

119019-02

생물전환기술을 활용한 고기능성
발효 소재와 이를 활용한
고령친화수프 개발 및 산업화

최종 보고서
2021
농림식품기술기획평가원
농림축산식품부

보안 과제(), 일반 과제(O) / 공개(O), 비공개() 발간등록번호(O)

맞춤형혁신식품 및 천연안심소재 기술개발사업
2021년도 최종 보고서

발간등록번호

11-1543000-003494-01

생물전환기술을 활용한 고기능성 발효 소재와 이를 활용한 고령친화수프 개발 및 산업화

2021.04.05.

주관연구기관 / (주)정심식품
협동연구기관 / 단국대학교

농림축산식품부
(전문기관) 농림식품기술기획평가원

<제출문>

제 출 문

농림축산식품부 장관 귀하

본 보고서를 “생물전환기술을 활용한 고기능성 발효 소재와 이를 활용한 고령친화수프 개발 및 산업화”(개발기간 : 2019. 05. 20. ~ 2020. 12. 31.)과제의 최종보고서로 제출합니다.

2021. 04. 05.

주관연구기관명 : ㈜정심식품

(대표자) 정승원 (인)

협동연구기관명 : 단국대학교 천안캠퍼스 산학협력단 (대표자) 김철현 (인)



주관연구책임자 : 박자원

협동연구책임자 : 김미숙

국가연구개발사업의 관리 등에 관한 규정 제18조에 따라 보고서 열람에 동의 합니다.

<보고서 요약서>

보고서 요약서

과제고유번호	119019-2	해 당 단 계 연 구 기 간	2019.05.20. ~ 2020.12.31.	단 계 구 분	(2단계)/ (2단계)
연구사업명	단 위 사 업	농식품기술개발사업			
	사 업 명	맞춤형혁신식품 및 천연안심소재기술개발사업			
연구과제명	대 과 제 명	(해당 없음)			
	세부 과제명	생물전환기술을 활용한 고기능성 발효 소재와 이를 활용한 고령친화수프 개발 및 산업화			
연구책임자	박자원	해당단계 참여연구원 수	총: 12명 내부: 11명 외부: 1명	해당단계 연구개발비	정부: 99,000 천원 민간: 33,000 천원 계: 132,000 천원
		총 연구기간 참여연구원 수	총: 14명 내부: 13명 외부: 1명	총 연구개발비	정부: 173,000 천원 민간: 57,700 천원 계: 230,700 천원
연구기관명 및 소속부서명	(주)정심식품 기술개발연구소			참여기업명	
국제공동연구	상대국명:			상대국 연구기관명:	
위탁연구	연구기관명:			연구책임자:	

※ 국내외의 기술개발 현황은 연구개발계획서에 기재한 내용으로 같음

연구개발성과의 보안등급 및 사유	해당없음.
-------------------------	-------

9대 성과 등록·기탁번호

구분	논문	특허	보고서 원문	연구시설 ·장비	기술요약 정보	소프트 웨어	화합물	생명자원		신품종	
								생명 정보	생물 자원	정보	실물
등록·기탁 번호	2	4	1						2		

국가과학기술종합정보시스템에 등록된 연구시설·장비 현황

구입기관	연구시설· 장비명	규격 (모델명)	수량	구입연월일	구입가격 (천원)	구입처 (전화)	비고 (설치장소)	NTIS 등록번호

요약(연구개발성과를 중심으로 개조식으로 작성하되, 500자 이내로 작성합니다)

- 나노분쇄 유휴공법을 적용한 수용성 초미세분말 커큐민 제조, 공정 표준화 및 품질기준 설정
 - 공정 개선에 의한 생산효율성 증가와 고품질 수용성 초미세분말 커큐민 생산
 - 평균입도 1 um 이하, 커큐민 함량 90 mg/g, 상온 저장안정성 1년 이상
 - 품목제조보고 3건, 시작품 1건, 고용 창출 1건
- 생물전환기술을 활용한 이취 및 알레르기 저감 기능성 발효 소재 개발
 - 이취 및 알레르기 저감화 전처리 기술 개발
 - 효소 및 발효를 포함하는 생물전환기술 조건 확립
 - 생물전환기술을 활용한 기능성 발효 소재의 이화학적 품질특성, 건강기능성 평가 완료
 - 생물전환기술을 활용한 쌍별귀뚜라미 고기능성 발효 소재 생산 원천기술 개발(기본 제조공정도 확립)
 - 비SCI급 논문 1건, 학술발표 4건, 생물자원 2건 기탁, 특허 출원 2건, 특허 등록 2건, 전문연구인력 1건
- 고령친화식품 인증용 고기능성 항노화 즉석분말수프 소재 대량 생산 공정 구축 및 표준화
 - 생물전환기술을 활용한 쌍별귀뚜라미 고기능성 발효 소재 대량 생산 공정 구축 완료
 - 대량화 표준공정도에 의해 생산한 고기능성 발효 소재 2종 생산
 - 품목제조보고 2건, 특허 등록 2건, 특허 출원 3건, 기술이전 2건, 고용 창출 1건
- 고령친화식품 인증용 고기능성 항노화 즉석분말수프 대량 생산 공정 구축 및 표준화
 - 수용성 초미세분말 커큐민과 쌍별귀뚜라미 고기능성 소재를 함유하며 고령친화식품 규격에 적합한 즉석분말수프 레시피 1건 개발
 - 고령친화식품 인증용 고기능성 항노화 즉석분말수프 대량생산 표준 제조공정도 1건 확립(즉석분말식품 HACCP 제조 설명서 및 작업지시서 포함)
- 고령친화식품 인증용 고기능성 항노화 즉석분말수프의 기준규격 및 품질기준 설정
 - 식품의약품안전처 고령친화식품기준(2018. 07. 25) 규격 및 식품공전>22-2(3) 즉석조리식품 규격에 적합한 제품 개발 1건 완료
 - 시작품 1건, 품목제조보고 3건, 특허 출원 1건, 상표 출원 4건, 고용 창출 1건
- 생물전환기술 활용 고령친화 항노화 수프 개발 및 품질평가
 - 기능성분 강화를 위한 복합효소 및 발효조건 확립
 - 탄수화물 소재 및 쌍별귀뚜라미 소재 배합 최적화 완료
 - 이화학적 품질특성, 건강기능성 평가 완료
 - 특허 출원 1건, 학술발표 7건, SCIE논문 1건(SCI논문 3건 준비중), 전문연구인력 3건

보고서 면수

128

<요약문>

<p>연구의 목적 및 내용</p>	<ul style="list-style-type: none"> ○ 생물전환기술을 활용한 이취 및 알레르기 저감 기능성 발효 소재의 제조공정 개발 및 표준화 ○ 생물전환기술을 활용한 이취 및 알레르기 저감 기능성 발효 소재 개발 최적화 및 품질평가 ○ 생물전환기술을 활용한 고령친화용 항노화 즉석분말수프 개발 및 품질평가 ○ 고령친화용 고기능성 항노화 즉석분말수프의 대량 생산 구축 및 표준화 				
<p>연구개발성과</p>	<ul style="list-style-type: none"> ○ 기술이전 : 자체실시 1건, 산업체 기술이전 1건 ○ 제품화 : 시작품 1건, 품목제조보고 6건 ○ 신규인력 채용 및 전문연구인력 활용 : 신규인력 채용 2명, 전문연구인력 4명 ○ 지식재산권 : 특허 등록 2건, 특허출원 4건, 상표 출원 4건 ○ 생명자원 2건 기탁 ○ 학술성과 : 비SCI급 학술논문 1건, SCIE급 1건, SCI급 3건 준비중, 학술발표 11건 				
<p>연구개발성과의 활용계획 (기대효과)</p>	<ul style="list-style-type: none"> ○ 생물전환기술을 활용한 고기능성 발효 소재 생산 원천 기술 개발 <ul style="list-style-type: none"> - 연구 결과는 국내·외에서 독보적인 원천기술로써 지식재산권 우선권을 확보하여 다양한 분야에서 자유롭게 활용 가능 - 개발한 유용 균주를 이용하여 발굴되지 않은 기능성 소재의 고부가가치 소재화 - 2차 가공에 활용할 수 있는 원천기술로서 식용곤충 식품산업 확대에 활용 ○ 생물전환기술을 활용한 고기능성 발효소재 대량화 공정 구축 및 산업화 확립 <ul style="list-style-type: none"> - 소재 원천기술의 대량 산업화 기술을 확보하여 식품산업 및 사료 등의 분야에서 신소재 소재 및 인지도 구축 ○ 나노분쇄 유화공법을 이용한 수용성 초미세분말 커큐민의 산업화 공정 개선 ○ 생물전환기술을 활용한 고기능성 고령친화형 즉석분말수프 대량 생산화 <ul style="list-style-type: none"> - 쌍별귀뚜라미 소재와 수용성 초미세분말 커큐민을 포함하는 고령친화식품 규격의 즉석분말수프 개발 - 다양한 어플리케이션을 개발하여 차별화된 프리미엄 고령친화 즉석분말수프 제품군 사업화 - 고령 친화 식품 시장을 포함한 간편편이식 시장에서 다양한 응용제품 활용 - 포스트코로나 트렌드에 부합하는 간편편이식 식품으로서 경제 효과 기대 - 기업 확장에 의한 고용 창출 효과 ○ 미래농업 산업 육성 및 농업 안정화 <ul style="list-style-type: none"> - 소비자들의 곤충식품에 대한 인식 변화와 곤충의 식품화 선도 효과 - 쌍별귀뚜라미 식품 산업화를 통한 농가 고부가가치 소득원 발굴 ○ 해외 진출 및 국가 경쟁력 확보 특수 제품으로 활용 				
<p>국문핵심어 (5개 이내)</p>	쌍별귀뚜라미	생물전환기법	고령친화식품	수프	커큐민
<p>영문핵심어 (5개 이내)</p>	<i>Gryllus bimaculatus</i>	Bioconversion	Senior friendly food	Soup	Curcumin

※ 국문으로 작성(영문 핵심어 제외)

<본문목차>

< 목 차 >

제 1 장. 연구개발 과제의 개요	1
제 1 절. 연구개발 목적	1
제 2 절. 연구개발의 필요성	2
제 3 절. 연구개발 범위	8
제 2 장. 연구수행 내용 및 결과	10
제 1 절. 연구개발 추진전략 및 체계	10
제 2 절. 연구개발 방법	15
제 3 절. 연구개발 내용	19
제 4 절. 연구개발 성과	101
제 5 절. 연구 결과	109
제 3 장. 목표 달성도 및 관련 분야 기여도	113
제 1 절. 최종 성과 목표 및 평가방법	113
제 2 절. 연구개발 목표 달성도	116
제 3 절. 관련 분야 기여도	118
제 4 절. 후속연구의 필요성	121
제 4 장. 연구결과의 활용 계획 등	121
제 1 절. 연구 성과의 활용 분야 및 활용 방안	121
제 2 절. 추가 연구의 필요성	123
제 3 절. 타 연구에의 응용	123
제 4 절. 기업화 추진 방안	124
제 5 절. 기술이전	124
붙임. 참고 문헌	126

[첨부 1] (주)정심식품-크리켓팜 MOU

[첨부 2] 커큐민 분석 결과보고서

[첨부 3] 고기능성 소재 2종 영양성분, 구성아미노산 조성, 위해요소 시험성적서

[첨부 4] 시작품 영양성분 시험성적서

[첨부 5] 시작품 유통기한설정실험 결과보고서

<별첨 1> 연구개발보고서 초록

<별첨 2> 자체평가의견서

<별첨 3> 연구성과 활용계획서

제 1 장. 연구개발 과제의 개요

제 1 절. 연구개발 목적

1. 연구개발의 개요

가. 연구개발의 목표

- (1) 생물전환기술을 활용한 고기능성 발효 소재(쌍별귀뚜라미)와 이를 활용한 커큐민 함유 고령친화 즉석분말수프 개발
- (2) 생물전환기술을 활용한 고기능성 발효 소재(쌍별귀뚜라미)와 이를 활용한 커큐민 함유 고령친화 즉석분말수프 사업화를 위한 응용 연구

나. 연구개발의 내용

- (1) 생물전환기술을 활용한 쌍별귀뚜라미 유래 고기능성 발효 소재 제조 원천 핵심기술 개발
 - (가) 쌍별귀뚜라미 유래 고기능성(항산화, 장 건강개선, 항당뇨, 항알레르기 등) 발효 소재 개발 및 품질평가
 - (나) 쌍별귀뚜라미 유래 고기능성 발효 소재의 이취 저감화 기술 개발 및 품질평가
- (2) 생물전환기술을 활용한 쌍별귀뚜라미 유래 고기능성 발효 소재 대량 생산 구축 및 품질관리 표준화
- (3) 나노 분쇄 유회공법을 이용한 초미세분말 커큐민 제조 기술 개발 및 공정 표준화
- (4) 고령친화식품 인증용 고기능성 향노화 즉석분말수프 개발 및 품질평가
- (5) 고령친화식품 인증용 고기능성 향노화 즉석분말수프 대량 생산 구축 및 공정 표준화
- (6) 고령친화식품 인증용 고기능성 향노화 즉석분말수프 산업화

제 2 절. 연구개발 필요성

1. 연구개발 배경

가. 미래대체식량으로써 식용곤충의 핵심 가치

- (1) 식용곤충은 생산적, 영양 측면에서 생명이 짧고 번식력이 강하여, 규모화 공장 생산에 적합한 생체 구조로 되어 있어서 우수한 미래대체 식량자원임. 이는 궁극적으로 물, 에너지, 사료, 노동력을 절감시킬 수 있다는 장점으로 작용함 (그림 1).



그림 1. 식용곤충의 핵심가치.

<자료출처: 이더블버그 홈페이지>

나. 쌍별귀뚜라미의 영양학적 가치

- (1) 쌍별귀뚜라미는 일반식품으로 인정받은 다른 식용곤충의 영양성분과 비교하였을 때 단백질 함량이 높고 다양한 무기질과 비타민을 다량 함유한 양질의 식품 소재이며 필수지방산인 linoleic acid와 linolenic acid를 포함한 다양한 불포화 지방산이 풍부함 (표 1).
- (2) 아미노산 조성은 감칠맛의 대표 성분인 글루탐산 함량이 13.8%를 차지하여 양질의 조미소재 로써 이용이 기대되며 근육을 튼튼하게 해주는 역할을 하는 분지아미노산 함량이 17%를 차지하여 노화에 따른 근손실 예방 및 보충을 할 수 있음. 또한 고분자 단백질의 저분자 펩타이드 및 아미노산 분해물로의 전환에 따른 소화흡수율 증가를 기대할 수 있음 (농림축산식품부 보도자료 R1701012; 김은미 등, 2015).

표 1. 식용곤충의 영양성분 비교

주요성분	갈색거저리 유충 (고소애)	흰점박이꽃무지 유충 (꽃벵이)	장수풍뎅이 유충 (장수애)	쌍별귀뚜라미 (쌍별이)
열량(kcal/100g)	544.67	442.59	516.62	440
탄수화물(%)	10.26	16.85	26.23	13.3
조단백질(%)	48.26	57.85	38.36	64.4
조지방(%)	35.81	17.85	28.76	14.4
불포화지방산(%)	77	77	58	63
수분(%)	2.47	2.13	2.63	2.41
회분(%)	3.17	5.31	4.02	5.45

식이섬유(%)	5.89	8.43	0.29	-
비타민류	B ₃ 7.83 mg/100g	B ₃ 8.81 mg/100g	B ₂ 1.66 mg/100g	B ₁ 0.4 mg/100g
	B ₅ 2.56 g/100g	B ₅ 4.26 g/100g	B ₃ 8.04 mg/100g	B ₂ 2.0 mg/100g
		B ₉ 139.13 mg/100g	B ₅ 9.25 mg/100g	B ₆ 0.04 mg/100g
			D 2.41 ug/100g	D ₂ 867.5 μg/100g
			E 31.32 mg/100g	E 3.89 mg/100g
미량성분	마그네슘 2,388 mg/kg	마그네슘 3,663 mg/kg	마그네슘 2,018 mg/kg	마그네슘 1,090 mg/kg
	인 680 mg/100g	인 724 mg/100g	인 424 mg/100g	인 47 mg/100g
	칼륨 656 mg/100g	칼륨 1,597 mg/100g	칼륨 1,029 mg/100g	칼슘 234 mg/100g

<자료출처: 2017. 01. 02. 농림축산식품부, 농촌진흥청, 식품의약품안전처 보도자료>

다. 고령친화식품소재로서의 쌍별귀뚜라미

- (1) ‘고령친화식품’이란 고령자의 식품 섭취나 소화 등을 돕기 위해 식품의 물성을 조절하거나, 소화에 쉬운 성분이나 형태가 되도록 처리하거나, 영양성분을 조정하여 제조·가공한 식품을 말함. 또한 식품의약품안전처에서 고시한 고령친화식품 규격에 의하면 제품 100 g 당 단백질, 비타민 A, C, D, 리보플라빈, 나이아신, 칼슘, 칼륨, 식이섬유 중 3개 이상의 영양성분이 한국인 영양섭취기준 (권장섭취량 또는 충분섭취량)의 10% 이상이 되도록 원료 식품을 조합하거나 영양성분을 첨가하여야 함 (2018.07.25. 식품의약품안전처 보도자료).
- (2) 고령층의 경우 전반적인 영양소 결핍의 문제가 있는데 상기한 바와 같이 쌍별귀뚜라미는 유제품 섭취 중 소화력 저하에 의한 유당불내증을 경험하는 등의 유제품 섭취가 어려운 고령층의 근손실 보완과 골다공증 예방을 위하여 고령친화식품에서 필수적으로 요구되는 단백질과 칼슘 섭취원으로 대체 가능함. 또한 칼슘 대사와 칼슘 이용 효율을 증가시킬 수 있는 비타민 D의 함량도 높아 노인 골격 건강에 도움을 줌. 양질의 불포화지방산은 고혈압 등의 심혈관계 질환, 치매 등의 퇴행성 질병 예방에, 껍질에서 유래된 키틴 등의 다당류 성분은 항균 및 면역 작용에 도움을 줄 수 있어 고령인구의 약해진 면역 체계를 보완할 수 있을 것으로 기대됨.
- (3) 이상의 결과를 기초로 쌍별귀뚜라미는 고령친화식품용으로 가장 적합한 식품소재 중의 하나이며 그 적용 가능성이 무궁무진할 것으로 판단됨. 국내에서 일반식품 원료로 인정받은 7종류의 식용곤충 중 가격, 영양, 생산, 가공 적성, 주관기관에서 수행하고자 하는 과제 목적과의 적합성 등을 종합적으로 고려하였을 때 쌍별귀뚜라미가 적합한 소재로 판단됨 (표 2).

표 2. 식용곤충의 주요 영양성분과 판매가격

종류		건조 쌍별귀뚜라미	건조 누에	건조 밀웜	흰점박이꽃무지 유충
영양	단백질	64.4	54.8	48.26	57.85
	지방	14.4	25.00	35.81	17.85
가격/10g		1,980	4,000	1,260	4,950

<자료출처: 2017. 01. 02. 농림축산식품부, 농촌진흥청, 식품의약품안전처 보도자료>

라. 커큐민의 생리활성

- (1) 미국 타임지가 선정한 10대 슈퍼푸드인 강황은 생강과에 속하는 향신료 및 천연색소로 사용되며 주요 생리활성 성분으로 알려진 커큐민 (curcumin)은 강력한 항산화물질로써 항산화, 항균, 항암, 항염, 항당뇨, 혈관질환 예방 등에 다양한 생리활성효과가 있는 것으로 보고되어 있고, 특히 최근에는 알츠하이머, 뇌손상 보호, 혈관성 치매, 우울증 등에 효과가 있는 것으로 알려지게 되며 고령친화식품 소재로 매우 주목받고 있음 (송이슬 등, 2018; 정은선 등, 2018).

마. 2019 식품산업 트렌드

- (1) 우리나라 2019 식품산업 전망에 따르면 여성의 사회진출과 1인 가구의 증가는 내년에도 ‘가정간편식 (HMR)’ 간편편이식 (CMR)’의 인기는 지속될 것이며, 65세 이상 고령인구의 증가 현상이 심화하면서 **CMR 형태의 ‘고령친화식품’의 요구가 더욱 높아질 것으로 전망**됨 (이용선, 2019 식품외식산업 전망대회).
- (2) 대표적인 초고령화 국가인 일본의 경우 고령인구 집단이 원하는 건강 유지와 취식 편의성의 니즈를 만족시킬 수 있는 고품질의 고령친화식품용 HMR/CMR 시장 전망은 밝음. 수프류는 성장이 빠른 대표적인 제품군이며 이 중 저작이 쉬우며 소화가 쉽고 원하는 영양성분은 간편하게 섭취할 수 있도록 구성된 ‘고령친화용 수프’도 한 부분을 차지하고 있음.

2. 연구개발의 필요성

가. 생물전환 핵심기술을 통한 미래형 고기능성 발효 소재 개발 및 상품화 필요성

- (1) 생물전환이란 미생물 혹은 효소의 생물학적 반응을 이용하여 기존 소재의 안정성, 흡수율, 기능성 등을 높이거나 새로운 기능성을 부여할 수 있는 최신 연구기술임. 이 연구기법을 통해 다양한 소재와 미생물 등의 매칭을 통한 다양한 신소재를 저비용으로 생산 가능하여 그 생산효율을 높일 수 있고 적용성 확장과 공정 개선이 용이함.
- (2) 쌍별귀뚜라미는 미래형 대체식량으로 앞으로 활용도가 더욱 기대되는 소재이나 외형이 주는 혐오감과 곤충 특유의 이취로 인하여 식품 소재로 대중화되기에는 아직 한계가 있음.
- (3) 당 수행기관에서는 생물전환기술에 의하여 상기한 단점을 개선하여 이취를 저감화하고 원물의 기능성 영양성분을 더욱 증가시킨 고기능성 (항산화, 장건강 개선, 항당뇨, 항알레르기 등) 발효 소재 제조 원천기술을 확보하여 이를 기반으로 하여 식품 트렌드를 선도할 수 있는 차별화된 프리미엄 제품의 사업화 필요성을 절감함.

나. 나노분쇄 유회공법을 이용한 수용성 초미세분말 커큐민 개발의 필요성

- (1) 커큐민은 입자가 크고 지용성 물질이므로 체내 흡수율이 매우 낮고 섭취 중에 발생하는 특유의 자극적인 향미로 인한 관능 기호도 저하 등을 야기하여 식품산업에서 제한적으로 적용하고 있음. 그러므로 커큐민을 식품 소재로써 적용할 때 한계를 해결할 가공기술력이 매우 중요함.
- (2) 나노 분쇄의 장점
 - (가) 입자의 크기가 작아질수록 입자 주위에 유체역학적으로 더 얇은 층이 형성되어 용해 속도를 증가시킬 수 있으므로 커큐민의 수용성을 향상시킬 수 있음. 입자 크기가 작아지면 생체 이용률이 향상되므로 커큐민의 건강 증진 효과를 체내에서 효율적으로 발현할 수 있음.

- (나) 나노기술 기반 약물전달시스템은 난용성 약물의 생체 이용률 향상에 가장 효과적인 방법으로 알려져 있음.
- (3) 국내 식용곤충 산업의 고부가가치 제품 산업화에 의한 가격 경쟁력 확보 필요성
 - (가) 현재 국내 식용곤충 가공기술은 분말, 건조, 환 등으로 1차 가공품 수준이 대부분이며 고가의 원료 자체를 단순 가공하는 형태로서 아직 많은 부가가치를 창출하지 못하고 있음. 그러므로 상기한 원천기술을 통하여 개발한 고기능성 발효 소재를 활용하여 식용곤충 가공기술 향상을 통한 고부가가치 소재 개발 및 국가 경쟁력 확보 필요함.
 - (나) 개발 소재의 다양한 적용 분야
 - ① 미래형 식품 소재, 고령친화식품, 간편식 (HMR/CMR), 알레르기 저감 식품, 영양조절식, 질현별 맞춤형 환자식, 채식주의자용 영양 보조 식품, 체중조절 식품, 피트니스 제품 등
- (4) 고령친화용 고기능성 항노화 수프 개발에 대한 필요성
 - (가) 최근 간편하게 조리하여 섭취할 수 있는 가정간편식 (HMR) 시장이 급성장하고 있음. 미래형 식사로는 조리가 필요하지 않은 간편편이식 (CMR)이 적합한 것으로 알려져 있으며, 앞으로는 가정간편식을 넘어 간편편이식 시장이 더 성장할 것으로 예측됨.
 - (나) 우리나라는 빠르게 고령화되고 있으며, 1인 가구도 급성장하고 있음. 고령가구 (특히 1인 고령가구)에서는 식사 및 영양 섭취에 가장 큰 어려움을 겪고 있으므로 간편하게 영양을 공급할 수 있는 CMR 형태의 음식을 개발하여 보급할 필요가 있음.
 - (다) 고령층을 위한 연화 식품인 푸딩, 젤리 등은 차갑게 먹는 제형이므로 고령층의 선호도가 낮은 반면 수프는 따뜻하게 섭취할 수 있으므로 소화기관이 불편한 고령인구에 적합함.
 - (라) 본 과제에서 개발하고자 하는 고기능성 항노화 수프는 고령층의 영양 보충뿐 아니라 커큐민과 같은 항산화 소재를 이용한 노화 방지 기능을 목표로 하고 있으므로 노화를 예방하고자 하는 30대 후반부터 제품의 타깃이 될 수 있으며, 노화 방지에 대한 수요는 전 세계적으로 증가하고 있으며 꾸준한 관심을 보이는 분야이므로 접근성이 높음.
- (5) 고령친화용 고기능성 항노화 수프 품질기준규격 표준화에 대한 필요성
 - (가) 급격히 성장하는 고령친화식품 시장 육성을 위해 정부는 고령친화식품 기준 (식품의약품안전처, 2018.07.25.)을 마련하고 R&D 투자 확대를 추진 중임. 고령친화식품을 제조할 때는 원료 준비 단계에 소독·세척 기준 등을 신설하고 최종제품에는 대장균군 (살균제품) 및 대장균 (비살균 제품) 규격을 마련하여 안전 관리도 한층 강화하였음. 그러므로 2019년부터 진행되는 고령친화식품 인증용 즉석분말수프 제조 공정을 표준화하고 제품의 품질기준을 설정하는 것이 필요함.
- (6) 국내 식용곤충 농가의 판로 안정화 및 지속적인 산업 성장 도모 필요성
 - (가) 국내 식용곤충 산업은 사육 규모와 환경 면에서 비교하여 대규모로 곤충 생산의 자동화를 적용하여 철저히 품질 관리된 대규모의 곤충 사육을 실시하는 경쟁 국가들과 비교하여 농가의 사육 규모가 작고 대량 생산에 대한 기술력 부재로 가격 경쟁 면에서 한계가 있음. 따라서 과제 수행에 따른 고부가가치 식품 사업화와 매출 확대에 의한 지속적인 판매로 수요시장을 창출하여 농가의 수익구조를 개선하고 안정적 판로개척을 유도함으로써 지속적인 산업 성장을 도모할 필요가 있음.

3. 연구개발의 독창성

가. 미래대체식량의 생물전환기술을 적용한 원천핵심기술의 확보 및 신속한 사업화

- (1) 기존 수행 중인 연구의 대부분은 쌍별귀뚜라미 분말을 이용한 일차 가공제품의 개발이나 또는 단순 효소 처리 등에 의한 단백질 추출물 수득 및 소재화 수준에서 진행되어 구체적인 사업화 부분이 취약한 한계가 있었음 (표 3).
- (2) 본 수행과제는 **최신 추세의 생물전환 연구기법을 적용하여 기존의 곤충 소재화 연구에서 해결하지 못한 이취 및 알레르기 유발물질 저감화에 대한 연구를 시행하여 식용곤충이 가진 잠재적인 식품 소재로서의 가치를 극대화**할 수 있을 것으로 기대됨.
- (3) 기존의 식용곤충 연구를 발전시켜 그 효과를 검증하고 이를 기반으로 한 표준화 및 경제성 강화 등으로 사업화에서 조기 성과 창출을 할 수 있을 것으로 기대됨.
- (4) **생물전환기법을 활용한 쌍별귀뚜라미 발효 소재에 관한 국내외 특허 및 관련 연구 없음.**

표 3. 본 연구과제와 기존 과제의 차별성

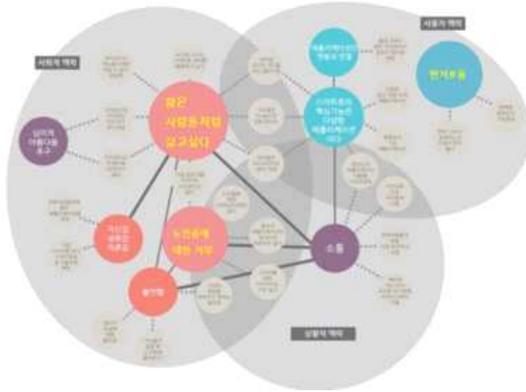
개발기술명	식용곤충을 이용한 고부가가치 기능성 식품 소재 발굴 및 산업화 기술 개발	발효공정에 의한 식용곤충의 식품 및 조미소재 연구	생물전환기법을 활용한 이미,미취 저감형 고부가가치 발효꽃병이 제품 개발
Keyword	쌍별귀뚜라미	식용곤충	생물전환기법, 식용곤충
연구년도	2016.01.01.~2017.12.31.(2년)	2016.07.07.~2018.12.31.(2.5년)	2018.10.17.~2019.10.16.(1년)
유사점	원료	발효	생물전환기법
차이점	<ul style="list-style-type: none"> • 생물전환기법을 통한 고 기능성 소재화기술 적용 • 상품화 방안 	<ul style="list-style-type: none"> • 조미소재 • 상품화 방안 부재 	<ul style="list-style-type: none"> • 원료 • 시제품 제작 및 상품화 방안 부재

나. 난용성 생리활성 식품 소재의 나노 분말화 원천기술 개발 및 적용

- (1) 선행연구의 공정을 보완하여 단순화된 공정의 초미세 분말 커큐민 제조 기술 확보 추진
- (2) 커큐민은 노화 방지, 뇌의 활성화, 항암, 관절 통증 예방, 심혈관계 질환 개선 등의 효과가 알려져 있으며, 전 세계적으로 많이 사용되는 슈퍼푸드이지만 난용성에 의한 낮은 생체 이용률이 지속해서 언급되고 있으므로 흡수율을 증가시킨 커큐민 분말을 개발하고 이를 수프에 적용하면 세계 시장 진출 및 국내외 고령친화식품 시장에서의 우위를 선점할 수 있을 것으로 예측

다. 미래 식량문제 및 고령화 사회로의 시대 추세에 부흥하는 미래형 제품

- (1) 미래 식품사업의 대세인 고령 친화 식품 시장을 포함한 CMR 시장에서도 다양한 응용이 기대되어 산업화로의 가치가 충분히 있을 것으로 판단됨.
- (2) 주관연구기관은 철저한 시니어 마케팅 및 노년층의 핵심 니즈 분석을 기반으로 하여 맛, 취식 편의성, 영양(기능성, 항노화)이 보장된 형태의 수프 제품 연구하였음 (그림 2). 본 과제를 통하여 쌍별귀뚜라미와 커큐민의 생리활성 이용효율을 극대화한 소재로 가공하여 이를 항노화 즉석분말수프에 적용하여 시대 추세에 부흥하는 고령 친화 식품을 생산하고자 함.
- (3) **식용곤충을 이용한 고령 친화용 즉석분말수프 없음.**



[액티브시니어의 핵심 니즈 분석]

[주관연구기관 개발 시제품의 컨셉]

그림 2. 액티브 시니어의 핵심 니즈 분석.

<자료출처: 시니어마케팅[인포그래픽] 액티브 시니어의 핵심니즈(육구)와 맥락적 분류, 네이버 블로그>

(4) 고령 친화 식품으로써 즉석 분말수프의 강점 활용

(가) 조리 및 섭취 편리성

- ① 별도의 조리과정 없이 뜨거운 물을 넣고 1분 정도 저어주기만 하면 섭취 가능하여 고령층에서도 쉽게 활용 가능
- ② 다양한 영양성분을 따뜻한 물과 함께 유동식 형태로 섭취하여 소화 부담이 없고 과도한 저작 작용을 요구하지 않아 고령층에 적합한 제형임.

(나) 보관 및 휴대 용이성

- ① 1회 분량으로 포장이 되어 휴대가 간편하므로 사회활동이 늘어난 노인들의 끼니 또는 간식으로 활용도가 높음.
- ② 상온 보관, 장기보관이 가능하므로 고령가구 및 1인 가구에서 활용도가 큼 (그림 3).

분말수프 제형의 강점

1. 영양소 흡수	- 씹지 않아도 되므로 연령대에 관계없이 섭취 가능 - 물과 함께 섭취하는 분말제품이므로 소화, 흡수에 유리함
2. 간편함	- 뜨거운 또는 따뜻한 물만 넣어 저어주면 섭취 가능 - 조리시간 3분 이내로 간편 - 사용이 편리한 패키지 (절취선을 따라 잘라만 주면 됨)
3. 보관·휴대	- 분말수프는 휴대성이 우수함 - 사회활동이 늘어난 노인들의 끼니 사이의 간식으로 활용 가능 - 상온, 장기보존 가능

소비자가 선택한 고령친화식품에 가장 필요한 요건으로 선택된 영양소(48.8%), 소화 정도(26.5%), 부드러움(20.3%)을 모두 충족하는 제형

그림 3. 고령 친화 식품으로써 수프 제형의 강점.

<자료출처: 2017년 고령 친화 식품 시장 분석 보고서, 농림축산식품부>

(5) 수프 시장 선호도를 종합하면 본 기술제품은 고령친화수프로써, 타 경쟁제품과 다르게 기능성이 포함되어 있어 간편하게 영양성분을 섭취할 수 있는 점에서 차별적인 이미지를 확보할 것으로 판단됨. 주원료인 쌍별귀뚜라미의 기능성에 대한 연구 결과도 발표되고 있어 가정간편식 수프류 시장의 새로운 제품으로써 선호도가 높을 것으로 기대됨.

제 3 절. 연구개발 범위

1. 나노분쇄 유회공법을 이용한 수용성 초미세분말 커큐민 제조, 공정 표준화 및 품질기준 설정

- 가. 나노분쇄 유회공법을 이용한 커큐민 조성물 제조 조건 확립
- 나. 개발 소재별 분무건조 공정 표준화
- 다. 나노분쇄 유회공법을 이용한 수용성 초미세분말 커큐민 품질기준 설정

2. 생물전환기술을 활용한 이취 및 알레르기 저감 쌍별귀뚜라미 유래 고기능성 발효 소재 제조 원천기술 확보

- 가. 알레르기 성분 억제를 위한 전처리 기술 연구
- 나. 쌍별귀뚜라미 유래 고기능성 발효 소재의 이취 저감화 기술 연구
- 다. 쌍별귀뚜라미 유래 고기능성(항산화, 장건강 개선, 항당뇨, 항알레르기 등) 소재 생물전환기술 조건 연구
- 라. 생물전환기술을 활용한 쌍별귀뚜라미 유래 고기능성(항산화, 장건강개선, 항당뇨, 항알레르기 등) 소재의 이화학 특성, 기능성 연구

3. 생물전환기술을 활용한 쌍별귀뚜라미 유래 고기능성 발효 소재 대량 생산 공정 구축 및 품질 관리 표준화

- 가. 생물전환기술을 활용한 쌍별귀뚜라미 유래 고기능성 소재의 대량 생산 공정 개발 및 표준화 연구
- 나. 생물전환기술을 활용한 쌍별귀뚜라미 유래 고기능성 소재의 산업화 가능성 연구

4. 고령친화식품 인증용 고기능성 항노화 즉석분말수프 대량 생산 공정 구축 및 표준화

- 가. 고령친화식품용 최적 레시피 개발
- 나. 고령친화식품 및 즉석분말수프 기준 및 규격 적격성 검사(영양성분, 위해요소, 저장안정성, 관능검사)
- 다. 고령친화식품 인증용 즉석분말수프의 대량 생산 공정 개발 및 표준화 연구
- 라. 제조설명서, 작업 지시서, 공정도 개발 및 표준화(즉석분말식품 HACCP 기준 작업지시서 적용).

5. 고령친화식품 인증용 고기능성 항노화 즉석분말수프 유통시스템 구축 및 산업화

6. 생물전환기술을 활용한 이취 및 알레르기 저감 쌍별귀뚜라미 유래 고기능성 발효 소재의 기능성 강화 방법 연구

가. 기능 성분 강화를 위한 생물전환기술 조건 연구

나. 탄수화물 소재와 쌍별귀뚜라미 소재 배합 최적화 연구

다. 기능성을 강화한 고기능성 소재의 이화학 특성, 기능성 연구

제 2 장. 연구수행 내용 및 결과

제 1 절. 연구개발 추진전략·방법 및 체계

1. 연구개발 추진전략·방법

가. 기술정보 수집, 전문가 확보, 타 기관과의 협조방안

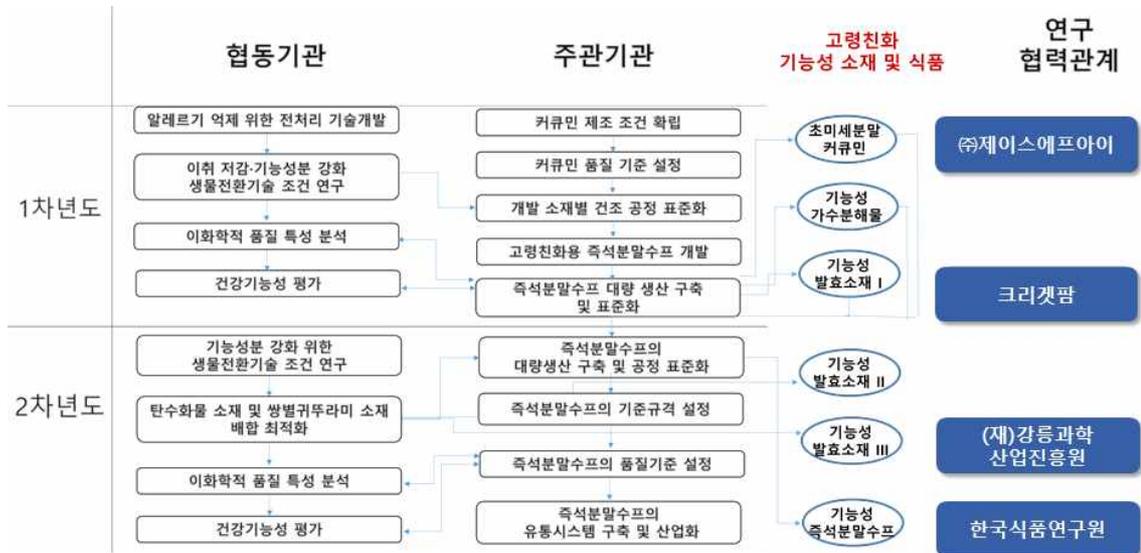
- (1) 실험의 방법론과 아이디어 개발을 위해 본 연구진은 매년 학회에 연구 결과를 발표하였으며, 해당 관련 연구를 활발히 수행하고 있는 산업체 및 학계 전문가들과의 교류를 통하여 관련 기술 및 지식을 빠르게 습득할 기회를 활용하였음.
 - (가) 과제 수행 중 주관연구기관의 참여연구원으로 박사 1인, 석사 2인, 학사 4인, 협동연구기관의 참여연구원으로 박사 1인, 석사 1인, 학사 5인이 참여하였음.
- (2) 학계의 다양하고 심화된 기술개발을 위하여 효소학, 식품화학, 식품가공 및 유변학, 영양 기능성 평가의 전문가와 긴밀한 협조를 진행하였음.
- (3) 최종제품의 기술이전 및 상품화를 위한 외부 기관 협업
 - (가) (주)제이스에프아이, 크리켓팜, 강릉과학산업진흥원, 한국식품연구원 전문가 활용 등을 통하여 긴밀한 협조를 활용하여 고기능성 발효소재의 판매전략 수립함.
 - (나) (주)제이스에프아이, 미니스탑, NS 홈쇼핑 등을 통해 수프 시제품 생산 및 용도 다양화 전략 수립함.

나. 연구접근방법

- (1) 주관기관인 (주)정심식품은 나노분쇄 유효공법을 이용한 수용성 초미세분말 커큐민 제조기술을 확립하고, 고령친화식품 인증용 고기능성 향노화 즉석분말수프 개발, 공정 표준화, 시제품 생산 및 사업화를 위한 연구를 수행하였음.
 - (가) 주관연구기관이 보유하고 있는 선행기술인 심황색소를 습식분쇄만으로 입자 크기를 300 ~ 2,000nm 범위의 나노 또는 마이크로에멀션으로 제조하는 공법을 변형하여 초미세분말 커큐민을 분말 소재화하였음.
 - (나) 주관연구기관이 보유하고 있는 선행기술인 식품의 고결 방지용 첨가제 및 식품 조성물 기술력을 이용하여, 최종적으로 과제에서 상품화하고자 하는 분말의 품질 유지 및 유통 중 보관 안정성을 향상하면서도 이산화규소의 함량이 감소한 건강 친화형 고령친화수프로서의 시제품 생산 및 상품화에 적용하였음.
 - (다) 주관연구기관은 즉석분말수프 제조 및 상업화 경험이 우수하고 고유의 기술력이 축적된 식품제조 전문 업체로써 자체 분말 제품 생산 설비를 보유하고 있는 선행기술인 식품의 고결 방지용 첨가제 및 식품 조성물 기술력을 이용하여, 최종적으로 과제에서 상품화하고자 하는 분말의 품질 유지 및 유통 중 보관 안정성을 향상하면서도 이산화규소의 함량이 감소한 건강 친화형 고령친화수프로서의 시제품 생산 및 상품화에 적용하였음
- (2) 협동연구기관인 단국대학교는 생물전환기술을 활용한 쌍별귀뚜라미 유래 고기능성 발효

소재 제조 원천 핵심기술 개발과 개발 소재와 최종 시제품의 기능성 검증을 담당하였음.

(가) 협동연구기관은 발효 균주로 활용할 수 있고, 다기능성을 보유한 발효식품 유래 다양한 프로바이오틱 균주를 다수 확보하고 있음. 대표적으로 효모로는 당의 이용 범위가 넓은 와인과 증편 유래의 *Saccharomyces cerevisiae*, 이산화탄소 생성능이 우수하여 현대화된 음료 개발에 활용될 수 있는 콤투차 유래 *Dekkera bruxellensis* 등을 확보하고 있으며, 설탕을 기질로 하여 다양한 acceptor에 반응하여 당을 합성할 수 있는 glucansucrase를 세포 밖 효소로 생산하는 *Leuconostoc* 속들을 다수 확보하고 있음. 특히 몇몇 *Leuconostoc* 속은 probiotic 활성을 보유할 뿐 아니라 폭넓은 병원성균에 대하여 항균 활성을 나타내었고, 콜레스테롤 분해능과 장 정착능이 우수하였으며 이들이 생산한 dextran은 prebiotic 활성과 α -glucosidase에서 특이적으로 저해 작용을 하여 대사성 질환에 우수한 활용 능력을 보였음. 또한, 전통 간장에서 외부 환경에 대한 저항력이 우수한 프로바이오틱 *Bacillus* sp.도 확보하고 있음. 본 과제에서는 *Leuconostoc* 속, *Bacillus* 속, *Lactobacillus*속을 적용하여 수행하였음.



[연구개발 기관별 협업 추진 체계도]

2. 연구개발 추진 체계

가. 추진체계도

연구개발과제		총 참여 연구원
과제명	생물전환기술을 활용한 고기능성 발효 소재와 이를 활용한 고령친화수프 개발 및 산업화	주관연구책임자 (박자원)의 총 12명

기관별 참여 현황		
구 분	연구기관수	참여연구원수
대 기 업	0	-
중견기업	0	-
중소기업	1	6명
대 학	1	7명
국공립(연)	0	-
출 연 (연)	0	-
기 타	0	-

주관연구기관명
과 제 명
연구책임자명 (박자원)의 5명
담당기술개발내용
<p><1차년도></p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 나노분쇄 유효공법을 이용한 커큐민 조성물 제조 조건 확립 2. 개발 소재별 건조 공정 표준화 3. 나노분쇄 유효공법을 이용한 초미세분말 커큐민 품질기준 설정 4. 고령친화식품 인증용 고기능성 향노화 즉석분말 수프 개발 5. 고령친화식품 인증용 고기능성 향노화 즉석분말 수프의 large scale 생산 공정 구축 및 표준화 <p><2차년도></p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 고령친화식품 인증용 고기능성 향노화 즉석분말 수프 개발 2. 고령친화식품 인증용 고기능성 향노화 즉석분말 수프의 large scale 생산 공정 구축 및 표준화 3. 고령친화식품 인증용 고기능성 향노화 즉석분말 수프의 기준규격 및 품질기준 설정 4. 고령친화용 고기능성 향노화 즉석분말수프 유통시스템 구축 및 산업화

협동연구기관명
과 제 명
연구책임자명 (김미숙)의 6명
담당기술개발내용
<p><1차년도></p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 알레르기 성분 억제를 위한 전처리 기술개발 2. 이취성분 억제를 위한 효소처리 조건 연구 3. 기능성분 강화를 위한 발효조건 연구 4. 기능성분 강화를 위한 복합효소 및 발효조건 연구 5. 통계적 분석을 통한 탄수화물 소재 및 쌍별귀뚜라미 소재 배합 최적화 6. 이화학적 품질특성 분석 7. 건강기능성 평가 <p><2차년도></p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 기능성분 강화 위한 복합효소 및 발효조 연구 2. 탄수화물 소재 및 쌍별귀뚜라미 소재 배합 최적화 3. 이화학적 품질 특성 분석 4. 건강기능성 평가

3. 연구개발 추진 일정

가. 1차년도

1차년도																
일련 번호	연구내용	월별 추진 일정												연구 개발비 (단위: 천원)	책임자 (소속 기관)	
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12			
1	계획수립 및 자료 수집														2,500	박자원(주정심식품)/김미숙(단국대학교)
2	나노분쇄 유화공법을 이용한 커큐민 조성물 제조조건 확립														10,000	박자원(주정심식품)
3	개발 소재별 분무건조 공정 표준화														5,000	박자원(주정심식품)
4	나노분쇄 유화공법을 이용한 초미세분말 커큐민 품질기준 설정														7,720	박자원(주정심식품)
5	고령친화식품 KS 증석분말수프 개발														24,000	박자원(주정심식품)
6	Large scale 생산 공정 구축 및 표준화														10,000	박자원(주정심식품)
7	전처리 기술 개발														6,000	김미숙(단국대학교)
8	효소처리 조건 연구														6,000	김미숙(단국대학교)
9	발효조건 연구														10,000	김미숙(단국대학교)
10	이화학적 품질 특성 분석														6,000	김미숙(단국대학교)
11	건강기능성 평가														11,480	김미숙(단국대학교)

나. 2차년도

2차년도																
일련 번호	연구내용	월별 추진 일정												연구 개발비 (단위: 천원)	책임자 (소속 기관)	
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12			
1	Large scale 생산 공정 구축 및 표준화	■	■												15,000	박자원 (주정심식품)
2	항노화 즉석분말수프의 기준규격 및 품질기준 설정			■	■	■	■	■	■						30,000	박자원 (주정심식품)
3	항노화 즉석분말수프의 유통시스템 구축 및 산업화									■	■				30,900	박자원 (주정심식품)
4	최종보고서 작성											■	■		3,300	박자원 (주정심식품)
5	기능성분 강화 위한 생물전환 기술 개발	■	■	■											23,000	김미숙 (단국대학교)
6	소재 배합 최적화				■	■	■								14,000	김미숙 (단국대학교)
7	이화학적 품질특성 분석							■	■	■					800	김미숙 (단국대학교)
8	건강기능성 평가										■	■	■		15,000	김미숙 (단국대학교)

제 2 절. 연구개발 방법

1. 1차년도

가. 주관연구기관 : (주)정심식품

- (1) 나노분쇄 유화공법을 이용한 커큐민 조성물 제조조건 확립 (그림 4).
 - (가) 전처리 조건 확립 (최적 분쇄 혼합액 선정)
 - (나) 분쇄 공정변수 확립 (속도, 시간)
 - (다) 유화 공정변수 확립 (유화제 종류, 유화제 첨가량)
 - (라) 커큐민 조성물 입자 특성 분석 (크기, 균일성, 안정성, 내광성, 내열성 등)
- (2) 개발 소재별 건조 공정 표준화
 - (가) 고기능성 발효 소재/초미세분말 커큐민 조성물의 건조 최적화 조건 확립
 - (나) 부형제 조건 확립 (종류, 첨가량)
 - (다) 건조 공정 변수 확립 (inlet temperature, outlet temperature, feed rate)
- (3) 나노분쇄 유화공법을 이용한 수용성 초미세분말 커큐민 품질기준 설정
 - (가) 초미세분말 커큐민 품질특성 분석 (입도, 색도, 수분함량, 분산안정성 등)

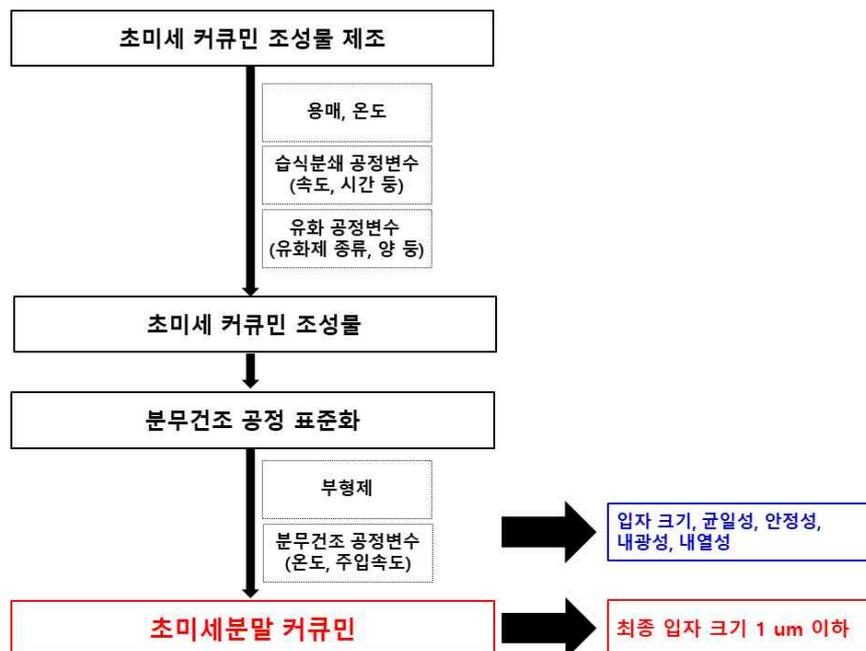


그림 4. 나노분쇄 유화공법을 이용한 수용성 초미세분말 커큐민 제조 공정도.

- (4) 고령친화식품 인증용 고기능성 향노화 즉석분말수프 개발
 - (가) 고기능성 식품 소재, 초미세분말 커큐민, 부재료의 최적 배합비율 설정
 - (나) 50세 이상 한국인 영양소 섭취기준 (단백질, 비타민D, 칼슘)에 적합한 영양성분 설정
 - (다) 고령친화식품 기준 및 규격 적격성 검사 (공인기관 의뢰)
 - (라) 품질관리기준 설정 (간이 관능검사, 색상, 이물, 영양성분 등)
- (5) 고령친화식품 인증용 고기능성 향노화 즉석분말수프의 large scale 생산 공정 구축 및 표

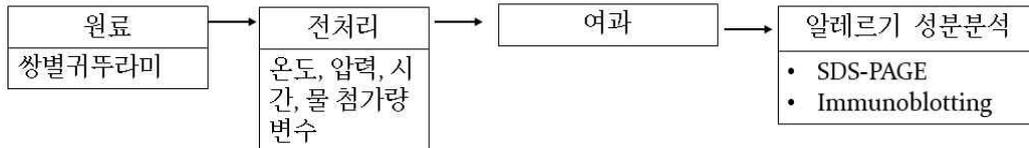
준화

- (가) Pilot scale 하에서 시제품 생산에 의한 대량 생산 가능성 분석
- (나) 간이 관능검사를 통한 제품 품질 점검 및 보완
- (다) 원료 입고에서 포장까지 제조설명서, 작업 지시서, 공정도 개발 및 표준화
- (라) 수프의 대량 생산 공정 개발 및 표준화 연구

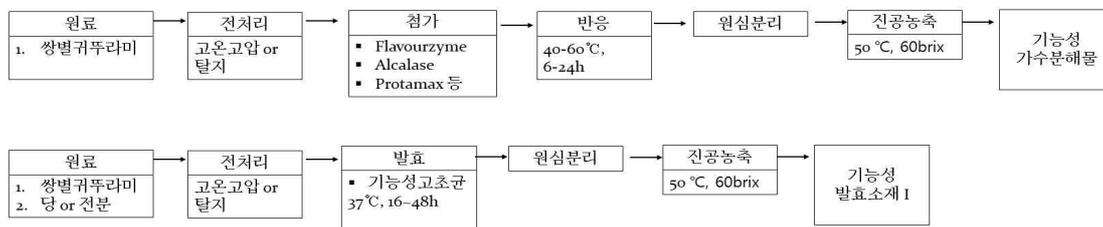
나. 협동연구기관 : 단국대학교

(1) 알레르기 성분 억제를 위한 전처리 기술 개발

- (가) S/L ratio, 온도, 압력, 시간 등을 변화시켜 열처리 후 알레르기 성분 분석



(2) 효소 및 발효¹⁾를 포함하는 생물전환기술 개발



¹⁾ 발효에 사용되는 미생물은 우리나라 식품의약품안전처에서 제시하는 식용이 가능한 미생물이나 미국 FDA에서 지정한 Generally Recognized as Safe (GRAS) 미생물, 또는 실험실에서 안전성 평가(항생제 내성, β-glucuronidase, hemolysis 시험)를 통과한 것을 사용하였음.

(3) 이화학적 품질특성 분석

- (가) 일반성분(AOAC법), pH, 색도 측정
- (나) 가수분해도는 trinitrobenzenesulfonic acid (TNBS)법을 사용하여 측정
- (다) 단백질 용해도는 염산이나 수산화나트륨을 이용하여 소재의 pH를 pH 2 ~ 11로 조정하고 단백질 최종농도가 10 mg/mL이 되도록 부피를 조정한 후 소재의 총 단백질 함량과 상등액 중의 단백질 함량을 Bradford법으로 측정
- (라) Water holding capacity는 소재에 증류수를 가하여 540 rpm에서 30 min 간 교반한 후 8000×g에서 원심분리하여 침전된 무게를 측정, 소재 무게(g) 당 흡수된 물 무게(g)로 표시
- (마) Oil holding capacity는 소재에 식물성 오일을 가하여 혼합 후 침전물 무게를 측정, 소재 무게(g) 당 흡수된 오일 무게(g)로 표시
- (바) 거품형성능은 소재를 높은 전단 균질화 혼합기로 16,000 rpm에서 2 min간 균질화 시킨 후 휘핑된 소재를 실린더에 옮겨 부피를 측정
- (사) 유화력은 소재와 증류수를 섞은 후 이 혼합액에 식물성 오일을 넣어 20,000 rpm으로 균질화하고 3000×g에서 5 min간 원심분리하여 각 층의 부피를 측정

(4) 알레르기 성분 분석

(가) 쌍별귀뚜라미 소재를 SDS-PAGE를 한 후 immunoblotting하여 알레르기 성분을 확인함.
Primary antibody로 새우 알레르기 면역 혈청을 1차 항체로 horseradish peroxidase로 접합시킨 anti-human IgE를 2차 항체로 사용함.

(5) 항산화 활성

(가) ABTS assay는 ABTS⁺ solution을 넣어 어두운 조건에서 2h 반응시킨 후 734 nm에서 흡광도를 측정, 표준시료로는 trolox (25-600 μ M)를 사용하며 결과는 μ M trolox equivalents(TE)/g fresh mass로 표시

(나) DPPH assay는 DPPH solution을 넣어 암실에서 30분 반응시킨 후 517 nm에서 흡광도 측정, 결과는 scavenging activity(%)로 표시

(다) FRAP assay는 FRAP solution을 넣고 어두운 조건에서 30 min 반응시킨 후 593 nm에서 흡광도 측정, 표준시료로는 trolox (25-800 μ M)를 사용하며 결과는 μ M TE/g fresh mass로 표시

(라) Reducing power는 phosphate buffer(0.2M, pH 6.6) 사용 조건에서 1% potassium ferricyanide를 넣어 50°C에서 20 min 반응시킨 후 10% TCA로 반응을 종료하여 10,000 rpm에서 5 min 원심분리 후 증류수와 0.1% ferric chloride를 넣어 700 nm에서 흡광도 측정

(6) 항당뇨 활성

(가) α -amylase 저해 활성은 일정량의 시료에 20 mM sodium phosphate buffer에 α -amylase를 첨가한 후 37°C에서 1분동안 방치한 후 1% 전분 용액을 기질로 하여 37°C에서 10분간 반응시킴. 반응액에 DNS 시약 1 mL를 첨가한 후 95°C에서 5분 동안 끓여 반응을 정지시킨 후 증류수 2 mL를 넣고 냉각시켜 UV/Visible Spectrophotometer를 이용하여 405 nm의 파장에서 흡광도를 측정하여 저해 활성(%)을 측정함.

(나) α -glucosidase 저해 활성은 일정량의 시료에 20 mM sodium phosphate buffer에 α -amylase를 첨가한 후 37°C에서 1분동안 방치한 후 1% 전분 용액을 기질로 하여 37°C에서 10분간 반응시킴. 반응액에 DNS 시약 1 mL를 첨가한 후 95°C에서 5분 동안 끓여 반응을 정지시킨 후 증류수 2 mL를 넣고 냉각시켜 UV/Visible Spectrophotometer를 이용하여 405 nm의 파장에서 흡광도를 측정하여 저해 활성(%)을 측정함.

2. 2차년도

가. 주관연구기관 : (주)정심식품

(1) 고령친화용 고기능성 항노화 즉석분말수프의 large scale 생산 공정 구축 및 표준화 (그림 5).

(가) Large scale하에서의 생산 공정 구축

(나) 즉석조리식품 HACCP 인증에 적합한 공정 표준화

(2) 고령친화용 고기능성 항노화 즉석분말수프의 기준규격 및 품질기준 설정

(가) 유통기한 설정(공인기관 의뢰)

① 관능평가, 산가, 색도, 수분, 일반세균 등

(나) 영양성분 분석 (공인기관 의뢰)

① 일반성분, 비타민D, 칼슘

(다) 위해요소 분석 (공인기관 의뢰)

① 일반세균, 병원성세균, 곰팡이독소, 중금속, 잔류농약, 알레르기 유발물질

(3) 고령친화용 고기능성 항노화 즉석분말수프의 유통시스템 구축 및 산업화

(가) 식품품목제조보고

(나) 생산 단가 계산

(다) 고령친화식품 인증용 고기능성 항노화 즉석분말수프 사업화를 위한 홍보자료 개발 및 마케팅

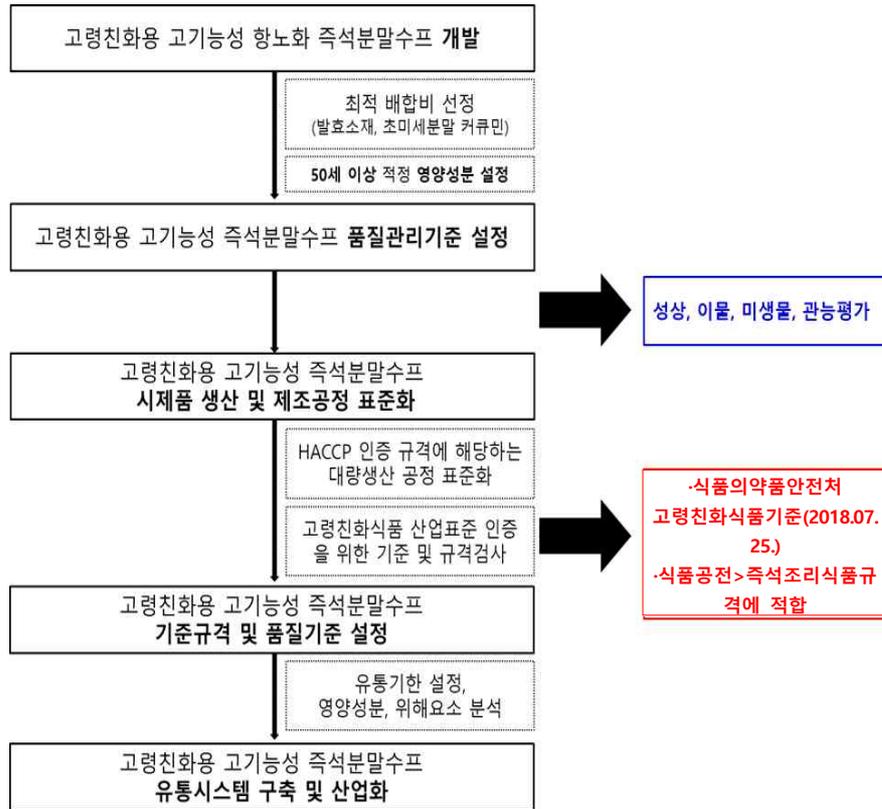
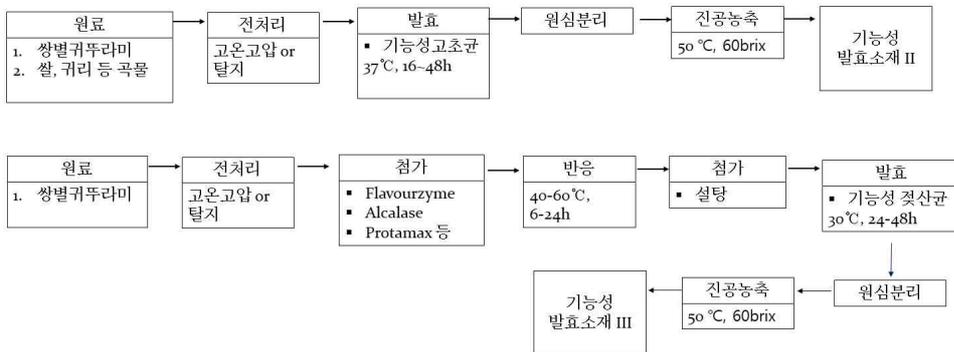


그림 5. 고령친화식품 인증용 고기능성 항노화 즉석분말수프 예상 공정도.

나. 협동연구기관 : 단국대학교

(1) 기능성분 강화를 위한 복합효소 및 발효²⁾등을 포함하는 생물전환기술 조건 연구



²⁾ 발효에 사용되는 미생물은 우리나라 식품의약품안전처에서 제시하는 식용이 가능한 미생물이나 미국 FDA에서 지정한 Generally Recognized as Safe (GRAS) 미생물, 또는 실험실에서 안전성 평가(항생제 내성, β -glucuronidase, hemolysis 시험)를 통과한 것을 사용하였음.

(3) 이화학적 품질특성 분석

(가) 1차년도와 동일한 방법에 의함

(나) pH, 색도, 가수분해도, 단백질 용해도, water holding capacity, oil holding capacity, 거품형 성능, 유화력 측정

(4) 알레르기 성분 분석

(가) 쌍별귀뚜라미 소재를 SDS-PAGE를 한 후 immunoblotting하여 알레르기 성분을 확인함. Primary antibody로 새우 알레르기 면역 혈청을 1차 항체로 horseradish peroxidase로 접합시킨 anti-human IgE를 2차 항체로 사용함.

(5) 항산화 활성

(가) 1차년도와 동일한 방법에 의함.

(나) ABTS assay, DPPH assay, FRAP assay, Reducing power 측정

(5) 소화효소 활성

(가) 1차년도와 동일한 방법에 의함.

(나) α -amylase 저해 활성, α -glucosidase 저해 활성 측정

(6) 발효 소재의 생체이용률(소화흡수율) 분석

(가) 각 소화기관에서의 소화율 분석(입, 위장, 소장)

(나) 소화 전후 지표 성분을 분석하여 생체이용률 계산

(7) 발효 소재의 항콜레스테롤 저해 활성; 아미노산 분석

제 3 절. 연구개발 내용

1. 1차년도

가. 주관연구기관 : (주)정심식품

(1) 연구수행 내용

(가) 나노분쇄 유화공법을 이용한 커큐민 조성물 제조 조건 확립

① 최적 초미세분말 커큐민 제조를 위한 전처리 조건은 부형제 종류, 농도, 혼합비 등을 달리 하여 제조한 3 종류의 emulsion을 제조하였음 (표 4).

표 4. SD 공정에 적합한 최적 초미세 커큐민 조성물 배합비 선정

(Unit : %)

Ingredients	Sample		
	A	B	C
강황추출분말	18	4	5
정제수	60	66	64
검류	2	2	2
주정	20	20	22
변성전분	10	8	7
총 합	100	100	100

② 초미세 커큐민 조성물 제조 공정 설정은 먼저 강황추출물 분말과 주정을 혼합하여 강황 분산액을 준비하였음. 이후 정제수에 검류와 변성전분을 혼합한 검류 유화제에 미리 준비한 강황 분산액을 서서히 투입하며 3,500 rpm의 호모믹서(SSC811CA, Matsushita, Japan)에서 균질화하여 나노 분쇄를 위한 emulsion을 제조하였음.

③ 품질특성 분석

㉠ 초미세 커큐민 조성물의 입도는 입도분석기(MASTERSIZER 3000, Malvern, England)를 사용하여 측정하였음. 즉, 혼탁도가 5 ~ 6% 범위가 되도록 증류수 500mL 시료를 투입한 후 D10, D50, D90값을 측정하였음. 초미세 커큐민 조성물 C는 milling speed 1,000 ~ 1,200 rpm, pump 35 rpm, chamber Temp. 10°C의 온도 조건으로 설정한 bead mill(Super Mill 5L, KM tech, Korea)을 통하여 분쇄기 통과 횟수를 0 ~ 30회까지 달리하여 분쇄한 후 횟수에 따른 입도, 색도, 탁도, 분산안정성 등의 물리화학적 특성 변화를 조사하였음. 초미세 커큐민 조성물 분쇄 중에 발생하는 거품은 표면에 발효 주정을 분무하여 제거하며 분쇄하였음.

㉡ 색도는 색체계(CM-3600A, Konica Minolta, Japan)을 이용하여 disposable plastic cell 10 mm 에 10 mL를 분주하여 L*, a*, b* 값을 3반복하여 측정하였음.

④ 저장안정성 분석

초미세 커큐민 조성물의 저장안정성은 상온에서 방치하며 저장기간에 따른 분리 유무를 확인하였음.

(나) 개발 소재별 건조 공정 표준화 및 품질기준 설정

① 수용성 초미세분말 커큐민 분말은 30회 분쇄한 초미세 커큐민 조성물(28° Brix)에 액상덱스트린을 첨가하여 최종 40° Brix로 조정된 후 분무건조기(L-8i, Ohkawara kakohki Co.,Ltd., Japan)로 분말화하였음. 이때 분무건조기 운영 조건을 1기압, 주입속도 150 kg/cm³, outlet Temp. 90°C, inlet Temp, 180°C, atomizer speed 25,000 rpm 조건에서 건조하였음 (그림 6).



그림 6-1. Bead mill을 이용한 초미세 커큐민 조성물 제조



그림 6-2. Bead mill operation factors

(다) 나노분쇄 유효공법을 이용한 수용성 초미세분말 커큐민 품질기준 설정

- ① 수용성 초미세분말 커큐민의 입도, 색도, 저장안정성은 초미세 커큐민 조성물과 동일한 방법에 의하여 실시하였음. 초미세분말 커큐민의 수분함량은 105°C 상압가열건조법에 의하여 측정하였음.
- ② 수용성 초미세분말 커큐민 함량
수용성 초미세분말 커큐민 함량은 경기도경제과학진흥원에 의뢰하였으며 분석은 표 5와 같은 조건으로 진행하였음. 시약은 HPLC용으로 B&J사의 증류수와 아세토니트릴을, Sigma-Aldrich사의 formic acid를 사용하였음. 분석에 사용된 표준품 curcumin은 Sigma-Aldrich사의 analytical standard(08511-10mg)를 구매하여 시료와 함께 분석 의뢰하였음. 표준품을 50% ACN 용매에 녹여 1mg/mL 표준원액을 만들고, 이를 다시 희석하여 표준용액으로 하여 검량선을 작성하였음. 시료 분석은 시료를 50% ACN 용매에 녹여 0.5 mg/mL 표준원액을 만들고 0.2 μm syringe filter로 걸러준 후 확립된 분석조건으로 분석하되 3반복 분석한 후 얻어진 MS chromatogram의 peak area를 이용하여 미리 작성한 검량선으로부터 분석시료 내 성분의 농도를 확인하였음.

표 5. Instrument condition by HPLC for curcumin analysis

A. LC Method

1	Chromatography	Nexera X2		
2	Mass spectrometry	LCMS-8050 (Shimadzu)		
3	Column	ACQUITY BEH C18, 1.7um, 100*2.1mm		
4	Solvent	A :DW(0.1% Formic acid) B :ACN(0.1% Formic acid)		
5	Elution condition	Time	A	B
		0.0	95	5
		2.0	95	5
		10.0	0	100
		12.0	0	100

		12.1	95	5
		15.0	95	5
6	Flow rate	0.3 ml/min		
7	Injection Vol.	1 uL		

B. MS Method

1	Detection ion mode	Positive(($[M+H]^+$), Negative(($[M-H]^-$))
2	Interface Voltage	4.0 kV
3	Interface Temp.	300 °C
4	DL Temp.	250 °C
5	Software	LabSolution

C. MRMMS

Standards	RT(min)	Precursor Mass	Product Mass
			177.1 $[M+H]^+$
Curcumin	10.216	369.1 $[M+H]^+$	145.0 $[M+H]^+$
			285.1 $[M+H]^+$

(라) 고령친화용 고기능성 항노화 즉석분말수프의 large scale 생산 공정 구축 및 표준화

① Lab scale 표준공정도(large scale 기본)

㉔ 협동연구기관에서 제시한 lab scale 공정도를 기본으로 하여 pilot scale과 large scale을 단계별로 실시하며 산업화에 적용 가능 여부를 검증하여 산업화로의 개선이 필요한 공정을 확인하였음.

② Large scale에서 생산 공정 구축을 위한 단계별 개선 공정 확립

㉔ 쌍별귀뚜라미 배양액의 살균조건 확립

- 원물 중량당 5배수의 정제수와 2.5% 정백당을 혼합하여 90°C ~ 100°C에서 0 ~ 120분 동안 각각 멸균 및 살균한 후, 멸균 및 살균 시간에 따른 균수를 측정하였음.
- 멸균 공정은 산업화 적용할 때 장비 사용, 멸균 환경 유지 등 현실적 한계가 있으므로 일반 산업체에서도 상업화가 가능한 상업적 살균공정으로 전환하여 그 살균 조건을 검토하였음.

㉔ 배양시간에 따른 미생물 균주 접종액 성장곡선 검토

- 협동연구기관으로부터 제공받은 *Bacillus amyloliquefaciens* 및 *Lactobacillus plantarum* 균주를 각각 MYP agar에 streaking 하여 배양하여 colony 상태 이상 여부를 확인한 후, TBS 배지 100 mL에 1 colony를 접종하여 35°C에서 100 ~ 150 rpm으로 진탕하며 24시간 배양하며 2시간마다 660 nm에서의 흡광도가 0.7에 도달하는 시간을 수집하여 표준화 기초자료를 확보하였음.

- ㉔ 시간에 따른 발효액 발효 특성 검토
 - 생물전환반응은 멸균 또는 살균한 배양액을 37°C 까지 냉각한 후 흡광도 0.7 이상의 미생물 균주 접종액을 분주한 후 37°C의 shaking water bath에서 정지 또는 100 rpm으로 교반하며 24시간 발효를 진행하였음. 발효가 완료된 쌍별귀뚜라미 생물전환반응액의 pH는 pH meter(Libinno 800L)를 이용하여 원액을 측정하였고, 고형분은 whatman filter No 41에 여과한 여과액을 시험액으로 하여 refractometer(ATAG O PAL-1, Japan)로 측정하였음.
- ㉕ 농축, 건조 공정에 따른 쌍별귀뚜라미 생물전환반응액의 고기능성 소재 생산 공정 검토
 - Lab scale에서는 회전증발농축기(Eyela, N-1110)로 70°C에서 30분 이내로 감압농축을 진행하여 농축물을 일차 수득하였음.
- ③ Large scale 생산 공정 표준 공정도
 - ㉖ 개선된 형태의 large scale 표준 제조공정도 설정 이유는 표 6과 같이 요약하였음.

표 6. Lab scale에서 Large scale 적용시 단계별 주요 개선 내용

STEP	Lab scale procedure	Large scale (final)	개선 이유
1	원물 배양액 멸균	원물 배양액 상업적 살균	산업체에서 멸균 공정 현실적 한계
2	가당	동일	
3	원물 배양액 발효	균배양액 Time table 확보	공정 단순화
4	불활성화 및 살균	상업적 살균	전액 사용(수율, 경제성)
5	농축	생략 가능	70°C, 30분 이내
6		건조	공정 추가
7		볶음	관능특성 향상, 공정 추가

- ④ 고기능성 소재의 품질 특성 검토
 - ㉗ *Bacillus*로 생물전환한 고기능성 소재와 *Lactobacillus*로 생물전환한 고기능성 소재는 일반식품, 특수식품, 또는 사료 분야 등과 같은 산업화에 다양하게 활용 가능할 것으로 판단되어 외관, 관능검사, 영양성분, 구성아미노산 조성을 분석하여 고부가가치 식품 소재로서의 다양한 활용 가능성을 검토하였음.
 - ㉘ 색도는 Hunter 색차계(CM-360A, Minolta Konica)을 이용하여 disposable plastic cell 10 mm 으로 3반복 측정하였음.
 - ㉙ 관능평가는 25 ~ 55세 사이의 남녀 16명을 패널로 선정하고, 오전 10 ~ 11시 사이에 9점 채점법을 사용한 다시료 비교법으로 진행하였음. 시료 제시는 시료 10 g을 난수표로 표기한 뚜껑이 있는 투명 원형 용기에 담아 생수와 함께 제공하였음. 소재의 관능적 품질 요소는 외관, 향, 맛, 전반적인 기호도를 평가하였음.

⑤ 고기능성 소재의 품질특성 검토

- ㉔ 9대 영양성분, 비타민D, 칼슘은 공인기관인 (주)바이오푸드랩과 한국기능식품연구원에 의뢰하여 분석하였음.
- ㉕ 구성아미노산 조성 분석은 공인기관인 한국기능식품연구원에 의뢰하여 분석하였음.
- ㉖ DPPH radical scavenging activity는 협동연구기관의 항산화 활성 분석 방법에 의하여 실시하였음. 즉 시료 100 μ L와 0.2mM DPPH (2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl) 1.2 mL를 혼합하여 암실에서 30분 반응 후, 517 nm에서 흡광도를 측정하였음. 대조구는 발효 상등액 대신 methanol을 100 μ L 첨가, blank는 DPPH 대신 methanol을 1.2 mL 첨가하여 측정하였음. 양성 대조군으로는 ascorbic acid (1 mg/mL)를 사용하였음.

$$\text{DPPH radical scavenging activity (\%)} = [1 - (\frac{\text{Abs sample} - \text{Abs sample blank}}{\text{Abs control}})] * 100$$

⑥ 고기능성 소재의 위해요소(중금속) 분석

- ㉔ “식품 및 식품첨가물 공전> 제 2. 3. 5). (2). ⑤ 식용곤충(건조물로서)” 중 쌍별귀뚜라미의 중금속 기준 적합 여부를 판단하여 고령친화식품 소재로서 가능성을 검토하였음. 분석은 공인기관인 한국기능식품연구원에 의뢰하여 분석하였음.

⑦ 고기능성 소재의 저장안정성 검토

- ㉔ 원물, *Bacillus*로 생물전환한 고기능성 소재, 쌍별-LB는 4 $^{\circ}$ C 냉장고에서 90일 이상 보관하며 생균수, 황색포도상구균, 대장균은 3M film(3M, USA)으로, 살모넬라는 salmonella용 KIT(MC-Media Pad, JNC corporation)을 이용하여 35 $^{\circ}$ C에서 24 ~ 48 시간 배양하여 저장안정성을 조사하였음.

(2) 연구수행 결과

(가) 나노분쇄 유효공법을 이용한 커큐민 조성물 제조 조건 확립

- ① 최적 초미세분말 커큐민 제조를 위한 전처리 조건은 부형제 종류, 농도, 혼합비 등을 달리하여 제조한 3종류의 emulsion을 분석한 결과 A의 경우 분쇄 초반부터 필터 막힘 현상이 발생하여 진행이 불가하였음. B는 작업 진행 중 변성전분에 의한 점도가 상승하여 시간이 지연되는 등 작업 효율성이 현저히 떨어졌음. 최종적으로 변성전분 함량을 낮추고 강황 추출물 함량을 높인 C 배합비 초미세 커큐민 조성물을 선정하였음.

(나) 개발 소재별 건조 공정 표준화 및 품질기준 설정

- ① 초미세 커큐민 조성물 제조공정은 그림 7에 나타내었음.

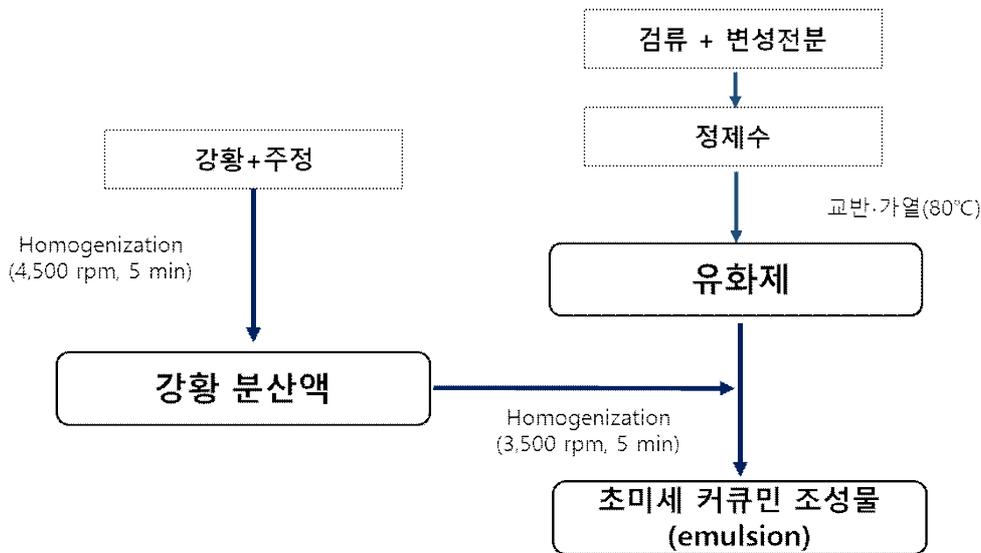


그림 7. 초미세 커큐민 조성물 제조 공정.

② Bead mill의 분쇄 횟수가 증가할수록 초미세 커큐민 조성물 입도는 유의적으로 감소하였음($p < 0.05$). 10회 통과분부터 평균 입도(Dv50)는 1 μm 이하로 측정되었으며 주관연구기관의 입도 평가 기준인 Dv90 분석 결과를 종합하였을 때 24회부터 1 μm 이하의 입도값을 나타내었으므로 1 μm 이하의 초미세 커큐민 조성물을 제조하면 24회 이상 반복하여 제조하는 것으로 설정하였음 (표 7, 그림 8).

표 7. Bead mill 분쇄 횟수에 따른 초미세 커큐민 조성물의 입도

(Unit : μm)

Cycle (times)	Dv(10)	Dv(50)	Dv(90)
0	2.64±0.20a ¹⁾	51.75±0.64a	179.00±1.41a
2	0.95±0.01c	3.81±0.07b	16.50±0.85bc
4	1.12±0.01b	4.34±0.05b	16.75±0.07b
6	0.93±0.00c	3.32±0.04b	14.55±0.64d
8	0.91±0.02d	3.40±0.10b	15.50±1.18cd
10	0.34±0.00d	0.63±0.01c	2.71±0.27e
12	0.33±0.00d	0.58±0.00c	2.04±0.03ef
14	0.32±0.00d	0.55±0.00c	1.62±0.01efg
16	0.31±0.00d	0.54±0.00c	1.72±0.02efg
18	0.31±0.00d	0.51±0.00c	1.49±0.10efg
20	0.30±0.00d	0.49±0.00c	1.29±0.01fg
22	0.29±0.00d	0.47±0.00c	1.14±0.01fg
24	0.28±0.00d	0.45±0.00c	0.99±0.01fg
26	0.27±0.00d	0.43±0.00c	0.85±0.00fg

28	0.26±0.00d	0.42±0.00c	0.79±0.00fg
30	0.26±d	0.41±0.00c	0.71±0.00g
F value	375.57	14,121.9	12,272.6
Pr<F	<.0001	<.0001	<.0001

1) The values with different letters in a column (a-g) are different significantly by duncan's test ($p < 0.05$).

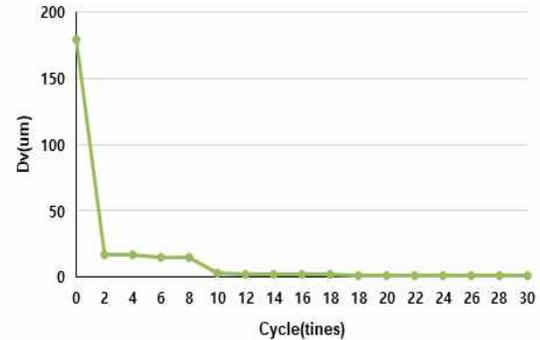
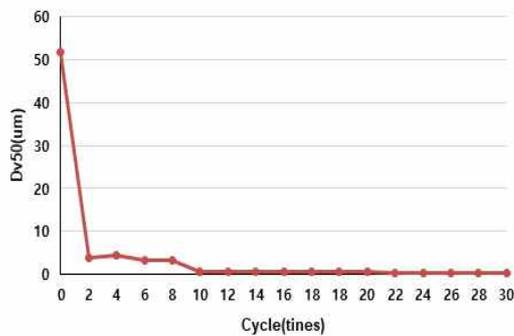


그림 8-1. Bead mill 분쇄 횟수에 따른 초미세 커큐민 조성물의 Dv(50) 변화.

그림 8-2. Bead mill 분쇄 횟수에 따른 초미세 커큐민 조성물의 Dv(90) 변화.

③ Bead mill의 분쇄횟수에 따라 초미세 커큐민 조성물의 점도도 관능적으로 증가하는 경향이었고(데이터 생략) 색도는 L^* , a^* , b^* 각각 0.05 ~ 0.03, -0.04 ~ 0.09, -0.26 ~ -0.17 범위의 유의적 차이가 있었으나 통과회수에 따른 경향은 찾지 못하였음 (표 8). 두 가지 색 차이 정도를 정량적으로 표시하기 위한 색차지수인 ΔE^*ab 분석 결과 미 통과물인 대조구와 비교하여 0.07 ~ 0.14로 거의 색 차이가 없어 결과적으로 통과횟수는 색 차이에 영향을 주지 않는 것으로 판단되었음.

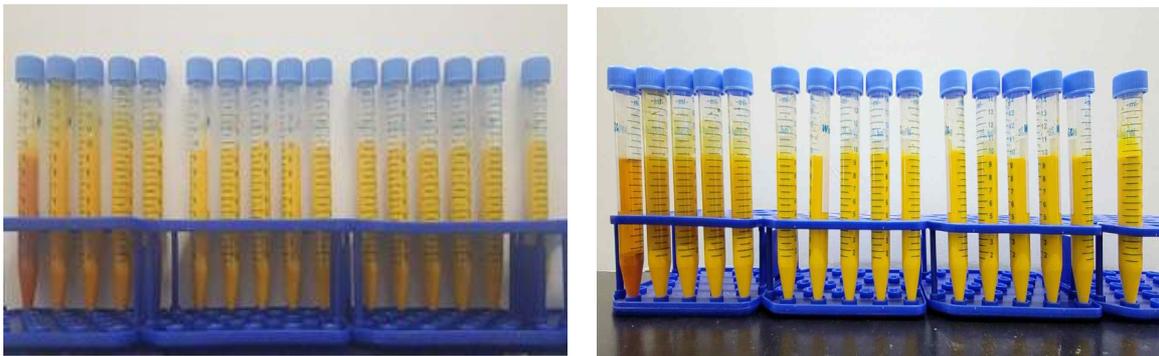
표 8. Bead mill 분쇄 횟수에 따른 초미세 커큐민 조성물의 Color value

Cycle (times)	L^*	a^*	b^*	ΔE^*ab
0	0.04±0.00a ¹⁾	0.09±0.00a	-0.22±0.00ab	
2	0.04±0.01a	0.00±0.02b	-0.22±0.07ab	0.10
4	0.04±0.01a	-0.01±0.00b	-0.19±0.03ab	0.10
6	0.04±0.02a	-0.03±0.02b	-0.22±0.04ab	0.12
8	0.04±0.01a	-0.03±0.02b	-0.23±0.01ab	0.11
10	0.04±0.01a	-0.02±0.06b	-0.24±0.05ab	0.12
12	0.03±0.02a	-0.01±0.06b	-0.17±0.06a	0.10

14	0.04±0.00a	0.00±0.01b	-0.25±0.01b	0.09
16	0.03±0.00a	0.03±0.04b	-0.23±0.01ab	0.06
18	0.05±0.01a	-0.03±0.07b	-0.24±0.08ab	0.14
20	0.04±0.02a	0.00±0.05b	-0.26±0.05b	0.11
22	0.04±0.01a	-0.03±0.02b	-0.18±0.02ab	0.13
24	0.03±0.01a	0.02±0.03b	-0.20±0.03ab	0.07
26	0.04±0.01a	-0.02±0.01b	-0.21±0.01ab	0.11
28	0.04±0.01a	-0.01±0.05b	-0.22±0.06ab	0.11
30	0.04±0.01a	-0.04±0.02b	-0.21±0.05ab	0.14
F value	0.69	2.43	1.13	
Pr<F	0.7765	0.0172	0.3686	

¹⁾ The values with different letters in a column (a-b) are different significantly by duncan's test ($p<0.05$).

④ Bead mill의 분쇄 횟수에 따라 초미세 커큐민 조성물의 저장안정성을 확인하기 위하여 과제 종료인 저장 1년까지 상온에서 유지하며 초미세 커큐민 조성물의 분리 여부를 확인한 결과 0 ~ 12회 통과분까지는 관능적으로 분리를 확인하였음. 14 ~ 18회 통과분까지는 관능적으로 균일액처럼 보였으나 분리가 진행되고 있었음. 20 ~ 30회 통과분은 안정한 상태가 유지되는 것을 관능적으로 확인하였음. 그러므로 초미세분말 커큐민 조성물의 경우 20회 이상 통과하여 제조하는 것이 바람직한 것으로 판단되었음 (그림 9).



(제조 직후)

(상온 저장 1년 후)

그림 9. Bead mill 분쇄 횟수에 따른 초미세 커큐민 조성물의 유효안정성 변화.

(다) 개발 소재별 건조 공정 표준화 및 품질기준 설정

① 공정표준화 방법에 따라 제조한 수용성 초미세분말 커큐민의 평균 입도(Dv50)은 0.431 um였음 (그림 10). 수분함량은 2.1%, 초미세분말 커큐민의 L*, a*, b* 값은 각각 62.02, 16.33, 79.33으로 측정되었음 (데이터 생략).

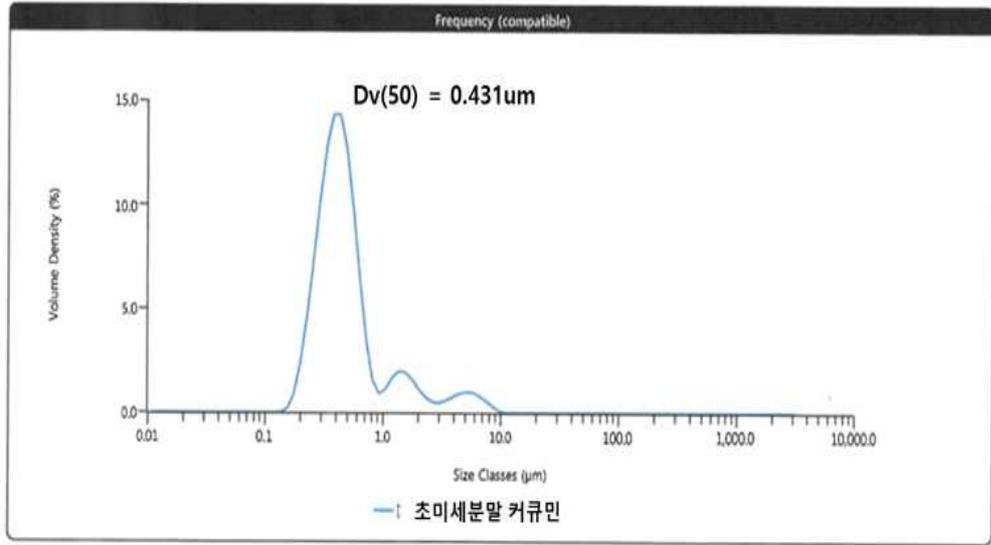


그림 10. 수용성 초미세분말 커큐민의 입도 분포곡선.

② 수용성 초미세분말 커큐민 함량 분석

그림 11-1의 표준곡선 정량곡선으로 산출한 수용성 초미세분말 커큐민은 98 mg/g으로 분석되었으며 크로마토그램은 그림 11-2와 같음(첨부 2 참조).

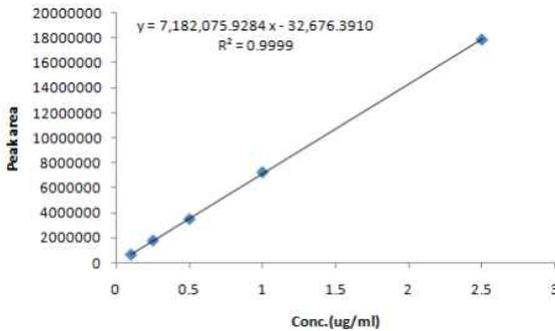


그림 11-1. Standard curve of curcumin at 420 nm.

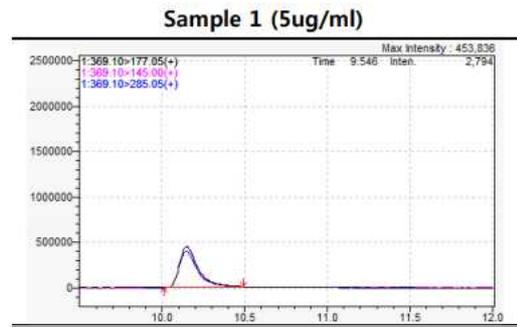


그림 11-2. Chromatograms of curcumin at 420 nm.

(다) 나노분쇄 유효공법을 이용한 초미세분말 커큐민 품질기준 설정

① 사업화를 위한 품목제조보고

초미세분말 커큐민의 정상 및 기준은 수분함량 4%, 커큐민 함량 9%, 입도 1 µm 이하의 특유의 향취를 가지는 황색 분말로 설정하였으며 (그림 12) 사업화를 위한 품목제조보고 3건을 완료하였음 (그림 13).

	성상	노란색 분말
	이물	이물 및 침전 없음
	냄새	특유의 향취
	입도(um)	1 이하
	수분함량	4% 이하
제품사진	커큐민 함량	9% 이상

그림 12. 수용성 초미세분말 커큐민(JS-NC 강황추출분말 1322) 성상 및 기준.

발급번호 : 11L7-0115-030A-0259-A526

식품(식품첨가물) 품목제조보고서

성명(법인명)	생남물밀(법인번호)		
보고인	주소	전화번호	
	주소(외국인 등록주소 제외) (주소변경 사항 발생 시 별도 신고)	종대전화	
영입소	영입(상호)	영입등록번호	
	(주)한신식품	20150275312	
소재지	경기도 성남시 율령구 사기막로로 124(500호) 현대산업개발(주)에스케이벤처노블파크 테크센터		
식품의 유형	기타가공품	식품첨가물명	20150275312103
제품명	JS-NC 강황추출분말 1322		
유통기한	제조일로부터 1년		
품질유지기한	없음		
원재료 또는 성분명, 영양태상	강황 추출액		
제조방법	추출액 건조		
제조장소 및 포장형태	의정부 소재		
품질관리 및 포장형태	1kg, 5kg, 10kg, 15kg, 20kg 단위의 폴리에틸렌(PE) 봉기에 밀봉포장		
비고	원재료 분말상으로 미미 유입 불가 함을 증명함.		
특유의 특성	■ 조별명 - 식품첨가물 첨가물 구분 : []에 []에 []에 해당 없음 ■ 용출시험의 식품 첨가물 구분 : []에 []에 해당 없음 ■ 원, 유약을 첨가대상으로 표시 관례와는 식품 첨가물 구분 []에 []에 해당 없음		
기타			

「식품위생법」 제37조제5항 및 같은 법 시행규칙 제45조제1항에 따라 식품(식품첨가물) 품목제조 사항을 보고합니다. 2020년 03월 16일

경기도 성남시장 귀하

보고인

등록번호	20150275312-103
장관부서	환경보건국 식품안전과
장관직명	장관직명
관세회	관세회
과장일자	2020년 03월 17일

본 증명서는 전자정부로 발급되었으며, 식품안전관리포털(<http://www.foodsafetykorea.go.kr>)을 통해 어디서든 확인할 수 있습니다.

발급번호 : 11L7-0115-030A-0259-A526

원재료명 또는 성분명 및 영양태상

No.	원재료명 또는 성분명	비율(%)
1	기타가공품 [JS-NC 강황추출분말 1322]	
2	수용액	
3	수용액 (해당사항 없음)	
4	수용액	
5	기타가공품 [강황추출분말]	
6	수용액	
7	수용액	

비고

가공식품 형태 부분으로 작성할 사항입니다.

보관방법 및 포장형태

실온 (1~35℃) 폴리에틸렌(PE)

본 증명서는 전자정부로 발급되었으며, 식품안전관리포털(<http://www.foodsafetykorea.go.kr>)을 통해 어디서든 확인할 수 있습니다.

[JS-NC 강황추출분말 1322(초미세분말 커큐민)]

(그림 계속)

발급번호 : 11.7-285-03A-FZF-018

식품(식품첨가물) 품목제조보고서

모건인	성명(법인명)	경남농업(법인명)	
	주소	전통시장	통진로
명칭	명칭(상품명)	명칭등록번호	
	[주]원산지	20150275312	
제품정보	소재지	경기도 성남시 용문구 사기막길로 124(508호 상대행동, 에스케이벤처크노파크 303호)	
	식품의 유형	기타조식료	요양차는 품목코드 보조번호
	제품명	JS-NC 강황추출액 1320L	
	제조기간	제조일부(1년차)	
	품질유지기한	영속	
	유통을 위한 포장재	병용대 기대	
	용도 용법	병용대 기대	
	보존방법 및 포장재질	병용대 기대	
	포장량별 및 포장단위	1kg, 2kg, 5kg, 10kg, 15kg, 20kg 단위의 폴리에틸렌(PE) 용기에 밀봉포장	
	비고	유통의 편의성을 위하여 1인용이 없습니다.	
기타	등록의 책임	<input type="checkbox"/> 등록자 <input checked="" type="checkbox"/> 제조업자 <input type="checkbox"/> 수입업자 <input type="checkbox"/> 판매업자	
	등록의 책임	<input type="checkbox"/> 등록자 <input checked="" type="checkbox"/> 제조업자 <input type="checkbox"/> 수입업자 <input type="checkbox"/> 판매업자	
	등록의 책임	<input type="checkbox"/> 등록자 <input checked="" type="checkbox"/> 제조업자 <input type="checkbox"/> 수입업자 <input type="checkbox"/> 판매업자	
	등록의 책임	<input type="checkbox"/> 등록자 <input checked="" type="checkbox"/> 제조업자 <input type="checkbox"/> 수입업자 <input type="checkbox"/> 판매업자	

「식품위생법」 제27조제5항 및 같은 법 시행규칙 제45조제1항에 따라 식품(식품첨가물) 품목제조 사항을 보고합니다. 2020년 03월 16일

경기도 성남시장 귀하

등록번호: 20150275312-101

장관부서: 식품안전국 식품안전과 차장직명: 원세희 직인일자: 2020년 03월 17일

본 증명서는 전자문자로 발급되었으며 식품안전정보포털(<http://www.foodsafetykorea.go.kr/>)을 통하여 검색할 수 있습니다.

[JS-NC 강황추출액 1320L(초미세 커큐민 조성물; 반제품)]

발급번호 : 11.7-285-03A-FZF-018

No.	원재료명 또는 성분명	내용비율(%)
1	정제수	
2	결리제	
3	주황	
4	변성전분	
5	기타가공품 [강황추출분말]	
6	가당감	

용도용법: 가공식품 등에 부분적으로 적정량 사용한다.

보관방법 및 포장재질: 실온 (1~25℃) 폴리에틸렌(PE)

본 증명서는 전자문자로 발급되었으며 식품안전정보포털(<http://www.foodsafetykorea.go.kr/>)을 통하여 검색할 수 있습니다.

발급번호 : 11.7-285-03A-FZF-018

식품(식품첨가물) 품목제조보고서

모건인	성명(법인명)	경남농업(법인명)	
	주소	전통시장	통진로
명칭	명칭(상품명)	명칭등록번호	
	[주]원산지	20150275312	
제품정보	소재지	경기도 성남시 용문구 사기막길로 124(508호 상대행동, 에스케이벤처크노파크 303호)	
	식품의 유형	기타조식료	요양차는 품목코드 보조번호
	제품명	JS-NC 강황추출분말 1321	
	제조기간	제조일부(1년차)	
	품질유지기한	영속	
	유통을 위한 포장재	병용대 기대	
	용도 용법	병용대 기대	
	보존방법 및 포장재질	병용대 기대	
	포장량별 및 포장단위	1kg, 2kg, 5kg, 10kg, 15kg, 20kg 단위의 폴리에틸렌(PE) 용기에 밀봉포장	
	비고	유통의 편의성을 위하여 1인용이 없습니다.	
기타	등록의 책임	<input type="checkbox"/> 등록자 <input checked="" type="checkbox"/> 제조업자 <input type="checkbox"/> 수입업자 <input type="checkbox"/> 판매업자	
	등록의 책임	<input type="checkbox"/> 등록자 <input checked="" type="checkbox"/> 제조업자 <input type="checkbox"/> 수입업자 <input type="checkbox"/> 판매업자	
	등록의 책임	<input type="checkbox"/> 등록자 <input checked="" type="checkbox"/> 제조업자 <input type="checkbox"/> 수입업자 <input type="checkbox"/> 판매업자	
	등록의 책임	<input type="checkbox"/> 등록자 <input checked="" type="checkbox"/> 제조업자 <input type="checkbox"/> 수입업자 <input type="checkbox"/> 판매업자	

「식품위생법」 제27조제5항 및 같은 법 시행규칙 제45조제1항에 따라 식품(식품첨가물) 품목제조 사항을 보고합니다. 2020년 03월 16일

경기도 성남시장 귀하

등록번호: 20150275312-102

장관부서: 식품안전국 식품안전과 차장직명: 원세희 직인일자: 2020년 03월 17일

본 증명서는 전자문자로 발급되었으며 식품안전정보포털(<http://www.foodsafetykorea.go.kr/>)을 통하여 검색할 수 있습니다.

[JS-NC 강황추출분말 1321(초미세분말 커큐민 제품, 반제품)]

발급번호 : 11.7-285-03A-FZF-018

No.	원재료명 또는 성분명	내용비율(%)
1	정제수	
2	엑스피안 (엑스피안스틴)	
3	주황	
4	변성전분	
5	기타가공품 [강황추출분말]	
6	가당감	

용도용법: 가공식품 등에 부분적으로 적정량 사용한다.

보관방법 및 포장재질: 실온 (1~25℃) 폴리에틸렌(PE)

본 증명서는 전자문자로 발급되었으며 식품안전정보포털(<http://www.foodsafetykorea.go.kr/>)을 통하여 검색할 수 있습니다.

그림 13. 수용성 초미세분말 커큐민(JS-NC 강황추출분말 1322) 제품 품목제조보고서.

(라) 고령친화용 항노화 즉석분말수프용 고기능성 소재 large scale 생산 공정 구축 및 표준화

① Lab scale 표준공정도 (large scale 기본)

㉠ 협동연구기관에서 제시한 lab scale 공정도 (그림 14)의 경우 최종적으로 상등액만을 소재화 하는 것은 현실적으로 어려움이 있어 제조 공정을 산업화에 맞게 수정하였음.



그림 14. Lab scale 에서의 고기능성 가수분해물 소재 제조공정도(협동연구기관 제공).

② Large scale 고기능성 소재 생산 공정 구축을 위한 단계별 개선 공정 확립

㉠ 쌍별귀뚜라미 배양액의 살균조건 확립

- 살균 또는 멸균, 냉각하는 단계를 통하여 첨가된 미생물을 조절하여 유통안전성을 확보하고자 쌍별귀뚜라미 배양액을 0 ~ 120분 가압습열 멸균을 진행하였으나 120분 후에도 균이 검출되었으며 산업체에서 적용하기 쉬운 상업적 살균공정으로 전환하여 그 살균 조건을 검토하였음. 쌍별귀뚜라미 배양액을 90°C ~ 121°C 에서 0 ~ 120분 동안 각각 멸균 및 살균한 후 생균수 변화는 그림 15와 같음. 병원성균인 *E.coli*와 *Staphylococcus aureus*는 검출되지 않았음.
- 살균하는 단계가 90°C 미만이거나 10분 미만에서 이루어질 경우 효소 실활 및 살균이 충분히 이루어지지 않을 수 있고, 150°C 이상이거나 120분 이상에서 이루어질 경우 영양소가 파괴될 수 있어서(대한민국 공개특허공보 제 10-2019-0050540호) 산업화에 적당한 상업적 살균 조건은 90°C ~ 100°C 에서 60분 이내로 선정하였음.

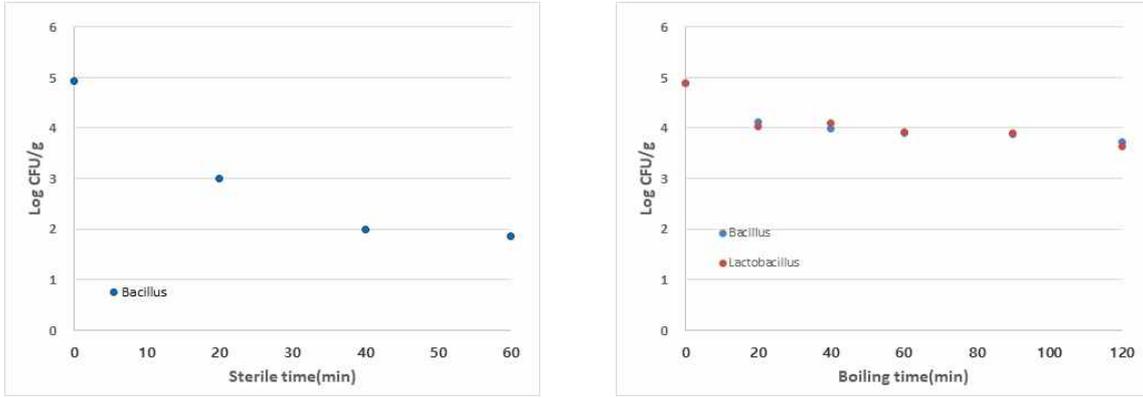


그림 15. 사멸 조건에 따른 쌍별귀뚜라미 배양액의 생균수 변화.

㉠ 배양시간에 따른 미생물 균주 접종액 성장곡선 검토

- *Bacillus amyloliquefaciens* 및 *Lactobacillus plantarum* 균주의 시간에 따른 접종액 균수 변화를 측정하여 흡광도 0.7, 접종액 초기균수 10^7 CFU/mL에 이르는 시간을 추적하여 접종 후 8 ~ 10시간을 진탕배양 한 후 표준화된 균주 접종액을 획득할 수 있을 것으로 판단되었음 (그림 16).

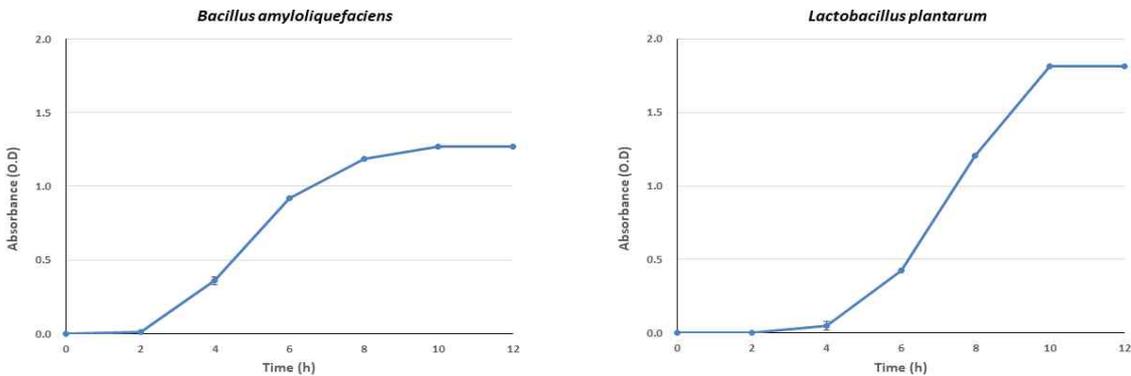


그림 16. 시간에 따른 미생물 접종액 균수 변화.

㉠ 시간에 따른 쌍별귀뚜라미 발효액 발효특성 검토

- *Bacillus amyloliquefaciens* 접종액을 쌍별귀뚜라미 배양액에 접종하여 37°C에서 24 시간까지 발효 후 쌍별귀뚜라미 발효액의 생균수, pH, 여액의 고형분 함량 변화는 표 9 와 같음. 발효가 진행되면서 생균수는 증가하기 시작하였고 발효 12 ~ 24시간 동안 8.86 ~ 8.91 Log CFU/mL로 급격히 진행되어 발효 전과 비교하여 약 2배 이상 균수가 증가하였음. 고형분 함량은 발효 0시간보다 1.27배 증가하였음. 발효 후 원물대비 발효물 수율은 평균 92.1%였음.

표 9. *Bacillus amyloliquefaciens* 쌍별귀뚜라미 발효액의 시간에 따른 발효특성 변화

쌍별귀뚜라미 배양액	발효시간(h)			
	0	6	12	24

생균수 (Log CFU/mL)	4.94±0.32	4.53±0.27	6.32±0.07	8.86±0.09	8.91±0.03
pH	6.58±0.04	6.57±0.04	6.56±0.11	6.66±0.04	6.56±0.03
총고형분(Brix)	5.18±0.05	5.45±0.06	5.95±0.04	6.51±0.00	6.90±0.16

- *Lactobacillus plantarum* 접종액을 쌍별귀뚜라미 배양액에 접종하여 37°C 에서 24시간 까지 발효 후 쌍별귀뚜라미 발효액의 생균수, 젖산균수, pH 변화는 표 10과 같음. 발효가 진행되면서 생균수는 증가하기 시작하였고 발효 12 ~ 24시간 동안 8.94 ~ 9.93 Log CFU/mL로 발효 전과 비교하여 약 2배 이상 균수가 증가하였음. 균수가 증가함에 따라 pH는 6.03에서 3.62로 낮아졌음. 발효 후 원물대비 발효물 수율은 평균 93.8%였음.

표 10. *Lactobacillus plantarum* 쌍별귀뚜라미 발효액의 시간에 따른 발효특성 변화

	쌍별귀뚜라미 배양액	발효시간(h)			
		0	6	12	24
생균수 (Log CFU/mL)	4.94±0.32	4.45±0.29	6.65±0.14	8.94±0.78	9.93±0.45
젖산균수 (Log CFU/mL)		3.61±0.41	6.47±0.02	8.02±0.45	9.53±0.17
pH	6.58±0.04	6.03±0.00	5.07±0.07	4.02±0.01	3.62±0.10

㉔ 농축, 건조 공정에 따른 쌍별귀뚜라미 생물전환반응액의 고기능성 소재 생산 공정 검토

- Large scale에서의 경우 공정 단순화, 반응액 자체 사용 가능성 등을 감안하여 살균한 쌍별귀뚜라미 생물전환반응액의 농축 공정을 생략하고 즉시 70°C의 열풍으로 24 ~ 48시간 동안 건조시켜 건조물을 수득한 후 수득한 건조물은 재분쇄하여 입자를 균질화한 후, 90 ~ 130°C에서 5 ~ 10분 동안 볶아 완료하였음.

③ Large scale 고기능성 소재 생산 공정 표준 공정도

㉕ 개선된 large scale 표준 제조공정도는 그림 17과 같이 수정하였음.

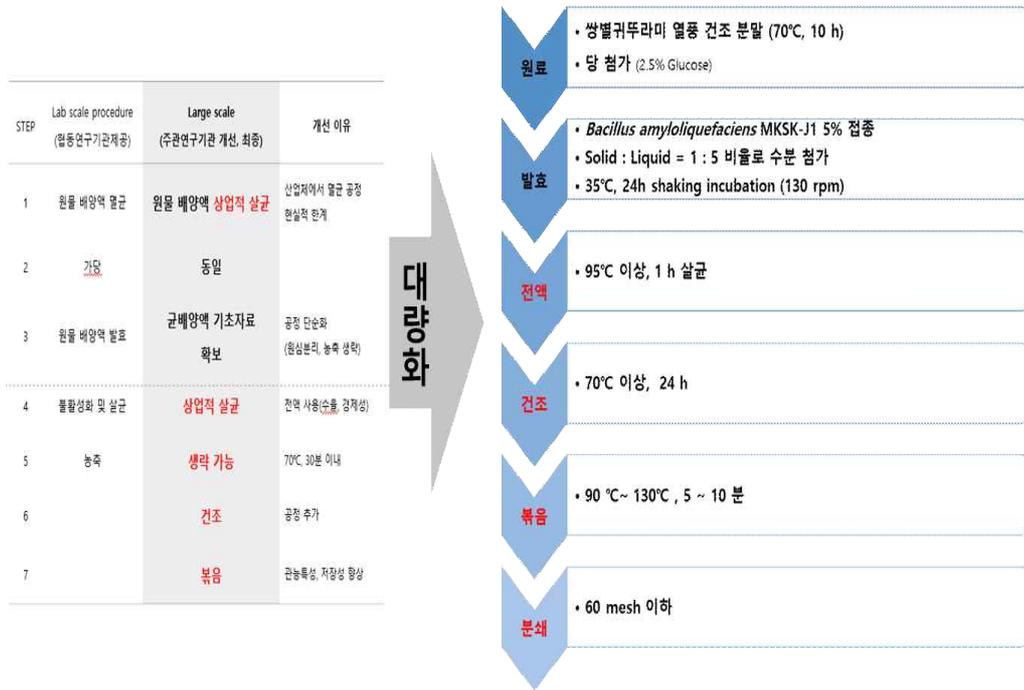


그림 17. Large scale 쌍별귀뚜라미 고기능성 소재 제조공정도.

㉔ 그림 17에 따라 *Bacillus*로 생물전환한 고기능성 소재와 *Lactobacillus*로 생물전환한 고기능성 소재 분말을 수득하였음 (그림 18). 원물 분말은 껍질, 마디 등 분쇄가 완전히 이루어지지 않은 성체 분획을 육안으로도 감식 가능하였으나 *Bacillus*로 생물전환한 고기능성 소재, *Lactobacillus*로 생물전환한 고기능성 소재는 균일한 코코아색 입자를 확인할 수 있었음.



그림 18. 균주에 따른 쌍별귀뚜라미 고기능성 소재 외관.

원물 : 쌍별귀뚜라미 원물, 쌍별-B : *Bacillus*로 생물전환한 고기능성 소재, 쌍별-LB : *Lactobacillus*로 생물전환한 고기능성 소재.

④ 고기능성 소재의 품질특성 검토

㉕ 쌍별귀뚜라미 원물과 고기능성 소재 2종의 L*, a*, b*값은 표 11과 같음. 원물과 비교하여 *Bacillus*로 생물전환한 고기능성 소재와 *Lactobacillus*로 생물전환한 고기능성 소재의 L*값은 유의적으로 감소하였고, a*와 b*값은 유의적으로 증가하여 ΔE*ab에서와 같이 극히 현저한 차이로 판단할 수 있는 수준이었음(p<0.05). 또한 고기능성 소재 2종의 외관에서 보여지는 바와 같이 발효, 건조, 볶음 공정이 진행되면서 갈색

화가 진행되었음을 알 수 있었음.

표 11. 군주에 따른 쌍별귀뚜라미 고기능성 소재의 color value

Sample	L*	a*	b*	ΔE*ab
원물 ²⁾	41.96±0.59a ¹⁾	3.81±0.11b	18.91±0.44c	
쌍별-B ²⁾	34.09±0.59c	8.30±0.53a	23.27±0.55b	10.05
쌍별-LB ²⁾	36.60±0.31b	8.96±0.18a	25.36±0.48a	9.84
F value	185.48	218.71	134.49	
Pr>F	<.0001	<.0001	<.0001	

¹⁾ The values with different letters in a column (a-c) are different significantly by duncan's test ($p < 0.05$).

²⁾ 원물 : 원물 : 쌍별귀뚜라미 원물, 쌍별-B : *Bacillus*로 생물전환한 고기능성 소재, 쌍별-LB : *Lactobacillus*로 생물전환한 고기능성 소재.

㉔ 표 12에서와 같이 원물과 *Bacillus*로 생물전환한 고기능성 소재와 *Lactobacillus*로 생물전환한 고기능성 소재의 관능평가는 원물의 경우 외관에서 곤충 분획을 이물로 감지하였으며 이취, 이미 등 모든 항목에서 가장 낮게 평가되었음. 미생물 군주로 생물전환한 고기능성 소재 2종은 원물과 비교하여 외관, 향, 맛, 기호도 모두 유의적으로 높게 평가되었는데 이는 생물전환반응, 건조, 분쇄, 체질 공정에 의하여 입도가 작게 균일화되었고, 추가공정(볶음)에 의하여 갈변화와 휘발성 이취의 제거 및 페놀물질 생성 등에 의한 것으로 판단되었음. 또한, *Lactobacillus*로 생물전환한 고기능성 소재. 경우 산미가 강하게 감지되어 전체적인 기호도에서 *Bacillus*로 생물전환한 고기능성 소재가 유의적으로 높게 평가되었음($p < 0.05$).

표 12. 군주에 따른 쌍별귀뚜라미 고기능성 소재의 기호도 검사

Sample	외관	향	맛	기호도
원물 ²⁾	4.00±0.73b ¹⁾	2.06±0.68b	1.63±0.62b	1.75±0.68b
쌍별-B ²⁾	5.59±1.08a	5.75±0.68a	6.06±1.61a	5.63±1.02a
쌍별-LB ²⁾	5.53±0.99a	5.44±1.03a	5.56±1.31a	5.06±1.12a
F value	14.54	100.76	60.23	75.72
Pr>F	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001

¹⁾ The values with different letters in a column (a-b) are different significantly by duncan's test ($p < 0.05$).

²⁾ 원물 : 원물 : 쌍별귀뚜라미 원물, 쌍별-B : *Bacillus*로 생물전환한 고기능성 소재, 쌍별-LB : *Lactobacillus*로 생물전환한 고기능성 소재.

㉕ 고기능성 소재의 품질특성 검토

- ㉔ 쌍별귀뚜라미 고기능성 소재의 고령친화 영양성분 분석을 위한 9대 영양성분, 비타민 D, 칼슘의 분석 결과는 표 13과 같음. 미생물 균주로 생물전환한 고기능성 소재 2종의 단백질, 칼슘, 비타민 D 함량을 한국인 영양섭취기준과 비교하였을 때 각각 922 ~ 972%, 1,779% ~ 2,220%, 172 ~175% 이상 높은 것으로 분석되어 **소재 자체로도 양질의 고령친화소재로서의 높은 가치를 가지는 것으로 판단되었음**(첨부 3 참조). 2017년 농촌진흥청에서 제시한 쌍별귀뚜라미 원물의 영양성분 분석자료에 의하면 열량과 탄수화물을 제외한 조단백질, 조지방, 비타민D, 칼슘 함량이 각각 64.4%, 14.4%, 867.5 ug/100g, 칼슘 234 mg/100g이었으나 과제에 사용한 쌍별귀뚜라미 원물의 일반성분은 조단백질 50.05%, 조지방 23.04%, 수분 4.01%, 조회분 3.59%으로 분석되었는데 조단백질 함량이 원물과 비교하여 증가하였음.

표 13. 균주에 따른 쌍별귀뚜라미 고기능성 소재의 고령친화 영양성분 분석

시험항목	한국인 영양섭취기준	쌍별귀뚜라미 원물 ¹⁾	쌍별-B ²⁾	쌍별-LB ³⁾
열량 (kcal/100g)		440	440.72	448.83
탄수화물 (g/100g)		13.3	21.03	22.61
당류 (g/100g)			2.32	1.12
조단백질 (g/100g) ²⁾	6	64.4	58.37(972%)	55.33(922%)
조지방 (g/100g)		14.4	13.68	15.23
포화지방 (g/100g)			5.93	5.74
트랜스지방 (g/100g)			0.11	0.11
콜레스테롤 (mg/100g)			231.80	219.71
나트륨 (mg/100g)			429.73	395.89
Vitamin D (ug/100g) ²⁾	1.5	867.5	33.30(2220%)	26.69(1779%)
칼슘 (mg/100g) ²⁾	80	234	137.96(172%)	140.18(175%)

¹⁾ 2017. 01. 02. 농림축산식품부, 농촌진흥청, 식품의약품안전처 보도자료

²⁾ 쌍별-B : *Bacillus*로 생물전환한 고기능성 소재, 쌍별-LB : *Lactobacillus*로 생물전환한 고기능성 소재.

³⁾ 노란색 음영 : 고령친화식품 한국산업표준(KS H 4897)규격 선택 영양성분(2019. 12. 06 개정).

㉔ 한국기능식품연구원에 분석 의뢰한 쌍별귀뚜라미, *Bacillus*로 생물전환한 고기능성 소재와 *Lactobacillus*로 생물전환한 고기능성 소재의 총 18종의 구성아미노산 함량은 표 14와 같음(첨부 3 참조).

- 쌍별귀뚜라미 원물과 비교하여 미생물 균주로 생물전환한 고기능성 소재 2종의 아미노산 함량이 감소하는 경향이었고, 공통으로 모두 글루탐산 함량이 가장 높았음.
- 글루탐산과 아스파라긴산은 짠맛과 감칠맛, 알라닌, 세린은 단맛과 감칠맛에 관여하는 것으로 알려져 있으며 쌍별귀뚜라미, *Bacillus*로 생물전환한 고기능성 소재, *Lactobacillus*로 생물전환한 고기능성 소재 감칠맛의 주요 성분으로 판단되었음.
- 또한 *Bacillus*로 생물전환한 고기능성 소재의 경우 알라닌과 메티오닌이 원물과 비교하여 각각 101%, 134% 증가하였음.
- 감칠맛은 소화액과 침 분비를 촉진해 소화 기능을 향상하므로 입맛이 없는 환자나, 침 분비가 감소하고 미각이 둔해져 식사량이 감소한 노인의 경우 감칠맛을 더한 음식을 제공하면 소금 섭취를 줄이면서도 식욕도 좋아지고 식사량도 증가하는 것으로 알려져 있음 (매일경제 ‘제5의 맛’ 감칠맛의 모든 것, 전지현 기자, 2017.03.16.)
- 또한 글루탐산과 아스파라긴산 등은 에너지 대사를 촉진하고 뇌와 신경의 기능을 도우며 피로 해소에도 도움을 주는 아미노산이며 글루탐산을 통해 합성된 엽산이 뇌세포에 축적되면 뇌를 훼손해 뇌졸중 및 발달 위험성을 감소시키는 데 필요한 아미노산으로 알려져 있음.

- 그러므로 원물을 포함하여 노인들의 저하된 소화 기능과 식욕 향상에 도움을 줄 수 있는 다양한 아미노산이 풍부하게 함유된 *Bacillus*로 생물전환한 고기능성 소재와 *Lactobacillus*로 생물전환한 고기능성 소재는 고령친화식품 소재뿐만 아니라 고기능성 아미노산 공급소재로서의 활용 가치도 높을 것으로 판단되었음(Yoo 등, 2013).

표 14. 균주에 따른 쌍별귀뚜라미 고기능성 소재의 구성아미노산 분석

시험항목(mg/g)	원물 ¹⁾	쌍별-B ¹⁾		쌍별-LB ¹⁾	
		함량	원물 대비(%)	함량	원물 대비(%)
티로신	27.49	24.35	88.6	22.05	80.2
글리신	30.65	29.21	95.3	28.27	92.2
세린	35.39	28.87	81.6	28.46	80.4
알라닌	51.7	52.24	101.0	49.49	95.7
글루탐산	69.55	60.44	86.9	60.48	87.0
라이신	34.07	26.61	78.1	27.24	80.0
로이신	46.07	40.58	88.1	40.13	87.1
메티오닌	6.36	8.55	134.4	5.49	86.3
발린	36.8	35.42	96.3	34.2	92.9
아르기닌	38.98	29.75	76.3	33.12	85.0
아스파라긴산	59	51.03	86.5	49.27	83.5
이소로이신	21.29	19.97	93.8	21.11	90.4
트레오닌	23.78	21.06	88.6	18.37	88.8
페닐알라닌	21.64	18.84	87.1	30.48	84.9
프롤린	33.79	29.4	87.0	11.91	90.2
히스티딘	13.75	11.69	85.0	2.01	86.6
시스틴	2.78	2.31	83.1	3.73	72.3
트립토판	4.78	3.92	82.0	0.0553	78.0
총 합	557.87	494.24		485.05	

¹⁾ 원물 : 쌍별귀뚜라미 원물, 쌍별-B : *Bacillus*로 생물전환한 고기능성 소재, 쌍별-LB : *Lactobacillus*로 생물전환한 고기능성 소재.

㉔ DPPH radical scavenging activity

- 쌍별귀뚜라미, *Bacillus*로 생물전환한 고기능성 소재, *Lactobacillus*로 생물전환한 고기능성 소재의 DPPH 유리라디칼 소거능은 *Bacillus*로 생물전환한 고기능성 소재가 가장 높았고(90.03 ± 0.57 mg/mL) 쌍별귀뚜라미(88.51 ± 0.31 mg/mL), *Lactobacillus*로 생물전환한 고기능성 소재(85.40 ± 1.52 mg/mL) 순이었음. 또한 *Bacillus*로 생물전환한 고기능성 소재와 쌍별귀뚜라미는 *Lactobacillus*로 생물전환한 고기능성 소재와 비교하여 유의적으로 높았고 *Bacillus*로 생물전환한 고기능성 소재 사이의 유의성은 없었음(p<0.05) (그림 19).

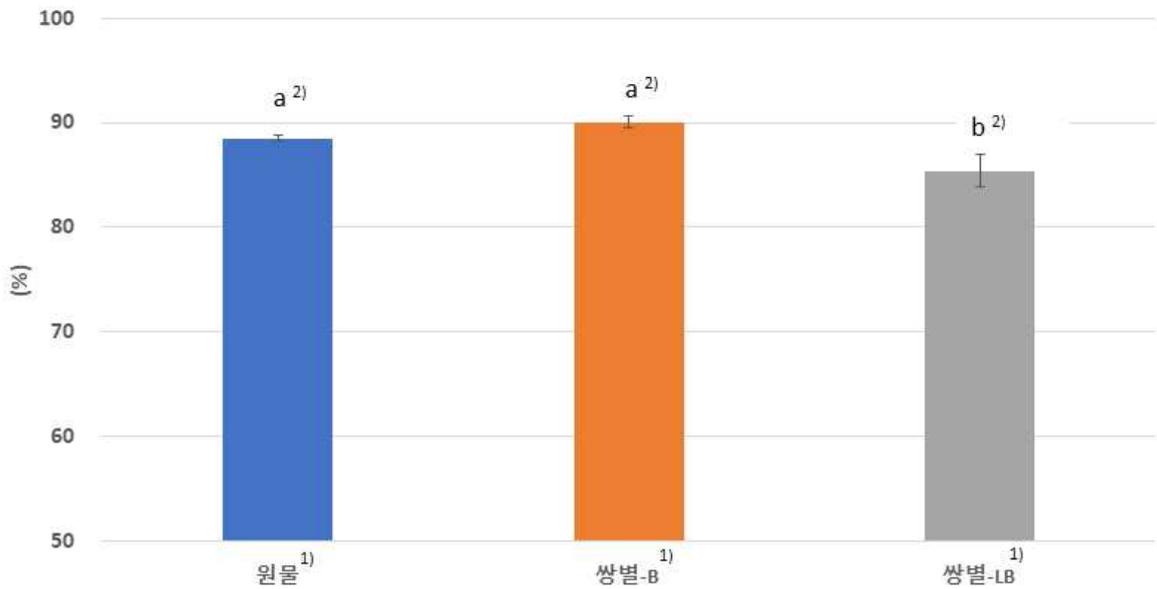


그림 19. 균주에 따른 쌍별귀뚜라미 고기능성 소재의 DPPH radical scavenging activity.

¹⁾ 원물 : 쌍별귀뚜라미 원물, 쌍별-B : *Bacillus*로 생물전환한 고기능성 소재, 쌍별-LB : *Lactobacillus*로 생물전환한 고기능성 소재.

㉕ 고기능성 소재의 위해요소(중금속) 분석

- ㉔ “식품 및 식품첨가물 공전> 제 2. 3. 5). (2). ⑤ 식용곤충(건조물로서)” 중 쌍별귀뚜라미의 중금속 기준 적합 기준은 쌍별귀뚜라미의 경우 납 0.3 mg/kg, 카드뮴 0.3 mg/kg으로 설정되어 있으며 *Bacillus*로 생물전환한 고기능성 소재와 *Lactobacillus*로 생물전환한 고기능성 소재의 납과 카드뮴 함량은 기준규격에 적합하였음(표 15, 첨부 3 참조).

표 15 균주에 따른 쌍별귀뚜라미 고기능성 소재의 중금속 함량

시험항목(mg/kg)	식품공전 곤충식품 기준	쌍별-B ¹⁾		쌍별-LB ¹⁾	
		함량	기준 대비(%)	함량	기준 대비(%)
납	0.3	0.0508	16.9	0.0553	18.4
카드뮴	0.3	0.015	5	0.015	5

¹⁾ 쌍별-B : *Bacillus*로 생물전환한 고기능성 소재, 쌍별-LB : *Lactobacillus*로 생물전환한 고기능성 소재.

⑦ 고기능성 소재의 저장안정성 검토

㉔ 식품 소재로서의 저장안정성 검토를 위하여 *Bacillus*로 생물전환한 고기능성 소재, *Lactobacillus*로 생물전환한 고기능성 소재를 4℃ 에서 저장 90일까지 보관하며 생균수, 대장균, 황색포도상구균, 살모넬라균 변화를 확인한 결과 저장기간 동안 *Bacillus*로 생물전환한 고기능성 소재, *Lactobacillus*로 생물전환한 고기능성 소재의 병원성균은 검출되지 않았으며 생균수의 경우 *Bacillus*로 생물전환한 고기능성 소재, *Lactobacillus*로 생물전환한 고기능성 소재에서 서서히 증가하는 경향이었음 (표 16).

표 16. 균주에 따른 쌍별귀뚜라미 고기능성 소재의 생균수 변화

	원물 (Log CFU/g)	저장기간			
		0	30	60	90
쌍별-B	4.70±0.28	N.D.	0.50±0.71	1.15±0.21	2.87±0.12
쌍별-LB	4.70±0.28	N.D.	N.D.	0.50±0.71	1.15±0.21

¹⁾ 쌍별-B : *Bacillus*로 생물전환한 고기능성 소재, 쌍별-LB : *Lactobacillus*로 생물전환한 고기능성 소재.

⑧ 고령친화소재로서의 가능성 검토

고기능성 소재의 외관, 품질 특성, 관능특성, 영양성분, 항산화 활성, 위해요소, 저장안정성을 검토한 결과 소재 자체만으로도 우수한 식품소재로서의 가능성을 확인하였으며 일반식품, 특수 맞춤형 식품, 사료 분야 등에서 다양한 산업적 활용도가 기대되어 사업화를 위한 품목제조보고 2건을 진행하였음 (그림 20).

발급번호 : MAMB-ABMC-RYEA-BQQD-XLTU

식품 · 식품첨가물 품목제조보고서

보고인	성명	생년월일		
주소	주 소	전화번호		
	경기도 성남시 중원구 서기막골로 124(508호) 상대	휴대전화		
영업소	영업(상호)	영업등록번호		
	(주)성남식품	20150275312		
소재지	소재지			
	경기도 성남시 중원구 서기막골로 124(508호) 상대(영동, 에스케이인더크노테크 테크센터)			
제품정보	식품의 유형	기타가공품	품목제조보고번호	20150275312126
	제품명	JS-OFP 발효추출분말(B)		
	유형기한	제조일로부터 12개월까지		
	품질유지기한	-		
	원재료명 또는 성분명 및 배합비율	맛장애 기재		
	용도 용법	맛장애 기재		
	보관방법 및 포장재질	맛장애 기재		
	포장방법 및 포장단위	맛장애 기재		
	성상	분말상		
	품목의 특성			
기타	■ 고열량 · 지방질 식품 해당 여부	[] 예 [] 아니오 [0] 해당 없음		
	■ 열, 유아를 섭취대상으로 표시 판매하는 식품 해당 여부	[] 예 [] 아니오		
	■ 알균 · 열균 제품의 해당 여부	[0] 비발균 [] 발균 [] 불균		

「식품위생법」 제37조 제5항 및 같은 법 시행규칙 제45조 제1항에 따라 식품(식품첨가물) 품목제조 사항을 보고합니다.

2021년 01월 22일
보고인

경기도 성남시장 귀하

품목보고번호 : 20150275312126

처리부서	환경보건국 위생정책과	처리지성명	원세희	처리일자	2021년 01월 27일
------	-------------	-------	-----	------	---------------



[JS-OFP 발효추출분말(B) - 발취]

발급번호 : MAMB-ABMC-RYEA-BQQD-XLTU

용도용법	가공식품 등에 부원료로 적정량 사용한다.
보관방법 및 포장재질	실온보관 폴리에틸렌
포장방법 및 포장단위	1g ~ 20kg, 1g 단위 개별 포장



발급번호 : MAMB-ABMY-ZCEN-VQWH-HVXP

식품 · 식품첨가물 품목제조보고서

보고인	성명	생년월일		
주소	주 소	전화번호		
	경기도 성남시 중원구 서기막골로 124(508호) 상대	휴대전화		
영업소	영업(상호)	영업등록번호		
	(주)성남식품	20150275312		
소재지	소재지			
	경기도 성남시 중원구 서기막골로 124(508호) 상대(영동, 에스케이인더크노테크 테크센터)			
제품정보	식품의 유형	기타가공품	품목제조보고번호	20150275312125
	제품명	JS-OFP 발효추출분말(B)		
	유형기한	제조일로부터 12개월까지		
	품질유지기한	원재료명		
	원재료명 또는 성분명 및 배합비율	맛장애 기재		
	용도 용법	맛장애 기재		
	보관방법 및 포장재질	맛장애 기재		
	포장방법 및 포장단위	맛장애 기재		
	성상	분말상		
	품목의 특성			
기타	■ 고열량 · 지방질 식품 해당 여부	[] 예 [] 아니오 [0] 해당 없음		
	■ 열, 유아를 섭취대상으로 표시 판매하는 식품 해당 여부	[] 예 [] 아니오		
	■ 알균 · 열균 제품의 해당 여부	[0] 비발균 [] 발균 [] 불균		

「식품위생법」 제37조 제5항 및 같은 법 시행규칙 제45조 제1항에 따라 식품(식품첨가물) 품목제조 사항을 보고합니다.

2021년 01월 19일
보고인

경기도 성남시장 귀하

품목보고번호 : 20150275312125

처리부서	환경보건국 위생정책과	처리지성명	원세희	처리일자	2021년 01월 25일
------	-------------	-------	-----	------	---------------



[JS-OFP 발효추출분말(LB) - 발취]

발급번호 : MAMB-ABMY-ZCEN-VQWH-HVXP

용도용법	가공식품 등에 부원료로 적정량 사용한다.
보관방법 및 포장재질	실온보관 폴리에틸렌
포장방법 및 포장단위	원재료명 / 1g ~ 20kg, 1g 단위 개별 포장



그림 20. 균주에 따른 쌍별귀뚜라미 고기능성 소재의 품목제조보고서(발취).

나. 협동연구기관 : 단국대학교

(1) 연구수행 내용

(가) 쌍별귀뚜라미 전처리 샘플의 알레르기 성분 분석

① 쌍별귀뚜라미 전처리 샘플의 알레르기 및 Immunoblotting 실험 준비

- ㉠ 알레르기 성분의 양성 대조군으로 생새우, 건새우(군산 꽃새우, 어업회사법인(주)청해명가, 용인시, 한국)는 시중 마트에서 구입하여 사용하였음.
- ㉡ 80°C 에서 보관된 쌍별귀뚜라미 원물을 동결건조 시킨 뒤 믹서(한일전자, 서울시, 한국)로 갈아 준비하였음. 생새우와 건새우는 믹서로 갈아 준비하였으며, 삶은 새우는 끓는 물에 10 min 삶은 후 믹서로 갈아 사용하였음.
- ㉢ 쌍별귀뚜라미 동결건조 분말 5 g을 각각 65, 70, 80°C 의 건조기에서 1 min, 5 min, 15 min, 30 min, 60 min, 90°C 에서 1 min, 5 min, 15 min 동안 처리하였음. 다른 한 군은 고압증기멸균기(주)랩하우스, 포천시, 한국)를 사용하여 121°C, 0.14 MPa 조건으로 5분간 처리하였음. 다음 실험에 사용되기 전까지 -80°C 에서 보관하였음.

② 단백질 추출

- ㉠ 시료 1 g을 protein inhibitor cocktail(Roche)가 첨가된 phosphate buffer saline(pH 7.4)에 1:10 비율로 용해시켜 4°C 의 shaking incubator에서 180 rpm으로 4 h 추출하였음. 추출 후, 16,215×g, 30 min, 4°C 조건으로 2번 원심분리한 상등액을 채취하여 실험에 사용하였음. 단백질 농도는 Bio-Rad Protein Assay(Bio-Rad, CA, USA)의 방법을 사용하여 측정하였으며 표준물질로 bovine serum albumin을 사용하였음. 이때 대조군으로 쌍별귀뚜라미 원물, 열풍건조물을 동일 방법으로 추출하여 비교하였음.

③ SDS-PAGE 및 immunoblotting with IgG

- ㉠ Mini-PROTEAN Tetra system(Bio-Rad, CA, USA)을 사용하여 10% separating gel과 4% stacking gel에 단백질 추출액 농도가 20 μ g이 되도록 loading하였음(생새우의 경우 1 μ g). SDS-PAGE의 단백질 스탠다드로 Precision Plus Protein™ Dual Color Standards(Bio-Rad, CA, USA)를 사용하였음. 전기영동 후, 단백질이 분리된 겔을 Trans-blot® Turbo™ System(Bio-Rad, CA, USA)을 사용하여 PVDF membrane에 전사하고 Ponceau S solution Bioreagent로 염색하여 transfer된 것을 확인하였음. Skim milk를 이용하여 1h 동안 blocking한 후, 1차 항체로 rabbit anti-arginine kinase IgG antibody(Abcam, Cambridge, UK)를 Skim milk와 1:1000 비율로 희석하여 4°C 에서 18h 동안 배양하였음. TBST를 이용하여 15 min간 3번 세척한 후, 2차 항체로 anti-rabbit IgG, HRP-linked Antibody(Cell signaling, Massachusetts, USA)를 1:1000 비율로 희석하여 상온에서 45 min 배양하고 배양된 membrane은 Clarity™ Western ECL Substrate(Bio-Rad, CA, USA)에 노출시킨 뒤 Chemidoc™ XRS+ System with Image Lab™ Software(Bio-Rad, CA, USA)를 이용하여 관찰하였음.

(나) 쌍별귀뚜라미 전처리 방법에 따른 향기 성분 분석

① 쌍별귀뚜라미 전처리

- ㉠ 쌍별귀뚜라미 원물 10 g을 각각 열풍건조, 동결건조, 고온고압 또는 끓여서 전처리를 하였음. 고온고압 샘플은 고압증기멸균기(주)랩하우스, 포천시, 한국)를 이용하여 121°C 에서 0.14 MPa 조건으로 10 min(A10), 20 min(A20), 30 min(A30) 동안 전처리

하였음. 끓인 귀뚜라미 샘플은 끓는 물(D·W)에 귀뚜라미를 넣고 10 min(B10), 20 min(B20), 30 min(B30) 동안 전처리하였음. 전처리 후, 귀뚜라미를 약 20 min 이상 식힌 후에 -80°C 에서 보관하였음.

② GC-MS 분석

㉠ SPME/GC-MS 분석은 TRACE 1310 Gas Chromatograph (Thermo Scientific, Massachusetts, USA)을 사용하여 수행하였음. SPME fiber는 PDMS/DVB (Supelco., Bellefonte, USA)를 사용하여 분석하였음. 시료는 동결분쇄기 (6875D Freezer/Mill®, SPEX Sample prep, NJ, USA)를 이용하여 액체질소 내에서 분쇄된 귀뚜라미 시료 2 g과 NaCl 2 g을 넣은 vial에 1,2-dichlorobenzene 3 μ L을 첨가하고 5 mm/sec로 주입하여 70°C 에서 10 min간 처리한 후 40 min간 물질을 흡착시켰음.

㉡ GC-MS는 Thermo Scientific (Massachusetts, USA) TRACE 1310 Gas Chromatograph 와 TSQ 8000 MSD를 사용하여 분석하였음. Column은 DB-WAX (60m X 0.25 mm X 0.50 Micron)를 사용하여 분석하였으며, 운반기체는 순도 99.999% He을 사용하였고, 2.0 mL/min 유속으로 일정하게 유지하였음. 시료는 split(20:1) mode로 주입하였으며, 주입구 온도는 250°C, 초기 온도는 40°C 에서 2 min 유지 후 4°C/min으로 온도를 상승시켜 150°C 에서 10 min 유지하고, 3°C/min으로 온도를 상승시켜 200°C 에서 5 min 유지하고, 10°C/min으로 온도를 상승시켜 240°C 에서 5 min간 유지하여 총 20 min간 분석하였음. GC 분석에 의해 분리된 각 peak 성분은 표준물질의 머무름시간 및 GC-MS에 의한 mass spectrum을 기반으로 하여 spectral library data base (NIST 2.0)와 비교하여 동정하였음. 전처리군의 대조군으로, 쌍별귀뚜라미 원물과 열풍건조물도 추가로 분석하였음.

(다) 쌍별귀뚜라미의 효소적 가수분해

① 쌍별귀뚜라미와 지방을 제거한 쌍별귀뚜라미 1 g에 1%(w/v)의 단백질 가수분해 효소 (alcalase, neutrase, protamex, flavourzyme) 1.5 mL(E/S 비율 1.5%) 및 0.02M sodium phosphate buffer(pH 6.0, 6.5, 7.0) 7.5 mL를 첨가하여 water bath(50°C, 60°C)에서 90 min, 24h 가수분해하였음. 가수분해가 끝나면 90°C 에서 15 min 가열하여 효소를 불활성화시키고 실온에서 냉각하여 6,000 rpm에서 30 min 원심분리한 상등액을 실험에 사용하였음. 대조군은 쌍별귀뚜라미 1 g에 증류수 9 mL 첨가하여 실시하였음.

(라) 프로바이오틱 고초균에 의한 쌍별귀뚜라미의 발효

① 열풍건조한 쌍별귀뚜라미와 추가적으로 지방을 제거한 쌍별귀뚜라미 5g에 25g의 증류수와 당(glucose/sucrose/soluble starch) 7.5 g (2.5%)을 첨가하여 121°C 에서 20 min 멸균 후, starter인 probiotic *Bacillus amyloliquefaciens* MKSK-J1 24 h 배양액을 1.5 mL (5%) 접종하고 진탕교반 (35°C, 24 h, 130 rpm)하여 발효액을 제조하였음.

㉠ 발효 시간에 따른 균수, pH, Brix 측정

발효 0, 24, 48 h 샘플을 30 min 이상 정치시켜, 상등액을 채취하여 균수, pH (10 배 희석액)와 Brix (원액)를 측정하였음.

㉡ 모든 생리활성 실험은 24 h 발효 샘플을 30 min 이상 정치시킨 후, 상등액을 원심 분리 (10,000 rpm, 5 min)하여 수득한 상등액으로 측정하였음.

(마) 쌍별귀뚜라미의 이화학적 품질 분석

① 일반성분 분석

- ㉔ 수분은 항량된 수분수기에 쌍별귀뚜라미 열풍건조 분말 1 g을 넣고, 75°C에서 항량에 도달할 때 까지 감압가열건조하여 수분 함량을 계산하였음.
- ㉕ 조단백질은 Kjeldahl 질소 정량법을 사용하였음. 켈달 플라스크에 시료 0.2 g과 분해촉진제 2 g, 비등석 4 알을 넣고, 진한 황산 20 ml를 첨가하여 가열하여 분해한 분해액을 증류수로 정용한 후, 분해액, 증류수, 30% NaOH를 증류하여 0.05 M H₂SO₄에 암모니아 포집 후, 0.1 N NaOH로 적정하여 적정 소비량을 통해 조단백질 함량을 계산하였음.
- ㉖ 조지방은 속슬렛추출법을 사용하였음. 쌍별귀뚜라미 열풍건조 분말 2 g을 텀블에 넣고, 105°C 건조기에서 3 시간 건조 후, 속슬렛관에 연결하여 에테르를 이용해 8 시간 추출하고 에테르를 휘발시켜 조지방 함량을 계산하였음.
- ㉗ 조회분은 직접회화법을 사용하였음. 항량된 도가니에 쌍별귀뚜라미 열풍건조 분말 2 g을 넣고, 550°C 회화로에서 항량에 도달 할 때 까지 회화하여 조회분 함량을 계산하였음.
- ② 가수분해도 측정
- ㉘ 가수분해물의 가수분해도는 가수분해물 250 μ L에 0.2M sodium phosphate buffer(pH 8.2) 2 mL 첨가하고 0.1% TNBS 2 mL를 가한 후 암실, 50°C에서 1시간 방치하였음. 반응 정지를 위해 0.1N HCl 4 mL를 가한 후 340nm에서 흡광도 측정하였음. 표준시료로 L-leucine(0.15 ~ 0.75 mg/ml)를 사용하였으며 결과는 %로 표시하였음.
- ③ 총고형분 함량
- ㉙ 가수분해물 상등액을 스포이드를 이용하여 당도계(Brix 0.0 ~ 33.0%, ATAGO, Japan)에 떨어뜨린 후 눈금을 확인하였음.
- ④ SDS-PAGE
- ㉚ 가수분해물의 단백질 패턴은 sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis를 이용하여 분석하였음. 각 가수분해물은 10,000 rpm, 4°C, 1 min 원심분리 후 얻은 상등액 17 μ L를 12% gel에 loading하여 60V에서 약 2시간 전기영동을 진행하고 Coomassie Brilliant Blue G(CBBG)로 염색한 뒤 destaining 용액(acetic acid:methanol:water=1:2:7)을 이용하여 탈색시켰음. 분자량 마커는 SMOBIO 제품을 사용하였음.
- ⑤ 항당뇨 활성 분석
- ㉛ α -glucosidase 저해 활성
- 시료 50 μ L에 0.02 M sodium phosphate buffer (pH 6.8) 50 μ L, p-nitrophenyl- α -D-glucopyranoside (pNPG) 200 μ L 및 α -glucosidase solution 50 μ L 첨가한 후 37°C에서 40 min간 배양하였음. 0.1 M Na₂CO₃ 1.5 mL 첨가하여 반응을 정지한 후 UV/Visible Spectrophotometer를 이용하여 405 nm에서 흡광도를 측정하였음. 대조구는 시료 대신 SPB를 첨가, blank는 α -glucosidase와 pNPG 대신 SPB를 첨가하여 측정하였음. 양성 대조군으로는 acarbose (1 mg/mL)를 사용하였으며, 저해 활성 계산식은 아래와 같음.

$$\alpha\text{-glucosidase inhibition activity (\%)} = 100 - \left[\left(\frac{\text{Abs sample} - \text{Abs sample blank}}{\text{Abs control} - \text{Abs blank}} \right) * 100 \right]$$

㉞ α -amylase 저해 활성

시료 50 μ L에 0.02M SPB(pH 7.0) 50 μ L, 1% soluble starch solution 200 μ L, α -amylase enzyme 50 μ L를 혼합하여 37 $^{\circ}$ C water bath에서 40 min 반응하였음. 이후, DNS solution 1 mL를 첨가하여 95 $^{\circ}$ C water bath에서 5 min 반응 후, 증류수를 3 mL 첨가하여 540 nm에서 흡광도를 측정하였음. 대조구는 시료 대신 SPB를 첨가, blank는 α -glucosidase와 pNPG 대신 SPB를 첨가하여 측정하였음. 양성 대조군으로 acarbose (1 mg/mL)를 사용하였으며 저해 활성 계산식은 아래와 같음.

$$\alpha\text{-amylase inhibition activity (\%)} = 100 - \left[\left(\frac{\text{Abs sample} - \text{Abs sample blank}}{\text{Abs control} - \text{Abs blank}} \right) * 100 \right]$$

㉟ 항산화 활성 실험

㉞ DPPH radical scavenging activity

시료 100 μ L와 0.2mM DPPH(2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl) 1.2 mL를 혼합하여 암실에서 30 min 반응 후, 517 nm에서 흡광도를 측정하였음. 대조구는 발효 상등액 대신 methanol을 100 μ L 첨가, blank는 DPPH 대신 methanol을 1.2 mL 첨가하여 측정하였음. 양성 대조군으로는 ascorbic acid (1 mg/mL)를 사용하였음. 샘플 농도별 활성을 측정하여 EC 50 value (mg/mL)를 계산하였으며, % 활성 계산식은 아래와 같음.

$$\text{DPPH radical scavenging activity (\%)} = 100 - \left[\left(\frac{\text{Abs sample} - \text{Abs sample blank}}{\text{Abs control} - \text{Abs blank}} \right) * 100 \right]$$

㉞ SOD like activity

시료 100 μ L와 0.05M Tris-HCl buffer 1.5 mL, 7.2mM Pyrogallol 100 μ L를 혼합하여 10 min 실온에 방치 후, 405 nm에서 흡광도를 측정하였음. 대조구는 발효 상등액을 넣지 않고, 0.05M Tris-HCl buffer 1.6 mL를 첨가하여 측정하였음. blank는 Pyrogallol을 넣지 않고, Tris-HCl buffer 1.6 mL를 첨가하여 측정하였음. 샘플 농도별 활성을 측정하여 IC 50 value (mg/mL)를 계산하였으며, % 활성 계산식은 아래와 같음.

$$\text{SOD like activity (\%)} = 100 - \left[\left(\frac{\text{Abs sample} - \text{Abs sample blank}}{\text{Abs control} - \text{Abs blank}} \right) * 100 \right]$$

㉔ Reducing power

시료 250 μ L에 0.2M sodium phosphate buffer(pH 6.6) 250 μ L 및 1% potassium ferricyanide 250 μ L를 넣어 50°C에서 20 min 반응시킨 후 10% TCA로 반응을 종료 하였음. 반응액을 10,000 rpm에서 5 min 원심분리 후 증류수 500 μ L와 0.1% ferric chloride 100 μ L를 넣어 700 nm에서 흡광도 측정하였음. 양성 대조군으로 ascorbic acid(1 mg/mL)를 사용하였음. 샘플 농도별 활성을 측정하여 EC 50 value (mg/mL)를 계산하였으며, % 활성 계산식은 ascorbic acid의 Abs (at 700nm)를 100%로 하여, 상대적인 활성을 아래와 같이 계산하였음.

$$\text{Reducing power (\%)} = \left(\frac{\text{Abs sample}}{\text{Abs positive control}} \right) * 100$$

(2) 연구수행 결과

(가) 알레르기 성분 억제를 위한 전처리 기술개발

① 본 연구에서는 쌍별귀뚜라미의 arginine kinase에 대한 알레르기성을 확인하였음. 양성 대조군으로는 교차 알레르기성이 있다고 알려진 생새우를 사용하였음. Srinroch et al.(2015) 및 다른 알레르기에 대한 연구에서는 1차 항체로 새우 알레르기 환자 혈청을 사용하였으나, 본 연구에서는 IRB 취득의 문제로 arginine kinase IgG antibody로 대체 하여 실험하였으며 Immunoblotting 결과를 확보하였음. 모든 군의 단백질 농도를 동일 하게 하여 실험했을 경우, 생새우에서는 band(약 40 kDa)가 매우 진하게 나타났으며 그 외 삶은 새우, 건새우 그리고 쌍별귀뚜라미 군들에서는 band를 보이지 않았음. 더 정확한 결과를 얻기 위해 생새우의 농도를 1 μ g으로 변경하여 재실험 하였으며, 그 결과는 그림 21에 나타내었음. 기질 반응 후 검출 시간 내에 1초 가량 경과 시 생새우 에서만 band가 나타났으나 약 100초 경과 시 삶은 새우에서도 얇은 band가 나타났음 (data not shown). 이는 arginine kinase가 생새우에 다량 존재하며, 생새우를 삶는 처 리를 할 경우에는 거의 불활성화되고 열풍건조 처리를 할 경우에는 완전히 불활성화 된다는 것을 보여줌. 또한, 쌍별귀뚜라미 원물과 열풍건조물에서는 arginine kinase에 해당하는 band가 검출되지 않았음. 이는 쌍별귀뚜라미에서 arginine kinase가 검출되었 다고 보고한 Srinroch et al.(2015)의 연구와 일치하지 않는 결과임. Kamemura et al.(2019)의 연구에서도 immunoblotting 및 질량 분석 시 arginine kinase가 검출되지 않 았다고 보고하였음. 결론적으로 본 연구에서는 쌍별귀뚜라미 원물 및 열풍건조물 모두 새우 알레르기와 교차 반응성이 있는 알레르겐인 arginine kinase가 검출되지 않았음. 따라서 상기 알레르겐에 대한 IgG 매개 알레르기 반응을 보이는 환자의 경우, 쌍별귀 뚜라미를 섭취할 시 알레르기 반응을 보이지 않을 것으로 생각됨. 향후에는 쌍별귀뚜 라미에서도 검출되었으며 (kamemura et al., 2013), 다른 식용곤충 및 갑각류의 주요 알레르겐인 tropomyosin에 대한 연구가 필요한 것으로 보임.



그림 21. 새우 추출물 및 쌍별귀뚜라미 추출물의 IgG immunoblotting 결과.

(a):생새우, (b):삶은새우, (c):건새우, (d):쌍별귀뚜라미 원물, (e):쌍별귀뚜라미 열풍건조물, (f):70°C, 5 min 전처리군, (g):80°C, 5 min 전처리군, (h):90°C, 5 min 전처리군, (i):121°C, 5 min 고압 전처리군, ((k):생새우(1 μ g), (l):삶은 새우, (m):쌍별귀뚜라미 원물, (n):쌍별귀뚜라미 열풍건조물).

(나) 전처리 방법에 따른 쌍별귀뚜라미의 향기 성분 분석

- ① 쌍별귀뚜라미의 GC-MS 분석 결과는 표 17에 나타내었음. 분석 결과, 6개의 aromatic compounds, 3개의 alcohols, 6개의 aldehydes, 1개의 ketone, 1개의 furan, 4개의 acids, 1개의 ester가 검출되었음. 전처리 방법과 상관없이, 고온고압 또는 끓임 전처리를 거친 샘플의 경우 1-Octen-3-ol과 같은 alcohol 및 2-heptenal, 3-methylbutanal, hexanal, nonanal과 같은 aldehydes는 함량이 증가했음. 이는 열을 가하는 방식의 전처리를 했기 때문에 귀뚜라미 내의 지방이 산화되어 발생한 것으로 사료됨. 이취 성분으로 알려져 있는 methylbenzene(=toluene)의 경우, 전처리를 한 경우 그 함량이 감소하였으며, 특히 끓임 처리를 할 경우 크게 감소하였음.

표 17. 쌍별귀뚜라미 원물 및 전처리 샘플의 향기성분

Samples	RAW	DRYING	A10	A20	A30	B10	B20	B30
1,2,3,4-Tetramethyl benzene	0.007	0.038	0.006	0.0075	0.0075	0.012	0.01	0.0105
1-Octen-3-ol	0.021	0.136	0.029	0.0205	0.0405	0.0315	0.0365	0.033
2-Ethylhexanol	0.018	0.0225	0.018	0.0195	0.02	0.0175	0.013	0.0095
2-Heptenal	0.0015	0.005	0.001	0.0015	0.004	0.004	0.006	0.0075
2-Methylbutanal	0.0035	0.078	0.002	0.0045	0.014	0.009	0.006	0.006
2-Octanone	0.022	0.0465	0.018	0.0185	0.0275	0.0305	0.012	0.009
2-Pentylfuran	0.0115	0.0785	0.015	0.0135	0.048	0.018	0.021	0.0205
3-Methyl-3-butene nitrile	0.0275	0.004	0.0175	0.026	0.0685	0.041	0.007	0.009
3-Methylbutanal	0.0085	0.0605	0.003	0.009	0.0325	0.032	0.017	0.022
Acetic acid	0.0175	0.325	0.021	0.0345	0.0285	0.027	0.007	0.0035
Benzaldehyde	N.D.	0.0325	0.0015	0.0025	0.0195	0.033	0.028	0.0325
Benzeneethanol	0.4925	1.935	1.1095	0.2055	0.373	0.095	0.1095	0.0735
Butylated hydroxytoluene	0.0335	0.0865	0.0745	0.0195	0.076	0.0465	0.0745	0.031
dl-Limonene	0.056	0.0845	0.0535	0.07	0.065	0.0515	0.049	0.0205
Dodecane	0.0035	0.1225	0.005	0.0075	0.0095	0.007	0.009	0.009
Ethenylbenzene	0.056	0.0175	0.0255	0.0285	0.033	0.0205	0.014	0.016
Ethyl_9-hexadecenoate	0.2855	0.303	0.1005	0.017	0.076	0.0935	0.2485	0.258
Ethyl_myristate	0.112	0.1185	0.0365	0.007	0.02	0.0285	0.0965	0.085
Ethylbenzene	0.0265	0.023	0.0145	0.0165	0.021	0.018	0.0115	0.0115
Hexanal	N.D.	0.0785	N.D.	N.D.	0.033	0.06	0.081	0.0625
Methyl_2-hydroxybenzoate	0.0305	0.0635	0.029	0.0305	0.0315	0.039	0.0365	0.036
Methylbenzene	0.3715	0.1795	0.2365	0.238	0.2985	0.1605	0.0685	0.033
Nonanal	N.D.	0.0155	0.004	0.0015	0.017	0.024	0.037	0.0355
Tridecane	0.0165	0.033	0.0115	0.013	0.018	0.014	0.0105	0.01
UN_30.61_193	0.0525	0.0555	0.03	0.027	0.0315	0.048	0.0385	0.034
UN_30.80_267	0.0415	0.044	0.025	0.0215	0.0285	0.0405	0.032	0.0285
Vinyl_hexanoate	0.0385	0.054	0.044	0.0255	0.0415	0.0315	0.0445	0.051
Z-7-Tetradecenoic acid	0.0225	0.029	0.0115	0.0015	0.02	0.0095	0.042	0.0335

¹RAW, 쌍별귀뚜라미 원물; DRYING, 동결건조물; A10, 121°C x 0.14 MPa x 10 min; A20, 121°C x 0.14 MPa x 20 min, A30, 121°C x 0.14 MPa x 30 min; B10, 100°C x 10 min; B20, 100°C x 20 min; B30, 100°C x 30 min.

(다) 쌍별귀뚜라미의 효소적 가수분해

① 총 고형분 함량 변화

㉞ 효소적 가수분해 진행 90 min 후 총 고형분 함량은 4.2 ~ 6.8 ° Brix로 증가하였음

(표 18). 시료 모두 90 min보다 24 h 가수분해한 시료의 총 고형분 함량이 많아졌고 단백질 가수분해 효소를 첨가한 군이 비효소군보다 더 높았는데 이는 단백질 가수분해로 인해 아미노산의 함량이 증가하면서 총 고형분 함량이 증가한 것으로 보였음.

표 18. 단백질 가수분해 효소 및 시간에 따른 가수분해물의 총 고형분 함량

Sample		Total soluble solids (°Brix)	
		90 min	24 h
Control	Whole fat	1.5	3.2
	Defatted	1.5	3.4
Alcalase	Whole fat	6.2	7.8
	Defatted	6.8	8.8
Neutrase	Whole fat	5.0	6.2
	Defatted	5.2	6.0
Protamex	Whole fat	4.6	5.4
	Defatted	5.2	6.0
Flavourzyme	Whole fat	4.2	5.8
	Defatted	4.8	6.6

② SDS-PAGE 결과

- ㉞ 단백질 가수분해 효소에 따른 쌍별귀뚜라미는 효소반응 조건(alcalase, neutrase, protamex, flavourzyme, E/S 비율 1.5%, water bath(50°C, 60°C)에서 90 min, 24 h 반응한 모든 처리구가 가수분해되었음 (그림 22). 비효소군(CO, CX)에 비해서 alcalase, flavourzyme 단백질 가수분해물은 단백질이 대부분 가수분해되어 5 kDa 이하로 밴드가 나타났으며 protamex는 25 kDa에서 35 kDa 사이에 희미한 밴드가 나타났음. 이는 alcalase 및 flavourzyme이 protamex보다 가수분해가 더 잘 일어나 저분자 펩타이드가 많이 생성되었다고 볼 수 있음. Cho 등(2019)의 연구에 따르면 8시간 쌍별귀뚜라미의 단백질을 가수분해 했을 때 가수분해가 잘 일어난 효소는 가수분해물에서 10 kDa 이하의 저분자 펩타이드를 생성한 alcalase, flavourzyme 및 neutrase로 본 연구와 같은 결과를 보였음. 탈지(O)와 전지(X)의 차이는 없었음. 비효소군을 포함한 모든 시료는 가수분해 90 min보다 24 h에서 더 많은 단백질 가수분해가 일어났음.

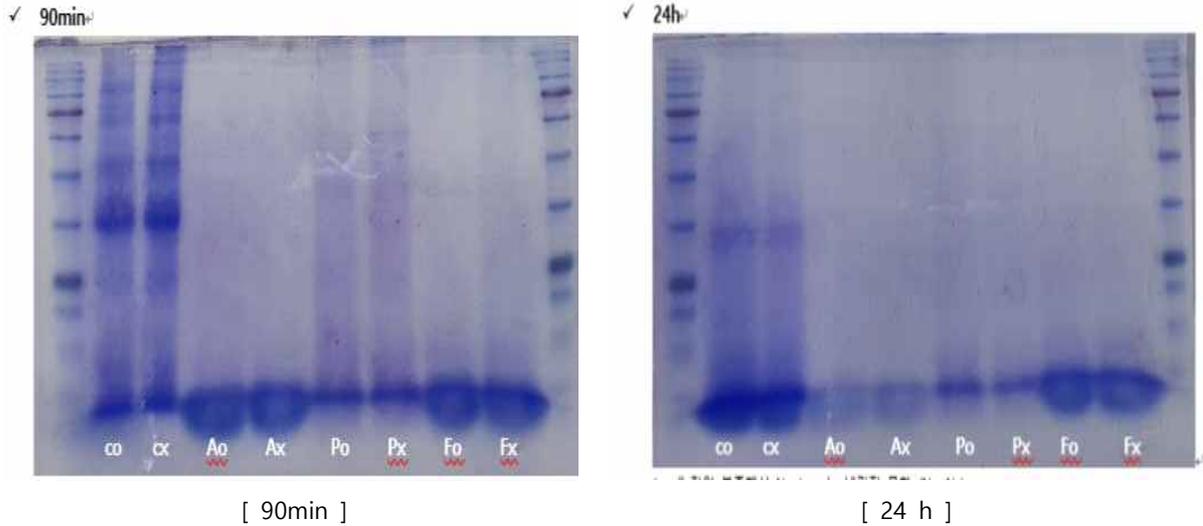


그림 22. 효소 반응 조건에 따른 단백질 패턴.

CO, Control 전지; CX, Control 탈지; AO, Alcalase 전지; AX, Alcalase 탈지; PO, Protamax 전지; PX, Protamax 탈지; FO, Flavourzyme 전지; FX, Flavourzyme 탈지; NO, Neutrase 전지; NX, Neutrase 탈지.

③ 단백질 가수분해 효소 및 시간에 따른 쌍별귀뚜라미 가수분해물의 항산화활성

- ㉗ 단백질 가수분해 효소에 따른 쌍별귀뚜라미 가수분해물의 DPPH 라디칼 소거 활성은 90 min보다 24 h 가수분해한 시료가 더 높았으며 특히 flavourzyme 효소를 첨가한 시료에서 90 min과 24 h 간에 많은 차이를 보였음 (표 19). 탈지 (O)와 전지 (X) 시료 사이의 차이는 없었음. 단백질 가수분해 효소를 첨가한 시료 중 neutrase 첨가 시료가 가장 높은 DPPH 라디칼 소거 활성을 보였음.
- ㉘ SOD 유사 활성은 protamex 효소를 첨가한 시료를 제외한 모든 시료에서 DPPH 라디칼 소거 활성과 같이 90 min보다 24 h 가수분해한 시료가 더 높은 활성을 나타냈음. 비효소군보다 효소 첨가 시료에서 활성이 높았으며 neutrase 효소가 가장 높은 SOD 유사 활성을 보였음.
- ㉙ Reducing power는 비효소군은 24 h 가수분해 후 환원력이 떨어졌으나 효소를 첨가 시료들은 90 min보다 24h에 더 높은 환원력을 보였음. 단백질 가수분해 효소 첨가 시료 중 flavourzyme 첨가 시료가 90 min과 24 h 모두 가장 높은 환원력을 나타냈음.
- ㉚ DPPH 라디칼 소거 활성과 SOD 유사 활성에서 neutrase를 첨가한 시료가 가장 높고 reducing power는 3 번째로 높은 것으로 보아 쌍별귀뚜라미 단백질 가수분해에 가장 적합하다고 생각되었음.

표 19. 단백질 가수분해 효소 및 시간에 따른 가수분해물의 항산화활성(%)

Sample		DPPH radical scavenging activity		SOD like activity		Reducing power	
		90 min	24 h	90 min	24 h	90 min	24 h
Control	Whole fat	86.5	93.7	3.7	3.0	99.6	83.4
	Defatted	87.4	91.6	2.1	5.2	94.1	87.8
Alcalase	Whole fat	66.9	86.1	-3.7	5.6	88.3	98.1
	Defatted	71.8	85.9	2.9	5.2	82.7	95.2
Neutrase	Whole fat	94.8	95.8	7.5	14.2	80.7	88.2
	Defatted	93.3	92.7	10.4	15.3	84.0	89.9
Protamex	Whole fat	90.4	92.6	6.5	6.2	86.8	86.2
	Defatted	88.8	89.9	10.4	8.5	89.5	88.7
Flavourzyme	Whole fat	45.8	80.4	3.1	13.3	95.9	99.5
	Defatted	48.0	73.5	3.6	14.1	95.0	102.8

④ 단백질 가수분해 효소 및 시간에 따른 탄수화물 분해효소 활성에 미치는 영향

- ㉠ 효소에 따른 쌍별귀뚜라미 단백질 가수분해물의 α -glucosidase 활성은 모두 유사하게 높았으며 24 h 가수분해 후 90 min 보다 낮은 활성을 보였음 (표 20). α -amylase 활성은 90 min과 24 h이 유사하거나 24 h이 90 min보다 높게 나왔음.
- ㉡ 쌍별귀뚜라미에 효소를 첨가하였을 때 탄수화물 분해효소인 α -glucosidase와 α -amylase의 활성은 모두 90% 이상으로 높는데 이는 단백질 가수분해 효소가 첨가된 쌍별귀뚜라미 가수분해물은 탄수화물 분해효소에 영향을 주지 않으며 탄수화물 소화를 저해하지 않는다고 판단되었음.

표 20. 효소 반응 조건에 탄수화물분해효소 활성에 미치는 영향

Sample		α -amylase activity (%)		α -glucosidase activity (%)	
		90 min	24 h	90 min	24 h
Control	Whole fat	117.8	125.4	113.8	100.8
	Defatted	129.0	130.7	115.1	98.7
Alcalase	Whole fat	108.4	134.1	111.5	99.2
	Defatted	109.2	121.0	110.4	98.5
Neutrase	Whole fat	135.5	134.3	106.1	102.1
	Defatted	-	111.5	106.7	100.0
Protamex	Whole fat	112.1	127.8	107.0	99.3
	Defatted	109.4	131.7	107.0	100.7
Flavourzyme	Whole fat	-	122.7	111.7	104.3
	Defatted	129.2	119.5	114.6	100.6

(라) 프로바이오틱 고초균을 이용한 쌍별귀뚜라미의 발효

- ① 발효 시간에 따른 발효 특성 변화

㉗ Probiotic *Bacillus amyloliquefaciens* MKSK-J1을 사용하여 발효한 쌍별귀뚜라미는 탄수화물의 종류와 탈지 여부에 관계없이 모든 군에서 발효 0 h (3.46 log CFU/mL)에 비해 발효 24 h 이후 군이 급격하게 성장하였으며(7.36 ~ 8.39 log CFU/mL), sucrose 첨가군을 제외하고 48 h에 급격히 감소하는 경향을 나타내었음 (표 21). 당의 종류에 따라서는 sucrose 첨가군에서 가장 활발하게 성장하였으며, glucose, starch 첨가군 순이었음. 쌍별귀뚜라미 분말의 탈지 여부에 따라서는 뚜렷한 차이가 나타나지 않아, 전지 분말로도 충분한 발효가 이루어진다고 판단되었음. 따라서, 첨가하는 당은 sucrose, glucose, starch 순으로 발효가 잘 이루어지고, 탈지 공정은 필요하지 않으며, 24 h에 군이 최대로 증식하는 것으로 나타나 최종적으로 24 h을 최적 발효 시간으로 설정하였음.

표 21. Probiotic *Bacillus amyloliquefaciens* MKSK-J1 쌍별귀뚜라미의 생균수

Carbohydrate	Pretreatment	생균수(logCFU/mL)		
		0 h	24 h	48 h
Glucose	Whole fat	3.46b*	8.05 ± 0.04ABa	0c
	Defatted	3.46b	7.96 ± 0.05ABa	0c
Sucrose	Whole fat	3.46b	8.10 ± 0.14ABa	7.32 ± 0.54a
	Defatted	3.46c	8.39 ± 0.24Aa	7.4b
Starch	Whole fat	3.46b	7.56 ± 0.85ABa	0c
	Defatted	3.46b	7.36 ± 0.21Ba	0c

* 대문자 : 군 별 비교(세로) / 소문자 : 발효 시간 별 비교(가로) ($p < 0.05$).

㉘ 발효시간에 따른 총 고형분 함량 변화는 발효 24 h까지는 모든 군에서 완만하게 증가하는 반면, 탈지 분말은 발효 48 h에 급격히 증가하고 전지 분말은 발효 48 h에 감소하는 경향을 나타내었음 (표 22). pH 또한, 1개 군을 제외한 대부분의 발효물에서 24 h까지는 pH가 감소한 반면, 발효 48 h에 탈지 분말은 pH가 증가, 전지 분말은 pH가 감소하는 경향을 나타내었음. 위에서 설정한 최적 발효 시간인 24 h의 총 고형분 함량은 6.7 ~ 7.1%이고, pH는 5.92 ~ 7.2 이었음 (표 23).

표 22. Probiotic *Bacillus amyloliquefaciens* MKSK-J1 발효 쌍별귀뚜라미의 총 고형분 함량

Carbohydrate	Pretreatment	총 고형분 함량(°Brix)		
		0 h	24 h	48 h
Glucose	Whole fat	5.5b	7.0 ± 0.00Aa	7.05 ± 0.07Ba
	Defatted	5.5b	6.7 ± 0.14Ab	10.5 ± 0.71Aa
Sucrose	Whole fat	5.5b	7.0 ± 0.00Aa	5.85 ± 0.49Bb
	Defatted	5.5b	6.7 ± 0.42Ab	11.75 ± 1.06Aa
Starch	Whole fat	5.5b	7.0 ± 0.00Aa	6.35 ± 0.49Bab
	Defatted	5.5c	7.1 ± 0.14Ab	11.2 ± 0.00Aa

* 대문자 : 군 별 비교(세로) / 소문자 : 발효 시간 별 비교(가로) ($p < 0.05$).

표 23. Probiotic *Bacillus amyloliquefaciens* MKSK-J1 발효 쌍별귀뚜라미의 pH

Carbohydrate	Pretreatment	pH		
		0 h	24 h	48 h
Glucose	Whole fat	7.11a	6.38 ± 0.18ABb	5.71 ± 0.08Bc
	Defatted	7.11a	6.33 ± 0.02Bc	6.65 ± 0.12Ab
Sucrose	Whole fat	7.11a	5.92 ± 0.04Bb	5.41 ± 0.27Bc
	Defatted	7.11a	5.98 ± 0.59Ba	6.85 ± 0.22Aa
Starch	Whole fat	7.11a	6.25 ± 0.57Bab	5.56 ± 0.28Bb
	Defatted	7.11b	7.20 ± 0.01Aa	6.78 ± 0.01Ac

* 대문자 : 군 별 비교(세로) / 소문자 : 발효 시간 별 비교(가로) ($p < 0.05$).

② 생리활성 실험 결과

㉞ Probiotic *Bacillus amyloliquefaciens* MKSK-J1을 사용한 24 h 발효 상등액의 생리활성 실험 결과는 표 24와 같음. DPPH radical scavenging activity 측정 결과 3배 희석액 임에도 불구하고 모든 군에서 89% 이상의 소거능을 가져 높은 항산화 활성을 나타내었으며, 특히 전지 분말군에서 92.77 ~ 96.15%로 탈지 분말군에 비해 활성이 높았음. 첨가한 당의 종류에 따라서는 sucrose와 glucose에서 조금 더 높은 활성을 나타내었음. SOD like activity는 발효 24 h 상등액에서 29.22 ~ 56.02%의 활성을 가지며, DPPH radical scavenging activity 결과와 동일하게 탈지 분말보다 전지 분말군에서 더 높은 활성을 나타내었고, 그 중 sucrose 첨가군에서 56.02%로 활성이 가장 높았음.

㉟ 발효물의 α -amylase inhibition activity 측정 결과, 당 종류에 따라 차이가 나타났는데 sucrose나 starch를 첨가한 군은 inhibition보다는 activation을 하는 것으로 보이며, glucose 첨가군에서는 15.70 ~ 23.70%의 약한 저해 활성을 나타내었음.

표 24. Probiotic *Bacillus amyloliquefaciens* MKSK-J1 24시간 발효 상등액의 생리활성 실험

Carbohydrate	Pretreatment	Antioxidant activity		
		DPPH radical scavenging activity (%)	SOD like activity (%)	α -amylase inhibition activity (%)
Glucose	Whole fat	95.14 ± 0.66	41.36 ± 0.83*	15.70 ± 14.57
	Defatted	90.11 ± 7.49	29.22 ± 0.56	-5.56 ± 38.13
Sucrose	Whole fat	96.15 ± 1.09	56.02 ± 3.56*	-21.74 ± 19.43
	Defatted	90.04 ± 12.1	34.34 ± 2.66	-27.40 ± 2.02
Starch	Whole fat	92.77 ± 5.05	43.62 ± 5.43	-47.92 ± 18.55
	Defatted	95.06 ± 6.33	40.44 ± 12.48	-59.74 ± 8.97

* 각 탄수화물 별 전처리에 따른 유의적 차이 ($p < 0.05$).

2. 2차년도

가. 주관연구기관 : (주)정심식품

(1) 연구수행 내용

(가) 고령친화용 고기능성 항노화 즉석분말수프의 large scale 생산 공정 구축 및 표준화

① 즉석분말수프의 large scale 표준 제조공정도

㉞ 1차년도에서 설정한 수용성 초미세분말 커큐민과 생물전환반응을 적용한 쌍별귀뚜라미 고기능성 소재 생산 공정도를 적용하여 쌍별귀뚜라미 반응물과 초미세분말 커

큐민을 함유하는 고령친화 즉석분말수프 표준 제조공정도를 제작하였음.

④ HACCP 반영 즉석조리식품규격 최종 표준공정도 설정

쌍별귀뚜라미 반응물과 수용성 초미세분말 커큐민을 함유하는 고령친화 즉석분말수프 생산-제조-유통의 전 과정에서 식품의 위생에 해로운 영향을 미칠 수 있는 위해 요소를 분석하고, 이러한 위해 요소를 제거하거나 안전성을 확보할 수 있는 단계에 중요 관리점을 설정하여 과학적이고 체계적으로 식품의 안전을 관리하기 위하여 HACCP 적용 즉석조리식품 규격 제조 공정에 의한 최종 표준공정도를 적용하고 공정별 가공 방법 및 관리기준 작업 지시서에 따라 시작품을 생산하였음.

② 고령친화용 고기능성 향노화 즉석분말수프 개발

㉠ 기본 RECIPE 확립

- 당사에서 기 생산중인 단호박크림수프 원료와 배합비를 참고하여 시작품 고령친화용 즉석분말수프를 제작하였음. 쌍별귀뚜라미 고기능성 소재 함량이 시작품의 향과 맛 등 관능적 기호도에 영향을 미칠 주요 인자로 판단되어 시작품의 제품 중량 대비 0%, 0.3%, 0.6%, 0.9%, 1.0%, 2.0%, 3.0% 비율로 수프를 제조하여 그림 23과 같은 양식으로 예비관능검사를 실시하여 시작품에 사용할 쌍별귀뚜라미 고기능성 소재 첨가량을 설정하였음.
- 관능검사는 30 ~ 50대 남녀 20인을 패넬로 하여 9점 척도법에 의한 기호도 검사를 실시하였음. 시료는 난수표에 의한 3자리 숫자로 표기하여 권장 제조법에 따라 제조한 즉시 일회용 소주컵에 20g 씩 소분하여 제시하였음.
- 결과는 Duncan's multiple range test(ANOVA)를 통한 유의성 검증을 실시하였음

즉석수프 관능 설문지

성명 : _____ 일자 : _____

* 앞에 제시된 샘플을 왼쪽부터 순서대로 평가하여 주시기 바랍니다.
* 냄새는 하나의 시료를 평가후 30초 이상 린스 후 평가하여 주십시오.

298 537 461

- 색 -
기호도 (1-대단히 싫다, 5-중지도 싫지도 않다, 9-대단히 좋다)
1 2 3 4 5 6 7 8 9

- 향 -
기호도 (1-대단히 싫다, 5-중지도 싫지도 않다, 9-대단히 좋다)
1 2 3 4 5 6 7 8 9

- 맛 -
기호도 (1-대단히 싫다, 5-중지도 싫지도 않다, 9-대단히 좋다)
1 2 3 4 5 6 7 8 9

- 전체적인 기호도 -
전체적인 기호도 (1-대단히 싫다, 5-중지도 싫지도 않다, 9-대단히 좋다)
1 2 3 4 5 6 7 8 9

* 개선점에 대한 의견 부탁드립니다.

그림 23. 레시피 설정을 위한 수프 기호도 검사지.

④ 최종 배합비 확립

- 당사에서 생산중인 단호박크림수프 원료와 배합비를 참고하여 고령친화식품 규격에 적합하게 변형하여 영양 강화 및 초미세분말 커큐민과 쌍별귀뚜라미 고기능성 소재를 포함하는 고령친화용 즉석분말수프 시작품의 최종 배합비를 결정하였음.

(나) 고령친화용 고기능성 향노화 즉석분말수프의 기준규격 및 품질기준 설정

① 시작품 기준규격

㉞ 고령친화식품 규격

- 식품의약품안전처 인증규격 & 고령친화식품 위생지표균 규격에 적합한 제품 (식품의약품안전처고시 제 2019-31호) (그림 24).

- 대장균 (n=5, c=0, m=0)
- 쌍별귀뚜라미 중금속 기준 납 0.3mg/kg, 카드뮴 0.3 mg/kg

- 한국산업표준 (KS H 4897) 고령친화식품 식품 규격 (2019. 12. 06 개정)

- 단백질, 비타민A, C, D 등 8종의 영양성분 중 3종 이상이 제품 100g 당 한국인 영양섭취기준의 10% 이상 되도록 원료 식품을 조합하거나 영양성분을 첨가함.

㉟ 즉석조리식품 기준규격

- 식품공전> 식품 유형별 기준규격. 제5. 22-2(3) 즉석조리식품 (비살균제품, 가열후 섭취제품)
- 대장균 (n=5, c=1, m=0, M=10), 황색포도상구균 (1 g 당 100 이하), 살모넬라 (n=5, c=0, m=0/25 g)

붙임 1 KS H 4897 고령친화식품 중 품질기준

□ 붙임1: 'KS H 4897 고령친화식품' 중 품질기준 발해

표 1 - 고령친화식품의 품질 기준

구 분	기 준		
	1단계 (치아 불편)	2단계 (잇몸 약화)	3단계 (혀보 불편)
성장	고유위 식재료 함유를 가지고 어미, 어취 및 비늘이 없어야 한다.		
경도* (N/m ²)	500 000 이하	50 000 이하 - = 50 000 초과	20 000 이하
경도 (mPa·s)	-	-	1 500 이상
영양 성분*	단백질	6 g/100 g 이상	
	비타민 A	75 µg RAE/100 g 이상	
	비타민 C	10 mg/100 g 이상	
	비타민 D	1.5 µg/100 g 이상	
	리보플라빈	0.1 mg/100 g 이상	
	니아신	1.6 mg NE/100 g 이상	
	칼슘	80 mg/100 g 이상	
	칼륨	0.35 g/100 g 이상	
	식이섬유	2.5 g/100 g 이상	

* 단일 원료가 아닌 경우, 경도가 가장 높은 원료를 기준으로 하여 적용한다.
 * 영양성분 중 3개 이상의 항목을 충족하여야 한다.

붙임 3 고령친화식품 관련 「식품 등의 기준 및 규격」

□ 붙임2: 「식품 등의 기준 및 규격」, 식품의약품안전처고시 제2019-31호

〈 고령친화식품 용어의 범위 〉

제1. 용어
1. 용어의 범위
 ① "고령친화식품"이란 고령자의 식품 섭취나 소화 등을 돕기 위해 식품의 용량을 조절하거나, 소파에 용이한 성분이나 형태가 되도록 처리하거나, 영양성분을 조절하여 제조·가공된 식품을 말한다.

〈 고령친화식품 제조·가공기준 〉

제2. 제조·가공기준
 2019 고령친화식품은 다음에 적합하게 제조·가공하여야 한다.
 ① 인공물로 인한 위해가 발생할지 아니하도록 과립물 및 세소화는 충분히 세척된 후, 식품첨가물로 유용한 성분으로 가공 후 제조된 원료 중 농도 제한없이 사용한다. 알갱이를 제거하여 밀가루는 과립물, 과립물의 재질 후 과립과정이 없는 과립물 또는 세소화는 세척한다.② 육류, 가공한 조식 등 동식물성유연물은 원료로 사용하는 경우 중농도 건조로 가공하여야 한다.
 ③ 고령자의 질리, 소화, 흡수, 배설, 배변 등에 농축을 고려하여 제조·가공하여야 하며, 인공물 또는 화학물질을 사용하지 않는다.
 ④ 제품 200g 당 단백질, 비타민 A, C, D, 리보플라빈, 니아신, 칼슘, 인산, 식이 섬유 중 3종 이상의 영양성분을 제조·가공시 평균 20~30% 증가된 영양성분, 국가인증공인시험 또는 중농도농도 20% 이상에 저도농도 원료성분을 조합하여 나 영양성분을 첨가하여야 한다.
 ⑤ 고령자가 섭취하기 용이하도록 경도 200,000 N/m² 이하로 제조하여야 한다.

〈 중 농 〉

제3. 제조·가공기준에 대한 중농기준 및 범위
3. 제조·가공기준에 대한 중농기준
 ① 미생지표균
 가. 대장균
 나. 황색포도상구균
 다. 살모넬라
 라. 고령친화식품
 ② 대장균: n=5, c=1, m=0/25g에 한함)
 ③ 대장균: n=5, c=0, m=0/25g에 한함)

- ⑤ 식품공전(건조물로서)
- 갈색저지리유층: 납 0.1 mg/kg 이하, 카드뮴 0.05 mg/kg 이하, 비소 0.1 mg/kg 이하
 - 쌍별귀뚜라미: 납 0.3 mg/kg 이하, 카드뮴 0.3 mg/kg 이하
 - 청수풍뎡어유층: 납 0.3 mg/kg 이하, 카드뮴 0.3 mg/kg 이하
 - 흰점박이꽃무지유층: 납 0.3 mg/kg 이하, 카드뮴 0.05 mg/kg 이하, 비소 0.1 mg/kg 이하

그림 24. 고령친화식품 인증을 위한 품질기준 및 규격.

② 시작품 즉석분말수프 제작

㉞ 시작품 즉석분말수프는 (주)정심식품에서 HACCP 반영 즉석조리식품 규격 공정별 가공 방법 및 관리기준 작업 지시서에 의하여 생산하였음.

㉟ 시작품 디자인 및 용기

- 용기 외형의 디자인은 본 연구팀과 전문 디자인 업체의 협의하에 고령친화식품 규격과 콘셉트에 부합하고 소비자 선호도가 높을 것으로 예측되는 시안을 선정하였음.

- 뚜껑과 접이식 스푼을 함께 제공하여 간편편이식을 추구하는 시작품 콘셉트를 충족하였음.
- 개발된 디자인으로 시제품용 용기를 제작하였음.

③ 시작품 즉석분말수프의 품질 특성 검토

- ㉠ 초미세분말 커큐민과 쌍별귀뚜라미 고기능성 소재를 포함하는 고령친화용 즉석분말 수프 시작품을 HACCP 반영 즉석조리식품 규격 제조공정도와 작업 지시서에 따라 제작하여 그 외관, 관능검사, 영양성분, 구성아미노산 조성을 분석하여 고령친화식품으로서의 적합성을 검토하였음.
- ㉡ 외관 및 색도는 Hunter 색차계(CM-360A, Minolta Konica)을 이용하여 disposable plastic cell 10 mm 으로 3반복 측정하였음.
- ㉢ 관능평가는 25 ~ 55세 사이의 남녀 16명을 패널로 선정하고, 오전 10 ~ 11시 사이에 9점 채점법을 사용한 다시로 비교법으로 진행하였음. 시료 제시는 시료 20g을 난수표로 표기한 흰색 일회용 소주컵에 담아 생수와 함께 제공하였음. 시료는 (주)정심식품 깔리또 즉석분말수프 권장 제조법에 의거하여 제조한 즉시 제시하였음. 관능적 품질 요소는 외관, 향, 맛, 전반적인 기호도를 평가하였음.

③ 영양성분 분석(공인기관 의뢰)

- ㉠ 9대 영양성분, 비타민 D, 칼슘은 공인기관인 (주)바이오푸드랩에 의뢰하여 분석하였음.
- ㉡ 데일리 파워 업 단호박크림수프의 커큐민 함량은 수용성 초미세분말 커큐민 함량 분석법과 동일하게 경기도경제과학진흥원에 의뢰하여 분석하였음.

④ 저장안정성

㉠ 유통기한 설정

- 시작품 즉석분말수프의 유통기한 설정기간 검토를 위하여 전문 식품위생검사기관인 (주)바이오푸드랩에 의뢰하였으며, 가속 조건에서 상온 6개월 유통기한 설정 가능성을 의뢰하였음(즉석조리식품의 유통기한: 상온 12개월이나 과제 일정상의 한계로 6개월 의뢰함).
- 분석항목은 즉석조리식품(비살균제품) 규격에 기준하여 위생지표균으로 일반세균수, 대장균, 황색포도상구균, 살모넬라와 관능평가를 실시하였음.

㉡ 당사 자체 저장안정성 검토

- 시작품 즉석분말수프의 저장안정성은 상온에서 90일 이상 보관하며 생균수, 황색포도상구균, 대장균은 3M film(3M, USA)으로, 살모넬라균은 salmonella용 KIT(MC-Media Pad, JNC corporation)을 이용하여 35 ℃에서 24 ~ 48 시간 배양하여 균수 변화를 조사하였음.

(다) 고령친화용 고기능성 향노화 즉석분말수프의 유통시스템 구축 및 산업화

- ① 식품품목제조보고
 - ② 생산 단가 계산
 - ③ 고령친화식품 인증용 고기능성 향노화 즉석분말수프 사업화를 위한 홍보자료 개발 및 마케팅
 - ④ 어플리케이션 개발
- 국내 즉석수프 시장은 주관연구기관의 깔리또 스푼 이외에 (주)농심에서 판매중인 보

노 컵수프, 오투기 크루통 컵수프, 샘표식품에서 판매하는 폰타나 수프 등이 시판되고 있음(그림 25). 옥수수, 버섯, 감자, 토마토, 치즈, 양파, 시금치 등 다양한 맛의 수프가 시판되고 있으며 맛과 영양을 강조하고 있으나 노인기 영양과 신체특성을 고려한 제품은 없음.

제품명	갈리토스프	보노 컵수프	크루통 컵수프	폰타나 수프
외관				
판매처	(주)정심식품: 자사제품	(주)농심	(주)오투기	(주)샘표식품
판매가 (3개/1pk)	2,600원	3,500원	2,980원	2,680원
특징	<ul style="list-style-type: none"> • 가격 경쟁력 • 천연칼슘 식이섬유 함유 • MSG, 보존료 무첨가 	<ul style="list-style-type: none"> • 국내 시장 점유율 1위 	<ul style="list-style-type: none"> • 최저 칼로리 • 중량 최대 	<ul style="list-style-type: none"> • 건조옥수수 • 제나트륨

그림 25. 국내 즉석분말수프 판매 현황.

<자료출처: google, <https://news.joins.com>>

- 국내 즉석분말수프 판매 제품 중 판매순위가 높은 까망베르감자수프, 버섯크림수프, 프렌치어니언수프, 스위트콘수프를 추가 선정하고 시작품 즉석분말수프인 단호박크림수프 개발 방법과 같이 고령친화식에 적합하게 수용성 초미세분말 커큐민, 비타민 D, 킬슘의 영양강화와 0.3% 쌍별귀뚜라미 고기능성 소재를 첨가하여 예비 관능검사를 실시하였음.

(2) 연구수행 결과

(가) 고령친화용 고기능성 항노화 즉석분말수프의 large scale 생산 공정 구축 및 표준화

① 즉석분말수프의 large scale 표준 제조공정도

㉠ 쌍별귀뚜라미 반응물과 수용성 초미세분말 커큐민을 함유하는 고령친화 즉석분말수프 표준 제조공정도는 그림 26과 같음.

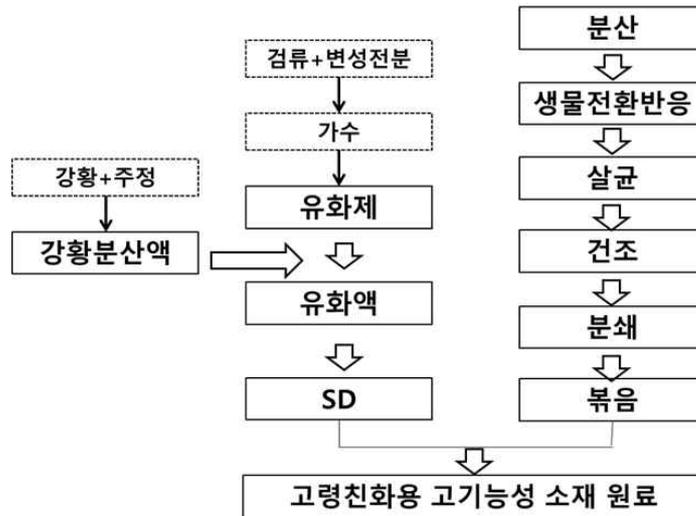


그림 26. 고령친화용 즉석분말수프 고기능성 소재 표준 제조공정도.

㉞ HACCP 반영 즉석조리식품규격 최종 표준공정도 설정

쌍별귀뚜라미 반응물과 초미세분말 커큐민을 함유하는 고령친화 즉석분말수프 제조 및 생산을 위한 HACCP 반영 즉석조리식품 규격 제조 공정에 의한 최종 표준공정도와 공정별 가공 방법 및 관리기준 작업 지시서는 그림 27, 표 25와 같음.

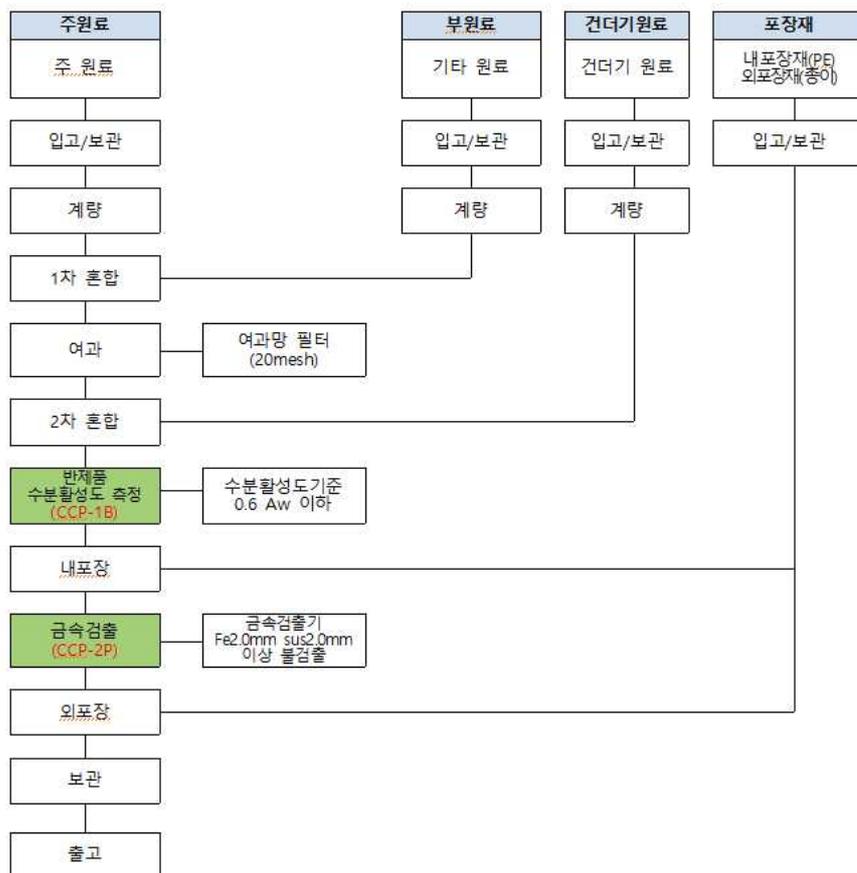


그림 27. 고기능성 향노화 즉석 분말 수프 HACCP 반영 즉석조리식품 규격 제조공정도.

표 25. 고기능성 향노화 즉석 분말 수프 HACCP 반영 즉석조리식품규격 공정별 가공방법 및 관리 기준 작업 지시서

제조공정	가공방법 및 관리기준	시설/설비
입고/보관	<ul style="list-style-type: none"> - 입고기준에 적합한 원료 및 포장재만 입고한다. · 입고 기준 : 시험성적서 확인, 원·부재료 육안검사 기준 적합 - 부적합제품의 경우 식별표시 후 반품 또는 폐기한다. - 입고된 원재료 및 포장재는 원재료창고(실온)에 보관하여 사용한다. 	운송차량, 팔레트, 원재료창고
계량	<ul style="list-style-type: none"> - 배합 당 소요되는 원료를 구분하여 계량한다. · 사전 소분 또는 계량하여 보관 시에는 용기에 소분일자/가공일자를 표기한다. 	계량저울, 계량용기
1차 혼합	<ul style="list-style-type: none"> - 계량된 원부재료를 넣고 균일하게 10분 이상 배합한다. · 배합한 원료를 용기에 이동 시에는 제품명/제조일자를 표기한다. · 건더기류는 제외하며, 여과 이후 2차 혼합 진행한다. 	리본믹서기
여과	<ul style="list-style-type: none"> - 혼합된 공정품을 20mesh 여과망에 통과시켜 혼입 가능성 있는 이물을 제거한다. · 여과 기준 : 20mesh 여과망에 통과 · 점검 기준 : 이물 확인, 여과망 파손상태 확인 	여과망
2차 혼합	<ul style="list-style-type: none"> - 1차 혼합 분말에 건더기류를 혼합한다. 	
반제품 수분활성도 측정 (CCP-1B)	<ul style="list-style-type: none"> - 공정 중 반제품의 수분활성도를 측정한다. · 수분활성도 기준 : 0.6 Aw 이하 	수분활성도 측정기
내포장	<ul style="list-style-type: none"> - 이상이 없는 것으로 확인된 제품을 내포장재에 담고, 중량을 확인한 뒤 내포장한다. - 해당제품의 유통기한 날인을 확인하여 이상여부를 확인하고, 해당 유통기한을 기록관리한다. 	저울, 내포장도구
금속검출 (CCP-2P)	<ul style="list-style-type: none"> - 금속검출기를 통과시켜 금속이물이 혼입된 제품을 제거한다 · Fe 2.0 mmΦ, sus 2.0 mmΦ 이상 불검출 	금속검출기
외포장	<ul style="list-style-type: none"> - 금속검출기를 통과한 제품을 외포장실에서 단상자(종이) 및 외박스(종이)에 포장한다 	
보관	<ul style="list-style-type: none"> - 외포장이 완료된 완제품을 팔레트에 5단 이하로 적재하여 창고에 보관한다. 	제품창고(실온)
출고	<ul style="list-style-type: none"> - 택배 및 외주 배송차량을 이용하여 출고 한다. 	지게차, 배송차

② 고령친화용 고기능성 향노화 즉석분말수프 개발

㉠ 기본 RECIPE 확립

- 수용성 초미세분말 커큐민과 쌍별귀뚜라미 고기능성 소재를 포함하는 고령친화용 즉석분말수프의 관능 기호도 평가 결과는 표 26에서 나타난 바와 같이 쌍별귀뚜라미 고기능성 소재 함량이 0.3 ~ 0.9% 이내에서 외관, 향, 맛, 전체적인 기호도에서 높게 평가되었으며 1.0% 이상 첨가되면서 외관의 갈색도가 증가되고 소재 고유의

맛을 이미로 감지하는 등 부정적으로 분석되었으며 예비 관능평가 결과에 따라 쌍별귀뚜라미 고기능성 소재 함량은 0.3%로 선정하였음.

표 26. 쌍별귀뚜라미 고기능성 소재 배합비 선정을 위한 기호도 검사

쌍별-B(%) ²⁾	외관	향	맛	전체적인 기호도
0	5.19±.91	6.50±1.10	5.75±0.93	6.06±1.00
0.3	5.50±0.89	6.56±0.81	7.13±1.09	6.63±0.89
0.6	5.13±0.96	6.63±0.62	6.50±1.26	6.13±1.09
0.9	4.81±0.91	6.19±0.66	6.00±1.21	5.50±0.97
1.0	4.81±0.98	5.88±0.89	6.06±0.93	5.44±1.03
2.0	4.38±0.62	5.81±0.66	4.25±0.68	4.06±0.77
3.0	3.69±1.01	4.94±1.00	3.06±0.68	2.81±0.83

¹⁾ 쌍별-B : *Bacillus*로 생물전환한 고기능성 소재.

㉞ 최종 배합비 확립

- 주관연구기관의 깔리또 단호박크림수프 배합비를 참고하여 배합비 선정을 위한 예비 관능평가 결과와 고령친화식품에 적합한 영양성분 강화용 원료를 보완한 고령친화식품용 시작품 단호박크림수프 최종 배합비를 결정하였음 (표 27). 최종 시작품으로는 *Bacillus* 생물전환한 고기능성 소재를 함유하는 제품으로 선정하여 1종을 생산하였음. 이 때 고령친화식품 영양소 기준 성분인 단백질, 비타민 D, 칼슘 보강을 위하여 두유 분말, 비타민 D, 칼슘 재료를 추가 또는 보완하였음.

표 27. 고령친화용 고기능성 항노화 즉석분말수프 배합비

(주)정심식품 칼리또 단호박크림수프 (기준제품)		(주)정심식품 데일리 파워 업 단호박크림수프(시작품)	
원재료	배합비율(%)	원재료	배합비율(%)
[Blank area for ingredient composition]			
총합	100	총합	100

(나) 고령친화용 고기능성 항노화 즉석분말수프의 기준규격 및 품질기준 설정

① 시작품 콘셉트

㉠ 제품명 : 데일리 파워 업 고령친화수프

- 매일 활기차고 아름답고 활동적인 건강한 삶
- 실제 고령층이 거부감을 느끼는 “노인, 고령, 시니어, 실버” 등의 직접적인 단어는 사용하지 않음.

㉡ 주요 대상

- 경제력을 바탕으로 다양한 매체를 이용해서 편리한 삶을 추구하여 실제로 생활편이품(HMR, CMR)을 구매할 수 있는 능력을 가지는 50 ~ 65세 액티브 시니어를 제품의 주요 소비군으로 선정

㉢ 제품 특징

- 미래대체소재인 쌍별귀뚜라미 내에 함유되어 있는 다량의 고령친화 맞춤형 영양성분(단백질, 비타민D, 칼슘)과 항산화 커큐민을 함유한 고령친화식품
- 난용성 생리활성물질인 커큐민을 나노 분쇄하여 흡수율을 높인 고령친화형 소재화
- 번거로운 조리과정 없이 한 번에 물만 부어 섭취 가능한 CMR 제품
- 물리적 노화에 따른 신체기능의 저하를 고품질의 영양성분으로 보완하여 건강하고 활력 있는 삶을 추구할 수 있는 제품

㉣ 데일리 파워 업 단호박크림수프의 조리 후 외관은 그림 28과 같음.



그림 28. 시작품 취식 전 상태.

㉮ 시작품 디자인 및 용기

- 고령친화식품 규격과 콘셉트에 부합하는 시작품 디자인은 기본으로 제작된 시제품 용 용기와 제공형태는 그림 29와 같음.
- 뚜껑과 접이식 스푼을 함께 제공하여 간편편이식을 추구하는 시작품 콘셉트를 충족하였음.



[용기 외부]



[내부 상태(수프, 스푼)]



[용기 디자인 시안]



[용기 입고 후 전체 사진]

그림 29. 고령친화용 고기능성 향노화 즉석분말수프 시작품.

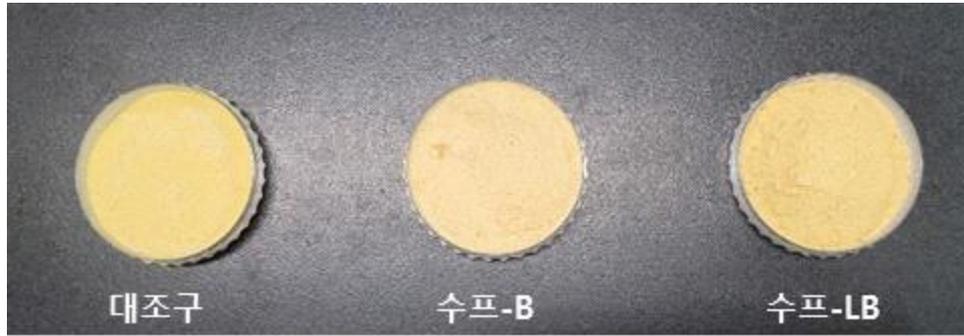


그림 31. 고령친화용 고기능성 향노화 즉석분말수프 외관.

대조구 : (주)정심식품 단호박크림수프, 수프-B : 데일리 파워 업 고령친화수프(*Bacillus* 소재 함유), 쌍별-LB : 데일리 파워 업 고령친화수프(*Lactobacillus* 소재 함유).

- ㉔ 수용성 초미세분말 커큐민과 쌍별귀뚜라미 고기능성 소재를 포함하는 고령친화용 즉석분말수프 2종의 L*, a*, b*값은 표 28와 같음. 기존 제품과 비교하여 L*값과 b*값이 유의적으로 감소하였음 (p<0.05). *Bacillus* 소재가 첨가된 데일리 파워 업 고령친화수프는 다른 두 종류의 수프와 비교하여 전반적으로 값이 낮아졌는데 *bacillus* 소재가 첨가된 수프-B를 먼저 생산하여 길어진 저장 기간중 탈색이 진행된 것으로 생각되었음.

표 28. 고령친화용 고기능성 향노화 즉석분말수프 color value.

Sample	L*	a*	b*	ΔE*ab
대조구	77.07±0.06a ¹⁾	6.52±0.16b	47.09±0.70a	
수프-B	76.45±0.12b	5.79±0.07c	29.29±0.19c	17.82
수프-LB	75.85±0.03c	7.03±0.15a	37.20±0.46b	9.98
F value	177.85	63.04	967.17	
Pr>F	<.0001	<.0001	<.0001	

¹⁾ The values with different letters in a column (a-g) are different significantly by duncan's test (p<0.05).

²⁾ 대조구 : (주)정심식품 단호박크림수프, 수프-B : 데일리 파워 업 고령친화수프(*Bacillus* 소재 함유), 쌍별-LB : 데일리 파워 업 고령친화수프(*Lactobacillus* 소재 함유).

③ 성분 분석(공인기관 의뢰)

- ㉕ 시작품으로 제작한 고령친화용 고기능성 향노화 즉석분말수프의 고령친화 영양성분 분석을 위한 9대 영양성분, 비타민 D, 칼슘의 분석 결과는 표 29와 같음. 쌍별귀뚜라미 고기능성 소재를 포함하는 고령친화용 즉석분말수프 2종의 단백질, 비타민 D, 칼슘 함량을 한국인 영양섭취기준과 비교하였을 때 각각 297 ~ 314%, 317 ~ 330%, 13,068% ~ 15,440%, 이상 높은 것으로 분석되어 고령친화식품 규격을 충족하는 제품으로 판단되었음(첨부 4 참조).

표 29. 고령친화용 고기능성 향노화 즉석분말수프의 영양성분 분석

시험항목	한국인 영양섭취기준	수프-B ¹⁾	수프-LB ¹⁾
열량 (kcal/100g)		411.72	418.37
탄수화물 (g/100g)		59.99	55.78
당류 (g/100g)		15.94	17.43
조단백질 (g/100g) ²⁾	6	16.75(279%)	18.82(314%)
조지방 (g/100g)		11.64	13.33
포화지방 (g/100g)		8.32	6.11
트랜스지방 (g/100g)		0.00	0.00
콜레스테롤 (mg/100g)		2.64	0.72
나트륨 (mg/100g)		868.66	1,000.21
Vitamin D (ug/100g) ²⁾	1.5	196.02(13,068%)	23.16(15,440%)
칼슘 (mg/100g) ²⁾	80	253.55(317%)	264.03(330%)

¹⁾ 수프-B : 데일리 파워 업 고령친화수프(*Bacillus* 소재 함유), 쌍별-LB : 데일리 파워 업 고령친화수프(*Lactobacillus* 소재 함유).

²⁾ 고령친화식품 한국산업표준(KS H 4897)규격 선택 영양성분(2019. 12. 06 개정) 비교.

㉔ 고령친화용 고기능성 향노화 즉석분말수프의 커큐민 함량은 그림 11-1의 표준곡선 정량곡선으로 산출한 수용성 초미세분말 커큐민은 1.2 ~ 1.32 mg/g으로 분석되었으며 크로마토그램은 그림 11-2와 같음 (첨부 2 참조).

④ 저장안정성

㉕ 유통기한 설정(공인기관 의뢰)

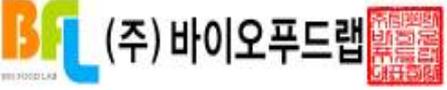
- 시작품의 유통기한 연장실험은 전문 식품위생검사기관인 (주)바이오푸드랩에 의뢰하였음(첨부 5 참조).
- 의뢰 시료를 25℃, 35℃, 45℃에서 90일 까지 저장한 결과 모든 온도구에서 대장균, 황색포도상구균, 살모넬라는 검출되지 않았음.
- 일반세균수의 경우 저장 0일 540 CFU/g에서 모든 온도구에서 시간이 지날수록 감소되는 경향으로 저장 90일 이후에는 25℃ 260 CFU/g, 35℃ 230 CFU/g, 45℃ 150 CFU/g이었음.
- 모든 온도구에서 저장 90일까지 미생물학적 품질 한계값은 적합을 유지하였음.
- 관능검사의 경우 모든 온도구에서 시간이 지날수록 감소되는 경향이었음.
- 각 품질 지표의 결정계수 분석 결과 관능검사의 0차 반응식 결정계수가 0.9908로

가장 높아 본 시료의 유통기한 설정을 위한 품질 지표로 결정되었음.

- 설정한 품질 지표 중 결정계수가 가장 높은 관능평가의 0 차 반응식으로 35 ℃ 에서 7.68 개월의 유통기한이 산출되었음. 유통 과정 중의 외부적 요인을 고려하여 실제 유통기한은 단축될 수 있으므로 실험 기간(7.68 개월) × 안전계수(0.8) = 6.14 개월로 추정되지만 실험 기간에 따른 최대 유통기한은 6 개월 이내로 하는 것을 권장하였음(단, 본 제품은 35 ℃ 이하로 유지 관리되어야 함) (그림 32).
- 그러나 실험 종료일인 90일 이후 기호도 평가값이 7 이상인 것을 고려하였을 때 35℃ 에서도 즉석조리식품 유통기한을 만족시킬 수 있을 것으로 기대됨.

**(데일리 파워 업 단호박크림수프)의
유통기한설정실험 결과보고서**

2021년 01월



서울특별시 구로구 디지털로 30길 28 마리오타워 1411호
Tel. 070-7410-1400, Fax. 070-7410-1430

실험 결과보고서 요약				
제목	"데일리 파워 업 단호박크림수프"의 유통기한설정실험			
실험구분	자체실험() 피피실험(○)			
실험기간	2020년 09월 28일 - 2020년 12월 30일			
실험수행 기관	업소명	(주)정심식품	대표자	정승원
	주소	경기도 성남시 중원구 사기막길로 124, 500호 (상대원동, 에스케이엔테크노파크 테크센터)	연락처	031-776-2255
실험수행 기관	기관명	(주)바이오푸드랩	대표자	이용표
	주소	서울시 구로구 디지털로 30길 28 마리오타워 1411호	연락처	070-7410-1400
실험 참여자	실험검사 책임자	장영복	연구원	윤정환
	연구원	서세진	연구원	문태성
	연구원	이동규	연구원	김민주
	연구원	최주리	연구원	정다운
실험 결과	요약			
	* 유통기한 실험 결과			
	품질지표	통관한계	기준	
	일만배균수(CFU/g)	100,000 이하	미생물학적 요구 부패 시험	
	대장균(CFU/g)	0	세균발효 제 2, 세균발효 기준 및 한계 22.극저산균류 22-2 극저산균 - 칸티세균류 (3) 극저산균	
	황색포도상구균 (CFU/g)	100 이하	세균발효 제 2, 세균발효 기준 및 한계 22.극저산균류 22-2 극저산균 - 칸티세균류 (3) 극저산균	
	살모넬라	음성	세균발효 제 2, 세균발효 기준 및 한계 22.극저산균류 22-2 극저산균 - 칸티세균류 (3) 극저산균	
관능평가	5 이상	9 점 척도법 기호도		
→ 설정한 품질지표 중 결정계수가 가장 높은 관능평가의 0 차반응식으로 35 ℃에서 7.68 개월의 유통기한이 산출되었다. 하지만 유통 과정중의 외부적 요인을 고려하여 실제 유통기한은 단축될 수 있으므로 실험기간(7.68 개월) × 안전계수(0.8) = 6.14 개월로 추정되지만 실험 기간에 따른 최대유통기한은 6 개월 이내로 하는 것이 바람직하다. (단, 본 제품은 35 ℃ 이하로 유지 관리되어야 한다.)				

그림 32. 유통기한 설정 실험 결과 (보고서 요약)

㉠ 당사 자체 저장안정성 검토

쌍별귀뚜라미 고기능성 소재를 포함하는 고령친화용 즉석분말수프 2종을 함유하는 고기능성 향노화 즉석분말수프를 상온에서 저장 90일까지 보관하며 생균수, 대장균, 황색포도상구균, 살모넬라균 변화를 확인한 결과 저장기간 동안 모든 처리구에서 병원성균은 검출되지 않았으며 생균수의 경우 서서히 증가하는 경향이었음 (2021.01. 현재 진행중) (표 30).

표 30. 고령친화용 고기능성 향노화 즉석분말수프 생균수 변화

	저장기간			
	0	30	60	90
수프-B ¹⁾	2.50±0.12	3.56±0.09	3.81±0.00	2.75±0.21
수프-LB ¹⁾	2.20±0.04	2.25±0.07	0.59±0.16	2.42±0.14

¹⁾ 수프-B : 데일리 파워 업 고령친화수프(*Bacillus* 소재 함유), 쌍별-LB : 데일리 파워 업 고령친화수프(*Lactobacillus* 소재 함유).

(다) 고령친화용 고기능성 향노화 즉석분말수프의 유통시스템 구축 및 산업화

① 식품품목제조보고 (그림 33)

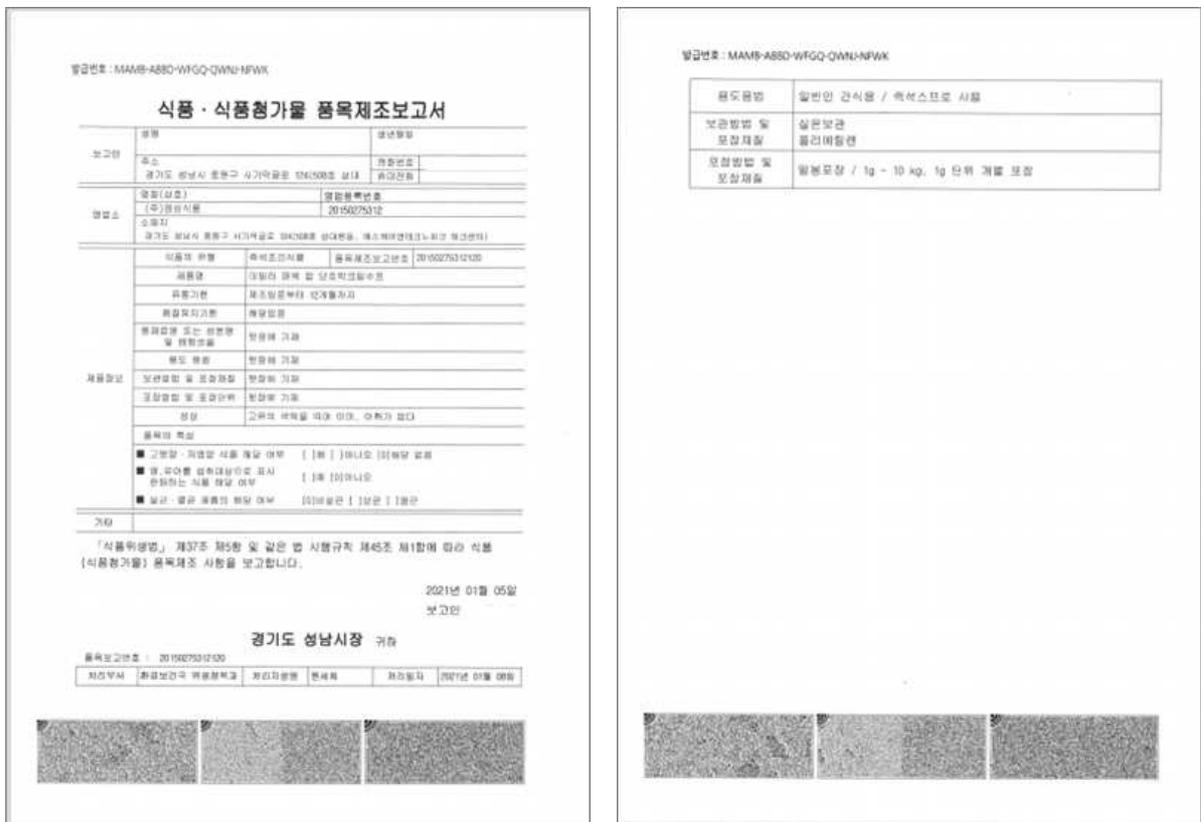


그림 33. 데일리 파워 업 단호박크림수프 품목제조보고서(발체).

② 생산 단가 계산

㉞ 20g 1봉지 당 제조원가

- 주원료비, 인건비, 내포장, 컵, 수프, 개페리드, 제조경비, 감가상각비, 기타 비용을 고려하여 산출된 제조원가를 산출된 제조원가는 20g 1봉지 1박스 당 1,500원 미만으로 산출되었음.

③ 고령친화식품 인증용 고기능성 향노화 즉석분말수프 사업화를 위한 홍보자료 개발 및 마케팅

㉔ STP 분석을 통한 개발 제품의 소구점(訴求點, appeal point) 확보 (그림 34).

- 고령층의 소비패턴 및 고령친화제품의 판매 패턴 파악
- 시장 세분화 및 4PS 마케팅 믹스 전략을 활용한 타깃 선정
- 제품의 주요 타깃 분석을 통한 판매 제품의 포지셔닝 확정
- 시장, 타깃 및 포지셔닝 선정을 통한 마케팅 전략 도출



그림 34. (주)정심식품 4PS 마케팅 믹스 전략 기본안.

㉕ 사업화 일정에 따른 마케팅 전략

	2021년 (개발종료 후 1년)	2022년 (개발종료 후 2년)	2023년 (개발종료 후 3년)
목표	<ul style="list-style-type: none"> • 제품 인지도를 소비자들에게 각인 • 브랜드 충성도를 견인할 수 있는 핵심 고객층 확보 	<ul style="list-style-type: none"> • 유통채널 대중화 • 브랜드 이미지의 대중화 	<ul style="list-style-type: none"> • 아시아 중심의 해외시장 진출
마케팅전략	<ul style="list-style-type: none"> • 관련 기술 특허, 연구논문 활용한 제품 신뢰도 구축 • 기존 거래처 적극 활용 • 시식, 샘플 제공-테스트를 통한 마케팅 • 식품 카페쇼, 박람회 참가 • SNS 마케팅 	<ul style="list-style-type: none"> • 자사 판매 • 국내 영업 추진 후 품질 및 가격 경쟁력 확보 • 해외 수출은 자체 설비 규모를 고려하여 향후 추진 예정 	<ul style="list-style-type: none"> • 자사 판매 또는 OEM을 통한 맞춤형 제품 생산 및 판매 • 대형 외식프랜차이즈, 매장용, 식품업체 맞춤형 제품 생산 및 판매 • 일본, 중국 및 동남아 및 해외 시장 수출 추진

④ 어플리케이션 개발

㉔ 끼망베르감자수프, 버섯크림수프, 프렌치어니언수프, 스위트콘수프에 0.3% *Bacillus*로 생물전환한 고기능성 소재를 첨가하여 관능검사를 실시한 결과 *Bacillus*로 생물전환한 고기능성 소재 첨가 유무에 관계없이 버섯크림수프, 끼망베르감자수프, 스위트콘수프, 프렌치어니언수프 순으로 기호도가 되었음.

㉕ 쌍별귀뚜라미 고기능성 소재의 함량을 증량하여 현재 후속 연구중임.

나. 협동연구기관 : 단국대학교

(1) 연구수행 내용

(가) 다양한 프로바이오틱균을 활용한 쌍별귀뚜라미의 생물전환기술 조건 연구

① 기능성 프로바이오틱 신규 균주 분리

㉔ 한국 전통발효 식품에서 0.1% pepsin과 0.3% bilt salt 조건에서 생존한 유산균주 28 종1차 분리. *Escherichia coli* KCTC 1683, *E. coli* O157:H7, *Staphylococcus aureus* KCTC 3881, *Bacillus cereus* KCTC 1012에 대한 항균활성을 통해 10개 균주 2차 선별. 그 중 α -glucosidase 저해 활성이 가장 높은 1개 균주 최종 선별하여 동정하였음.

② 쌍별귀뚜라미 발효

㉔ Starter는 *Lactobacillus plantarum* MKHA15, *L. plantarum* KCTC 3103, *Bacillus amylolique faciens* MKSK-J1, *B. amyloliquefaciens* MKSE 24 h 배양액을 사용하였음.

㉕ 쌍별귀뚜라미 열풍건조 분말 100 g에 2.5% glucose와 증류수를 넣고, 최종 solid: liquid= 1: 5가 되도록 증류수를 넣고 혼합하여 121°C에서 20 min간 멸균하였음. 35°C 부근까지 식힌 후, starter 24 h 배양액을 5%가 되도록 접종하고, 35°C에서 24 h 교반 배양 (130 rpm). 발효 종료 후, 샘플을 원심분리 (6,000 rpm, 5 min)하여 상등액만을 분리하였음. 일부 상등액은 -20°C에서 보관하며 실험에 사용하였고, 일부 상등액은 동결건조하여 실험에 사용하였음. 또한, 일부 상등액은 *in vitro* digestion 하여 실험에 사용하였음. Starter로 *L. plantarum* MKHA15를 사용한 발효 쌍별귀뚜라미는 HAGB, *L. plantarum* KCTC 3103을 사용한 것은 LPGB, *B. amyloliquefaciens* MKSK-J1을 사용한 것은 SKGB, *B. amyloliquefaciens* MKSE를 사용한 것은 SEGB, starter를 첨가하지 않은 것 (다른 과정은 모두 동일)은 CON으로 라벨링하였음.

(나) 생물전환기술을 이용한 현미 및 쌍별귀뚜라미를 첨가한 현미 발효물 제조

① 실험재료

㉔ 쌍별귀뚜라미는 크리켓팜 (화성시, 한국)에서 70°C, 10 h 조건으로 열풍 건조된 성충을 제공받아 사용하였음. 현미 (월드그린, 괴산, 한국) 및 설탕 (제일제당, 인천, 한국)은 지역 마켓 (이마트, 천안, 한국)에서 구매하여 사용하였음.

㉕ 발효를 위해 *Lactobacillus rhamnosus* GG (ATCC53103), *Leuconostoc mesenteroides* MKSR (KCTC13848BP), *Lactobacillus plantarum* MKHA11 (KCTC13927BP), *Bacillus amyloliquefaciens* MKSK J1 (KCTC18452P)를 포함한 총 4가지 프로바이오틱 균주가 사용되었음. *Lb. rhamnosus* GG 및 *Leu. mesenteroides* MKSR은 2% glucose (w/v)가 첨가된 LM broth [0.5% (w/v) yeast extract, 0.5% (w/v) peptone, 2% (w/v) K₂HPO₄, 0.02% (w/v) MgSO₄·7H₂O, 0.001% (w/v) NaCl, 0.001% (w/v) FeSO₄·7H₂O, 0.001% (w/v) MnSO₄·H₂O, 0.013% (w/v) CaCl₂·2H₂O], *Lb. plantarum* MKHA11은 De Man, Rogosa,

and Sharpe (MRS) broth, *B. amyloliquefaciens* MKSK J1은 nutrient broth에서 24 h 동안 37 또는 30°C 에서 배양하여 사용하였음.

② 현미 발효물 제조

㉔ 표 31은 총 10종의 현미 및 쌍별귀뚜라미 현미 발효물의 재료 배합비임. 5가지 샘플은 100% 현미를 첨가하여 준비하였고 (BR 샘플), 다른 5가지 샘플은 70% 현미와 30% 쌍별귀뚜라미 분말을 첨가하여 준비하였음 (GB 샘플). 설탕 45.5 g, 멸균 증류수 116-125 g과 *Lb. rhamnosus* GG (BRL, GBL), *Leu. mesenteroides* (BRS, GBS), *Lb. plantarum* MKHA11 (BRH, GBH), *B. amyloliquefaciens* MKSK J1 (BRJ, GBJ) 등의 종균을 각각 45.5 g 첨가하여 혼합한 후 25°C 에서 0, 18, 30, 48, 70 h 동안 발효하였음.

표 31. 현미 및 쌍별귀뚜라미 발효물 재료 배합

Ingredients (g)	Brown rice samples					Cricket mixed with brown rice samples				
	BRC ¹⁾	BRL	BRS	BRH	BRJ	GBC	GBL	GBS	GBH	GBJ
Brown rice flour	284.1	284.1	284.1	284.1	284.1	198.9	198.9	198.9	198.9	198.9
Cricket powder	-	-	-	-	-	85.2	85.2	85.2	85.2	85.2
Sucrose	45.5	45.5	45.5	45.5	45.5	45.5	45.5	45.5	45.5	45.5
Distilled water	161.5	116	116	116	116	170.5	125	125	125	125
LGG ²⁾	-	45.5	-	-	-	-	45.5	-	-	-
MKS	-	-	45.5	-	-	-	-	45.5	-	-
R	-	-	-	45.5	-	-	-	-	45.5	-
MKH	-	-	-	-	45.5	-	-	-	-	45.5
A11	-	-	-	-	-	45.5	-	-	-	-
J1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	45.5
Total	491.1	491.1	491.1	491.1	491.1	500	500	500	500	500

¹⁾ BRC: 현미 발효균 대조균, BRL: *Lb. rhamnosus* GG로 발효한 현미 샘플, BRS: *Leu. mesenteroides* MKSR로 발효한 현미 샘플, BRH: *Lb. plantarum* MKHA11로 발효한 현미 샘플, BRJ: *B. amyloliquefaciens* MKSK J1으로 발효한 현미 샘플, GBC: 쌍별귀뚜라미 첨가 현미 발효균 대조균, GBL: *Lb. rhamnosus* GG로 발효한 쌍별귀뚜라미 첨가 현미 샘플, GBS: *Leu. mesenteroides* MKSR로 발효한 쌍별귀뚜라미 첨가 현미 샘플, GBH: *Lb. plantarum* MKHA11로 발효한 쌍별귀뚜라미 첨가 현미 샘플, GBJ: *B. amyloliquefaciens* MKSK J1으로 발효한 쌍별귀뚜라미 첨가 현미 샘플.

²⁾ LGG: *Lactobacillus rhamnosus* GG, MKSR: *Leuconostoc mesenteroies* MKSR, MKHA11: *Lactobacillus plantarum* MKHA11, J1: *Bacillus amyloliquefaciens* MKSK J1.

(다) 전처리 방법에 따른 쌍별귀뚜라미의 이취 성분 분석

① 전처리 방법

㉔ 쌍별귀뚜라미는 열풍건조, 동결건조, 고온 고압 처리, 탈지를 포함하여 총 네 가지의 전처리를 거친 후 향기 성분 분석에 사용하였음. 열풍건조는 70°C 에서 10 h 동안 진행되었으며, 동결건조는 동결건조기 (TFD5503, ㈜일신 바이오베이스, 동두천시, 한국)를 이용하여 5일간 동결건조하였음. 고온 고압 처리는 고압증기멸균기 (PAC-60, Labhouse, 포천시, 한국)을 이용하여 121°C, 14.5 psi에서 15 min간 가열하여 진행하였음. 탈지는 헥산을 용매로 사용하여 쌍별귀뚜라미의 지방을 제거하였음.

② 이취 성분 분석

- ㉑ GC-MS는 solid-phase micro extraction (SPME, Supelco, Bellafonte, PA, USA)를 이용하여 5가지의 쌍별귀뚜라미의 향기성분을 분석하였음. Glass vial에 시료 3 g을 넣고 silicon/teflon septum으로 입구를 밀봉한 후 수온 60°C에서 15분간 100rpm으로 교반하여 내부를 평행 상태로 만들고 10분간 휘발성 성분을 fiber (50/30um DVB/CAR/PDMS 24Ga, Supelco, Bellafonte, PA, USA)에 흡착시켰음. 이후 220°C의 Gas chromatography-mass selective detector (GC-MSD; Agilent 7890A and 5975C, Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA)의 주입구 fiber를 삽입하여 10분간 탈착한 후 분석하였음. 분석 컬럼으로 HP-5MS (30 m × 0.25 mm, i.d. × 0.25 μm film thickness)를 사용하였고 carrier gas로 N₂ (1 mL/min)을 이용하였음. Oven의 온도는 초기 40°C에서 5분간 머문 후 분당 5° C를 증가시켜 200°C까지 상승시킨 후 10분 간 유지하였음. 주입구의 온도는 220°C였으며 splitless mode에서 분석하였음. Total ionization chromatogram (TIC)에서 분리된 성분들은 mass spectrum library (NIST version 12)를 이용하여 동정하였으며, 분리된 향기성분들의 peak 면적을 외부 표준물질 pentadecane 0.005 uL의 peak 면적과 비례 계산하여 시료 100 g당 ug으로 나타내었고 머무름 시간을 이용하여 머무름 지수를 계산하였음.
- ㉒ GC-O는 Agilent 7890A GC-MSD에 장착된 olfactory detection port (Gerstel Inc, Linthicum, MD, USA)를 이용하여 분석하였음. 2명의 실험자가 총 4번 반복 실험하였음. 측정은 GC-MS 분석과 동시에 진행하였으며 분석 초기 5분 내외로 용매가 elution되는 시간과 후각의 피로를 고려하여 후각측정은 GC-MS의 분석시간으로 5분에서 25분까지 진행되었음. 총 4단계 (1 = low, 2 = medium, 3 = strong, 4 = very strong)로 구분된 강도 센서를 이용하여 향의 강도 및 유지 시간을 측정하였으며 향기성분의 특징을 즉시 기록하였음.

(라) 이화학적 품질 특성 분석

① 일반성분 분석

- ㉑ 수분은 향량된 수분수기에 쌍별귀뚜라미 열풍건조 분말 1 g을 넣고, 75°C에서 향량에 도달할 때 까지 감압가열건조하여 수분 함량을 계산하였음.
- ㉒ 조단백질은 Kjeldahl 질소 정량법을 사용하였음. 켈달 플라스크에 시료 0.2 g과 분해 촉진제 2 g, 비등석 4 알을 넣고, 진한 황산 20 ml를 첨가하여 가열하여 분해하였음. 분해액을 증류수로 정용한 후, 분해액과 증류수 30% NaOH를 증류하여 0.05 M H₂SO₄에 암모니아 포집 후, 0.1 N NaOH로 적정하여 적정 소비량을 통해 조단백질 함량을 계산하였음.
- ㉓ 조지방은 속슬렛추출법을 사용하였음. 쌍별귀뚜라미 열풍건조 분말 2 g을 티블에 넣고, 105°C 건조기에서 3 시간 건조 후, 속슬레관에 연결하여 에테르를 이용해 8 시간 추출 후, 에테르를 휘발시켜 조지방 함량을 계산하였음.
- ㉔ 조회분은 직접회화법을 사용하였음. 향량된 도가니에 쌍별귀뚜라미 열풍건조 분말 2 g을 넣고, 550°C 회화로에서 향량에 도달 할 때 까지 회화하여 조회분 함량 계산하였음.

② 가수분해도 측정

- ㉑ 가수분해물의 가수분해도는 가수분해물 250 μL에 0.2 M sodium phosphate buffer(p

H 8.2) 2 mL 첨가하고 0.1% TNBS 2 mL를 가한 후 암실, 50°C에서 1 h 방치하였음. 반응 정지를 위해 0.1 N HCl 4 mL를 가한 후 340 nm에서 흡광도 측정하였음. 표준 시료로 L-leucine (0.15 ~0.75 mg/mL)를 사용하였으며 결과는 %로 표시하였음.

③ 총고형분 함량

㉔ 가수분해물 상등액을 스포이드를 이용하여 당도계(Brix 0.0 ~ 33.0%, ATAGO, Japan)에 떨어뜨린 후 눈금을 확인하였음.

④ SDS-PAGE

㉔ 가수분해물의 단백질 패턴은 sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis를 이용하여 분석하였음. 각 가수분해물은 10,000 rpm, 4°C, 1 min 원심분리 후 얻은 상등액 17 μL를 12% gel에 loading하여 60V에서 약 2시간 전기영동을 진행하고 Coomassie Brilliant Blue G(CBBG)로 염색한 뒤 destaining 용액(acetic acid:methanol:water=1:2:7)을 이용하여 탈색시켰음. 분자량 마커는 SMOBIO 제품을 사용하였음.

⑤ 유리아미노산 분석

㉔ 아미노산 프로파일은 high-performance liquid chromatography (HPLC) system (UltiMate 3000, Dionex, Sunnyvale, USA)을 이용하여 분석하였음. 동결건조물 0.5 g에 75% 에탄올을 첨가한 뒤 1 h 동안 sonicator에서 추출하였음. 추출액 0.5 μl를 INNO C18 column (4.6 mm x 150 mm, 5 μm)에 주입하여 분석하였음. 유속은 1.5 mL/min였으며, 40°C로 유지되었음. Aspartic acid, glutamic acid, serine, histidine, glycine, threonine, alanine, arginine, tyrosine, valine, methionine, phenylalanine, isoleucine, leucine, lysine, proline, cystine, glutamine, asparagine, tryptophan, hydroxy proline (Sigma-Aldrich, Saint Louis, MO, USA), γ-aminobutyric acid (GABA), taurine (Agilent, Santa Clara, USA)을 포함한 17종의 아미노산이 표준물질로 사용되었음. 필수아미노산 지수는 다음 식을 이용하여 계산하였음.

$$EAAI = \sqrt[n]{\frac{100 \times Leu_{sample}}{Leu_{reference}} \times \frac{100 \times Lys_{sample}}{Lys_{reference}} \times \dots \times \frac{100 \times Thr_{sample}}{Thr_{reference}}}$$

n: the number of essential amino acids considered for the calculation

EAA_{sample}: the content of essential amino acid

EAA_{reference}: the content of essential amino acid in reference protein (FAO, WHO, UNU, 2007)

(마) 항산화 활성

① DPPH assay, SOD-like activity, Reducing power는 1차년도와 동일한 방법에 의함.

② FRAP assay

㉔ 20배 희석한 가수분해물 시료 50 μL에 FRAP 용액 (300 mM acetate buffer: 10 mM TPTZ: 20 mM FeCl₃ · 6H₂O, 10: 1: 1) 1 mL를 넣고 37°C에서 30 분 반응시킨 후 590 nm에서 흡광도 측정하였음. 표준시료로 FeSO₄ (0.2~ 0.8 mM)을 사용하였으며 결과는 mM FeSO₄로 표시하였음.

㉔ Folin-Ciocalteu method를 이용하여 Total polyphenol contents (TPC)를 측정하였음.

(바) 항당뇨 활성

① 1차년도와 동일한 방법에 의함.

② α -amylase 저해 활성, α -glucosidase 저해 활성을 측정

(사) 항콜레스테롤 활성

① HMG-CoA reductase 저해 활성

㉞ HMG-CoA reductase assay kit (Sigma Aldrich, USA)를 사용하여 측정하였음. 시료 1 μ L, 1 X buffer 182 μ L, HMG-CoA 12 μ L, Nicotinamide-adenine dinucleotide phosphate (NADPH) 4 μ L와 HMG-CoA reductase 2 μ L를 순서대로 혼합하여 340 nm에서 10 min간 흡광도 측정. 양성 대조군으로 atorvastatin (100 mM)를 사용하였으며, 계산식은 아래와 같음.

$$\text{HMG-CoA reductase inhibitory activity (\%)} = \left(\frac{\Delta \text{Abs control} - \Delta \text{Abs sample}}{\text{Abs control}} \right) * 100$$

(아) 발효소재의 소화흡수율

① 인공 위장관 모델을 이용하여 분석

㉞ α -amylase (75 units/mL)와 혼합하여 37°C에서 2 min 반응시킨 후, 15 mL의 gastric juice와 혼합하여 37°C에서 2 h 동안 반응. pH를 6.9로 조정 한 후, 10 mL의 intestinal juice를 첨가하여 37°C에서 3 h 동안 반응. 100°C에서 10 min간 가열하여 효소를 불활성화시킨 뒤, 20 min 동안 6,000 rpm 및 4°C 조건에서 원심분리하였음. 침전물을 동결건조하여 소화율을 계산하였음. 침전물의 조단백 함량은 킬달법을 이용하여 분석하였음.

(자) 호화 특성

① 동결건조 분말 2.58 g을 증류수 25.4 mL와 혼합하여 Rapid Visco Analyzer (RVA-4, Newport Scientific, Jessup, MD, USA)를 이용하여 호화 특성을 분석하였음.

(차) 가공 특성

① 동결건조 분말 1.25 g에 증류수 30 mL를 혼합하여 60°C에서 30 min간 교반하였음. 6,000 rpm에서 15 min 원심분리한 후, 건조된 상등액 무게, 침전물 무게를 이용하여 water absorption index, water solubility index, swelling power를 계산하였음. 계산식은 다음과 같음.

$$\text{Water absorption index (g gel/g)} = W_{\text{precipitate}} / W_{\text{sample}}$$

$$\text{Water solubility index (\%)} = (W_{\text{dried supernatant}} / W_{\text{sample}}) \times 100$$

$$\text{Swelling power (g water/g)} = W_{\text{precipitate}} / (W_{\text{sample}} - W_{\text{dried supernatant}})$$

$W_{\text{precipitate}}$: Weigh of the precipitate (g)

W_{sample} : Weigh of the sample as dry basis (g)

$W_{\text{dried supernatant}}$: Weigh of the dried supernatant (g)

(2) 연구수행 결과

(가) 다양한 프로바이오틱균을 활용한 쌍별귀뚜라미의 생물전환기술 조건 연구

① 기능성 프로바이오틱 신규 균주 분리

㉞ 한국 전통발효식품 68종에서 0.1% pepsin과 0.3% 조건에서 생존한 28 개 균주 중, 항균 활성과 α -glucosidase 저해 활성을 기준으로 최종 균주 *Lactobacillus plantarum* MKHA15 (MKHA15)를 선별하였음. 선별 균주 MKHA15는 γ 타입의 hemolysis를 가

지며, β -glucuronidase 활성이 없는 안전한 균주임을 확인하였음 (표 32). MKHA15는 그람 양성, 간균이며, MRS 배지 상에서 점질물을 형성하고 catalase 활성은 음성인 특징을 가졌음 (표 33). MKHA15의 탄수화물 이용 능력 (표 34)과 16S rRNA 염기서열 분석으로 동정하였으며 (그림 35), 동정 결과 *Lactobacillus plantarum* subsp. *plantarum* ATCC 14917과 99.86%의 상동성을 가져 (표 35), 최종 *Lactobacillus plantarum* MKHA15로 명명하였음 (그림 36).

표 32. Hemolysis and β -glucuronidase activity of *L. plantarum* MKHA15

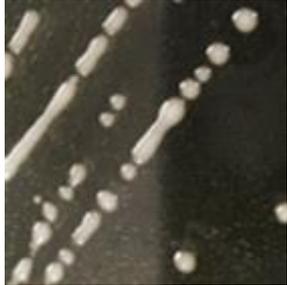
Strain	Hemolysis	β -glucuronidase activity	
		Activity (%)	Visible color
MKHA15	γ -hemolysis	4.49 \pm 2.19	Colorless
<i>E. coli</i> ¹⁾	N.D. ³⁾	47.81 \pm 11.48	Yellow
<i>B. cereus</i> ²⁾	β -hemolysis	N.D.	N.D.

¹⁾ *Escherichia coli* KCTC 1682: Positive control of β -glucuronidase activity.

²⁾ *Bacillus cereus* KCTC 1012: Positive control of hemolysis.

³⁾ N.D.: Not determined.

표 33. Morphological characterization of *L. plantarum* MKHA15

MKHA15	
Shape (Microscopy 1000X)	
Colony (MRS agar plate)	
Gram stain	+ ¹⁾
Catalase activity	-
Slime formation	+

¹⁾ + : positive reaction, - : negative reaction.

☒ 34. Carbohydrate utilization of *L. plantarum* MKHA15

Carbohydrate	MKHA15	Carbohydrate	MKHA15
Control	- ¹⁾	Esculin ferric citrate	+
Glycerol	+	Salicin	+
Erythritol	-	D-Celiobiose	+
D-Arabinose	-	D-Maltose	+
L-Arabinose	+	D-Lactose (bovine origin)	+
D-Ribose	+	D-Melibiose	+
D-Xylose	-	D-Saccharose (sucrose)	+
L-Xylose	-	D-Trehalose	+
D-Adonitol	-	Inulin	+
Methyl β -D-xylopyranoside	-	D-Melezitose	+
D-Galactose	+	D-Raffinose	+
D-Glucose	+	Amidon (starch)	+
D-Fructose	+	Glycogen	-
D-Mannose	+	Xylitol	-
L-Sorbose	-	Gentiobiose	+
L-Rhamnose	-	D-Turanose	+
Dulcitol	-	D-Lyxose	-
Inositol	-	D-Tagatose	-
D-Mannitol	+	D-Fucose	-
D-Sorbitol	+	L-Fucose	-
Methyl α -D-mannopyranoside	+	D-Arabitol	-
Methyl α -D-glucopyranoside	-	L-Arabitol	-
N-acetylglucosamine	+	Potassium gluconate	+
Amygdalin	+	Potassium 2-ketogluconate	-
Arbutin	+	Potassium 5-ketogluconate	-
Similarity strain (%)		<i>Lactobacillus plantarum</i> (99.9)	
		<i>Lactobacillus pentosus</i> (0.1)	

¹⁾ + : positive reaction, - : negative reaction.

1 GCAGTCGAACGAACTCTGGTATTGATTGGTGCTTGCATCATGATTTACATTTGAGTGAGTGG 62
63 CGAACTGGTGAGTAACACGTGGGAAACCTGCCAGAAAGCGGGGATAACACCTGGAAACA 122
123 GATGCTAATACCGCATAACAACCTTGGACCGCATGGTCCGAGCTTGAAAAGATGGCTTCGGC 182
183 TATCACTTTTGGATGGTCCCGCGGCGTATTAGCTAGATGGTGGGGTAACGGCTCACCATG 242
243 GCAATGATACGTAGCCGACCTGAGAGGGTAATCGGCCACATTTGGGACTGAGACACGGCCC 302
303 AAACCTCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCACAATGGACGAAAGTCTGATGGAGC 362
363 AACGCCGCGTGAGTGAAGAAGGGTTTCGGCTCGTAAAACTCTGTTGTTAAAGAAGAACAT 422
423 ATCTGAGAGTAACTGTTCAAGGTATTGACGGTATTTAACAGAAAAGCCACGGCTAACTACG 482
483 TGCCAGCAGCCCGGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTGTCCGGATTTATTGGGCGTAAAAG 542
543 CGAGCGCAGGCGGTTTTTAAGTCTGATGTGAAAGCCTTCGGCTCAACCGAAGAAGTGCA 602
603 TCGGAAACTGGGAACTTGAGTGCAGAAGAGGACAGTGGAACTCCATGTGTAGCGGTGAA 662
663 ATGCGTAGATATATGGAAGAACACCAAGTGGCGAAGGCGGCTGTCTGGTCTGTAACCTGACG 722
723 CTGAGGCTCGAAAAGTATGGGTAGCAAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCATACCGTAA 782
783 ACGATGAATGCTAAGTGTGGAGGGTTCCGCCCTTCAGTGTGCAGCTAACGCATTAAG 842
843 CATTCCGCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGCTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGC 902
903 ACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCTACGCGAAGAACCTTACCAGGTCTTGA 962
963 CATACTATGCAAACTAAGAGATTAGACGTTCCCTTCGGGACATGGATACAGGTGGTGC 1022
1023 ATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCC 1082
1083 TTATTATCAGTTGCCAGCATTAAAGTTGGGCACTCTGGTGAGACTGCCGGTGACAAAACCGG 1142
1143 AGGAAGGTGGGGATGACGTCAAATCATCATGCCCTTATGACCTGGGCTACACACGTGCT 1202
1203 ACAATGGATGGTACAACGAGTTGCGAACICGCGAGAGTAAGCTAATCTCTTAAAGCCATT 1262
1263 CTCAGTTCGATTGTAGGCTGCAACTCGCCTACATGAAGTCGGAATCGCTAGTAATCGCG 1322
1323 GATCAGCATGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGCCTTGTACACACCGCCCGTCACACCATG 1382
1383 AGAGTTTGAACACCCAAAAGTCGGTGGGGTAAACCTTTTAGGAACCGCCGCTAA 1437

그림 35. Nucleotide sequences of 16S rRNA of *L. plantarum* MKHA15.

표 35. Identification of *L. plantarum* MKHA15 using 16S rRNA gene sequences

Strain	Identification	Similarity (%)
MKHA15	<i>Lactobacillus plantarum</i> subsp. <i>plantarum</i> ATCC 14917	99.86

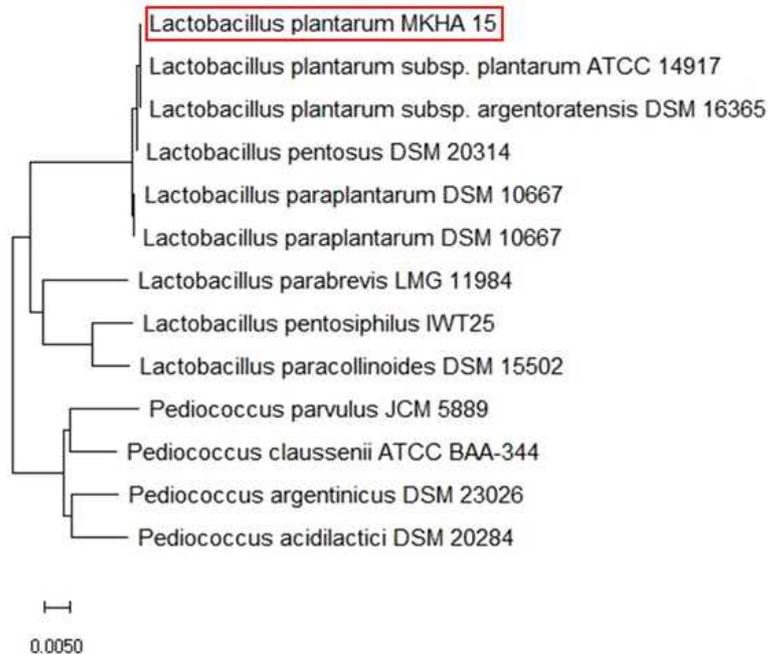


그림 36. Phylogenetic tree showing the position of *L. plantarum* MKHA15.

② 기능성 프로바이오틱 신규 균주 *L. plantarum* MKHA15의 특성

㉔ MKHA15는 0.1% pepsin에서 96.3%, 0.3% bile salt에서 53.56%의 생존율을 나타내었으며 (표 36), *Shigella sonnei*, *Pseudomonas aeruginosa*를 포함한 8개 병원균에 대해 항균 활성을 가졌음 (표 37). 또한, MKHA15는 69.68%의 α -amylase 저해 활성, 99.25%의 α -glucosidase 저해 활성, 65.81%의 HMG-CoA reductase 저해 활성을 가졌으며, 높은 항산화 활성 (DPPH 라디칼 소거활성 100.53%, SOD 유사 활성 56.62%, 환원력 2.65)을 나타내었음 (표 38 ~ 표 40).

표 36. Tolerance to artificial gastric juice and bile salt of *L. plantarum* MKHA15

	RSR (%)	
	MKHA15	<i>L. rhamnosus</i> GG ¹⁾
Pepsin (0.1%, 2 h ²⁾)	96.30 ± 0.10	96.54 ± 0.28
Bile salt (0.3%, 2 h)	53.56 ± 5.86	52.72 ± 2.79

¹⁾ *Lactobacillus rhamnosus* GG: positive control for RSR.

²⁾ Reaction time.

표 37. Diameter of the inhibitory zone of *L. plantarum* MKHA15 against pathogenic bacteria (mm)

Pathogens	MKHA15
Gram negative	
<i>E. coli</i>	6.13 ± 0.13 ^{d1)}
<i>E. coli</i> O157:H7	6.05 ± 0.07 ^d
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	8.38 ± 0.75 ^{ab}
<i>Shigella sonnei</i>	10.00 ± 1.15 ^a
<i>Shigella flexneri</i>	7.88 ± 0.85 ^{bc}
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	7.38 ± 0.48 ^c
Gram positive	
<i>B. cereus</i>	6.15 ± 0.13 ^d
<i>S. aureus</i>	6.08 ± 0.05 ^d

¹⁾ Means with different superscripts in a column (a-d) are significantly different by Fisher's least significant difference test ($p < 0.05$).

표 38 α -amylase and α -glucosidase inhibitory activity of *L. plantarum* MKHA15

	MKHA15	Acarbose ¹⁾ (1 mg/mL)
α -amylase inhibitory activity (%)	69.68 \pm 2.38	63.61 \pm 0.22
α -glucosidase inhibitory activity (%)	99.25 \pm 4.74	100.10 \pm 0.10

¹⁾ positive control.

표 39. HMG-CoA reductase inhibitory activity of *L. plantarum* MKHA15

	MKHA15	Atorvastatin ¹⁾ (100mM)
HMG-CoA reductase inhibitory activity (%)	65.81 \pm 6.50	90.84 \pm 1.34

¹⁾ positive control.

표 40. Antioxidant activity of *L. plantarum* MKHA15

	MKHA15	Ascorbic acid ¹⁾ (1 mg/mL)
DPPH radical scavenging activity (%)	100.53 \pm 6.91	94.42 \pm 0.10
SOD-like activity (%)	56.62 \pm 1.77	72.15 \pm 4.98
Reducing power (Abs @ 700 nm)	2.65 \pm 0.19	2.68 \pm 0.11

¹⁾ positive control.

③ 쌍별귀뚜라미 발효물의 생균수 및 pH

㉠ 여러 starter로 발효한 쌍별귀뚜라미 (GB)의 발효 가능성을 평가하기 위해 생존균수와 pH를 측정하였음 (표 41). 발효 과정 동안 모든 GB의 생존 균수는 1.3 log CFU/mL 이상 유의적으로 증가하였음. 그 중 starter를 접종하지 않은 CON에서도 24 h 발효 후 8.53 log CFU/mL까지 균이 증식하였으며, 우리는 이의 형태학적 분석 및 그람 염색을 통해 CON에서 증식한 미지의 균을 *Bacillus*로 추정하였음. Autoclave (121°C, 20 min) 과정 동안 일반적인 미생물은 모두 사멸하지만, spore 형성 균주는 spore를 생성하였다가 이후에 다시 증식할 수 있음. 본 결과와 유사하게 starter 없이 mealworm을 발효한 An et al. (2019)의 연구에서도 발효 후 *Bacillus* 속 균주가 우점으로 증식했다고 보고하였음. 모든 *Bacillus* 발효 GB (CON, SKGB, SEGB)는 pH가 약간 감소하였음. 반면, LAB를 접종한 HAGB와 LPGB의 pH는 발효 동안 약 2.1 ~ 2.7가량 크게 감소하였음. *Bacillus*는 발효 동안 암모니아나 아민류와 같은 알칼리 대사산물을 생성하여 pH를 증가시킨다고 알려져 있지만, 발효 초기에는 산성 대사산물을 생성하여 pH를 감소시킬 수도 있음 (조민정 등, 2014). 또한 LAB는 발효 동안

유기산을 생성하여 pH를 크게 감소시킴. 이를 통해 본 연구의 모든 발효 GB는 24 시간 동안 접종한 starter가 유의적으로 증식하며 발효가 잘 이루어졌음을 알 수 있음.

표 41. Change of viable cell counts and pH value during GB fermentation

	Viable cell counts (log CFU/mL)	
	0 h ¹⁾	24 h
CON ²⁾	0.00 ± 0.00 ^{b3)}	8.53 ± 0.19 ^a
SKGB	5.40 ± 0.14 ^b	8.88 ± 0.17 ^a
SEGB	6.11 ± 0.00 ^b	8.72 ± 0.17 ^a
HAGB	8.22 ± 0.13 ^b	9.52 ± 0.17 ^a
LPGB	7.85 ± 0.00 ^b	9.25 ± 0.03 ^a

	pH	
	0 h	24 h
CON	7.08 ^a	6.32 ± 0.21 ^b
SKGB	7.05 ^a	6.27 ± 0.01 ^b
SEGB	6.72 ^a	5.72 ± 0.00 ^b
HAGB	6.67 ^a	3.97 ± 0.02 ^b
LPGB	6.37 ^a	4.27 ± 0.00 ^b

¹⁾ Fermentation time.

²⁾ Fermentation with no starter (CON); MKSK-J1 (SKGB); *Bacillus amyloliquefaciens* MKSE (SEGB); MKHA15 (HAGB); *Lactobacillus plantarum* KCTC 3103 (LPGB).

³⁾ Means with different superscripts in a row (a-b) are significantly different by Fisher's least significant difference test ($p < 0.05$).

④ 쌍별귀뚜라미 발효물의 생리활성

㉠ 항당뇨 활성

발효 GB의 항당뇨 활성은 그림 37에 나타내었음. HAGB의 α -glucosidase 저해 (AGI) 활성은 농도에 따라 유의적으로 증가하였으며, 30 mg/mL 이상에서는 강력한 억제 활성을 나타내었음 (> 96%). LPGB의 AGI 활성은 50 mg/mL에서 39.61% 까지 증가한 반면, CON, SKGB 및 SEGB는 50 mg/mL에서도 AGI 활성이 매우 낮았음 (12.36 ~ 14.64%). Chen et al. (2014)과 Nurhayati et al. (2017)에 따르면, 일부 LAB가 생성하는 exopolysaccharides (EPS)나 inulin이 AGI 활성을 나타낼 수 있다고 함. 같은 *L. plantarum* 종이어도 생성하는 대사산물에는 차이가 있을 수 있으며, Ramchandran & Shah (2009)에 따르면 동일한 종 간에도 EPS 생성능에 차이가 있으며 이들을 이용한 발효물에서도 이와 같은 차이가 동일하게 나타났다고 보고하였음. 발효 GB의 α -amylase 저해 (AAI) 활성도 HAGB에서만 유의적으로 높았음. HAGB의 농도가 증가함에 따라 AAI 활성도 증가하여 50 mg/mL에서 68.48%를 나타낸 반면, 다른 GB는 모두 α -amylase 억제에 영향을 미치지 않았음. 따라서, MKHA15를 사용해 발효한 GB (HAGB)는 starter (MKHA15)의 강력한 α -glucosidase 저해 활성 및 α -amylase 저해 활성이 유지되어, 다른 발효 GB 샘플보다 유의적으로 높은 항당뇨 활성을 나타냄을 확인하였음.

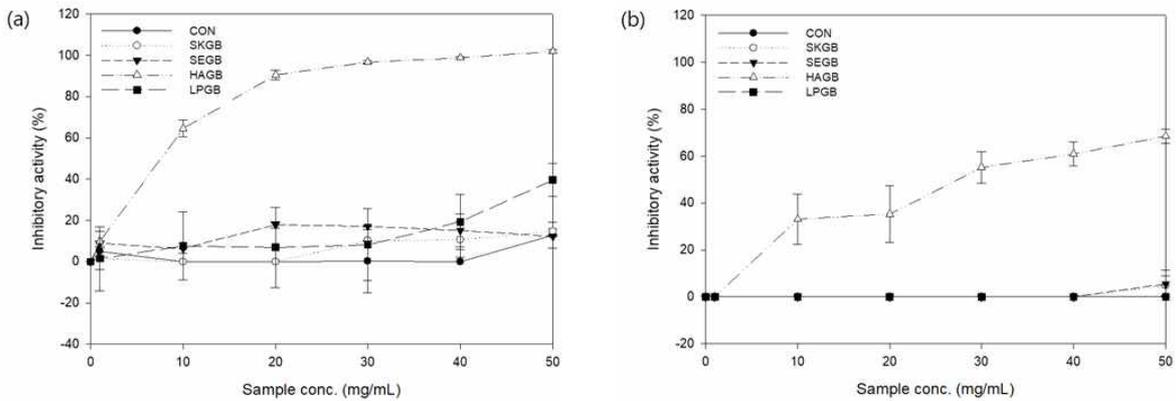


그림 37. α -glucosidase (a) and α -amylase (b) inhibitory activity of fermented GB.

㉠ 항콜레스테롤 활성

- 발효 GB의 항콜레스테롤 활성은 표 42에 나타내었음. starter를 사용하여 발효한 GB의 HMG-CoA reductase 저해 (HMGRi) 활성 (37.90–120.89%)은 모두 CON (2.91%)보다 유의적으로 높았음. 특히, 발효 GB 중 HAGB의 HMGRi 활성이 유의적으로 높았으며 (120.89%), 이는 LPGB (103.24%)나 양성 대조군으로 사용한 atorvastatin (111.24%)보다도 높은 수준이었음.
- 전반적으로 LAB 발효 GB가 다른 군에 비해 더 높은 HMGRi 활성을 나타내었는데, LAB가 생산하는 ferulic acid나 propionic acid를 포함한 유기산 또는 특정 펩타이드가 HMGRi 활성을 나타낼 수 있다고 보고되어 있음 (Tomaro-Duchesneau et al., 2014; Wang et al., 2009; Rinto et al., 2017). 이에 더불어 HAGB는 발효 과정에서 생성되는 다양한 활성 물질에 의해 강력한 수준의 HMGRi 활성을 나타낸 것으로 보임.

표 42. HMG-CoA reductase inhibitory activity of fermented GB

	HMG-CoA reductase inhibitory activity (%)
CON ¹⁾	2.91 ± 6.02 ^{d1)}
SKGB	45.50 ± 5.99 ^c
SEGB	37.90 ± 2.88 ^c
HAGB	120.89 ± 0.42 ^a
LPGB	103.24 ± 9.11 ^b
Atorvastatin (100 mM)	111.24 ± 8.60

¹⁾ TPC, Total polyphenol contents; GAE, Garlic acid equivalent.

²⁾ Means with different superscripts in a column (a-d) are significantly different by Fisher's least significant difference test ($p < 0.05$).

㉡ 항산화 활성

- 발효 GB의 항산화 활성과 TPC는 표 43에 나타내었음. EC 50 값으로 표현한 DPPH

라디칼 소거능은 SKGB 및 SEGB (8.21 mg/mL, 8.88 mg/mL)에서 유의적으로 낮았으며, LPGB (12.71 mg/mL), HAGB (17.05 mg/mL), CON (19.60 mg/mL) 순이었음. EC 50 값으로 표현한 환원력 역시, SKGB에서 유의적으로 낮았으며 (0.29 mg/mL), HAGB (0.69 mg/mL), SEGB (0.88 mg/mL), LPGB (0.94 mg/mL), CON (2.06 mg/mL) 순이었음. IC 50 값으로 표현한 SOD 유사 활성은 HAGB에서 22.37 mg/mL로 유의적으로 낮았으며, LPGB (30.51 mg/mL), SEGB (46.41 mg/mL), SKGB (49.79 mg/mL), CON (67.34 mg/mL) 순이었음. 발효 과정에서 starter는 원물의 탄수화물 및 단백질, 고분자 화합물 등을 분해하여 항산화 활성을 포함한 여러 생리활성을 증진시킬 수 있음. 특히 *bacillus* spp.는 다양한 가수분해 효소를 분비하여 고분자물질을 저분자 기능성 화합물 또는 펩타이드로 분해하여 기능성을 증가시킬 수 있음 (심소연 등, 2019). 또한, *lactobacillus* 속을 포함한 일부 LAB는 생존을 위해 자체적으로 SOD를 생산할 수 있다고 보고되어 있음 (Nissen et al., 2020). 항산화 활성 결과를 종합해 보면, starter에 따른 차이는 있지만 starter를 사용한 모든 발효 GB가 CON에 비해 우수한 항산화 활성을 나타내었음. 발효 GB의 TPC 또한 CON (91.30 mg GAE/g)보다 starter를 사용한 발효 GB에서 더 높았음 (329.40 ~ 409.00 mg GAE/g). 폴리페놀류는 항산화 활성의 대표적인 지표 성분으로 알려져 있지만, 본 연구 결과에 따르면 TPC 함량이 가장 높은 LPGB에서 항산화 활성이 가장 우수한 것은 아니었음. Mattia et al. (2019)는 식용곤충에 존재하는 항산화 물질이 페놀화합물, 기능성 펩타이드 및 미지의 물질에 의한 것이라고 보고하였음. 따라서, starter를 사용한 발효 GB의 항산화 활성은 높은 TPC 뿐만 아니라, 기능성 저분자 펩타이드 및 미확인 성분에 기인한다고 예측할 수 있음.

표 43. Antioxidant activity and TPC of fermented GB

	DPPH radical scavenging activity (EC ₅₀ mg/mL)	SOD-like activity (IC ₅₀ mg/mL)	Reducing power (EC ₅₀ mg/mL)	TPC ¹⁾ (mg GAE/g)
CON	19.60 ± 3.94 ^{a2)}	67.34 ± 8.22 ^a	2.06 ± 0.30 ^a	91.30 ± 24.18 ^c
SKGB	8.21 ± 0.24 ^c	49.79 ± 6.85 ^{ab}	0.29 ± 0.02 ^c	367.50 ± 3.13 ^{ab}
SEGB	8.88 ± 1.80 ^c	46.41 ± 2.64 ^{bc}	0.88 ± 0.03 ^b	393.21 ± 30.81 ^a
HAGB	17.05 ± 1.10 ^{ab}	22.37 ± 0.54 ^d	0.69 ± 0.04 ^b	329.40 ± 7.64 ^b
LPGB	12.71 ± 0.82 ^{bc}	30.51 ± 3.06 ^{cd}	0.94 ± 0.00 ^b	409.00 ± 16.00 ^a

¹⁾ TPC, Total polyphenol contents; GAE, Garlic acid equivalent.

²⁾ Means with different superscripts in a column (a-d) are significantly different by Fisher's least significant difference test ($p < 0.05$).

- *In vitro* digestion 전, 후의 항산화 활성은 표 44에 나타내었음. SKGB와 HAGB의 TPC는 *in vitro* digestion 후 7배 이상 현저히 증가한 반면, CON은 약간 증가하였고, SEGB, LPGB는 감소하였음. *in vitro* digestion 중 인공 장액의 높은 pH에 안정하지 않은 화합물은 소화 후 감소할 수 있음 (Chiang et al., 2013; Pavan et al., 2014). 이런 관점에서, SKGB 및 HAGB는 높은 pH에 안정한 phenolics를 방출하여 TPC가 증가한 것으로 예측됨. 또한, *in vitro* digestion 후 SKGB는 우수한 환원력

(86.06%)을 나타내었고, HAGB는 가장 높은 SOD 유사 활성 (21.18%)을 나타내어 표 21에 나타낸 항산화 활성과 동일한 경향을 나타내었음.

표 44. Antioxidant activity and TPC before and after *in vitro* digestion of fermented GB

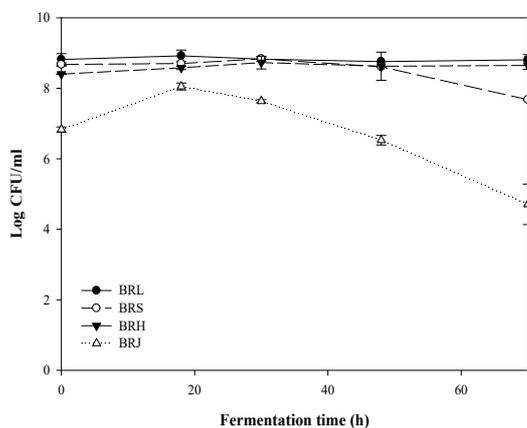
	DPPH radical scavenging activity (%)		SOD-like activity (%)		Reducing power (% ascorbic acid)		TPC (mg GAE/mL)	
	Before	After	Before	After	Before	After	Before	After
CON	28.88 ± 4.73 ^{Aa1)}	13.58 ± 3.53 ^{Ab}	9.61 ± 1.94 ^{Ab}	13.84 ± 2.40 ^{Ac}	39.15 ± 2.78 ^{Bb}	60.33 ± 0.71 ^{Ab}	9.13 ± 2.42 ^{Aa}	10.54 ± 0.86 ^{Ab}
SKGB	28.55 ± 4.20 ^{Aa}	17.77 ± 0.33 ^{Ab}	17.13 ± 3.34 ^{Aa}	15.34 ± 1.40 ^{Abc}	46.47 ± 0.68 ^{Ba}	86.06 ± 0.91 ^{Aa}	1.28 ± 0.03 ^{Bc}	12.48 ± 0.00 ^{Aa}
SEGB	1.92 ± 0.87 ^{Bc}	30.49 ± 1.15 ^{Aa}	9.75 ± 3.63 ^{Ab}	7.00 ± 1.79 ^{Ad}	37.71 ± 0.07 ^{Ab}	37.36 ± 0.04 ^{Bcd}	5.51 ± 0.24 ^{Ab}	2.38 ± 0.27 ^{Bcd}
HAGB	12.42 ± 1.32 ^{Ab}	5.62 ± 1.39 ^{Bc}	9.60 ± 2.15 ^{Ab}	21.18 ± 2.47 ^{Aa}	29.28 ± 0.08 ^{Bc}	43.08 ± 0.19 ^{Ac}	0.64 ± 0.02 ^{Bc}	7.99 ± 0.79 ^{Ac}
LPGB	2.36 ± 1.76 ^{Bc}	15.97 ± 0.78 ^{Ab}	10.70 ± 2.11 ^{Bb}	19.11 ± 0.50 ^{Ab}	23.65 ± 0.56 ^{Ac}	24.73 ± 0.17 ^{Ae}	4.73 ± 0.04 ^{Ab}	1.10 ± 0.07 ^{Bcd}
Ascorbic acid (1mg/ml)	97.41 ± 1.94		72.15 ± 4.98		100		N.D.	

¹⁾ Means with different superscripts in a low (A-B) and a column (a-c) are significantly different by Fisher's least significant difference test ($p < 0.05$).

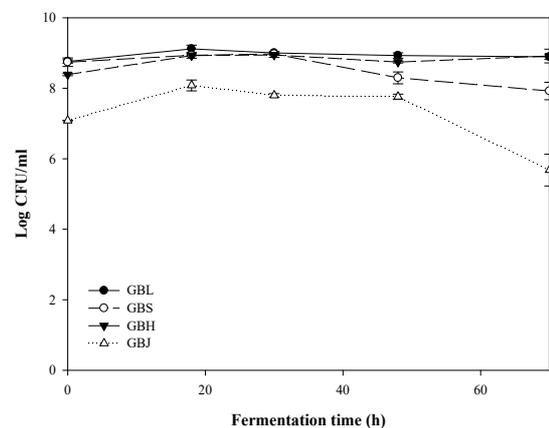
(나) 생물전환기술을 통한 쌍별귀뚜라미를 첨가한 현미 발효물 제조

① 생균수 변화

㉞ 발효물의 생균수 변화는 그림 38에 나와 있음. 현미 발효물의 생균수 증가율 그래프로, 젖산균으로 발효한 샘플들 (BRL, BRS, BRH)은 발효 70 h 후에도 7.68 ~ 8.81 log CFU/mL의 높은 균수를 유지하였음. 그에 반하여 BRJ는 18 h에 균수가 가장 많았으며, 70 h에는 4.71 log CUF/mL로 감소하였음. 쌍별귀뚜라미와 현미 혼합 발효물의 생균수 증가율 그래프로, 젖산균으로 발효한 샘플들 (GBL, GBS, GBH)은 발효 70 h 후에도 7.92 ~ 8.92 log CFU/mL로 높은 균수를 유지했으나 GBJ는 5.68 log CFU/mL로 감소하였음.



(a)



(b)

그림 38. 현미 발효물 (a) 및 쌍별귀뚜라미가 첨가된 현미 발효물 (b)의 생균수 변화.

BRC: 현미 발효균 대조군, BRL: *Lb. rhamnosus* GG로 발효한 현미 샘플, BRS: *Leu. mesenteroides* MKSR로 발효한 현미 샘플, BRH: *Lb. plantarum* MKHA11로 발효한 현미 샘플, BRJ: *B. amyloliquefaciens* MKSK J1으로 발효한 현미 샘플, GBC: 쌍별귀뚜라미 첨가 현미 발효균 대조군, GBL: *Lb. rhamnosus* GG로 발효한 쌍별귀뚜라미 첨가 현미 샘플, GBS: *Leu. mesenteroides* MKSR로 발효한 쌍별귀뚜라미 첨가 현미 샘플, GBH: *Lb. plantarum* MKHA11로 발효한 쌍별귀뚜라미 첨가 현미 샘플, GBJ: *B. amyloliquefaciens* MKSK J1으로 발효한 쌍별귀뚜라미 첨가 현미 샘플.

② pH 및 총산도

㉑ 그림 39는 발효물의 pH 변화 그래프로, 모든 샘플이 70 h 발효 후 3.45 ~ 4.29로 pH가 유의적으로 감소하였음. 따라서 발효가 잘 진행되었다고 판단할 수 있음. 쌍별귀뚜라미를 첨가한 현미 발효물의 경우, 모든 샘플이 70 h 발효 후 3.70 ~ 5.17로 유의적으로 감소하였음. 따라서 발효가 잘 진행되었다고 판단할 수 있음. 현미 발효물보다 pH가 높은 경향을 보였으며, 이는 쌍별귀뚜라미에 함유되어 있는 무기질과 아미노산의 완충작용인 것으로 생각됨.

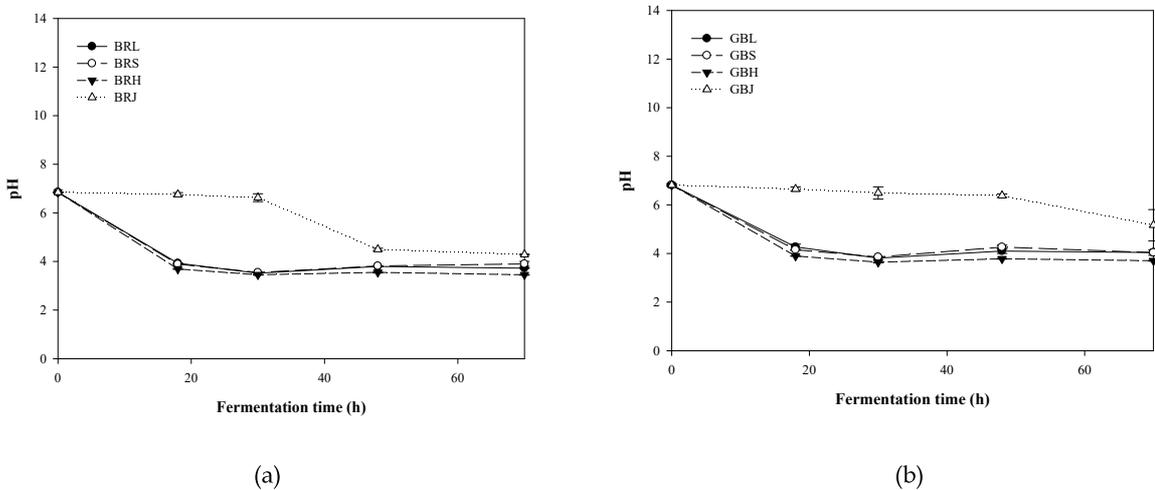


그림 39. 현미 발효물 (a) 및 쌍별귀뚜라미가 첨가된 현미 발효물 (b)의 pH 변화.

BRC: 현미 발효균 대조군, BRL: *Lb. rhamnosus* GG로 발효한 현미 샘플, BRS: *Leu. mesenteroides* MKSR로 발효한 현미 샘플, BRH: *Lb. plantarum* MKHA11로 발효한 현미 샘플, BRJ: *B. amyloliquefaciens* MKSK J1으로 발효한 현미 샘플, GBC: 쌍별귀뚜라미 첨가 현미 발효균 대조군, GBL: *Lb. rhamnosus* GG로 발효한 쌍별귀뚜라미 첨가 현미 샘플, GBS: *Leu. mesenteroides* MKSR로 발효한 쌍별귀뚜라미 첨가 현미 샘플, GBH: *Lb. plantarum* MKHA11로 발효한 쌍별귀뚜라미 첨가 현미 샘플, GBJ: *B. amyloliquefaciens* MKSK J1으로 발효한 쌍별귀뚜라미 첨가 현미 샘플.

㉒ 그림 40은 발효물의 총산도 변화 그래프로, 모든 샘플이 70 h 발효 후 총산도가 1.38 ~ 2.16 mL로 유의적으로 증가하였음. 이는 미생물의 가수분해효소에 의해 탄수화물과 같은 고분자 물질이 분해되어 유기산이 증가한 것으로 생각됨. 쌍별귀뚜라미를 첨가한 현미 발효물의 경우, 모든 샘플이 70 h 발효 후 총산도가 1.62 ~ 2.94 mL로 증가하였으며 이는 현미 발효물보다 높은 수준이었음.

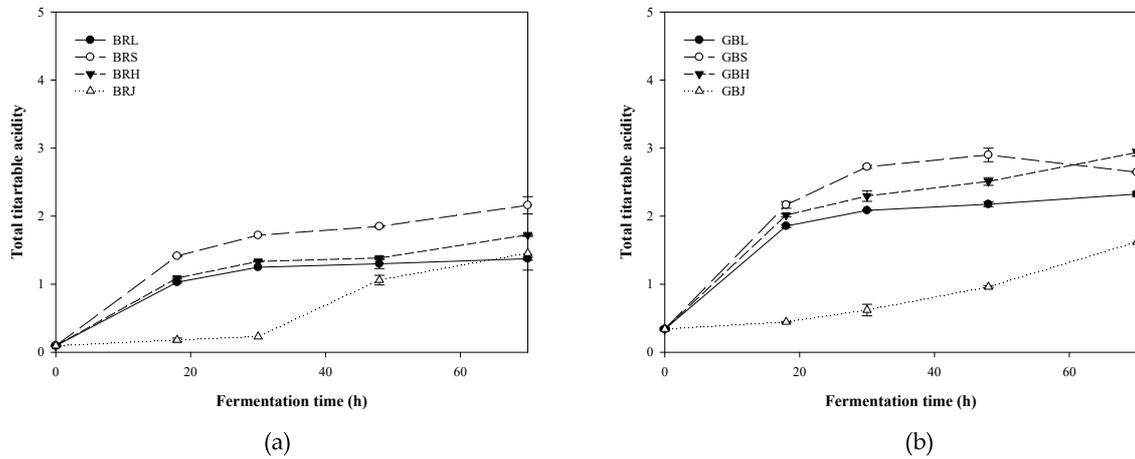


그림 40. 현미 발효물 (a) 및 쌍별귀뚜라미가 첨가된 현미 발효물 (b)의 총산도 변화.

BRC: 현미 발효균 대조군, BRL: *Lb. rhamnosus* GG로 발효한 현미 샘플, BRS: *Leu. mesenteroides* MKSR로 발효한 현미 샘플, BRH: *Lb. plantarum* MKHA11로 발효한 현미 샘플, BRJ: *B. amyloliquefaciens* MKSK J1으로 발효한 현미 샘플, GBC: 쌍별귀뚜라미 첨가 현미 발효균 대조군, GBL: *Lb. rhamnosus* GG로 발효한 쌍별귀뚜라미 첨가 현미 샘플, GBS: *Leu. mesenteroides* MKSR로 발효한 쌍별귀뚜라미 첨가 현미 샘플, GBH: *Lb. plantarum* MKHA11로 발효한 쌍별귀뚜라미 첨가 현미 샘플, GBJ: *B. amyloliquefaciens* MKSK J1으로 발효한 쌍별귀뚜라미 첨가 현미 샘플.

③ 가수분해도

㉠ 그림 41은 발효물의 가수분해도 변화 그래프로, 현미 및 쌍별귀뚜라미를 첨가한 현미 발효물 모두 발효 시간이 증가함에 따라 가수분해도가 유의적으로 증가하였으며, 70 h에 가장 높았음. 발효 48 h 후에 *B. amyloliquefaciens* MKSK J1을 이용하여 발효한 샘플 중 쌍별귀뚜라미를 첨가한 샘플에서 가수분해도가 월등히 높았음. 이러한 결과는 *B. amyloliquefaciens* MKSK J1이 중성 단백질가수분해효소인 neutrase를 주로 생성하는 특성에 기인함. 발효 70 h 후, 쌍별귀뚜라미를 첨가한 현미 샘플에서 현미 샘플보다 가수분해도가 약 2배 더 높았음. 이는 쌍별귀뚜라미가 현미보다 높은 단백질 함량을 함유하고 있기 때문에, 미생물의 가수분해효소 반응이 더 활발히 일어난 것으로 생각됨.

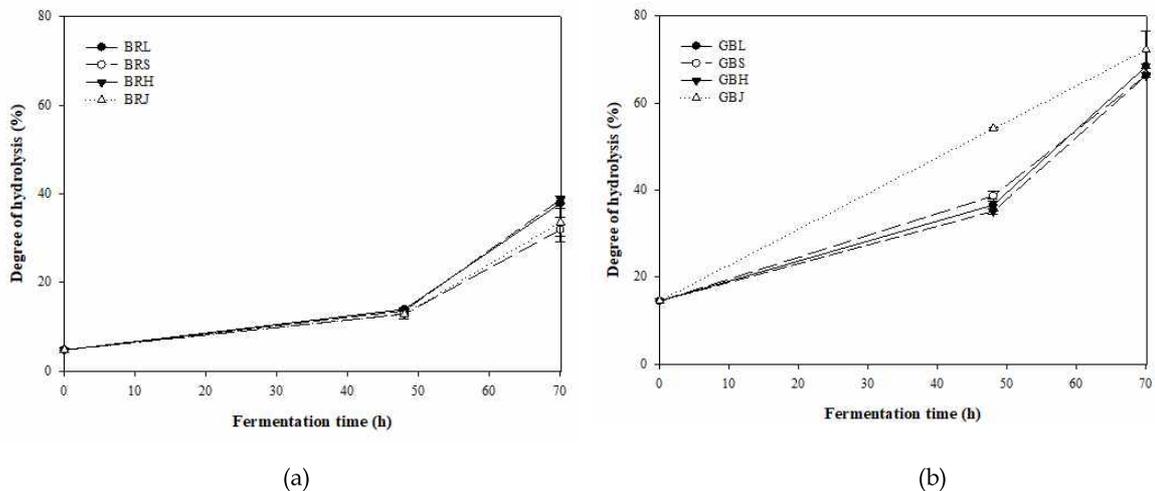


그림 41. 현미 발효물 (a) 및 쌍별귀뚜라미가 첨가된 현미 발효물 (b)의 가수분해도 변화.

BRC: 현미 발효균 대조군. BRL: *Lb. rhamnosus* GG로 발효한 현미 샘플, BRS: *Leu. mesenteroides* MKSR로 발효한 현미 샘플, BRH: *Lb. plantarum* MKHA11로 발효한 현미 샘플, BRJ: *B. amyloliquefaciens* MKSK J1으로 발효한 현미 샘플, GBC: 쌍별귀뚜라미 첨가 현미 발효균 대조군, GBL: *Lb. rhamnosus* GG로 발효한 쌍별귀뚜라미 첨가 현미 샘플, GBS: *Leu. mesenteroides* MKSR로 발효한 쌍별귀뚜라미 첨가 현미 샘플, GBH: *Lb. plantarum* MKHA11로 발효한 쌍별귀뚜라미 첨가 현미 샘플, GBJ: *B. amyloliquefaciens* MKSK J1으로 발효한 쌍별귀뚜라미 첨가 현미 샘플.

④ 단백질 및 총질소 함량과 단백질 패턴

㉠ 발효물의 단백질 및 총질소 함량은 표 45에 나와 있음. 발효 전 후의 단백질 및 총질소 함량은 차이가 없었음. 그림 42는 발효물의 SDS-PAGE를 이용한 단백질 패턴으로, 현미 발효물의 경우 발효 전에는 48 ~ 63, 20 ~ 25 kDa에서 주요 band가 나타났으나 발효 후 이 구간의 band는 거의 사라졌음. 또한, 발효 후 75 ~ 100 kDa에 새로운 band가 나타났음. BRL과 BRH는 35 ~ 48 kDa에 새로운 주된 band가 나타났음. 쌍별귀뚜라미를 첨가한 현미 샘플의 경우, 발효 전에는 현미 샘플과 공통적으로 48 ~ 63 kDa에서 band가 나타났으며, 추가로 17, 35, 48 ~ 63, 63 ~ 75 kDa에서 주된 band가 발견되었으나 발효 후에 거의 사라졌음. BRL과 BRH는 35 ~ 48 kDa 사이에 새로운 주된 band가 나타났음. 또한 17 kDa 이하의 band가 거의 사라졌음. 따라서, 단백질 및 총질소 함량은 발효 전후 차이가 없으나 가수분해도가 증가된 것을 확인할 수 있었음.

표 45. 현미 발효물 및 쌍별귀뚜라미가 첨가된 현미 발효물의 단백질 및 총질소 함량

Samples ¹⁾	Protein (%)	Total nitrogen (%)
BRC	7.84 ± 0.00	1.25 ± 0.00 ^a
BRL	6.81 ± 0.00 ^a	1.09 ± 0.00 ^a
BRS	7.13 ± 0.55 ^a	1.14 ± 0.09 ^a
BRH	6.76 ± 0.50 ^a	1.08 ± 0.08 ^a
BRJ	7.84 ± 0.15 ^a	1.25 ± 0.02 ^a
GBC	22.38 ± 0.54 ^a	3.58 ± 0.09 ^a
GBL	23.03 ± 0.43 ^a	3.69 ± 0.07 ^a
GBS	24.35 ± 0.89 ^a	3.90 ± 0.14 ^a
GBH	23.48 ± 0.26 ^a	3.76 ± 0.04 ^a
GBJ	24.38 ± 0.33 ^a	3.90 ± 0.05 ^a

¹⁾ BRC: 현미 발효균 대조군. BRL: *Lb. rhamnosus* GG로 발효한 현미 샘플, BRS: *Leu. mesenteroides* MKSR로 발효한 현미 샘플, BRH: *Lb. plantarum* MKHA11로 발효한 현미 샘플, BRJ: *B. amyloliquefaciens* MKSK J1으로 발효한 현미 샘플, GBC: 쌍별귀뚜라미 첨가 현미 발효균 대조군, GBL: *Lb. rhamnosus* GG로 발효한 쌍별귀뚜라미 첨가 현미 샘플, GBS: *Leu. mesenteroides* MKSR로 발효한 쌍별귀뚜라미 첨가 현미 샘플, GBH: *Lb. plantarum* MKHA11로 발효한 쌍별귀뚜라미 첨가 현미 샘플, GBJ: *B. amyloliquefaciens* MKSK J1으로 발효한 쌍별귀뚜라미 첨가 현미 샘플.

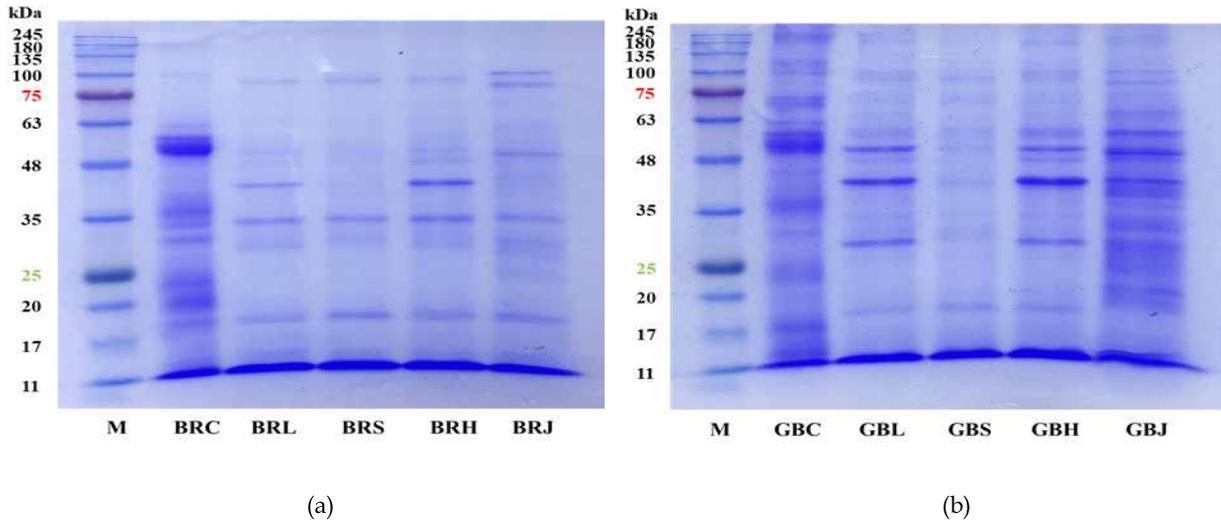


그림 42. 현미 발효물 (a) 및 쌍별귀뚜라미가 첨가된 현미 발효물 (b)의 단백질 패턴.

BRC: 현미 발효균 대조균. BRL: *Lb. rhamnosus* GG로 발효한 현미 샘플, BRS: *Leu. mesenteroides* MKSR로 발효한 현미 샘플, BRH: *Lb. plantarum* MKHA11로 발효한 현미 샘플, BRJ: *B. amyloliquefaciens* MKSK J1으로 발효한 현미 샘플, GBC: 쌍별귀뚜라미 첨가 현미 발효균 대조균, GBL: *Lb. rhamnosus* GG로 발효한 쌍별귀뚜라미 첨가 현미 샘플, GBS: *Leu. mesenteroides* MKSR로 발효한 쌍별귀뚜라미 첨가 현미 샘플, GBH: *Lb. plantarum* MKHA11로 발효한 쌍별귀뚜라미 첨가 현미 샘플, GBJ: *B. amyloliquefaciens* MKSK J1으로 발효한 쌍별귀뚜라미 첨가 현미 샘플.

⑤ 생체이용률

㉠ 그림 43은 발효물의 생체이용률 결과로, 현미 발효물의 경우 발효 전의 전체 및 단백질 소화율은 각각 45.44, 41.38%이었음. 발효 후, 모든 균의 소화율이 증진되었음. 전체 소화율은 54.35 ~ 57.67%, 단백질 소화율은 53.65 ~ 64.87%로 증가하였음. 쌍별귀뚜라미를 첨가한 현미 발효물의 경우 발효 전의 전체 및 단백질 소화율은 각각 54.18, 51.69%이었음. 발효 후 모든 균의 소화율이 증진되었음. 전체 소화율은 61.72 ~ 63.72%, 단백질 소화율은 61.40 ~ 62.71%였음. 발효 후, 전체 소화율은 61.72 ~ 63.72%, 단백질 소화율은 61.40 ~ 62.71%로 모든 발효균의 소화율이 개선되었음. 이는 발효 중, 미생물의 여러 효소에 의해 탄수화물, 단백질과 같은 고분자 물질이 저분자 물질로 분해되어 가용성 성분이 증가하여 나타난 결과로 생각됨. 특히 단백질 소화율이 매우 높은 것으로 보아, 단백질 소화율이 전체 고형분 소화율의 증가에 기여한 것으로 생각됨.

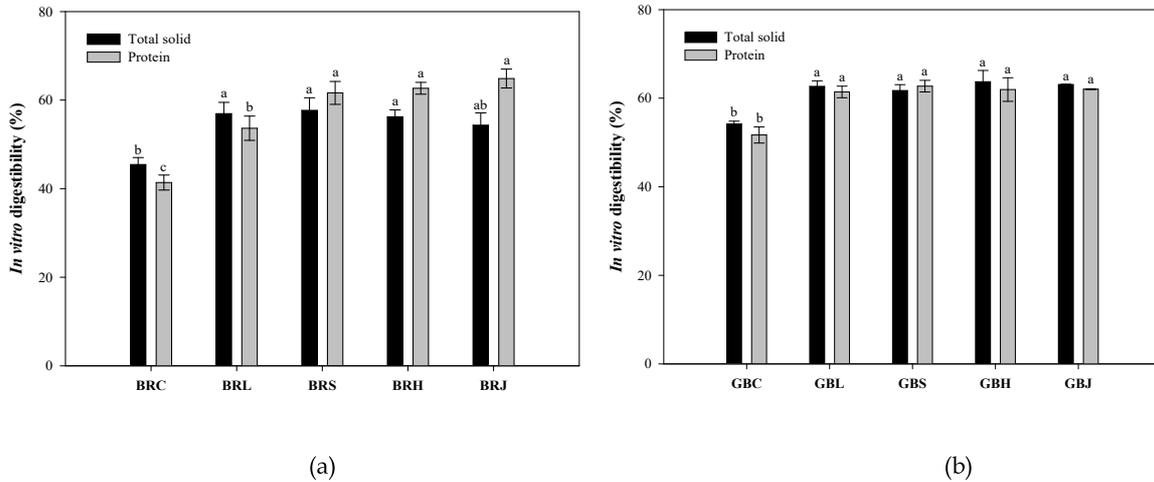


그림 43. 현미 발효물 (a) 및 쌍별귀뚜라미가 첨가된 현미 발효물 (b)의 생체이용률.

BRC: 현미 발효균 대조군. BRL: *Lb. rhamnosus* GG로 발효한 현미 샘플, BRS: *Leu. mesenteroides* MKSR로 발효한 현미 샘플, BRH: *Lb. plantarum* MKHA11로 발효한 현미 샘플, BRJ: *B. amyloliquefaciens* MKSK J1으로 발효한 현미 샘플, GBC: 쌍별귀뚜라미 첨가 현미 발효균 대조군, GBL: *Lb. rhamnosus* GG로 발효한 쌍별귀뚜라미 첨가 현미 샘플, GBS: *Leu. mesenteroides* MKSR로 발효한 쌍별귀뚜라미 첨가 현미 샘플, GBH: *Lb. plantarum* MKHA11로 발효한 쌍별귀뚜라미 첨가 현미 샘플, GBJ: *B. amyloliquefaciens* MKSK J1으로 발효한 쌍별귀뚜라미 첨가 현미 샘플.

⑥ 유리아미노산 결과

㉑ 유리아미노산 결과는 표 46, 표 47, 표 48, 표 49에 나와 있음. 쌍별귀뚜라미를 첨가했을 경우, 현미 단독 샘플보다 아미노산 함량이 월등히 증가하였음. 현미 샘플의 경우, 발효 후 모든 필수 아미노산 함량이 증가하였음. 쌍별귀뚜라미를 첨가한 현미 샘플의 경우, *Bacillus amyloliquefaciens* MKSK J1을 이용하여 발효한 샘플 (GBJ)의 필수아미노산 함량이 유의적으로 증가하였음. 특히, 현미의 한계 아미노산인 lysine의 함량은 모든 샘플에서 발효 후 유의하게 증가하였으며, 이는 발효를 통한 현미의 한계 아미노산 극복 가능성을 나타냄. 쌍별귀뚜라미를 첨가했을 경우, 비단백 아미노산인 시트룰린, 오르니틴, 타우린, 감마 아미노부티르산의 함량이 증가하였으며, 특히 GBJ의 비단백 아미노산 함량이 유의적으로 높았음. *Lactobacillus* 속 균으로 발효한 샘플들 (BRL, BRH, GBL, GBH)은 GABA의 함량이 유의적으로 증가하였음. 결과적으로, 모든 발효 샘플 중 GBJ의 아미노산 품질이 매우 우수했음. GBJ의 필수아미노산 지수는 220으로, 완전 단백질인 계란의 필수아미노산 지수인 100보다 훨씬 높았음.

표 46. 현미 발효물 및 쌍별귀뚜라미를 첨가한 현미 발효물의 필수 아미노산 프로파일 (mg/kg)

Samples ¹⁾	Lysine	Leucine	Valine	Isoleucine	Methionine	Tryptophan	Phenylalanine	Histidine	Threonine	TBCAA ²⁾	TEAA ³⁾
BRC	8.18 ± 0.56 ^{b3)}	6.19 ± 0.16 ^c	8.19 ± 0.10 ^f	3.10 ± 0.43 ^d	2.11 ± 0.10 ^b	0	5.14 ± 0.51 ^b	8.09 ± 0.43 ^b	7.48 ± 0.36 ^c	17.47 ± 0.11 ^c	48.47 ± 0.84 ^c
BRL	95.93 ± 11.01 ^a	142.95 ± 1.05 ^a	83.62 ± 0.02 ^a	44.93 ± 0.09 ^a	25.54 ± 0.37 ^a	0	86.43 ± 1.66 ^a	28.96 ± 1.11 ^{ab}	37.13 ± 1.06 ^a	271.49 ± 0.69 ^a	545.48 ± 11.45 ^a
BRS	64.16 ± 7.09 ^{ab}	85.85 ± 2.20 ^b	38.48 ± 0.52 ^{abc}	12.12 ± 0.44 ^c	17.97 ± 0.47 ^a	0	67.35 ± 1.39 ^a	23.20 ± 0.19 ^{ab}	34.29 ± 0.08 ^a	136.45 ± 2.23 ^b	343.41 ± 8.63 ^{ab}
BRH	94.76 ± 7.54 ^a	138.32 ± 6.31 ^a	77.96 ± 3.69 ^{ab}	38.11 ± 1.66 ^b	26.08 ± 1.13 ^a	0	83.07 ± 4.44 ^a	30.95 ± 2.33 ^a	20.72 ± 0.62 ^b	254.39 ± 8.24 ^a	509.96 ± 19.60 ^a
BRJ	52.62 ± 36.46 ^{ab}	18.41 ± 12.14 ^c	35.91 ± 25.27 ^{bc}	5.32 ± 3.11 ^d	11.94 ± 8.24 ^{ab}	0	16.75 ± 14.74 ^b	25.01 ± 12.43 ^{ab}	14.39 ± 4.08 ^{bc}	59.64 ± 28.65 ^c	180.35 ± 82.35 ^{bc}
GBC	321.06 ± 12.45 ^c	152.21 ± 1.33 ^b	214.53 ± 1.78 ^b	85.26 ± 1.40 ^b	35.32 ± 1.38 ^b	89.43 ± 2.29 ^b	74.32 ± 2.11 ^b	152.02 ± 2.34 ^c	86.40 ± 6.25 ^b	452.00 ± 0.67 ^b	1,210.55 ± 15.32 ^b
GBL	537.6 ± 45.47 ^b	222.15 ± 7.40 ^b	214.97 ± 5.34 ^b	79.90 ± 1.40 ^b	41.68 ± 1.75 ^b	90.66 ± 10.84 ^b	70.25 ± 2.97 ^b	195.91 ± 11.75 ^b	62.37 ± 2.52 ^{bc}	517.02 ± 10.00 ^b	1,515.49 ± 63.25 ^b
GBS	452.76 ± 4.61 ^b	89.73 ± 1.01 ^b	188.29 ± 3.45 ^b	29.28 ± 0.69 ^b	37.35 ± 1.04 ^b	98.45 ± 4.69 ^b	39.37 ± 1.03 ^b	183.15 ± 5.40 ^b	77.07 ± 0.76 ^{bc}	307.31 ± 3.64 ^b	1,195.45 ± 6.92 ^b
GBH	445.10 ± 5.38 ^b	169.46 ± 1.77 ^b	164.21 ± 4.09 ^b	48.55 ± 0.33 ^b	32.22 ± 0.71 ^b	72.65 ± 2.16 ^b	49.68 ± 0.02 ^b	174.28 ± 1.67 ^{bc}	45.20 ± 0.40 ^c	382.22 ± 4.37 ^b	1,201.36 ± 1.37 ^b
GBJ	938.96 ± 49.24 ^a	907.77 ± 92.72 ^a	641.72 ± 55.24 ^a	331.59 ± 45.11 ^a	184.91 ± 11.45 ^a	206.63 ± 9.51 ^a	397.59 ± 43.74 ^a	244.63 ± 0.00 ^a	162.67 ± 21.14 ^a	1,881.08 ± 136.52 ^a	4,016.47 ± 232.03 ^a

Values represent mean ± standard deviations.

¹⁾ BRC: 현미 발효균 대조군, BRL: *Lb. rhamnosus* GG로 발효한 현미, BRS: *Leu. mesenteroides* MKSR로 발효한 현미, BRH: *Lb. plantarum* MKHA11로 발효한 현미, BRJ: *B. amyloliquefaciens* MKSK J1으로 발효한 현미, GBC: 쌍별귀뚜라미 첨가 현미 발효균 대조군, GBL: *Lb. rhamnosus* GG로 발효한 쌍별귀뚜라미 첨가 현미, GBS: *Leu. mesenteroides* MKSR로 발효한 쌍별귀뚜라미 첨가 현미, GBH: *Lb. plantarum* MKHA11로 발효한 쌍별귀뚜라미 첨가 현미, GBJ: *B. amyloliquefaciens* MKSK J1으로 발효한 쌍별귀뚜라미 첨가 현미.

²⁾ Total branched-chain amino acid.

³⁾ Total essential amino acid.

⁴⁾ Different letters in a same column (a-d) differ statistically significantly ($p < 0.05$).

표 47. 현미 발효물 및 쌍별귀뚜라미를 첨가한 현미 발효물의 비필수 아미노산 프로파일 (mg/kg)

Samples ¹⁾	Asparagine	Glutamine	Aspartic acid	Glutamic acid	Serine	Glycine	Arginine	Alanine
BRC	101.65 ± 5.44 ^{a2)}	12.46 ± 0.86 ^b	30.77 ± 1.09 ^d	46.53 ± 2.61 ^b	16.83 ± 0.78 ^d	15.24 ± 1.22 ^c	31.80 ± 1.41 ^b	75.16 ± 2.96 ^a
BRL	112.75 ± 5.50 ^a	17.83 ± 0.43 ^{ab}	53.10 ± 3.61 ^c	196.93 ± 10.89 ^a	34.20 ± 1.61 ^b	72.93 ± 4.79 ^a	185.83 ± 3.21 ^a	69.60 ± 1.71 ^a
BRS	26.82 ± 1.01 ^c	24.82 ± 0.98 ^a	110.84 ± 4.50 ^a	149.56 ± 6.84 ^a	38.61 ± 0.61 ^a	37.65 ± 0.85 ^b	174.07 ± 6.63 ^a	64.77 ± 1.52 ^a
BRH	76.01 ± 3.34 ^b	10.02 ± 0.57 ^b	81.97 ± 3.04 ^b	145.33 ± 6.03 ^a	29.51 ± 0.67 ^c	67.12 ± 3.65 ^a	190.23 ± 8.97 ^a	93.02 ± 4.38 ^a
BRJ	9.64 ± 4.05 ^d	11.83 ± 4.29 ^b	24.06 ± 9.04 ^d	42.47 ± 27.39 ^b	18.37 ± 0.03 ^d	27.39 ± 8.92 ^{bc}	80.04 ± 39.67 ^b	105.32 ± 29.73 ^a
GBC	120.02 ± 0.81 ^a	174.81 ± 1.17 ^a	116.84 ± 1.07 ^b	567.10 ± 6.45 ^b	134.76 ± 1.38 ^b	506.17 ± 5.54 ^a	1,124.85 ± 17.85 ^c	390.64 ± 2.54 ^b
GBL	94.74 ± 4.38 ^{ab}	31.82 ± 3.23 ^b	138.35 ± 11.81 ^b	834.36 ± 33.62 ^a	21.25 ± 1.02 ^d	514.35 ± 33.59 ^a	1,611.88 ± 47.37 ^a	361.76 ± 21.16 ^b
GBS	11.74 ± 0.45 ^d	18.14 ± 2.07 ^b	284.68 ± 15.97 ^a	659.09 ± 7.35 ^{ab}	157.15 ± 2.72 ^a	539.60 ± 7.20 ^a	1,535.58 ± 0.79 ^{ab}	391.01 ± 4.65 ^b
GBH	54.16 ± 1.67 ^c	19.09 ± 0.37 ^b	45.27 ± 1.91 ^c	541.06 ± 2.82 ^b	18.09 ± 0.30 ^d	461.45 ± 0.14 ^{ab}	1,494.23 ± 15.13 ^b	270.25 ± 2.35 ^b
GBJ	69.54 ± 20.05 ^{bc}	81.48 ± 48.50 ^b	104.50 ± 9.54 ^b	667.11 ± 104.75 ^{ab}	41.24 ± 3.03 ^c	355.84 ± 52.64 ^b	130.12 ± 8.01 ^d	1,027.52 ± 142.59 ^a

Values represent mean ± standard deviations.

¹⁾ BRC: 현미 발효균 대조군, BRL: *Lb. rhamnosus* GG로 발효한 현미, BRS: *Leu. mesenteroides* MKSR로 발효한 현미, BRH: *Lb. plantarum* MKHA11로 발효한 현미, BRJ: *B. amyloliquefaciens* MKSK J1으로 발효한 현미, GBC: 쌍별귀뚜라미 첨가 현미 발효균 대조군, GBL: *Lb. rhamnosus* GG로 발효한 쌍별귀뚜라미 첨가 현미, GBS: *Leu. mesenteroides* MKSR로 발효한 쌍별귀뚜라미 첨가 현미, GBH: *Lb. plantarum* MKHA11로 발효한 쌍별귀뚜라미 첨가 현미, GBJ: *B. amyloliquefaciens* MKSK J1으로 발효한 쌍별귀뚜라미 첨가 현미.

²⁾ Different letters in a same column (a-d) differ statistically significantly ($p < 0.05$).

표 48. 현미 발효물 및 쌍별귀뚜라미를 첨가한 현미 발효물의 비단백 아미노산 프로파일 (mg/kg)

Sample s	Citrulline	Ornithine	Taurine	γ-Aminobutyric acid	TNPAA ¹⁾
BRC	0	0	2.19 ± 0.29 ^a	61.65 ± 2.87 ^b	63.85 ± 1.83 ^b
BRL	0	0	1.56 ± 0.57 ^a	179.48 ± 6.36 ^a	181.03 ± 4.10 ^a
BRS	0	0	1.17 ± 0.33 ^a	88.60 ± 1.66 ^b	89.77 ± 1.41 ^b
BRH	0	0	1.23 ± 0.03 ^a	119.94 ± 7.34 ^{ab}	121.17 ± 5.21 ^{ab}
BRJ	13.08 ± 3.89	13.03 ± 1.59	2.30 ± 0.62 ^a	98.48 ± 40.21 ^b	126.90 ± 32.75 ^{ab}
GBC	37.74 ± 2.53 ^{c2)}	23.67 ± 1.86 ^b	1081.05 ± 10.66 ^a	64.04 ± 0.82 ^c	1,206.51 ± 8.59 ^c
GBL	52.48 ± 2.56 ^b	39.77 ± 4.22 ^b	1195.21 ± 60.41 ^a	176.29 ± 5.36 ^a	1,463.76 ± 51.30 ^b
GBS	48.75 ± 1.81 ^b	30.83 ± 1.25 ^b	1155.70 ± 22.91 ^a	92.75 ± 1.85 ^b	1,328.03 ± 15.34 ^{bc}
GBH	44.60 ± 1.10 ^{bc}	34.44 ± 2.19 ^b	1134.97 ± 13.04 ^a	171.91 ± 1.74 ^a	1,385.93 ± 8.12 ^b
GBJ	329.53 ± 4.20 ^a	654.69 ± 20.94 ^a	1089.60 ± 1.82 ^a	95.28 ± 3.93 ^b	2,169.09 ± 16.28 ^a

Values represent mean ± standard deviations.

¹⁾ Total non-essential amino acid.

²⁾ Different letters in a same column (a-c) differ statistically significantly ($p < 0.05$).

표 49. 현미 발효물 및 쌍별귀뚜라미를 첨가한 현미 발효물의 아미노산 프로파일 품질 평가

Sample s	TAA ¹⁾ (mg/kg)	TEAA/TAA (%)	TNEAA/TAA (%)	TNPAA/TAA (%)	TBCAA/TAA (%)
BRC	464.98 ± 13.55 ^c	10.42	75.84	13.73	3.76
BRL	1,591.28 ± 25.06 ^a	34.28	54.34	11.38	17.06
BRS	1,176.25 ± 28.87 ^{ab}	29.20	63.17	7.63	11.60
BRH	1,454.02 ± 48.82 ^a	35.07	56.59	8.33	17.50
BRJ	710.18 ± 246.95 ^{bc}	23.39	56.74	17.87	8.40
GBC	6,480.84 ± 65.83 ^b	18.68	62.70	18.62	6.97
GBL	7,327.28 ± 50.54 ^b	20.68	59.34	19.98	7.06
GBS	6,973.35 ± 27.12 ^b	17.14	63.81	19.04	4.41
GBH	6,298.19 ± 60.59 ^b	19.07	58.92	22.01	6.07
GBJ	10,047.15 ± 596.26 ^a	39.98	38.43	21.59	18.72

Values represent mean ± standard deviations.

¹⁾ Total amino acid (TAA), total essential amino acid (TEAA), total non-essential amino acid (TNEAA), total non-protein amino acid (TNPAA), total branched-chain amino acid (TBCAA), essential amino acid index (EAAI).

²⁾ Different letters in a same column (a-c) differ statistically significantly ($p < 0.05$).

⑦ 항산화 활성 및 총 폴리페놀 함량

㉔ 발효물의 항산화 활성 및 총 폴리페놀 함량은 표 50에 나와 있음. 쌍별귀뚜라미를 첨가했을 경우, 항산화 활성 및 총 폴리페놀 함량이 월등히 증가하였음. 특히, 발효 후에 모든 샘플의 SOD 유사 활성이 유의적으로 증가하였음. DPPH 라디칼 소거능, ABTS 라디칼 소거능, 환원력은 발효에 의한 변화는 크게 나타나지 않았으나 쌍별귀뚜라미를 첨가했을 때 이 항산화 활성들이 월등히 향상되었음. SOD 유사 활성은 발효 후에 모든 샘플에서 유의적으로 증가하였음. 현미 샘플은 발효 후 총 폴리페놀 함량이 유의적으로 증가하였으나, 쌍별귀뚜라미를 첨가한 현미 샘플은 발효에 따른 유의적인 차이가 없었음. 그러나 쌍별귀뚜라미를 첨가했을 때 총 폴리페놀 함량이 2 배 이상 증가하였음.

표 50. 현미 발효물 및 쌍별귀뚜라미를 첨가한 현미 발효물의 항산화 활성 및 총 폴리페놀 함량

Samples ¹⁾	Antioxidant activities (%)				TPC ²⁾ (mg GAE/g)
	DPPH	ABTS	SOD-like activity	Reducing power	
BRC	16.38 ± 0.34 ^{c3)}	6.55 ± 0.18 ^b	3.06 ± 0.83 ^b	14.97 ± 0.32 ^c	2.00 ± 0.07 ^b
BRL	15.90 ± 0.33 ^{cd}	6.68 ± 0.24 ^b	7.39 ± 0.96 ^a	17.33 ± 0.01 ^b	2.23 ± 0.14 ^{ab}
BRS	23.54 ± 0.40 ^a	5.84 ± 0.21 ^b	6.57 ± 0.68 ^a	14.92 ± 0.31 ^c	2.27 ± 0.07 ^{ab}
BRH	13.59 ± 0.19 ^d	5.34 ± 0.21 ^b	6.52 ± 0.31 ^a	16.61 ± 0.04 ^b	2.28 ± 0.00 ^{ab}
BRJ	19.24 ± 1.27 ^b	9.34 ± 0.58 ^a	4.88 ± 0.04 ^{ab}	18.38 ± 0.05 ^a	2.42 ± 0.05 ^a
GBC	95.37 ± 0.34 ^a	80.90 ± 0.44 ^{ab}	4.23 ± 1.28 ^c	92.53 ± 8.64 ^a	6.95 ± 0.04 ^a
GBL	95.96 ± 0.04 ^a	71.77 ± 1.15 ^{bc}	12.74 ± 0.65 ^b	89.68 ± 2.58 ^a	6.96 ± 0.08 ^a
GBS	88.80 ± 0.00 ^b	75.94 ± 3.26 ^{bc}	13.10 ± 1.23 ^b	89.08 ± 2.92 ^a	5.42 ± 0.44 ^b
GBH	93.6 2 ± 2.04 ^a	69.37 ± 0.28 ^c	12.76 ± 0.97 ^b	96.56 ± 2.30 ^a	7.13 ± 0.39 ^a
GBJ	88.01 ± 0.98 ^b	90.84 ± 1.91 ^a	20.10 ± 1.57 ^a	87.33 ± 5.14 ^a	6.77 ± 0.03 ^a
Ascorbic acid	96.07 ± 0.00	99.89 ± 0.04	76.29 ± 0.15	100 ± 0.00	-

Values represent mean ± standard deviations.

¹⁾ BRC: 현미 발효균 대조군, BRL: *Lb. rhamnosus* GG로 발효한 현미 샘플, BRS: *Leu. mesenteroides* MKSR로 발효한 현미 샘플, BRH: *Lb. plantarum* MKHA11로 발효한 현미 샘플, BRJ: *B. amyloliquefaciens* MKSK J1으로 발효한 현미 샘플, GBC: 쌍별귀뚜라미 첨가 현미 발효균 대조군, GBL: *Lb. rhamnosus* GG로 발효한 쌍별귀뚜라미 첨가 현미 샘플, GBS: *Leu. mesenteroides* MKSR로 발효한 쌍별귀뚜라미 첨가 현미 샘플, GBH: *Lb. plantarum* MKHA11로 발효한 쌍별귀뚜라미 첨가 현미 샘플, GBJ: *B. amyloliquefaciens* MKSK J1으로 발효한 쌍별귀뚜라미 첨가 현미 샘플.

²⁾ TPC: Total polyphenol content.

³⁾ Different letters in a same column (a-d) differ statistically significantly ($p < 0.05$).

⑧ 호화 특성

㉔ 발효물의 호화 특성은 표 51에 나와 있음. 현미 샘플의 경우, 발효 후 peak viscosity와 trough viscosity, breakdown이 증가하였으며 final viscosity와 setback이 감소하였음. 이는 발효에 의해 전분의 수분 흡수력이 증가하여 발생한 결과로 추측됨. 특

히, 노화를 나타내는 지표인 setback 값이 유의하게 감소하였음. 쌍별귀뚜라미를 첨가했을 경우, 현미 단독 샘플보다 전체적으로 점도가 낮았으나, 발효 후 final viscosity, trough viscosity, final viscosity, setback이 유의적으로 증가하였음. 발효 후 모든 현미 샘플 및 쌍별귀뚜라미 현미 샘플의 peak time이 감소하였으며, pasting time은 발효 전후로 유의적인 차이가 없었음.

표 51. 현미 발효물 및 쌍별귀뚜라미를 첨가한 현미 발효물의 호화 특성

Samples	Viscosity (cP)					Peak time (min)	Pasting temp. (°C)
	Peak viscosity	Trough viscosity	Breakdown	Final viscosity	Setback		
BRC	603.00 ± 12.27 ^d	586.00 ± 13.54 ^c	17.00 ± 3.92 ^d	1,378.25 ± 30.25 ^a	792.25 ± 26.53 ^a	6.62 ± 0.31 ^a	93.88 ± 0.47 ^a
BRL	959.33 ± 7.72 ^a	713.33 ± 16.34 ^a	246.00 ± 19.30 ^{ab}	1,250.00 ± 8.04 ^b	536.67 ± 8.96 ^b	6.22 ± 0.11 ^b	94.17 ± 0.40 ^a
BRS	880.25 ± 17.23 ^b	706.75 ± 36.23 ^{ab}	173.50 ± 20.89 ^c	1,223.00 ± 25.57 ^b	516.25 ± 12.76 ^b	6.17 ± 0.11 ^b	94.21 ± 0.72 ^a
BRH	917.75 ± 20.47 ^{ab}	660.25 ± 14.77 ^b	257.50 ± 11.96 ^a	1,161.75 ± 12.58 ^c	501.50 ± 14.91 ^b	6.17 ± 0.09 ^b	93.45 ± 0.84 ^a
BRJ	773.00 ± 66.67 ^c	573.75 ± 29.67 ^c	199.25 ± 38.60 ^{bc}	1,081.50 ± 39.82 ^d	507.75 ± 15.95 ^b	5.97 ± 0.06 ^b	86.15 ± 15.52 ^a
GBC	121.00 ± 4.24 ^c	103.25 ± 2.87 ^c	17.75 ± 2.06 ^b	235.00 ± 8.98 ^c	131.75 ± 6.99 ^c	6.80 ± 0.16 ^a	95.05 ± 0.00 ^a
GBL	238.75 ± 16.32 ^b	214.25 ± 14.24 ^b	24.50 ± 2.08 ^b	423.00 ± 16.51 ^b	208.75 ± 5.50 ^b	5.84 ± 0.33 ^b	94.38 ± 0.64 ^a
GBS	221.25 ± 21.58 ^b	206.50 ± 20.12 ^b	12.50 ± 4.79 ^b	403.50 ± 18.21 ^b	197.00 ± 3.86 ^b	6.00 ± 0.51 ^{ab}	94.40 ± 9.41 ^a
GBH	244.75 ± 16.50 ^b	220.25 ± 15.46 ^{ab}	24.50 ± 3.11 ^b	414.50 ± 18.93 ^b	194.25 ± 6.08 ^b	6.29 ± 0.58 ^{ab}	94.04 ± 1.07 ^a
GBJ	324.75 ± 13.60 ^a	246.00 ± 8.83 ^a	78.75 ± 6.65 ^a	567.25 ± 26.87 ^a	321.25 ± 30.07 ^a	5.63 ± 0.09 ^b	93.86 ± 0.44 ^a

Values represent mean ± standard deviations.

¹⁾ BRC: 현미 발효균 대조군. BRL: *Lb. rhamnosus* GG로 발효한 현미 샘플, BRS: *Leu. mesenteroides* MKSR로 발효한 현미 샘플, BRH: *Lb. plantarum* MKHA11로 발효한 현미 샘플, BRJ: *B. amyloliquefaciens* MKSK J1으로 발효한 현미 샘플, GBC: 쌍별귀뚜라미 첨가 현미 발효균 대조군, GBL: *Lb. rhamnosus* GG로 발효한 쌍별귀뚜라미 첨가 현미 샘플, GBS: *Leu. mesenteroides* MKSR로 발효한 쌍별귀뚜라미 첨가 현미 샘플, GBH: *Lb. plantarum* MKHA11로 발효한 쌍별귀뚜라미 첨가 현미 샘플, GBJ: *B. amyloliquefaciens* MKSK J1으로 발효한 쌍별귀뚜라미 첨가 현미 샘플.

²⁾ Different letters in a same column (a-d) differ statistically significantly ($p < 0.05$).

⑨ 기능 특성

㉔ 발효물의 기능 특성은 표 52에 나와 있음. 수분 흡수 지수 (WAI)와 팽창력 (SP)는 현미 샘플이 상대적으로 높았으며, 수분 용해 지수 (WSI)는 쌍별귀뚜라미를 첨가한 현미 샘플에서 상대적으로 높았음. 이는 현미 샘플의 상대적으로 더 높은 전분의 함량과 쌍별귀뚜라미를 첨가한 현미 샘플의 상대적으로 더 높은 유리 아미노산 함량에 기인함. 그러나 그 차이가 거의 유의적이지 않기 때문에, 현미에 쌍별귀뚜라미를 첨가하는 것은 식품 산업에 있어서 유용하게 활용 가능할 것으로 예상됨.

표 52. 현미 발효물 및 쌍별귀뚜라미를 첨가한 현미 발효물의 기능 특성

Samples ¹⁾	WAI ²⁾ (g gel/g)	WSI (%)	SP (g water/g)
BRC	2.65 ± 0.05 ^{a3)}	17.21 ± 0.03 ^c	3.20 ± 0.06 ^{ab}
BRL	2.49 ± 0.01 ^b	18.46 ± 0.38 ^{abc}	3.06 ± 0.00 ^{abc}
BRS	2.47 ± 0.04 ^b	17.35 ± 0.23 ^{bc}	2.99 ± 0.04 ^{abc}
BRH	2.66 ± 0.05 ^a	19.03 ± 0.28 ^{abc}	3.29 ± 0.05 ^a
BRJ	2.50 ± 0.04 ^b	18.52 ± 0.71 ^{abc}	3.07 ± 0.07 ^{abc}
GBC	2.30 ± 0.00 ^c	19.70 ± 0.65 ^a	3.02 ± 0.23 ^{abc}
GBL	2.28 ± 0.00 ^c	19.45 ± 0.02 ^a	2.83 ± 0.00 ^c
GBS	2.39 ± 0.05 ^{bc}	17.38 ± 0.03 ^{bc}	2.90 ± 0.06 ^{bc}
GBH	2.32 ± 0.03 ^c	19.16 ± 0.66 ^{ab}	2.87 ± 0.02 ^{bc}
GBJ	2.25 ± 0.05 ^c	19.48 ± 0.85 ^a	2.80 ± 0.03 ^c

Values represent mean ± standard deviations.

¹⁾ BRC: 현미 발효균 대조군. BRL: *Lb. rhamnosus* GG로 발효한 현미 샘플, BRS: *Leu. mesenteroides* MKSR로 발효한 현미 샘플, BRH: *Lb. plantarum* MKHA11로 발효한 현미 샘플, BRJ: *B. amyloliquefaciens* MKSK J1으로 발효한 현미 샘플, GBC: 쌍별귀뚜라미 첨가 현미 발효균 대조군, GBL: *Lb. rhamnosus* GG로 발효한 쌍별귀뚜라미 첨가 현미 샘플, GBS: *Leu. mesenteroides* MKSR로 발효한 쌍별귀뚜라미 첨가 현미 샘플, GBH: *Lb. plantarum* MKHA11로 발효한 쌍별귀뚜라미 첨가 현미 샘플, GBJ: *B. amyloliquefaciens* MKSK J1으로 발효한 쌍별귀뚜라미 첨가 현미 샘플.

²⁾ WAI: Water absorption index, WSI: Water solubility index, SP: Swelling power.

³⁾ Different letters in a same column (a-c) differ statistically significantly ($p < 0.05$).

(다) 전처리 방법에 따른 쌍별귀뚜라미의 이취 성분 분석

① 전처리 방법에 따른 쌍별귀뚜라미의 휘발성 화합물 및 냄새 활성 물질은 표 53, 54에 나와 있음. 총 142개의 휘발성 화합물이 검출되었으며, 전처리를 하지 않은 쌍별귀뚜라미 (UGB)에서 66개로 가장 많은 화합물이 검출되었음. SGB와 DFGB는 49개의 휘발성 화합물이 검출되었고, AGB와 FGB는 43개의 휘발성 화합물이 검출되었음. 모든 샘플에서 가장 많이 검출된 그룹은 탄화수소류였으며, SGB는 특히 terpenes 및 terpenoids 그룹의 함량이 다른 샘플들보다 상대적으로 많았음. UGB는 5가지의 샘플

중 heterocyclic and aromatic compounds를 가장 많이 함유하고 있었으며, 이는 다른 샘플들에 비해 상대적으로 향을 가진 물질을 많이 함유하고 있다는 것을 의미함. UGB에 많이 함유되어 있는 주요 휘발성 화합물은 toluene, ethenylbenzene, ethylbenzene, phytane, benzaldehyde였음. Toluene은 산화, 탈수, 다른 여러 반응에 의해 monoterpenes 또는 sesquiterpenes의 초기 산물로부터 직접 생성될 수 있음 (Korkmaz et al., 2017). Benzaldehyde는 ethenylbenzene의 탄소 이중결합의 산화로부터 유래되며, bitter almond, woody, burned, metallic odor를 가진다고 알려져 있음 (Tao et al., 2014; Zhao et al., 2015). AGB의 주요 휘발성 화합물은 toluene, ethenylbenzene, 1,1-dichloro-fluoroethane, phytane, 2,8-dimethylundecane이었음. UGB와 비교했을 때, toluene과 ethenylbenzene이 각각 대략 16, 14배씩 감소하였음. FGB의 주요 휘발성 화합물은 hexanal, benzeneethanol, toluene, ethenylbenzene, methylthiomethane이었음. UGB와 비교했을 때, toluene과 ethenylbenzene이 각각 대략 44, 19배씩 감소하였음. FGB는 휘발성 화합물의 함량이 가장 적었지만, hexanal, 2-heptanal, 1-octen-3-ol, 2-pentyl fran 등과 같은 fishy, earthy 향을 갖는 화합물의 함량이 상대적으로 많았음 (Mounchili et al., 2005; Tao et al., 2014; Yu et al., 2016). SGB의 주요 휘발성 화합물은 β -phellandrene, camphene, β -myrcene, α -pinene, ethylbenzene이었음. UGB와 비교했을 때, toluene과 ethenylbenzene이 각각 대략 43, 11배씩 감소하였음. DFGB의 주요 휘발성 화합물은 hexane, ethenylbenzene, p-xylene, β -terpinene, methyl sulfone이었음. DFGB의 경우, hexane의 함량이 다른 샘플보다 매우 많았음. 이는 탈지 과정에서 용매로 사용된 hexane의 잔여물인 것으로 추측됨. GC-O 분석 결과, 총 20개의 냄새 활성 물질이 검출되었으며, 이 중 귀뚜라미와 관련된 냄새 설명을 갖는 화합물은 methoxy-phenyl-oxime, butyrolactone, methyl sulfone, p-cymene, 3-octen-2-one, diisodecyl ether, n-octyl ether, Benzeneethanol, Oxalic acid, isobutyl nonyl ester, 2-hexyldecanol, 2-octyldecan-1-ol, cyclododecane, acetic acid (phenethyl ester)를 포함하여 총 13개였음. 그 중, 냄새 강도가 3점으로 가장 높았던 cyclododecane은 musty, unpleasant odor를 가진다고 알려져 있으며 (GPS Safety Summary; Martin Adlem., 2018), UGB에서만 검출되었고 전처리 후에는 검출되지 않았음. 전처리 샘플의 귀뚜라미 관련 냄새 강도를 각각 계산했을 때, AGB와 SGB가 7점으로 가장 높았고 그 다음으로 UGB가 6점, FGB가 5점이었으며, DFGB가 4점으로 가장 낮았음. 실제로, 탈지 귀뚜라미를 첨가한 시리얼 바가 귀뚜라미 전체를 넣은 시리얼 바보다 소비자 기호도가 높았다는 연구 결과가 있음 (Ribeiro et al., 2019). 따라서 탈지를 통한 전처리가 쌍별귀뚜라미의 이취를 감소시키는 데에 효과적이라는 것을 알 수 있음.

표 53. 전처리 방법에 따른 쌍별 귀뚜라미의 휘발성 화합물 분석 결과

Compounds	RT ¹⁾ (min)	RI ²⁾	Contents($\mu\text{g}/100 \text{ g}$)					(L3)
			11 UG84	5 AGB	6 FGB	7 SGB	8 DFGB	
Heterocyclic or aromatic compounds (16)								
Benzene	5	<800	1.24±1.76	ND	7	ND	3.09±0.34	MS
Aldehydes (11)								
2-Methylpiperazine	5.62	<800	ND	ND	0.06±0.04	ND	ND	MS
Butanal	3.96	<800	ND	ND	ND	0.46±0.65	ND	MS/RI
Toluene	7.43	<800	324.77±422.17	20.12±7.67	7.44±0.44	7.59±0.03	1.25±0.07	MS/RI
3-Methylbutanal	4.9	<800	ND	ND	0.00±0.01	ND	ND	MS/RI
5-Methyl-2-phenylindole	8.9	839	ND	ND	ND	ND	0.42±0.59	MS
2-Methyl butanal	4.91	<800	ND	ND	ND	0.01±0.02	ND	MS
Ethylbenzene	10.3	881	97.55±134.67	3.30±0.98	2.30±0.62	11.80±3.55	2.13±0.03	MS
Pentanal	4.94	<800	ND	ND	ND	0.02±0.03	ND	MS/RI
p-Xylene	10.6	888	5.85±6.79	2.84±1.75	1.73±0.15	0.41±0.57	9.66±1.44	MS
Hexanal	8.31	820	ND	5.15±4.25	14.48±4.15	ND	1.31±0.04	MS
m-Xylol	10.6	889	0.55±0.78	1.13±1.60	0.66±0.31	3.22±4.55	ND	MS
2-Heptenal	13.5	974	ND	ND	0.16±0.23	ND	ND	MS
Ethylbenzene	11.4	909	117.76±151.04	8.48±3.71	6.31±2.52	10.48±3.46	11.85±0.70	MS
Benzaldehyde	13.6	978	43.05±60.89	0.82±0.69	0.04±0.06	ND	0.81±0.07	MS/RI
1,3-Dimethylbenzene	13.8	983	ND	ND	ND	0.14±0.20	ND	MS
Nonanal	18.1	1118	11.27±15.94	ND	0.22±0.11	0.63±0.10	1.33±0.02	MS/RI
Phenol	14.3	996	12.81±18.11	ND	ND	ND	ND	MS
Ethyl-benzaldehyde	20.3	1193	2.03±2.87	ND	ND	ND	ND	MS
Benzol	14.3	997	0.08±0.12	ND	ND	ND	ND	MS
1,2,3-Trimethylbenzene	15.3	1029	1.15±1.62	ND	ND	ND	ND	MS
Decanal	21	1218	0.31±0.16	0.43±0.61	0.03±0.05	0.31±0.16	0.36±0.04	MS
Naphthalene	20.5	1198	11.96±16.79	ND	ND	ND	0.36±0.04	MS
2-Butyloct-2-enal	25.5	1386	ND	ND	0.09±0.13	ND	ND	MS
7-Butyldocosane	22.1	1258	ND	ND	ND	0.07±0.01	ND	MS
Total content			56.66	6.4	15.02	1.43	3.81	
Alcohols (9)								
o-Methylbiphenyl-diphenylmethane	26.2	1415	9.51±13.44	ND	ND	ND	ND	MS
1-Octen-3-ol	14.2	993	ND	ND	1.25±0.72	ND	ND	MS/RI
Butylated Hydroxytoluene	28.9	1527	ND	ND	ND	ND	0.03±0.05	MS
2-Butyloctanol	15.5	1035	ND	ND	ND	0.08±0.11	ND	MS
Total content			583.23	35.87	18.5	33.64	28.79	
Furans (1)								
3,5-Octadien-2-ol	16.3	1060	0.09±0.12	0.60±0.85	0.13±0.18	ND	ND	MS
2-Pentyl furan	14.6	1005	ND	ND	1.35±0.79	ND	ND	MS
Benzeneethanol	18.4	1129	8.26±11.67	0.81±1.15	13.55±7.72	5.95±0.76	0.57±0.47	MS
Total content			0	0	1.35	0	0	
Pyrazines (3)								
2-Hexyldecanol	18.7	1141	ND	1.36±1.05	ND	0.33±0.02	0.27±0.01	MS
2-Octyldecan-1-ol	19.8	1178	ND	0.05±0.07	ND	ND	0.25±0.03	MS
2,5-Dimethyl pyrazine	12	930	ND	ND	ND	1.12±0.33	ND	MS
2-Ethyl-1-hexanol	21.7	1243	ND	0.22±0.31	ND	ND	ND	MS
2-Ethyl-3,6-dimethylpyrazine	17.3	1093	ND	ND	ND	0.88±0.12	ND	MS
2-Isopropyl-5-methyl-1-hexanol	23.7	1318	ND	0.19±0.27	ND	ND	ND	MS
Tetramethylpyrazine	17.6	1098	ND	1.24±1.76	ND	1.07±0.09	ND	MS
Levomenthyl	20.1	1188	6.42±9.07	ND	ND	ND	ND	MS
Total content			0	1.24	0	3.07	0	
Sulfur containing compounds (4)								
Total content			14.77	3.23	14.93	6.36	1.09	
Ketones (8)								
Methylthiomethane	3.27	<800	ND	ND	3.90±5.52	ND	ND	MS
2,3-Octanedione	14.4	998	ND	ND	0.46±0.18	0.59±0.83	ND	MS
Dimethyl sulfide	3.33	<800	ND	ND	2.30±0.18	ND	ND	MS
3,6-Dimethyl-4-octanone	14.4	988	ND	ND	0.05±0.07	0.37±0.53	ND	MS
Methyl sulfone	12.4	941	ND	0.43±0.27	ND	ND	6.19±8.73	MS/RI
6-Methyl-5-hepten-2-one	14.5	1001	1.91±2.70	ND	ND	ND	ND	MS
1-Octadecanesulphonyl chloride	27.5	1467	4.89±6.91	ND	ND	ND	ND	MS
1-Fluoro-2-indanone	14.9	1017	ND	ND	ND	ND	0.29±0.07	MS
Total content			4.89	0.43	6.2	0	6.19	
Lactones (1)								
3-Octen-2-one	15.1	1023	ND	ND	0.13±0.19	ND	ND	MS
Butyrolactone	12.3	940	7.67±10.84	ND	ND	ND	ND	MS
3-Octen-2-one	16.1	1055	ND	2.93±1.88	ND	2.23±0.13	1.61±0.38	MS
Total content			7.67	0	0	0	0	
Ethers (2)								
Acetophenone	17	1082	6.67±9.02	1.39±1.97	0.09±0.13	ND	ND	MS
2-Undecanone	23.4	1304	0.09±0.12	ND	ND	ND	ND	MS
Diisodecyl ether	16.5	1067	ND	ND	ND	0.19±0.07	ND	MS
Total content			8.67	4.32	0.73	3.19	1.9	
Terpenes and terpenoids (19)								
n-Octyl ether	16.5	1069	ND	ND	ND	0.07±0.10	ND	MS
Total content			0	0	0	0.26	0	
Etc. (7)								
α -Pinene	12.7	952	4.81±6.81	0.18±0.26	ND	12.38±1.18	0.09±0.13	MS/RI
Camphene	13.2	966	ND	0.30±0.43	ND	21.50±2.70	0.15±0.21	MS/RI
1,1-Dichloro-1-fluoroethane	3.19	<800	ND	7.86±11.11	ND	ND	ND	MS
Sabinene	14	989	ND	ND	ND	0.59±0.83	ND	MS/RI
1,1-Difluorodecane	8.29	820	0.01±0.01	ND	ND	ND	ND	MS
Tetrachloroethylene	8.84	837	1.26±1.79	ND	ND	ND	ND	MS
2- β -Pinene	14	989	ND	ND	ND	2.26±2.05	ND	MS
Pentalin	14.1	991	8.49±12.01	ND	1.25±0.72	ND	ND	MS
β -Myrcene	14.6	1005	0.30±0.43	ND	ND	13.91±1.13	ND	MS
1-Bromopentadecane	18.2	1121	ND	ND	0.11±0.15	ND	ND	MS
α -Thujene	15	1020	0.12±0.17	ND	ND	6.44±0.91	0.72±0.06	MS
3-Heptafluorobutyroxytridecane	23.2	1299	ND	ND	ND	ND	0.03±0.01	MS
1-Terpinene	15.1	1023	ND	ND	ND	0.87±0.11	ND	MS/RI
1,22-Dibromodocosane	25.3	1380	ND	ND	ND	ND	0.05±0.01	MS
3-Carene	15.2	1027	ND	ND	ND	0.48±0.68	ND	MS/RI
Total content			9.76	7.86	1.36	0	0.08	
α -Terpinene	15.4	1033	ND	ND	ND	0.99±0.27	ND	MS/RI
β -Terpinene	15.6	1039	1.43±2.02	3.34±4.67	ND	1.24±0.11	6.80±0.21	MS
p-Cymene	15.7	1042	ND	ND	ND	1.48±0.30	ND	MS/RI
β -Phellandrene	15.8	1046	0.76±1.08	1.80±2.55	2.03±0.42	79.04±5.13	ND	MS/RI
Phytane	15.9	1051	78.16±110.40	7.79±8.40	0.10±0.15	ND	2.96±0.71	MS
Squalane	16.8	1078	4.12±5.83	ND	0.12±0.11	ND	0.54±0.01	MS
α -Terpinolene	17.6	1102	0.14±0.20	ND	ND	1.73±0.11	1.43±0.02	MS
α -Cubebene	25.7	1393	10.33±14.62	ND	ND	ND	ND	MS
Caryophyllene	26.8	1440	4.99±7.05	ND	ND	ND	ND	MS
β -copaene	27	1448	2.71±3.84	ND	ND	ND	ND	MS
α -Calacorene	29.7	1560	6.72±9.51	ND	ND	ND	ND	MS
Total content			114.59	13.41	2.25	142.91	12.69	
Hydrocarbon (43)								
Hexane	3.5	<800	ND	0.16±0.23	0.32±0.46	ND	450.84±139.35	MS/RI
2,4-Hexadiyne	5.16	<800	0.42±0.60	ND	ND	ND	ND	MS
Heptane	5.59	<800	ND	ND	0.06±0.09	ND	ND	MS/RI
Octane	8.32	821	1.16±1.64	ND	ND	ND	ND	MS
Nonane	11.6	916	ND	ND	ND	0.27±0.39	ND	MS
1,3,5,7-Cyclooctatetraene	11.6	918	0.72±1.02	ND	ND	ND	ND	MS

1) RT: retention time.

2) RI: retention index.

3) I.D.: identification.

4) UGB: un-treated GB, AGB: air-dried GB, FGB: freeze-dried GB, SGB: steam-heated GB, DFGB: defatted GB.

5) ND: not detected.

표 54. 전처리 방법에 따른 쌍별 귀뚜라미의 주요 냄새 활성 물질 및 냄새 설명

Major compounds	RT ¹⁾ (min)	RI ²⁾	Contents(µg/ 100g)					Odor intensity					Odor description	I.D.
			UGB	AGB	FGB	SGB	DFGB	UGB	AGB	FGB	SGB	DFGB		
Toluene	7.43	<800	324.77±422.17	20.12±7.67	7.44±0.44	7.59±0.03	1.25±0.07	1	ND	ND	ND	ND	Roasty, Aromatic	MS/RI
Hexanal	8.31	820	ND	5.15±4.25	14.48±4.15	ND	1.31±0.04	ND	ND	1	ND	ND	grass	MS/RI
Pentanoic acid	9.84	867	ND	0.15±0.21	ND	ND	ND	ND	3	ND	ND	ND	Salt smell	MS/RI
Methoxy-phenyl-oxime	11.74	921	0.40±0.56	1.12±1.59	0.34±0.19	0.57±0.80	ND	ND	2	2	1	ND	Cricket	MS
2,5-Dimethyl pyrazine	11.99	930	ND	ND	ND	1.12±0.33	ND	ND	ND	ND	1	ND	Roasty	MS/RI
Butyrolactone	12.33	940	7.67±10.84	ND	ND	ND	ND	1	ND	ND	ND	ND	Cricket	MS
Methyl sulfone	12.36	941	ND	0.43±0.27	ND	ND	6.19±8.73	ND	1	ND	ND	1	Hot dried cricket, De-fatted cricket, Roasty	MS
α-Pinene	12.72	952	4.81±6.81	0.18±0.26	ND	12.38±1.18	0.09±0.13	ND	ND	ND	1	ND	Grass	MS/RI
1-Octen-3-ol	14.19	993	ND	ND	1.25±0.72	ND	ND	ND	ND	1	ND	ND	Bitter smell	MS
p-Cymene	15.67	1042	ND	ND	ND	1.48±0.30	ND	ND	ND	ND	1	ND	Cricket	MS/RI
3-Octen-2-one	16.07	1055	ND	2.93±1.88	ND	2.23±0.13	1.61±0.38	ND	ND	ND	1	ND	Cricket	MS
Diisodecyl ether	16.46	1067	ND	ND	ND	0.19±0.07	ND	ND	ND	ND	1	ND	Cricket	MS
n-Octyl ether	16.53	1069	ND	ND	ND	0.07±0.10	ND	ND	ND	ND	2	ND	Autoclaved cricket, roasty	MS
Tetramethylpyrazine	17.56	1098	ND	1.24±1.76	ND	1.07±0.09	ND	ND	1	ND	1	ND	Roasty, Barley	MS
Benzeneethanol	18.38	1129	8.26±11.67	0.81±1.15	13.55±7.72	5.95±0.76	0.57±0.47	2	2	2	1	1	Cricket	MS
Oxalic acid, isobutyl nonyl ester	18.53	1134	ND	0.96±1.36	ND	ND	ND	ND	2	ND	ND	ND	Cricket	MS
2-Hexyldecanol	18.72	1141	ND	1.36±1.05	ND	0.33±0.02	0.27±0.01	ND	ND	ND	ND	1	De-fatted cricket, roasty	MS
2-Octyldecan-1-ol	19.84	1178	ND	0.05±0.07	ND	ND	0.25±0.03	ND	ND	ND	ND	1	Cricket	MS
Cyclododecane	20.58	1202	6.15±8.69	ND	ND	ND	ND	3	ND	ND	ND	ND	Cricket	MS
Acetic acid, phenethyl ester	22.44	1271	ND	ND	0.06±0.09	ND	ND	ND	ND	1	ND	ND	Freeze dried cricket	MS

1) RT: retention time.

2) RI: retention index.

(라) 단백질 가수분해 효소 농도 및 가수분해 시간에 따른 쌍별귀뚜라미 가수분해물 제조

① 가수분해 및 SDS PAGE

㉞ 44가지 단백질 가수분해 효소 중 전반적인 활성이 가장 높았던 neutrase를 선택하였음. Neutrase 농도에 따른 쌍별귀뚜라미는 효소반응 조건 (neutrase 농도 5.3, 0.53, 0.053U, water bath (50°C)에서 15, 30, 60, 90 min 반응한 모든 처리군이 가수분해되었음 (그림 44). 비효소군 (C30, C60, C90)의 가수분해 시간에 따른 차이는 없음.

㉟ Neutrase 5.3U 첨가군은 15 min (No. 1)만 반응하여도 단백질이 대부분 가수분해되어 5 kDa 이하로 밴드가 나타났으며 neutrase 5.3U, 30 min (No. 2)과 비슷하게 63 kDa 부근에 희미한 밴드가 보임. Neutrase 5.3U, 60 min (No. 5)과 90 min (No. 8)은 5 kDa 이하 밴드만 나타남. Neutrase 농도가 높고, 가수분해 시간이 길수록 나타난 밴드가 적고, 밴드의 색이 옅어진 것으로 보아 가수분해가 더 많이 일어나서 저분자 펩타이드가 많이 생성되었다고 볼 수 있음. 가수분해 시간보다 효소의 농도가 가수분해 정도에 더 영향을 미치는 것을 알 수 있음.

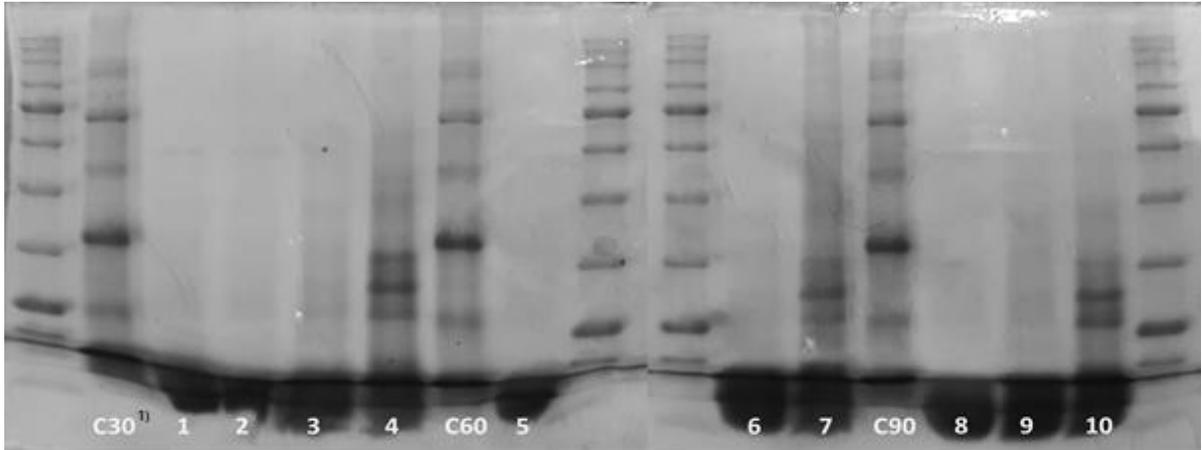


그림 44. SDS-PAGE of GB hydrolysates by Neutrased.

¹⁾[C30, Hydrolysis 30 min and no enzyme; C60, Hydrolysis 60 min and no enzyme; Hydrolysis 90 min and no enzyme; 1, Hydrolysis 15 min and neutrased 5.3 U; 2, Hydrolysis 30 min and neutrased 5.3 U; 3, Hydrolysis 30 min and neutrased 0.53 U; 4, Hydrolysis 30 min and neutrased 0.053 U; 5, Hydrolysis 60 min and neutrased 5.3 U; 6, Hydrolysis 60 min and neutrased 0.53 U; 7, Hydrolysis 60 min and neutrased 0.053 U; 8, Hydrolysis 90 min and neutrased 5.3 U; 9, Hydrolysis 90 min and neutrased 0.53 U; 10, Hydrolysis 90 min and neutrased 0.053 U.]

② 수분함량, 수율 및 총고형분 함량

- ㉠ 단백질 가수분해 효소인 neutrased 농도 및 시간에 따른 쌍별귀뚜라미 가수분해물의 수분함량, 수율 및 총고형분 함량을 측정하였음 (표 55).
- ㉡ 수분함량은 비효소균과 neutrased 0.53 U 첨가균의 가수분해 시간에 따른 차이는 없었으며 neutrased 5.3 U과 0.053 U 첨가균에서 가수분해 시간이 길수록 수분함량이 줄어들었음. Neutrased 농도에 따른 수분함량은 모든 가수분해 시간에서 비효소균이 가장 많으며 효소 첨가균은 0.053 U, 0.53 U, 5.3 U 순으로 많았음.
- ㉢ 비효소균의 가수분해 시간에 따른 수율 차이는 없었으며 전체적으로 가장 낮은 수율을 보였음. 효소 첨가균은 모두 30 min 가수분해보다 90 min 가수분해 했을 때 더 높았으며 neutrased 5.3 U가 0.53 U, 0.053 U보다 수율이 높았음.
- ㉣ 총고형분 함량은 수율과 같이 비효소균이 가장 함량이 낮으며 효소 첨가균은 90, 60, 30 min 순으로 높고 5.3 U, 0.53 U, 0.053 U 순으로 높았음.
- ㉤ 효소 농도가 높을수록, 가수분해 시간이 길수록 수분함량이 적으며 반대로 수율과 총고형분 함량은 높았음.

표 55. Yield and Brix° of *GB (Gryllus bimaculatus)* hydrolysates

Neutrased (U) ¹⁾	Hydrolysis time (min)			
	15	30	60	90
Yield (%)				
0	-	18.82±0.10 ^{Ad2)}	17.10±1.73 ^{Ad}	18.91±0.02 ^{Ad}
0.053	-	23.28±0.12 ^{Cc}	24.48±0.01 ^{Bc}	25.03±0.02 ^{Ac}
0.53	-	28.57±0.21 ^{Cb}	30.48±0.14 ^{Bb}	31.41±0.13 ^{Ab}
5.3	35.25±0.13 ^D	36.02±0.00 ^{Ca}	38.17±0.16 ^{Ba}	38.94±0.05 ^{Aa}
Brix° (%)				
0	-	2.00±0.00 ^{Ac}	2.00±0.00 ^{Ad}	2.00±0.00 ^{Ad}
0.053	-	2.43±0.05 ^{Bb}	2.70±0.08 ^{Ac}	2.80±0.00 ^{Ac}
0.53	-	3.20±0.00 ^{Cb}	3.40±0.00 ^{Bb}	3.60±0.00 ^{Ab}
5.3	4.00±0.00 ^C	4.23±0.05 ^{Ba}	4.50±0.08 ^{Aa}	4.60±0.00 ^{Aa}

¹⁾ One unit (U) = Amount of enzyme that releases 1 µg of tyrosine per 1 mL of the reaction mixture in 1 minute.

²⁾ Values with different capital letters among the hydrolysates in difference hydrolysis time indicate significant difference by Tukey's test ($P<0.05$). Values with different lower cases among the difference enzyme concentration indicate significant differences by Tukey's test ($p<0.05$).

③ 가수분해도

㉞ 단백질 가수분해 효소인 neutrased의 농도 및 가수분해 시간에 따른 가수분해 정도를 알아보기 위해 가수분해도를 측정하였음 (표 56). 비효소군은 가수분해 시간이 증가해도 일정하였으며 가장 낮은 가수분해도를 보였음. 효소 첨가군은 모든 효소 농도에서 30 min 보다 60 min이 가수분해도가 높았고 60 min와 90 min은 차이가 없었음. 효소 농도는 증가할수록 가수분해도는 증가했으며 neutrased 5.3 U가 가장 높은 가수분해도를 나타냈음.

표 56. DH (degree of hydrolysis) of *Gryllus bimaculatus* hydrolysates by protease concentration and hydrolysis time

Neutrased (%) ¹⁾	Hydrolysis time (min)			
	15	30	60	90
0	-	49.2±3.23 ^{Ac2)}	48.4±0.34 ^{Ad}	49.3±1.15 ^{Ad}
0.053	-	52.9±0.44 ^{Bc}	58.6±0.72 ^{Ac}	58.3±1.27 ^{Ac}
0.53	-	58.7±0.04 ^{Bb}	62.5±1.89 ^{Ab}	63.5±0.48 ^{Ab}
5.3	68.0±2.49 ^B	71.3±1.45 ^{ABa}	74.6±0.02 ^{Aa}	75.4±2.40 ^{Aa}

¹⁾ One unit (U) = Amount of enzyme that releases 1 µg of tyrosine per 1 mL of the reaction mixture in 1 minute.

²⁾ Values with different capital letters among the hydrolysates in difference hydrolysis time indicate significant difference by Tukey's test ($P<0.05$). Values with different lower cases among the difference enzyme concentration indicate significant differences by Tukey's test ($P<0.05$).

④ 항산화 활성

- ㉔ 단백질 가수분해 효소인 neurase 농도 및 가수분해 시간에 따른 쌍별귀뚜라미 가수분해물의 DPPH 라디칼 소거 활성은 비효소군과 효소 첨가군 모두 가수분해 시간에 따른 차이가 없었으며 효소 첨가군에서 5.3 U, 0.53 U, 0.053 U 순으로 높았음 (표 57).
- ㉕ SOD 유사 활성은 비효소군보다 효소 첨가군이 높았으며 효소 첨가군의 효소 농도 및 시간에 대한 경향은 없었음. Reducing power는 비효소군과 효소 첨가군 사이에 차이가 없었음.
- ㉖ FRAP은 가수분해 시간에 따른 차이는 없었으며 비효소군보다 효소 첨가군에서 더 높은 활성을 보였음.
- ㉗ Reducing power를 제외한 DPPH 라디칼 소거 활성, SOD 유사활성 및 FRAP에서 비효소군보다 효소 첨가군의 항산화 활성이 높았으며 neurase 농도가 높을수록 높았음.

표 57. Antioxidant capacity (DPPH, SOD, Reducing power, FRAP) of *Gryllus bimaculatus* hydrolysates

Neurase (%) ¹⁾	Hydrolysis time (min)			
	15	30	60	90
DPPH radical scavenging (%)				
0	-	84.9±0.25Ac ²⁾	84.5±0.27Ab	85.0±0.60Ac
0.053	88.7±0.33A	88.3±0.53Aa	88.4±0.47Aa	89.4±0.51Aa
0.53	-	86.7±0.48Ab	87.4±0.64Aa	87.1±1.13Ab
5.3	-	84.8±0.38Ac	85.6±0.41Ab	85.2±0.35Ac
SOD like activity (%)				
0	-	33.4±1.01Ac	25.4±1.30Bc	33.0±1.18Ac
0.053	-	38.2±1.22Bb	48.6±3.66Aab	41.1±0.05Bb
0.53	-	44.6±1.21Aa	40.4±2.72Bb	47.4±1.76Aa
5.3	41.8±4.79B	44.9±1.02Aa	54.7±8.17Aa	43.0±2.37ABb
Reducing power (Abs)				
Ascorbic acid	3.29			
0	-	3.20±0.11Aa	3.24±0.02Aa	3.25±0.04Aa
0.053	-	3.11±0.01Aa	3.17±0.04Aa	3.11±0.08Aa
0.53	-	3.09±0.04Aa	3.20±0.08Aa	3.11±0.06Aa
5.3	3.15±0.07A	3.28±0.00Aa	3.19±0.01Aa	3.15±0.06Aa
FRAP activity (mM FeSO4)				
0	-	23.2±0.30Ab	22.0±0.21Ac	21.0±1.74Ac
0.053	-	21.9±0.36Aa	23.5±0.19Aab	22.1±0.22Ab
0.53	-	22.1±0.20Aa	22.6±0.46Ab	23.7±0.20Ab
5.3	21.9±0.67A	20.9±0.60Aa	21.5±0.21Aa	21.8±0.20Aa

¹⁾ One unit (U) = Amount of enzyme that releases 1 µg of tyrosine per 1 mL of the reaction mixture in 1 minute.

²⁾ Values with different capital letters among the hydrolysates in difference hydrolysis time indicate significant difference by Tukey's test ($P < 0.05$). Values with different lower cases among the difference enzyme concentration indicate significant differences by Tukey's test ($P < 0.05$).

제 4 절. 연구개발 성과

1. 국내외 논문 게재

No	논문명	학술지명	주저자명	호	국명	발행기관	SCI여부 (SCI/비SCI)	게재일	등록번호
1	Lactobacillus plantarum MKHA15와 Leuconostoc mesenteroides MKSR을 첨가한 발효 채소 주스의 특성	대한영양사협회 학술지	장현아	25(4)	대한민국	대한영양사협회	비SCI	2019.11	
2	Antidiabetic, anticholesterol, and antioxidant activity of <i>Gryllus bimaculatus</i> fermented by <i>Bacillus</i> and <i>Lactobacillus</i> strains	Applied Sciences	장현아	11	스위스	MDPI	SCIE	2021.02	

2. 국내 및 국제학술회의 발표

No	제목/학술회의명	발표자	발표일시	장소	국명
1	Isolation and Characterization of Probiotic <i>Bacillus subtilis</i> 1-1 Possessing L-asparaginase Activity from Soybean fermented Food / 2019 KFN International Symposium and Annual Meeting	임혜지, 최진아, 성희영, 장현아, 윤지원, 김민지, 이수정, 유성률, 이영승, 정운화, 김미숙	2019.10.24	ICC Jeju, Jeju	대한민국
2	Health Functional Properties of Probiotic <i>Lactobacillus plantarum</i> MKHA11 and MKHA15 / 2019 KFN International Symposium and Annual Meeting	장현아, 성희영, 김민지, 이수정, 박자원, 심은서, 조성진, 양찬호, 유성률, 김미숙	2019.10.24	ICC Jeju, Jeju	대한민국
3	Acrylamide degradation of probiotic <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> MKSK, MKSE in fermented coffee / 2019 KFN International Symposium and Annual Meeting	최진아, 윤지원, 김민지, 이수정, 이영승, 정운화, 김미숙	2019.10.24	ICC Jeju, Jeju	대한민국

4	Quality Characteristics and Antioxidant Activities of Onion Bread Fermented with Probiotic <i>Leuconostoc mesenteroides</i> MKSR / 2019 KFN International Symposium and Annual Meeting	성희영, 김민지, 이수정, 이영승, 정윤희, 김미숙	2019.10.24	ICC Jeju, Jeju	대한민국
5	Health Functional Properties of fermented <i>Gryllus bimaculatus</i> by <i>Lactobacillus plantarum</i> MKHA15 and <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> MKSK-J1 / 2020 KoSFoST International Symposium and Annual Meeting	장현아, 심은서, 유성률, 이영승, 정윤희, 김미숙	2020.07.02	광주 김대중컨벤션센터	대한민국
6	Effects of <i>Gryllus bimaculatus</i> hydrolysates on activity of antioxidant capacity and starch-degrading enzyme / 2020 KoSFoST International Symposium and Annual Meeting	최진아, 양찬호, 유성률, 하정현, 정윤희, 김미숙	2020.07.02	광주 김대중컨벤션센터	대한민국
7	Evaluation of Arginine Kinase, a potential allergen from <i>Gryllus Bimaculatus</i> / 2020 KoSFoST International Symposium and Annual Meeting	성희영, 박자원, 유성률, 이영승, 정윤희, 김미숙	2020.07.03	광주 김대중컨벤션센터	대한민국

8	Effect of fat removal from <i>Gryllus bimaculatus</i> on antioxidant activity / 2020 KoSFoST International Symposium and Annual Meeting	윤지원, 김민지, 유성률, 하정현, 정운화, 김미숙	2020.07.03	광주 김대중컨벤션 센터	대한민국
9	Antioxidant and Anti-cholesterol Activity of <i>Gryllus bimaculatus</i> Fermented by <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> / 2020 KFN International Symposium and Annual Meeting	장현아, 김민지, 정운화, 김미숙	2020.10.21	ICC Jeju, Jeju	대한민국
10	Characterization of Odor Compounds from <i>Gryllus Bimaculatus</i> using Gas Chromatography-Mass Spectrometry-Olfactometry / 2020 KFN International Symposium and Annual Meeting	성희영, 신의철, 박자원, 유성률, 이영승, 정운화, 김미숙	2020.10.21	ICC Jeju, Jeju	대한민국
11	Screening of probiotic lactic acid bacteria isolated from kimchi, and their characteristics / 2020 KNS International Symposium and Annual Meeting	윤지원, 성희영, 이영승, 하정현, 정운화, 김미숙	2020.11.06	On line	대한민국

3 생명자원(생물자원)/화합물

No	생명자원(생물자원)/화합물명	등록/기탁번호	등록/기탁기관	발생년도
1	<i>Lactobacillus plantarum</i> MKHA11	KCTC13927BP	Korean Collection for Type Cultures	2019
2	<i>Lactobacillus plantarum</i> MKHA15	KCTC13928BP	Korean Collection for Type Cultures	2019

4. 지식재산권(특허, 실용신안, 의장, 디자인, 상표, 규격, 신제품, 프로그램)

No	지식재산권 등 명칭 (건별 각각 기재)	국 명	출원			등 록			기여율
			출원인	출원일	출원번호	등록인	등록일	등록번호	
특 허									
1	신규한 락토바실러스 플란타럼 MKHA 11 균주 및 이의 용도	대한민국	단국대학교 천안캠퍼스 산학협력단	2019.09.10	10-2019-0112121	단국대학교 천안캠퍼스 산학협력단	2020.12.10	10-2191774	100
2	신규한 락토바실러스 플란타럼 MKHA 15 균주 및 이의 용도	대한민국	단국대학교 천안캠퍼스 산학협력단	2019.09.10	10-2019-0112122	단국대학교 천안캠퍼스 산학협력단	2020.12.10	10-2191775	100
3	프로바이오틱 균주로 발효한 식용곤충 발효물 및 이의 용도	대한민국	단국대학교 천안캠퍼스 산학협력단	2020.06.30	10-2020-0080003				100
4	생물전환된 쌍별귀뚜라미 발효물을 포함하는 식품조성물 및 이의 제조방법	대한민국	(주)정심 식품	2020.12.17	10-2020-0177316				100
상 표									
1	데일리 파워 업 제05류	대한민국	(주)정심 식품	2020.12.30	40-2020-0239649				100
2	데일리 파워 업 제30류	대한민국	(주)정심 식품	2020.12.30	40-2020-0239650				100
3	Daily Power Up 제05류	대한민국	(주)정심 식품	2020.12.30	40-2020-0239651				100
4	Daily Power Up 제30류	대한민국	(주)정심 식품	2020.12.30	40-2020-0239652				100

5. 저작권(소프트웨어, 서적 등)

No	저작권명	창작일	저작자명	등록일	등록번호	저작권자명	기여율

6. 전문 연구 인력 양성

No	분류	기준 년도	현 황											
			학위별				성별		지역별					
			박사	석사	학사	기타	남	여	수도권	충청권	영남권	호남권	기타	
				4										

7. 산업기술 인력양성

No	프로그램명	프로그램 내용	교육기관	교육 개최회수	총 교육시간	총 교육인원

8. 기술거래(이전) 등

No	기술이전 유형	기술실시계약명	기술실시 대상기관	기술실시 발생일자	기술료 (당해연도 발생액)	누적 징수현황
	기술이전		(주)정심식품			

9. 사업화 투자실적

No	추가 R&D 투자	설비 투자	기타 투자	합계	투자자금 성격
					1) 내부자금 2) 신용대출 3) 담보대출 4) 투자유치 5) 기타

10. 사업화 현황

No	사업화 방식	사업화 형태	지역	사업화명	내용	업체명	매출액		매출 발생년도	기술 수명
							국내	국외		
1	자가실시	신제품개발 (강황추출액) 2015027531210 1	국내	품목제조 보고	JS-NC 강황추출 액 1320L	(주)정심 식품				
2	자가실시	신제품개발 (강황 추출분말) 2015027531210 2	국내	품목제조 보고	JS-NC 강황추출 분말 1321	(주)정심 식품				
3	자가실시	신제품개발 (강황 추출분말) 2015027531210 3	국내	품목제조 보고	JS-NC 강황추출 분말 1322	(주)정심 식품				
4	자가실시	신제품개발 (고기능성 소재) 2015027531212 6	국내	품목제조 보고	JS-OFP 발효추출 분말(B)	(주)정심 식품				
5	자가실시	신제품개발 (고기능성 소재) 2015027531212 5	국내	품목제조 보고	JS-OFP 발효추출 분말(LB)	(주)정심 식품				
6	자가실시	신제품개발 (고기능성 소재) 2015027531212 0	국내	품목제조 보고	데일리 파워업 단호박크 립수프	(주)정심 식품				

11. 표준화

No	수행기관명	표준화 주제	표준화 기구	표준화 단계	관련번호	제출(채택)일	국가
						yyyy.mm.dd	

12. 기술요약정보

연도	기술명	요약내용	기술완성도	등록번호

13. 보고서 원문

연도	보고서 구분	발간일	등록번호

14. 기타

가. 수상내용

(1) 우수포스터 발표상

- (가) Antioxidant and Anti-cholesterol Activity of *Gryllus bimaculatus* Fermented by *Bacillus a myloliuefaciens*, 2020 International Symposium & Annual Meeting of Korean Society of Food Science and Nutrition, ICC Jeju (2020.10.21.-23)
- (나) Characterization of Odor Compounds from *Gryllus Bimaculatus* using Gas Chromatography-Mass Spectrometry-Olfactometry. 2020 International Symposium & Annual Meeting of Korean Society of Food Science and Nutrition, ICC Jeju (2020.10.21.-23)
- (다) Screening of probiotic lactic acid bacteria isolated from kimchi, and their characteristics. 2020 The Korean Nutrition Society International Conference, Virtual (2020.11.06.)

제 5 절. 연구 결과

1. 기술적 성과

No.	기술명	기술 수준 및 기술개발 성과	경쟁사 기술 및 제품 대비 우월성
1	나노분쇄 유화공법을 이용한 수용성 초미세분말 커큐민 제조기술	<ul style="list-style-type: none"> - 수용성 초미세분말 커큐민 제조, 공정 표준화 및 고품질 커큐민 생산 기술 확립 - 품목제조보고 3건, 시작품 1건, 고용 창출 1건 - 특허 1건 출원 준비중 - 타사 제품(제이스에프아이) 8% 커큐민 함량, 저장안정성 1년 미만과 비교하여 커큐민 함량이 높고 안정성이 우수함. 	<p>자사제품 비교하여 커큐민 함량이 높고 저장안정성이 뛰어나.</p> <ul style="list-style-type: none"> - 입도(< 1 um) 이하 → 평균 0.431 um - 커큐민 함량 90 mg/g, 상온 저장 1년
2	쌍별귀뚜라미 이취 및 알레르기 저감화를 위한 전처리 방법	<ul style="list-style-type: none"> - 전처리를 달리한 쌍별귀뚜라미의 이취 및 알레르기 저감화 데이터 확보 - 학술발표 2건, 전문연구인력 1건 - SCIE급 논문 1건 게재(2012.02) 	<p>전처리 방법에 따른 쌍별귀뚜라미의 이취 성분 세계 최초 구명 및 저감화 소재 개발</p>
3	항당뇨, 항콜레스테롤, 항산화 효과를 동시에 보유한 프로바이오틱 쌍별귀뚜라미 생산 기술	<ul style="list-style-type: none"> - 연구진 보유 프로바이오틱 균주를 활용한 항당뇨, 항콜레스테롤, 항산화 효과를 동시에 보유한 포스트바이오틱 개념의 쌍별귀뚜라미 발효물 개발 - 학술발표 2건, 특허 출원 1건 완료 - SCIE급 논문 1건 게재(2021.02) 	<ul style="list-style-type: none"> - 프로바이오틱스 MK HA15 9.52 log CFU/mL 함유 - 우수한 항당뇨활성 : α-glucosidase 저해 활성 101.94 %, α-amylase 저해 활성 68.48 % - 우수한 항콜레스테롤 활성 : HMG-CoA 환원효소 저해 활성 120.89 % - 우수한 항산화 활성 : DPPH 라디칼 소거 활성 (EC₅₀) 17.05 mg/mL, SOD 유사 활성 (IC₅₀) 22.37 mg/mL, 환원력 (EC₅₀) 0.69 mg/mL
4	생물전환기술을 활용한 쌍별귀뚜라미 고기능성 소재 대량 생산 공정 표준화 및 산업화	<ul style="list-style-type: none"> - 항산화 효능을 가지는 쌍별귀뚜라미 고기능성 발효 소재 대량 생산 공정 구축 및 산업화 성공 - 영양성분, 유효요소, 저장안정성 미생물 규격 적합한 고령친화식품 인증용 고기능성 소재 2종 개발 및 사업화 	<p>생물전환기술을 쌍별귀뚜라미에 적용하여 고기능성 소재로의 대량 생산화 세계 최초</p>

	업화 기술	를 위한 품목제조보고 2건, 특허 출원 1건, 제조공정도 1건	
5	생물전환기술을 활용한 고령친화식품 인증용 고기능성 항노화 즉석분말수프 대량 생산 공정 표준화 및 산업화 기술	<ul style="list-style-type: none"> - 고기능성 항노화 즉석분말수프 대량 생산 공정 확립 및 제품 개발 - 영양성분, 유효요소, 저장안정성 미생물 규격 적합한 고령친화식품 인증용 고기능성 즉석분말수프 레시피 1건, 수프 생산제조공정도 1건, 싯가품 1건, 품목제조보고 2건, 특허 출원 1건, 특허 출원 1건 준비중 	<p>고령친화식품 규격 적합 시작품 즉석분말수프 개발</p> <ul style="list-style-type: none"> - 한국인 영양권장량 대비 단백질 297 ~ 314%, 비타민 D 3.068% ~ 15.440%, 칼슘 함량 1, 317 ~ 330% - 커큐민 함량 1.2 mg/g 이상
6	단백질 강화와 항산화 활성을 보유한 쌍별귀뚜라미-현미 발효물 개발	<ul style="list-style-type: none"> - 단백질의 강화와 아미노산 질이 개선되고 항산화 활성을 보유한 현미 발효물과 쌍별귀뚜라미-현미 발효물 개발 - 특허 출원 1건 준비중, SCI급 논문 1건 준비중 	<p>고령친화용 단백질 강화 현미발효물 개발</p> <ul style="list-style-type: none"> - 단백질 3배 이상 함유, 제한아미노산인 라이신 함유, 필수아미노산 및 분지쇄아미노산의 높은 함유, 최대 20% 소화율 향상
7	쌍별귀뚜라미를 보충한 프로바이오틱 싹 개발	<ul style="list-style-type: none"> - 쌍별귀뚜라미를 보충하여 프로바이오틱 발효 싹을 개발하여 치매와 밀접한 관련이 있는 효소들의 작용 억제를 하였음. 	<p>멀티기능성 쌍별귀뚜라미 보충 발효 싹 개발</p> <ul style="list-style-type: none"> - 프로바이오틱스 MKJW 8.14 CFU/ml 함유, 치매 유발 관련 주요 효소 활성 저해(AChEI 91.1%, BuChEI 74.0%), FRAP value 34.1 mM FeSO₄
8	항당뇨, 항산화 활성을 가진 프로바이오틱 발효 채소 주스 생산기술	<ul style="list-style-type: none"> - 신규 발굴한 프로바이오틱 균주를 활용하여 항당뇨, 항산화 효과를 동시에 보유한 포스트바이오틱스 음료 개발 - 비SCI 논문 1건, 균주 1건 기탁, 특허 출원 1건, 특허 등록 1건, 학술발표 1건 	<p>신규 발굴 프로바이오틱 균주를 활용한 포스트바이오틱스 개념의 식품 개발</p>

2. 경제적 성과

No.	기술명	내용
1	수용성 초미세분말 커큐민 및 조성물	<ul style="list-style-type: none"> - 나노분쇄 유효공법을 이용한 커큐민 함유 강황추출물 초미세분말 커큐민 제조 공정을 개선하여 공정 효율화 및 고품질 소재 생산에 의한 비용 절감을 유도하여 생산성을 향상시킬 수 있음. - 다양한 가공식품에 쉽게 적용 가능한 고기능성 소재로 고부가가치 창출 가능
2	쌍별귀뚜라미 소비시장 확대	<ul style="list-style-type: none"> - 곤충에 대한 혐오감으로 섭취를 거부하던 소비자들의 곤충식품에 대한 인식 변화와 섭취 대중화에 따른 곤충의 식품화 선도 효과를 이루어 판로 다양화에 의한 농가소득 창출 및 고용 유발 가능하여 미래농업 육성을 기대할 수 있음.
3	쌍별귀뚜라미 고기능성 소재 대량생산 공정표준화 및 산업화	<ul style="list-style-type: none"> - 기존의 곤충 소재화 연구 에서 해결하지 못한 이취 및 알레르기 유발물질 저감화 원천기술력 - 최초의 생물전환기법을 활용한 쌍별귀뚜라미 발효 소재에 관한 국내외 특허 및 관련 제품화에 의한 매출 발생 기대 - 식용곤충이 가진 잠재적인 식품소재로서의 가치를 극대화한 고부가가치 신소재 개발에 의한 매출 발생 - 이미와 이취가 저감화되고 항산화 활성이 높고 소비자 기호도를 높일 수 있는 미래대체소재로써 독창성 확보에 의한 식품소재분야에서의 독점우위 선점 - 대량생산공정 표준화에 의한 생산성 및 유통 편의성 향상 - 아시아, 중국의 해외 시장 진출 기대
4	고령친화식품용 고기능성 항노화 즉석분말수프생산 공정표준화 및 산업화	<ul style="list-style-type: none"> - 미래 식품사업의 대세인 고령 친화 식품 시장을 포함한 CMR 시장에서도 다양한 응용에 의한 업계 트렌드 주도 및 매출 발생 - 최초의 식용곤충을 이용한 고령 친화용 즉석 분말수프로써 가정간편식 수프류 시장의 새로운 제품으로써 선호도가 높을 것으로 기대됨. - 수프 시장 선호도를 종합하면 본 기술제품은 고령친화수프로써, 타 경쟁제품과 다르게 기능성이 포함되어 있어 간편하게 영양성분을 섭취할 수 있는 점에서 차별적인 이미지를 확보할 것으로 판단됨.

3. 사업화 성과 및 매출실적

가. 사업화 성과

항목	세부항목			성 과
사업화 성과	매출액	개발제품	개발후 현재까지	0억원
			향후 3년간 매출	0.9억원
		관련제품	개발후 현재까지	0억원
			향후 3년간 매출	0.5억원
	시장 점유율	개발제품	개발후 현재까지	국내 : 0 % 국외 : 0 %
			향후 3년간 매출	국내 : 10 % 국외 : 1 %
		관련제품	개발후 현재까지	국내 : 0 % 국외 : 0 %
			향후 3년간 매출	국내 : 8 % 국외 : 1 %
	세계시장 경쟁력 순위	현재 제품 세계시장 경쟁력 순위		위
		3년 후 제품 세계 시장경쟁력 순위		위

2) 사업화 계획 및 매출 실적

항 목	세부 항목	성 과			
사업화 계획	사업화 소요기간(년)	3년(관련제품 고령친화식품 마크 인증, 해외시장 개척 등)			
	소요예산(백만원)	20 (고령친화식품 마크 인증, 해외시장개척, 국내 외 시장개척비용 등)			
	예상 매출규모 (억원)	현재까지	3년후	5년후	
		0	1	3	
	시장 점유율	단위(%)	현재까지	3년후	5년후
		국내	0	9	10
국외		0	1	2	
	향후 관련기술, 제품을 응용한 타 모델, 제품 개발계획	1. 고령친화식품용 Application 제품 개발 2. 프리미엄 사료용 쌍별귀뚜라미 유래 고기능성 소재 및 제품 개발			
무역 수지 개선 효과	(단위: 억원)	현재	3년후	5년후	
	수입대체(내수)				
	수 출	0	0.5	1	

제 3 장. 목표 달성도 및 관련 분야 기여도

제 1 절. 최종 성과 목표 및 평가방법

1. 최종 성과 목표

- 가. 생물전환기술을 활용한 고기능성 발효 소재(쌍별귀뚜라미)와 이를 활용한 커큐민 함유 고령친화 즉석분말수프 개발
 - (1) 생물전환기술을 활용한 이취 및 알레르기 저감 기능성 발효 소재 제조공정 및 소재 개발
- 나. 생물전환기술을 활용한 고기능성 발효 소재(쌍별귀뚜라미)와 이를 활용한 커큐민 함유 고령친화 즉석분말수프를 개발함과 동시에 산업화를 위한 응용연구
 - (1) 식품의약품안전처 고령친화식품기준(2018. 07. 25) 규격 및 식품공전>22-2(3) 즉석조리식품 규격에 적합한 제품 개발
 - (2) 생물전환기술을 활용한 고령친화용 고기능성 향노화 즉석분말수프 제조 및 고령친화용 CMR 제품 생산 기술 개발

2. 연차별 연구계획의 평가사항(정량적 수준)

가. 1차년도

- (1) 주관연구기관 : (주)정심식품
 - (가) 초미세분말 커큐민의 품질기준 → 입도 1 μ m 이하
 - (나) 고령친화식품 인증용 고기능성 향노화 즉석분말수프 → 제품 100 g 단백질, 비타민D, 칼슘을 한국인 영양섭취기준의 10% 이상 되도록 원료식품을 조합하거나 영양성분을 첨가
 - (다) 고령친화식품 인증용 고기능성 향노화 즉석분말수프의 large scale 생산 공정 구축 및 표준화 → 제조설명서 1부, 작업지시서 1부, 공정도 1부
- (2) 협동연구기관 : 단국대학교
 - (가) 쌍별귀뚜라미의 알레르기 성분 → 20% 이내
 - (나) 쌍별귀뚜라미의 가수분해율 → 35% 이상
 - (다) 쌍별귀뚜라미 연구 관련 학술발표 → 3건 이상

나. 2차년도

- (1) 주관연구기관 : (주)정심식품
 - (가) 고령친화용 고기능성 향노화 즉석분말수프의 large scale 생산 공정 구축 및 표준화
제조설명서 1부, 작업지시서 1부(제조설명서, 작업지시서 함께), 공정도 1부
 - (나) 고령친화식품 인증용 고기능성 향노화 즉석분말수프의 기준규격 및 품질기준 설정
 - ① 식품의약품안전처 고령친화식품 위생지표균 규격에 적합한 제품(식약처고시 제 201-31호) & 고령친화식품 한국산업표준(KS H 4897)규격에 적합한 제품(2019. 12. 06 개정)

- ㉔ 단백질, 비타민A, C, D 등 8종의 영양성분 중 3종 이상이 제품 100g 당 한국인 영양섭취기준의 10% 이상 되도록 원료식품을 조합하거나 영양성분을 첨가함.
- ㉕ 식품공전> 고령친화식품 위생지표균 기준 & 22-2(3) 즉석조리식품 규격
- ㉖ 대장균(n=5, c=0, m=0), 황색포도상구균(1 g 당 100 이하), 살모넬라(n=5, c=0, m=0/25 g)

② 즉석분말수프 기준규격을 만족하는 시제품 1건

(다) 고령친화용 고기능성 항노화 즉석분말수프 유통시스템 구축 및 산업화

① 식품품목제조보고서 2건

(2) 협동연구기관 : 단국대학교

(가) 당전이효소 발효물 개발 → 첨가당 기준으로 당 소모 20% 이상

(나) 쌍별귀뚜라미의 알레르기 성분 → 20% 이내

(다) 쌍별귀뚜라미 연구 관련 특허출원 → 1건 이상

(라) 쌍별귀뚜라미 연구 관련 학술성과 → 비SCI급 논문 2건, 학술발표 4건 이상

3. 평가의 착안점 및 기준

가. 즉석분말수프의 기준규격을 만족하는 시제품 1건

나. 식품의약품안전처 고령친화식품 인증기준(식약처고시 제2019-31호) 규격에 충족하는 제품1건 사업화

(1) 식품의약품안전처 고령친화식품 위생지표균 규격에 적합한 제품(식품의약품안전처고시 제 201-31호) & 고령친화식품 한국산업표준(KS H 4897)규격에 적합한 제품(2019. 12. 06 개정)

다. 품목제조신고 2건(쌍별귀뚜라미 소재, 시제품)

(단위 : 건수, 백만원, 명)

성과 목표	사업화지표										연구기반지표									
	지식 재산권			기술 실시 (이전)		사업화					기술 인증	학술성과				교육 지도	인력 양성	정책 활용-홍보		기타 (타 연구 활용 등)
	특허 출원	특허 등록	품종 등록	건수	기술 료	제품 화	매출 액	수출 액	고용 창출	투자 유치		논문		논문 평균 IF	학술 발표			정책 활용	홍보 전시	
												SCI	비 SCI							
단위	건	건	건	건	백 만 원	건	백 만 원	백 만 원	명	백 만 원	건	건	건	건	명	건	건			
가중치	20		10	5	5	30	10		20											
최종목표	2	1	1	1	2.59	2	90		3		1	3		7	4					
1차년도	목표	0	0	0	0	0	0		1		0	1		3	1					
	실적	2	0	2	0	0	3	0	1		0	1		4	1					
2차년도	목표	2	0	1	1	2.59	2	10	1		1	2		4	3					
	실적	2	2	0	2	7.59	3	0	1		1	0		7	3					
소계	목표	2	0	1	1	2.59	2	10	2		1	3		7	4					
	실적	4	2	2	2	7.59	6	0	2		1	1		11	4					
종료 1차년도		0					10		1		(3)									
종료 2차년도		0					20													
종료 3차년도		1					50													
종료 4차년도																				
종료 5차년도																				
소계	0	1	0	0	0	0	80		1		(3)	0		0	4					
합계	4	3	2	1	7.59	6	90		3		(3)	1		11	4					

* 단계별 연구성과 목표는 향후 중간/최종/추적평가 등의 정량적 평가지표로 활용됨

** 연구성과는 연구개발계획에 맞춰 도출하고 예시와 같이 작성

*** 가중치 총합 100을 기준으로 성과목표지표별 중요도, 난이도에 따라 배분하되 가중치 총합이 100이 되도록 배분(사업화지표에 60 이상 배분)

- 1) 특허출원 및 특허등록은 제품에 해당 특허 내용을 표시하여야 실적으로 인정
- 2) 기술실시 이전대상은 주관연구기관의 유형(영리법인/비영리법인)에 관계없이 참여기업을 대상으로 함
- 3) 사업화 지표 중 제품화, 매출액 실적의 경우 품목제조보고서 제출 시 성과를 인정

제 2 절. 연구개발 목표 달성도

1. 최종 성과 목표 및 달성도

구분 (연도)	세부과제명	세부연구목표	연구개발 수행내용	가중치	달성도	
1차 년도 (2019)	생물전환기술 을 활용한 고기능성 발효 소재 제조 공정 개발 및 표준화	나노분쇄 유효공법을 이용 한 수용성 초미세분말 커 큐민 제조 및 공정 표준화	○ 커큐민 제조 조건 확립 - 분쇄조건, 조성물 조건 확립	10	100	
			○ 개발 소재별 건조 공정 표준화 - 분무건조 조건, 배합비, 부원료 확립 → 초미세커큐민 조성물 고형분40°Brix	10	100	
		성과 : 품목제조보고 3건, 시작품 1건, 고용창출 1건, 특허 출원 1건 준비중 (수프)	○ 수용성 초미세분말 커큐민 품질기 준 설정 - 입도(< 1 um) 이하, 커큐민 함량 80 mg/g 이상, 수분함량 4% 이하	20	100	
			○ 고령친화식품 인증용 고기능성 향노 화 수프 개발 - 쌍별귀뚜라미로 생물전환한 고기능성 소재 2종 개발 - 고령친화식품 규격 적합한 즉석분말수프 레시피 개발	30	100	
			○ 개발 소재별 대량 생산 공정 구축 및 표준화 - 미생물 균주 접종액 배양시간 기초자 료 1건, 쌍별귀뚜라미로 생물전환한 고기능성 소재 대량생산 표준공정도 1 건 확립, 고령친화식품 인증에 적합한 소재 2건 개발 확립	30	100	
		고령친화식품 인증용 고기 능성 향노화 수프 개발 및 대량 생산 공정 구축				
	성과 : 품목제조보고 2건, 특허 출원 3건, 기술이전 2 건, 고용창출 1건					
	생물전환기술 활용 고기능성 발효 소재 제조공정 개발 최적화 및 품질평가		○ 전처리 기술 개발 - 이취 제거를 위한 전처리 조건 확보	20	100	
		생물전환기술 활용 이취 및 알레르기 저감 기능성 발효소재 개발 최적화 품 질평가	○ 효소 및 발효를 포함하는 생물전 환기술 조건 연구 - 주관연구기관에 산업화를 위한 기본 Lab scale 제조공정도 제공	60	100	
		성과 : 비SCI논문 1건, 학 술발표 4건, 생물자원 2건, 특허 출원 2건, 특허 등록 2건, 전문연구인력 1건	○ 이화학적 품질 특성 분석 - 알레르기 성분, 쌍별귀뚜라미 항기성 분 분석 - 쌍별귀뚜라미 가수분해물 이화학적 분 석 결과 → 알레르기 성분 불검출, 75.4%(효소 반응), 66.35-72.22%(쌍별귀뚜라미 첨가 현미발효물의 가수분해도)	10	100	
		○ 건강기능성 평가 - 항산화 활성 결과, 탄수화물분해효소 활성 결과	10	100		

구분 (연도)	세부과제명	세부연구목표	연구개발 수행내용	가중치	달성도
2차 년도 (2020)	즉석분말수프 의 대량생산 구축	고령친화용 고기능성 향노 화 즉석분말수프의 대량 생산 공정 구축 및 표준화	○ 고령친화식품 인증용 고기능성 향 노화 즉석분말수프 개발 - 초미세분말 커큐민과 쌍별귀뚜라미로 생물 전환한 고기능성 소재를 포함하는 고령친 화식품 규격 고기능성 향노화 즉석분말수 프(데일리 파워 업 단호박크림수프) 최초 개발 ○ 쌍별귀뚜라미로 생물전환한 고기능성 소재를 포함하는 고령친화식품 규격 고기능성 향노화 즉석분말수프 application 후속 연구 진행중	30	100
		성과 : 시작품 1건, 품목제조보고 6건, 고용 창출 1건, 상표 출원 4건, 특허 출원 1건, 특허 출원 1 건 준비중	○ 고령친화식품 인증용 고기능성 향 노화 즉석분말수프 large scale 생 산 공정 구축 및 표준화 - 고령친화용 고기능성 향노화 즉석분말 수프 대량생산 표준공정도 1건, 제조 설명서 및 작업지시서 1건 확립(즉석 분말식품 HACCP 인증공정도 반영)	30	100
		생물전환기술을 활용한 고 령친화용 고기능성 향노화 즉석분말수프 제조 및 고 령친화용 CMR 제품 생산 기술 개발	○ 고령친화식품 인증용 고기능성 향 노화 즉석분말수프의 기준규격 및 품질기준 설정 - 영양성분, 유통기한설정, 관능검사, 위해요 소 분석 → 식품의약품안전처 고령친화 식품기준(2018. 07. 25) 규격 및 식품공 전>22-2(3) 즉석조리식품 규격에 적합 한 제품 개발 1건 완료 - 커큐민 함량 1.2mg/g 이상 함유	20	100
	생물전환기술 을 활용한 고령친화 향노화수프 개발	성과 : 시작품 1건, 품목제조보고 6건, 고용 창출 1건, 상표 출원 4건, 특허 출원 1건, 특허 출원 1 건 준비중	○ 고령친화용 고기능성 향노화 즉석 분말수프 유통시스템 구축 및 산 업화 - 마케팅 전략 확보 - 유통기한 설정 (6개월) - 진행중	20	100
		생물전환기술 활용 고령친 화 향노화수프 개발 및 품 질평가	○ 기능성분 강화를 위한 복합효소 및 발효조 연구 - 향당노, 항콜레스테롤, 항산화 활성을 동시에 보유한 쌍별귀뚜라미 발효물 개발	40	100
		성과 : 특허출원 2건, SCI논문 1건 (2021.02.), SCI논문 3건 투고 준비중, 학술발표 7건, 전문연구인력 3건.	○ 탄수화물 소재 및 쌍별귀뚜라미 소재 배합 최적화 - 단백질 및 아미노산 품질이 강화된 쌍 별귀뚜라미-현미 발효물 개발	40	100
		○ 이화학적 품질 특성 분석 - 쌍별귀뚜라미 이취성분, pH, 총산도, 가수분해도, RVA, SDS-PAGE, 일반성	10	100	

			부분적 결과표 ○ 건강기능성 평가 - 항산화 활성, 항콜레스테롤 활성, 항당 뇨 활성 결과, 소화력 결과	10	100
--	--	--	---	----	-----

제 3 절. 관련 분야 기여도

1. 기술적 측면

가. 쌍별귀뚜라미 이취 제거를 위한 전처리 방법 확립 (세계 최초)

- (1) 전처리를 달리한 쌍별귀뚜라미의 이취 성분 기초 자료 세계 최초 구명

나. 생물전환기술을 활용한 고기능성 발효소재 생산 원천기술 확보 (세계 최초)

- (1) 생물전환기술을 활용한 이취 및 알레르기 저감 기능성 발효 소재 개발

- (가) 항당뇨, 항콜레스테롤, 항산화 효과를 동시에 보유한 생물전환기술 활용 이취 및 알레르기 저감 기능성 프로바이오틱 쌍별귀뚜라미 소재 생산을 위한 기초 자료 정립
- (나) 항당뇨, 항콜레스테롤, 항산화 효과를 동시에 보유한 생물전환기술 활용 이취 및 알레르기 저감 기능성 프로바이오틱 쌍별귀뚜라미 소재 생산 기본 제조공정도 확립
- (다) 항당뇨, 항콜레스테롤, 항산화 효과를 동시에 보유한 포스트바이오틱스 개념의 쌍별귀뚜라미 발효물 개발

- (2) 생물전환기술을 활용한 쌍별귀뚜라미 유래 고기능성 발효 소재 대량 생산 공정 구축 및 산업화

- (가) 생물전환기술 활용 이취 및 알레르기 저감 기능성 발효 소재 대량 생산 산업화 기술 확립
- (나) 생물전환기술 활용 이취 및 알레르기 저감 기능성 발효 소재 개발
- (다) 생물전환기술 활용 이취 및 알레르기 저감 기능성 발효 소재 산업화

- (3) 기능성분 강화를 위한 복합효소 및 발표조 연구

- (4) 탄수화물 소재 및 쌍별귀뚜라미 소재 배합에 따른 이화학적, 건강기능성 평가 자료 확보

다. 생물전환기술을 활용한 고령친화형 향노화 즉석분말수프 제조 및 산업화 기술 확립 (세계 최초)

- (1) 고령친화용 고기능성 향노화 즉석분말수프 대량 생산 공정 구축 및 표준화 기술 확립

- (가) 고령친화식품 인증용 고기능성 향노화 즉석분말수프 개발

- ① 수용성 초미세분말 커큐민과 쌍별귀뚜라미로 생물전환한 고기능성 소재를 포함하는 고령친화식품 규격 고기능성 향노화 즉석분말수프 산업화 제조공정도 (즉석분말식품 HACCP 인증공정도 반영) 개발

- ② 초미세분말 커큐민과 쌍별귀뚜라미로 생물전환한 고기능성 소재를 포함하는 고령친화식품 규격 고기능성 향노화 즉석분말수프 시제품 개발

- 식품의약품안전처 고령친화식품기준(2018. 07. 25) 규격 및 식품공전>22-2(3) 즉석조

리 식품 규격에 적합한 제품 개발 1건 완료

(나) 고령친화식품 인증용 고기능성 항노화 즉석분말수프 application 후속 연구 진행중
라. 나노분쇄 유효공법을 이용한 수용성 초미세분말 커큐민 제조기술 (기존기술 개선)

(1) 초미세분말 커큐민 제조조건 및 공정 표준화 및 산업화 공정 개선

(가) 커큐민 제조 조건 확립

(나) 개발소재별 건조 공정 표준화 확립

(다) 수용성 초미세분말 커큐민 개발 및 제품 3건 사업화 완료

(2) 초미세분말 커큐민 품질기준 설정 완료

2. 경제적 측면

가. 쌍별귀뚜라미를 이용한 생물전환 원천기술의 산업적 활용에 의한 경제 효과 발생

(1) 생물전환 핵심기술인 쌍별귀뚜라미 발효물과 커큐민을 함유하여 산업적 활용이 다양하게 기대되는 고기능성 발효 소재 생산 기술은 현재까지 국내·외에서 연구결과가 발표되지 않은 독보적인 원천기술로써 지식재산권과 관계된 규제로부터 자유로우며 해당 기술 이용에 대한 우선권을 확보하여 국내외·적으로 경쟁력 우위를 선점할 수 있을 것으로 기대됨.

(2) 연구결과에 따라 확보한 생물전환 핵심기술을 기반으로 생산한 쌍별귀뚜라미 고기능성 발효 소재는 미래형 식품소재를 필요로 하는 국내·외 식품시장 선점 및 경쟁력 확보 전망

(3) 2차 가공에 활용할 수 있는 원천기술로서 식용곤충 식품산업 확대에 새로운 활로가 될 것으로 기대됨.

나. 나노 분쇄 유효공법을 이용한 수용성 초미세분말 커큐민 제조 공정 개선에 의한 생산 효율성 상승, 분말 품질 향상에 의한 매출 상승 기대

다. 최초의 고령친화용 고기능성 항노화 즉석분말수프

(1) 제품 차별화, 성능 및 품질 경쟁력, 가격 경쟁력 3가지 경쟁우위가 가능한 최초의 고령친화용 고기능성 항노화 즉석분말수프

(2) 고령친화식품 분야에서 프리미엄 식품으로서의 선도적 위치 확보와 고부가가치 식품으로서의 경제 효과 가능

(3) 개발된 고령친화용 고기능성 항노화 즉석분말수프는 타 경쟁제품과 비교하여 곤충 단백질 및 항산화 커큐민이 함유되어 있어, 영양성분과 기능성이 보장된 형태의 프리미엄 간편편이식 제품

라. 포스트코로나 트렌드에 부합하는 간편편이식 제품으로서 경제 효과 발생

(1) 가정 간편식 시장은 코로나19 이전부터 1인 가구 및 고령인구의 증가, 여성의 경제활동 확대 등으로 꾸준한 성장세를 보였으며, 코로나사태가 종식되더라도 가정 간편식 중심의 온라인 식품시장 규모는 앞으로도 가파른 성장세가 지속될 것으로 전망하였음. 포스트코로나 시대에는 언택트한 간편식 제품이 보편화 될 전망(해양수산부 공식블로그).

(2) 간편하면서도 헬스, 웰리스 제품을 희망하는 소비자군의 기대에 적합한 제품

마. 안정된 소득 창출에 따른 미래농업 산업 육성 및 농업 안정화

(1) 곤충사육 농가와의 계약을 통한 원료 수급으로 원재료 조달비용 절감이 가능

(2) 쌍별귀뚜라미 식품 산업화를 통한 농가 부가가치 소득원 발굴

(3) 식용곤충을 이용한 식품산업의 선점을 통한 식품 신산업 창출 효과

3. 사회적 측면

(1) 대중의 곤충 섭취에 대한 부정적인 혐오감을 낮추고 대중적인 식품으로의 접근을 가능하게 하여 국민 건강증진 기여, 농수산물 고부가가치 2가지 사회적 파급효과 기대

제 4 절. 목표 미달성 시 원인(사유) 및 차후대책(후속연구의 필요성 등)

1. 목표 미달성 여부

- 가. 협약 당시 목표했던 성과지표 중 특허출원, 특허 등록, 품종 등록, 제품화, 학술발표, 기술 이전, 기술료를 모두 초과달성하였음.
- 나. 협약 당시 목표했던 성과지표 중 고용창출, 인력양성을 모두 달성하였음.
- 다. 협약 당시 목표했던 논문은 SCI 1건, 비SCI 3건이었으나 비SCI 1건, SCIE 1건 완료하였으며 SCI 3건을 준비 중
- 라. 협약 당시 목표했던 매출액은 달성하지 못하였으나 이는 예상치 못했던 코로나19 팬데믹 상황 발상에 의한 경기 침체에 의한 것임.
- 마. 결과적으로, 주관연구기관과 협동연구기관은 협약 당시 목표했던 성과지표를 우수하게 초과 달성 또는 달성하였음.

2. 후속연구의 필요성

- 가. 초미세분말 커큐민 품질 개선 연구
 - (1) 1차년도 수배한 강황추출물 분말을 이용하여 초미세분말 커큐민을 제조하였으나 원료 가공적성이 우수한 강황추출물 분말을 2차년도에 다시 수배하여 개선된 제품 생산 적용실험을 진행 중
- 나. 고령친화수프 어플리케이션 연구
 - (1) 사업화 다양성을 위하여 단호박크립수프 이외에도 다양한 응용제품 기초 연구 수행 중
- 다. 소재 및 제품의 장기(1년 이상) 저장안정성 연구
 - (1) 과제 일정에 따라 유통기한설정실험 기초 연구는 종료하였으나 즉석분말식품 유통기한인 1년 동안 초미세분말 커큐민, 고기능성소재, 시작품의 장기 저장안정성에 대한 후속 연구 필요성 인지하여 현재 후속 연구 진행 중

제 4 장. 연구결과의 활용 계획 등

제 1 절. 연구 성과의 활용분야 및 활용방안

1. 연구 성과의 활용분야 및 활용방안

가. 생물전환 원천 기술의 독보적 가치와 산업적 활용

- (1) 생물전환 기술을 이용한 쌍별귀뚜라미 유래 고기능성 발효소재 제조 원천 기술을 기반으로 한 소재 제조방법 및 소재 사업화
 - (가) 현재 국내 식용곤충 가공기술은 분말, 건조, 환 등으로 1차 가공품 수준이 대부분이며 고가의 원료 자체를 단순 가공하는 형태로서 아직까지는 많은 부가가치를 창출하지 못하고 있음. 그러므로 상기한 원천기술을 통하여 개발한 고기능성 발효 소재를 활용하여 식용곤충 가공기술 향상을 통한 고부가가치 소재 개발 및 국가 경쟁력 확보를 기대할 수 있음.
 - (나) 기존 수행중인 연구의 대부분은 쌍별귀뚜라미 분말을 이용한 일차 가공제품의 개발이나 또는 단순 효소 처리 등에 의한 단백질 추출물 수득 및 소재화 수준에서 진행되어 구체적인 사업화 부분이 취약한 한계가 있었음.
 - (다) 본 수행과제는 식품 분야에서 외면받아 왔던 식용곤충의 일종인 쌍별귀뚜라미에 최신 트렌드의 생물전환 연구기법을 적용하여 기존의 곤충 소재화 연구에서 해결하지 못한 이취 및 알레르기 유발 물질이 저감화되고 식품소재로 활용도를 높인 고부가가치 신소재로의 활용이 가능할 것으로 판단되어 결과적으로 식용곤충이 가진 잠재적인 식품소재로서의 가치를 극대화할 수 있을 것으로 기대됨. 결과적으로 기존 곤충가공 연구에서 이루어지지 않은 새로운 분야의 생물전환기법을 활용한 쌍별귀뚜라미 발효와 그 제조방법에 관한 기술력을 확보하였음.

나. 수용성 초미세분말 커큐민 제조 기술

- (1) 난용성 생리활성 물질인 커큐민 함유 강황추출물 초미세분말 커큐민 제조 공정을 개선하여 커큐민 함량이 높고 가공식품에 적용하기 쉬운 고기능성 소재 생산
- (2) 난용성 생리활성 물질의 식품 응용 분야 확장

다. 상기 두 방법에 의해 생산한 소재를 포함한 고령친화형 항노화 즉석분말수프 제조 기술

- (1) 소재 및 시작품 대량화 및 제조와 지식재산권을 확보하여 주관연구기관의 산업화 기술 역량과 가치를 심화하였음.
- (2) 생물전환기술에 의하여 상기한 단점을 개선하여 이취를 저감화하고 원물의 기능성 영양성분을 더욱 증가시킨 고기능성(항산화, 장건강 개선, 항당뇨, 항알레르기 등) 발효 소재 제조 원천기술과 난용성 생리활성 커큐민의 흡수율을 개선한 초미세분말 커큐민을 적용하여 이를 기반으로 하여 식품 트렌드를 선도할 수 있는 차별화된 프리미엄 고령친화제품의 사업화 활용 예정

라. 미래 식품사업의 대세인 고령 친화 식품 시장을 포함한 CMR 시장에서도 다양한 응용이 기대되어 산업화로의 가치가 충분히 있을 것으로 판단됨.

- (1) 현재 식용곤충 정책은 정부 주도하에 적극적으로 진행되고 있으며 대기업과 푸처푸드랩과 같은 전문 곤충식품업체에서 선두적으로 연구중이나 본 과제에 의해 개발한 간편편이식 형태의 고령친화용 즉석분말수프는 생산되지 않고 있음. 그러므로 본 과제를 통하여 생산된 최종 시제품은 현재 식품 트렌드의 요구를 다양하게 만족시킬 수 있는 합당한 제품임.
 - (2) 가정간편식 관련 규제의 혁신으로 시장의 외연 확대 요인이 있으며 국산 식재료를 활용한 가정간편식 제작을 위한 적극적인 지원제도는 기술사업화에 장려요인에 해당함. 따라서 수행 과제는 법 제도적 장려요인에 있어 **기술제품의 사업화에 긍정적인 영향**을 미칠 것으로 판단 됨.
- 마. 주관연구기관은 현재 철저한 시니어 마케팅 및 노년층의 핵심 니즈 분석을 기반으로 하여 맛, 취식 편의성, 영양(기능성, 항노화)이 보장된 형태의 수프 제품 연구 중. 본 과제를 통하여 쌍별귀뚜라미와 커큐민의 생리활성 이용 효율을 극대화한 소재로 가공하여 이를 항노화 즉석 분말수프에 적용하여 시대 추세에 부흥하는 고령 친화 식품을 생산하고자 함.
- (1) 식용곤충을 이용한 고령 친화용 즉석분말수프 없음.
 - (2) 수프 시장 선호도를 종합하면 본 기술제품은 고령친화수프로서, 타 경쟁제품과 다르게 기능성이 포함되어 있어 간편하게 영양성분을 섭취할 수 있는 점에서 차별적인 이미지를 확보할 것으로 판단됨. 주원료인 쌍별귀뚜라미의 기능성에 대한 연구결과도 발표되고 있어 가정간편식 수프류 시장의 새로운 제품으로써 **선호도가 높을 것으로 기대됨.**
- 바. 원천기술에 의해 개선될 것으로 기대되는 분야
- (1) 생리활성 성분 증가에 의한 기능성 보강
 - (2) 식품 적용에 어려운 쌍별귀뚜라미 이취 감소에 의한 소비자 기호도 증가
 - (3) 알레르기 유발 물질 저감화에 의한 소비자 시장 확장
 - (4) 난용성 생리활성 물질의 가공 적성 및 체내 흡수율 개선
 - (5) 난용성 생리활성 물질의 식품 응용 분야 확장
- 마. 활용 상기 원천 기술을 바탕으로 고령친화식, 간편편이식(CMR), 알레르기 저감 식품 시장은 물론 특수영양식, 미래대체식, 피트니스 보조식품의 가공식품 분야와 펫푸드 위주의 프리미엄 사료 분야 등의 적합한 분야에 광범위하게 활용 가능할 것으로 기대됨 (그림 45).



그림 45. 수행과제를 통하여 활용 가능한 분야.

2. 활용방안

가. 생물전환 원천 기술의 산업적 활용

- (1) 연구결과에 따라 확보한 생물전환 핵심기술인 쌍별귀뚜라미 발효물과 커큐민을 함유하여 산업적 활용이 다양하게 기대되는 고기능성 발효 소재 생산기술은 현재까지 국내·외에서 연구결과가 발표되지 않은 독보적인 원천기술로써 지식재산권과 관계된 규제로부터 자유로우며 해당 기술 이용에 대한 우선권을 확보하여 국내외·적으로 경쟁력 우위를 선점하여 다양한 분야에서 자유롭게 활용
- (2) 본 과제를 통하여 개발한 유용균주를 이용하여 저평가된 또는 발굴되지 않은 기능성 소재의 고부가가치 소재화 연구에 활용
- (3) 2차 가공에 활용할 수 있는 원천기술로서 식용곤충 식품산업 확대에 활용

나. 고령친화형 항노화 즉석분말수프 제조 기술

- (1) 시작품을 기반으로 다양한 어플리케이션을 개발하여 차별화된 프리미엄 고령친화제품의 사업화 활용
- (2) 미래 식품사업의 대세인 고령 친화 식품 시장을 포함한 CMR 시장에서도 다양한 응용 제품으로 활용

다. 쌍별귀뚜라미의 고부가가치 식품 소재로서의 활용

- (1) 곤충에 대한 혐오감으로 섭취를 거부하던 소비자들의 곤충식품에 대한 의식 변화와 섭취 대중화에 따른 곤충의 식품화 선도 효과를 이루어 판로 다양화에 의한 농가소득 창출이 가능하고 미래농업 산업의 육성을 기대할 수 있음.

라. 해외 진출 및 국가 경쟁력 확보 특수 제품으로 활용

- (1) 식용곤충 섭취에 상대적으로 거부감이 크지 않은 일본, 중국을 포함한 아시아 지역을 시작으로 제품을 수출하여 산업적 매출 효과를 기대함.

제 2 절. 추가 연구의 필요성

1. 추가 연구의 필요성

가. 해당 연구의 계획 단계에서 목표로 했던 연구는 추진일정에 따라 100% 이상의 초과 성과를 달성하였음.

나. 과제 종료 현재 산업화를 위한 다양한 어플리케이션을 목적으로 쌍별귀뚜라미 고기능성 소재를 첨가한 즉석분말수프 어플리케이션 개발을 위한 기초 연구를 진행중

다. 추후 제품의 고령친화인증마크 인증 검토 예정

제 3 절. 타 연구에의 응용

1. 개발 소재의 영양학적 우수성 및 그 기능성에 대한 후속 연구를 확보하여 바이오, 의료 분

야에서 맞춤형영양식, 메디컬대체 소재로의 응용이 가능할 것으로 판단됨.

2. 단순히 농산물 원료의 단순한 혼합이나 일차가공에 의한 제품생산을 넘어 첨단 분야의 생물소재공법과 주관기관의 오랜 연구 경험에 의해 축적된 나노분쇄기술을 더욱 발전시켜 미래형 최첨단 소재 개발 및 제품화 가능하며 지속적인 제품개발로 사업화 확장이 기대됨.

제 4 절. 기업화 추진방안

1. 주관연구기관인 (주)정심식품은 칼리포스프 basic line 이외에 슈퍼푸드 트렌드에 발맞추어 color line을 구축하는 등 즉석분말수프의 다양한 어플리케이션을 개발하고 산업화하여 즉석분말수프 가공에 필요한 원료 특성, 배합특성, 배합비율, 제품 물성 등에 관한 연구 역량을 확보하고 있으며 자체 분말제품 생산 설비 보유하여 과제 종료 이후에도 양파크림수프, 양송이 크림수프, 콘수프, 카망베르감자수프에 적용하여 후속 연구를 통한 사업화를 추진 예정
2. 쌍별귀뚜라미 고기능성 소재와 즉석분말수프는 직접 생산을 통해 이익률을 증가시키고 경쟁력을 강화할 수 있을 것으로 기대됨.
3. 국내외 시장에서 HMR 및 CMR 식품이 급속도로 성장하고 있으며, 개발한 시작품은 국내외 판로 개척 및 확대가 가능한 잠재력이 큰 상품으로 예측함.
4. 본 연구를 통해 개발된 쌍별귀뚜라미 고기능성 소재는 천연식품소재, 기능성 식품소재, 식품신소재 전문 회사인 (주)제이스에프아이에 산업체 기술이전을 실시하였음. 소재 자체의 우수성을 적극적으로 홍보하고, (주)제이스에프아이의 기 구축된 식품 소재 관련 영업 노하우와 현재 거래하고 있는 대형 기업체, 식품전문업체, 사료 업체 등에 샘플 프로모션 추진 예정
5. 식용곤충 섭취에 상대적으로 호의적인 일본, 중국을 포함한 아시아 지역을 시작으로 제품을 수출하여 산업적 매출 효과를 기대함.

제 5 절. 기술이전

1. 기술이전 완료

가. 전문기관으로부터 기술이전을 받은 (주)정심식품은 개발된 데일리 파워 업 단호박크림수프를 고령친화용으로 특화된 수프를 강조하여 생산과 판매에 주력할 예정

- (1) 시작품 및 소재는 대면 또는 비대면 해외 박람회를 통하여 제품을 홍보하고 수출할 예정이다.

(2) 주관연구기관 홈페이지상에 시제품 소개 및 홍보

2. 기술이전 추진

가. 쌍별귀뚜라미 고기능성 소재 대량 생산 및 제조방법에 관한 기술은 (주)제이스에프아이에
기술이전 완료

(1) (주)제이스에프아이는 천연소재, 기능성 소재, 천연색소, 향료 등을 제조 생산하는 식품소재 전문업체이며 소재 제조, 생산 기술력은 물론 마케팅, 영업, 유통체계를 확보하고 있어 개발 소재의 생산에서 판매까지 효과적 연계 업무가 효율적으로 이루어질 것으로 기대됨.

(2) (주)제이스에프아이 영업망을 통하여 사료회사, 피트니스 업체 등에 소재에 대한 적극적 프로모션 예정

나. 개발된 고기능성 소재, 고령친화용 즉석분말수프 제조 기술은 지속적으로 홍보하여 정심 식품 외 타 기업에도 신규 기술이전을 추진하고자 함.

붙임. 참고문헌

- An, B., Sam, C., Dries, V., Ruben, S., Christel, V., Mik, V.D.B., Bart, L., and Leen, V.C. (2019) Comparison of Six Commercial Meat Starter Cultures for the Fermentation of Yellow Mealworm (*Tenebrio molitor*) Paste. *Microorganisms*, 7 (540): 1-20.
- Chiang, C.J., Kadouh, H., and Zhou, K. (2013) Phenolic compounds and antioxidant properties of goose berry as affected by *in vitro* digestion. *LWT-Food Science and Technology*, 51: 417-422.
- Cho, M.J., Lee, J.Y., and Kim, J.H. (2014) Microbial and Physiochemical Properties of *Cheonggukjang* Fermented Using *Bacillus* strains with Antibacterial or Antifungal Activities. *Food Science and Biotechnology*, 23: 1525-1532.
- Chen, P., Zhang, Q., Dang, H., Liu, X., Tian, F., Zhao, J., Chen, Y., Zhang, H., and Chen, W. (2014) Screening for potential new probiotic based on probiotic properties and α -glucosidase inhibitory activity. *Food Control*, 35: 65-72.
- GPS Safety Summary, Cyclododecane (2010). Available on <https://corporate.evonik.de/downloads/corporate/gps-summaries/gps-summary-cyclododecane.pdf>, last accessed on November 18, 2020.
- Jung, E., Cho, H.K., Kim, Y.S., Yoo, H.R., and Seol, I.C. (2018) Antioxidant and Anti-dyslipidemic Effect of Artemisiae iwayomogii Herba, Curcumae longae Radix, and Plantaginis Semen Complex Extract(ACP) on HepG2 Cells. *Korean Journal of Oriental Physiology & Pathology* 32(1), 13-23.
- Martin Adlem. (2018). Cyclododecane: how dangerous is it?. *Subliming Surfaces: Volatile Binding Media in Heritage Conservation*, 69-72.
- Mouchili A. Wichtel JJ. Bosset JO. Dohoo IR. Imhof M. Altieri D. Mallia S. Stryhn H. (2005). HS-SPME gas chromatographic characterization of volatile compounds in milk tainted with off-flavour. *International Dairy Journal*, 15(12), 1203-1215.
- Nissen, L., Samaei, S.P., Babini, E., and Gianotti, A. (2020) Gluten free sourdough bread enriched with cricket flour for protein fortification: Antioxidant improvement and Volatilome characterization. *Food Chemistry*, 333: 1-13.
- Nurhayati, R., Miftakhussolikhah, Frediansyah, A., and Rachmah, D.L. (2017) Lactic acid bacteria producing inhibitor of alpha glucosidase isolated from Ganyong (*Canna Edulis*) and Kimpul (*Xanthosoma sagittifolium*). *Earth and Environmental Science*, 101: 1-5.
- Korkmaz A. Hayaloglu AA. Atasoy AF. (2017). Evaluation of the volatile compounds of fresh ripened *Capsicum annum* and its spice pepper (dried red pepper flakes and isot). *LWT - Food Science and Technology*, 84, 842-850.
- Pavan, V., Sancho, R.A.S., and Pastore, G.N. (2014) The effect of *in vitro* digestion on the antioxidant activity of fruit extracts (*Carica papaya*, *Artocarpus heterophyllus* and *Annona marcgravii*). *LWT-Food Science and Technology*, 59: 1247-1251.

- Ramchandran, L., and Shah, N.P. (2009) Effect of exopolysaccharides and inulin on the proteolytic, angiotensin-I-converting enzyme- and α -glucosidase-inhibitory activities as well as on textural and rheological properties of low-fat yogurt during refrigerated storage. *Dairy Science & Technology*, 89: 583-600.
- Ribeiro JC. Lima RC. Maia MRG. Almeida AA. Fonseca AJM. Cabrita ARJ. Cunha LM. (2019). Impact of defatting freeze-dried edible crickets (*Acheta domesticus* and *Gryllobes sigillatus*) on the nutritive value, overall liking and sensory profile of cereal bars. *LWT - Food Science and Technology* 113, 108335. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.108335>.
- Rinto, Raith, D., Sedarnawati, Y., and Maggy, T.S. (2017) Novel HMG-CoA Reductase Inhibitor from *Lactobacillus acidophilus* Isolated from Indonesian fermented food Bekasam. *Journal of Pharmaceutical, Chemical and Biological Sciences*, 5: 195-204.
- Sim, S.Y., Jang, S.H., Ahn, H.Y., Cho, H.D., Seo, K.I., and Cho, Y.S. (2019) Optimization of fermentation conditions *Protaetia brevitarsis seulensis* larvae using *Bacillus subtilis*. *Korean Journal of Food Preservation*, 26: 123-133.
- Song, E., Kang, S., and Hong J. (2018) Changes in chemical properties, antioxidant activities, and cytotoxicity of turmeric pigments by thermal process. *한국식품과학회지*2018 ; 50(01): 21-27.
- Tao NP. Wu R. Zhou PG. Gu SQ. Wu W. (2014). Characterization of odor-active compounds in cooked meat of farmed obscure puffer (*Takifugu obscurus*) using gas chromatography-mass spectrometry-olfactometry. *Journal of Food and Drug Analysis*, 22(4), 431-438.
- Tomaro-Duchesneau, C., Jones, M.L., Shah, D., Jain, P., Saha, S., and Prakash, S. (2014) Cholesterol Assimilation by *Lactobacillus* Probiotic Bacteria: An *In Vitro* Investigation. *BioMed Research International*, 2014: 1-9.
- Wang, Y., Xu, N., Xi, A., Ahmed, Z., Zhang, B., and Bai, X. (2009) Effects of *Lactobacillus plantarum* MA2 isolated from Tibet kefir on lipid metabolism and intestinal microflora of rats fed on high-cholesterol diet. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 84: 341-347.
- Zhao LM. Wu W. Tao NP. Li YQ. Wu N. Qin X. (2015). Characterization of important odorants in four steamed *Coilia ectenes* from China by gas chromatography-mass spectrometry-olfactometry. *Fisheries Science*, 81(5), 947-957.
- Yoo, J., Hwang, J.S., Goo, T.W., and Yun E.Y. (2013) Comparative Analysis of Nutritional and Harmful Components in Korean and Chinese Mealworms (*Tenebrio molitor*). *J Korean Soc Food Sci Nutr*, 42(2) : 249-254.
- Yu X. Chen L. Sheng L. Tong Q. (2016). Volatile Compounds Analysis and Off-Flavors Removing of Porcupine Liver. *Food Science and Technology Research*, 22(2), 283-289.
- 농림축산식품부 보도자료 R1701012 (2015) 김은미 등.
- 식품의약품안전처 보도자료. 농림축산식품부, 농촌진흥청 (2017. 01. 02.).
- 식품의약품안전처 보도자료. 농림축산식품부, 농촌진흥청 (2018. 07. 25.).

이용선, 2019 식품의식산업 전망대회. 2019 식품산업 전망. 23-61.

쌍별귀뚜라미 추출물 함유 조성물의 제조방법, 이에 의해 제조된 곤충 추출물 함유 조성물 및 이를 포함하는 식품 (대한민국 공개특허공보 제 10-2019-0050540호).

한국식품연구원 보도자료, 고령친화식품 국가인증으로 식품의 가치를 더하다 (2019.12.12.).

https://www.foodsafetykorea.go.kr/foodcode/01_03.jsp?idx=11003. 식품 및 식품첨가물공전. 제8 일반시험법. 2.1.1.1. 건조감량법.

<https://www.mk.co.kr/news/economy/view/2017/03/178600/>. (2017.03.16.) .매일경제 [푸드 & 프랜차이즈] ‘제5의 맛’ 감칠맛의 모든 것.

https://www.foodsafetykorea.go.kr/foodcode/01_03.jsp?idx=12. 식품일반의 기준 및 규격.

<https://news.join.com>. (2019.07.30.) 고령친화식품, 고령화시대에 따라 바뀌 식품 트렌드.

<https://edible-bug.com/>이더블버그 홈페이지 자료

[첨부 1] (주)정심식품 - 크리켓팜 MOU 체결서

MOU

'(주)정심식품'과 '농업회사법인 주식회사 크리켓팜(이하 '크리켓팜')은 농림식품기술기획평가원에서 주관하는 미래형혁신식품기술개발사업(이하 '개발사업') 수행을 위한 상호 신뢰를 바탕으로 양 사간의 긴밀한 업무 협력이 필요함을 깊이 인식하여 다음과 같이 업무 제휴 협약을 체결한다.

제1조 (목적)

본 업무 협약은 '개발사업' 수행을 위한 쌍별귀뚜라미 원료의 공급과 구매에 관하여 양사가 상호 협력 관계를 맺는 것을 목적으로 한다.

제2조 (협약 범위)

- 1) 양 당사자는 '개발사업'의 원활한 수행을 위하여 상호 협력하고 긴밀한 협조 관계를 유지하여 나가기로 한다.
- 2) '개발사업' 수행과 관련한 양 당사자의 역할은 다음 각 호와 같다.
 - ① 크리켓팜은 (주)정심식품에게 관련 쌍별귀뚜라미 원료에 대한 공급을 담당한다.
 - ② (주)정심식품은 크리켓팜으로부터 원료를 구매하여 (주)정심식품의 가공식품 개발 및 생산, 국내외 판매를 총괄한다. 이에 대한 모든 권한은 (주)정심식품에 있다.

제3조 (비밀 유지)

(주)정심식품과 크리켓팜은 공동 협의하는 과정에서 취득한 모든 정보에 대해 사전 협의 없이 외부에 유출할 수 없으며, 이를 위반한 경우 그에 대한 모든 책임은 그 위반 당사자가 부담한다.

제4조 (협력 기간)

협력기간은 서명한 날로부터 2년으로 한다. 다만 계약 만료일 전에 어느 일방이 협력관계의 종료를 통보하지 않는 한 자동적으로 1년씩 그 효력이 연장된다.

제5조 (기타 사항)

- 1) 본 업무 협약서에 언급하지 아니한 사항에 대해서는 양사가 별도 협의하여 정하기로 한다.

2) 업무 협약서가 성립함을 증명하기 위해 2부를 작성하여 양사가 기명 날인한 후 1부씩 보관한다.

2019년 09월 26일

(주)정심식품
대표이사 정 승 원



크리켓팜
대표이사 김 현 숙



[첨부 2] CURCUMIN 분석 결과서(경기도경제과학진흥원)



분석 결과서

시료명	Curcumin 외 4종	의뢰처	정심식품
의뢰일자	2020년 12월 10일	의뢰자	양찬호
의뢰항목	LC-MS/MS (MRM)	시험용도	Curcumin 정량분석

시료	시험항목	용매	시료농도	시험결과
정심식품 샘플1	LC-MS/MS	50%ACN	-	결과참고
정심식품 샘플2	LC-MS/MS	50%ACN	-	결과참고
정심식품 샘플3	LC-MS/MS	50%ACN	-	결과참고
정심식품 샘플4	LC-MS/MS	50%ACN	-	결과참고

시험일자	2020년 12월 21일~12월 23일	시험자	정지만
발급일자	2020년 12월 23일	연락처	031-888-6970 jutate@gsa.or.kr

*본 분석결과는 연구개발을 위한 기술협조로 발행되는 것입니다.

1. Material & Method

[1] Materials

1.	Solvent	DW, ACN(B&J)
2.	Reagent	Formic acid(Aldrich)

[2] Instrument Condition

① LC Method

1.	Chromatography	Nexera X2																					
2.	Mass spectrometry	LCMS-8050 (Shimadzu)																					
3.	Column	ACQUITY BEH C18, 1.7um, 100*2.1mm																					
4.	Solvent	A :DW(0.1% Formic acid) B :ACN(0.1% Formic acid)																					
5.	Elution condition	<table border="1"> <thead> <tr> <th>Time</th> <th>A</th> <th>B</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>0.0</td> <td>95</td> <td>5</td> </tr> <tr> <td>2.0</td> <td>95</td> <td>5</td> </tr> <tr> <td>10.0</td> <td>0</td> <td>100</td> </tr> <tr> <td>12.0</td> <td>0</td> <td>100</td> </tr> <tr> <td>12.1</td> <td>95</td> <td>5</td> </tr> <tr> <td>15.0</td> <td>95</td> <td>5</td> </tr> </tbody> </table>	Time	A	B	0.0	95	5	2.0	95	5	10.0	0	100	12.0	0	100	12.1	95	5	15.0	95	5
Time	A	B																					
0.0	95	5																					
2.0	95	5																					
10.0	0	100																					
12.0	0	100																					
12.1	95	5																					
15.0	95	5																					
6.	Flow rate	0.3 ml/min																					
7.	Injection Vol.	1 ul																					

② MS Method

1.	Detection ion mode	Positive(($[M+H]^+$), Negative(($[M-H]^-$))
2.	Interface Voltage	4.0 kV
3.	Interface Temp.	300 °C
4.	DL Temp.	250 °C
5.	Software	LabSolution

③ MRMMS

Standards	RT (min)	Precusor Mass	Product Mass
			177.1[M+H] ⁺
Curcumin	10.216	369.1[M+H] ⁺	145.0[M+H] ⁺
			285.1[M+H] ⁺

[3] 표준용액 준비

표준품을 50% ACN 용매에 녹여 1mg/ml 표준원액을 만들고, 이를 다시 희석하여 표준용액으로 함.

[4] 표준품 분석 및 검량선 작성

[3]의 검량선용 시료를 확립된 분석조건으로 분석한 후 측정된 결과를 가지고 검량선을 작성하여 정량범위를 설정하였다. 모든 표준용액은 3반복 분석하여 평균값을 사용하였다.

[5] 분석시료 분석

시료를 50% ACN 용매에 녹여 0.5 mg/ml 표준원액을 만들고 0.2 µm syringe filter로 걸러준 후 확립된 분석조건으로 분석하되 3반복 분석하였다.

[6] 농도계산

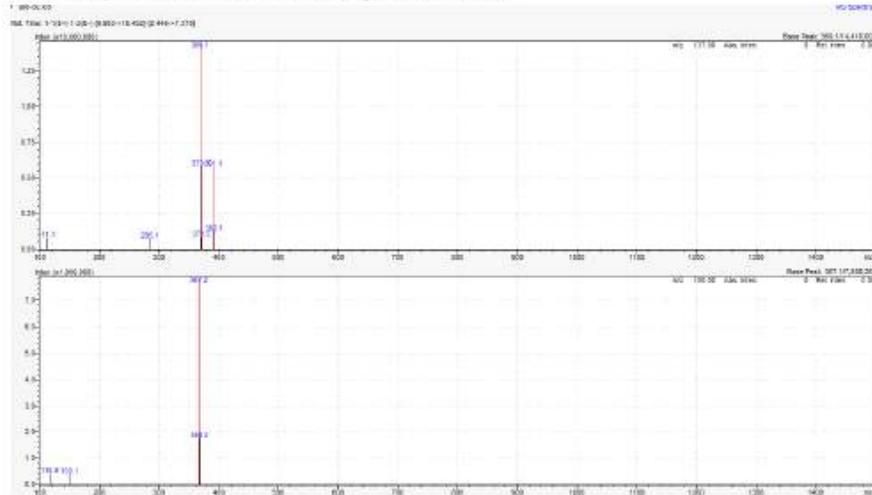
얻어진 MS chromatogram의 peak area를 이용하여 미리 작성한 검량선으로부터 분석시료 내 성분의 농도를 확인하였다.

2. Results_ BMPPA

[1] MS Spectrum

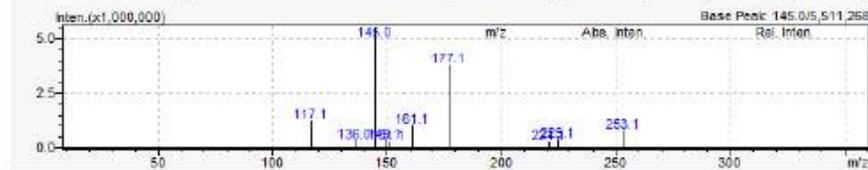
< Curcumin >

-MS (위_positive mode, 아래_negative mode)

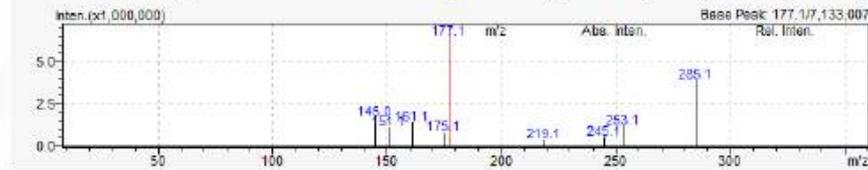


-MSMS(positive mode)

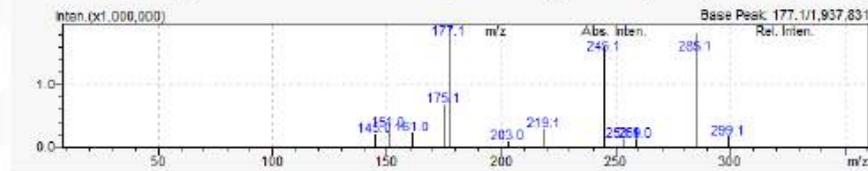
Event#: 5 Product Ion Scan(E+) Precursor: 369.10 CE:-30.0 Ret. Time: [10.003->10.603][4.903->9.643] Scan#: [3002->3182][1472->2894]

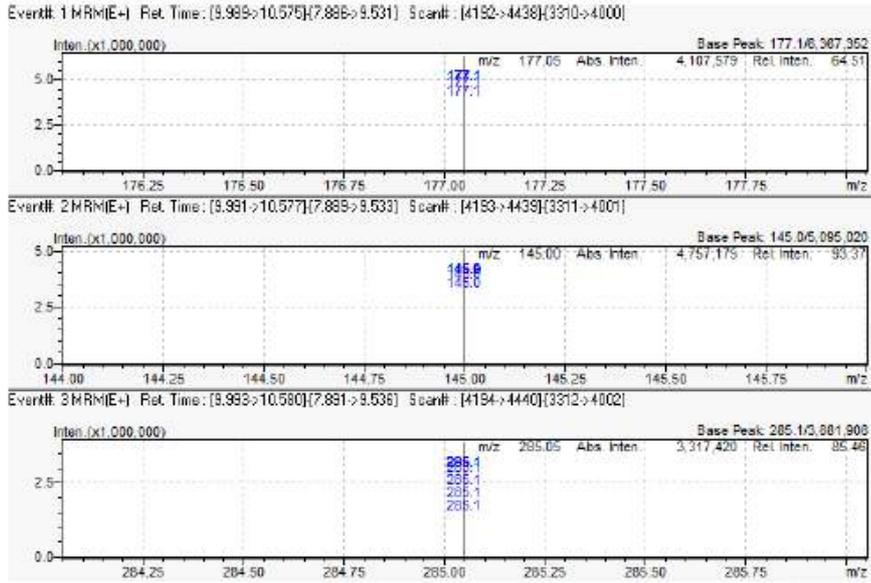


Event#: 7 Product Ion Scan(E+) Precursor: 369.10 CE:-20.0 Ret. Time: [10.010->10.610][4.910->9.650] Scan#: [3004->3184][1474->2896]

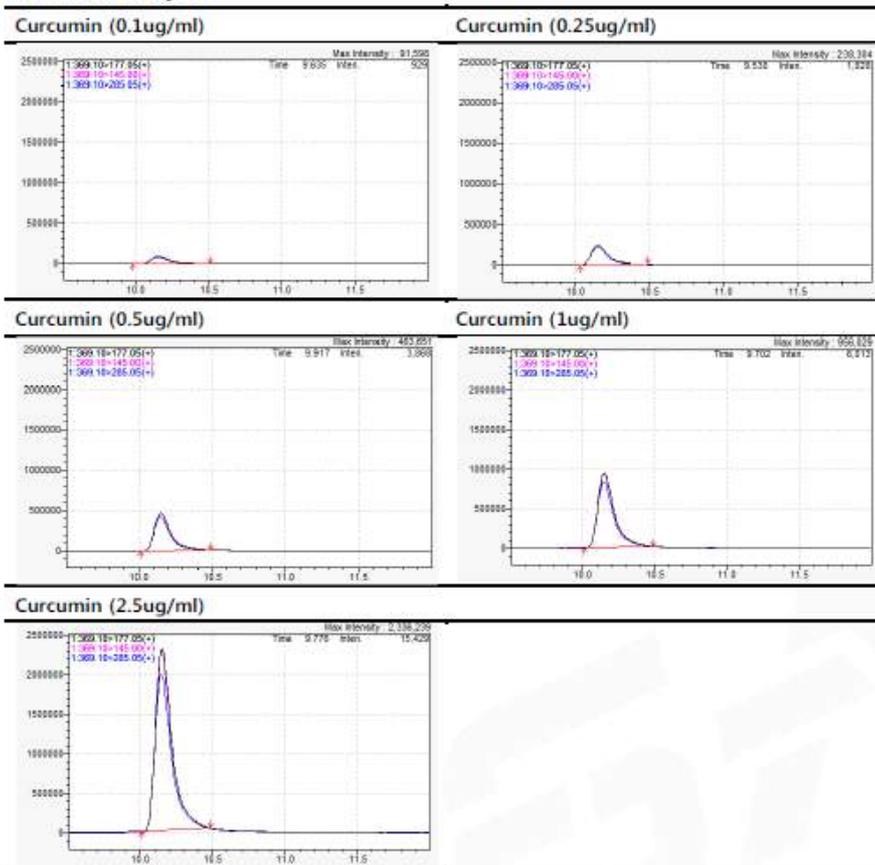


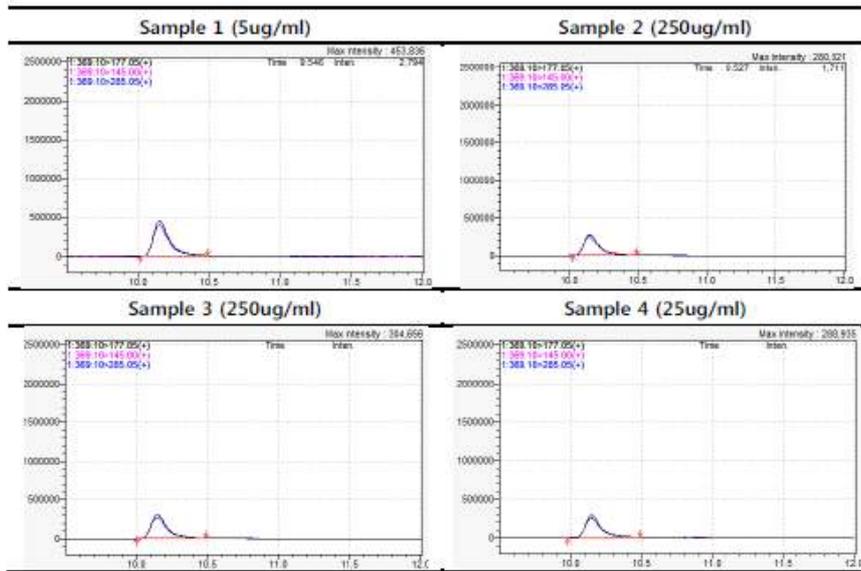
Event#: 9 Product Ion Scan(E+) Precursor: 369.10 CE:-10.0 Ret. Time: [10.017->10.617][4.917->9.657] Scan#: [3006->3186][1476->2898]





[2] MRM analysis





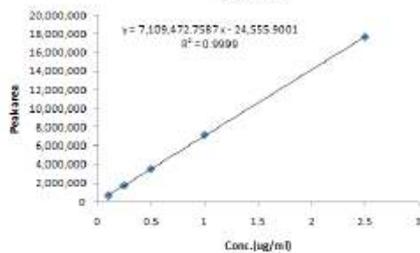
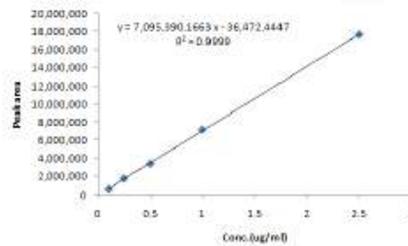
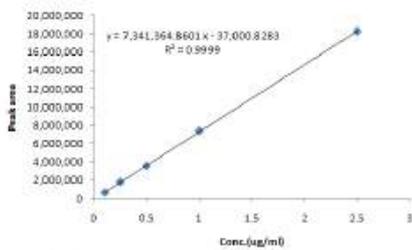
[3]LOD/ LOQ (표준편차와 검량선의 기울기에 근거하는 방법)

* **검출한계(Limit of Detection) : 0.0032 ug/ml**
 = 3.3 * (SD of Intercept)/(Mean of Slope) = 0.0032

* **검량한계(Limit of Quantitation) : 0.0098ug/ml**
 = 10 * (SD of Intercept)/(Mean of Slope) = 0.0098

* 표준용액 분석 검량선 확인

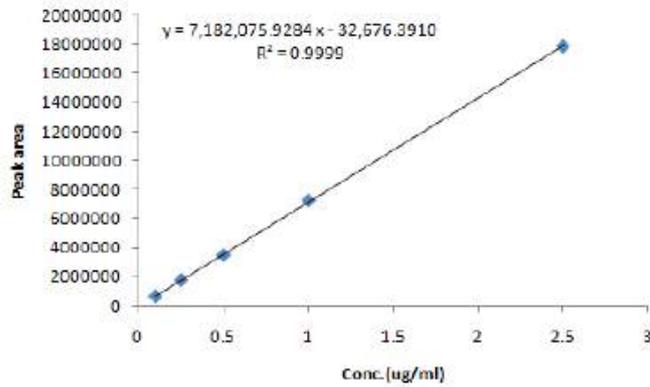
농도(ug/mL)	#1	#2	#3
0.1	667,598	653,294	639,658
0.25	1,818,952	1,761,196	1,749,594
0.5	3,573,308	3,414,419	3,516,018
1	7,401,205	7,183,894	7,183,401
2.5	18,288,870	17,669,782	17,714,756



*Mean of Slope : 7,182,075.93
 * SD of Intercept : 7,037.51

[4] Std. curve of STD

농도 (ug/ml)	Peak area			Average	R.S.D
	#1	#2	#3		
0.1	667,598	653,294	639,658	653,517	2.14
0.25	1,818,952	1,761,196	1,749,594	1,776,581	2.09
0.5	3,573,308	3,414,419	3,516,018	3,501,248	2.30
1	7,401,205	7,183,894	7,183,401	7,256,167	1.73
2.5	18,288,870	17,669,782	17,714,756	17,891,136	1.93



Std.	Linear range(ug/ml)	Linearity(r^2)
Curcumin	0.1 ~ 2.5	0.9999

[5] Sample analysis

Sample	#	Peak area	Conc. (ug/ml)	Average Conc. (ug/ml)	RSD
Sample1 (5ug/ml)	#1	3,501,022	0.49	0.49	0.40
	#2	3,521,004	0.49		
	#3	3,528,403	0.49		
Sample2 (250ug/ml)	#1	2,162,348	0.31	0.30	1.16
	#2	2,140,599	0.30		
	#3	2,112,871	0.30		
Sample3 (250ug/ml)	#1	2,345,848	0.33	0.33	0.31
	#2	2,344,270	0.33		
	#3	2,332,408	0.33		
Sample4 (25ug/ml)	#1	2,240,823	0.32	0.32	0.23
	#2	2,249,063	0.32		
	#3	2,239,462	0.32		

3. Sample Quantification Summary_ Curcumin

Sample	Curcumin
Sample1	98 mg/1g
Sample2	1.2 mg/1g
Sample3	1.32 mg/1g
Sample4	12.8 mg/1g

[첨부 3] 쌍별귀뚜라미 고기능성 소재 2종 영양성분, 구성아미노산 조성, 위해요소 시험성적서

1) 9대 영양성분, 비타민D, 칼슘

발행번호		BFL20201210-0040		검사번호		H-12011-0308	
검사연월일		2020-12-10		발주연월일		2020-11-24	
제품명		발별-Bacillus 시판용 소재		검사목적		친고형(영양성분)	
제품(주요)일		Sample		시험방법		친고형(영양성분)	
장명		장분류		요령(특수유지)기타		요령(특수유지)기타	
위탁자		소재지		의뢰자		소재지	
<p>의뢰자: (13207) 경기도 영등포구 영등포구 사기화물포 134, 608호 (상대원동, 예스24이마트영등포점점포점포점포)</p>							
시험·검사 항목 및 결과							
시험항목	기준	결과	단위	항목명칭			
열량	-	440.72	kcal/100g	-			
탄수화물	-	21.08	g/100g	-			
단백	-	2.32	g/100g	-			
지방산	-	88.87	g/100g	-			
조지방	-	18.88	g/100g	-			
포화지방	-	5.94	g/100g	-			
포화조지방	-	0.11	g/100g	-			
불포화지방	-	281.89	mg/100g	-			
나트륨	-	429.73	mg/100g	-			
<p>출장: (주)바이오프드랩 검사자: 김민규, 장영복 책임자: 김민규, 장영복</p>							
<p>주소: 경기도 수원시 영등포구 영등포구 사기화물포 134, 608호 (상대원동, 예스24이마트영등포점점포점포점포)</p>							
<p>2020년 12월 10일</p>							
<p>(주)바이오프드랩</p>							

발행번호		BFL20201210-0040		검사번호		H-12011-0308	
검사연월일		2020-12-10		발주연월일		2020-11-24	
제품명		발별-Bacillus 시판용 소재		검사목적		친고형(영양성분)	
제품(주요)일		Sample		시험방법		친고형(영양성분)	
장명		장분류		요령(특수유지)기타		요령(특수유지)기타	
위탁자		소재지		의뢰자		소재지	
<p>의뢰자: (13207) 경기도 영등포구 영등포구 사기화물포 134, 608호 (상대원동, 예스24이마트영등포점점포점포점포)</p>							
시험·검사 항목 및 결과							
시험항목	기준	결과	단위	항목명칭			
Vitamin D	-	33.80	㎍/100g	-			
칼슘	-	187.98	㎍/100g	-			
<p>출장: (주)바이오프드랩 검사자: 김민규, 장영복 책임자: 김민규, 장영복</p>							
<p>주소: 경기도 수원시 영등포구 영등포구 사기화물포 134, 608호 (상대원동, 예스24이마트영등포점점포점포점포)</p>							
<p>2020년 12월 10일</p>							
<p>(주)바이오프드랩</p>							

[Bacillus로 생물전환한 고기능성 소재]

발행번호		BFL20201210-0039		검사번호		H-12011-0307	
검사연월일		2020-12-10		발주연월일		2020-11-24	
제품명		발별-Lactobacillus 시판용 소재		검사목적		친고형(영양성분)	
제품(주요)일		Sample		시험방법		친고형(영양성분)	
장명		장분류		요령(특수유지)기타		요령(특수유지)기타	
위탁자		소재지		의뢰자		소재지	
<p>의뢰자: (13207) 경기도 영등포구 영등포구 사기화물포 134, 608호 (상대원동, 예스24이마트영등포점점포점포점포)</p>							
시험·검사 항목 및 결과							
시험항목	기준	결과	단위	항목명칭			
열량	-	448.89	kcal/100g	-			
탄수화물	-	22.81	g/100g	-			
단백	-	1.12	g/100g	-			
지방산	-	55.88	g/100g	-			
조지방	-	15.23	g/100g	-			
포화지방	-	5.74	g/100g	-			
포화조지방	-	0.11	g/100g	-			
불포화지방	-	219.71	mg/100g	-			
나트륨	-	385.89	mg/100g	-			
<p>출장: (주)바이오프드랩 검사자: 김민규, 장영복 책임자: 김민규, 장영복</p>							
<p>주소: 경기도 수원시 영등포구 영등포구 사기화물포 134, 608호 (상대원동, 예스24이마트영등포점점포점포점포)</p>							
<p>2020년 12월 10일</p>							
<p>(주)바이오프드랩</p>							

발행번호		BFL20201210-0039		검사번호		H-12011-0307	
검사연월일		2020-12-10		발주연월일		2020-11-24	
제품명		발별-Lactobacillus 시판용 소재		검사목적		친고형(영양성분)	
제품(주요)일		Sample		시험방법		친고형(영양성분)	
장명		장분류		요령(특수유지)기타		요령(특수유지)기타	
위탁자		소재지		의뢰자		소재지	
<p>의뢰자: (13207) 경기도 영등포구 영등포구 사기화물포 134, 608호 (상대원동, 예스24이마트영등포점점포점포점포)</p>							
시험·검사 항목 및 결과							
시험항목	기준	결과	단위	항목명칭			
Vitamin D	-	28.88	㎍/100g	-			
칼슘	-	140.18	㎍/100g	-			
<p>출장: (주)바이오프드랩 검사자: 김민규, 장영복 책임자: 김민규, 장영복</p>							
<p>주소: 경기도 수원시 영등포구 영등포구 사기화물포 134, 608호 (상대원동, 예스24이마트영등포점점포점포점포)</p>							
<p>2020년 12월 10일</p>							
<p>(주)바이오프드랩</p>							

[Lactobacillus로 생물전환한 고기능성 소재]

2) 구성아미노산 조성, 위해요소

제 D2020113015 호
분석대상: KTT1-0439-0487

시험·검사성적서

시험명	시료명(소재명)	제품명(유형기호)	정수원
시험일	(주)정수원사용	성명	정수원
최대인	주소 경기도 성남시 중원구 사기막로 124, 비즈센터동 701호, 702호 (9세대복합, SK에코노파크)	검사년월일	2020-11-05
제품번호		검사번호	D2020113015

귀사가 우리 연구원에 시험·검사를 의뢰한 결과는 다음과 같습니다.
 시험·검사 완료일: 2020-12-07
 시험·검사 책임자: 이경구, 이현영
 검사관련 총 책임자: 김원희

시험·검사항목	시험·검사 결과	시험·검사방법
구정아미노산(티로신)(mg/g)	24.35 mg/g	이온영
구정아미노산(알라닌)(mg/g)	39.21 mg/g	이온영
구정아미노산(세테인)(mg/g)	38.87 mg/g	이온영
구정아미노산(멜라닌)(mg/g)	32.24 mg/g	이온영
구정아미노산(알부민)(mg/g)	60.44 mg/g	이온영
구정아미노산(에이신)(mg/g)	39.81 mg/g	이온영
구정아미노산(프로이신)(mg/g)	40.58 mg/g	이온영
구정아미노산(페로닌)(mg/g)	8.50 mg/g	이온영
구정아미노산(탈린)(mg/g)	35.42 mg/g	이온영
구정아미노산(아르기닌)(mg/g)	29.75 mg/g	이온영
구정아미노산(아스파라긴산)(mg/g)	31.03 mg/g	이온영
구정아미노산(아스파르트산)(mg/g)	19.07 mg/g	이온영
구정아미노산(티로신)(mg/g)	21.08 mg/g	이온영
구정아미노산(세테인)(mg/g)	18.84 mg/g	이온영
구정아미노산(프롤린)(mg/g)	29.04 mg/g	이온영
구정아미노산(히스티딘)(mg/g)	11.09 mg/g	이온영
구정아미노산(시스틴)(mg/g)	2.21 mg/g	이온영
구정아미노산(프롤린)(mg/g)	3.92 mg/g	이온영
질(mg/kg)	0.0593 mg/kg	정다운
카드람(mg/kg)	0.0150 mg/kg	정다운

제 D2020113015 호
분석대상: KTT1-0439-0487

시험·검사성적서

시험명	시료명(소재명)	제품명(유형기호)	정수원
시험일	(주)정수원사용	성명	정수원
최대인	주소 경기도 성남시 중원구 사기막로 124, 비즈센터동 701호, 702호 (9세대복합, SK에코노파크)	검사년월일	2020-11-05
제품번호		검사번호	D2020113015

귀사가 우리 연구원에 시험·검사를 의뢰한 결과는 다음과 같습니다.
 시험·검사 완료일: 2020-12-07
 시험·검사 책임자: 이경구, 이현영
 검사관련 총 책임자: 김원희

시험·검사항목	시험·검사 결과	시험·검사방법
구정아미노산(티로신)(mg/g)	24.35 mg/g	이온영
구정아미노산(알라닌)(mg/g)	39.21 mg/g	이온영
구정아미노산(세테인)(mg/g)	38.87 mg/g	이온영
구정아미노산(멜라닌)(mg/g)	32.24 mg/g	이온영
구정아미노산(알부민)(mg/g)	60.44 mg/g	이온영
구정아미노산(에이신)(mg/g)	39.81 mg/g	이온영
구정아미노산(프로이신)(mg/g)	40.58 mg/g	이온영
구정아미노산(페로닌)(mg/g)	8.50 mg/g	이온영
구정아미노산(탈린)(mg/g)	35.42 mg/g	이온영
구정아미노산(아르기닌)(mg/g)	29.75 mg/g	이온영
구정아미노산(아스파라긴산)(mg/g)	31.03 mg/g	이온영
구정아미노산(아스파르트산)(mg/g)	19.07 mg/g	이온영
구정아미노산(티로신)(mg/g)	21.08 mg/g	이온영
구정아미노산(세테인)(mg/g)	18.84 mg/g	이온영
구정아미노산(프롤린)(mg/g)	29.04 mg/g	이온영
구정아미노산(히스티딘)(mg/g)	11.09 mg/g	이온영
구정아미노산(시스틴)(mg/g)	2.21 mg/g	이온영
구정아미노산(프롤린)(mg/g)	3.92 mg/g	이온영
질(mg/kg)	0.0593 mg/kg	정다운
카드람(mg/kg)	0.0150 mg/kg	정다운

본 시험은 의뢰된 시험·검사 항목만을 대상으로 한 것입니다.
 본 시험에서는 별도의 정수원 사내 시험·검사를 실시하지 않습니다. 시험·검사를 의뢰한 고객 및 공급업체에 통보할 수 있으며, 지가검정사 또는 정부기관에 의해 정수원 사내 시험·검사를 실시할 수 있습니다.
 본 시험에서는 SK Q ISO/IEC 17025 및 KOLAS 인증을 취득하고 있습니다.
 본 시험이 무효일 경우 시험·검사 및 결과에 대한 책임은 의뢰자에게 있습니다.

2020년 12월 07일
한국기능식품연구원

(사)한국건강기능식품협회 부설 한국기능식품연구원 <http://www.khfi.or.kr> 전화번호 02-313628-0400-1

[Bacillus로 생물전환한 고기능성 소재]

제 D2020113015 호
분석대상: Y8V8-2K28-11K38

시험·검사성적서

시험명	시료명(소재명)	제품명(유형기호)	정수원
시험일	(주)정수원사용	성명	정수원
최대인	주소 경기도 성남시 중원구 사기막로 124, 비즈센터동 701호, 702호 (9세대복합, SK에코노파크)	검사년월일	2020-11-05
제품번호		검사번호	D2020113015

귀사가 우리 연구원에 시험·검사를 의뢰한 결과는 다음과 같습니다.
 시험·검사 완료일: 2020-12-07
 시험·검사 책임자: 이경구, 이현영
 검사관련 총 책임자: 김원희

시험·검사항목	시험·검사 결과	시험·검사방법
구정아미노산(티로신)(mg/g)	22.06 mg/g	이온영
구정아미노산(알라닌)(mg/g)	38.27 mg/g	이온영
구정아미노산(세테인)(mg/g)	38.48 mg/g	이온영
구정아미노산(멜라닌)(mg/g)	49.49 mg/g	이온영
구정아미노산(알부민)(mg/g)	60.48 mg/g	이온영
구정아미노산(에이신)(mg/g)	27.84 mg/g	이온영
구정아미노산(프로이신)(mg/g)	40.13 mg/g	이온영
구정아미노산(페로닌)(mg/g)	8.49 mg/g	이온영
구정아미노산(탈린)(mg/g)	34.20 mg/g	이온영
구정아미노산(아르기닌)(mg/g)	33.12 mg/g	이온영
구정아미노산(아스파라긴산)(mg/g)	49.27 mg/g	이온영
구정아미노산(아스파르트산)(mg/g)	19.24 mg/g	이온영
구정아미노산(티로신)(mg/g)	21.11 mg/g	이온영
구정아미노산(세테인)(mg/g)	18.37 mg/g	이온영
구정아미노산(프롤린)(mg/g)	30.49 mg/g	이온영
구정아미노산(히스티딘)(mg/g)	11.81 mg/g	이온영
구정아미노산(시스틴)(mg/g)	3.01 mg/g	이온영
구정아미노산(프롤린)(mg/g)	3.73 mg/g	이온영
질(mg/kg)	0.0593 mg/kg	정다운
카드람(mg/kg)	0.0150 mg/kg	정다운

제 D2020113015 호
분석대상: Y8V8-2K28-11K38

시험·검사성적서

시험명	시료명(소재명)	제품명(유형기호)	정수원
시험일	(주)정수원사용	성명	정수원
최대인	주소 경기도 성남시 중원구 사기막로 124, 비즈센터동 701호, 702호 (9세대복합, SK에코노파크)	검사년월일	2020-11-05
제품번호		검사번호	D2020113015

귀사가 우리 연구원에 시험·검사를 의뢰한 결과는 다음과 같습니다.
 시험·검사 완료일: 2020-12-07
 시험·검사 책임자: 이경구, 이현영
 검사관련 총 책임자: 김원희

시험·검사항목	시험·검사 결과	시험·검사방법
구정아미노산(티로신)(mg/g)	22.06 mg/g	이온영
구정아미노산(알라닌)(mg/g)	38.27 mg/g	이온영
구정아미노산(세테인)(mg/g)	38.48 mg/g	이온영
구정아미노산(멜라닌)(mg/g)	49.49 mg/g	이온영
구정아미노산(알부민)(mg/g)	60.48 mg/g	이온영
구정아미노산(에이신)(mg/g)	27.84 mg/g	이온영
구정아미노산(프로이신)(mg/g)	40.13 mg/g	이온영
구정아미노산(페로닌)(mg/g)	8.49 mg/g	이온영
구정아미노산(탈린)(mg/g)	34.20 mg/g	이온영
구정아미노산(아르기닌)(mg/g)	33.12 mg/g	이온영
구정아미노산(아스파라긴산)(mg/g)	49.27 mg/g	이온영
구정아미노산(아스파르트산)(mg/g)	19.24 mg/g	이온영
구정아미노산(티로신)(mg/g)	21.11 mg/g	이온영
구정아미노산(세테인)(mg/g)	18.37 mg/g	이온영
구정아미노산(프롤린)(mg/g)	30.49 mg/g	이온영
구정아미노산(히스티딘)(mg/g)	11.81 mg/g	이온영
구정아미노산(시스틴)(mg/g)	3.01 mg/g	이온영
구정아미노산(프롤린)(mg/g)	3.73 mg/g	이온영
질(mg/kg)	0.0593 mg/kg	정다운
카드람(mg/kg)	0.0150 mg/kg	정다운

본 시험은 의뢰된 시험·검사 항목만을 대상으로 한 것입니다.
 본 시험에서는 별도의 정수원 사내 시험·검사를 실시하지 않습니다. 시험·검사를 의뢰한 고객 및 공급업체에 통보할 수 있으며, 지가검정사 또는 정부기관에 의해 정수원 사내 시험·검사를 실시할 수 있습니다.
 본 시험에서는 SK Q ISO/IEC 17025 및 KOLAS 인증을 취득하고 있습니다.
 본 시험이 무효일 경우 시험·검사 및 결과에 대한 책임은 의뢰자에게 있습니다.

2020년 12월 07일
한국기능식품연구원

(사)한국건강기능식품협회 부설 한국기능식품연구원 <http://www.khfi.or.kr> 전화번호 02-313628-0400-1

[Lactobacillus로 생물전환한 고기능성 소재]

제 D2020113014 호
문서확인 B321-1402-R116

시험·검사성적서

제출명	사료3(원물)	계조당자 (추출가량)	
시험·검사 의뢰인	(주)정산사육	장명	정승원
주소	경기도 성남시 송원구 사기락길로 124, 키르렌타워 701호, 702호 (상대죽목, SK에코노밸리)	검사방법	202-11-28
계조번호		접수번호	D2020113014
검사뢰유목적	원고용		

귀하가 우리 연구원에 시험·검사를뢰하신 결과는 다음과 같습니다.
 시험·검사 완료일: 2020-12-07
 시험·검사 책임자: 이원영
 검사관련 총 책임자: 김원희

시험·검사항목	시험·검사 결과	시험·검사원
구성아미노산(티로신)(mg/g)	27.49 mg/g	이순영
구성아미노산(몰리신)(mg/g)	30.69 mg/g	이순영
구성아미노산(세틴)(mg/g)	35.39 mg/g	이순영
구성아미노산(알라닌)(mg/g)	51.70 mg/g	이순영
구성아미노산(글루탐산)(mg/g)	69.35 mg/g	이순영
구성아미노산(라이신)(mg/g)	34.07 mg/g	이순영
구성아미노산(프라이진)(mg/g)	46.07 mg/g	이순영
구성아미노산(메티오닌)(mg/g)	6.36 mg/g	이순영
구성아미노산(발린)(mg/g)	26.80 mg/g	이순영
구성아미노산(아르기닌)(mg/g)	38.58 mg/g	이순영
구성아미노산(아스파라긴산)(mg/g)	69.00 mg/g	이순영
구성아미노산(이소류아민)(mg/g)	31.29 mg/g	이순영
구성아미노산(페닐알라닌)(mg/g)	28.78 mg/g	이순영
구성아미노산(세로토닌)(mg/g)	51.64 mg/g	이순영
구성아미노산(콜린)(mg/g)	53.79 mg/g	이순영
구성아미노산(히스티딘)(mg/g)	18.76 mg/g	이순영
구성아미노산(이소질)(mg/g)	2.78 mg/g	이순영
구성아미노산(프롤린)(mg/g)	4.78 mg/g	이순영



2020년 12월 07일

한국기농식품연구원

(사)한국산양기술진흥협회 부설 한국기농식품연구원 <http://www.khsl.or.kr> 전화번호: 011-311628-0400-1



[쌍별귀뚜라미 분말(원물)]

[첨부 4] 시작품 즉석분말수프 영양성분 시험성적서

시험 · 검사성적서

발행번호	BFL20201210-0038	접수번호	N-12011-0306
검사완료일	2020-12-10	접수완료일	2020-11-24
제품명	골리프고영천향수프(8)		
유형	Sample	검사목적	향고형(영양성분)
제조(주)명	유종(특유유기)기화		
원료자	영양	영양성	(주)영일식품
소재지	[13207] 경기도 안산시 중동구 사기항로로 124, 608호 (상대동, 예스24이마트고영천점 인근지역)		

시험 · 검사 항목 및 결과

시험항목	기준	결과	단위	합격여부
열량	-	411.72	kcal/100g	-
탄수화물	-	69.99	g/100g	-
단백	-	16.84	g/100g	-
포화지방	-	19.75	g/100g	-
포화지방	-	11.64	g/100g	-
포화지방	-	8.32	g/100g	-
포화지방	-	0.00	g/100g	-
콜레스테롤	-	2.64	mg/100g	-
나트륨	-	866.66	mg/100g	-

문의 : 검사자 : 김민규, 김민규, 김민규, 김민규, 김민규, 김민규
 책임자 : 김민규, 장영복

비고 : BIO FOOD LAB

* 상기 내용은 의뢰한 시험항목에 한함
 1. 상기 내용은 의뢰인이 제공한 시료에 대한 결과이며, 시료의 명칭은 의뢰인이 제시한 것임.
 2. 이 시험성적서는 승인없이 복사사용을 금지하며, 용도 이외의 사용을 금함.

2020년 12월 10일

(주)바이오프드랩

(0898) 서울특별시 구로구 디지털로30길28, 1410호~1414호(구로동, 대림2동) TEL : 070-7410-1400 FAX : 070-7410-1400

시험 · 검사성적서

발행번호	BFL20201210-0038	접수번호	N-12011-0306
검사완료일	2020-12-10	접수완료일	2020-11-24
제품명	골리프고영천향수프(8)		
유형	Sample	검사목적	향고형(영양성분)
제조(주)명	유종(특유유기)기화		
원료자	영양	영양성	(주)영일식품
소재지	[13207] 경기도 안산시 중동구 사기항로로 124, 608호 (상대동, 예스24이마트고영천점 인근지역)		

시험 · 검사 항목 및 결과

시험항목	기준	결과	단위	합격여부
Vitamin D	-	196.02	μg/100g	-
합계	-	263.66	mg/100g	-

문의 : 검사자 : 김민규, 김민규, 김민규, 김민규, 김민규, 김민규
 책임자 : 김민규, 장영복

비고 : BIO FOOD LAB

* 상기 내용은 의뢰한 시험항목에 한함
 1. 상기 내용은 의뢰인이 제공한 시료에 대한 결과이며, 시료의 명칭은 의뢰인이 제시한 것임.
 2. 이 시험성적서는 승인없이 복사사용을 금지하며, 용도 이외의 사용을 금함.

2020년 12월 10일

(주)바이오프드랩

(0898) 서울특별시 구로구 디지털로30길28, 1410호~1414호(구로동, 대림2동) TEL : 070-7410-1400 FAX : 070-7410-1400

[고령친화용 고기능성 향노화 즉석분말수프 시작품]

시험 · 검사성적서

발행번호	BFL20201029-0092	접수번호	N-12010-0060
검사완료일	2020-10-29	접수완료일	2020-10-12
제품명	골리프고영천향수프(가용)		
유형	Sample	검사목적	향고형(영양성분)
제조(주)명	유종(특유유기)기화		
원료자	영양	영양성	(주)영일식품
소재지	[13207] 경기도 안산시 중동구 사기항로로 124, 608호 (상대동, 예스24이마트고영천점 인근지역)		

시험 · 검사 항목 및 결과

시험항목	기준	결과	단위	합격여부
열량	-	418.37	kcal/100g	-
탄수화물	-	66.78	g/100g	-
단백	-	17.43	g/100g	-
포화지방	-	19.82	g/100g	-
포화지방	-	13.33	g/100g	-
포화지방	-	6.11	g/100g	-
포화지방	-	0.00	g/100g	-
콜레스테롤	-	0.72	mg/100g	-
나트륨	-	7,000.21	mg/100g	-

문의 : 검사자 : 김민규, 김민규, 김민규, 김민규, 김민규, 김민규
 책임자 : 김민규, 장영복

비고 : BIO FOOD LAB

* 상기 내용은 의뢰한 시험항목에 한함
 1. 상기 내용은 의뢰인이 제공한 시료에 대한 결과이며, 시료의 명칭은 의뢰인이 제시한 것임.
 2. 이 시험성적서는 승인없이 복사사용을 금지하며, 용도 이외의 사용을 금함.

2020년 10월 29일

(주)바이오프드랩

(0898) 서울특별시 구로구 디지털로30길28, 1410호~1414호(구로동, 대림2동) TEL : 070-7410-1400 FAX : 070-7410-1400

시험 · 검사성적서

발행번호	BFL20201029-0092	접수번호	N-12010-0060
검사완료일	2020-10-29	접수완료일	2020-10-12
제품명	골리프고영천향수프(가용)		
유형	Sample	검사목적	향고형(영양성분)
제조(주)명	유종(특유유기)기화		
원료자	영양	영양성	(주)영일식품
소재지	[13207] 경기도 안산시 중동구 사기항로로 124, 608호 (상대동, 예스24이마트고영천점 인근지역)		

시험 · 검사 항목 및 결과

시험항목	기준	결과	단위	합격여부
Vitamin D	-	23.16	μg/100g	-
합계	-	264.03	mg/100g	-

문의 : 검사자 : 김민규, 김민규, 김민규, 김민규, 김민규, 김민규
 책임자 : 김민규, 장영복

비고 : BIO FOOD LAB

* 상기 내용은 의뢰한 시험항목에 한함
 1. 상기 내용은 의뢰인이 제공한 시료에 대한 결과이며, 시료의 명칭은 의뢰인이 제시한 것임.
 2. 이 시험성적서는 승인없이 복사사용을 금지하며, 용도 이외의 사용을 금함.

2020년 10월 29일

(주)바이오프드랩

(0898) 서울특별시 구로구 디지털로30길28, 1410호~1414호(구로동, 대림2동) TEL : 070-7410-1400 FAX : 070-7410-1400

[고령친화용 고기능성 향노화 즉석분말수프(Lactobacillus 고기능성 소재 함유) - 참고용]

[첨부 5] 유통기한설정실험 결과보고서

(데일리 파워 업 단호박크림수프)의
유통기한설정실험 결과보고서

2021년 01월



(주) 바이오푸드랩



서울특별시 구로구 디지털로 30길 28 마리오타워 1411호
Tel. 070-7410-1400, Fax. 070-7410-1430

실험 결과보고서 요약

제목	“데일리 파워 업 단호박크림수프” 의 유통기한설정실험			
실험구분	자체실험() 의뢰실험(○)			
실험기간	2020 년 09 월 28 일 ~ 2020 년 12 월 30 일			
신청인	업소명	(주)정심식품	대표자	정승원
	주소	경기도 성남시 중원구 사기막골로 124, 508호 (상대원동, 에스케이엔테크노파크 테크센터)	연락처	031-776-2255
실험수행기관	기관명	㈜바이오푸드랩	대표자	이용표
	주소	서울시 구로구 디지털로 30길 28 마리오타워 1411호	연락처	070-7410-1400
실험참여자	시험검사책임자	장영복	연구원	윤정한
	연구원	서세진	연구원	문태성
	연구원	이동규	연구원	김민주
	연구원	최주리	연구원	정다운
실험결과	요약			
	* 유통기한 실험 결과			
	품질지표	품질한계	근거	
	일반세균수(CFU/g)	100,000 이하	미생물학적 초기 부패 시점	
	대장균(CFU/g)	0	식품안전 제 5, 식품별 기준 및 규격 22, 즉석식품류 22-2 즉석설워 · 편의식품류 (3) 즉석조리식품	
	황색포도상구균(CFU/g)	100 이하	식품안전 제 5, 식품별 기준 및 규격 22, 즉석식품류 22-2 즉석설워 · 편의식품류 (3) 즉석조리식품	
	살모넬라	음성	식품안전 제 5, 식품별 기준 및 규격 22, 즉석식품류 22-2 즉석설워 · 편의식품류 (3) 즉석조리식품	
관능평가	5 이상	9 점 척도법 기호도		
<p>→ 설정한 품질지표 중 결정계수가 가장 높은 관능평가의 0 차반응식으로 35℃에서 7.68 개월의 유통기한이 산출되었다. 하지만 유통 과정중의 외부적 요인을 고려하여 실제 유통기한은 단축될 수 있으므로 실험기간(7.68 개월) × 안전계수(0.8) = 6.14 개월로 추정되지만 실험 기간에 따른 최대유통기한은 6 개월 이내로 하는 것이 바람직하다.</p> <p>(단, 본제품은 35℃이하로 유지 관리되어야 한다.)</p>				

제1장 제품의 특성

구분	신규제품
식품유형	즉석조리식품
성상	고유의 향미를 가지고 이미이취가 없음
사용원료	샬롯귀뚜라미 발효물 1%, 감황추출물 분말 1%, 스프레이스 (원료 배합비를 변동 가능)
제조·가공공정	원료 계량 → 혼합 → 소분 → 포장
포장재질	폴리에틸렌
포장방법	밀봉 포장
포장단위	20 g
보존 및 유통온도	1 ~ 35 ℃ (실온 보관)
보존료 사용여부	미사용
유량·유처리	미처리
살균 또는 멸균방법	비살균
제품사진	

제2장 실험방법

가. 검체의 채취 및 취급방법

본 실험에 사용된 제품은 (주)정심식품에서 폴리에틸렌으로 밀봉 포장한 최종 제품을 25 ℃, 35 ℃, 45 ℃ 배양기에 90 일간 저장시키면서 15 일 간격으로 실험을 수행하였다.

나. 품질지표 및 실험방법

품질지표		실험방법
미생물	일반세균수(CFU/g)	식품공전 제8. 일반시험법 4. 미생물시험법 4.5. 세균수 1, 일반세균수
	대장균(CFU/g)	식품공전 제8. 일반시험법 4. 미생물시험법 4.8. 대장균 2. 정량시험 나. 건조필름법
	황색포도상구균(CFU/g)	식품공전 제8. 일반시험법 4. 미생물시험법 4.12. 황색포도상구균 2. 정량시험
	살모넬라	식품공전 제8. 일반시험법 4. 미생물시험법 4.11. 살모넬라
관능	종합기호도검사	9 점 척도법 기호도

다. 실험조건

품질지표	실험방법
저장온도	25 ℃, 35 ℃, 45 ℃
저장기간	90 일
실험주기	15 일

라. 품질한계값 설정

품질지표	품질한계	근거
일반세균수(CFU/g)	100,000 이하	미생물학적 초기 부패 시점
대장균(CFU/g)	0	식품공전 제 5. 식품별 기준 및 규격 22. 즉석식품류 22-2 즉석삼육 · 편의식품류 (3) 즉석조리식품
황색포도상구균(CFU/g)	100 이하	식품공전 제 5. 식품별 기준 및 규격 22. 즉석식품류 22-2 즉석삼육 · 편의식품류 (3) 즉석조리식품
살모넬라	음성	식품공전 제 5. 식품별 기준 및 규격 22. 즉석식품류 22-2 즉석삼육 · 편의식품류 (3) 즉석조리식품
관능평가	5 이상	9 점 척도법 기호도

제3장 실험결과

▶STEP 1 : 저장온도별 저장기간에 따른 각 품질지표의 함량 변화 분석

25 ℃, 35 ℃, 45 ℃ 저장온도에서 90 일간 저장동안 품질지표의 함량변화는 다음 표1-3과 같다.

표1. 데일리 파워 업 단호박크림수프 25 ℃ 저장결과

저장 기간 (일)	일반세균수 (CFU/g)	대장균 (CFU/g)	황색포도상구균 (CFU/g)	살모넬라	관능평가
0	540 ± 65.57	0	0	음성	9.00 ± 0.00
15	280 ± 26.46	0	/	/	9.00 ± 0.00
30	250 ± 36.06	0			0
45	610 ± 130.13	0	/	/	8.84 ± 0.09
60	670 ± 149.78	0			0
75	500 ± 60.28	0	/	/	8.16 ± 0.17
90	260 ± 66.58	0			0

표2. 데일리 파워 업 단호박크림수프 35 ℃ 저장결과

저장 기간 (일)	일반세균수 (CFU/g)	대장균 (CFU/g)	황색포도상구균 (CFU/g)	살모넬라	관능평가
0	540 ± 65.57	0	0	음성	9.00 ± 0.00
15	250 ± 5.77	0			8.92 ± 0.11
30	190 ± 40.41	0	0	음성	8.76 ± 0.17
45	210 ± 30.55	0			8.40 ± 0.14
60	320 ± 37.86	0	0	음성	8.04 ± 0.09
75	280 ± 50.00	0			7.76 ± 0.09
90	230 ± 106.93	0	0	음성	7.52 ± 0.11

표3. 데일리 파워 업 단호박크림수프 45 ℃ 저장결과

저장 기간 (일)	일반세균수 (CFU/g)	대장균 (CFU/g)	황색포도상구균 (CFU/g)	살모넬라	관능평가
0	540 ± 65.57	0	0	음성	9.00 ± 0.00
15	310 ± 55.08	0			8.88 ± 0.11
30	230 ± 88.88	0	0	음성	8.56 ± 0.17
45	170 ± 10.00	0			8.24 ± 0.09
60	120 ± 5.77	0	0	음성	7.88 ± 0.18
75	180 ± 65.06	0			7.48 ± 0.11
90	150 ± 17.32	0	0	음성	7.40 ± 0.00

▶STEP 2 : 품질지표별 반응속도상수(K)의 산출

표4. 저장온도별 품질지표의 반응속도상수

품질지표	반응차	온도(℃)	회귀방정식	결정계수
관능	0차 ¹⁾	25	$Y = -0.0148x + 9.2529$	0.9183
		35	$Y = -0.0178x + 9.1443$	0.9871
		45	$Y = -0.0197x + 9.0929$	0.9908
관능	1차 ²⁾	25	$Y = -0.0008x + 0.9675$	0.9121
		35	$Y = -0.0009x + 0.9624$	0.9854
		45	$Y = -0.0010x + 0.9601$	0.9897
일반세균수 (CFU/g)	0차 ¹⁾	25	$Y = 0.0476x + 442.1429$	0.0087
		35	$Y = -1.7619x + 367.8571$	0.4794
		45	$Y = -3.6667x + 407.8571$	0.8201

1) $Y = KX + B$ (X:저장기간, Y:저장기간 X종의 시험 항목의 결과 값, K:반응속도상수)

2) $Y = KX + B$ (X:저장기간, Y:Ln A, B : Ln A₀, K:반응속도상수)

(A:저장기간 X종의 시험 항목의 Ln 값, A₀ : 저장 전 제품 중의 시험 항목의 Ln 값)

각 품질지표의 결정계수 분석결과 관능평가의 0 차반응식 결정계수가 0.9908 로 가장 높아 본 시료의 유통기간 설정을 위한 품질지표로 결정하였다.

▶STEP 3 : 온도영향에 따른 품질지표별 활성화 에너지 산출

표5. (데일리 파워 업 단호박크림수프)의 관능평가 활성화 에너지 산출(0 차 반응식)

온도(℃)	온도(T)	1/T	K	LnK	$LnK = -(Ea/R)(1/T)+LnA$	
저장 온도	25	298	0.003356	0.0148	-4.215705	$LnK = -1374.6620X + 0.4096$ $(R^2 = -0.9886)$ $Ea(kcal/mole) = 2731.4535$
	35	308	0.003247	0.0178	-4.028022	
	45	318	0.003145	0.0197	-3.926412	

▶STEP 4 : 유통기한 산출

표6. 0 차 반응식에 의한 35 ℃ 유통기한 산출

항목	반응 차수	회귀방정식	(A0-At)	$e^{[(Sx)/T]+1}$ (K)	유통기한(개월) (A0-At)/(K)
관능평가	0차	$\ln X = -1374.6620X + 0.4096$	4	0.0174	7.68

제4장 결론

→ 설정한 품질지표 중 결정계수가 가장 높은 관능평가의 0 차반응식으로 35 ℃에서 7.68 개월의 유통기한이 산출되었다. 하지만 유통 과정 중의 외부적 요인을 고려하여 실제 유통기한은 단축될 수 있으므로 실험기간(7.68 개월) × 안전계수(0.8) = 6.14 개월로 추정되지만 실험 기간에 따른 최대 유통기한은 6 개월 이내로 하는 것이 바람직하다.

(단, 본제품은 35 ℃이하로 유지 관리되어야 한다.)

제5장 참고자료

1. 식품의약품안전처 : 식품, 식품 첨가물, 축산물 및 건강기능식품의 유통기한 설정기준 (제 2019-56호, 2019.07.02)
2. 식품의약품안전처 : 식품, 축산물 및 건강기능식품의 유통기한 설정실험 가이드라인(2019.4)
3. 식품의약품안전처 : 식품의 기준 및 규격 (제 2020-128호, 2020.12.28)

[별첨 1]

연구개발보고서 초록

과 제 명	(국문) 생물전환기술을 활용한 고기능성 발효 소재와 이를 활용한 고령친화수프 개발 및 산업화 (영문) Development and industrialization of high-level functional fermented food materials and its senior-friendly soups				
주관연구기관	(주)정심식품		주 관 연 구 책 임 자	(주)정심식품	
참 여 기 업	-			(성명) 박자원	
총연구개발비 (천원)	계	230,700	총 연구 기간	2019.05.20. ~ 2020.12.31.(1년 8월)	
	정부출연 연구개발비	173,000	총 참 여 수	총 인 원	14
	기업부담금	57,700		내부인원	13
	연구기관부담금	0		외부인원	1

○ 연구개발 목표 및 성과

1. 나노분쇄 유회공법을 이용한 수용성 초미세분말 커큐민 제조, 공정 표준화 및 품질기준 설정
 - 목표 : 평균 입도 1um 이하 소재 개발
 - 성과 : 품목제조보고 3건, 시작품 1건, 고용 창출 1건

2. 생물전환기술을 활용한 이취 및 알레르기 저감 기능성 발효 소재 개발
 - 성과 : 비SCI급 논문 1건, 학술발표 4건, 생물자원 2건 기탁, 특허 출원 2건, 특허 등록 2건, 기술이전 2건, 전문연구인력 1건

3. 고령친화식품 인증용 고기능성 향노화 즉석분말수프 소재 대량 생산 공정 구축 및 표준화
 - 성과 : 품목제조보고 3건, 시작품 1건, 고용창출 1건

4. 고령친화식품 인증용 고기능성 향노화 즉석분말수프 대량 생산 공정 구축 및 표준화
 - 성과 : 시작품 1건, 품목제조보고 2건, 고용창출 2건, 특허 출원 1건, 특허 출원 1건 준비 중

5. 고령친화식품 인증용 고기능성 향노화 즉석분말수프의 기준규격 및 품질기준 설정
 - 성과 : 품목제조보고 3건, 시작품 1건, 특허 출원 1건 완료, 고용 창출 2건, 특허 출원 1건 준비 중

6. 고령친화용 고기능성 향노화 즉석분말수프 유통시스템 구축 및 산업화

7. 생물전환기술 활용 고령친화식품 인증용 고기능성 향노화 즉석분말수프 개발 및 품질 평가
 - 성과 : 특허출원 1건, SCIE논문 1건, SCI논문 3건 투고 준비중, 학술발표 7건, 전문연구인력 3건

○ 연구내용 및 결과

1. 나노분쇄 유효공법을 이용한 수용성 초미세분말 커큐민 제조, 공정 표준화 및 품질기준 설정
가. 커큐민 제조조건 및 건조 공정 표준화 완료
나. 수용성 초미세분말 커큐민 품질기준 설정 완료 (입도(< 1 um) 이하, 커큐민 90 mg/g 이상, 수분 함량 4% 이하, 상온 저장안정성 1년 이상)
2. 생물전환기술을 활용한 이취 및 알레르기 저감 기능성 발효 소재 개발
가. 이취 및 알레르기 저감화 전처리 기술개발 완료
나. 효소 및 발효를 포함하는 생물전환기술 조건 확립
(1) 산업화 적용을 위한 기본 제조공정도 확립 및 제공
다. 생물전환 기술을 활용한 기능성 발효소재의 이화학적 품질특성, 건강기능성 평가 완료
(1) 알레르기 성분 불검출, 75.4%(효소 반응), 66.35 ~ 72.22% (쌍별귀뚜라미 첨가 현미 발효물의 가수분해도)
3. 고령친화식품 인증용 고기능성 항노화 즉석분말수프 소재 대량 생산 공정 구축 및 표준화
가. 개발 소재별 대량 생산 공정 구축 및 표준화
(1) 미생물 균주 접종액 배양시간 기초자료 확보
(2) 쌍별귀뚜라미로 생물전환한 고기능성 소재 대량화 표준공정도 1건 확립
(3) 고령친화식품 인증에 적합한 소재 2건 개발 완료
나. 고령친화식품 인증용 고기능성 항노화 수프 개발
(1) 대량 공정용 쌍별귀뚜라미로 생물전환한 고기능성 소재 2종 생산
4. 고령친화식품 인증용 고기능성 항노화 즉석분말수프 대량 생산 공정 구축 및 표준화
가. 고령친화식품 인증용 고기능성 항노화 즉석분말수프 시작품 개발
(1) 쌍별귀뚜라미로 생물전환한 고기능성 소재를 포함하는 고령친화식품 규격 고기능성 항노화 즉석분말수프 (상표명 : 데일리 파워 업 단호박크림수프) 개발
① 초미세분말 커큐민과 쌍별귀뚜라미 고기능성 소재 함유하며 고령친화식품 규격에 적합한 즉석분말수프 레시피 1건 개발
(2) 쌍별귀뚜라미로 생물전환한 고기능성 소재를 포함하는 고령친화식품 규격 고기능성 항노화 즉석분말수프 어플리케이션 후속연구 진행 중
나. 고령친화식품 인증용 고기능성 항노화 즉석분말수프 대량생산 표준 제조공정도 확립
(1) 고령친화용 고기능성 항노화 즉석분말수프 대량생산 표준 제조공정도 1건
(2) 즉석분말식품 HACCP 인증 제조 설명서 및 작업지시서 확립
5. 고령친화식품 인증용 고기능성 항노화 즉석분말수프의 기준규격 및 품질기준 설정
가. 식품의약품안전처 고령친화식품기준(2018. 07. 25) 규격 및 식품공전>22-2(3) 즉석조리식품 규격에 적합한 제품 개발 1건 완료
6. 고령친화용 고기능성 항노화 즉석분말수프 유통시스템 구축 및 산업화
가. 고령친화용 & 간편편이식 분야를 아우르는 마케팅전략 구축 완료
7. 생물전환기술활용 활용 고령친화식품 인증용 고기능성 항노화 즉석분말수프 개발 및 품질 평가
가. 기능성분 강화를 위한 복합효소 및 발효조건 확립
나. 탄수화물 소재 및 쌍별귀뚜라미 소재 배합 최적화 완료
다. 이화학적 품질특성, 건강기능성 평가 완료

○ 연구성과 활용실적 및 계획

1. 나노분쇄 유효공법을 이용한 수용성 초미세분말 커큐민의 산업화 공정 개선

가. 공정개선에 의한 생산효율성 증가와 고품질의 수용성 초미세분말 커큐민 생산을 통한 매출 창출

2. 생물전환기술을 활용한 쌍별귀뚜라미 고기능성 발효 소재 생산 원천 기술 개발

가. 연구결과에 따라 확보한 고기능성 발효 소재 생산기술은 국내·외에서 독보적인 원천기술로써 지식재산권과 관계된 규제로부터 자유로우며 해당 기술 이용에 대한 우선권을 확보하여 국내외·적으로 경쟁력 우위를 선점하여 다양한 분야에서 자유롭게 활용

나. 본 과제를 통하여 개발한 유용균주를 이용하여 저평가된 또는 발굴되지 않은 기능성 소재의 고부가가치 소재화 연구에 활용

다. 2차 가공에 활용할 수 있는 원천기술로서 식용곤충 식품산업 확대에 활용

3. 생물전환기술을 활용한 고기능성 발효 소재 대량화 공정 구축 및 산업화 확립

가. 1번 원천 기술의 대량 산업화 기술을 확보하여 식품산업 및 사료 등의 분야에서 신소재 소재 및 인지도 구축

4. 생물전환기술을 활용한 고기능성 고령친화식품용 즉석분말수프 대량 생산화

가. 쌍별귀뚜라미 소재와 초미세분말 커큐민을 포함하는 고령친화식품 규격의 즉석분말수프 개발

나. 다양한 어플리케이션을 개발하여 차별화된 프리미엄 고령친화 즉석분말수프 제품군의 사업화

다. 미래 식품사업의 대세인 고령 친화 식품 시장을 포함한 간편편이식 시장에서 다양한 응용제품 활용

라. 포스트코로나 트렌드에 부합하는 간편편이식 식품으로서 경제 효과 기대

마. 기업 확장에 의한 고용 창출 효과

5. 미래농업 산업 육성 및 농업 안정화

가. 소비자들의 곤충식품에 대한 인식 변화와 곤충의 식품화 선도 효과

나. 쌍별귀뚜라미 식품 산업화를 통한 농가 고부가가치 소득원 발굴

6. 해외 진출 및 국가 경쟁력 확보 특수 제품으로 활용

가. 식용곤충 섭취에 상대적으로 호의적인 일본, 중국을 포함한 아시아 지역을 시작으로 제품을 수출하여 산업적 매출 효과 기대

[별첨 2]

자체평가의견서

1. 과제현황

		과제번호		119019-02	
사업구분	맞춤형혁신식품 및 천연안심소제 기술개발사업				
연구분야	식품			과제구분	단위
사업명	농식품기술개발사업				주관
총괄과제	기재하지 않음			총괄책임자	기재하지 않음
과제명	생물전환기술을 활용한 고기능성 발효 소재와 이를 활용한 고령친화수프 개발 및 산업화			과제유형	(기초, 응용, 개발)
연구기관	(주)정심식품			연구책임자	박자원
연구기간 연구비 (천원)	연차	기간	정부	민간	계
	1차년도		74,000	24,700	98,700
	2차년도		99,000	33,000	132,000
	3차년도				
	4차년도				
	5차년도				
	계		173,000	57,700	230,700
참여기업					
상대국	상대국연구기관				

※ 총 연구기간이 5차년도 이상인 경우 셀을 추가하여 작성 요망

2. 평가일 : 2021. 03. 25

3. 평가자(연구책임자) :

소속	직위	성명
(주)정심식품	연구소장	박자원

4. 평가자(연구책임자) 확인 :

본인은 평가대상 과제에 대한 연구결과에 대하여 객관적으로 기술하였으며, 공정하게 평가하였음을 확약하며, 본 자료가 전문가 및 전문기관 평가 시에 기초자료로 활용되기를 바랍니다.

확약	
----	---

I. 연구개발실적

※ 다음 각 평가항목에 따라 자체평가한 등급 및 실적을 간략하게 기술(200자 이내)

1. 연구개발결과의 우수성/창의성

■ 등급 : (아주우수, 우수, 보통, 미흡, 불량)

본 연구개발의 결과로 4건의 특허 출원, 2건의 특허 등록, 2건의 생명자원(품종) 등록, 4건의 상표 출원, 6건의 제품화(품목신고보고), 1건의 시작품 제작, 11건의 학술발표, 비SCI급 논문 투고 1건, SCIE급 논문 투고 1건, SCI급 논문 투고 3건 준비중, 자체 이전 기술이전 2건, 고용 창출 2건, 전문연구인력 4건을 완료하여 성과지표의 달성, 또는 초과 달성하였으며, 기술의 우수성 및 현장 적용 용이성을 인정받아 산업체 기술이전 1건 완료하였음.

2. 연구개발결과의 파급효과

■ 등급 : (아주우수, 우수, 보통, 미흡, 불량)

본 수행 과제는 식용곤충의 일종인 쌍별귀뚜라미에 최신 생물전환 연구기법을 적용하여 기존의 곤충 소재화 연구에서 해결하지 못한 이취 및 알레르기 유발 물질이 저감화된 식품소재로서의 활용도를 높인 고부가가치 신소재로의 활용 가능성을 검증하여 기존 곤충가공 연구에서 이루어지지 않은 새로운 분야의 생물전환기법을 활용한 쌍별귀뚜라미 발효와 그 제조방법에 관한 기술력을 확보하여 향후 미래대체소재 시장에서 파급력이 매우 우수할 것으로 기대됨. 또한 초기연구단계인 고령친화식 분야에서 기능성 수용성 초미세분말 커큐민을 적용하여 세계 최초의 우수한 기능성 소재가 복합된 고령친화식품용 향노화 즉석분말수프를 개발하여 고령친화식 트렌드를 주도할 파급력을 가진 것으로 판단됨.

3. 연구개발결과에 대한 활용가능성

■ 등급 : (아주우수, 우수, 보통, 미흡, 불량)

개발된 쌍별귀뚜라미 유래 고기능성 소재는 소재 자체로 고령친화식품소재로서의 우월한 영양학적 가치를 확인하였으며 고령친화식, 간편편이식(CMR), 알레르기 저감 식품 시장은 물론 특수영양식, 미래대체식, 피트니스 보조식품의 가공식품 분야와 펫푸드 위주의 프리미엄 사료 분야 등의 분야에 광범위하게 활용 가능할 것으로 기대됨. 또한 고령친화식품용 향노화 고기능성 즉석분말수프는 타 경쟁제품과 차별화된 고기능성 소재와 생리활성 흡수율을 높인 커큐민이 포함되어 있어 차별적인 이미지를 확보할 것으로 판단됨. 주원료인 쌍별귀뚜라미의 기능성에 대한 연구 결과도 발표되고 있어 가정간편식 수프류 시장의 새로운 제품으로써 선호도가 높을 것으로 기대됨.

4. 연구개발 수행노력의 성실도

■ 등급 : (아주우수, 우수, 보통, 미흡, 불량)

성실한 연구개발 수행을 위하여 전문가 및 관련 업계와 지속적으로 협의하였고, 2차년도 과제 수행 중 코로나 발생에 따라 대면 회의 및 협력업체 방문, 출장 등의 기존 계획은 이메일, 전화, 화상통화 등으로 대체하여 주기적인 일정 관리를 하였음.

5. 공개발표된 연구개발성과(논문, 지식소유권, 발표회 개최 등)

■ 등급 : (아주우수, 우수, 보통, 미흡, 불량)

목표 달성을 위하여 노력한 결과, 지식재산권 성과는 특허 출원 4건 (당초 계획 2건, 200% 초과 달성), 특허 등록 2건 (당초 계획 종료 후 1건, 200% 조기 달성), 상표 출원 4건 (당초 계획 1건, 400% 초과 달성), 생명자원(품종) 등록 2건 (당초 계획 1건, 200% 초과 달성)하였음. 학술 성과는 비SCI급 논문 1건 (당초 계획 3건, SCI급으로 변경 진행중), SCIE급 논문 1건(당초 계획 1건, 100% 달성), SCI급 논문 3건 준비중(당초 계획 1건), 학술발표 11건 (당초 계획 7건, 157% 초과 달성)하였음. 기술실시는 자체 이전 1건 (당초 계획 1건, 100% 달성), 산업체 이전 1건 (추가 달성)을 완료하였음. 사업화는 시작품 1건 (당초 계획 1건, 100% 달성), 품목제조보고 6건 (당초 계획 2건, 300% 달성)을 달성하였음. 고용창출은 고용 창출 2건 (당초 계획 2건, 100% 달성), 전문연구인력 4건 (당초 계획 4건, 100% 달성)을 달성하였음.

II. 연구목표 달성도

세부연구목표 (연구계획서상의 목표)	비중 (%)	달성도 (%)	자체평가
나노분쇄 유효공법을 이용한 수용성 초미세분말 커큐민 제조 및 공정 표준화	15	100	달성
고령친화식품 인증용 고기능성 향노화 수프 개발 및 대량 생산 공정 구축	15	100	초과 달성
생물전환기술 활용 이취 및 알레르기 저감 기능성 발효소재 개발 최적화 품질평가	20	100	초과 달성
고령친화용 고기능성 향노화 즉석분말수프의 대량 생산 구축 및 표준화	20	100	초과 달성
생물전환기술을 활용한 고령친화용 고기능성 향노화 즉석분말수프 제조 및 고령친화용 CMR 제품 생산 기술 개발	10	100	달성
생물전환기술 활용 고령친화식품 인증용 고기능성 향노화 즉석분말수프 개발 및 품질 평가	20	100	초과 달성
합계	100점	100	

III. 종합의견

1. 연구개발결과에 대한 종합의견

1. 당 연구를 통해 국내·외에서 연구결과가 발표되지 않은 독보적인 원천기술인 생물전환 핵심 기술을 통하여 쌍별귀뚜라미 발효물의 기능성(항당뇨, 항콜레스테롤, 항산화), 이화학, 발효 특성 등에 대한 기초연구자료를 확보하였음.
2. 원천 기술을 기반으로 쌍별귀뚜라미 고기능성 발효 소재 생산 기술의 대량 생산에 성공하였으며, 이를 통하여 생산한 쌍별귀뚜라미 고기능성 발효 소재 2종은 영양학적, 기능적, 관능특성, 가공적성 등에서의 우수성을 검증하여 부가가치가 높은 미래지향형 식품소재로서의 가능성을 확인하여 사업화를 위한 품목제조보고를 완료하였음.
3. 우수한 생리활성에도 지용성 특성으로 인해 소재화에 한계가 있었던 강황추출물을 공정 개선에 의하여 생산 효율성을 상승시켰으며 품질이 향상된 수용성 초미세분말 커큐민 제조에 성공하였음.
4. 상기 두 소재를 함유하는 고령친화용 고기능성 항노화 즉석분말수프의 대량 생산 공정을 통하여 생산한 시작품은 한국식품의약품안전처에서 요구하는 고령친화식품 규격 및 한국산업표준 규격에 모두 부합하였음.
5. 개발된 고령친화용 고기능성 항노화 즉석분말수프는, 타 경쟁제품과 비교하여 곤충 단백질과 항산화 커큐민이 함유되어 있어, 영양성분과 기능성이 보강된 형태의 포스트코로나 트렌드에 부합하는 간편편이식 제품으로서 경제 효과 발생이 기대됨.
6. 쌍별귀뚜라미를 사용함으로써 곤충 특유의 외형이 주는 혐오감과 곤충 특유의 이취를 저감화하여 소비자 기호도가 높아진 식품 소재로 가공함으로써, 식용곤충을 이용한 식품산업의 선점을 통한 식품 신산업 창출 효과는 물론 판로에 난항을 겪고 있는 식용곤충농가의 매출 확대를 기대할 수 있음.
7. 상기 모든 연구개발결과는 빠르게 산업화할 수 있으며, 산업계에 다양하게 적용되어 사용될 수 있으므로 효율적이고 과급력이 높은 연구결과를 도출했다고 판단함.

2. 평가시 고려할 사항 또는 요구사항

1. 당초 설정한 목표 달성을 위하여 성실하게 연구를 수행했으며, 원활한 연구 진행을 위해 수행기관의 특성에 맞게 주관연구기관은 산업계에서 활용 가능한 사업화 연구 결과물을, 협동연구기관은 학문적인 기초자료와 원천기술을 구명하는 데 주력하였음.
2. 주관연구기관은 신속한 사업화를 위하여 생산한 수용성 초미세분말 커큐민, 쌍별귀뚜라미 고기능성 소재, 고령친화용 고기능성 즉석분말수프의 품질기준 설정, 영양성분 분석, 위해요소 분석, 유통기한 설정을 의뢰하여 고령친화용 식품으로서의 적합성을 확인하였음. 또한 산업계에서 활용도가 높은 제품화, 기술실시(이전), 특허 출원, 상표 출원을 중점적으로 진행하였음. 사업화 소재와 시작품은 특별한 생산 설비 추가 및 변경 없이 바로 산업체에 적용할 수 있음.
3. 현재 식용곤충 시장규모가 매우 작은 분야이지만 사업화 및 매출 발생에 있어서 위험성을 감수하고 미래식품산업 소재 산업화를 위한 선두업체의 사명감으로 성실히 수행하여 협약 당시 목표를 달성, 또는 초과 달성하는 결과를 도출하였음. 매출의 경우 기간에 매출 발생을 이루지는 못하였으나 이는 코로나 팬데믹으로 인한 경제 장기 침체의 영향임을 고려해 주기 바람.
4. 협동연구기관은 학문 기초 연구 자료 및 원천기술 확보에 주력하여 지식재산권, 기탁균주, 학술발표에서 성과지표를 초과하여 달성하였음. 과제 기간 중 비SCI급 논문 1건, SCIE급 논문 1건 투고 완료하여 협약 당시 목표인 비SCI급 논문 투고 3건은 달성하지 못한 상태이나, 2021.3월 현재 SCI급 논문 3건 투고 준비중이므로 결과적으로 협약 당시 목표를 초과 달성할 것으로 판단됨.

3. 연구결과의 활용방안 및 향후조치에 대한 의견

1. 연구 결과에 의하여 생산한 고기능성 소재의 영양학적 우수성 및 그 기능성에 대한 후속 연구를 확보하여 바이오, 의료 분야에서 맞춤형영양식, 메디컬대체 소재로의 응용이 가능할 것으로 판단됨. 그러므로 소재 자체가 가진 식품으로서의 우수성을 개발된 연구결과와 특허를 활용하여 브로슈어 등 홍보자료를 작성하고 박람회 등을 이용하여 국내외에서 적극적으로 마케팅하고자 함.
2. 고령친화용 고기능성 즉석분말수프는 제조방법과 제품에 대하여 특허 출원을 준비중이며, 후속 연구를 통하여 고령친화용 프리미엄 제품군으로 특화시켜 노인전문기관, 요양원, 실버타운 등에 프로모션 예정. 향후 이를 현장에 적용한 업체의 반응과 시장에서의 소비자 반응을 고려하여 필요시 제품을 개선하는 등 후속 조치를 취하고자 함.
3. 개발된 고기능성 소재와 즉석분말수프는 곤충 취식에 상대적으로 거부감이 크지 않은 일본, 중국을 포함한 아시아 지역을 시작으로 해외 박람회를 통해 현지 반응을 확인한 후 해외 진출할 예정임.

4. 산업체에 기술이전을 진행하고 있으며, 본 연구를 통해 개발된 쌍별귀뚜라미 고기능성 소재는 천연식품소재, 기능성 식품소재, 식품 신소재 전문 회사인 (주)제이스에프아이에 산업체 기술이전을 실시하여 소재 자체의 우수성을 적극적으로 홍보하고, (주)제이스에프아이의 구축된 식품 소재 관련 영업 노하우와 현재 거래하고 있는 대형 기업체, 식품전문업체, 사료업체 등에 샘플 프로모션 추진 예정.

IV. 보안성 검토

o 연구책임자의 보안성 검토의견, 연구기관 자체의 보안성 검토결과를 기재함

※ 보안성이 필요하다고 판단되는 경우 작성함.

1. 연구책임자의 의견

해당 사항 없음

2. 연구기관 자체의 검토결과

해당 사항 없음

[별첨 3]

연구성과 활용계획서

1. 연구과제 개요

사업추진형태	<input checked="" type="checkbox"/> 자유응모과제 <input type="checkbox"/> 지정공모과제	분 야	식품	
연구과제명	생물전환기술을 활용한 고기능성 발효 소재와 이를 활용한 고령친화수프 개발 및 산업화			
주관연구기관	(주)정심식품		주관연구책임자	박자원
연구개발비	정부출연 연구개발비	기업부담금	연구기관부담금	총연구개발비
	173,000	57,700		230,700
연구개발기간	2019.05.20.~2020.12.31			
주요활용유형	<input checked="" type="checkbox"/> 산업체이전 <input type="checkbox"/> 교육 및 지도 <input type="checkbox"/> 정책자료 <input type="checkbox"/> 기타() <input type="checkbox"/> 미활용 (사유:)			

2. 연구목표 대비 결과

당초목표	당초연구목표 대비 연구결과
① 나노분쇄 유효공법을 적용한 초미세분말 커큐민 소재 생산 기술	<ul style="list-style-type: none"> - 커큐민 제조조건 및 건조 공정 표준화 완료 - 수용성 초미세분말 커큐민 품질기준 설정 완료 (평균입도(< 1 um) 이하, 커큐민 98 mg/g, 수분함량 4% 이하)
② 생물전환기술을 활용한 이취 및 알레르기 저감 기능성 발효 소재 제조공정 및 소재 개발 기술	<ul style="list-style-type: none"> - 이취 및 알레르기 저감화 전처리 기술개발 완료 - 효소 및 발효를 포함하는 생물전환기술 조건 확립 - 생물전환기술을 활용한 기능성 발효 소재의 이화학적 품질특성, 건강기능성 평가 완료 (알레르기 성분 불검출, 75.4%(효소 반응), 66.35 ~ 72.22%(쌍별귀뚜라미 첨가 현미 발효물의 가수분해도) - 생물전환기술을 활용한 쌍별귀뚜라미 고기능성 발효 소재 생산 원천기술 개발(기본 제조공정도 확립)
③ 생물전환기술을 활용한 쌍별귀뚜라미 소재 제조 및 생산 기술	<ul style="list-style-type: none"> - 생물전환기술을 활용한 쌍별귀뚜라미 고기능성 발효 소재 대량 생산 공정 구축 완료 (미생물 균주 접종액 배양시간 기초자료 1건, 대량화 표준공정도 1건 확립) - 대량 생산 공정으로 생산한 고기능성 발효 소재 2종 생산
④ 생물전환기술을 활용한 고령친화용 고기능성 향노화 즉석분말수프 제조 및 생산 기술	<ul style="list-style-type: none"> - 수용성 초미세분말 커큐민과 쌍별귀뚜라미 고기능성 소재를 함유하며 고령친화식품 규격에 적합한 즉석분말수프 레시피 1건 개발 - 고령친화식품 인증용 고기능성 향노화 즉석분말수프 대량생산 표준 제조공정도 1건 확립 (즉석분말식품 HACCP 제조 설명서 및 작업지시서 포함)
⑤ 고령친화식품 인증용 고기능성 향노화 즉석분말수프 대량 생산 공정 구축 및 표준화	<ul style="list-style-type: none"> - 식품의약품안전처 고령친화식품기준(2018. 07. 25) 규격 및 식품공전>22-2(3) 즉석조리식품 규격에 적합한 제품 개발 1건 완료
⑥ 생물전환기술을 활용 고령친화 향노화 수프 개발 및 품질 평가	<ul style="list-style-type: none"> - 기능성분 강화를 위한 복합효소 및 발효조건 확립 - 탄수화물 소재 및 쌍별귀뚜라미 소재 배합 최적화 완료 - 이화학적 품질특성, 건강기능성 평가 완료

* 결과에 대한 의견 첨부 가능

3. 연구목표 대비 성과

성과 목표	사업화지표										연구기반지표									
	지식 재산권			기술 실시 (이전)		사업화					기술 인증	학술성과				교육 지도	인력 양성	정책 활용-홍보		기 타 (타 연 구 활 용 등)
	특 허 출 원	특 허 등 록	품 종 등 록	건 수	기 술 료	제 품 화	매 출 액	수 출 액	고 용 창 출	투 자 유 치		논문		논 문 평 균 IF	학 술 발 표			정 책 활 용	홍 보 전 시	
												SC I	비 SC I							
단위	건	건	건	건	백 만 원	건	백 만 원	백 만 원	명	백 만 원	건	건	건	건	명	건	건			
가중치	20		10	5	5	30	10		20											
최종목표	2	1	1	1	2.59	2	90		3		1	3		7		4				
연구기간내 달성실적	4	2	2	1	2.59	6	0		2		0	1		11		4				
달성율(%)	200	200	200	100	100	300	0		67		0	33		157		100				

4. 핵심기술

구분	핵심기술명
①	나노분쇄 유화공법을 적용한 수용성 초미세분말 커큐민 소재 생산 기술
②	생물전환기술을 활용한 쌍별귀뚜라미 소재 제조 및 생산 기술
③	생물전환기술을 활용한 이취 및 알레르기 저감 기능성 발효 소재 제조공정 및 소재 개발 기술
④	생물전환기술을 활용한 고령친화용 고기능성 향노화 즉석분말수프 제조 및 생산 기술
⑤	고령친화식품 인증용 고기능성 향노화 즉석분말수프 대량 생산 공정 구축 및 표준화
⑥	생물전환기술 활용 고령친화식품 인증용 고기능성 향노화 즉석분말수프 개발 및 품질 평가

5. 연구결과별 기술적 수준

구분	핵심기술 수준					기술의 활용유형(복수표기 가능)				
	세계 최초	국내 최초	외국기술 복 제	외국기술 소화·흡수	외국기술 개선·개량	특허 출원	산업체이전 (상품화)	현장애로 해 결	정책 자료	기타
①의 기술				v		v	v	v		
②의 기술	v					v	v			
③의 기술	v					v	v			
④의 기술	v					v	v			
⑤의 기술	v					v	v			
⑥의 기술	v					v	v			

* 각 해당란에 v 표시

6. 각 연구결과별 구체적 활용계획

핵심기술명	핵심기술별 연구결과활용계획 및 기대효과
①의 기술	<ul style="list-style-type: none"> - 난용성 생리활성 물질인 강황추출물을 공정 개선에 의하여 수용성 초미세분말 커큐민으로 가공하여 커큐민 함량이 높고 가공식품에 적용하기 쉬운 고기능성 소재 생산 - 난용성 생리활성 물질의 식품 응용 분야 확장
②의 기술	<ul style="list-style-type: none"> - 현재 국내 식용곤충 가공기술은 분말, 건조, 환 등으로 1차 가공품 수준이 대부분이며 고가의 원료 자체를 단순 가공하는 형태로서 많은 부가가치를 창출하지 못하고 있음. 그러므로 상기한 원천기술을 통하여 개발한 고기능성 발효 소재를 활용하여 식용곤충 가공기술 향상을 통한 고부가가치 소재 개발 및 국가 경쟁력 확보를 기대할 수 있음. - 결과적으로 기존 곤충가공 연구에서 이루어지지 않은 새로운 분야의 생물전환기법을 활용한 쌍별귀뚜라미 발효와 그 제조 방법에 관한 기술력을 확보 하였음.
③의 기술	생물전환기술에 의하여 상기한 단점을 개선하여 이취를 저감화하고 원물의 기능성 영양성분을 더욱 증가시킨 고기능성(항산화, 장건강 개선, 항당뇨, 항알레르기 등) 발효 소재 제조 원천기술과 난용성 생리활성 커큐민의 흡수율을 개선한 초미세분말 커큐민을 적용하여 이를 기반으로 하여 식품 트렌드를 선도할 수 있는 차별화된 프리미엄 고령친화제품의 사업화 활용 예정
④의 기술	주관연구기관은 현재 철저한 시니어 마케팅 및 노년층의 핵심 니즈 분석을 기반으로 하여 맛, 취식 편의성, 영양(기능성, 항노화)이 보장된 형태의 수프 제품 연구 중. 본 과제를 통하여 쌍별귀뚜라미와 커큐민의 생리활성 이용 효율을 극대화한 소재로 가공하여 이를 항노화 즉석 분말수프에 적용하여 시대 추세에 부응하는 고령 친화 식품을 생산하고자 함.
⑤의 기술	본 과제에 의해 개발한 간편편이식 형태의 고령친화용 즉석분말수프는 생산되지 않고 있음. 그러므로 본 과제를 통하여 생산된 최종 시제품은 현재 식품 트렌드의 요구를 다양하게 만족시킬 수 있는 합당한 제품임.
⑥의 기술	②의 원천 기술을 기본으로 다양한 탄수화물 기질을 적용하여 기능 성분 강화를 위한 복합 효소 및 발효조건을 진행하여 소재의 기능성을 극대화하여 고부가가치 소재로서의 가치를 극대화 할 수 있을 것으로 기대됨.

7. 연구종료 후 성과창출 계획

성과목표	사업화지표										연구기반지표								
	지식 재산권			기술실시 (이전)		사업화					기술인증	학술성과			교육지도	인력양성	정책 활용-홍보		기타 (타연구활용등)
	특허출원	특허등록	품종등록	건수	기술료	제품화	매출액	수출액	고용창출	투자유치		논문		학술발표			정책활용	홍보전시	
												SCI	비SCI						
단위	건	건	건	건	백만원	건	백만원	백만원	명	백만원	건	건	건	건	명				
가중치	20		10	5	5	30	10		20										
최종목표	2	1	1	2	7.59	2	90		3		1	3		7	4				
연구기간내 달성실적	4	2	2	1	2.59	6	0		2		0	1		11	4				
연구종료후 성과창출 계획		1		1	5		90		1		4								

8. 연구결과의 기술이전조건(산업체이전 및 상품화연구결과에 한함)

핵심기술명 ¹⁾			
이전형태	<input type="checkbox"/> 무상 <input type="checkbox"/> 유상	기술료 예정액	천원
이전방식 ²⁾	<input type="checkbox"/> 소유권이전 <input type="checkbox"/> 전용실시권 <input type="checkbox"/> 통상실시권 <input type="checkbox"/> 협의결정 <input type="checkbox"/> 기타()		
이전소요기간		실용화예상시기 ³⁾	
기술이전시 선행조건 ⁴⁾			

- 1) 핵심기술이 2개 이상일 경우에는 각 핵심기술별로 위의 표를 별도로 작성
- 2) 전용실시 : 특허권자가 그 발명에 대해 기간·장소 및 내용을 제한하여 다른 1인에게 독점적으로 허락한 권리
통상실시 : 특허권자가 그 발명에 대해 기간·장소 및 내용을 제한하여 제3자에게 중복적으로 허락한 권리
- 3) 실용화예상시기 : 상품화인 경우 상품의 최초 출시 시기, 공정개선인 경우 공정개선 완료시기 등
- 4) 기술 이전 시 선행요건 : 기술실시계약을 체결하기 위한 제반 사전협의사항(기술지도, 설비 및 장비 등 기술이전 전에 실시기업에서 갖추어야 할 조건을 기재)

주 의

1. 이 보고서는 농림축산식품부에서 시행한 맞춤형혁신식품 및 천연안심소재 기술개발사업의 연구보고서입니다.
2. 이 보고서 내용을 발표하는 때에는 반드시 농림축산식품부에서 시행한 맞춤형혁신식품 및 천연안심소재 기술개발사업의 연구 결과임을 밝혀야 합니다.
3. 국가과학기술 기밀유지에 필요한 내용은 대외적으로 발표 또는 공개하여서는 안 됩니다.