

ANIMAL

Effects of black soldier fly larvae (*Hermetia illucens*) oil on cecal microbiota in broilers

Byeonghyeon Kim, Han Tae Bang, Jin Young Jeong, Min Ji Kim, Ki Hyun Kim, Ju Lan Chun, Kondreddy Eswar Reddy, Sang Yun Ji*

National Institute of Animal Science, Rural Development Administration, Wanju 55365, Korea

*Corresponding Author: syjee@korea.kr

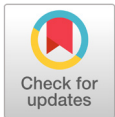
Abstract

Among insect species, black soldier fly larvae (BSFL) is a promising ingredient for animal feed as a dietary source. Moreover, BSFL contains a high content of lauric acid (C12:0), which has antimicrobial effects. Therefore, this study evaluated the effect of BSFL oil (BSFLO) as a partial or total replacement of soybean oil (SBO) on the cecal microbiota in broilers. A total of 210 male broiler chickens (Ross 308) at one-day of age were randomly allotted to 3 dietary treatments (10 replicates and 7 birds/group): a basal control diet (CON), the basal diet in which SBO was replaced by 50% (50 BSFLO) or 100% (100 BSFLO) BSFLO. At the end of the study (d 35), 18 birds (6 broilers/treatment) were randomly selected and slaughtered. Samples of cecal digesta were collected to verify their cecal microbiota. Overall, 235,978 gene sequences were generated, and a total of 4,398 operational taxonomic units were identified in the three groups. At the phylum level, Firmicutes was the dominant phyla in all three groups. At the genus level, *Faecalibacterium* was the dominant genera in all the treatments. There were no significant differences in the relative abundances of all the genera between the BSFLO groups and CON. However, the genus *Erysipelatoclostridium* was more abundant in the 50 BSFLO group than in the CON ($p < 0.05$). In conclusion, the substitution of SBO with BSFLO in broiler diets had no negative effect on the cecal microbiota of broilers.

Keywords: black soldier fly larvae oil, broiler, cecal microbiota

Introduction

세계 전망에 따르면, 전 세계 인구는 대략 90억에 이르게 되고 증가하는 인구 수로 인해 식량문제와 같은 다양한 문제를 일으킬 전망이다(Wise, 2013). 인구수가 증가함에 따라 각종 유기 폐기물이 증가하고 관리하는 것이 중요하다(Surendra et al., 2016). 또한, 동물들의 주요 단백질 공급원인 대두의 제한적인 공급은 인간과 가축의 수요 측면에서 경쟁을 야기시킬 수 있으며, 대체 가능한 원료에 대한 연구가 진행되었다(Kim et al., 2016; Kim et al., 2017; Schiavone et al., 2017). 뿐만 아니라, 증가하는 대두 가격은 축산업의 생산성에 있어서 커다란 문제가 될 수 있다. 이러한 문제들을 해결하기 위해 대두유 대체제가 필요하고, 대체제로 동애등에 유충(black soldier fly larvae, BSFL)이 각광 받고 있으며, 여러 연구자들에 의해 연구가 진행되었다(Schiavone et al., 2017; Schiavone et al., 2018; Cullere et al., 2019).



 OPEN ACCESS

Citation: Kim B, Bang HT, Jeong JY, Kim MJ, Kim KH, Chun JL, Reddy KE, Ji SY. 2020. Effects of black soldier fly larvae (*Hermetia illucens*) oil on cecal microbiota in broilers. Korean Journal of Agricultural Science 47:219-227. <https://doi.org/10.7744/kjoas.20200012>

Received: March 16, 2020

Revised: April 27, 2020

Accepted: April 28, 2020

Copyright: © 2020 Korean Journal of Agricultural Science



This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

동애등에 유충은 상한 음식이나 분과 같은 유기성 물질을 분해할 수 있는 능력과 식이 원료로 쓰일 수 있다는 장점을 가지고 있다(Sheppard et al., 1994; Surendra et al., 2016). 동애등에 유충은 유기물을 분해하여 번데기 과정을 위해 단백질과 지방을 몸 속에 저장하며 섭취하는 물질에 따라 체내 영양소 조성이 달라진다(Newton et al., 2005; Surendra et al., 2016). 섭취하는 물질의 영양분 조성에 의해 유충 체내 영양분의 조성이 달라지긴 하지만, 대체적으로 단백질이 40%, 지방이 30%가량 함유되어 있으며, 이러한 조성은 양계 산업에서 단백질과 지방 공급원의 가능성을 보여준다(Sheppard et al., 1994; Newton et al., 2005; Lock et al., 2016). 또한 동애등에유(black soldier fly larvae oil, BSFLO)를 대두유 50%와 100%를 대체하여 닭에게 급여한 결과 성장률에 차이가 없었으며, 이러한 결과는 동애등에유가 대두유 대체제로 사용 가능하다는 것을 의미한다(Schiavone et al., 2017; Schiavone et al., 2018). 하지만, 동애등에유를 대두유로 대체하였을 때, 장내 미생물 균총에 미치는 영향에 관한 연구가 부족하다. 따라서, 본 연구는 대두유를 동애등에유로 대체하여 육계 사료에 급여하였을 때 맹장 미생물에 어떠한 영향이 있는지를 알아보고자 실시하였다.

Materials and Methods

공시동물, 실험 설계 및 처리구

1일령의 육계(Ross 308)를 총 210수를 공시하여 총 5주간 수행하였으며, 공시 체중을 고려하여 케이지당 7수씩 10반복으로 배치하였다. 각 케이지에는 자동 급여기와 음수기를 설치하였고 자동환기시스템으로 온도를 조절하였다. 공시 사료로 옥수수과 대두박 배합사료를 급여하였으며, 배합사료의 원료 구성 및 배합비는 Table 1에 표시하였다. 배합사료는 초생추, 육성전기 및 육성후기로 나누어 배합하였고 자유채식하도록 급여하였다. 처리구의 사료에는 동애등에유를 대두유 50% (50 BSFLO)와 100% (100 BSFLO)를 각각 대체하여 급여하였다.

조사 항목 및 조사 방법

동애등에유의 지방산 조성 분석

동애등에유 내에 존재하는 지질을 추출하기 위해 chloroform과 methanol을 1 : 2로 혼합하여 사용하였고, H₂SO₄를 사용하여 메틸전이반응을 통해 fatty acid methyl esters (FAME)를 분석하였다. FAME은 7890A 가스크로마토그래피 (Agilent Technologies, Wilmington, USA)를 사용하여 분석 후, 분석된 모든 FAME에 대한 각각의 지방산의 비율을 표로 나타내었다(Table 2).

맹장 내용물 채취 및 DNA샘플 준비

35일령에 처리구 당 6마리씩 임의선발하여 도계 후, 맹장을 적출하여 내용물을 채취하였고, 채취 후 바로 액체 질소에 넣은 후 -80°C에 분석 전까지 보관하였다. 5 g의 맹장내용물을 Ringer's solution으로 1 : 10비율로 희석하고 2분동안 균질화 후, 샘플 1 mL를 4°C에서 원심분리 하였다. 원심분리 후, fast-DNA spin kit (MP Bio Laboratories, USA)를 사용하여 DNA를 추출하여 -20°C에 시퀀싱 전까지 보관하였다.

Table 1. Ingredients and chemical composition of experimental diets (as-fed basis).

Items	Starter			Grower			Finisher		
	CON	50 BSFLO	100 BSFLO	CON	50 BSFLO	100 BSFLO	CON	50 BSFLO	100 BSFLO
Ingredients (%)									
Corn	53.05	53.05	53.05	59.00	59.00	59.00	61.80	61.80	61.80
Soybean meal (44%)	30.00	30.00	30.00	30.00	30.00	30.00	30.00	30.00	30.00
Corn gluten meal	6.35	6.35	6.35	4.00	4.00	4.00	1.60	1.60	1.60
Wheat bran	3.15	3.15	3.15	-	-	-	-	-	-
Soybean oil	3.00	1.50	-	3.00	1.50	-	3.00	1.50	-
Black soldier fly larvae oil	-	1.50	3.00	-	1.50	3.00	-	1.50	3.00
Dicalcium phosphate	1.75	1.75	1.75	1.50	1.50	1.50	1.45	1.45	1.45
Limestone	1.25	1.25	1.25	1.15	1.15	1.15	1.05	1.05	1.05
Vitamin-mineral premix ^z	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50
L-lysine	0.40	0.40	0.40	0.25	0.25	0.25	0.10	0.10	0.10
DL-methionine	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20	0.15	0.15	0.15
Salt	0.35	0.35	0.35	0.40	0.40	0.40	0.35	0.35	0.35
Calculated composition									
ME (Kcal·kg ⁻¹)	3,031	3,031	3,031	3,106	3,106	3,106	3,152	3,152	3,152
Methionine (%)	0.53	0.53	0.53	0.50	0.50	0.50	0.43	0.43	0.43
Lysine (%)	1.42	1.42	1.42	1.26	1.26	1.26	1.11	1.11	1.11
Calcium (%)	0.96	0.96	0.96	0.91	0.91	0.91	0.86	0.86	0.86
Total phosphorus (%)	0.77	0.77	0.77	0.70	0.70	0.70	0.65	0.65	0.65
Analyzed composition									
Crude protein (%)	24.63	24.48	23.28	22.15	22.77	23.14	22.71	22.03	21.37
Crude fat (%)	3.63	5.39	5.93	6.76	7.51	7.70	4.68	4.44	5.22

CON, control diet; 50 BSFLO, 50% black soldier fly larvae oil diet; 100 BSFLO, 100% black soldier fly larvae oil diet.

^zSupplied per kilogram of diet: Vitamin A 1,600,000 IU; vitamin D₃ 300,000 IU; vitamin E 800 IU; vitamin K₃ 132 mg; vitamin B1 97 mg; vitamin B2 500 mg; vitamin B6 200 mg; vitamin B12 1.2 mg; nicotinic acid 2,000 mg; pantothenic acid 800 mg; folic acid 60 mg; choline chloride 35,000 mg; Mn 12,000 mg; Zn 9,000 mg; Fe 4,000 mg; Cu 500 mg; I 250 mg; Co 100 mg; Se 50 mg.

Table 2. Fatty acid profile (% of total FAME) of the black soldier fly larvae oil (BSFLO).

Fatty acids	BSFLO
C10:0	1.76
C12:0 (lauric)	35.72
C14:0 (myristic)	5.03
C16:0 (palmitic)	13.78
C18:0 (stearic)	2.81
SFA	59.1
C16:1	2.12
C18:1 n-9 (oleic)	18.28
MUFA	20.40
C18:2 n-6 (linoleic)	15.02
C18:3 n-3 (linolenic)	1.95
PUFA	16.97
UFA/SFA	0.63

SFA, saturated fatty acid; MUFA, mono-unsaturated fatty acid; PUFA, poly-unsaturated fatty acid; UFA, unsaturated fatty acid.

16S rRNA 유전자 시퀀싱

추출된 DNA 샘플의 16S ribosomal RNA (16S rRNA) 유전자를 증폭하였고 증폭된 DNA 샘플은 정방향 프라이머 341F (5'-CCTACGGGNGGCWGCAG-3')와 역방향 프라이머 805R (5'-GACTACHVGGGTATCTAATCC-3')을 사용하여 400 - 500 bp 사이에서 18개의 amplicon을 생성하였으며, 마크로젠(Macrogen, Inc., Seoul, Korea)에서 MiSeq 플랫폼(Illumina, San Diego, USA)을 사용하여 시퀀싱하였다.

통계 분석

실험 결과는 SAS 프로그램(SAS Inst. Inc., Cary, USA)의 GLM procedures를 이용하여 진행하였으며, 처리구간 유의적 차이는 Tukey검정에 의해 95% 유의수준으로 분석하였다.

Results and Discussion

일반적으로 동애등에 유충의 지방산 조성의 경우, 대체적으로 포화지방산(saturated fatty acid, SFA)의 함량이 불포화지방산(unsaturated fatty acid, USFA) 함량보다 높고, 포화지방산 중에서도 라우릭산(lauric acid)의 함량이 가장 높다(Makkar et al., 2014). 라우릭산은 탄소수 6 - 12개로 구성된 중쇄지방산(medium-chain fatty acid, MCFA)의 한 종류이며, 코코넛 오일 안에 높게 함유된 지방산이다(Suzuki, 2013). 중쇄지방산은 세균의 세포질을 투과하여 사멸시키는 항균성을 가지고 있어 장 건강을 위한 천연 항생제로서 사용될 수 있을 것으로 보인다(Zeitz et al., 2015; Spranghers et al., 2018).

본 실험에서 사용된 동애등에유 내에 존재하는 지방산 성분을 분석한 결과(Table 2), 포화지방산의 함량이 59.1%, 단일불포화지방산(mono-unsaturated fatty acid, MUFA)의 함량이 20.40%, 그리고 다가불포화지방산(poly-unsaturated fatty acid, PUFA) 함량은 16.97%였다. 포화지방산 내에서 가장 많이 함유된 지방산은 라우릭 산(C12:0)이며, 35.72%로 전체 지방산 중에서 대략 3분의 1가량 동애등에유 내에 함유되어 있었다.

대조구 사료 내 대두유를 동애등에유로 50%와 100% 대체하였을 때, 육계 맹장 소화물 내 박테리아 군집의 차이를 시퀀싱하였다. 그 결과 OTUs, Chao 1, Shannon 및 Simpson과 같은 다양성 지표는 처리구간 유의적인 차이를 보이지 않았다(Table 3). 또한, 박테리아 군집 구성을 문 단위로 정리한 결과, 주요 문은 Firmicutes, Proteobacteria 및 Bacteroidetes로 분석되었다(Fig. 1). Firmicutes는 세 처리구 모두 90%이상으로 가장 높은 비율을 보여 주었으며, 50% 대체한 처리구(96.02%)와 100% 대체한 처리구(94.45%) 모두 대조구(97.40%)에 비해 낮았다. 하지만, Proteobacteria는 동애등에유를 급여한 두 처리구(3.19, 3.03%) 모두 대조구(1.92%)보다 상대적으로 높았다. 박테리아 군집 구성을 속 단위로 정리한 결과, 총 125개의 속이 분석되었으며, 117개의 속이 Firmicutes문, 6개의 속이 Proteobacteria문, 1개의 속이 Bacteroidetes문, 그리고 1개의 속이 Actinobacteria문으로 분류되었다. 속 분석결과에서 1% 미만은 others로 분류하고 나머지 16개의 속을 표로 나타내었다(Fig. 1). 닭의 장내 미생물 중 주요 미생물로 알려진 *Faecalibacterium* 속이 세 처리구 모두 가장 높은 비율(50% 이상)로 존재하였으며, *Ruminococcus*가 다음으로 높았다. Firmicutes문에 속하는 속 중에서 *Faecalibacterium*속은 50% 대체한 처리구(56.89%)에서 대조구(60.75%)에 비해 낮았다. 일반적으로, *Faecalibacterium*속은 단쇄지방산 중 하나인 butyrate를 생성하여 장상피세포를 강화해 장용모발달에 유익한 미생물로 알려져 있다(Miquel et al., 2013; Gangadoo et al., 2018). 동애등에유를 첨가한 두 처리구(5.22, 3.92%) 모두 대조구(7.66%)에 비해 *Ruminococcus*속 비율이 낮았으며, *Lactobacillus*속은 동애등에 대체 비율이 증가할수록 감소하였다(3.84, 2.64, 및 1.45%). *Ruminococcus*속은 *Ruminococcaceae*과에 속하는데, *Ruminococcaceae*과에 속하는 미생물들은 셀룰로오스를 분해하여 단쇄지방산을 생성한다고 알려져 있다(Liu et al., 2008; Li et al., 2017). 하지만, Proteobacteria

문에 속하는 *Escherichia*속은 동애등에유를 첨가한 두 처리구 모두 대조구에 비해 높았다(1.91, 3.17 및 3.03%). 문과 속 수준에서 처리구간 미생물 균총 차이를 통계분석 및 비교를 한 결과(Fig. 2), 대부분의 미생물들이 유의적인 차이가 없었으나, 속 수준에서 *Erysipelatoclostridium*속이 50% 대체한 처리구(2.21%)가 대조구(0.68%)보다 유의적으로 높았다($p < 0.05$). 이전 연구결과에 의하면 육계에게 증쇄지방산을 급여하였을 때 *Erysipelatoclostridium*속이 증가하였는데, 대두유보다 상대적으로 높은 동애등에유의 증쇄지방산 함량이 균총에 영향을 준 것으로 보인다(Kers et al., 2019). 하지만, 주성분분석(principal coordinates analysis, PCoA)을 한 결과, 결과적으로 처리구간 미생물 균총 차이는

Table 3. Number of sequences, operational taxonomic units (OTUs), and diversity estimates of bacteria in cecal digesta².

Index	Treatments		
	CON	50 BSFLO	100 BSFLO
No. of Sequences	13,141	14,080	12,109
OTUs	247	244	242
Chao 1	285.48	273.86	280.18
Shannon	3.20	3.54	3.29
Simpson	0.63	0.69	0.65
Goods coverage	0.99	0.99	0.99

CON, control diet; 50 BSFLO, 50% black soldier fly larvae oil diet; 100 BSFLO, 100% black soldier fly larvae oil diet; OTUs, operational taxonomic units; Chao 1, richness estimate; Shannon, number and evenness of species; Simpson, measure of diversity.

²Each value is the mean of 6 replicates.

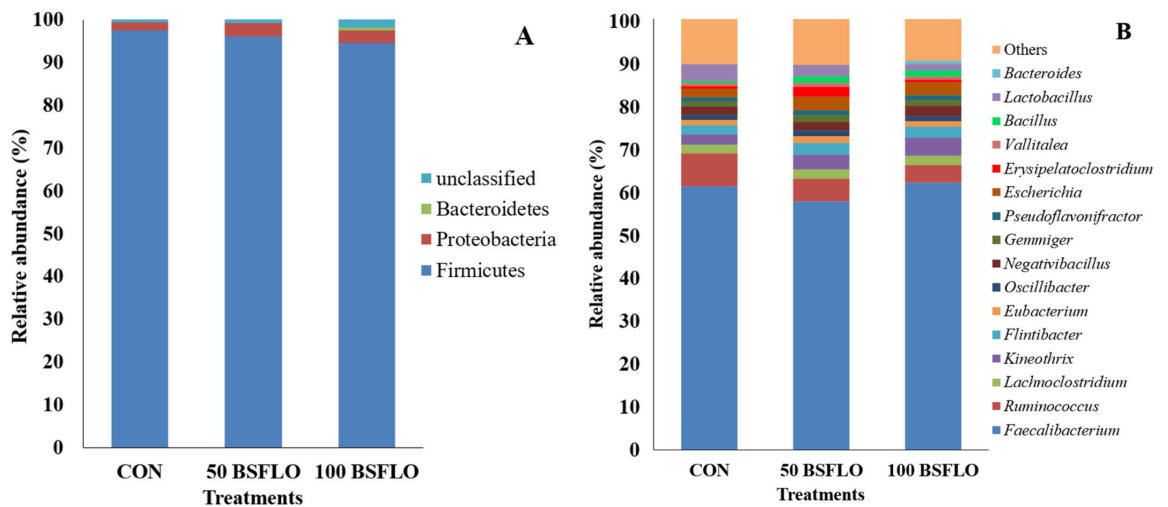


Fig. 1. Microbial taxonomic profiles from the cecal digesta of the three dietary treatments at the phylum (A) and genus (B) levels. The taxonomic composition of the cecal microbiota among the treatment groups was compared based on the relative abundance (taxon reads/total reads in the cecal digesta). CON, control diet; 50 BSFLO, 50% black soldier fly larvae oil diet; 100 BSFLO, 100% black soldier fly larvae oil diet.

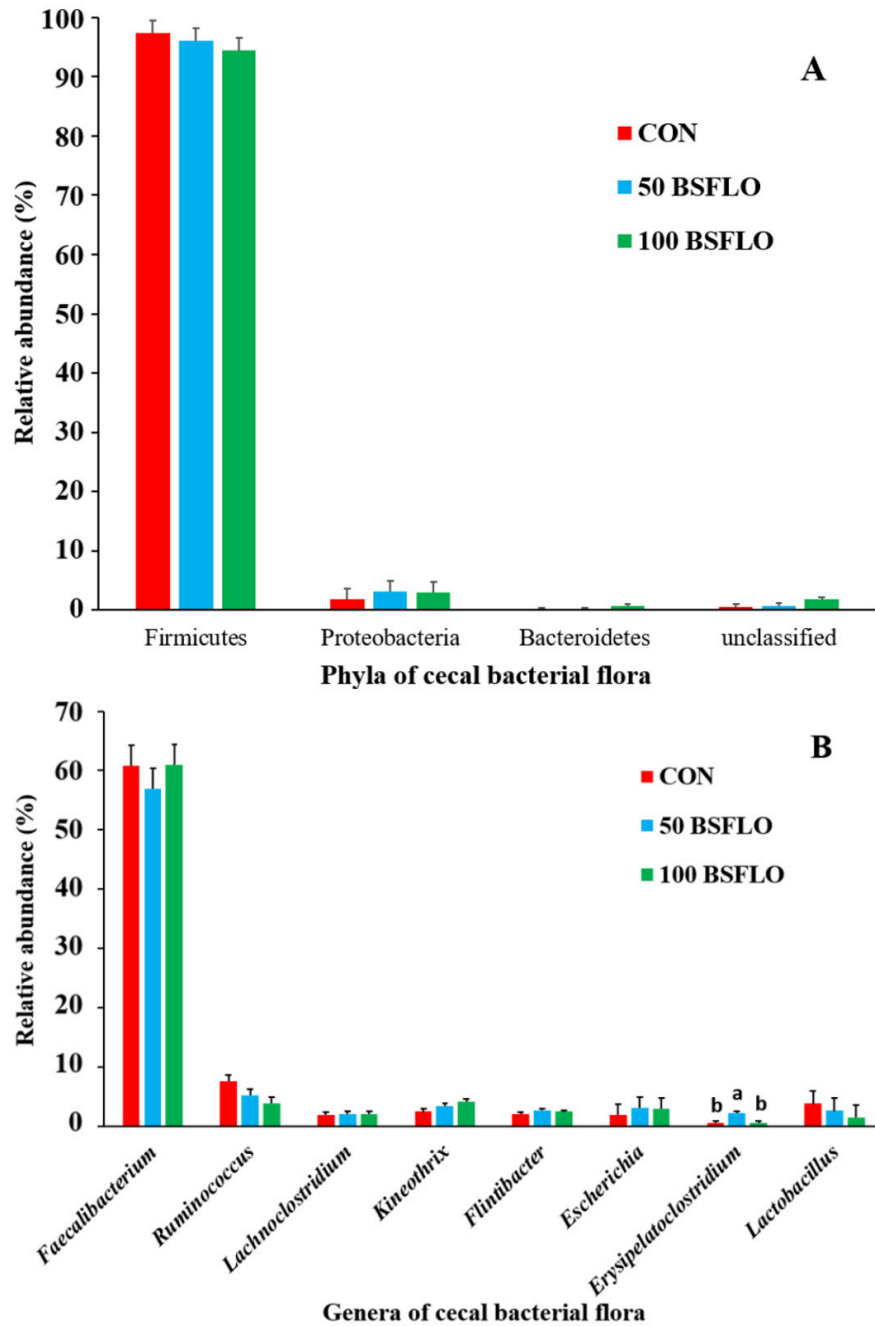


Fig. 2. Relative abundances of the cecal microbiota between the control, 50 BSFLO, and 100 BSFLO groups. Variations in the relative abundance of the cecal microbiota at the phylum (A) and genus (B) levels. Different letters indicate significant difference ($p < 0.05$). CON, control diet; 50 BSFLO, 50% black soldier fly larvae oil diet; 100 BSFLO, 100% black soldier fly larvae oil diet.

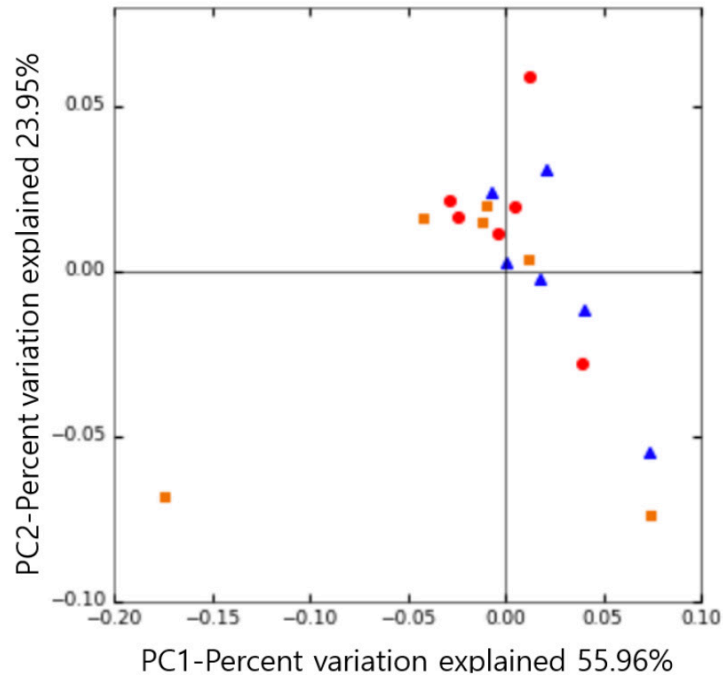


Fig. 3. Principal coordinates analysis (PCoA) plots based on weighted UniFrac distance metrics. Individual samples for treatments are designated with the following symbols: CON (red, ○), 50 BSFLO (blue, △), and 100 BSFLO (orange, □). CON, control diet; 50 BSFLO, 50% black soldier fly larvae oil diet; 100 BSFLO, 100% black soldier fly larvae oil diet.

보이지 않았다(Fig. 3).

동애등에유를 사용하여 대두유를 대체 급여한 결과, 맹장 내 미생물 균총이 바뀌었지만, 부정적인 영향을 끼치지 않았다. 이러한 결과는 사료 내 첨가된 지방 원료(대두유와 동애등에유) 내 지방산 조성의 차이로 보여진다. 동애등에유의 중쇄지방산은 다른 지방산보다 극성의 성질과 짧은 탄소 수 때문에 소장상부에서 흡수가 빨라 대장까지 도달하기 힘든 특성을 가지고 있다(Zeitz et al., 2015; Belghit et al., 2019). 또한, 라우릭 산은 주로 그람 양성균을 억제하며, *E. coli*나 *Salmonella spp.*와 같은 그람 음성균에는 효과가 약하다(Skrivanova et al., 2005; Hermanns et al., 2010). 하지만, 중쇄지방산은 장쇄지방산에 비해 소장 상부에서 빠르게 흡수되는 특성 때문에 소장 상부의 용모 발달에 효과가 있으며, 이는 중쇄지방산이 직접적으로 장 상피세포에 에너지원으로 쓰였기 때문이다(Zentek et al., 2012). 이러한 중쇄지방산의 특성 때문에 동애등에유를 급여하였을 때, 맹장 미생물에 미치는 영향이 적은 것으로 판단된다.

Conclusion

대두유와 동애등에유의 지방산 조성 분석 결과, 동애등에유의 중쇄지방산 함량이 대두유에 비해 높았다. 육계 사료 내 대두유를 동애등에유로 대체 급여한 결과, 맹장 내 미생물 균총이 바뀌었으나, 처리구간 유의적인 차이를 보여주진 않았다. 이러한 결과는, 동애등에유 내의 중쇄지방산이 소장 상부에서 빠르게 흡수되는 특성 때문에 맹장에 충분히 도달하지 못했기 때문이라고 판단된다.

Acknowledgements

본 연구는 농촌진흥청 연구사업(세부과제명: 유용곤충 가공 사료소재별 닭 이용성 평가, 세부과제번호: PJ01456002)의 지원과 2019년도 농촌진흥청 국립축산과학원 전문연구원 과정 지원사업에 의해 수행되었습니다.

Authors Information

Byeonghyeon Kim, <https://orcid.org/0000-0003-4651>

Han Tae Bang, <https://orcid.org/0000-0003-0441-3542>

Jin Young Jeong, <https://orcid.org/0000-0002-8670-7036>

Min Ji Kim, <https://orcid.org/0000-0003-2106-1921>

Ki Hyun Kim, <https://orcid.org/0000-0002-9834-2126>

Ju Lan Chun, <https://orcid.org/0000-0002-4618-586X>

Kondreddy Eswar Reddy, National Institute of Animal Science, Rural Development Administration, Postdoctoral researcher

Sang Yun Ji, <https://orcid.org/0000-0001-7235-3655>

References

- Belghit I, Waagbø R, Lock EJ, Liland NS. 2019. Insect-based diets high in lauric acid reduce liver lipids in freshwater Atlantic salmon. *Aquaculture Nutrition* 25:343-357.
- Cullere M, Schiavone A, Dabbou S, Gasco L, Dalle Zotte A. 2019. Meat quality and sensory traits of finisher broiler chickens fed with black soldier fly (*Hermetia illucens* L.) larvae fat as alternative fat source. *Animals* 9:1-15.
- Gangadoo S, Dinev I, Chapman J, Hughes RJ, Van TTH, Moore RJ, Stanley D. 2018. Selenium nanoparticles in poultry feed modify gut microbiota and increase abundance of *Faecalibacterium prausnitzii*. *Applied Microbiology and Biotechnology* 102:1455-1466.
- Hermanns D, Martel A, Van Deun K, Verlinden M, Van Immerseel F, Garmyn A, Messens W, Heyndrickx M, Haesebrouck F, Pasmans F. 2010. Intestinal mucus protects *Campylobacter jejuni* in the ceca of colonized broiler chickens against the bactericidal effects of medium-chain fatty acid. *Poultry Science* 89:1144-1155.
- Kers JG, Velkers FC, Fischer EAJ, Hermes GDA, Lamot DM, Stegeman JA, Smidt H. 2019. Take care of the environment: Housing conditions affect the interplay of nutritional interventions and intestinal microbiota in broiler chickens. *Animal Microbiome* 1:1-14.
- Kim JK, Lei XJ, Lee SI, Lee IS, Kim IH. 2017. Evaluation of rapeseed meal as a protein source to replace soybean meal in growing pigs. *Korean Journal of Agricultural Science* 44:235-243.
- Kim S, Kim B, Kim Y, Jung S, Kim Y, Park J, Song M, Oh S. 2016. Value of palm kernel co-products in swine diets. *Korean Journal of Agricultural Science* 43:761-768.
- Liu C, Finegold SM, Song Y, Lawson PA. 2008. Reclassification of *Clostridium coccooides*, *Ruminococcus hansenii*, *Ruminococcus hydrogenotrophicus*, *Ruminococcus luti*, *Ruminococcus productus* and *Ruminococcus schinkii* as *Blautia coccooides* gen. nov., comb. nov., *Blautia hansenii* comb. nov., *Blautia hydrogenotrophica* comb. nov., *Blautia luti* comb. nov., *Blautia producta* comb. nov., *Blautia schinkii* comb. nov. and description of *Blautia wexlerae* sp. nov., isolated from human faeces. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 58:1896-1902.
- Li Z, Wang W, Liu D, Guo Y. 2017. Effects of *Lactobacillus acidophilus* on gut microbiota composition in broilers challenged with *Clostridium perfringens*. *PLoS One* 12:e0188634.

- Lock ER, Arsiwalla T, Waagbø R. 2016. Insect larvae meal as an alternative source of nutrients in the diet of Atlantic salmon (*Salmo salar*) postsmolt. *Aquaculture Nutrition* 22:1202-1213.
- Makkar HPS, Tran G, Heuzé V, Ankers P. 2014. State-of-the-art on use of insects as animal feed. *Animal Feed Science and Technology* 197:1-33.
- Miquel S, Martin R, Rossi O, Bermudez-Humaran LG, Chatel JM, Sokol H, Thomas M, Wells JM, Langella P. 2013. *Faecalibacterium prausnitzii* and human intestinal health. *Current Opinion in Microbiology* 16:255-261.
- Newton GL, Sheppard DC, Watson DW, Burtle GJ, Dove CR. 2005. Using the black soldier fly, *Hermetia illucens*, as a value-added tool for the management of swine manure. Animal and Poultry Waste Management Center, North Carolina State University, Raleigh, NC, USA.
- Schiavone A, Cullere M, De Marco M, Meneguz M, Biasato I, Bergagna S, Dezzutto D, Gai F, Dabbou S, Gasco L, Dalle Zotte A. 2017. Partial or total replacement of soybean oil by black soldier fly larvae (*Hermetia illucens* L.) fat in broiler diets: Effect on growth performances, feed-choice, blood traits, carcass characteristics and meat quality. *Italian Journal of Animal Science* 16:93-100.
- Schiavone A, Dabbou S, De Marco M, Cullere M, Biasato I, Biasibetti E, Capucchio MT, Bergagna S, Dezzutto D, Menequz M, Gai F, Dalle Zotte A, Gasco L. 2018. Black soldier fly larva fat inclusion in finisher broiler chicken diet as an alternative fat source. *Animal* 12:2032-2039.
- Sheppard DC, Newton GL, Thompson SA, Savage S. 1994. A value added manure management system using the black soldier fly. *Bioresource Technology* 50:275-279.
- Skriwanova E, Marounek M, Dlouha G, Kanka J. 2005. Susceptibility of clostridium perfringens to C-C fatty acids. *Letters in Applied Microbiology* 41:77-81.
- Spranghers T, Michiels J, Vrancx J, Owyn A, Eeckhout M, De Clercq P, De Smet S. 2018. Gut antimicrobial effects and nutritional value of black soldier fly (*Hermetia illucens* L.) prepupae for weaned piglets. *Animal Feed Science and Technology* 235:33-42.
- Surendra KC, Olivier R, Tomberlin JK, Jha R, Khanal SK. 2016. Bioconversion of organic wastes into biodiesel and animal feed via insect farming. *Renewable Energy* 98:197-202.
- Suzuki T. 2013. Regulation of intestinal epithelial permeability by tight junctions. *Cellular and Molecular Life Sciences* 70:631-659.
- Wise TA. 2013. Can we feed the world in 2050? A scoping paper to assess the evidence. Tufts University, Medford, OR, USA.
- Zeitz JO, Fennhoff J, Kluge H, Stangl GI, Eder K. 2015. Effects of dietary fats rich in lauric and myristic acid on performance, intestinal morphology, gut microbes, and meat quality in broilers. *Poultry Science* 94:2404-2413.
- Zentek J, Buchheit-Renko S, Männer K, Pieper R, Vahjen W. 2012. Intestinal concentrations of free and encapsulated dietary medium-chain fatty acids and effects on gastric microbial ecology and bacterial metabolic products in the digestive tract of piglets. *Archives of Animal Nutrition* 66:14-26.