition and lipid deposition in juvenile jian carp (*Cyprinus carpio* var. Jian). Aquaculture 465, 43-52. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2016.08.020>.
- Makkar HPS, Tran G, Heuze V and Ankers P. 2014. State-of-the-art on use of insects as animal feed. Animal Feed Sci Technol 197, 1-33. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2014.07.008>.
- Newton GL, Sheppard DC and Burtle GJ. 2008. Research briefs: Black soldier fly prepupae - A compelling alternative to fish meal and fish oil. In: Improving the Sustainability of Livestock and Poultry Production in the United States. S-1032.
- Park KH, Choi YC, Nam CH, Kim SH, Kim SY, Ma YJ and No SK. 2013. J Seric Entomol Sci 51, 95-98. <https://doi.org/10.7852/jses.2013.51.2.95>.
- Randazzo B, Zarantoniello M, Gioacchini G, Cardinaletti G, Belloni A, Giorgini E, Faccenda F, Cerri R, Tibaldi E and Olivetto I. 2021. Physiological response of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) to graded levels of *Hermetia illucens* or poultry by-product meals as single or combined substitute ingredients to dietary plant proteins. Aquaculture 538, 736550. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2021.736550>.
- Ravi C, Jeyashree A and Devi KR. 2011. Antimicrobial peptides from insects: an overview. Res Biotechnol 2, 1-7.
- Shiau SY and Yu YP. 1999. Dietary supplementation of chitin and chitosan depresses growth in tilapia, *Oreochromis niloticus* × *O. aureus*. Aquaculture 179, 1-4. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(99\)00177-5](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(99)00177-5).
- Shin J, Jo S, Ko D and Lee KJ. 2020. Replacing fish meal with black soldier fly larvae and mealworm larvae in diets Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*. Korean J Fish Aquat Sci 53, 900-908. <https://doi.org/10.5657/KFAS.2020.0900>.
- Shin J, Shin J, Eom G and Lee KJ. 2021. Effects of dietary mealworm *Tenebrio molitor* larvae and black soldier fly *Hermetia illucens* larvae on Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*: innate immune responses, anti-oxidant enzyme activity, disease resistance against *Vibrio parahaemolyticus* and Growth. Korean J Fish Aquat Sci 54, 624-633. <https://doi.org/10.5657/KFAS.2021.0624>.
- Son MH, Kim KD, Kim KW, Kim SK, Lee BJ and Han HS. 2013. Evaluation of commercial extruded pellets and raw fish based moist pellets for the growth and quality of Korean rockfish *Sebastes schegeli* cultured in net-cages. Korean J Fish Aquat Sci 46, 282-286. <https://doi.org/10.5657/KFAS.2013.0282>.
- Terova G, Gini E, Gasco L, Moroni F, Antonini M and Rimoldi S. 2021. Effects of full replacement of dietary fishmeal with insect meal from *Tenebrio molitor* on rainbow trout gut and skin microbiota. J Animal Sci Biotechnol 12, 30. <http://doi.org/10.1186/s40104-021-00551-9>.
- Van Huis A, Oonincx DGAB, Rojo S and Tomberlin JK. 2020. Insects as feed: house fly or black soldier fly?. J Insects Food Feed 6, 221-229. <https://doi.org/10.3920/JIFF2020.x003>.
- Wang G, Peng K, Hu J, Yi C, Chen X, Wu H and Huang Y.

2019. Evaluation of defatted black soldier fly (*Hermetia illucens* L.) larvae meal as an alternative protein ingredient for juvenile Japanese seabass (*Lateolabrax japonicas*) diets. *Aquaculture* 507, 144-154. <http://doi.org/10.1016/J.aquaculture.2019.04.023>.
- Xiao X, Jin P, Zheng L, Cai M, Yu Z, Yu J and Zhang J. 2018. Effects of black soldier fly (*Hermetia illucens*) larvae meal proteins as a fishmeal replacement on the growth and immune index of yellow catfish (*Pelteobagrus fulvidraco*). *Aqac Res* 49, 1569-1577. <https://doi.org/10.1111/are.13611>.
- Zarantonello M, Bruni L, Randazzo B, Vargas A, Gioacchini G, Truzzi C, Annibaldi A, Riolo P, Parisi, G, Cardinaletti G, Tulli F and Olivotto I. 2018. Partial dietary inclusion of *Hermetia illucens* (Black Soldier Fly) full-fat prepupae in zebrafish feed: Biometric, histological, biochemical, and molecular implications. *Zebrafish* 15, 519-532. <https://doi.org/10.1089/zeb.2018.1596>.
- Zhou JS, Liu SS, Ji H and Yu HB. 2017. Effect of replacing dietary fish meal with black soldier fly larvae meal on growth and fatty acid composition of jian carp (*Cyprinus carpio* var. jian). *Aquac Nutr* 24, 424-433. <https://doi.org/10.1111/anu.12574>.