



## 저작자표시-비영리 2.0 대한민국

이용자는 아래의 조건을 따르는 경우에 한하여 자유롭게

- 이 저작물을 복제, 배포, 전송, 전시, 공연 및 방송할 수 있습니다.
- 이차적 저작물을 작성할 수 있습니다.

다음과 같은 조건을 따라야 합니다:



저작자표시. 귀하는 원저작자를 표시하여야 합니다.



비영리. 귀하는 이 저작물을 영리 목적으로 이용할 수 없습니다.

- 귀하는, 이 저작물의 재이용이나 배포의 경우, 이 저작물에 적용된 이용허락조건을 명확하게 나타내어야 합니다.
- 저작권자로부터 별도의 허가를 받으면 이러한 조건들은 적용되지 않습니다.

저작권법에 따른 이용자의 권리는 위의 내용에 의하여 영향을 받지 않습니다.

이것은 [이용허락규약\(Legal Code\)](#)을 이해하기 쉽게 요약한 것입니다.

[Disclaimer](#) 

석사학위논문

흰다리새우 (*Litopenaeus vannamei*)  
사료 내 동애등에와 탈지동애등에  
의 어분대체효과

제주대학교 대학원

해양생명과학과

고 대 현

2022년 2월



흰다리새우(*Litopenaeus vannamei*)  
사료 내 동애등에와 탈지동애등에  
의 어분대체효과


지도교수 이 경 준


고 대 현


이 논문을 이학 석사학위 논문으로 제출함

2021년 12월

고대현의 이학 석사학위 논문을 인준함

심사위원장 \_\_\_\_\_ 이 봉 주 

위 원 \_\_\_\_\_ 이 경 준 

위 원 \_\_\_\_\_ 송 진 우 

제주대학교 대학원

2021년 12월



# CONTENTS

ABSTRACT .....	i
LIST OF FIGURES .....	i
LIST OF TABLES .....	i
 <b>Dietary fish meal replacement with whole or defatted black soldier fly larvae meal in diets for Pacific white shrimp <i>Litopenaeus vannamei</i></b>	
1 서론.....	1
2 재료 및 방법.....	4
2.1 어분 대체원료 선정 .....	4
2.2 실험사료 .....	9
2.3 실험새우 및 사육관리 .....	13
2.4 실험새우 무게측정 .....	13
2.5 샘플수집 .....	14
2.6 일반성분분석 .....	15
2.7 비특이적 면역력 분석 .....	16
2.8 아미노산 분석 .....	18
2.9 지방산 분석 .....	18
2.10 통계 분석 .....	19
3 결과.....	19
4 고찰.....	20
요약문 .....	33
참 고 문 헌.....	37
감사의 글.....	44

## ABSTRACT

Insects have received more and more attention for its great potential as protein source for aqua-feeds. Black soldier fly (*Hermetia illucens*) was known as the candidate insects for commercial use because of their short life cycle and low price. Recently, black soldier fly larvae meal is known to contain high content of protein and anti-microbial peptides, which has positive effects on growth performance and immunity. However, there is limited information on the insect meals for shrimp feeds. Therefore, the present study was conducted to examine the effect of partial replacement of fish meal with black soldier fly (BSF) larvae meal or its defatted (DBSF) meal in diet for *Litopenaeus vannamei*.

A tuna by-product meal as the major protein source in a control (Con) diet was replaced by 25, 50 and 75% BSF (designated as F15B5, F10B10 and F5B15, respectively), or DBSF (F15D5, F10D10 and F5D15, respectively). Quadruplicate groups of shrimp (initial body weight:  $0.77\pm 0.00\text{g}$ ) were hand-fed one of the diets six times daily for 8 weeks. Shrimp fed BSF or DBSF diets showed significantly higher growth performance, feed utilization, innate immunity and glutathione peroxidase activity than shrimp fed the Con diet. Survival of shrimp was not significantly influenced by the dietary treatments. The results of this study indicate that dietary supplementation of BSF or DBSF could be a good fish meal replacer or functional protein source in the diets and can improve growth and feed efficiency, innate immunity and antioxidant activity of Pacific white shrimp.

## LIST OF FIGURES

Figure 1. Alternative protein sources (black soldier fly larvae meal and defatted black soldier fly larvae meal) in diet for Pacific white shrimp <i>Litopenaeus vannamei</i> . .....	8
Figure 2. Preparation of experimental diet for feeding trial .....	9
Figure 3. Experimental rearing system (water capacity: 215L) and feeding the experimental diets for Pacific white shrimp. ....	13
Figure 4. Catching the shrimp in experimental tanks (left and middle) and measurement of shrimp weight (right) .....	14
Figure 5. Hemolymph and hepatopancreases collection of the Pacific white shrimp after the feeding trial. ....	15
Figure 6. Proximate composition analysis of the experimental diets and whole-body samples .....	16
Figure 7. Fatty acid composition analysis of experimental diets. ....	18
Figure 8. Growth performance and feed utilization of Pacific white shrimp <i>Litopenaeus vannamei</i> (initial body weight: 0.77 g) fed the experimental diets for 8 weeks. The experimental diets were prepared by replacement fish meal (control, Con) with 25, 50 and 75% black soldier fly (designated as F15B5, F10B10 and F5B15, respectively) or defatted black soldier fly (F15D5, F10D10 and F5D15, respectively). ....	31
Figure 9. Non-specific immune responses and anti-oxidation of Pacific white shrimp <i>Litopenaeus vannamei</i> (initial body weight: 0.77 g) fed the experimental diets for 8 weeks. The experimental diets were prepared by replacement fish meal (control, Con) with 25, 50 and 75% black soldier fly (designated as F15B5, F10B10 and F5B15, respectively) or defatted black soldier fly (F15D5, F10D10 and F5D15, respectively). ....	32

## LIST OF TABLES

Table 1. Proximate and essential amino acid composition of BSF (black soldier fly larvae meal), DBSF (defatted black soldier fly larvae meal) and FM (tuna by-product meal) for Pacific white shrimp <i>Litopenaeus vannamei</i> . .....	6
Table 2. Fatty acid composition of BSF (black soldier fly larvae meal), DBSF (defatted black soldier fly larvae meal) and FM (tuna by-product meal) for Pacific white shrimp <i>Litopenaeus vannamei</i> . .....	7
Table 3. Dietary formulation and proximate composition of the experimental diets for Pacific white shrimp <i>Litopenaeus vannamei</i> .....	10
Table 4. Essential and non-essential amino acid composition of the experimental diets for Pacific white shrimp <i>Litopenaeus vannamei</i> (% of protein). The experimental diets were prepared by replacement fish meal (control, Con) with 25, 50 and 75% black soldier fly (designated as F15B5, F10B10 and F5B15, respectively) or defatted black soldier fly (F15D5, F10D10 and F5D15, respectively). .....	11
Table 5. Fatty acid composition of experimental diets for Pacific white shrimp <i>Litopenaeus vannamei</i> (% in lipid). The experimental diets were prepared by replacement fish meal (control, Con) with 25, 50 and 75% black soldier fly (designated as F15B5, F10B10 and F5B15, respectively) or defatted black soldier fly (F15D5, F10D10 and F5D15, respectively). .....	12
Table 6. Growth performance and feed utilization for Pacific white shrimp <i>Litopenaeus vannamei</i> fed the experimental diets for 8 weeks. The experimental diets were prepared by replacement fish meal (control, Con) with 25, 50 and 75% black soldier fly (designated as F15B5, F10B10 and F5B15, respectively) or defatted black soldier fly (F15D5, F10D10 and F5D15, respectively). .....	24
Table 7. Non-specific immune responses and anti-oxidation for Pacific white shrimp <i>Litopenaeus vannamei</i> fed the seven experimental diets for 8 weeks. The experimental diets were prepared by replacement fish meal (control, Con) with 25, 50 and 75% black soldier fly (designated as F15B5, F10B10 and F5B15, respectively) or defatted black soldier fly (F15D5, F10D10 and F5D15, respectively). .....	25
Table 8. Whole-body proximate composition (% of wet basis) for Pacific white shrimp <i>Litopenaeus vannamei</i> fed the experimental diets for 8 weeks. The experimental diets were prepared by replacement fish meal (control, Con) with 25, 50 and 75%	

black soldier fly (designated as F15B5, F10B10 and F5B15, respectively) or defatted black soldier fly (F15D5, F10D10 and F5D15, respectively). .....	26
Table 9. Amino acids composition of muscle for Pacific white shrimp <i>Litopenaeus vannamei</i> fed the experimental diets for 8 weeks (% of total amino acid). The experimental diets were prepared by replacement fish meal (control, Con) with 25, 50 and 75% black soldier fly (designated as F15B5, F10B10 and F5B15, respectively) or defatted black soldier fly (F15D5, F10D10 and F5D15, respectively). .....	27
Table 10. Free amino acids composition of muscle for Pacific white shrimp <i>Litopenaeus vannamei</i> fed the experimental diets for 8 weeks. The experimental diets were prepared by replacement fish meal (control, Con) with 25, 50 and 75% black soldier fly (designated as F15B5, F10B10 and F5B15, respectively) or defatted black soldier fly (F15D5, F10D10 and F5D15, respectively). .....	28
Table 11. Fatty acid composition of muscle for Pacific white shrimp <i>Litopenaeus vannamei</i> (% in lipid). The experimental diets were prepared by replacement fish meal (control, Con) with 25, 50 and 75% black soldier fly (designated as F15B5, F10B10 and F5B15, respectively) or defatted black soldier fly (F15D5, F10D10 and F5D15, respectively). .....	29
Table 12. Fatty acid composition of hepatopancreas for Pacific white shrimp <i>Litopenaeus vannamei</i> (% in lipid). The experimental diets were prepared by replacement fish meal (control, Con) with 25, 50 and 75% black soldier fly (designated as F15B5, F10B10 and F5B15, respectively) or defatted black soldier fly (F15D5, F10D10 and F5D15, respectively). .....	30



# Dietary fish meal replacement with whole or defatted black soldier fly larvae meal in diets for Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*

## 1. 서론

어분(fish meal)은 정어리, 멸치, 명태, 대구 등 식용으로 이용가치가 낮은 어류로부터 생산되고 있으며, 단백질의 함량이 높고(60-70%) 우수한 아미노산 조성, 필수지방산, 비타민과 미네랄등이 풍부하여 양식사료의 주요 단백질원료로써 사용되고 있다(Xie et al., 2019) 그러나, 최근 기후의 변화, 어족자원의 남획 등으로 인해 어분의 공급이 일정하지 않고, 원료의 가격이 지속적으로 증가하는 추세에 있어 국제적인 배합사료 생산에 가장 큰 문제로서 대두되고 있다(Hassaan et al., 2019). Hardy (2010)는 양식 생산과정에 투입된 어족자원이 양식생산량보다 더 많이 소모되고 있는 현상을 두고 “지속 가능한 양식의 모순”이라 말했다. 어분의 가격 상승과 불안정한 공급에 따라 양식사료에 어분을 줄이기 위한 연구가 진행되고 있으며, 대체원료로써 식물성 단백질원료가 주로 사용되고 있다(Bu et al., 2018; Biswas et al., 2019). 식물성 단백질원료는 경제적이며, 지속 가능한 양식을 위한 요소 중 하나다(Gisbert et al., 2016). 그러나, 양식사료에 어분을 식물성 단백질원료로만 대체하면 제한아미노산과 항영양인자로 인한 성장률, 사료효율, 사료섭이량, 소화율 저하 등으로 부정적인 영향을 미칠 수 있다(de Moura et al., 2019). 이를 해결하고자 어분을 대체할 수 있는 영양적으로 우수하고 가격이 저렴하며, 공급이 안정적인 어분 대체 단백질원의 연구가 필요한 실정이다.

곤충(insect)은 어류에 비해 성장속도가 빠르며 사육비용이 비교적 저렴하기 때문에 단백질원으로써 각광받고 있다. 세계 각국에서도 곤충을 중요한 미래의 산업자원으로 주목하고 있으며, 국제식량농업기구(Food and Agriculture Organization of the United Nations)에서도 지구의 식량 수급 문제의 해결방안으로 곤충을 미래 일류의 단백질 공급 식품으로 선정했다(Berg et al., 2017). 곤충은 어획에 의존하여 생산하는 어분과 달리 사육이 가능하고, 심각한 환경문제로서 대두되고 있는 음식물찌꺼기와 각종 부산물(by-product)과 축산 분뇨를 먹이로 사용할 수 있는 장점이 있다. 또한 곤충은 사료효율이 소, 돼지, 닭 등의 가축에 비해 월등히 높아 비교적 적은 양의 먹이로 사육이 가능하며, 곤충의 배설물은 농업용 비료로 활용할 수 있어 친환경 원료로 평가받고 있다(Van Huis et al., 2013; Makkar et al., 2014). 전세계적으로 곤충의 산업화를 위해 대규모 생산설비를 구축하고 있으며, 식용·약용 등 다양한 분야에서 곤충을 이용한 연구가 활발하게 진행되고 있다(Nogales-Mérida et al., 2019). 최근 곤충박(insect meal)을 활용하여 양식사료 내 어분을 대체하는 연구가 수행되고 있다(Motte et al., 2019). 곤충박은 단백질, 비타민, 미네랄과 같은 필수 영양소를 풍부하게 함유하고 있으며, 체내 다양한 항균펩타이드(antimicrobial peptides, AMPs)를 함유하고 있어, 새우의 비특이적 면역력과 질병저항성을 향상시킬 수 있다고 보고되었다(Nogales-Mérida et al., 2019; Shin et al., 2020; Richardson et al., 2021). 그러나, 새우를 대상으로 곤충박의 이용성을 평가한 연구는 미흡한 실정이다.

동애등에(black soldier fly, BSF; *Hermetia illucens*) 는 고밀도로 사육이 가능하며, 대량생산에 적합하기 때문에 산업적인 규모로 생산되고 있다(Makker et al., 2014, Van Huis and Oonincx, 2017). 동애등에는 먹이가 충분할 경우, 유충이 될 때까지 약 2 개월 정도 걸리며, 그렇지 않은 경우에는 약 4 개월 정도 소요된다(Makkar et al.,

2014). 동애등에 유충은 높은 단백질(31-59%)과 지질(17-49%)을 함유하고 있으며 아미노산 조성이 어분과 유사하다(Barroso et al., 2014; Shin et al., 2020). 탈지동애등에분 생산 과정에서 부산물인 동애등에유 또한 Linoleic acid (C18:2n6c)와 같은 불포화지방산을 다량 함유하고 있어 사료 내 지질원으로 활용이 가능할 것으로 보고되고 있다(Li et al., 2016a).

탈지동애등에는 양식사료 내 단백질원으로써 각광받고 있음에도 불구하고, 양식어류 및 새우를 대상으로 이용성을 평가한 연구는 미흡한 실정이다. 어류 사료 내 탈지동애등의 첨가에 관한 연구는 대서양 연어(*Salmo salar*) (Belghit et al., 2018), 무지개송어(*Oncorhynchus mykiss*) (Renna et al., 2017; Dumas et al., 2018), 잉어(*Cyprinus carpio* var. Jian) (Li et al., 2017), 방어(*Seriola quinqueradiata*) (Ido et al., 2021) 등 다양한 어류를 대상으로 진행되었다. 그러나, 갑각류 사료 내 탈지동애등의 첨가의 관한 연구는 부족하며, 새우 사료 내 탈지동애등의 첨가에 관한 연구는 흰다리새우(*Litopenaeus vannamei*) (Cummins et al., 2017)를 대상으로 일부만 진행되어 미흡한 실정이다. 동애등에의 지질은 monounsaturated fatty acids (MUFA)의 함량이 높아(20-30%) 사료에 동애등에를 다량 사용 할 경우, 지방산의 불균형으로 인해 어류의 성장에 부정적인 영향을 미칠 수 있다(Nogales-Mérida et al., 2019). 따라서, 새우 사료 내 곤충박의 이용효율을 높이기 위해서는 탈지 혹은 발효 등의 가공을 거친 곤충박을 이용하는 것이 보다 효율적일 것으로 판단된다.

최근 전세계에서 새우 양식 생산량은 급속한 증가 추세를 보이고 있다. 그 중 흰다리새우(*Litopenaeus vannamei*)는 염분에 대한 내성이 높고, 양식 사육기간이 짧을 뿐만 아니라, 무병종묘(specific pathogen free, SPF) 생산 기술이 확립됨에 따라 세계 새우양식산업의 주요 대상 종으로 각광받고 있다(Saoud et al., 2003). 흰다리새우의 전세계 총 생산량은 2010 년 264 만 8 천 톤에서

2018 년도에는 496 만 6 천 톤으로 8 년 동안 약 87%의 성장률을 기록하였으며(FAO, 2020), 국내 흰다리새우 양식 생산량은 2006 년 661 톤에서 2019 년도에는 7,542 톤으로(KOSIS, 2020), 13 년 만에 약 1141%의 성장률을 보이며 중요성이 매우 높다. 따라서, 본 연구에서는 흰다리새우 사료에 어분대체원료로서 동애등애와 탈지동애등애의 이용가능성을 평가하고자 수행되었다.

## 2. 재료 및 방법

### 2.1 어분 대체원료 선정

흰다리새우 사료에 어분 대체원료를 찾기 위해 2 가지 원료(동애등애, 탈지동애등애)를 후보군으로 선정하고 영양소 함량을 분석하였다(Fig 1.).

#### 1) 동애등애(BSF)

: 흰다리새우 사료에 어분 대체원료로 사용 가능할 뿐 아니라 성장, 사료효율, 면역력이 증가했다고 보고되었다. 동애등애는 먹이, 사육환경, 가공 방법 등에 따라 체성분에 차이를 보이기 때문에 원산지에 따른 이용성 평가가 필요하다.

#### 2) 탈지동애등애(DBSF)

: 탈지동애등애는 어류 사료에 어분 대체원료로 사용 가능성이 보고되었지만, 흰다리새우를 대상으로는 진행되지 않았다.

위 2 가지 어분 대체원료와 참치 부산물분의 일반성분함량, 아미노산 함량, 지방산 함량은 Table 1, Table 2 에 각각 나타내었다. 조단백질 함량은 DBSF 가 61 %로 가장 높았고, 조지질의 함량은 BSF 가 37 %로 가장 높았다. 필수아미노산은 histidine, isoleucine, leucine, lysine, phenylalanine, valine 함량은

BSF 가 다른 원료와 비교하여 더 높았다. Arginine, threonine 함량은 DBSF 가 타 원료보다 더 높았다. DHA 와 EPA 의 함량은 FM 이 가장 높았다. Omega-3 지방산의 함량은 FM 이 20.4 %로 가장 높았다. Omega-6 지방산의 함량은 DBSF 가 18.5 %로 가장 높았으며, BSF (16.6 %), FM (1.40 %) 순으로 나타났다.

본 연구는 흰다리새우 저어분사료의 어분 대체율 향상 연구로, 흰다리새우 사료에 어분대체 원료로써 동애등을 두 가지 형태(whole, defatted)로 첨가하여 이용 가능성을 평가하였다.

Table 1. Proximate and essential amino acid composition of BSF (black soldier fly larvae meal), DBSF (defatted black soldier fly larvae meal) and FM (tuna by-product meal) for Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*.

<b>Ingredients</b>	<b>BSF</b>	<b>DBSF</b>	<b>FM</b>
Proximate composition (% of dry matter)			
Crude protein	39.5	61.2	59.6
Crude lipid	37.4	6.16	17.1
Crude ash	12.9	15.0	20.6
Moisture	2.75	7.90	8.11
Essential amino acid (% of Protein)			
Arginine	5.36	5.89	4.71
Histidine	8.38	3.39	3.15
Isoleucine	4.78	4.48	3.64
Leucine	7.23	6.99	5.79
Lysine	5.93	5.87	5.89
Methionie	0.77	0.77	1.74
Phenylalanine	3.96	3.94	3.09
Threonine	4.15	4.23	3.42
Valine	6.70	6.27	4.11

Table 2. Fatty acid composition of BSF (black soldier fly larvae meal), DBSF (defatted black soldier fly larvae meal) and FM (tuna by-product meal) for Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*.

Fatty acids	BSF	DBSF	FM
12:0	23.2	20.0	0.10
14:0	5.30	4.28	14.9
16:0	19.0	19.6	40.3
16:1	2.42	2.94	4.80
18:0	4.82	5.92	10.9
18:1n9(OA)	23.4	26.4	4.50
18:2n6(LA)	16.3	18.5	0.30
18:3n3(LNA)	2.18	2.34	0.30
20:4n6	0.28	-	1.10
20:5n3(EPA)	1.32	-	12.2
22:6n3(DHA)	0.26	-	7.90
SFA <sup>1</sup>	52.8	49.9	66.6
MUFA <sup>2</sup>	26.0	29.3	9.60
PUFA <sup>3</sup>	20.3	20.8	21.9
$\sum$ n-3 <sup>4</sup>	3.76	2.34	20.4
$\sum$ n-6 <sup>5</sup>	16.6	18.5	1.40
n-3/n-6	0.23	0.13	14.6

<sup>1</sup>Saturated fatty acid: 12:0, 14:0, 16:0, 18:0

<sup>2</sup>Monounsaturated fatty acid: 16:1, 18:1n9

<sup>3</sup>Polyunsaturated fatty acid: 18:2n6, 18:3n3, 20:4n6, 20:5n3, 22:6n3

<sup>4</sup>Omega-3fatty acid: 18:3n3, 20:5n3, 22:6n3

<sup>5</sup>Omega-6fatty acid: 18:2n6, 20:4n6

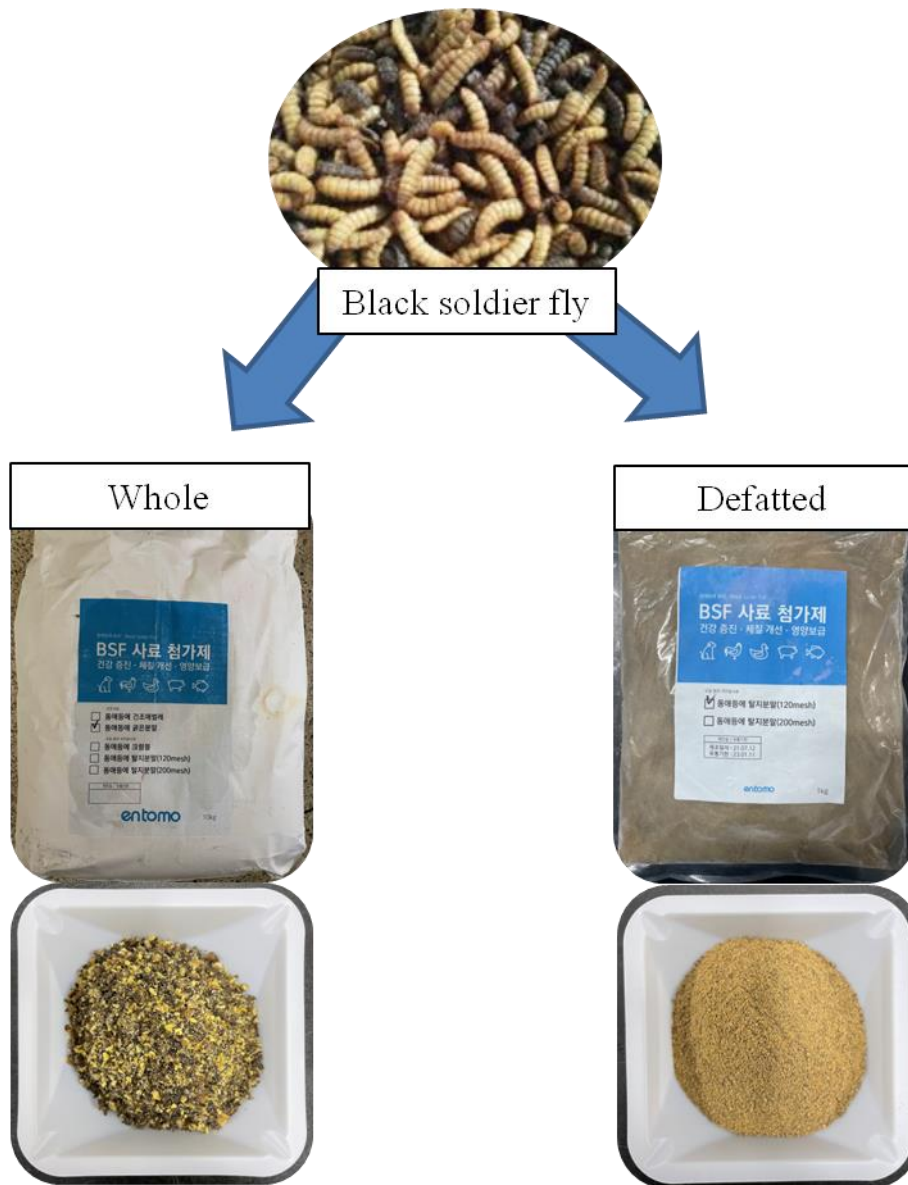


Figure 1. Alternative protein sources (black soldier fly larvae meal and defatted black soldier fly larvae meal) in diet for Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*



## 2.2 실험사료

실험사료의 배합비는 Table 3에 나타내었다. 실험에 사용된 동애등에(비탈지) 유충과 탈지동애등에 유충은 (주)entomo (Cheongju, Korea)에서 구입하여 사용하였다. 실험사료는 참치부산물 20% 사용한 대조사료(Con)에 동애등에(비탈지)와 탈지동애등에 분말로 각각 25, 50, 75% 대체하였다(F15B5, F10B10, F5B15, F15D5, F10D10, F5D15). 모든 사료의 조단백질(37.8%)과 조지질(9.3%)의 함량은 흰다리새우의 영양소 요구량을 충족시키도록 제작하였다(Table 1). 실험사료의 제조는 파쇄기를 이용하여 모든 사료원을 미세한 분말로 만든 후, 각 사료조성표에 따라 측량하여 혼합하였다. 실험사료는 사료원에 어유(cod liver oil)와 증류수를 첨가한 후, 상업용 믹서기를 사용하여 혼합되었다. 혼합물은 펠렛성형기(SP-50, Gungang Engineering, Daegu, Korea)를 이용하여 2 mm 크기로 제작하였다(Fig 2). 사출된 사료는 건조 후(30°C, 24 h)는 사료 공급 전까지 냉동(-20°C)보관 되었다. 실험사료에 대한 아미노산과 지방산 조성은 Table 4와 Table 5에 각각 나타내었다.



Figure 2. Preparation of experimental diet for feeding trial

Table 3. Dietary formulation and proximate composition of the experimental diets for pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*.

Ingredients	Con	F15B5	F10B1 0	F5B15	F15D5	F10D1 0	F5D15
Tuna by product meal <sup>1</sup>	20.0	15.0	10.0	5.00	15.0	10.0	5.00
BSF <sup>2</sup>	-	5.00	10.0	15.0	-	-	-
BSF (defatted) <sup>2</sup>	-	-	-	-	5.00	10.0	15.0
SPC <sup>3</sup>	1.00	2.50	4.00	5.50	1.00	0.80	0.65
Soybean meal <sup>3</sup>	36.0	36.0	36.0	36.0	36.0	36.0	36.0
Squid liver powder	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00
Wheat flour <sup>4</sup>	20.0	20.0	20.0	20.0	20.0	20.0	20.0
Starch	9.30	8.30	7.30	6.30	8.20	7.35	6.45
Cod liver oil <sup>5</sup>	3.00	2.00	1.00	0.00	3.60	4.15	4.70
Mineral Mix <sup>6</sup>	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00
Vitamin Mix <sup>7</sup>	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
Lecithin	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
Cholesterol	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20
Choline chloride	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50
MCP <sup>8</sup>	1.00	1.50	2.00	2.50	1.50	2.00	2.50
<i>Proximate composition (% of dry matter)</i>							
Crude protein	7.15	7.05	7.23	7.33	7.25	7.87	7.33
Crude lipid	38.3	37.7	38.0	38.1	38.2	37.7	36.9
Ash	8.81	7.84	9.46	9.25	9.57	9.93	9.86
Moisture	9.40	9.73	9.69	9.70	9.72	10.1	10.5

<sup>1</sup>Wooginfeed Industry Co. Ltd, Incheon, Korea

<sup>2</sup>Black soldier fly, Crop. Entomo, Cheongju, Korea

<sup>3</sup>Soy protein concentrate, Solae LLC Inc, Saint ILuis, U.S.A

<sup>4</sup>Deahan Flour Co. Ltd, Incheon, Korea

<sup>5</sup>E-wha oil & fat Industry Corp, Busan, Korea

<sup>6</sup>Mineral mixture contains (g/kg): MgSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub> O, 80; NaH<sub>2</sub> PO<sub>4</sub> · 2H<sub>2</sub> O, 370; KCl, 130; Ferric citrate, 40; ZnSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub> O, 20 Ca-lactate, 356.5; CuCl, 0.2; AlCl<sub>3</sub> · 6H<sub>2</sub> O, 0.15; Na<sub>2</sub> Se<sub>2</sub> O<sub>3</sub>, 0.01; MnSO<sub>4</sub> · H<sub>2</sub> O, 2; CoCl<sub>2</sub> · 6H<sub>2</sub> O, 1

<sup>7</sup>Vitamin premix contains (g/kg): L-ascorbic acid, 121.2; DL-a 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; Dbiotin, 0.27; folic acid, 0.68; p-amino benzoic acid, 18.2; menadione, 1.8; retinyl acetate, 0.73; cholecalciferol, 0.003; cyanocobalamin, 0.003

<sup>8</sup>Mono-calcium phosphate

Table 4. Essential and non-essential amino acid composition of the experimental diets for pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* (% of protein). The experimental diets were prepared by replacement fish meal (control, Con) with 25, 50 and 75% black soldier fly (designated as F15B5, F10B10 and F5B15, respectively) or defatted black soldier fly (F15D5, F10D10 and F5D15, respectively).

<b>AAs</b>	<b>Con</b>	<b>F15B5</b>	<b>F10B10</b>	<b>F5B15</b>	<b>F15D5</b>	<b>F10D10</b>	<b>F5D15</b>
<b>EAA<sup>1</sup></b>							
Arginine	2.56	2.37	2.48	2.67	2.48	2.37	2.40
Histidine	1.05	0.93	0.97	1.02	0.96	0.93	0.91
Isoleucine	1.73	1.66	1.68	1.74	1.63	1.61	1.59
Leucine	2.89	2.71	2.77	2.85	2.69	2.65	2.62
Lysine	2.08	1.89	2.92	2.03	1.95	1.86	1.80
Methionie	0.66	0.59	0.58	0.55	0.58	0.56	0.52
Phenylalanine	1.81	1.72	1.77	1.82	1.70	1.69	1.68
Threonine	1.60	1.47	1.49	1.54	1.49	1.43	1.43
Valin	1.90	1.77	1.85	1.92	1.81	1.80	1.80
<b>NEAA<sup>2</sup></b>							
Aspartate	3.90	3.65	3.79	3.91	3.63	3.57	3.55
Glutamate	7.72	7.31	7.49	7.69	7.17	7.18	7.19
Serine	1.86	1.76	1.81	1.86	1.74	1.73	1.75
Glycine	1.93	1.73	1.72	1.76	1.77	1.71	1.65
Alanine	1.96	1.81	1.84	1.90	1.85	1.84	1.86
Taurine	0.10	0.08	0.06	0.04	0.08	0.06	0.05
Tyrosine	0.98	0.96	1.11	1.15	1.04	1.03	10.6
Proline	1.97	1.65	1.98	2.14	2.17	1.71	1.84

<sup>1</sup>Essential amino acid

<sup>2</sup>Non-essential amino acidl.

Table 5. Fatty acid composition of experimental diets for pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* (% in lipid). The experimental diets were prepared by replacement fish meal (control, Con) with 25, 50 and 75% black soldier fly (designated as F15B5, F10B10 and F5B15, respectively) or defatted black soldier fly (F15D5, F10D10 and F5D15, respectively).

Fatty acids	Con	F15B5	F10B10	F5B15	F15D5	F10D10	F5D15
12:0	0.00	8.96	16.1	22.5	3.09	2.93	3.89
14:0	3.66	3.68	3.54	3.58	3.68	3.62	3.64
16:0	24.6	22.1	19.8	17.9	21.5	20.3	18.8
16:1	4.22	3.25	2.48	1.80	3.91	3.77	3.71
18:0	7.16	6.25	5.72	4.59	5.77	5.40	4.76
18:1n9	15.8	15.7	17.1	18.0	17.2	17.5	17.7
18:2n6	23.9	24.7	26.1	27.3	22.2	22.8	22.8
18:3n3	4.69	4.39	3.47	2.68	5.31	5.98	6.28
20:4n6	6.55	4.58	2.13	0.22	8.43	8.85	9.70
20:5n3	4.43	2.93	1.78	0.73	4.58	4.91	5.18
22:6n3	5.03	3.39	1.78	0.70	4.40	3.96	3.64
SFA <sup>1</sup>	35.4	41.0	45.2	48.6	34.0	32.3	31.1
MUFA <sup>2</sup>	20.0	19.0	19.6	19.6	21.1	21.3	21.4
PUFA <sup>3</sup>	44.6	40.0	35.2	31.6	44.9	46.5	47.6
$\sum$ n-3 <sup>4</sup>	14.2	10.7	7.00	4.10	14.3	14.8	15.1
$\sum$ n-6 <sup>5</sup>	30.5	29.3	28.2	27.5	30.6	31.7	32.5

<sup>1</sup>Saturated fatty acid: 12:0, 14:0, 16:0, 18:0

<sup>2</sup>Monounsaturated fatty acid: 16:1, 18:1n9

<sup>3</sup>Polyunsaturated fatty acid: 18:2n6, 18:3n3, 20:4n6, 20:5n3, 22:6n3

<sup>4</sup>Omega-3fatty acid: 18:3n3, 20:5n3, 22:6n3

<sup>5</sup>Omega-6fatty acid: 18:2n6, 20:4n6.

### 2.3 실험새우 및 사육관리

실험새우는 제주도 표선면에 위치한 탐라새우에서 구입하여 제주대학교 해양과학연구소로 운송하였다. 실험새우는 실험환경에 적응시키기 위해 시판배합사료(CJ 제일제당)를 공급하면서 2주간 적응시킨 후 사육실험에 이용하였다. 예비사육 후 새우( $0.77 \pm 0.00$  g)를 32개의 acrylonitrile butadiene styrene (ABS) 수조(215 L)에 실험구 당 20미씩 4반복으로 배치하였다(Fig 3). 사육실험은 총 8주 동안 진행하였다. 실험사료는 1일 6회(08:30, 10:30, 12:30, 14:30, 16:30, 18:30 h)에 걸쳐 새우체중의 7-10%에 맞추어 제한공급 하였다. 모든 사육수조에 충분한 용존산소를 유지하기 위해 aeration을 설치하였고, 사육수온은 자동수중온도조절기에 의해 유지되었다. 사육실험 기간 동안 각 수조의 수온은 매일 측정하였고, 환수를 진행할 때마다 용존산소(dissolve oxygen; DO), pH, 염분을 측정하였다. 실험기간 중 평균수온은  $30.1 \pm 0.31^\circ\text{C}$ , 용존산소는  $6.55 \pm 0.09$  mg/L, pH는  $7.50 \pm 0.02$ , 염분은  $29.8 \pm 0.18$  psu로 나타났다.



Figure 3. Experimental rearing system (water capacity: 215L) and feeding the experimental diets for Pacific white shrimp

### 2.4 실험새우 무게측정

실험새우의 무게는 4 주 간격으로 실시하였으며, 측정 18 시간 전부터 실험사료의 공급을 중단하였다(Fig 4). 최종무게 측정 후, 수조당 3 마리의 흰다리새우를 무작위로 선별하여(실험구 당 12 마리) 얼음물에 마취시킨 후, 일반성분분석을 냉동고(-20 °C)에 보관되었다. 실험새우의 성장률과 사료효율 관련 조사항목과 계산식은 다음과 같다.

- 성장률(WG; weight gain, %) =  $100 \times (\text{final mean body weight} - \text{initial mean body weight}) / \text{initial mean body weight}$

- 일간성장률(SGR; specific growth rate, %) =  $[(\log_e \text{ final body weight} - \log_e \text{ initial body weight}) / \text{days}] \times 100$

- 사료계수(FCR; feed conversion ratio) =  $\text{dry feed fed} / \text{wet weight gain}$

- 단백질이용효율(PER; protein efficiency ratio) =  $\text{wet weight gain} / \text{total protein given}$

- 생존율(Survival, %) =  $\text{number of shrimp at end of feeding trial} / \text{number of shrimp stocked} \times 100$



Figure 4. Catching the shrimp in experimental tanks (left and middle) and measurement of shrimp weight (right)

## 2.5 샘플수집

최종무게 측정 후, 각 수조 당 6마리의 새우를 무작위로 선별하여 얼음 이용하여 마취시켰다. 최종 무게측정 후, 수조당 6마리의 흰다리새우를 무작위로 선

별하여(실험구 당 24마리) 얼음물에 마취시킨 후, Alsever's 용액(Alsever's solution, Sigma, St. Louis, MO, USA)이 처리된 주사기를 이용하여 hemolymph를 채혈하였다 (Fig 5). Hemolymph는 비특이적 면역분석을 위해 원심분리(800 g, 20 min)하여 혈장 (plasma)을 분리하였다. 혈장은 분석 전까지 초저온냉동고에 보관(-80°C)되었다. Hemolymph 채혈 후, 6마리 중 3마리의 간췌장은 적출하여, 지방산 분석을 위해 액체 질소를 이용하여 급속 냉동 후 초저온냉동고(-80°C)에 보관되었다. 남은 3마리의 흰다리새우는 muscle 지방산 분석에 사용되었다.

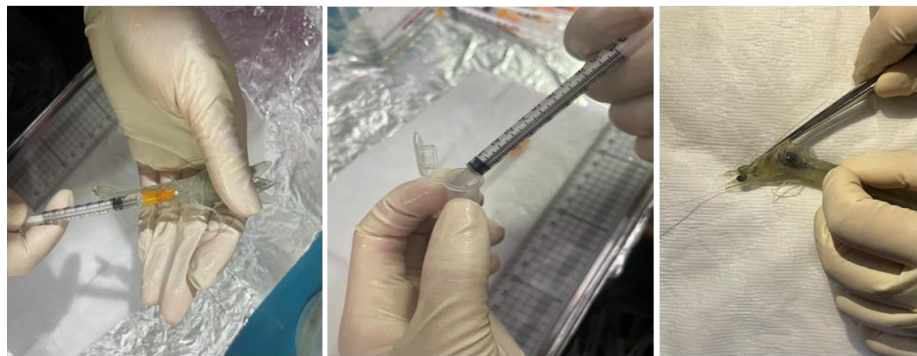


Figure 5. Hemolymph and hepatopancreases collection of the Pacific white shrimp after the feeding trial

## 2.6 일반성분분석

사료원, 실험사료, 전어체에 대한 일반성분분석은 AOAC (1995) 방법에 따라 수분은 상압가열건조법(125 °C, 3 h), 조회분은 직접회화로법(550 °C, 6 h), 단백질은 자동 조단백분석기 (Kjeltec System 2300, Sweden)로 분석되었으며, 지방은 Folch et al. (1957)의 방법에 따라 Soxhlet 추출장치(Soxhlet Heater System C-SH6, Korea)를 이용하여 분석하였다(Fig 6).



Figure 6. Proximate composition analysis of the experimental diets and whole-body samples

## 2.7 비특이적 면역력 분석

채취된 hemolymph는 phenoloxidas (PO), lysozyme, glutathione peroxidase(GPx), nito-blue tetrazolium (NBT) 활성 분석에 사용되었다. 비특이적 면역력 분석 방법은 다음과 같다.

NBT 활성은 Zhang et al. (2013) 의 방법을 기초로 분석하였다. NBT는 대식세포 활성도를 나타내며 선천적 면역반응의 중요한 지표로 알려져있다. 분석 방법은 다음과 같다. Hemolymph 50  $\mu$ l, 와 Hank's Balanced Salt Solution 200  $\mu$ l를 2 mL eppendorf tube에 넣고 30분 동안 반응시켰다. 반응혼합물에 Zymosan (0.1% Hank's solution) 100  $\mu$ l를 넣고 2시간 반응시켰다. 반응혼합물에 NBT Solution (0.3%) 100  $\mu$ l를 넣고 2시간 반응시켰다. Methanol (100%) 100  $\mu$ l 첨가하고 원심분리(6,500 rpm, 10 min) 후 상층액을 버려내고 Methanol (70%) 100  $\mu$ l로 3번 세척 후 건조하였다. 2M KOH 700  $\mu$ l를 넣고 Dimethyl sulfoxide 800  $\mu$ l를 넣고 흡광도(620 nm)를 측정하였다.

PO 활성은 Hernandez-Lopez et al. (1996)의 분석 방법을 기초로 분석하였다. PO는 갑각류의 방어기작에 매우 중요한 역할을 하는 효소로써 옴소닌을 생산하여 혈구의 식세포 활동과 외래 항원에 대한 피복작용을 촉진시키며 혈액응고 반응에 참여한다. Hemolymph 내 PO 활성은 새우의 선천성 면역의 중요한 지표로 사용된다. 분석 방법은 다음과 같다. 96-well plate에 hemolymph와



trypsin을 각각 50  $\mu$ l씩 첨가하고 10분간 반응 후 L-DOPA를 넣어준다. 다시 10분간 반응하고 microplate reader를 이용하여 492 nm에서 흡광도를 측정한다.

Lysozyme 활성은 Paglia and Valentine (1967) 의 방법을 기초로 분석하였다. Lysozyme은 비특이적 면역반응에 속하는 항균효소 중의 하나로써, 특정 세균에 대한 특이적인 항균작용이 아닌 비특이적으로 다양한 균에 대한 항균작용을 나타내는 효소이다. 새우 사료 내 면역활성인자(e.g.  $\beta$ -glucan, probiotics 등) 첨가하면 새우의 hemolymph에 있어서 증가된 lysozyme 활성을 확인할 수 있으며, 이러한 결과는 비특이적 면역반응의 증가 또는 새우의 면역력 향상을 나타내는 결과로 해석된다. 분석 방법은 다음과 같다. *Micrococcus lysodeikticus* (0.75 mg/ml)를 phosphate buffer (pH 6.4)에 현탁하고 96-well plate에 균 200  $\mu$ l와 hemolymph 20  $\mu$ l를 각각 첨가한다. Microplate reader를 이용하여 570 nm에서 0, 30, 60분 후에 각각 흡광도를 측정한다.

GPx 활성은 GPx assay kit (Biovision, Inc., Milpitas, CA, USA)를 이용하여 분석하였다. GPx는 식세포작용이나 생리학적 대사과정 중에 발생하는 과산화수소와 지질과산화물을 분해하는 대표적인 항산화효소이다. 체내에서 생성되는 주요 과산화효소인 superoxide dismutase, catalase와 함께 선천면역에 대한 주요 지표로 사용되며, GPx 활성 증가는 새우의 면역력을 강화시키는 것으로 알려져 있다. 분석 방법은 다음과 같다. Cumenehydroperoxide는 peroxide substrate (ROOH), glutathione reductase (GSSG-R) 및 NADPH (b-Nicotinamide Adenine Denucleotide Phosphate, Reduced)가 섞인 반응혼합물을 사용하였다. Hemolymph 50  $\mu$ l, 반응혼합물 40  $\mu$ l를 각각 96-well plate에 넣고 15분 동안 반응시켰다. 그 후 cumenehydroperoxide 10  $\mu$ l를 첨가하고 흡광도(340 nm)를 측정하였다. 5분 후 다시 한번 흡광도를 측정하였고 GPx 활성은 nmol/min/mL로 계산하였다.

## 2.8 아미노산 분석

전처리는 시료를 균질하고 6N HCl 30 mL 에 혼합한 후, 130°C 에서 24 시간 가수분해하였다. 분해된 시료는 water bath (55°C)를 이용하여 2 회 감압농축 시킨 후, 25 ml volumetric flask 에 정용 하였다. 0.4 µm syringe filter 로 여과 후, 아미노산 분석기(Sykam amino acid analyzer S433, Germany)를 이용하여 분석하였다.

## 2.9 지방산 분석

지방산은 Garces and Mancha (1993)의 방법을 기초로 추출하였다(Fig 7). 추출된 지방 100 mg 을 0.5N NaOH methanol 1.5 ml 를 넣고 질소 충전 후, heating block (85°C, 2h)을 사용하여 가열하였다. 30-40°C 로 식힌 후 hexane 1 ml 을 넣고 질소 충전 후, 30 초간 혼합기를 이용하여 혼합하였다. 포화생리식염수를 넣고 hexane 층의 지방산을 피펫으로 추출하였다. 분리된 지방산은 capillary column (112-88A7, 100m×0.25 mm, film thickness 0.20 µm, Agilent Technologies, USA)이 장착된 gas chromatography (6800GC, Agilent, San Francisco, USA)를 통해 분석되었다. Carrier gas 는 수소를 사용하였고, oven 의 온도는 140°C에서 240°C까지 4°C/min 으로 증가시켰다. Inject 의 온도는 240°C, detector 의 온도는 240°C로 설정하였다. Standard sample 은 PUFA 37 component FAME Mix (Supelco, Bellefonte, USA)를 사용하였다.

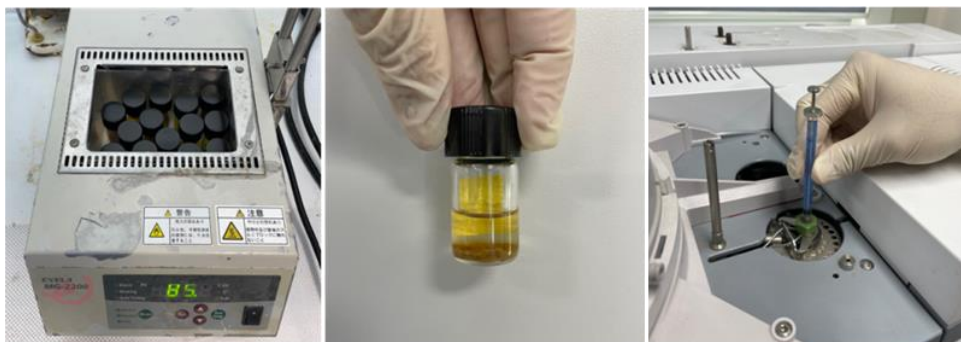


Figure 7. Fatty acid composition analysis of experimental diets.

## 2.10 통계분석

실험사료의 배치는 완전임의배치법(randomized complete block design)에 따라 실시하였고, 모든 결과는 SPSS (Version 24.0, International Business Machines Co., New York, NY, USA)프로그램을 이용하여 One-way ANOVA로 통계 분석하였다. 결과값의 유의차는 Duncan's multiple range test ( $P < 0.05$ )로 비교하였다. 데이터는 평균값 ± 표준편차(mean ± SD)로 나타내었다. 백분율 데이터는 arcsine 변형 값으로 계산하여 통계 분석하였다.

## 3. 결과

8주 동안의 사육실험 성장, 사료효율 결과는 Table 6와 Figure 8에 나타내었다. 흥미롭게도 최종평균무게(FBW), 성장률(WG), 일간성장률(SGR)은 모든 실험구가 대조구에 비해 유의적으로 높았다. 탈지동애등에 실험구(F15D5, F10D10, F5D15)가 동애등에 실험구(F15B5, F10B10, F5B15)와 비교하여 높은 성장을 보였다. 사료계수(FCR)는 모든 실험구가 대조구에 비해 유의적으로 낮았다. 단백질이용효율(PER)은 모든 실험구가 대조구에 비해 유의적으로 높았다. 생존율은 실험구와 대조구 사이에 유의적인 차이를 보이지 않았다. 실험새우 hemolymph의 비특이적 면역력 분석 결과는 Table 7과 Figure 9에 나타내었다. NBT 활성은 F15B5, F5B15, F10D10, F15D15 실험구가 대조구에 비해 유의적으로 높게 나타났다. PO 활성은 F15B5, F5B15, F10D10, F15D15 실험구가 대조구에 비해 유의적으로 높게 나타났다. Lysozyme 활성은 모든 실험구가 대조구에 비해 유의적으로 높게 나타났다. GPx 활성은 F10B10, F15D15 실험구가 대조구에 비해

유의적으로 높게 나타났다. 전하체의 일반성분조성에 대한 분석 결과는 Table 8에 나타내었다. 조단백질은 F10D10 실험구가 대조구에 비해 유의적으로 높았다. 조회분은 F10D10 실험구가 F15B5 실험구에 비해 유의적으로 높았다. 조지질과 수분은 실험구와 대조구사이에 유의적인 차이를 보이지 않았다. 실험새우 근육의 구성 아미노산과 유리 아미노산 함량 분석결과는 Table 9, Table 10에 각각 나타내었다. 구성아미노산과 유리아미노산은 실험구와 대조구 사이에 큰 차이를 보이지 않았다. 실험새우 근육의 지방산 함량 분석결과는 Table 11에 나타내었다. Oleic acid (C18:1n9)는 모든 실험구가 대조구에 비해 유의적으로 높은 값을 보였다. 단일불포화지방산(Monounsaturated fatty acid, MUFA)의 총 함량은 모든 실험구가 대조구에 비해 유의적으로 높은 값을 보였다. 다가불포화지방산(Polyunsaturated fatty acid, PUFA)의 총 함량은 F10B10, F5B15, F10D10, F5D15 실험구가 대조구에 비해 유의적으로 높은 값을 보였다. Omega-3 지방산의 총 함량은 F10D10, F5D15 실험구가 대조구에 비해 유의적으로 높은 값을 보였다. 실험새우 간체장의 지방산 함량 분석결과는 Table 12에 나타내었다. 실험새우 간체장의 지방산 함량 분석 결과, lauric acid (C12:0)는 모든 실험구가 대조구에 비해 유의적으로 높은 값을 보였다.

#### 4. 고찰

본 연구는 동애등에가 흰다리새우 사료 내 어분대체원으로 활용이 가능하다는 것을 밝혔다. 특히, 탈지동애등에는 사료 내 어분을 75%까지 대체 가능할 뿐만 아니라 새우의 성장과 사료효율을 증진시키는 것으로 나타났다. Shin et al. (2020)은 흰다리새우(0.09 g) 사료에 어분을 동애등에 유충으로 대체하여

57 일간 사육한 결과, 악영향 없이 60%까지 대체 할 수 있다고 보고하였다. Richardson et al. (2021)은 흰다리새우(0.1 g) 사료에 어분을 탈지동애등에 유충으로 대체하여 28 일간 사육한 결과, 70%까지 대체 가능하다고 보고하였다. Cummins et al. (2017)은 흰다리새우(1.24 g) 사료에 어분을 탈지동애등에 유충으로 대체하여 63 일간 사육한 결과, 71%까지 대체 가능함을 보고하였다. 동일한 원료를 사용했음에도 어분대체율이 다른 이유는, 곤충의 체성분, 원료의 가공방법 및 영양소의 함량, 사료 배합비, 사육실험 환경 등에 의한 것이라 판단한다. 흰다리새우 사료에 아미노산이 결핍되면 부정적인 영향을 끼칠 수 있다. 동애등에는 아미노산 조성이 여러 곤충에 비해 어분과 유사하다(Barraso et al., 2014). 본 연구에서도 동애등에는 아미노산 조성이 어분과 비슷했기 때문에 새우의 성장에 부정적인 영향이 없었다고 판단된다. Lauric acid 는 동애등에의 지질 중 높은 비율을(20-50)을 차지하는 주요 지방산이며, 중쇄지방산중 하나로 체내에 빠르게 흡수된다(Stubbs and Harbron, 1996; Li et al., 2016b). 중쇄지방산은 대부분 에너지 대사과정에 바로 이용되어 체내에 축적되는 정도가 비교적 낮은 것으로 알려져 있다(Garlid et al., 1996). 이번 연구에 사용된 동애등에와 탈지동애등에의 lauric acid 의 함량은 23.2, 20.0%였고 어분은 검출되지 않았다. 본 연구에서 동애등에의 첨가에 따른 새우의 성장이 증진은 lauric acid 가 긍정적인 영향을 미쳤을 것으로 판단된다. 본 연구결과는 흰다리새우 사료에 동애등에의 이용가능성을 재확인했을 뿐만 아니라 어분 대체율을 75%까지 향상시킴으로써 의미있는 결과라 사료된다. 결과적으로 본 연구의 성장결과를 고려했을 때, 동애등에는 흰다리새우 사료에 최적의 어분 대체원으로 사용 가능성이 확인되었다. 또한, 탈지동애등에가 동애등에보다 높은 이용효율을 나타낼 것으로 사료된다.

본 연구에서 탈지동애등에의 필수 아미노산 함량은 어분보다 높았으며, 동애등에는 methionine 을 제외하고 높았다(Table 1). 흰다리새우 사료에 methionine 이 결핍되면 성장과 사료효율이 저하된다(Lin et al., 2015). 대부분의 어분 대체 원료는 어분에 비해 methionine 함량이 낮아 제한아미노산인 경우가 많다(Gatlin et al., 2007). 본 연구에서도 methionine 의 함량은 동애등에(0.77%)와 탈지동애등에(0.77%)가 어분(1.35%)에 비해 낮았다. 흰다리새우 사료에 어분을 동애등에와 누에로 대체할 경우, 사료와 새우의 methionine 함량이 감소되는 것으로 보고되었다(Rahimnegad et al., 2019, Shin et al., 2020). 따라서 동애등에를 사료에 어분대체원으로 다량 사용할 경우, methionine 이 제한 아미노산으로 작용하기 때문에 개별적으로 첨가해야 한다.

본 연구에서 동애등에와 탈지동애등에의 첨가는 흰다리새우의 비특이적 면역력(NBT, PO, Lysozyme, GPx)을 향상시키는 것으로 나타났다. 새우양식이 각광받음에 따라, 갑각류의 방어 기작에 대한 많은 연구가 진행되고 있다(Tassanakajon et al., 2013). 갑각류는 방어기작에서 후천면역계가 없어 선천면역계가 중요하다(Li et al., 2019). 대부분의 곤충은 lauric acid (C12)를 고농도(20-45%)로 함유하고 있어 체내에 antimicrobial peptides (AMPs)가 발현된다. 최근 기존의 항생제의 대체물질로서 숙주의 선천방어 기작 중 하나인 AMPs 가 많은 관심을 받고 있다(Kwon et al., 2016). AMPs 는 다양한 병원성 미생물에 대한 숙주의 일차방어수단으로서 세균과 진균뿐만 아니라 바이러스를 포함한 다양한 병원체에 대하여 항균활성을 가진다고 알려져 있는 천연 항생제이다(Zasloff, 2002; Patrzykat and Douglas, 2003). 또한, AMPs 는 병원균의 세포벽을 뚫고 세포 내로 침투하여 RNA와 DNA의 발현을 억제한다(Nicolas, 2009; Jozefiak and Engberg, 2017). Shin et al. (2020)은 흰다리새우 사료에 동애등에를 첨가하면 PO, superoxide

dismutase, GPx 활성과 Crustin 발현을 향상시킨다고 보고하였다. Richardson et al. (2021)은 흰다리새우 사료에 탈지동애등을 첨가할 경우, 급성간췌장괴사증(Acute hepatopancreatic necrosis disease, AHPND)의 원인균인 *Vibrio parahaemolyticus* 와 흰점바이러스병(White spot syndrome virus, WSSV)에 대한 질병 저항성이 증진된다고 보고하였다. 이처럼 사료 내 동애등의 첨가에 따른 비특이적 면역력과 항산화 활성의 증진이 흰다리새우의 질병저항성 향상에 간접적으로 영향을 끼쳤을 것으로 판단된다. 따라서 동애등과 탈지동애등을 흰다리새우 사료에 어분대체원으로 사용할 경우, 비특이적 면역력과 항산화 활성이 향상될 것으로 사료된다.

결론적으로, 이번 연구를 통해 흰다리새우 사료에 탈지동애등으로 대체할 경우 어분함량을 75%까지 줄일 수 있을 것으로 판단되며, 성장, 사료효율, 비특이적 면역력, 항산화 능력이 향상될 것으로 사료된다.

Table 6. Growth performance and feed utilization for Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* fed the seven experimental diets for 8 weeks. The experimental diets were prepared by replacement fish meal (control, Con) with 25, 50 and 75% black soldier fly (designated as F15B5, F10B10 and F5B15, respectively) or defatted black soldier fly (F15D5, F10D10 and F5D15, respectively).

Diets	FBW <sup>1</sup>	WG <sup>2</sup>	SGR <sup>3</sup>	FCR <sup>4</sup>	PER <sup>5</sup>	Survival (%)
Con	8.32±0.12 <sup>d</sup>	987±16.4 <sup>d</sup>	4.59±0.03 <sup>d</sup>	1.75±0.07 <sup>a</sup>	1.70±0.02 <sup>c</sup>	97.0±4.47
F15B5	9.25±0.25 <sup>bc</sup>	1108±32.4 <sup>bc</sup>	4.79±0.05 <sup>bc</sup>	1.55±0.02 <sup>bc</sup>	1.91±0.04 <sup>ab</sup>	97.5±2.89
F10B10	9.10±0.28 <sup>c</sup>	1088±34.7 <sup>c</sup>	4.76±0.06 <sup>c</sup>	1.61±0.03 <sup>b</sup>	1.84±0.06 <sup>b</sup>	98.3±2.89
F5B15	9.19±0.36 <sup>bc</sup>	1099±47.7 <sup>bc</sup>	4.78±0.08 <sup>bc</sup>	1.53±0.07 <sup>bc</sup>	1.89±0.07 <sup>ab</sup>	100±0.00
F15D5	9.64±0.45 <sup>ab</sup>	1158±58.5 <sup>ab</sup>	4.87±0.09 <sup>ab</sup>	1.47±0.08 <sup>c</sup>	1.96±0.09 <sup>a</sup>	100±0.00
F10D10	9.89±0.43 <sup>a</sup>	1190±56.7 <sup>a</sup>	4.92±0.09 <sup>a</sup>	1.49±0.11 <sup>bc</sup>	2.00±0.11 <sup>a</sup>	96.3±6.29
F15D15	9.82±0.35 <sup>a</sup>	1179±46.3 <sup>a</sup>	4.90±0.07 <sup>a</sup>	1.51±0.09 <sup>bc</sup>	2.01±0.08 <sup>a</sup>	97.5±5.00

Values are mean of quadruplicates and presented as mean±S.D. Values with different superscripts in the same column are significantly different (P<0.05). The lack of superscript letter indicates no significant differences among treatments. <sup>1</sup>Final body weight (g) = final mean body weight - initial mean body weight. <sup>2</sup>Weight gain (%) = (final weight-initial weight) × 100/initial weight. <sup>3</sup>Specific growth rate (%) = [(log<sub>e</sub> final body weight - log<sub>e</sub> initial body weight)/days] x 100. <sup>4</sup>Feed conversion ratio = feed intake/wet weight gain. <sup>5</sup>Protein efficiency ratio = wet weight gain/total protein given.



Table 7. Non-specific immune responses and anti-oxidation for Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* fed the seven experimental diets for 8 weeks. The experimental diets were prepared by replacement fish meal (control, Con) with 25, 50 and 75% black soldier fly (designated as F15B5, F10B10 and F5B15, respectively) or defatted black soldier fly (F15D5, F10D10 and F5D15, respectively).

Diets	NBT	PO	Lysozyme	GPx
Con	16.1±0.19 <sup>b</sup>	0.162±0.01 <sup>b</sup>	6.23±0.25 <sup>c</sup>	202±17.8 <sup>c</sup>
F15B5	1.96±0.13 <sup>a</sup>	0.201±0.04 <sup>a</sup>	7.02±0.21 <sup>ab</sup>	222±19.0 <sup>abc</sup>
F10B10	1.85±0.01 <sup>ab</sup>	0.187±0.02 <sup>ab</sup>	6.73±0.12 <sup>b</sup>	249±15.1 <sup>ab</sup>
F5B15	2.10±0.25 <sup>a</sup>	0.195±0.01 <sup>ab</sup>	6.76±0.36 <sup>b</sup>	229±21.8 <sup>abc</sup>
F15D5	1.80±0.10 <sup>ab</sup>	0.199±0.02 <sup>a</sup>	6.63±0.20 <sup>bc</sup>	217±17.5 <sup>bc</sup>
F10D10	2.07±0.034 <sup>a</sup>	0.217±0.03 <sup>a</sup>	6.74±0.28 <sup>b</sup>	231±23.7 <sup>abc</sup>
F15D15	2.01±0.09 <sup>a</sup>	0.211±0.02 <sup>a</sup>	7.39±0.23 <sup>a</sup>	251±12.8 <sup>a</sup>

Values are mean of quadruplicates and presented as mean ± SD. Values with different superscripts in the same column are significantly different (P<0.05). <sup>1</sup>Nitro-blue tetrazolium activity (absorbance). <sup>2</sup>Phenoloxidase activity (absorbance). <sup>3</sup>Lysozyme activity (µg/ml). <sup>4</sup>Glutathione peroxidase activity (mU/ml).

Table 8. Whole-body proximate composition (% of wet basis) for Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* fed the experimental diets for 8 weeks. The experimental diets were prepared by replacement fish meal (control, Con) with 25, 50 and 75% black soldier fly (designated as F15B5, F10B10 and F5B15, respectively) or defatted black soldier fly (F15D5, F10D10 and F5D15, respectively).

Diets	Crude protein	Crude lipid	Crude ash	Moisture
Con	17.7±1.47 <sup>b</sup>	1.50±0.18	3.31±0.44 <sup>ab</sup>	75.8±1.81 <sup>ab</sup>
F15B5	18.4±0.52 <sup>ab</sup>	1.68±0.25	2.95±0.37 <sup>b</sup>	77.0±0.81 <sup>ab</sup>
F10B10	18.9±0.48 <sup>ab</sup>	1.65±0.45	3.31±0.72 <sup>ab</sup>	76.8±3.17 <sup>ab</sup>
F5B15	18.3±0.48 <sup>ab</sup>	1.44±0.22	3.19±0.18 <sup>ab</sup>	77.4±1.45 <sup>a</sup>
F15D5	18.2±1.18 <sup>b</sup>	1.56±0.26	3.28±0.23 <sup>ab</sup>	76.6±1.24 <sup>ab</sup>
F10D10	19.4±1.24 <sup>a</sup>	1.76±0.11	3.65±0.40 <sup>a</sup>	74.8±0.33 <sup>b</sup>
F15D15	18.7±0.94 <sup>ab</sup>	1.70±0.26	3.34±0.40 <sup>ab</sup>	76.7±0.97 <sup>ab</sup>

Values are mean of quadruplicates and presented as mean ± SD. Values with different superscripts in the same column are significantly different (P<0.05). The lack of superscript letter indicates no significant differences among treatments.

Table 9. Amino acids composition of muscle for Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* fed the experimental diets for 8 weeks (% of protein). The experimental diets were prepared by replacement fish meal (control, Con) with 25, 50 and 75% black soldier fly (designated as F15B5, F10B10 and F5B15, respectively) or defatted black soldier fly (F15D5, F10D10 and F5D15, respectively).

AAs	Con	F15B5	F10B10	F5B15	F15D5	F10D10	F5D15
EAA <sup>1</sup>							
Arginine	7.25	7.23	7.56	7.69	7.32	7.51	7.53
Histidine	1.41	1.28	1.30	1.21	1.26	1.25	1.21
Isoleucine	3.26	3.22	3.26	3.04	3.12	3.22	3.13
Leucine	5.53	5.48	5.53	5.42	5.50	5.47	5.44
Lysine	5.77	5.11	5.17	5.19	5.14	5.30	4.94
Methionie	2.11	1.89	2.00	1.75	1.69	2.00	1.89
Phenylalanin e	3.11	3.11	3.14	3.06	3.13	3.11	3.04
Threonine	2.81	2.79	2.87	2.86	2.96	2.78	2.80
Valin	3.34	3.33	3.37	3.15	3.24	3.31	3.21
NEAA <sup>2</sup>							
Aspartate	7.76	7.60	7.67	7.54	7.71	7.61	7.51
Serine	2.78	2.74	2.81	2.82	2.88	2.72	2.79
Glycine	6.15	5.79	5.47	5.80	6.10	5.42	5.59
Alanine	4.79	4.49	4.80	4.34	4.74	4.69	4.76
Taurine	0.22	0.20	0.22	0.19	0.25	0.21	0.21
Tyrosine	2.57	2.49	2.62	2.41	2.43	2.59	2.38
Proline	6.50	5.03	6.14	7.95	6.96	6.57	6.03

<sup>1</sup>Essential amino acid

<sup>2</sup>Non-essential amino acid

Table 10. Free amino acids composition of muscle for Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* fed the experimental diets for 8 weeks. The experimental diets were prepared by replacement fish meal (control, Con) with 25, 50 and 75% black soldier fly (designated as F15B5, F10B10 and F5B15, respectively) or defatted black soldier fly (F15D5, F10D10 and F5D15, respectively).

AAs	Con	F15B5	F10B10	F5B15	F15D5	F10D10	F5D15
EAA <sup>1</sup>							
Arginine	2.299	2.444	2.625	3.018	2.579	2.678	2.829
Histidine	0.100	0.094	0.102	0.102	0.121	0.124	0.111
Isoleucine	0.047	0.045	0.034	0.033	0.049	0.030	0.028
Leucine	0.080	0.076	0.057	0.057	0.081	0.061	0.054
Lysine	0.137	0.105	0.092	0.110	0.086	0.135	0.081
Methionie	0.017	0.015	0.009	0.012	0.023	0.011	0.011
Phenylalanine	0.040	0.043	0.037	0.041	0.061	0.045	0.033
Threonine	0.083	0.071	0.067	0.081	0.086	0.075	0.044
Valin	0.105	0.102	0.087	0.089	0.117	0.079	0.069
NEAA <sup>2</sup>							
Aspartate	0.017	0.008	0.006	0.008	0.018	0.007	0.017
Glutamate	0.302	0.225	0.177	0.141	0.226	0.132	0.219
Asparagine	0.179	0.160	0.146	0.138	0.157	0.180	0.146
Serine	0.044	0.044	0.051	0.056	0.094	0.054	0.050
Glycine	3.159	2.939	2.685	2.934	3.256	2.603	2.894
Citrulline	0.014	0.014	0.014	0.012	0.013	0.011	0.018
Alanine	0.907	0.717	0.850	0.615	0.866	0.858	0.924
Taurine	0.185	0.187	0.210	0.185	0.208	0.182	0.187
GABA	0.004	0.003	0.003	0.002	0.003	0.003	0.003
Ornitnine	0.017	0.025	0.022	0.023	0.035	0.013	0.018
Tyrosine	0.062	0.061	0.053	0.061	0.073	0.071	0.049
Proline	2.694	2.892	3.685	4.101	3.084	3.166	3.389

<sup>1</sup>Essential amino acid

<sup>2</sup>Non-essential amino acid.

Table 11. Fatty acid composition of muscle for pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* (% in lipid). The experimental diets were prepared by replacement fish meal (control, Con) with 25, 50 and 75% black soldier fly (designated as F15B5, F10B10 and F5B15, respectively) or defatted black soldier fly (F15D5, F10D10 and F5D15, respectively).

Fatty acids	Con	F15B5	F10B10	F5B15	F15D5	F10D10	F5D15
16:0	25.7 <sup>a</sup>	24.6 <sup>bc</sup>	24.0 <sup>bc</sup>	23.6 <sup>c</sup>	25.1 <sup>ab</sup>	24.5 <sup>bc</sup>	24.9 <sup>ab</sup>
18:0	18.5	18.1	17.7	17.3	17.3	16.6	16.8
18:1n9	13.7 <sup>c</sup>	14.6 <sup>b</sup>	15.2 <sup>ab</sup>	15.5 <sup>a</sup>	14.9 <sup>ab</sup>	15.4 <sup>a</sup>	15.1 <sup>ab</sup>
18:2n6	16.8 <sup>d</sup>	18.9 <sup>c</sup>	22.3 <sup>b</sup>	29.3 <sup>a</sup>	16.9 <sup>d</sup>	16.5 <sup>d</sup>	16.1 <sup>d</sup>
18:3n3	2.03 <sup>bc</sup>	1.61 <sup>c</sup>	1.92 <sup>bc</sup>	2.01 <sup>bc</sup>	2.20 <sup>bc</sup>	2.85 <sup>ab</sup>	3.41 <sup>a</sup>
20:5n3	12.8 <sup>bc</sup>	12.1 <sup>b</sup>	10.1 <sup>d</sup>	5.98 <sup>e</sup>	12.9 <sup>c</sup>	14.0 <sup>a</sup>	14.0 <sup>a</sup>
22:6n3	10.4 <sup>ab</sup>	10.2 <sup>ab</sup>	8.79 <sup>c</sup>	6.38 <sup>d</sup>	10.7 <sup>a</sup>	10.2 <sup>ab</sup>	9.68 <sup>b</sup>
SFA <sup>1</sup>	44.2 <sup>a</sup>	42.7 <sup>ab</sup>	41.7 <sup>b</sup>	40.9 <sup>b</sup>	42.4 <sup>ab</sup>	41.1 <sup>b</sup>	41.7 <sup>b</sup>
MUFA <sup>2</sup>	13.7 <sup>c</sup>	14.6 <sup>b</sup>	15.2 <sup>ab</sup>	15.5 <sup>a</sup>	14.9 <sup>ab</sup>	15.4 <sup>a</sup>	15.1 <sup>ab</sup>
PUFA <sup>3</sup>	55.8 <sup>b</sup>	57.3 <sup>ab</sup>	58.3 <sup>a</sup>	59.1 <sup>a</sup>	57.6 <sup>ab</sup>	58.9 <sup>a</sup>	58.3 <sup>a</sup>
$\sum$ n-3 <sup>4</sup>	25.2 <sup>b</sup>	23.9 <sup>c</sup>	20.8 <sup>d</sup>	14.4 <sup>e</sup>	25.8 <sup>ab</sup>	27.0 <sup>a</sup>	27.1 <sup>a</sup>
$\sum$ n-6 <sup>5</sup>	10.4 <sup>ab</sup>	10.2 <sup>ab</sup>	8.79 <sup>c</sup>	6.38 <sup>d</sup>	10.7 <sup>a</sup>	10.2 <sup>ab</sup>	9.68 <sup>b</sup>

<sup>1</sup>Saturated fatty acid: 16:0, 18:0

<sup>2</sup>Monounsaturated fatty acid: 18:1n9

<sup>3</sup>Polyunsaturated fatty acid: 18:2n6, 18:3n3, 20:5n3, 22:6n3

<sup>4</sup>Omega-3 fatty acid: 18:3n3, 20:5n3, 22:6n3

<sup>5</sup>Omega-6 fatty acid: 18:2n6

Table 12. Fatty acid composition of hepatopancreas for pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* (% in lipid). The experimental diets were prepared by replacement fish meal (control, Con) with 25, 50 and 75% black soldier fly (designated as F15B5, F10B10 and F5B15, respectively) or defatted black soldier fly (F15D5, F10D10 and F5D15, respectively).

Fatty acids	Con	F15B5	F10B10	F5B15	F15D5	F10D10	F5D15
12:0	0.04 <sup>g</sup>	1.87 <sup>c</sup>	4.77 <sup>b</sup>	5.84 <sup>a</sup>	0.38 <sup>f</sup>	0.67 <sup>e</sup>	0.88 <sup>d</sup>
14:0	2.15 <sup>c</sup>	2.91 <sup>b</sup>	2.93 <sup>b</sup>	3.36 <sup>a</sup>	2.04 <sup>c</sup>	2.28 <sup>c</sup>	2.37 <sup>c</sup>
16:0	25.2 <sup>a</sup>	22.5 <sup>b</sup>	24.6 <sup>a</sup>	24.0 <sup>a</sup>	25.2 <sup>a</sup>	22.1 <sup>b</sup>	20.4 <sup>c</sup>
16:1	3.15 <sup>a</sup>	2.99 <sup>a</sup>	2.17 <sup>b</sup>	2.38 <sup>b</sup>	2.51 <sup>b</sup>	3.07 <sup>a</sup>	3.00 <sup>a</sup>
18:0	6.38 <sup>a</sup>	4.51 <sup>b</sup>	4.54 <sup>b</sup>	4.76 <sup>b</sup>	4.59 <sup>b</sup>	4.34 <sup>b</sup>	3.29 <sup>c</sup>
18:1n9	18.7 <sup>d</sup>	2.01 <sup>c</sup>	23.6 <sup>a</sup>	23.6 <sup>a</sup>	20.9 <sup>b</sup>	21.0 <sup>b</sup>	20.7 <sup>bc</sup>
18:2n6	19.6 <sup>d</sup>	20.0 <sup>cd</sup>	26.9 <sup>b</sup>	28.6 <sup>a</sup>	19.7 <sup>d</sup>	19.8 <sup>d</sup>	21.1 <sup>c</sup>
18:3n3	6.61 <sup>bc</sup>	5.86 <sup>c</sup>	2.82 <sup>d</sup>	2.71 <sup>d</sup>	5.95 <sup>c</sup>	7.07 <sup>ab</sup>	7.80 <sup>a</sup>
22:1	9.53 <sup>b</sup>	9.47 <sup>b</sup>	2.81 <sup>c</sup>	1.98 <sup>c</sup>	10.2 <sup>b</sup>	11.2 <sup>ab</sup>	12.3 <sup>a</sup>
20:5n3	4.43 <sup>a</sup>	4.17 <sup>a</sup>	1.74 <sup>b</sup>	1.45 <sup>b</sup>	4.41 <sup>a</sup>	4.45 <sup>a</sup>	4.41 <sup>a</sup>
22:6n3	4.16 <sup>a</sup>	4.18 <sup>a</sup>	2.21 <sup>b</sup>	1.52 <sup>c</sup>	4.18 <sup>a</sup>	4.08 <sup>a</sup>	3.72 <sup>a</sup>
SFA <sup>1</sup>	33.8 <sup>b</sup>	31.8 <sup>c</sup>	36.8 <sup>a</sup>	38.0 <sup>a</sup>	32.2 <sup>bc</sup>	29.4 <sup>d</sup>	27.0 <sup>e</sup>
MUFA <sup>2</sup>	31.4 <sup>d</sup>	32.6 <sup>c</sup>	28.6 <sup>e</sup>	28.0 <sup>e</sup>	33.6 <sup>b</sup>	35.2 <sup>a</sup>	36.0 <sup>a</sup>
PUFA <sup>3</sup>	34.8 <sup>b</sup>	34.2 <sup>b</sup>	33.7 <sup>b</sup>	34.3 <sup>b</sup>	34.2 <sup>b</sup>	35.4 <sup>ab</sup>	37.1 <sup>a</sup>
$\sum$ n-3 <sup>4</sup>	15.2 <sup>abc</sup>	14.2 <sup>c</sup>	6.77 <sup>d</sup>	5.69 <sup>e</sup>	14.5 <sup>bc</sup>	15.6 <sup>ab</sup>	15.9 <sup>a</sup>
$\sum$ n-6 <sup>5</sup>	19.6 <sup>e</sup>	20.0 <sup>de</sup>	26.9 <sup>b</sup>	28.6 <sup>a</sup>	19.7 <sup>e</sup>	19.8 <sup>e</sup>	21.1 <sup>c</sup>

<sup>1</sup>Saturated fatty acid: 12:0, 14:0, 16:0, 18:0

<sup>2</sup>Monounsaturated fatty acid: 16:1, 22:1, 18:1n9

<sup>3</sup>Polyunsaturated fatty acid: 18:2n6, 18:3n3, 20:5n3, 22:6n3

<sup>4</sup>Omega-3fatty acid: 18:3n3, 20:5n3, 22:6n3

<sup>5</sup>Omega-6fatty acid: 18:2n6

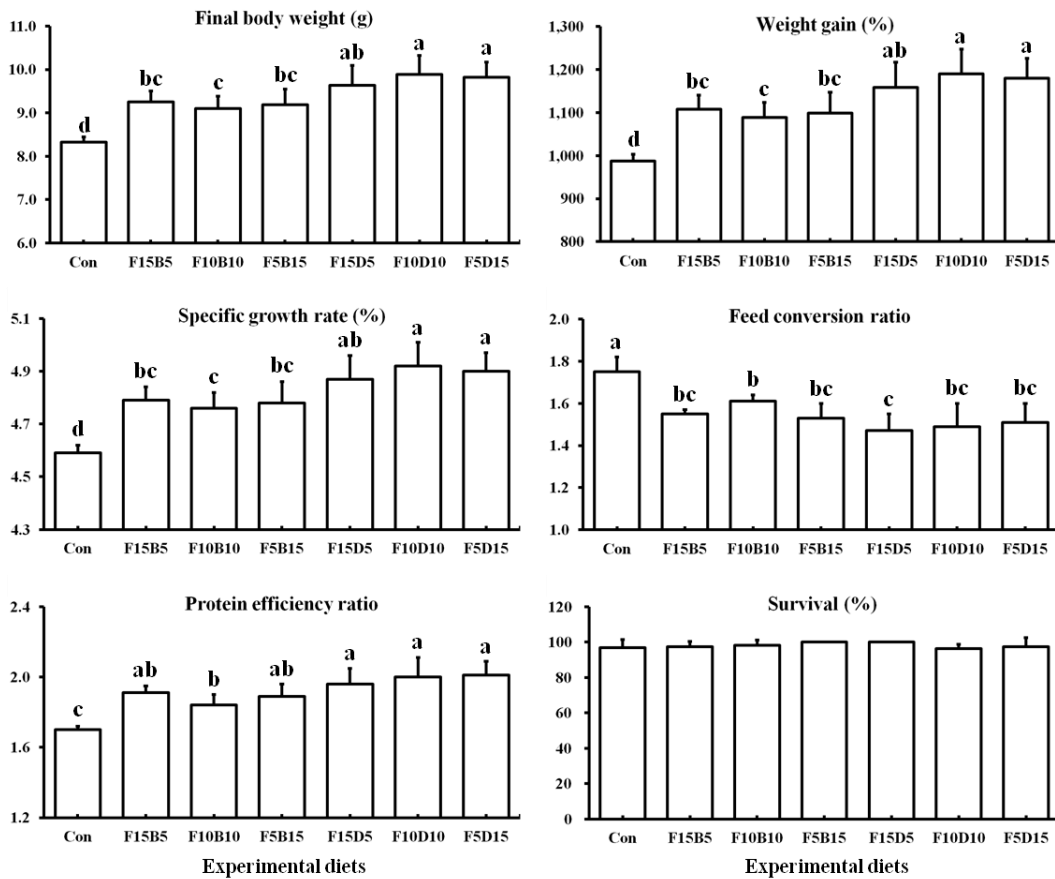


Figure 8. Growth performance and feed utilization of Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* (initial body weight: 0.77 g) fed the experimental diets for 8 weeks. The experimental diets were prepared by replacement fish meal (control, Con) with 25, 50 and 75% black soldier fly (designated as F15B5, F10B10 and F5B15, respectively) or defatted black soldier fly (F15D5, F10D10 and F5D15, respectively).

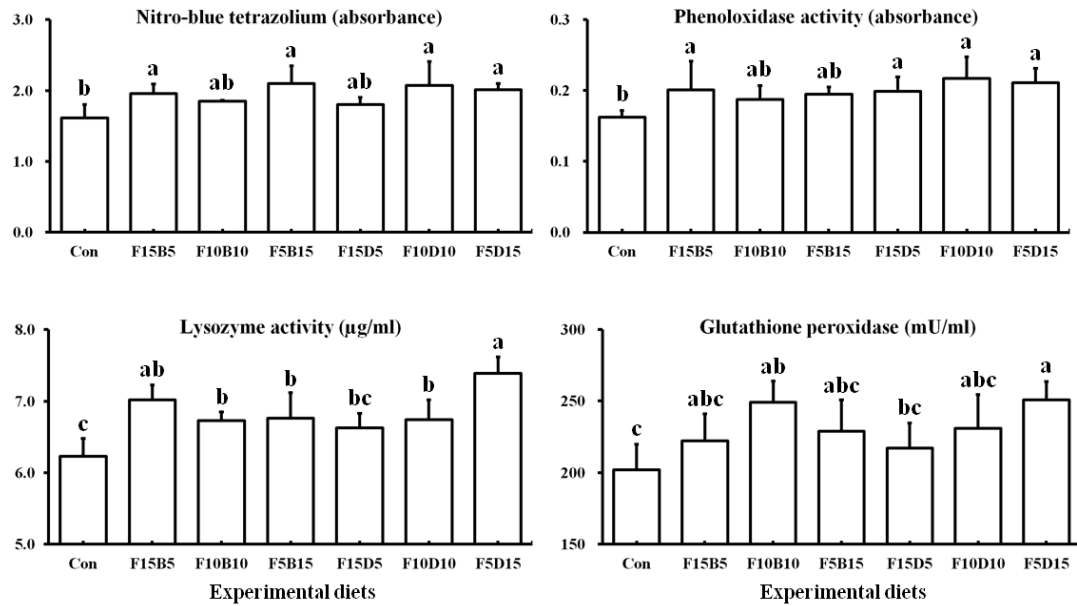


Figure 9. Non-specific immune responses and anti-oxidation of Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* (initial body weight: 0.77 g) fed the experimental diets for 8 weeks. The experimental diets were prepared by replacement fish meal (control, Con) with 25, 50 and 75% black soldier fly (designated as F15B5, F10B10 and F5B15, respectively) or defatted black soldier fly (F15D5, F10D10 and F5D15, respectively).



## 요 약 문

어분(fish meal)은 단백질의 함량이 높고(60-70%) 우수한 아미노산 조성, 필수 지방산, 비타민과 미네랄등이 풍부하여 양식사료의 주요 단백질원료로 사용되고 있다. 그러나, 최근 기후의 변화, 어족자원의 남획 등으로 인해 어분의 공급이 일정하지 않고, 원료의 가격이 지속적으로 증가하는 추세에 있어 영양적으로 우수하고 가격이 저렴하며, 공급이 안정적인 어분 대체 단백질원의 연구가 필요한 실정이다. 곤충(insect)은 어류에 비해 성장속도가 빠르며 사육비용이 비교적 저렴하기 때문에 단백질원으로써 각광받고 있다. 곤충은 어획에 의존하여 생산하는 어분과 달리 사육이 가능하고, 심각한 환경문제로서 대두되고 있는 음식물찌꺼기와 각종 부산물(by-product)과 축산 분뇨를 먹이로 사용할 수 있는 장점이 있다. 또한 곤충은 사료효율이 소, 돼지, 닭 등의 가축에 비해 월등히 높아 비교적 적은 양의 먹이로 사육이 가능하며, 곤충의 배설물은 농업용 비료로 활용할 수 있어 친환경 원료로 평가받고 있다. 곤충박(insect meal)은 단백질, 비타민, 미네랄과 같은 필수 영양소를 풍부하게 함유하고 있으며, 체내 다양한 항균펩타이드(antimicrobial peptides, AMPs)를 함유하고 있어, 새우와 어류의 비특이적 면역력과 질병저항성을 향상시킬 수 있다고 보고되었다. 동애등에(black soldier fly, BSF)는 고밀도로 사육이 가능하며, 대량생산에 적합하기 때문에 산업적인 규모로 생산되고 있다. 동애등에는 먹이가 충분할 경우, 유충이 될 때까지 약 2개월 정도 걸리며, 그렇지 않은 경우에는 약 4개월 정도 소요된다. 동애등에 유충은 높은 단백질(31-59%)과 지질(17-49%)을 함유하고 있으며 아미노산 조성이 대두박에 비해 어분과 유사하다. 탈지동애등에(defatted black soldier fly, DBSF)는 생산 과정에서 부산물인 동애등에유 또한 Linoleic acid (C18:2n6c)와 같은 불포화지방산을 다량 함유하고 있어 사료 내 지질원으로 활용이 가능할 것으로 보고되고 있다.

최근 전세계에서 새우 양식 생산량은 급속한 증가 추세를 보이고 있다. 그 중 흰다리새우(*Litopenaeus vannamei*)는 염분에 대한 내성이 높고, 양식 사육기간이 짧을 뿐만 아니라, 무병종묘(specific pathogen free, SPF) 생산 기술이 확립됨에 따라 세계 새우양식산업의 주요 대상 종으로 각광받고 있다. 흰다리새우의 전세계 총 생산량은 2010 년 264 만 8 천 톤에서 2018 년도에는 496 만 6 천 톤으로 8 년 동안 약 87%의 성장률을 기록하였으며, 국내 흰다리새우 양식 생산량은 2006 년 661 톤에서 2019 년도에는 7,542 톤으로, 13 년 만에 약 1141%의 성장률을 보이며 중요성이 매우 높다. 본 연구는 어분의 사용을 줄일 수 있는 방안의 하나로, 곤충박 중 가장 많이 사용되고 있는 동애등을 흰다리새우 사료에 두 가지 형태(whole, defatted)로 첨가하여 사육실험을 실시하였다.

대조사료(Con)는 어분의 함량을 20%로 설정하였고, 참치부산물분(tuna by product meal)을 사용하였다. 실험사료는 대조사료에 어분을 동애등에 유충(BSF)과 탈지동애등에 유충(DBSF) 분말로 각각 25, 50, 75% 대체한 실험구 6 종(F15B5, F10B10, F5B15, F15D5, F10D10, F5D15)을 포함하여 총 7 종을 사용하였다. 실험사료의 조단백질을 충족하기 위해 대두농축단백, 대두박을 사용하였다. 저어분사료에 대한 기호성을 향상시키기 위해 오징어간분을 첨가하였다. 모든 실험사료에 조지질과 인의 함량을 맞추기 위해 명태간유와 일인산칼슘을 첨가하였다. 새우(초기평균무게: 0.77g)는 총 28 개의 215L 수조에 각 20 마리씩 4 반복으로 배치하였고, 사양실험은 8 주간 진행되었다. 실험기간 동안 평균 사육 수온은  $30.1\pm 0.31^{\circ}\text{C}$ , 용존산소량은  $6.55\pm 0.99$  mg/L, Ph 는  $7.50\pm 0.22$ , 염분농도는  $29.8\pm 0.13$  이었다. 8주 동안의 사육실험 결과, 최종평균무게, 성장률, 일간성장률은 모든 실험구가 대조구에 비해 유의적으로 높았다. 탈지동애등에 실험구(F15D5,

F10D10, F5D15)가 동태등에 실험구(F15B5, F10B10, F5B15)와 비교하여 높은 성장을 보였다. 사료계수는 모든 실험구가 대조구에 비해 유의적으로 낮았다. 단백질이용효율은 모든 실험구가 대조구에 비해 유의적으로 높았다. 생존율은 실험구와 대조구 사이에 유의적인 차이를 보이지 않았다. 실험새우 hemolymph의 비특이적 면역력은 BSF 와 DBSF 실험구가 대조구에 비해 유의적으로 높은 활성을 보였다. Nito-blue tetrazolium 활성은 F15B5, F5B15, F10D10, F15D15 실험구가 대조구에 비해 유의적으로 높게 나타났다. Phenoloxidas 활성은 F15B5, F5B15, F10D10, F15D15 실험구가 대조구에 비해 유의적으로 높게 나타났다. Lysozyme 활성은 모든 실험구가 대조구에 비해 유의적으로 높게 나타났다. Glutathione peroxidase 활성은 F10B10, F15D15 실험구가 대조구에 비해 유의적으로 높게 나타났다. 전하체의 조단백질은 F10D10 실험구가 대조구에 비해 유의적으로 높았다. 조희분은 F10D10 실험구가 F15B5 실험구에 비해 유의적으로 높았다. 조지질과 수분은 실험구와 대조구사이에 유의적인 차이를 보이지 않았다. 새우 근육의 구성아미노산과 유리아미노산은 실험구와 대조구간 큰 차이를 보이지 않았다. 실험새우 근육의 지방산 함량 분석 결과, 단일불포화지방산(Monounsaturated fatty acid, MUFA)의 총 함량은 모든 실험구가 대조구에 비해 유의적으로 높은 값을 보였다. 다가불포화지방산(Polyunsaturated fatty acid, PUFA)의 총 함량은 F10B10, F5B15, F10D10, F5D15 실험구가 대조구에 비해 유의적으로 높은 값을 보였다. Omega-3 지방산의 총 함량은 F10D10, F5D15 실험구가 대조구에 비해 유의적으로 높은 값을 보였다. 실험새우 간체장의 지방산 함량 분석 결과, lauric acid (C12:0)는 모든 실험구가 대조구에 비해 유의적으로 높은 값을 보였다.

결론적으로, 이번 연구를 통해 흰다리새우 사료에 동애등으로 대체할 경우 부정적인 영향없이 어분함량을 75%까지 줄일 수 있을 것으로 판단되며, 성장, 사료효율, 비특이적 면역력과 향산화 능력이 향상될 것으로 사료된다.

## 참 고 문 헌

- Barroso FG, de Haro C, Sánchez-Muros MJ, Venegas E, Martínez-Sánchez A and Pérez-Bañón C. The potential of various insect species for use as food for fish. *Aquaculture* 422-423, 193-201. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2013.12.024>.
- Belghit I, Liland NS, Waagbo R, Biancarosa I, Pelusio N, Li Y, Krogdahl A and Lock EJ. 2018. Potential of insect-based diets for Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Aquaculture* 491, 72–81.
- Berg J, K Wendin, M Langton, A Josell and F Davidsson. 2017. State of the art report insects as food and feed. *Annals of experimental Biology* 5, 1-9.
- Berge GM, Grisdale-Helland B and Helland SJ. 1999. Soy protein concentrate in diets for Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*). *Aquaculture* 178, 139-148. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(99\)00127-1](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(99)00127-1).
- Biswas A, Araki H, Sakata T, Nakamori T and Takii K. 2019. Optimum fish meal replacement by soy protein concentrate from soymilk and phytase supplementation in diet of red sea bream, *Pagrus major*. *Aquaculture* 506, 51-59. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.03.023>.
- Bu X, Lian X, Zhang Y, Chen F, Tang B. Ge, X and Yang Y. 2018. Effects of replacing fish meal with corn gluten meal on growth, feed utilization, nitrogen and phosphorus excretion and IGF-I gene expression of juvenile *Pseudobagrus ussuriensis*. *Aquaculture research* 49, 977-987. <https://doi.org/10.1111/are.13545>.
- Chen Z, Ai Q, Mai K, Xu W, Ma H, Li Y and Zhang J. 2010. Effects of dietary canola meal on growth performance, digestion and metabolism of Japanese seabass, *Lateolabrax japonicus*. *Aquaculture* 305, 102-108. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2010.03.031>.
- Cummins Jr, VC, Rawles SD, Thompson KR, Velasquez A, Kobayashi Y, Hager J and Webster CD. 2017. Evaluation of black soldier fly *Hermetia illucens* larvae meal as partial or

- total replacement of marine fish meal in practical diets for Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture* 473, 337-344. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2017.02.022>.
- Cummins VC, Rawles SD, Thompson KR, Velasquez A, Kobayashi Y, Hager J and Webster CD. 2017. Evaluation of black soldier fly (*Hermetia illucens*) larvae meal as partial or total replacement of marine fish meal in practical diets for Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*). *Aquaculture* 473, 337-344. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2017.02.022>.
- De Moura LB, Diógenes AF, Campelo DAV, de Almeida FLA, Pousão-Ferreira PM, Furuya WM, Peres H and Oliva-Teles A. 2019. Nutrient digestibility, digestive enzymes activity, bile drainage alterations and plasma metabolites of meagre (*Argyrosomus regius*) feed high plant protein diets supplemented with taurine and methionine. *Aquaculture*, 734231. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.734231>.
- Dumas A, Raggi T, Barkhouse J, Lewis E and Weltzien E. 2018. The oil fraction and partially defatted meal of black soldier fly larvae (*Hermetia illucens*) affect differently growth performance, feed efficiency, nutrient deposition, blood glucose and lipid digestibility of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture* 492, 24-34. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2018.03.038>.
- FAO, 2020. Fishery and Aquaculture Statistics. pp. 30 PP.
- Folch J, Lees M and Stanley GS. 1957. A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues. *Journal of biological chemistry*, 226, 497-509.
- Garces R and Mancha M. 1993. One-step lipid extraction and fatty acid methyl esters preparation from fresh plant tissues. *Anal Biochem* 211, 139-143. <https://doi.org/10.1006/abio.1993.1244>.
- Garlid KD, Orosz DE, Modrianský M, Vassanelli S and Jezek P. 1996. On the mechanism of fatty acid-induced proton transport by mitochondrial uncoupling protein. *J Biol Chem*

271:2615–2620.

- Gatlin III DM, Barrows FT, Brown P, Dabrowski K, Gaylord TG, Hardy RW and Overturf K. 2007. Expanding the utilization of sustainable plant products in aquafeeds: a review. *Aquac Res* 38, 551-579. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2007.01704.x>.
- Gisbert E, Mozanzadeh MT, Kotzamanis Y and Estévez A. 2016. Weaning wild flathead grey mullet (*Mugil cephalus*) fry with diets with different levels of fish meal substitution. *Aquaculture* 462, 92-100. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2016.04.035>.
- Hardy RW. 2010. Utilization of plant proteins in fish diets: effects of global demand and supplies of fishmeal. *Aqu Res* 41, 770-776. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2109.2009.02349.x>.
- Hassaan MS, El-Sayed, AIM, Soltan MA, Iraqi MM, Goda AM, Davies SJ, El-Haroun ER and Ramadan HA. 2019. Partial dietary fish meal replacement with cotton seed meal and supplementation with exogenous protease alters growth, feed performance, hematological indices and associated gene expression markers (GH, IGF-I) for Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. *Aquaculture* 503, 282-292. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.01.009>.
- Hernández-López J, Gollas-Galván T and Vargas-Albores F. 1996. Activation of the prophenoloxidase system of the brown shrimp *Penaeus californiensis* Holmes. *Comp Biochem Physiol C Pharmacol Toxicol Endocrinol* 113, 61-66. [https://doi.org/10.1016/0742-8413\(95\)02033-0](https://doi.org/10.1016/0742-8413(95)02033-0).
- Ido A, Ali MFZ, Takahashi T, Miura C and Miura T. 2021. Growth of Yellowtail (*Seriola quinqueradiata*) fed on a diet including partially or completely defatted black soldier fly (*Hermetia illucens*). *Insects* 12, 722. <https://doi.org/10.3390/insects12080722>.
- Jozefiak A and Engberg RM. 2017. Insect proteins as a potential source of antimicrobial peptides in livestock production. A review. *J Ani Feed Sci* 26, 87-99. <https://doi.org/10.22358/jafs/69998/2017>.

- KOSIS (Korea Statistical Information Service). 2020. Survey on the status of fish culture. Retrieved from <http://kosis.kr/search/search.do?query=%EC%96%B4%EB%A5%98%EC%96%91%EC%8B%9D>.
- Kwon MG, Seo JS, Youn HJ, Park CI, Jeong JM and Bae JS. 2016. Effect of the polychaete antimicrobial peptide as feed additives on olive flounder and black rockfish immune activity. *JFMSE* 28, 1640-1650. <http://dx.doi.org/10.13000/JFMSE.2016.28.6.1640>.
- Li M, Ma C, Zhu P, Yang Y, Lei A, Chen X, Liang W, Chen M, Xiong J and Li C. 2019. A new crustin is involved in the innate immune response of shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Fish Shellfish Immunol* 94, 398-406. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2019.09.028>.
- Li S, Ji H, Zhang B, Tian J, Zhou J and Yu H. 2016a. 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>.
- Li S, Ji H, Zhang B, Tian J, Zhou J and Yu H. 2016b. 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.
- Li S, Ji H, Zhang B, Zhou J and Hu H. 2017. Defatted black soldier fly (*Hermetia illucens*) larvae meal in diets for juvenile Jian carp (*Cyprinus carpio* var. Jian): growth performance, antioxidant enzyme activities, digestive enzyme activities, intestine and hepatopancreas histological structure. *Aquaculture* 477, 62-70. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2017.04.015>.
- Lin H, Chen Y, Niu J, Zhou C, Huang Z, Du Q and Zhang J. 2015. Dietary methionine requirements of Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*, of three different sizes. *Isr J Aquacult Bamidgeh* 67, 1–10.
- Makkar HPS, Tran G, Heuzé V and Ankers P. 2014. State-of-the-art-on-use of insects as animal



- feed. Anim Feed Sci Technol 197, 1-33.  
<http://dx.doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2014.07.008>.
- Motte C, Rios A, Lefebvre T, Do H, Henry M and Jintasataporn O. 2019. Replacing fish meal with defatted insect meal (Yellow Mealworm *Tenebrio molitor*) improves the growth and immunity of pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Animals* 9, 258.  
<https://doi.org/10.3390/ani9050258>.
- Nicolas P. 2009. Multifunctional host defense peptides: intracellular-targeting antimicrobial peptides. *FEBS J* 276, 6483- 6496. <https://doi.org/10.1111/j.1742-4658.2009.07359.x>.
- Nogales-Mérida S, Gobbi P, Józefiak D, Mazurkiewicz J, Dudek K, Rawski M, Kierończyk B and Józefiak A. 2019. Insect meals in fish nutrition. *Rev Aquac* 11, 1080-1103.  
[Hyyps://doi.org/10.1111/raq.12281](https://doi.org/10.1111/raq.12281).
- Paglia DE and Valentine WN. 1967. Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. *The Journal of laboratory and clinical medicine*, 70, 158-169. <https://doi.org/10.5555/uri:pii:0022214367900765>.
- Patrzykat A and Douglas SE. 2003. Gone gene fishing: how to catch novel marine antimicrobials. *Trends in Biotechnology* 21, 362-369. [https://doi.org/10.1016/S0167-7799\(03\)00145-8](https://doi.org/10.1016/S0167-7799(03)00145-8).
- Rahimnejad S, Hu S, Song K, Wang L, Lu K, Wu R and Zhang C. 2019. Replacement of fish meal with defatted silkworm (*Bombyx mori* L.) pupae meal in diets for Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture* 510, 150-159.  
<https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.05.054>.
- Renna M, Schiavone A, Gai F, Dabbou S, Lussiana C, Malfatto V, Prearo M, Capucchio MT, Biasato I, Biasibetti E, De Marco M, Brugiapaglia A, Zoccarato I and Gasco L. 2017. Evaluation of the suitability of a partially defatted black soldier fly (*Hermetia illucens* L.) larvae meal as ingredient for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum) diets. *J Anim Sci Biotechnol* 8, 57. <https://doi.org/10.1186/s40104-017-0191-3>.

- Richardson A, Dantas-Lima J, Lefranc M and Walraven M. 2021. Effect of a Black Soldier Fly Ingredient on the Growth Performance and Disease Resistance of Juvenile Pacific White Shrimp (*Litopenaeus vannamei*). *Animals* 11, 1450. <https://doi.org/10.3390/ani11051450>.
- Saoud IP, Davis A and Rouse DB. 2003. Suitability studies of inland well for *Litopenaeus vannamei* culture. *Aquaculture* 217, 373-383. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(02\)00418-0](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(02)00418-0).
- Shin J, Jo S, Ko D and Lee KJ. 2020. Replacing fish meal with black soldier fly larvae and mealworm larvae in diets for Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Korean J Fish Aquat Sci* 53. 900-908.
- Stubbs RJ and Harbron CG. 1996. Covert manipulation of the ratio of medium-to long-chain triglycerides in isoenergetically dense diets: effect on food intake in ad libitum feeding men. *Int J Obes* 20:435–444.
- Suárez JA, Gaxiola G, Mendoza R, Cadavid S, Garcia G, Alanis G, Suárez A, Faillace J and Cuzon G. Substitution of fish meal with plant protein sources and energy budget for white shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931). *Aquaculture* 289(1-2), 118-123. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2009.01.001>.
- Tassanakajon A, Somboonwiwat K, Supungul P and Tang S. 2013. Discovery of immune molecules and their crucial functions in shrimp immunity. *Fish Shellfish Immunol* 34, 954-967. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2012.09.021>.
- Van Huis A, van Itterbeeck J, Klunder H, Mertens E, Halloran A, Muir G and van tome P. 2013. Edible Insects. Future Prospects for Food and Feed Security. FAO report, 171.
- Xie S, Wei D, Yin P, Zheng, L, Guo T, Liu Y, Tian L and Niu J. 2019. Dietary replacement of fish-meal impaired protein synthesis and immune response of juvenile Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei* at low salinity. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology* 228, 26-33.

<https://doi.org/10.1016/j.cbpb.2018.11.002>.

Zasloff M. 2002. Antimicrobial peptides of multicellular organism. *Nature* 415, 389-395.

<https://doi.org/10.1038/415389a>.

Zhang SP, Li JF, Wu XC, Zhong WJ, Xian JA, Liao SA and Wang AL. 2013. Effects of different dietary lipid level on the growth, survival and immune-relating genes expression in Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. *Fish & shellfish immunology*, 34, 1131-1138. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2013.01.016>.

## 감사의 글

학부생 2학년부터 석사과정 2년동안 많은 일들이 있었습니다. 힘든 일도 많았지만 돌이켜보면 저에게 살이 되고 뼈가 되는 경험이었던 것 같습니다. 그동안에 감사함을 이 짧은 글을 통해 전하고자 합니다. 부족한 저에게 많은 가르침을 주신 이경준 교수님께 감사의 말씀을 전하고 싶습니다. 바쁘신 와중에도 제 석사학위논문을 심사해주시고 아낌없는 조언을 해주신 이봉주 박사님, 송진우 박사님께 감사의 말씀을 전하고 싶습니다.

양식사료영양학연구실 선배님, 동기들, 후배님에게 감사의 말씀을 전하고자 합니다. 언제나 다가와 어깨를 주물러주던 민기형, 저의 영원한 멘토인 초롱누나, 누구보다 많은 지식을 가르쳐준 재형이형, 실험실의 발전을 위해 노력하는 재범이형, 실험실을 위해 많은 노력을 한 현운이형, 굶은 일을 항상 도맡아 하는 종호, 제가 힘들어 할 때 마다 고민을 들어주고 토닥여준 세희, 힘든 일은 먼저 나서서 도와주는 건호, 장금이 한세, 아아 예나누나, 후추 엄마 단비, 성실한 연지, 묵묵한 수혁, 항상 친절하게 대답해주는 Buddhi, 첫번째 스리랑카 친구 Kasun, 언제나 든든한 Nalin, 분석 소울메이트 Mirasha, 센스쟁이 Koklia 덕분에 제가 더욱 성장할 수 있었던 것 같습니다. 진심으로 감사의 말씀을 전하고 싶습니다.

마지막으로 항상 아낌없는 지원해주시고, 응원해주시는 제가 제일 사랑하는 우리 아빠, 엄마, 형에게 진심으로 감사합니다. 저의 투정을 들어주면서 많은 이야기를 해준 사촌들, 친구들에게 감사합니다. 마지막으로 모든 분들에게 다시 한번 감사의 말씀을 전하고 싶습니다.

2022년 2월

고 대 현