

Antithrombotic Activity of *Hermetia illucens* (Black Soldier Fly)

Su-Jin Pyo¹, Jun Won^{1,2}, Deok-Gyeong Kang¹ and Ho-Yong Sohn^{1*}

¹Department of Food and Nutrition, Andong National University, Andong 36729, Korea

²Gyeongbuk Institute For Bio-Industry, Andong 36728, Korea

Received January 15, 2020 / Revised February 24, 2020 / Accepted February 24, 2020

Insect industry has been focused as production of food, animal feed, pollinator and for environmental remediation. *Hermetia illucens*, called as black soldier fly (BSF) is famous as nutritive feed. In this study, to evaluate the antithrombotic activities of BSF, the larvae (instar 2-6), pupae, residue after adult emergence [RAEE] and adult of *Hermetia illucens* [black soldier fly, BSF] were collected and their ethanol extracts were prepared. Growth of BSF larvae was very rapid and the weight of larvae was increased to 25-folds during 10 days cultivation. The ethanol extraction ratios showed from 1.0% (pupae) to 18.5% (adults). The highest total polyphenol, total flavonoid, and total sugar contents were observed in RAEE (17.2 mg/g), pupae (3.4 mg/g), and instar 6 (37.6 mg/g), suggesting that metabolic changes occur during the life cycle of the BSF. Anti-coagulation assay showed that extracts of RAEE, instar 6 and pupa of BSF significantly inhibited thrombin, prothrombin, and blood coagulation factors. Furthermore, the extracts of RAEE, instar 3 and adult of BSF showed a strong platelet aggregation inhibitory activity. Our results suggest that pupae and RAEE of BSF have potential as antithrombotic agents. This is the first study to provide evidence of the antithrombotic activity of the BSF and bio-activity alterations during its life cycle.

Key words : Adult, anti-thrombosis, *Hermetia illucens*, larvae, pupae, residue after adult emerge

서 론

곤충은 130만종 이상을 차지하는 지구상에 가장 다양한 생명자원 중 하나이며, 인류는 오래전부터 식용 및 약용으로 곤충을 이용하여 왔다[12, 29]. 우리나라 곤충산업의 육성 및 지원에 관한 법률에서는 곤충을 천적 곤충, 화분매개 곤충, 환경정화 곤충, 식용 곤충, 약용 곤충, 사료용 곤충, 학습·애완 곤충으로 분류하고 있으며, 최근 환경오염의 심화, 식량·에너지 부족, 지구온난화 문제해결의 대안으로 환경정화 곤충 및 식용 곤충에 대한 연구가 집중되고 있는 실정이다[4, 15, 26].

한편, 동애등에(*Hermetia illucens*, black soldier fly)는 파리목 동애등에과의 곤충으로, 현재 식용으로 사용되고 있지는 않으나, 빠른 성장속도, 음식물 쓰레기 등 다양한 유기물의 분해능력, 우수한 영양성 등이 알려지면서 대표적인 환경정화 곤충 및 사료용 곤충으로 각광받고 있다[5-7]. 동애등에 성충은 몸 길이 13~20 mm 정도이며 전체적인 색상은 흑색이며, 날개는 크고 흐리며 다리는 가늘고 긴 형태를 가진다. 주로 한국, 일본, 중국 등에 분포하며, 거름더미, 화장실 등지에서

서식하며, 행동이 느려 쉽게 발견되고 파리에 비해 잘 날지 않는 특징이 있다[8].

동애등에는 전 세계적으로 인간에게 해를 주지 않는 곤충으로 인정하고 있으며, 잡식성으로 환경정화, 음식쓰레기 제거용으로 대량 사육되고 있다. 사육된 유충은 단백질 사료용 및 퇴비생산용으로 광범위하게 이용되고 있으며[10], 2019년 기준으로 건조 유충 분말은 국내에서 kg당 3,500~5,000원 수준, 미국에서는 kg당 8~40달러에 판매되고 있다. 또한 동애등에 유충과 음식물 쓰레기를 혼합 후 2~3일 정도 사육하여 분변토를 생산하며, 이는 20 kg당 8,000원에 판매되고 있는 실정이다.

동애등에의 유충 기간은 사육 환경에 따라 달라지나 통상 15~20일 소요되며, 성장에 따라 흰색·미색·흑갈색으로 변화된다. 통상 1령에서 6령까지 령당 2~3일 정도가 소요되며, 이후 6령을 거쳐 번데기로 바뀌고 성충으로 우화한다[23]. 동애등에 성충은 입이 없어 먹이활동을 하지 않으며, 약 10일의 생존기간 중 비행을 하면서 교미를 하며 이후 암컷은 매우 작은 장타원형 알(평균 크기 장경 1mm, 단경 0.2mm)을 약 1,000개 정도 산란한다. 전체 세대기간은 약 35~41일로 알려져 있다[18].

동애등에와 관련된 주요 연구는 주로 생태 특성[18, 22] 및 사료로서 이용성에 집중되어 있으며[12, 13], 최근 유충 및 성충의 항산화 활성[11, 28, 30], 항균 활성[3, 25, 27], 면역증강 활성[2, 16], 미백 활성[33]이 보고되고 있으나, 기타 유용생리 활성에 대한 연구는 미미한 실정이며, 특히 동애등에의 성장환(Life cycle)에서 생육 시기별 성분 변화 및 활성 평가 연구는 전무한 실정이다. 따라서 본 연구에서는 동애등에의 보다 효

*Corresponding author

Tel : +82-54-820-549, Fax : +82-54-820-6281

E-mail : hysohn@anu.ac.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.



Fig. 1. Photography of the black soldier fly (*Hermetia illucens*) used in this study Symbols: L2 ~L6: Larvae stage (instar 2~ instar 6), P: Pupae, R: Residue after adult emerge, and A: Adult.

울적인 이용을 위해 생육 시기별 유충(2령~6령), 번데기, 용각 및 성충 추출물을 조제하여, 이들의 항혈전 활성을 평가하여 동애등에 추출물이 신규의 식의약품 및 화장품 소재로 개발 가능성을 제시하고자 하였다.

재료 및 방법

실험재료 및 시약

본 실험에 사용된 동애등에는 경북 문경의 고려청계영농조합에서 2019년 6월~8월에 사육한 동애등에 유충(2령~6령), 번데기 용각 및 성충들을 제공받아 사용하였다(Fig. 1, Table 1). 이물질 제거한 시료(200 g)들은 전자레인지(LG Fashion M-279W, 700W, Korea)로 8분간 가열하여 건조한 후 막자사발을 이용하여 50~100 메쉬 분말로 제조하였다. 동애등에의 에탄올 추출물 제조를 위해서는 분쇄 분말에 10배의 95% ethanol (Daejung Chemicals & Metals Co., Ltd. Siheung, Korea)을 가한 후 상온에서 3회 추출한 후 추출액을 filter paper (Whatman No. 2)로 거른 후 감압 농축(Eyela Rotary evaporator N-1000, Tokyo Rikakikai Co., Ltd. Tokyo, Japan)하여 분말상태로 조제하였다. 추출물들은 DMSO에 적당한 농도로 녹여, 성분 분석 및 항혈전 활성 평가에 사용하였다. 항혈전 활성평가에 사용한 혈장은 시판 control plasma (MD Pacific Technology Co., Ltd, Huayuan Industrial Area, Tianjin, China)를 사용하였으며, PT reagent와 aPTT reagent는 MD Pacific Hemostasis (MD Pacific Technology Co., Ltd, Huayuan Industrial Area, Tianjin, China)의 분석시약을 사용하여 측정하였다[24]. 기타 시약은 Sigma Co. (St. Louis, MO, USA)의 시약급 이상의 제품을 구입하여 사용하였다. 실험에 사용한 동애등에 시료는 안동대학교 식품영양학과에서 보관하고 있다(voucher specimen 2019-BSF1~8).

항응고 활성

생육 시기별 동애등에 추출물의 항응고 활성은 thrombin time (TT), prothrombin time (PT) 및 activated partial thromboplastin time (aPTT)을 각각 측정하여 평가하였다[19]. TT는 37°C에서 thrombin (0.5 U, Sigma Co., St. Louis, MO, USA) 50 µl과 CaCl₂ (20 mM) 50 µl, 다양한 농도의 생육 시기별 동애등에 추출물 10 µl를 Amelung coagulometer (Amelung, Lemgo, Germany) 튜브에 혼합하여 2분간 반응시킨 후, 혈장 100 µl를 첨가한 후 혈장이 응고될 때까지의 시간을 측정하였다. PT 측정은 혈장 70 µl와 다양한 농도의 생육 시기별 동애등에 추출물 10 µl를 coagulometer 튜브에 첨가하여 37°C에서 3분간 가온 후, 130 µl의 PT reagent를 첨가하고 혈장이 응고될 때까지의 시간을 측정하였다. 내인성 혈전 생성의 지표인 aPTT는, 표준혈장 70 µl와 다양한 농도의 생육 시기별 동애등에 추출물 10 µl를 coagulometer 튜브에 첨가하여 37°C에서 3분간 가온 후, 65 µl의 aPTT reagent를 첨가하고 다시 37°C에서 3 분간 반응하였다. 이후 65 µl CaCl₂ (35 mM)을 첨가한 후 혈장이 응고될 때까지의 시간을 측정하였다. 모든 실험은 3회 반복하여 평균치로 나타내었으며, 각각의 항응고 활성은 시료 첨가시의 응고 시간의 평균치를 무첨가시의 응고시간의 평균치의 비로 나타내었다[9, 21].

혈소판 응집 저해 활성

생육 시기별 동애등에 추출물의 혈소판 응집저해 활성은 Whole Blood Aggregometer (Chrono-log, PA, U.S.A)를 사용하여 impedance 법으로 평가하였다[21]. 먼저 인간 농축 혈소판(platelet rich plasma: PRP)을 전처리 및 수세한 후 최종 혈소판 농도가 4×10⁸/ml이 되도록 조정하여 사용하였으며, 응집 유도제로 collagen (1 mg/ml)을 사용하였다[IRB-Andong National Univ-482: 1040191-201602-BR-001-01]. 혈소판 응집 반응은 collagen 첨가 후 12분간 측정하였으며 amplitude, slope, area under를 측정하여 평가하였다[32]. 이때, amplitude (ohm)는 혈소판에 응집유도제를 첨가하였을 때 일어나는 최대 응집정도를 나타내며, slope는 응집유도제를 첨가한 직후부터 1분 동안의 응집곡선의 기울기를 나타내며, area under는 전체적인 혈소판 응집 정도를 표시하는 것으로 전기저항 증가에 따른 slope 곡선의 하강면적을 의미한다[32]. 혈소판 응집 저해 활성은 시료 첨가시의 area under값과 DMSO를

Table 1. The average size and weight of the black soldier fly (*Hermetia illucens*) used in this study during life cycle

Stage	Larva					Pupae	R*	Adult
	Instar 2	Instar 3	Instar 4	Instar 5	Instar 6			
Size (mm)	12.8±1.0	20.3±0.6	23.2±1.0	25.8±0.8	26.0±1.0	25.8±0.9	23.3±3.9	20.2±3.4
Weight (mg)	2.5±0.3	7.4±1.5	22.8±9.6	60.5±17.4	62.4±11.5	58.2±14.2	25.5±1.6	10.5±3.5

*R: Residue after adult emerge.

첨가한 대조구의 area under값의 비로 나타내었다[21].

인간 적혈구 용혈활성

생육 시기별 동애등에 추출물의 인간 적혈구 용혈 활성은 PBS로 3회 수세한 인간 적혈구 100 μ l를 96-well microplate에 가하고 다양한 농도의 추출물 100 μ l를 가한 다음 37 $^{\circ}$ C에서 30분간 반응시켰으며, 이후, 반응액을 10분간 원심분리(1,500 rpm)하여 상등액 100 μ l를 새로운 microtiter plate로 옮긴 후 용혈에 따른 헤모글로빈 유출 정도를 414nm에서 측정하였다. 시료의 용매 대조구로는 DMSO (2%)를 사용하였으며, 적혈구 용혈을 위한 실험 대조구로는 Triton X-100 (1 mg/ml) 및 amphotericin B를 사용하였다. 용혈 활성은 다음의 수식을 이용하여 계산하였다[24].

$$(\%)\text{Hemolysis} = [(Abs. S - Abs. C)/(Abs. T - Abs. C)] \times 100$$

Abs. S : 시료 첨가구의 흡광도, Abs. C : DMSO 첨가구의 흡광도,

Abs. T : Triton X-100 첨가구의 흡광도.

기타 분석 및 통계분석

Total flavonoid (TF) 및 Total polyphenol (TP) 함량 측정은 기존의 보고된 방법[31]에 따라 측정하였으며, 각각 rutin과 tannic acid를 표준시약으로 사용하였다. TF의 경우 시험관에 시료 100 μ l와 10% aluminum nitrate 20 μ l, 1 M potassium acetate 20 μ l, 에탄올 300 μ l를 혼합한 이후 증류수 560 μ l를 가하여 1시간 동안 방치하였다. 이후 microplate reader를 사용하여 흡광도 값을 415 nm에서 측정하였다. 시료의 흡광도는 표준물질인 rutin으로 표준곡선을 작성하여 RE (rutin equivalent)로 나타내었다. TP 측정은 시험관에 시료 20 μ l와 증류수 700 μ l를 가하고 Folin-Ciocalteu 시약 100 μ l를 혼합한 후 1시간 동안 방치하였다. 이후 20% sodium carbonate를 100 μ l 가한 후 30 $^{\circ}$ C에서 30분간 반응시켰으며, 이후 반응액을 700 nm에서 측정하였다. 시료의 흡광도는 tannic acid로 표준곡선을 작성하여 TAE (tannic acid equivalent)로 나타내었다. 총당 정량의 경우에는 phenol-sulfuric acid법을 이용하였으며[34], 시료 100 μ l에 5% phenol 300 μ l와 진한 황산 1.5 ml를 가하고 30 $^{\circ}$ C에서 30분간 반응시켰으며, 이후, 반응액을 490 nm에서 측정하였다. 시료의 흡광도는 sucrose로 표준곡선을 작성하여 SE (sucrose equivalent)로 나타내었다. 각각의 분석결과는 3회 반복한 실험의 평균과 편차로 나타내었다. 실험 결과는 SPSS 23.0 버전을 사용하여 mean \pm SD로 나타내었으며, 각 군간의 차이는 ANOVA로 분석하였으며, 유의수준은 $p < 0.05$ 로 하였다.

결과 및 고찰

동애등에 추출물 조제 및 이의 성분 분석

다양한 생육시기에서 회수한 동애등에 유충(2령~6령), 번데기, 용각 및 성충의 ethanol 추출물을 제조한 후 이의 유용성분을 분석하였으며, 그 결과는 Fig. 2에 나타내었다. 동애등에는 유충시기에 그 색상과 입 모양에 따라 령수를 구분하게 되며 [23], 5령에 들어서면서 흑색으로 착색되었다(Fig. 1). 2령에서 크기 12.8 mm, 무게 2.5 mg의 아주 작은 유충이었으나, 6령 시기에서는 크기 26.0 mm, 무게 62.4 mg으로 15일 사육동안 약 25배 무게가 증가하였다(Table 1). 이후 번데기 과정을 거쳐 성충이 나타났으며, 성충이 나온 후의 용각은 평균 크기 23.3 mm, 무게 25.5 mg으로 번데기 무게의 44%를 차지하였으며, 성충은 평균 크기 20.2 mm, 무게 10.5 mg으로 번데기 무게의 18%를 차지하였다.

한편 다양한 생육시기별 회수한 동애등에 시료의 ethanol 추출수율은 2령(8.2%)에서 4령(13.1%)까지는 증가하는 추세를 보였으나 이후 5령(11.6%)을 지나 6령(1.75%)에 접어들면서 급격히 감소하여 번데기에서는 1% 추출수율을 나타내었다. 이는 6령과 번데기 시기에서는 많은 생리적 변화가 나타나고 있음을 의미하고 있다. 또한 성충과 용각에서는 각각 18.5% 및 2.5% 추출수율을 나타내어 우화시기에도 많은 생리적 변화가 수반됨을 확인되었다(Fig. 2A). 각각의 추출물의 TP 함량 측정 결과 2령(1.8 mg/g)에서 6령까지는 유사하였으나, 번데기에 접어들어 5.1 mg/g으로 증가되었다. 가장 높은 함량은 용각(17.2 mg/g)에서 나타났으며, 성충의 경우 2령과 유사한 2.0 mg/g을 나타내었다(Fig. 2B). 반면 TF 함량의 경우 2령부터 5령까지는 유사하였으나, 6령부터 증가하여 번데기에서 가장 높은 3.4 mg/g을 나타내었으며, 용각에서는 상대적으로 낮은 2.8 mg/g을 나타내었다(Fig. 2C). 총당의 경우 6령에서 매우 높은 37.6 mg/g을 나타내어 2령의 19.8배, 5령의 4.9배, 용각의 2배, 성충의 19.8배 함량을 나타내었다(Fig. 2D). 따라서 동애등에의 경우 다양한 시기의 유충보다는 번데기, 용각에서 우수한 생리활성이 나타나리라 예상되었다.

동애등에 추출물의 혈액응고저해 활성

다양한 생육시기에 회수하여 조제한 동애등에 추출물의 항응고 활성을 TT, PT, aPTT를 각각 측정하여 평가하였다. 먼저 활성대조구인 aspirin은 임상에서 항혈전제로 사용하고 있으며, 통상 사용농도인 1.5 mg/ml 농도에서 용매 대조구에 비해 TT, PT, aPTT를 각각 1.83, 1.29 및 1.48배 증가시켜 우수한 항응고 활성을 확인하였다. 동애등에 추출물(5 mg/ml)의 경우 2령~5령 및 성충 추출물은 유의한 트롬빈 및 프로트롬빈 저해활성이 인정되지 않았으며, 6령, 번데기 및 용각 추출물에서 용매 대조구에 비해 각각 1.38배, 1.25배 및 1.53배의 연장된 TT 및 1.40배, 1.33배 및 1.72배의 연장된 PT를 확인하였다(Fig. 3A, Fig. 3B). 반면, aPTT의 경우 4령, 5령, 용각 추출물에서 1.4배 이상 연장되어 우수한 혈액응고인자 저해 활성을 확인하였다(Fig. 3C). 이는 최근 항혈전 활성이 우수하다고 알려진

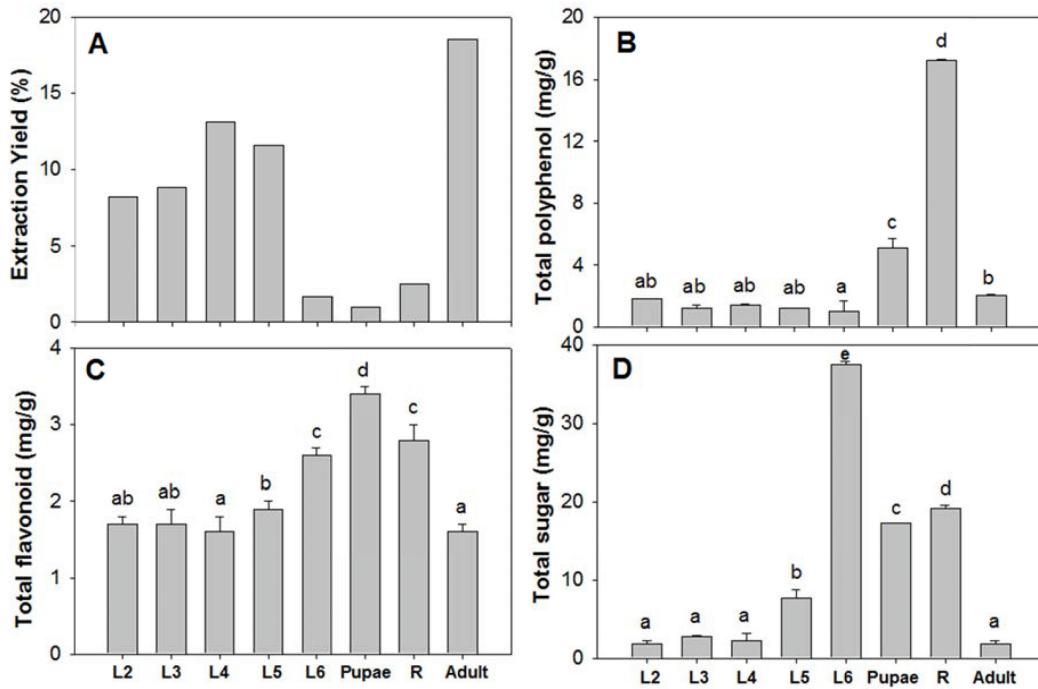


Fig. 2. Extraction yields and component analysis of the ethanol extract of black soldier fly (*Hermetia illucens*). Symbols: L2~L6: Larvae stage (instar 2~ instar 6), P: Pupae, R: Residue after adult emerge, and A: Adult. Different superscripts within a column differ significantly ($p < 0.05$).

복분자[21], 모링가[24] 및 마가목 열매[19] 등의 약용식물보다는 상대적으로 약한 활성이나, 한방에서 혈행개선 및 어혈 제거에 사용되고 있는 선테(흑매미 우화허물), 전갈, 자충(바퀴벌레), 상표초(사마귀 알집)와는 유사한 항응고 활성이었다 [14, 29]. 또한 76종의 곤충 추출물 중 트롬빈 저해활성이 우수하다고 보고[29]된 방아깨비, 왕잠자리, 비단노린재, 끝검은메뚜기보다도 우수한 활성이었다. 상기 곤충 약재들이 대량사용되지 않아 충분한 양을 확보할 수 없으며 고가임을 고려한다

면, 상기 결과는 동애등에 추출물을 이용한 경제성 있는 항응고제 개발이 가능함을 제시하고 있으며, 향후 동애등에 용각 추출물을 이용한 활성물질 분리 및 특성 연구가 필요하다고 판단된다.

동애등에 추출물의 혈소판 응집저해 활성

다양한 생육시기에 회수하여 조제한 동애등에 추출물의 혈소판 응집저해 활성을 평가하였으며, 그 결과는 Table 2 및

Table 2. Platelet aggregation inhibitory activities of the ethanol extracts of black soldier fly (*Hermetia illucens*)

Chemicals/Samples (mg/ml)	Amplitude (Ω)	Slope (Ω/min)	Lag time (sec)	Area under	PAR ¹ (%)
DMSO	28	6	50	209	100
Aspirin (0.25)	10	1	40	67.2	32.2
Aspirin (0.125)	16	2	30	114.1	63.7
Instar 2 (0.25)	22	4	30	170.4	81.6
Instar 3 (0.25)	19	4	32	138.3	66.2
Instar 4 (0.25)	28	8	10	259.4	124.2
Instar 5 (0.25)	28	7	12	254	121.6
Instar 6 (0.25)	23	6	23	183.3	87.4
Pupae (0.25)	22	5	22	175.4	83.6
RAAE ² (0.25)	20	4	20	163.3	78.2
Adult (0.25)	13	2	22	113.6	54.4

¹PAR: Platelet Aggregation Ratio. Data are presented as representative result relative of independent three determinations. Amplitude is expressed as ohms by maximum extent of platelet aggregation, and slope (rate of reaction) is determined by drawing a tangent through the steepest part of curve. Area under is a calculated area in descent drawing during platelet aggregation. ²RAAE: Residue after adult emerge.

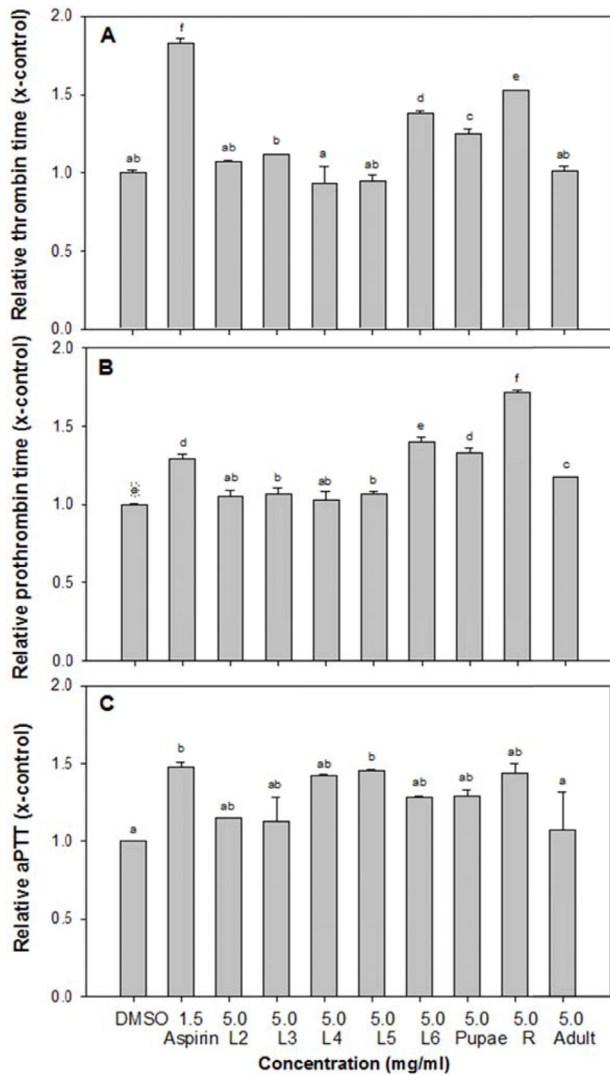


Fig. 3. Effect of the ethanol extracts of black soldier fly (*Hermetia illucens*) on blood coagulation. Anti-coagulation activity was calculated on the clotting time of sample divided by the clotting time of solvent control in blood coagulation assay. The thrombin time (TT), prothrombin time (PT) and activated partial thromboplastin time (aPTT) of solvent control (dimethylsulfoximide) were 31.5 sec, 20.5 sec and 80.9 sec, respectively. Data are means \pm SD of triplicate determinations.

Fig. 4에 나타내었다. 먼저 혈소판 응집저해제인 아스피린은 0.25 및 0.125 mg/ml 농도에서 각각 무첨가구에 비해 각각 32.2 및 63.7%의 혈소판 응집율을 나타내어 농도 의존적인 강력한 혈소판 응집저해 활성을 나타내었다. 동애등에 추출물 (0.25 mg/ml)의 경우 2령, 6령 및 번데기의 경우 각각 81.6, 87.4 및 83.6%의 응집율을 나타내어 양호한 혈소판 응집저해 능을 나타내었으며, 3령, 용각 및 성충의 경우 66.2, 78.2 및 54.4% 응집율을 나타내어 아스피린 0.125 mg/ml에 비교되는 활성을 우수한 응집 저해활성을 나타내었다(Table 2). 이러한

Table 3. Hemolytic activity of the extracts of black soldier fly (*Hermetia illucens*) against human red blood cells

Chemicals/Samples (mg/ml)	Hemolysis (%)
DMSO	0.0 \pm 1.6
Triton X 100(1.0)	100.0 \pm 0.4
Amphotericin B (0.1)	100.5 \pm 1.8
Instar 2 (1.0)	88.5 \pm 0.6
Instar 3 (1.0)	-8.8 \pm 3.0
Instar 4 (1.0)	-5.6 \pm 4.5
Instar 5 (1.0)	-6.1 \pm 4.0
Instar 6 (1.0)	-3.5 \pm 0.1
Pupae (1.0)	-7.8 \pm 2.2
RAAE ² (1.0)	48.1 \pm 7.8
Adult (1.0)	57.3 \pm 4.9

결과는, 최근 강력한 혈소판 응집저해 활성이 알려진 복분자 [21], 모링가[24] 및 마가목 열매[19]와 비교되는 우수한 활성으로 동애등에 추출물의 실제적 항혈전제 이용 가능성을 제시하고 있다. 반면 4령 및 5령의 경우 120% 이상의 응집율을 나타내어 빠르고 강하게 혈소판 응집을 촉진하였다(Fig. 4). Fig. 2에 나타난 TP, TF 및 총당 함량과 혈소판 응집과의 상관관계 분석 결과 상관 계수(correlation coefficient)가 모두 0.1 이하로 나타나, 추출물의 TP, TF 및 총당 함량과 혈소판 응집과 직접적인 연관은 인정되지 않았다. 따라서 동일한 동애등에 유충이라도 생육시기에 따라 혈전생성 억제 또는 촉진 활성을 나타낼 수 있음을 확인하였으며, 향후 용각 및 성충 추출물의 관련 물질의 정제 및 기작 연구가 필요하다고 판단된다.

동애등에 추출물의 인간 적혈구 용혈 활성

다양한 생육시기에 최소화하여 조제한 동애등에 추출물의 인간 적혈구 용혈활성을 평가한 결과, 2령, 용각 및 성충 추출물에서만 유의한 용혈활성이 나타났다(Table 3). 한편, 기존의 항진균, 항암제로 사용되고 있는 amphoterin B의 경우 강력한 적혈구 용혈활성이 알려진 바[19], 이와 비교시 매우 약한 용혈활성을 알 수 있었다(Fig. 5).

이상의 결과는, 환경정화 곤충 및 사료용 곤충으로 대량 사육되고 있는 동애등에의 용각 추출물이 강력한 트롬빈 저해, 프로트롬빈 저해, 혈액응고인자 저해, 혈소판 응집저해를 통한 항혈전 활성을 나타내며, 대량 생산 후 폐기되고 있는 동애등에 번데기 및 용각을 이용한 다양한 식의약품, 화장품 소재로 개발이 필요함을 제시하고 있다. 향후 동애등에 번데기 및 용각으로부터 활성물질의 정제와 관련기작의 연구가 필요하며, 항산화, 항균, 항염증 등의 기존의 식용곤충에서 보고된 유용활성 평가도 필요하다.

감사의 글

본 연구는 한국연구재단 중점연구소 지원사업(NRF-2018

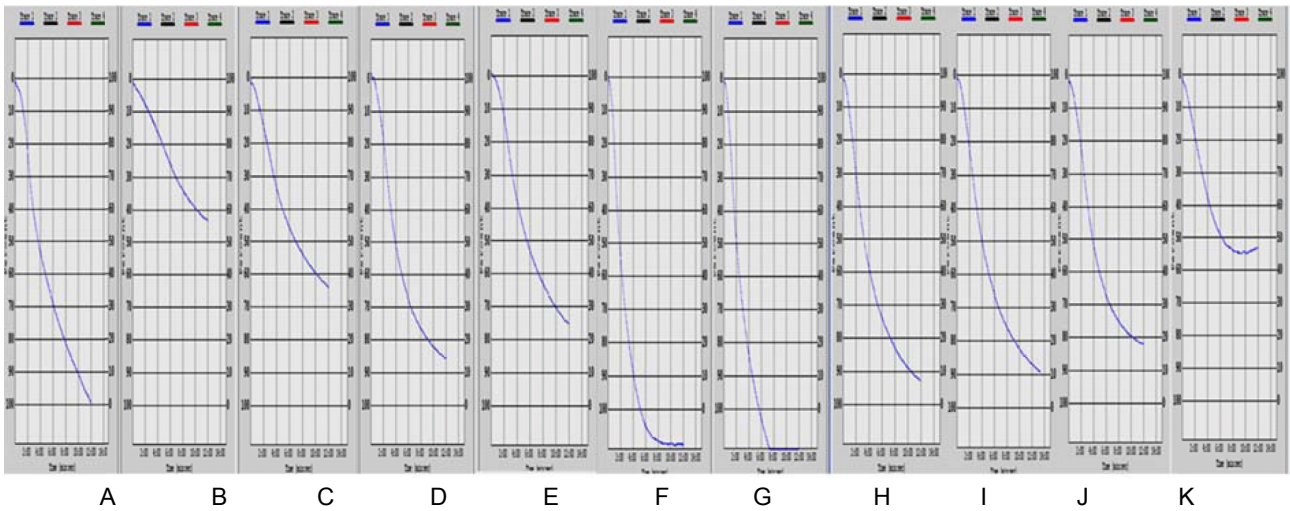


Fig. 4. Diagram of impedance changes during platelet aggregation after addition of aspirin and the extracts of black soldier fly (*Hermetia illucens*) in whole blood aggregometer. (A) DMSO, (B) aspirin (0.25 mg/ml), (C) aspirin (0.125 mg/ml), ethanol extract of (D) instar 2, (E) instar 3, (F) instar 4, (G) instar 5, (H) instar 6, (I) pupae, (J) residue after adult emergence, and (K) adult of black soldier fly. Aggregation was induced by addition of 2.5 μ l of collagen (1 mg/ml) into cuvette containing 50 μ l of washed PRP and measured the impedance change for 12 min. The sample concentrations used were 0.25 mg/ml, respectively.

R1A6 A1A03024862)의 지원에 의해 이루어진 결과로 이에 감사드립니다.

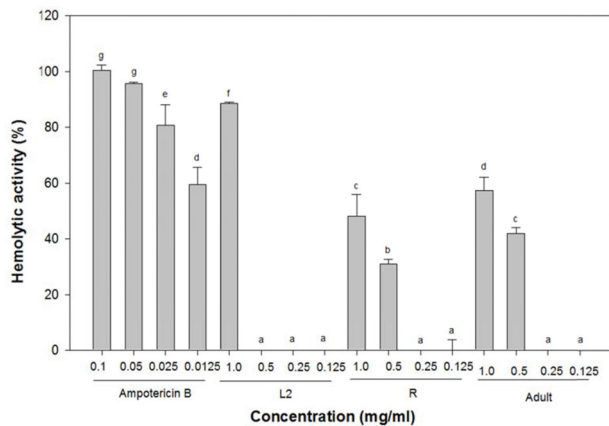


Fig. 5. Hemolytic activity of amphotericin B and the extracts of instar 2, residue after adult emerge, and adult of black soldier fly (*Hermetia illucens*) against human red blood cells at different concentrations.

The Conflict of Interest Statement

The authors declare that they have no conflicts of interest with the contents of this article.

References

1. Ahn, M. Y., Hahn, B. S., Ryu, K. S. and Cho, S. I. 2002.

Effect of insect crude drugs on blood coagulation and fibrinolysis system. *Nat. Prod. Sci.* **8**, 66-70.

2. Ali, M. F. Z., Ohta, T., Ido, A., Miura, C. and Miura, T. 2019. The dipterose of black soldier fly (*Hermetia illucens*) induces innate immune response through Toll-like receptor pathway in mouse macrophage RAW264.7 Cells. *Biomolecules* **9**, E677.

3. Alvarez, D., Wilkinson, K. A., Treilhou, M., Téné, N., Castillo, D. and Sauvain, M. 2019. Prospecting peptides isolated from black soldier fly (Diptera: Stratiomyidae) with antimicrobial activity against *Helicobacter pylori* (Campylobacteriales: Helicobacteraceae). *J. Insect Sci.* **19**, 17.

4. Baek, M., Hwang, J. S., Kim, M. A., Kim, S. H., Goo, T. W. and Yun, E. Y. 2017. Comparative analysis of nutritional components of edible insects registered as novel foods. *J. Life Sci.* **27**, 334-338.

5. Bruno, D., Bonelli, M., De Filippis, F., Di Lelio, I., Tettamanti, G., Casartelli, M., Ercolini, D. and Caccia, S. 2019. The intestinal microbiota of *Hermetia illucens* larvae is affected by diet and shows a diverse composition in the different midgut regions. *Appl. Environ. Microbiol.* **85**, e01864-18.

6. Caligiani, A., Marseglia, A., Leni, G., Baldassarre, S., Maistrello, L., Dossena, A. and Sforza, S. 2018. Composition of black soldier fly prepupae and systematic approaches for extraction and fractionation of proteins, lipids and chitin. *Food Res. Int.* **105**, 812-820.

7. Caligiani, A., Marseglia, A., Sorci, A., Bonzanini, F., Lolli, V., Maistrello, L. and Sforza, S. 2019. Influence of the killing method of the black soldier fly on its lipid composition. *Food Res. Int.* **116**, 276-282.

8. Cullere, M., Woods, M. J., van Emmenes, L., Pieterse, E., Hoffman, L. C. and Dalle Zotte, A. 2019. *Hermetia illucens* larvae reared on different substrates in broiler quail diets:

- effect on physicochemical and sensory quality of the quail meat. *Animals* **9**, e525.
9. Eikelboom, J. W., Zelenkofske, S. L. and Rusconi, C. P. 2010. Coagulation factor IXa as a target for treatment and prophylaxis of venous thromboembolism. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* **30**, 382-387.
 10. Ewald, N., Vidakovic, A., Langeland, M., Kiessling, A., Samples, S. and Lalander, C. 2020. Fatty acid composition of black soldier fly larvae (*Hermetia illucens*) - possibilities and limitations for modification through diet. *Waste Manag.* **102**, 40-47.
 11. Firmansyah, M. and Abduh, M. Y. 2019. Production of protein hydrolysate containing antioxidant activity from *Hermetia illucens*. *Heliyon* **5**, e02005.
 12. Ghosh, S., Jung, C. and Rochow, V. B. M. 2016. Nutritional value and chemical composition of larvae, pupae, and adults of worker honey bee, *Apis mellifera ligustica* as a sustainable food source. *J. Asia-Pacific Entomol.* **19**, 487-495.
 13. Ghosh, S., Lee, S. M., Jung, C. and Rochow, V. B. M. 2017. Nutritional composition of five commercial edible insects in South Korea. *J. Asia-Pacific Entomol.* **20**, 686-694.
 14. Hahn, B. S., Wu, S. G., Kim, S. W. and Kim, Y. S. 1999. Evaluation of anticoagulant and fibrinolytic activities from crude extracts of insects. *Kor. J. Pharmacogn.* **30**, 409-412.
 15. Janssen, R. H., Vincken, J. P., Arts, N. J. G., Fogliano, V. and Lakemond, C. M. M. 2019. Effect of endogenous phenoxidase on protein solubility and digestibility after processing of *Tenebrio molitor*, *Alphitobius diaperinus* and *Hermetia illucens*. *Food Res. Int.* **121**, 684-690.
 16. Ji, S. Y., Park, K. H., Kim, K. H., Lee, H. S., Choi, G. S., Lim, Y. J., Yu, R., Choi, I. H. and Chung, T. H. 2018. Influence of *Hermetia illucens* larvae-derived functional feed additives on immune function of broilers. *J. Environ. Sci. Int.* **27**, 1305-1307.
 17. Kang, M. S., Kim, M. J., Han, J. S. and Kim, A. J. 2017. Fatty acid composition and anti-inflammatory effects of the freeze dried *Tenebrio molitor* larva. *Kor. J. Food Nutr.* **30**, 251-256.
 18. Kim, J. G., Cho, Y. C., Choi, J. Y., Kim, W. T., Jeong, G. S., Park, K. H. and Hwang, S. J. 2008. Ecology of the black soldier fly, *Hermetia illucens* (Diptera: Stratiomyidae) in Korea. *Kor. J. Appl. Entomol.* **47**, 337-343.
 19. Kim, M. S. and Sohn, H. Y. 2015. Anti-coagulation and anti-platelet aggregation activity of the mature fruit of *Sorbus commixta*. *Microbiol. Biotechnol. Lett.* **43**, 373-377.
 20. Kim, M. S., Sung, H. J. and Sohn, H. Y. 2016. *In-vitro* anti-thrombosis activity of different parts of *Sorbus commixta* from Ulleung island. *J. Life Sci.* **26**, 289-295.
 21. Kim, M. S., Shin, W. C., Kang, D. K. and Sohn, H. Y. 2016. Anti-thrombosis activity of sinapic acid isolated from the lees of bokbunja wine. *J. Microbiol. Biotechnol.* **26**, 61-65.
 22. Kim, T. H., Choi, I. H. and Chung, T. H. 2019. Effect of *Ptecticus tenebrifer* extract on the growth of juvenile *Litopenaeus vannamei* and water quality. *J. Environ. Sci. Int.* **28**, 1-6.
 23. Kim, W., Bae, S., Park, H., Park, K., Lee, S., Choi, Y., Han, S. and Koh, Y. 2010. The larval age and mouth morphology of the black soldier fly, *Hermetia illucens* (Diptera: Stratiomyidae). *Int. J. Indust. Entomol.* **21**, 185-187.
 24. Kwon, C. S., Sung, H. J. and Sohn, H. Y. 2019. Anti-thrombosis activities of the root extract of *Moringa oleifera* Lam. *Microbiol. Biotechnol. Lett.* **47**, 20-24.
 25. Matsue, M., Mori, Y., Negase, S., Sugiyama, Y., Hirano, R., Ogai, K., Ogura, K., Kurihara, S. and Okamoto, S. 2019. Measuring the antimicrobial activity of lauric acid against various bacteria in human gut microbiota using a new method. *Cell Transplant.* **28**, 1528-1541.
 26. Mintah, B. K., He, R., Dabbour, M., Agyekum, A. A., Xing, Z., Golly, M. K. and Ma, H. 2019. Sonochemical action and reaction of edible insect protein: influence on enzymolysis reaction-kinetics, free-Gibbs, structure, and antioxidant capacity. *J. Food Biochem.* **43**, e12982.
 27. Park, K., Yun, E. Y., Park, S. W. and Goo, T. W. 2016. The antimicrobial activity of bacterial-challenged black soldier fly, *Hermetia illucens*. *J. Life Sci.* **26**, 1409-1414.
 28. Park, K., Choi, J., Nam, S., Kim, S., Kwak, K., Lee, S. and Nho, S. 2014. Antioxidant activities of black soldier fly, *Hermetia illucens*. *J. Serc. Entomol. Sci.* **52**, 142-146.
 29. Ryu, H. Y., Heo, J. C., Hwang, J. S., Kang, S. W., Yun, C. Y., Lee, S. H. and Sohn, H. Y. 2008. Screening of thrombin inhibitor and its DPPH radical scavenging activity from wild insects. *J. Life Sci.* **18**, 363-368.
 30. Shin, H. S. and Park, S. I. 2019. Novel attacin from *Hermetia illucens*: cDNA cloning, characterization, and antibacterial properties. *Prep. Biochem. Biotechnol.* **49**, 279-285.
 31. Singleton, V. L., Orthofer, R. and Lamuela-Raventos, R. M. 1999. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. *Methods Enzymol.* **299**, 152-178.
 32. Sweeney, J. D., Hoerning, L. A., Behrens, A. N., Novak, E. and Swank, R. T. 1990. Thrombocytopenia after desmopressin but absence of *in-vitro* hypersensitivity to ristocetin. *Amer. J. Clin. Pathol.* **93**, 522-525.
 33. Ushakova, N., Dontsov, A., Sakina, N., Bastrakov, A. and Ostrovsky, M. 2019. Antioxidative properties of melanins and ommochromes from black soldier fly *Hermetia illucens*. *Biomolecules* **9**, E408.
 34. Valentina, U., Fabic, J. and Stampar, F. 2007. Sugars, organic acids, phenolic composition and antioxidant activity of sweet cherry (*Prunus avium* L.). *Food Chem.* **107**, 185-192.
 35. Yu, M., Li, Z., Chen, W., Rong, T., Wang, G., Li, J. and Ma, X. 2019. Use of *Hermetia illucens* larvae as a dietary protein source: effects on growth performance, carcass traits, and meat quality in finishing pigs. *Meat Sci.* **158**, 107837.

초록 : 동애등에의 항혈전 활성

표수진¹ · 원준^{1,2} · 강덕경¹ · 손호용^{1*}

(¹안동대학교 식품영양학과, ²경북바이오산업연구원)

최근, 환경오염의 심화, 식량·에너지 부족, 지구온난화 문제에 대한 대안으로 곤충산업이 주목받고 있다. 본 연구에서는 환경정화 곤충 및 사료용 곤충으로 각광받고 있는 동애등에(Black soldier fly, *Hermetia illucens*)의 고부가가치화를 위해, 생육시기별로 유충(2령~6령), 번데기, 용각 및 성충을 회수하여 이의 에탄올 추출물을 조제하고, 이의 유용성분 함량, 혈액응고저해 및 혈소판 응집저해 활성을 평가하였다. 동애등에 유충은 15일 사육(2령~6령) 동안 25배 무게가 증가하였으며, 흰색-미색-흑갈색으로 변화하였으며, 에탄올 추출수율은 생육시기에 따라 1.0~18.5%로 다양하였다. 추출물의 총 폴리페놀 함량은 용각(17.2 mg/g)에서 가장 높았으며, 번데기, 성충, 2령 순으로 나타났으며, 총 플라보노이드 함량은 번데기(3.4 mg/g), 용각, 6령 순으로 나타났다. 반면 총당 함량은 6령(37.6 mg/g)에서 특이하게 높게 나타났으며, 용각, 번데기, 5령순으로 나타났다. 혈액응고 저해 활성 평가결과, 용각 추출물에서 가장 우수한 트롬빈저해, 내인성 및 외인성 응고 저해를 나타내었으며, 6령 및 번데기 추출물에서도 우수한 항응고 활성을 확인하였다. 혈소판 응집저해 활성 평가에서는 3령, 용각 및 성충 추출물에서 우수한 응집저해능이 나타났으며, 4령 및 5령 추출물은 오히려 혈소판 응집을 촉진함을 확인하였다. 현재까지 동애등에의 항혈전 활성은 보고된 바 없으며, 특히 생육시기별 활성 평가도 보고된 바 없다. 본 연구결과는 동애등에 번데기 및 용각을 이용한 항혈전 소재 개발이 가능함을 제시하고 있다.