

# 치어기 넙치(*Paralichthys olivaceus*)의 저어분 사료 내 어분 대체원으로써 동애등에(*Hermetia illucens*)와 갈색거저리(*Tenebrio molitor*) 이용성 평가

송상현<sup>†</sup> · 임현운<sup>†</sup> · 이경준<sup>1\*</sup>

제주대학교 해양생명과학과, <sup>1</sup>제주대학교 해양과학연구소

## Evaluation of Black Soldier Fly *Hermetia illucens* and Mealworm *Tenebrio molitor* as a Fish Meal Substitute in a Low-Fish Meal Diet for Juvenile Olive Flounder *Paralichthys olivaceus*

Sanghyun Song<sup>†</sup>, Hyunwoon Lim<sup>†</sup> and Kyeong-Jun Lee<sup>1\*</sup>

Department of Marine Life Sciences, Jeju National University, Jeju 63243, Republic of Korea

<sup>1</sup>Marine Science Institute, Jeju National University, Jeju 63333, Republic of Korea

This study aimed to evaluate the effectivity of full-fat black soldier fly *Hermetia illucens* (BSF) and defatted mealworm *Tenebrio molitor* (MW) larvae meal as a fish meal (FM) substitute in a low-fish meal (LFM) diet for juvenile olive flounder *Paralichthys olivaceus*. The LFM diet comprising 45% FM with tankage meal, poultry byproduct meal, soy protein concentrate and wheat gluten was the control diet. Three experimental diets were 10% FM in Con with BSF, MW and a mixture of both at the same ratio (designated as B10, M10 and B5M5, respectively). Four hundred and forty-fourth juvenile *P. olivaceus* (34.3±0.1 g) were randomly distributed into 12 tanks (425 L) in three replicate groups per treatment and fed the experimental diets for 15 weeks. At the end of the feeding trial, growth performance, survival, biological indices (condition factor, viscerosomatic index, hepatosomatic index), non-specific immune responses (lysozyme, myeloperoxidase) and intestinal histology (villi length and goblet cells) were not significantly affected by treatments. Feed utilization was significantly decreased in M10 compared to the control group. Alanine aminotransferase level was significantly higher in M10 than in the control group. Glucose level was significantly lower in B10 than in the control group. These results suggest that BSF and MW can be used as FM substitutes. However, considering feed conversion ratio and AST level, MW availability is thought to be lower than that of BSF, and feeding fish with a diet containing MW for an extended period is thought to adversely affect fish growth.

Keyword: Olive flounder, Black soldier fly, Mealworm, Low-fish meal diet, Replacement

### 서론

전 세계적으로 약 백만여 종의 곤충(insect)이 서식하는 것으로 알려져 있다. 곤충은 단백질(47~70%)과 지질(31~43%)의 함량이 높고, 음식폐기물을 먹이로 활용할 수 있기 때문에 친환경적인 단백질원료로서 주목받고 있다. 원료 곤충의 먹이와 가공 방법에 따라 곤충박의 영양소 성분을 쉽게 조절할 수 있으며, 항균 펩타이드(antimicrobial peptides)나 chitin과 같은 생리활성 물질을 다량 함유하고 있어서 사료 첨가제로 사용하면 어류

의 면역력을 향상시킬 수 있다고 보고되었다(Nogales-Mérida et al., 2019). 양식 산업이 발전함에 따라 어분(fish meal)을 대체하기 위해 단백질 원료의 이용성을 평가하는 연구는 꾸준히 진행되었으며, 최근에는 곤충을 이용한 어분 대체 연구가 다수 수행되었다. 곤충을 이용한 어분 대체 연구는 주로 동애등에(black soldier fly *Hermetia illucens*), 갈색거저리(mealworm *Tenebrio molitor*), 귀뚜라미(two-spotted cricket *Gryllus bimaculatus*), 누에(silkworm *Bombyx mori*)와 같은 곤충을 이용한 연구가 보고되었다. 그 중 동애등에와 갈색거저리는 다른

\*Corresponding author: Tel: +82. 64. 754. 3423 Fax: +82. 64. 756. 3493

E-mail address: kjlee@jeju.ac.kr <sup>†</sup>Contributed equally



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

<https://doi.org/10.5657/KFAS.2023.0861>

Korean J Fish Aquat Sci 56(6), 861-869, December 2023

Received 14 November 2023; Revised 11 December 2023; Accepted 14 December 2023

저자 직위: 송상현(대학원생), 임현운(대학원생), 이경준(교수)

곤충보다 성장이 빠르고, 고밀도로 사육할 수 있어 대량사육 기술이 개발되어 있다.

동애등에는 파리목 동애등에과 곤충이며, 단백질 함량은 건물 함량 기준으로 약 30–58%이며, 지질 함량은 약 11–40%에 이른다(Nogales-Mérida et al., 2019). 동애등에를 이용한 연구는 탈지, 비탈지 형태 모두 이용되었으며(Tippayadara et al., 2017; Takakuwa et al., 2022), 갈색거저리와 유사하게 포화지방산의 함량은 매우 높지만, 대부분 lauric acid로 이루어져 있기 때문에 어류의 에너지원으로 쉽게 이용되는 것으로 알려져 있다(Stubbs and Harbron, 1996; Galigiani et al., 2018). 아미노산 조성도 어분과 유사하기 때문에 양어 사료 원료로서의 이용성이 높은 것으로 평가되고 있다(Fisher et al., 2020). 특히, European seabass *Dicentrarchus labrax*, Atlantic salmon *Salmo salar*, 참돔(*Pagrus major*)과 같은 육식성 어류에서 어분 대체가 가능하다고 보고되었다(Magalhães et al., 2017; Li et al., 2020; Takakuwa et al., 2022).

갈색거저리(*T. molitor*)는 딱정벌레목 거저리과 곤충으로 한국을 포함한 전세계에서 생산되고 있고, 다른 곤충들과 달리 변태과정이 짧고 환경 적응력이 우수하다고 알려져 있다(Chung et al., 2013). 갈색거저리는 단백질 함량이 약 52–59%, 지질 함량이 약 16–40%로 보고되었고(Nogales-Mérida et al., 2019), 지질의 75–78%가 oleic acid와 같은 단일 불포화지방산으로 구성되어 있다(Sankian et al., 2018). 갈색거저리는 넙치(*Paralichthys olivaceus*)와 나일틸라피아(*Oreochromis niloticus*)에서 사료 내 어분 대체가 가능하다고 보고되었다(Sánchez-Muros et al., 2016; Jeong et al., 2021).

넙치는 2022년 총 45,801톤이 양식 생산되었으며 국내 어류 생산량의 50.6%를 차지하는 주요 양식어종이다(KOSIS, 2022). 넙치는 육식성 어류이며 단백질 요구량이 높기 때문에 사료 내 주 단백질원으로 다량의 어분이 사용되고 있다. 그러나, 어분의 공급은 환경오염, 남획으로 인해 불안정하고, 지속적인 수요 증가로 인해 가격이 지속적으로 상승하고 있는 추세이다(Hardy, 2010). 따라서, 넙치의 지속 가능한 양식을 위해 저어분 사료의 개발이 필수적이며, 지금까지 어분 대체원료로서의 이용성을 평가하기 위한 연구가 다수 진행되었다(Kim et al., 2020). Choi et al. (2020)은 식물성 단백질인 밀글루텐(wheat gluten), 대두농축단백(soy protein concentrate)과 동물성 단백질인 수지박(tankage meal), 가금부산물(poultry byproduct meal) 혼합물을 이용하여 사료의 어분 함량을 52%까지 줄여도 넙치 성장에 부정적인 영향이 없었다고 보고하였다. Kim et al. (2020)은 동일한 원료 혼합물을 사용하여 넙치 사료 내 어분 함량을 70%에서 32.5%까지 낮춘 저어분 사료도 성장과 사료효율에 전혀 문제가 없었다고 보고하였다. 현재까지 넙치에서 동물성 단백질 원료를 이용한 어분 대체 연구는 수행되었지만, 곤충박을 이용한 연구는 아직 미흡한 실정이다. 따라서, 이번 연구는 Kim et al. (2020)의 후속 연구로서 이용성이 검증된 넙치

의 저어분(어분 함량, 45%) 사료에서 추가적인 어분 대체원료로서 국내에서 수급이 용이한 비탈지 동애등에와 탈지 갈색거저리의 이용 가능성을 평가하기 위해 수행되었다.

## 재료 및 방법

### 실험사료

이번 연구는 Kim et al. (2020)의 후속 연구로서 이용성이 검증된 넙치의 저어분(어분 함량 45%) 사료에서 추가적인 어분 대체원료로서 유충단계의 비탈지 동애등에와 갈색거저리의 이용 가능성을 평가하기 위해 수행되었다. 실험원료로 사용된 비탈지 동애등에와 탈지 갈색거저리의 일반성분, 지방산 조성표는 Table 1에 나타내었다. 실험사료의 조성표는 Table 2에 나타내었다. 대조사료(Con)는 Kim et al. (2020)을 기반으로 동·식물성 단백질 원료(수지박, 가금부산물, 대두농축단백, 밀글루텐)를 사용하여 어분 함량을 45%까지 낮춘 저어분 사료를 사용하였다. 비탈지 동애등에와 탈지 갈색거저리는 각각 (주)엔토모(Siheung, Korea)와 (주)KEIL (Cheongju, Korea)에서 구입하여 실험에 사용되었다. 실험사료는 비탈지 동애등에(단백질 함량 42.6%, 지질 함량 32.8%, B10), 탈지 갈색거저리(단백질 함량 67.3%, 지질 함량 7.24%, M10), 비탈지 동애등에와 탈지 갈색거저리 혼합물(1:1, B5M5)을 사용하여 대조사료 내 어분 함량을 10% 낮추었다. 어분 대체로 인한 아미노산의 결핍을 예방하기 위해 methionine을 첨가하였다. 어분 대체로 인한 기호성의 저하를 예방하기 위해 betaine과 taurine을 첨가하였다. 실험사료는 사료 원료를 혼합한 후, 어유와 증류수(12%)를 첨가하여, 사료제작기(SP-50; Kumkang engineering, Daegu, Korea)

Table 1. Proximate composition and fatty acid profiles of black soldier fly *Hermetia illucens* and mealworm *Termetia illucens* larvae meal for experimental diets

	Ingredients	
	BSF <sup>1</sup>	MW <sup>2</sup>
Proximate composition (% of dry matter)		
Crude protein	42.6	67.3
Crude lipid	32.8	7.24
Ash	9.04	8.34
Moisture	2.77	7.07
Fatty acid (% of lipid)		
C12	45.6	0.12
C14	5.90	0.93
C16	14.6	21.8
C16:1	1.75	1.41
C18	4.34	14.4
C18:1n9	15.5	33.7
C18:2n6	12.3	27.7

<sup>1</sup>Black soldier fly. <sup>2</sup>Mealworm.

Table 2. Dietary formulation of the experimental diets for juvenile olive flounder *Paralichthys olivaceus*

Ingredients	Diets			
	Con	B10	M10	B5M5
Sardine, FM <sup>1</sup>	22.5	17.5	17.5	17.5
Anchovy, FM <sup>1</sup>	22.5	17.5	17.5	17.5
Tankage meal <sup>2</sup>	8.00	9.50	9.50	9.50
Poultry by-product meal <sup>3</sup>	4.50	4.50	4.50	4.50
Soy protein concentrate <sup>4</sup>	5.50	6.00	4.60	5.30
Wheat gluten <sup>5</sup>	4.50	4.70	3.30	4.00
Tuna by-product meal <sup>6</sup>	0.00	1.00	1.00	1.00
Starch	3.80	2.63	2.63	2.63
Soybean meal <sup>4</sup>	12.0	12.0	12.0	12.0
Wheat flour	7.00	7.00	7.00	7.00
Black soldier fly larvae <sup>7</sup>	0.00	10.0	0.00	5.00
Mealworm larvae <sup>8</sup>	0.00	0.00	10.0	5.00
Fish oil <sup>9</sup>	4.30	1.30	4.10	2.70
Lecithin	0.50	0.70	0.70	0.70
Betaine	1.00	1.20	1.20	1.20
Taurine	0.50	0.80	0.80	0.80
Methionine <sup>10</sup>	0.00	0.07	0.07	0.07
Monocalcium phosphate	0.70	0.70	0.70	0.70
Mineral mix <sup>11</sup>	1.00	1.00	1.00	1.00
Vitamin mix <sup>12</sup>	1.00	1.00	1.00	1.00
Vitamin C	0.10	0.10	0.10	0.10
Vitamin E	0.10	0.10	0.10	0.10
Choline chloride	0.50	0.70	0.70	0.70

<sup>1</sup>Fish meal, Orizon S.A, CO., Ltd, Chile. <sup>2</sup>Hanla Industrial Co., Ltd., Jeju, Korea. <sup>3</sup>Woosin Food Co., Ltd., Pocheon, Korea. <sup>4</sup>Solae LLC Inc., Saint Louis, U.S.A. <sup>5</sup>CJ CheilJedang Co., Ltd, Seoul, Korea. <sup>6</sup>Wooginfeed Industry Co. Ltd, Incheon, Korea. <sup>7</sup>Black soldier fly, Co., Entomo, Siheung, Korea. <sup>8</sup>Mealworm, KEIL, Co. Ltd, Cheongju, Korea. <sup>9</sup>Fish oil, E-wha oil Industry, Busan, Korea. <sup>10</sup>Methionine, Corp. Evonic rexim pharmaceutical. <sup>11</sup>Mineral mixture contained the following ingredients (g/kg, mixture): MgSO<sub>4</sub>, 80.2; C<sub>4</sub>H<sub>2</sub>FeO<sub>4</sub>, 12.5; KCl, 130; FeSO<sub>4</sub>·H<sub>2</sub>O, 20; CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O, 1.25; CoSO<sub>4</sub>, 0.75; Ca(IO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, 0.75; Al(OH)<sub>3</sub>, 0.75; ZnSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O, 13.75; MnSO<sub>4</sub>, 11.25; CoCl<sub>2</sub>·6H<sub>2</sub>O, 1. <sup>12</sup>Vitamin mixture contained the following amount which were diluted in cellulose (g/ kg, mixture): L-ascorbic acid, 6.4; DL- $\alpha$  tocopheryl acetate, 37.5; thiamine hydrochloride, 5.0; riboflavin, 10.0; pyridoxine hydrochloride, 5.0; niacin, 37.5; Ca-D-pantothenate, 17.5; myo-inositol, 75.0; D-biotin, 0.05; folic acid, 2.5; menadione, 2.5; retinyl acetate, 1.72; cholecalciferol, 0.025; cyanocobalamin, 0.025. Con, Contains 45% fish meal; B10, Contains 35% fish meal and 10% black soldier fly meal; M10, Contains 35% fish meal and 10% mealworm meal; B5M5, Contains 35% fish meal, 5% black soldier fly meal and 5% mealworm meal.

를 이용해 실험어에 적합한 크기로 제작되었다(3, 5 mm). 실험 사료는 건조(25°C, 24 h)한 후, 사용 전까지 냉동(-20°C) 보관되었다. 실험사료의 일반 성분, 필수 아미노산, 지방산 분석 결과는 Table 3에 나타내었다.

### 실험어 및 사육관리

이번 실험은 제주대학교 동물실험윤리위원회(2020-0035)의 승인을 받아 진행되었다. 실험에 사용된 넙치는 제주도 소재 양식장에서 구입하여 상업용사료(보그락 3호; Suhyup, Jeju, Korea)를 공급하여 2주간 실험환경과 시설에 적응시키기 위해

Table 3. Proximate, amino acid and fatty acid profiles of the experimental diets for juvenile olive flounder *Paralichthys olivaceus*

	Diets			
	Con	B10	M10	B5M5
Proximate composition (% of dry matter)				
Crude protein	58.7	59.4	57.7	59.3
Crude lipid	12.5	12.3	12.8	12.2
Crude ash	10.0	10.3	9.09	9.80
Moisture	8.61	11.2	10.5	11.8
Essential amino acid (% of diet)				
Arginine	3.59	4.09	4.02	4.12
Histidine	1.64	1.63	1.64	1.67
Isoleucine	2.62	2.57	2.52	2.61
Leucine	4.45	4.36	4.28	4.39
Lysine	4.08	3.92	3.82	3.90
Methionine	1.47	1.42	1.34	1.41
Phenylalanine	2.60	2.59	2.50	2.58
Threonine	2.43	2.37	2.33	2.38
Valine	3.06	3.05	3.05	3.12
Fatty acid (% of diet)				
12:0	0.00	1.68	0.00	0.85
14:0	0.58	0.57	0.54	0.55
16:0	3.09	2.75	3.12	2.93
16:1	0.71	0.47	0.61	0.52
18:0	1.04	0.88	1.14	1.07
18:1n9	2.38	2.33	2.50	2.34
18:2n6	1.25	1.79	1.58	1.62
18:3n3	0.68	0.39	0.66	0.45
20:4	0.97	0.31	0.95	0.59
20:5n3	1.18	0.72	1.06	0.83
22:6n3	0.71	0.40	0.61	0.45

Con, Contains 45% fish meal; B10, Contains 35% fish meal and 10% black soldier fly meal; M10, Contains 35% fish meal and 10% mealworm meal; B5M5, Contains 35% fish meal, 5% black soldier fly meal and 5% mealworm meal.

순치되었다. 예비사육 후, 낫치(34.3±0.1 g)는 12개의 실험수조(425 L)에 각각 37마리씩 무작위로 배치하였다. 실험사료는 1일 2회(08:30, 16:00 h) 반복 공급하였으며, 사육 실험은 15주간 진행되었다. 사육수는 모래여과된 자연해수를 사용하였으며 유수량은 4-5 L/min으로 유지되었다. 각 실험수조의 수온과 용존산소(dissolved oxygen), pH, 염도(salinity)는 1일 1회 측정되었다. 수온과 용존산소는 Pro20 Dissolved Oxygen Instrument (YSI, Yellow Springs, OH, USA)를 사용하여 측정되었으며, pH는 Seven Compact (METTLER TOLEDO, Columbus, OH, USA)를 통해 측정되었다. 각 실험수조의 수온은 23.9±2.27°C로 자연수온에 의존하였다. 용존산소는 각 수조에 공기발생기(aeration)를 설치하여 유지되었으며, 실험기간 동안 용존산소는 8.67±0.41 mg/L, pH는 8.49±0.23와 염도는 30.3±0.31 psu로 유지되었다.

### 어체 및 생물학적 지표 측정

사육실험 종료 후, 실험어의 스트레스를 최소화하기 위해 24 h 절식한 후 무게와 마리를 측정하여, 최종 무게(final body weight, FBW), 성장률(weight gain, WG), 일간성장률(specific growth rate, SGR), 사료이용효율(feed conversion ratio), 단백질전환효율(protein efficiency ratio), 생존율(survival)을 계산하였다. 무게 측정 후, 수조 당 3마리(실험구 당 9마리)의 실험어를 무작위로 선별하여 200 ppm 농도의 2-phenoxyethanol (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA)로 안락사 시킨 후, 무게와 체장을 측정하여 비만도(condition factor, CF)를 계산하였다. 이후, 해부하여 간과 내장의 무게를 측정하여 간중량지수(hepatosomatic index, HSI)와 내장중량지수(viscerosomatic index, VSI)를 계산하였다.

### Sampling과 분석

각 수조당 3마리(실험구 당 9마리)의 실험어를 무작위로 선별하여 2-phenoxyethanol 200 ppm을 처리하여 안락사 후, 미부정맥에서 채혈하였다. 채취된 혈액의 절반은 heparin이 20 µL씩 처리된 1.5 mL eppendorf tube에 넣어 hematocrit과 hemoglobin 측정에 사용되었다. 혈장(plasma)은 원심분리(5,000 rpm, 15 min, 4°C)하였으며, 혈청(serum)은 30 min 동안 상온에서 응고시킨 후 원심분리하였다. 분리된 혈장과 혈청은 분석 전까지 냉동보관(-80°C) 되었다.

Hematocrit은 혈액진단원심분리기(Micro Hematocrit VS12000; Vision Scientific, Daejeon, Korea)로 측정하였으며, hemoglobin, aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT), glucose, cholesterol은 시판 kit를 사용하여 생화학 분석기(CH 100<sup>plus</sup>, RADIM company, Firenze, Italy)로 분석되었다. Lysozyme과 myeloperoxidase (MPO)의 활성은 Mohammed et al. (2018)과 Kumari and Sahoo (2005)의 방법으로 분석되었다.

일반성분분석은 AOAC (2005) 방법에 따라 분석하였다. 수분은 상압가열건조법(125°C, 3 h), 조회분은 직접회화로법(550°C, 4 h, LF-MS627; LKLAB KOREA Inc., Namyangju, Korea), 조단백질은 자동조단백분석기(Kjeltec™ 2300; FOSS analytical, Hillerød, Denmark)로 분석되었으며, 조지질은 Folch et al. (1957)의 방법에 따라 분석하였다.

장 조직은 10% formalin에 24 h 동안 고정 후 분석전까지 70% ethanol 용액에 보관되었다. 고정된 장 조직은 tissue processor (TP1020; Leica, Wetzlar, Germany)를 사용해 탈수되었으며, sample을 paraffin에 포매한 뒤 7 µm 너비로 절편하여 유리슬라이드에 고정하였다. 이후 periodic acid Schiff 염색된 조직은 광학현미경(DM750; Leica, Wetzlar, Germany)으로 관찰되었다.

아미노산은 ninhydrin method (Rosen, 1957)의 방법에 따라 분석하였다. 실험사료, 동결건조된 전어체는 자동아미노산 분석기(S433; Sykam GmbH, Fuerstenfeldbruck, Germany)를 이용하여 분석하였다.

전어체, 실험사료의 지방산은 Garces and Mancha (1993)의 방법에 따라 추출되었다. 추출된 지방산은 gas chromatography (6800GC; Agilent Technologies, San Francisco, CA, USA)와 capillary column (112-88A7, 100 m×0.25 mm, film thickness 0.20 µm; Agilent Technologies)을 이용하여 분석하였다. Carrier gas는 수소를 사용하였다. Oven의 온도는 140°C에서 240°C까지 4°C/min으로 증가시켰다. Injector와 detector의 온도는 240°C로 설정하였다. Standard sample은 PUFA 37 component FAME Mix (Supelco, Bellefonte, PA, USA)를 사용하였다.

### 통계학적 분석

분석결과는 SPSS (version 24.0; international Business Machines Co., New York, NY, USA) 프로그램을 이용하여 One-way ANOVA로 통계 분석하였다. 데이터 값의 유의차는 Tukey's HSD를 사용하여 평균 간의 유의성(P<0.05)을 비교하였다. 데이터는 평균값±표준편차(mean±SD)로 나타냈으며, 백분율 데이터는 arcsine 변형 값으로 계산하여 통계 분석되었다.

### 결 과

15주 동안의 사육실험 결과(Table 4), FBW, WG, SGR, 사료섭취량, 생존율은 모든 실험구에서 유의적인 차이가 없었다. 사료전환효율은 M10 실험구가 대조구보다 유의적으로 높았으며, 단백질이용효율은 M10 실험구가 대조구보다 유의적으로 낮았다. 생물학적지표 측정 결과(Table 5), CF, HSI, VSI는 모든 실험구에서 유의적인 차이가 없었다. 혈액학적지표 측정 결과(Table 6), 혈장 ALT 농도는 M10가 Con과 B10실험구보다 유의적으로 높았다. 혈장 glucose 농도는 Con이 B10 실험구보다 유의적으로 높았다. 비특이적 면역력 분석인 lysozyme과



Table 4. Growth performance, feed utilization and survival of the juvenile olive flounder *Paralichthys olivaceus* (initial mean body weight, 34.3±0.05 g) fed the experimental diets for 15 weeks

Diets	FBW <sup>1</sup>	WG <sup>2</sup>	SGR <sup>3</sup>	FI <sup>4</sup>	FCR <sup>5</sup>	PER <sup>6</sup>	Survival <sup>7</sup>
Con	218±14	537±42	1.80±0.06	139±3	0.59±0.02 <sup>b</sup>	2.91±0.11 <sup>a</sup>	94.6±0.0
B10	214±16	524±44	1.78±0.07	145±3	0.62±0.03 <sup>ab</sup>	2.70±0.13 <sup>ab</sup>	92.8±3.1
M10	195±9	468±17	1.69±0.03	140±1	0.66±0.03 <sup>a</sup>	2.58±0.11 <sup>b</sup>	93.7±1.6
B5M5	205±9	499±26	1.74±0.04	142±9	0.63±0.01 <sup>ab</sup>	2.70±0.05 <sup>ab</sup>	93.7±1.6

<sup>1</sup>Final mean body weight (g). <sup>2</sup>Weight gain (%)=(final body weight-initial body weight)×100/initial body weight. <sup>3</sup>Specific growth rate (%/day)=[(log<sub>e</sub> final weight-log<sub>e</sub> initial weight)/days]. <sup>4</sup>Feed intake (g/fish)=dry feed consumed (g)/fish. <sup>5</sup>Feed conversion ratio=dry feed intake/wet weight gain. <sup>6</sup>Protein efficiency ratio=wet weight gain/protein intake. <sup>7</sup>Survival (%). Con, Contains 45% fish meal; B10, Contains 35% fish meal and 10% black soldier fly meal; M10, Contains 35% fish meal and 10% mealworm meal; B5M5, Contains 35% fish meal, 5% black soldier fly meal and 5% mealworm meal. Values are mean of triplicates and presented as mean±SD. Values in the same column having different superscript letters are significantly different (P<0.05). The lack of superscript letter indicates no significant differences among treatments.

Table 5. Biological indices of juvenile olive flounder *Paralichthys olivaceus* (initial mean body weight, 34.3±0.05 g) ed the experimental diets for 15 weeks

Diets	CF <sup>1</sup>	VSI <sup>2</sup>	HSI <sup>3</sup>
Con	0.93±0.08	2.91±0.19	0.78±0.10
B10	0.92±0.04	2.81±0.11	0.79±0.06
M10	0.88±0.05	3.25±0.13	0.79±0.05
B5M5	0.93±0.05	3.06±0.25	0.79±0.04

<sup>1</sup>Condition factor=100×fish weight (g)/(fish length) (cm)<sup>3</sup>. <sup>2</sup>Viscerosomatic index=100×(visceral weight/body weight). <sup>3</sup>Hepatosomatic index=100×(liver weight/body weight). Con, contains 45% fish meal; B10, contains 35% fish meal and 10% black soldier fly meal; M10, contains 35% fish meal and 10% mealworm meal; B5M5, contains 35% fish meal, 5% black soldier fly meal and 5% mealworm meal. Values are mean of triplicate groups and presented as mean±SD. The lack of superscript letter indicates no significant differences among treatments.

MPO의 활성은 모든 실험구에서 유의적인 차이가 없었다. 전 어체 일반성분분석 결과(Table 7), 모든 항목에서 실험구간에

유의적인 차이가 없었다. 조직학적 분석 결과(Table 8, Fig 1), villi length와 goblet cell의 수는 모든 실험구에서 유의적인 차이가 없었다.

## 고 찰

이번 연구의 결과, 비탈지 동애등애와 탈지 갈색거저리는 치어기 넙치의 저어분 사료 내 어분대체원으로 최대 10%까지 사용 가능할 것으로 판단된다. Seo et al. (2022)의 연구에서 육성기 넙치(초기 무게, 365 g)의 저어분 사료(어분 함량, 35%)에서 어분대체원으로 사용된 가금부산물, 수지박, 대두농축단백, 참치부산물분을 대체하여 동애등애를 3.5% 첨가하였어도 고어분 사료(어분 함량, 70%)를 공급한 실험구와 성장이 차이가 없었다. Jo et al. (2021)의 연구에서도 치어기 넙치(초기 무게, 7.86 g)의 저어분 사료(어분 함량, 35%)에서 어분 대체원으로 사용된 대두농축단백, 가금부산물, 참치부산물을 동애등애로 대체하여 7% 첨가하였을 때, 고어분 사료(어분 함량, 70%)와 비교하여 성장, 사료효율, 소화효소 활성(trypsin, chymotrypsin, lipase)에서 차이가 없었다. Jeong et al. (2021)의 연구에서는 치어기 넙치(초기 무게, 33.5 g) 사료 내 어분 함량(65%)

Table 6. Hematological parameters and non-specific immune responses of juvenile olive flounder *Paralichthys olivaceus* (initial mean body weight, 34.3±0.05 g) fed the experimental diets for 15 weeks

Diets	Hemoglobin <sup>1</sup>	Hematocrit <sup>2</sup>	AST <sup>3</sup>	ALT <sup>4</sup>	Glucose <sup>5</sup>	Cholesterol <sup>6</sup>	Lysozyme <sup>7</sup>	MPO <sup>8</sup>
Con	3.63±0.13	32.7±0.9	22.2±2.8	40.9±4.3 <sup>b</sup>	57.8±4.4 <sup>a</sup>	112±8	29.6±10.8	1.30±0.23
B10	3.77±0.09	35.6±1.2	24.1±1.7	45.4±4.9 <sup>b</sup>	48.5±0.3 <sup>b</sup>	104±7	28.6±11.1	1.32±0.24
M10	4.33±0.09	36.2±0.4	19.2±3.7	93.7±3.6 <sup>a</sup>	51.0±3.8 <sup>ab</sup>	93±5	28.9±8.5	1.30±0.22
B5M5	3.62±0.54	34.2±0.8	27.2±1.9	82.3±9.2 <sup>ab</sup>	52.2±1.1 <sup>ab</sup>	99±6	28.6±8.9	1.27±0.30

<sup>1</sup>Hemoglobin (g/dL). <sup>2</sup>Hematocrit (%). <sup>3</sup>Aspartate aminotransferase (U/L). <sup>4</sup>Alanine aminotransferase (U/L). <sup>5</sup>Glucose (mg/dL). <sup>6</sup>Cholesterol (mg/dL). <sup>7</sup>Lysozyme activity (µg/mL). <sup>8</sup>Myeloperoxidase (absorbance). Con, Contains 45% fish meal; B10, Contains 35% fish meal and 10% black soldier fly meal; M10, Contains 35% fish meal and 10% mealworm meal; B5M5, Contains 35% fish meal, 5% black soldier fly meal and 5% mealworm meal. Values in the same column having different superscript letters are significantly different (P<0.05). The lack of superscript letter indicates no significant differences among treatments.

를 탈지 갈색겨저리를 이용하여 40%까지 부정적인 영향 없이 대체할 수 있었다고 보고되었다. 또한, 다양한 어종에서 동애등애와 갈색겨저리의 어분대체원으로써 이용성이 검증되었다. Weththasinghe et al. (2021)은 Atlantic salmon 사료 내 어분 함량(25%)을 탈지 동애등애를 사용하여 21.5%까지 줄여도 성장과 사료효율의 저하가 없었다고 보고하였다. European seabass (초기 무게, 50 g)를 대상으로 한 연구에서는 사료 내 어분 함량(32.4%)을 탈지 동애등애를 사용하여 17.8%까지 줄여도 성장에 부정적인 영향이 없었다고 보고되었다(Magalhães et al., 2017). Iaconisi et al. (2017)은 비탈지 갈색겨저리를 이용하여 blackspot seabream *Sparus aurata* (초기 무게, 111 g)의 사료 내 어분 함량(61%)을 31%까지 줄여도 성장에 부정적인 영향이 없었다고 보고하였다. Red seabream (초기 무게, 24.9 g)을 대상으로 한 연구에서는 탈지 갈색겨저리로 사료 내 어분 함량(65%)을 전량 대체했을 때 오히려 성장이 유의적으로 증가했다

Table 7. Whole body proximate composition of juvenile olive flounder *Paralichthys olivaceus* (initial mean body weight, 34.3±0.05g) fed the experimental diets for 15 weeks (% of wet basis)

Diets	Crude protein	Crude lipid	Crude ash	Moisture
Con	21.2±0.6	0.73±0.10	1.26±0.02	76.9±0.2
B10	21.6±0.7	0.95±0.11	1.44±0.10	77.3±0.0
M10	21.7±0.2	1.06±0.04	1.45±0.07	77.4±0.4
B5M5	20.5±0.2	0.78±0.09	1.45±0.15	77.3±0.7

Con, Contains 45% fish meal; B10, Contains 35% fish meal and 10% black soldier fly meal; M10, Contains 35% fish meal and 10% mealworm meal; B5M5, Contains 35% fish meal, 5% black soldier fly meal and 5% mealworm meal. Values are mean of triplicate groups and presented as mean±SD. The lack of superscript letter indicates no significant differences among treatments.

Table 8. Histological results for intestine of the juvenile olive flounder *Paralichthys olivaceus* (initial mean body weight: 34.3±0.05g) fed the experimental diets for 15 weeks.

Diets	Villi length <sup>1</sup>	Goblet cells <sup>2</sup>
Con	740±105	2604±467
B10	727±8	2609±385
M10	778±53	2341±362
B5M5	671±85	2485±354

Values are mean of triplicates and presented as mean ± SD. The lack of superscript letter indicates no significant differences among treatments. Con, contains 45% fish meal; B10, contains 35% fish meal and 10% black soldier fly meal; M10, contains 35% fish meal and 10% mealworm meal; B5M5, contains 35% fish meal, 5% black soldier fly meal and 5% mealworm meal.

<sup>1</sup>Villi length (µm).

<sup>2</sup>Goblet cells=average number of cells.

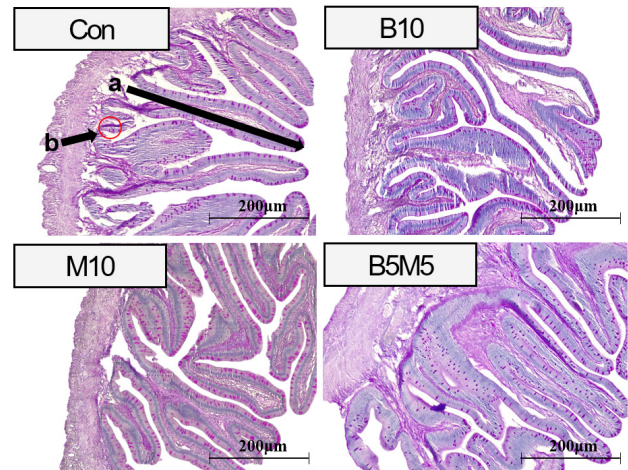


Fig. 1. The intestine histological parameters of olive flounder *Paralichthys olivaceus* (initial mean body weight, 34.3±0.05 g) fed the experimental diets for 15 weeks. a, Villi length (µm); b, Goblet cells. Representative histology images of periodic acid-schiff (PAS) stained sections at 40×magnification, Scale bar=200 µm.

고 보고되었다(Do et al., 2019). 이번 연구에서도 저어분 사료 내 45%의 어분 함량을 비탈지 동애등애나 탈지 갈색겨저리를 이용하여 성장에 부정적인 영향 없이 어분 함량을 35%까지 낮출 수 있었다. 이번 연구에서의 넙치 치어용 저어분 사료 배합비를 이용한다면, 비탈지 동애등애나 탈지 갈색겨저리는 저어분 사료의 어분 대체원으로 충분히 사용 가능할 것으로 판단된다. 그러나, 이번 연구에서 최대 대체율을 규명하지 못했으며, 후속 연구를 통한 최대 대체율의 규명이 필요할 것으로 사료된다.

사료 효율은 양식 사료의 이용성을 평가하는 중요한 요소이다. 양어 사료 내 어분을 단일 단백질원료로 대체할 경우, 제한 아미노산의 결핍이 생길 수 있다고 알려져 있다(Barroso et al., 2014). 이번 연구에서 어분 대체원으로 사용된 동애등애와 갈색겨저리는 어분에 비해 methionine의 함량이 낮다(Nogales-Mérida et al., 2019). 넙치 사료의 methionine 요구량은 1.44-1.49%로 보고되었으며, methionine이 결핍되었을 경우 넙치의 성장과 사료효율이 유의적으로 감소하는 것으로 보고되었다(Alam et al., 2000). 이번 연구에서는 어분을 탈지 갈색겨저리로 약 30% 대체(M10) 했을 때 사료 효율이 유의적으로 감소하였고 사료 내 비탈지 동애등애의 함량이 높아지면서 사료 효율이 개선되었다. 실험 사료의 구성 아미노산 분석 결과에서 M10 실험구의 methionine 함량은 다소 낮았으며, 이는 탈지 갈색겨저리가 비탈지 동애등애보다 methionine 함량이 낮기 때문에 M10사료에 첨가한 methionine함량이 부족했던 것으로 사료된다. 따라서, M10 실험구에서 사료 효율이 감소된 원인은 필수 아미노산인 methionine의 결핍이 원인일 것으로 추측되며, 비탈지 동애등애와 탈지 갈색겨저리를 어분 대체원으로 이용할 경우, methionine을 필수적으로 첨가해야 할 것으로 사료된다.

혈액학적 지표는 어류의 생리활성과 일반적인 건강상태를 평가하기 위해 이용된다(Song and Lee, 2013). AST와 ALT는 어류의 간과 신장이 손상되었을 경우에 혈중 농도가 증가하는 것으로 알려져 있다(Casanovas et al., 2021). Brown trout *Salmo trutta* 사료 내 어분 함량(36.4%)을 비탈지 갈색겨저리를 이용하여 28.6%까지 낮추었을 때 혈중 ALT의 농도가 유의적으로 증가하였다(Hoffmann et al., 2021). 이번 연구에서 사료 내 탈지 갈색겨저리의 함량이 증가함에 따라 혈중 ALT 농도가 상승하였다. 따라서, 탈지 갈색겨저리를 저어분 사료 내 10% 정도 사용하여 장기간 공급할 경우에는 넙치 치어에 스트레스가 될 수 있을 것으로 사료된다. 어류의 혈중 glucose는 먹이, 환경 등 다양한 요인에 의해 영향을 받는 것으로 알려져 있다. Falwole et al. (2020)의 연구에 따르면, African catfish *Clarias gariepinus*의 사료 어분을 비탈지 동애등에(조지질 함량 23.0%)로 대체하였을 때, 어분 대체율이 증가할 수록 혈중 glucose의 농도가 저하되었다. 그러나, *tambaqui*의 사료 내 어분을 탈지 동애등에(조지질 함량 5.5%)로 대체하였을 때, 혈중 glucose 농도에 차이가 없었다고 보고되었다(Monteiro dos Santos et al., 2022). 현재까지 어류 사료 내 동애등에와 혈중 glucose의 변화에 대한 연구는 보고되지 않았다. 그러나 사람을 대상으로 한 연구에서 lauric acid의 섭취로 인해 혈중 glucose의 수치가 감소하였다고 보고되었다(Malaeb and Spoke, 2020). 이번 연구에 사용된 비탈지 동애등에는 lauric acid의 함량이 총 지방 함량의 45.6%로 매우 높았으며, 실험사료 내 함량도 다른 실험사료에 비해 매우 높았다. 따라서 비탈지 동애등에 첨가구에서 혈중 glucose의 수치가 감소한 것은 다량의 lauric acid의 섭취가 원인 중 하나일 것으로 추측된다.

장은 영양소 흡수에 중요한 역할을 하며, 장 조직의 조직학적 변화는 어류의 영양 상태를 평가하는 지표로 사용된다(Rašković et al., 2011). 용모 길이는 영양소를 흡수하는 장의 표면적을 나타내며, goblet cell은 장 점액을 분비하여 장이 손상되는 것을 억제하는 것으로 알려져 있다(Gomez et al., 2013; Gupta et al., 2020). 육식성 어류에서 식물성 원료를 이용하여 어분을 대체했을 경우, 항영양인자(lectin, tannin, soysaponin)에 의해 소화율이 떨어지고 염증 반응으로 인한 소화기관의 변화가 나타나는 것으로 보고되었다(Martínez-Llorens et al., 2012). 이러한 항영양인자는 열처리나 용매추출 또는 발효와 같은 2 차 가공을 통해 제거할 수 있다고 알려져 있다(Buttle et al., 2001; Refstie et al., 2005). 이번 연구에서 대조구의 어분대체원으로 2 차 가공된 밀글루텐과 대두농축단백을 사용하였으며, 장 조직에서는 형태학적인 변화가 관찰되지 않았다. 모든 실험구에서 용모의 길이와 goblet cell의 수에서 차이가 없었으므로 비탈지 동애등에와 탈지 갈색겨저리를 각각 10%씩 사용하더라도 넙치 치어의 장 조직에는 부정적인 영향이 없을 것으로 사료된다.

결론적으로, 이번 연구를 통해 비탈지 동애등에나 탈지 갈색

겨저리를 사용하여 치어기 넙치용 저어분 사료 내 어분 함량(45%)을 35%까지 줄일 수 있을 것으로 사료된다. 그러나, 성장에는 부정적인 영향이 없었지만 사료효율과 혈액학적 분석 결과를 고려하였을 때, 탈지 갈색겨저리는 비탈지 동애등에보다 이용성이 낮을 것으로 판단되며, 장기간 사용할 경우 넙치 치어에 부정적인 영향을 줄 가능성도 고려해야 할 것으로 사료된다. 향후, 넙치의 저어분 사료 내 어분의 부분 대체원으로 동애등에와 갈색겨저리를 안정적으로 사용하기 위해서 최대 대체율과 원료의 형태(탈지, 비탈지)에 따른 이용성의 평가가 추가적으로 필요할 것으로 사료된다.

## 사 사

이 논문은 정부(교육부)의 재원으로 한국연구재단의 지원을 받아 수행된 기초연구사업(2019R1A6A1A03033553)과 이공학개인지초연구(NRF-2018RID1A3B07046053)입니다.

## References

- Alam MS, Teshima S, Ishikawa M and Koshio S. 2000. Methionine requirement of juvenile Japanese flounder *Paralichthys olivaceus*. J World Aquacult Soc 31, 618-626. <https://doi.org/10.1111/j.1749-7345.2000.tb00911.x>.
- AOAC (Association of Official Analytical Chemists). 2005. Official Methods of Analysis. AOAC, Arlington, VA, U.S.A. <https://doi.org/10.1002/0471740039.vec0284>.
- Barroso FG, Haro CD, Sánchez-Muros MJ, Venegas E, Martínez-Sánchez A and Pérez-Bañón C. 2014. 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>.
- Buttle LG, Burrells AC, Good JE, Williams PD, Southgate PJ and Burrells C. 2001. The binding of soybean agglutinin (SBA) to the intestinal epithelium of Atlantic salmon, *Salmo salar* and rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, fed high levels of soybean meal. Vet Immunol Immunopathol 80, 237-244. [https://doi.org/10.1016/S0165-2427\(01\)00269-0](https://doi.org/10.1016/S0165-2427(01)00269-0).
- Casanovas P, Walker SP, Johnston H, Johnston C and Symonds JE. 2021. Comparative assessment of blood biochemistry and haematology normal ranges between chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*) from seawater and freshwater farms. Aquaculture 537, 736464. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2021.736464>.
- Choi WS, Hamidoghil A, Bae JH, Won SH, Choi YH, Kim KW, Lee BJ, Hur SW, Han HS and Bai SC. 2020. On-farm evaluation of dietary animal and plant proteins to replace fishmeal in sub-abult olive flounder *Paralichthys olivaceus*. Fish Aquatic Sci 23, 22. <https://doi.org/10.1186/s41240-020-00169-4>.
- Chung MY, Kwon EY, Hwang JS, Goo TW and Yun EY. 2013. Pre-treatment conditions on the powder of *Tenebrio molitor*



- for using as a novel food ingredient. *J Seric Entomol Sci* 51, 9-14. <https://doi.org/10.7852/jses.2013.51.1.9>.
- Fawole FJ, Adeoye AA, Tihamiyu LO, Ajala KI, Obadara SO and Ganiyu IO. 2020. Substituting fishmeal with *Hermetia illucens* in the diets of African catfish (*Clarias gariepinus*): Effects on growth, nutrient utilization, haemato-physiological response, and oxidative stress biomarker. *Aquaculture* 518, 734849. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.734849>.
- Fisher HJ, Collins SA, Hanson C, Mason B, Colombo SM and Anderson DM. 2020. Black soldier fly larvae meal as a protein source in low fish meal diets for Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Aquaculture* 521, 734978. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.734978>.
- Folch J, Lees M and Sloane-Stanley GH. 1957. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J Biol Chem* 226, 497-509.
- Galigiani 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. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.12.012>.
- 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>.
- Gomez D, Sunyer JO and Salinas I. 2013. The mucosal immune system of fish: The evolution of tolerating commensals while fighting pathogens. *Fish Shellfish Immunol* 35, 1729-1739. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2013.09.032>.
- Gupta SK, Fotedar R, Foysal M, Priyam M, Siddik MA, Chaklader M and Howieson J. 2020. Impact of varied combinatorial mixture of non-fishmeal ingredients on growth, metabolism, immunity and gut microbiota of *Lates calcarifer* (Bloch, 1790) fry. *Sci Rep* 10, 17091. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-72726-9>.
- Hardy RW. 2010. Utilization of plant proteins in fish diets: Effects of global demand and supplies of fishmeal. *Aquac Res* 41, 770-776. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2009.02349.x>.
- Hoffmann L, Rawski M, Nogales-Mérida S, Kolodziejcki P, Pruszyńska-Oszmałek E and Mazurkiewicz J. 2021. Mealworm meal use in sea trout (*Salmo trutta* m. *trutta*, L.) fingerling diets: effects on growth performance, histomorphology of the gastrointestinal tract and blood parameters. *Aquac Nutr* 27, 1512-1528. <https://doi.org/10.1111/anu.13293>.
- Iaconisi V, Marono S, Parisi G, Gasco L, Genovese L, Maricchiolo G, Bovera F and Piccolo G. 2017. Dietary inclusion of *Tenebrio molitor* larvae meal: Effects on growth performance and final quality traits of blackspot sea bream (*Pagellus bogaraveo*). *Aquaculture* 476, 49-58. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2017.04.007>.
- Ido A, Hashizume A, Ohta T, Takagashi T, Miura C and Miura T. 2019. Replacement of fish meal by defatted yellow mealworm (*Tenebrio molitor*) larvae in diet improves growth performance and disease resistance in red seabream (*Pargus major*). *Animals* 9, 100. <https://doi.org/10.3390/ani9030100>.
- Jeong SM, Khosravi S, Mauliasari IR, Lee BJ, You SG and Lee SM. 2021. Nutritional evaluation of cricket, *Gryllus bimaculatus*, meal as fish meal substitute for olive flounder, *Paralichthys olivaceus*, juveniles. *J World Aquac Soc* 52, 859-880. <https://doi.org/10.1111/jwas.12790>.
- Jo SJ, Park SJ, Lee SB, Tran BT, Kim JS, Song JW, Lee BJ, Hur SW, Nam TJ, Lee KJ, Lee SH and Choi YH. 2021. Effect of low-fishmeal diets on some digestive physiological responses of juvenile and growing olive flounder (*Paralichthys olivaceus*) fed at an industrial-scale fish farm. *Aquac Rep* 21, 100904. <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2021.100904>.
- Kim MG, Lim HW, Lee BJ, Hur SW, Lee SH, Kim KW and Lee KJ. 2020. Replacing fish meal with a mixture of plant and animal protein sources in the diets of juvenile olive flounder *Paralichthys olivaceus*. *Korean J Fish Aquat Sci* 53, 577-582. <https://doi.org/10.5657/KFAS.2020.0577>.
- KOSIS (Korean Statistical Information Service). 2022. Expenditure per Aquaculture. Retrieved from [https://kosis.kr/statHtml/statHtml.do?orgId=101&tblId=DT\\_1EZ0008&vw\\_cd=MT\\_ZTITLE&list\\_id=K2\\_4&scrId=&seqNo=&lang\\_mode=ko&obj\\_var\\_id=&itm\\_id=&conn\\_path=MT\\_ZTITLE&path=%252FstatisticsList%252FstatisticsListIndex](https://kosis.kr/statHtml/statHtml.do?orgId=101&tblId=DT_1EZ0008&vw_cd=MT_ZTITLE&list_id=K2_4&scrId=&seqNo=&lang_mode=ko&obj_var_id=&itm_id=&conn_path=MT_ZTITLE&path=%252FstatisticsList%252FstatisticsListIndex) on Nov 24, 2023.
- Kumari J and Sahoo PK. 2005. Effects of cyclophosphamide on the immune system and disease resistance of Asian catfish *Clarias batrachus*. *Fish Shellfish Immunol* 19, 307-316. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2005.01.008>.
- Li Y, Kortner TM, Chikwati EM, Belghit I, Lock EJ and Krogdahl Å. 2020. Total replacement of fish meal with black soldier fly (*Hermetia illucens*) larvae meal does not compromise the gut health of Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Aquaculture* 520, 734967. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.734967>.
- Magalhães R, Sánchez-López A, Leal RS, Martínez-Llorens S, Oliva-Teles A and Peres H. 2017. Black soldier fly (*Hermetia illucens*) prepupae meal as a fish meal replacement in diets for European seabass (*Dicentrarchus labrax*). *Aquaculture* 476, 79-85. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2017.04.021>.
- Malaeb S and Spoke C. 2020. The glucose-lowering effects of coconut oil: A case report and review of the literature. *Case Rep Endocrinol* 2020, 8841781. <https://doi.org/10.1155/2020/8841781>.
- Martínez-Llorens S, Baeza-Ariño R, Nogales-Mérida S, JoverCerdá M and Tomás-Vidal A. 2012. Carob seed germ meal as a partial substitute in gilthead sea bream (*Sparus aurata*) diets: Amino acid retention, digestibility, gut and liver histology. *Aquaculture* 338-341, 124-133. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2012.04.007>.



- org/10.1016/j.aquaculture.2012.01.029.
- Mohammed HH, Brown TL, Beck BH, Yildirim-Aksoy M, El-jack RM and Peatman E. 2018. The effects of dietary inclusion of a *Saccharomyces cerevisiae* fermentation product in a commercial catfish ration on growth, immune readiness, and columnaris disease susceptibility. *J Appl Aquac* 31, 193-209. <https://doi.org/10.1080/10454438.2018.1499576>.
- Monteiro dos Santos DK, Santana TM, de Matos Dantas F, Farias ABDS, Epifânio CMF, Prestes AG, Fonseca FALD, Parisi G, Viegas EMM and Gonçalves LU. 2022. Defatted black soldier fly larvae meal as a dietary ingredient for tambaqui (*Colossoma macropomum*): Digestibility, growth performance, haematological parameters, and carcass composition. *Aquac Res* 53, 6762-6770. <https://doi.org/10.1111/are.16143>.
- 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. <https://doi.org/10.1111/raq.12281>.
- Rašković BS, Stanković MB, Marković ZZ and Poleksić VD. 2011. Histological methods in the assessment of different feed effects on liver and intestine of fish. *J Agricult Sci* 56, 89-100. <https://doi.org/10.2298/JAS1101087R>.
- Refstie S, Sahlström S, Bråthen E, Baeverfjord G and Krogedal P. 2005. Lactic acid fermentation eliminates indigestible carbohydrates and antinutritional factors in soybean meal for Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Aquaculture* 246, 331-345. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2005.01.001>.
- Rosen H. 1957. A modified ninhydrin colorimetric analysis for amino acids. *Arch Biochem Biophys* 67, 10-15. [https://doi.org/10.1016/0003-9861\(57\)90241-2](https://doi.org/10.1016/0003-9861(57)90241-2).
- Sánchez-Muros MJ, de Haro C, Sanz A, Trenzado CE, Villareces and Barroso FG. 2016. Nutritional evaluation of *Tenebrio molitor* meal as fishmeal substitute for tilapia (*Oreochromis niloticus*) diet. *Aquac Nutr* 22, 943-955. <https://doi.org/10.1111/anu.12313>.
- Sankian Z, Khosravi, Kim YO and Lee SM. 2018. Effects of dietary inclusion of yellow mealworm (*Tenebrio molitor*) meal on growth performance, feed utilization, body composition, plasma biochemical indices, selected immune parameters and antioxidant enzyme activities of mandarin fish (*Siniperca scherzeri*) juvenile. *Aquaculture* 496, 79-87. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2018.07.012>.
- Seo BS, Park SJ, Hwang SY, Lee YI, Lee SH, Hur SW, Lee KJ, Nam TJ, Song JW, Kim JS, Jang WJ and Choi YH. 2022. Effects of decreasing fishmeal as main source of protein on growth, digestive physiology, and gut microbiota of olive flounder (*Paralichthys olivaceus*). *Animals* 12, 2043. <https://doi.org/10.3390/ani12162043>.
- Song JW and Lee KJ. 2013. Effects of dietary nucleotide supplementation on the growth performance, feed utilization, hematological parameters and innate immunity in red seabream *Pagrus major*. *Korean J Fish Aquat Sci* 46, 785-792. <https://doi.org/10.5657/KFAS.2013.0785>.
- 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 Relat Metab Disord* 20, 435-444.
- Takakuwa F, Tanabe R, Nomura S, Inui T, Yamada S, Biswas A and Tanaka H. 2022. Availability of black soldier fly meal as an alternative protein source to fish meal in red seabream (*Pagrus major*, Temminck & Schlegel) fingerling diets. *Aquac Res* 53, 36-49. <https://doi.org/10.1111/are.15550>.
- Tippayadara N, Dawood MAO, Krutmuang P, Hoseinifar SH, Doan HV and Paolucci M. 2017. Replacement of fish meal by black soldier fly (*Hermetia illucens*) larvae meal: Effects on growth, haematology, and skin mucus immunity of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. *Animals* 11, 193. <https://doi.org/10.3390/ani11010193>.
- Weththasinghe P, Hansen JØ, Nøkland D, Lagos L, Rawski M and Øverland M. 2021. Full-fat black soldier fly larvae (*Hermetia illucens*) meal and paste in extruded diets for Atlantic salmon (*Salmo salar*): Effect on physical pellet quality, nutrient digestibility, nutrient utilization and growth performances. *Aquaculture* 530, 735785. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.735785>.