

321095-2

보안 과제(), 일반 과제(O) / 공개(O), 비공개() 발간등록번호(O)
유용농생명자원 산업화기술개발사업 2022년도 최종보고서

발간등록번호

11-1543000-004385-01

**곤충 유래 단백질 가수분해물 추출기술
개발 및 곤충 키토산이 함유된
저 알러지 및 혈중 콜레스테롤 개선
기능성 반려동물용 사료 개발**

2023.6.12.

주관연구기관 / 농업회사법인 푸디웜(주)
협동연구기관 / 대구한의대학교 산학협력단

농 립 축 산 식 품 부

농림식품기술기획평가원

곤충 유래 단백질 가수분해물 추출기술 개발 및
곤충 키토산이 함유된 저 알러지 및 혈중 콜레스테롤
개선 기능성 반려동물용 사료 개발 최종보고서

2022

농림식품기술기획평가원
농림축산식품부

제 출 문

농림축산식품부 장관 귀하

본 보고서를 “곤충 유래 단백질 가수분해물 추출기술 개발 및 곤충 키토산이 함유된 저 알러지 및 혈중 콜레스테롤 개선 기능성 반려동물용 사료 개발” (개발기간 : 2021. 04. 01 ~ 2022. 12. 31)과제의 최종보고서로 제출합니다.

2023. 05. 19.

주관연구기관명 : 농업회사법인 푸디엠(주) (대표자) 김 태 훈 (인)
협동연구기관명 : 대구한의대학교 산학협력단 (대표자) 황 세 진 (인)



주관연구책임자 : 김 태 훈

협동연구책임자 : 이 세 중

국가연구개발사업의 관리 등에 관한 규정 제18조에 따라 보고서 열람에 동의합니다.

<첨부1>

평가의견에 대한 조치 및 개인정보 삭제 확인서

□ 평가의견에 대한 조치

평가의견	조치내용	비고
<p>○ 최종 개발물의 산업화를 극대화하기 위한 홍보 방법의 다양화(전시등을 제외한)에 대해 다양한 측면에서의 시도가 진행되었으면 함. 개발팀의 가수분해산물과 국내/외 제품과의 성분 비교 분석을 진행하여 제품의 차별성을 부각시킨다면 결과물의 효과적으로 산업분야 적용할 수 있을 것으로 보임.</p>	<p>○ 그 밖의 성과 내 홍보 방법의 다양화 전략 및 성과 제시 (최종보고서 83 쪽에 제시함) ○ 곤충 단백질을 평균 500 Da 이하의 크기로 가수분해하여 식이 알레르기 개선 효과를 보인 임상결과와 필수 아미노산 함량 증가, 키틴 분리로 소화율을 높인 동애등에 가수분해 단백질 소재의 특성과 분리한 키틴을 가공한 키토산 소재의 효능결과를 적극적으로 활용하여 제품의 차별성을 부각한 마케팅 활동으로 사료소재 산업분야에 그 적용범위를 넓혀나갈 계획임. (최종보고서 91 쪽에 제시함)</p>	
<p>○ 본 연구에서 목표로 제시한 '일반적인 식이 알레르기 항원들의 분자량 분포'가 계획서(20-80kDa)와 보고서(100kDa, 10kDa)에서 상이함. 제품 개발에 있어, 중요한 목표 수치인 만큼, 정확하게 제시할 필요가 있을 것으로 보임.</p>	<p>○ 일반적인 식이 알레르기 항원의 대부분은 수용성 당단백으로 약 10 kDa에서 60 kDa 사이의 분자량 분포를 가짐. 따라서 곤충 단백질 가수분해물의 아미노산 조성 및 분자량 크기를 분석하여 10kDa 이하의 단백질 가수분해물이 생성되었는지 분석하였음. (최종보고서 19 쪽에 제시함)</p>	
<p>○ 보고서에 저 알레르기 소재 개발을 위한 분자량 수치에 대해 오기가 아닌지 확인이 필요함. SCI 논문 성과로 제시한 실적이 본 과제와 어떤 상관성이 있는지에 대한 보완 설명이 필요함.</p>	<p>○ 일반적인 식이 알레르기 항원의 대부분은 수용성 당단백으로 약 10 kDa에서 60 kDa 사이의 분자량 분포를 가짐. 따라서 곤충 단백질 가수분해물의 아미노산 조성 및 분자량 크기를 분석하여 10kDa 이하의 단백질 가수분해물이 생성되었는지 분석하였음.(최종보고서 19 쪽에 제시함) ○ 저 알레르기 사료 소재로써 동애등에 키토산과 가수분해 단백질에 대한 연구는 키토산에 함유된 다양한 플라보노이드의 항염증 및 항산화 기작에 대한 기초 연구가 필요하였음. 이는 플라보노이드의 항염증 특성을 조사한 Kaempferol에 대한 연구가 키토산의 항염증 기전을 이해하는 데 기여한 연구 중 하나일 수 있음을 시사함. 연구진은 플라보노이드에 대한</p>	

	<p>기초 연구 결과를 바탕으로 키토산과 가수분해 단백질 소재의 잠재적인 항염증 및 항산화 효과를 추정하고, 위장관 상피세포 독성 및 염증 조절 능력을 실험하는 연구를 수행할 수 있었음. 따라서 Kaempferol에 대한 연구는 사료 소재로서의 키토산 사용과 관련된 플라보노이드의 항염증 기작에 대한 통찰력을 제공함으로써 동애동에 키토산 및 가수분해 단백질 연구 수행에 다양한 실험기반을 제공함. (최종보고서 68 쪽에 제시함)</p> <p>○ 동애동에 키토산의 지방분화 및 혈중 콜레스테롤 억제, 그리고 지방 축적을 억제하는 기능성 항산화 효능을 입증하기 위한 연구를 진행하면서, 활성산소 억제를 통한 세포분화 조절 메커니즘에 대한 기초연구가 필요하였음. 특히 세포의 자가포식(Autophagy)을 조절하는 메커니즘은 동애동에 키토산의 지방분화 조절, 콜레스테롤 개선 및 비만을 조절하는 잠재적인 효과를 이해하는데 중요한 세포대사 기전임. 따라서 새우, 게 등 조개류에 풍부하게 함유된 Astaxanthin에 대한 세포분화조절 연구는 지방분화 조절에서 키토산 사용과 관련된 자가포식(Autophagy)기작에 대한 통찰력을 제공함으로써 동애동에 키토산 지방분화 조절 연구 수행에 다양한 실험기반 및 기본 분자 메커니즘을 제공함. (최종보고서 68 쪽에 제시함)</p>	
<p>○ 1. 공동연구개발기관 대구한의대와 중부대에서 실시한 동물병원 반려견 대상 콜레스테롤 및 저 알리지 감소 실험에 대한 동물윤리위원회(IACUC)가 계획서에 포함되어 있지 않기 때문에, 조속히 IACUC를 첨가하여 동물실험 자료에 대한 인증이 필요함.</p>	<p>○ 개발한 사료를 IACUC (Institutional Animal Care and Use Committee, 동물실험윤리위원회/실험동물운영위원회) 심의를 받아 동물실험을 통해 임상 결과에 대한 인증을 보완할 예정임. (최종보고서 91 쪽에 제시함)</p>	
<p>○ 2. 정량 목표인 특허 등록 1건을 조속히 달성하기 바람.</p>	<p>○ 2022년 출원 2건을 완료, 2023년 1건 출원 진행중, 2024년 1건 출원 예정이므로 출원 및 출원 예정인 특허들에 대한 보완실험을 조속히 완료하여 특허 등록을 달성할 계획임. (최종보고서 91 쪽에 제시함)</p>	

□ 개인정보 삭제 확인

본인은 연구과제 최종보고서의 개인정보(주민등록번호 등)를 삭제하여 제출함을 확인합니다.

2023. 05. 10.

주관연구책임자 : 김 태 훈



최종보고서				보안등급							
				일반(기, 보안)							
중앙행정기관명	농림축산식품부		사업명	사업명							
전문기관명	농림식품기술기획평가원		내역사업명	유용농생명자원산업화 기술개발사업							
광고번호	제 농축 2021-24호		총괄연구개발 식별번호	-							
			연구개발과제번호	321095-2							
기술분류	국가과학기술 표준분류	LA0805, 생물공정	50%	LA1001, 바이오공정기술	30%	LA0908, 기능성 식품소재	20%				
	농림식품과학기술분류	FA0308, 곤충자원 개발 및 이용	50%	CA0105, 기능성 소재	30%	c500004, 한방곤충	20%				
총괄연구개발명	국문	곤충 유래 단백질 가수분해를 추출기술 개발 및 곤충 키토산이 함유된 저 알러지 및 혈중 콜레스테롤 개선 기능성 반려동물용 사료 개발									
	영문	Development of insect-derived protein hydrolysate material and functional pet feed product for improving cholesterol and hypo-allergenic containing insect-derived protein hydrolysate and insect chitosan									
연구개발과제명	국문	곤충 유래 단백질 가수분해를 추출기술 개발 및 곤충 키토산이 함유된 저 알러지 및 혈중 콜레스테롤 개선 기능성 반려동물용 사료 개발									
	영문	Development of insect-derived protein hydrolysate material and functional pet feed product for improving cholesterol and hypo-allergenic containing insect-derived protein hydrolysate and insect chitosan									
주관연구개발기관	기관명	농업회사법인 푸디원(주)		사업자등록번호	633-86-00580						
	주소	(우28118) 충북 청주시 흥덕구 오창읍 양정송대길 10, 청주미래누리터 4층		법인등록번호	154311-0040599						
연구책임자	성명	김태훈		직위	대표이사						
	연락처	직장전화	-		휴대전화	-					
		전자우편	-		국가연구자번호	-					
연구개발기간	전체	2021. 04. 01 - 2022. 12. 31 (1년 9개월)									
	단계	1단계	2021. 04. 01 - 2021. 12. 31 (9개월)								
			2022. 01. 01 - 2022. 12. 31 (12개월)								
연구개발비 (단위: 천원)	정부지원 연구개발비	기관부담 연구개발비		그 외 기관 등의 지원금				연구개발비 외 지원금			
		현금	현물	현금	현물	현금	현물		합계		
	총계	350,000	3,000	49,600	-	-	-	353,000	49,600	402,600	-
1단계	1년차	150,000	-	22,500	-	-	-	150,000	22,500	172,500	-
	2년차	200,000	3,000	27,000	-	-	-	203,000	27,000	230,000	-
공동연구개발기관 등	기관명	책임자	직위	휴대전화	전자우편	비고					
	역할	기관유형									
공동연구개발기관	대구한예대 산학협력단	이세중	-	-	-	공동	대학				
위탁연구개발기관	충무대학교 산학협력단	정태호	-	-	-	위탁	대학				
연구개발담당자 실무담당자	성명	이소형		직위	대리						
	연락처	직장전화	-		휴대전화	-					
		전자우편	-		국가연구자번호	-					

이 최종보고서에 기재된 내용이 사실임을 확인하며, 만약 사실이 아닌 경우 관련 법령 및 규정에 따라 제재처분 등의 불이익도 감수하겠습니다.

2023년 5월 10일

연구책임자: 김 태 훈

주관연구개발기관의 장: 김 태 훈
 공동연구개발기관의 장: 황 세 진
 위탁연구개발기관의 장: 이 주 현



농림축산식품부장관·농림식품기술기획평가원장 귀하

< 요약 문 >

사업명		유용농생명자원산업화기술개발사업		총괄연구개발 식별번호		-	
내역사업명		유용농생명자원산업화기술개발		연구개발과제번호		321095-2	
기술분류	국가과학기술표준분류	LA0805. 생물공정	50%	LA1001. 바이오공정기술	30%	LA0906. 기능성 식품소재	20%
	농림식품과학기술분류	RA0306. 곤충자원 개발 및 이용	50%	CA0105. 기능성 소재	30%	c503004. 환경곤충	20%
총괄연구개발명		곤충 유래 단백질 가수분해물 추출기술 개발 및 곤충 키토산이 함유된 저 알러지 및 혈중 콜레스테롤 개선 기능성 반려동물용 사료 개발					
연구개발과제명		곤충 유래 단백질 가수분해물 추출기술 개발 및 곤충 키토산이 함유된 저 알러지 및 혈중 콜레스테롤 개선 기능성 반려동물용 사료 개발					
전체 연구개발기간		2021. 04. 01 ~ 2022. 12. 31(1년 9개월)					
총 연구개발비		총 402,500천원 (정부지원연구개발비: 350,000천원, 기관부담연구개발비: 52,500천원, 지방자치단체: 0천원, 그 외 지원금: 0천원)					
연구개발단계		기초[] 응용[] 개발[<input checked="" type="checkbox"/>] 기타(위 3가지에 해당되지 않는 경우)[]		기술성숙도		착수시점 기준(4) 종료시점 목표(9)	
연구개발과제 유형		-					
연구개발과제 특성		-					

연구개발 목표 및 내용	최종 목표		곤충(동애등에, <i>Hermetia illucens</i>) 유래 단백질 가수분해물 추출기술을 개발하여 소재 및 키토산을 활용한 저 알러지 및 혈중 콜레스테롤 개선 기능성 사료 개발				
	전체 내용		<p>○ 곤충 단백질 가수분해물 생산기술 개발</p> <ul style="list-style-type: none"> - 기존에 확립한 곤충(동애등에) 유래 키토산 생산 공정에서 분리되는 단백질의 활용 기술을 개발 - 생물학적방법인 효소를 이용한 곤충 단백질 가수분해 조건을 확립하고, 단백질 가수분해물의 수율, 가수분해도, 단백질 함량 등을 분석하여 최적 조건의 대량 생산 기술 확보 및 시설 구축 <p>○ 곤충 단백질 가수분해물 및 키토산 기능성 규명</p> <ul style="list-style-type: none"> - 가수분해물의 소화율, 면역활성, 식이 알러지 반응을 평가하고, 키토산의 혈중 콜레스테롤 개선 효능을 평가하여 기능성 사료 개발을 위한 연구 데이터 확보 <p>○ 곤충 단백질 가수분해물 제품 개발 및 상용화</p> <ul style="list-style-type: none"> - 곤충 단백질 가수분해물을 분말화 한 원료 제품 개발 1건 - 단백질 가수분해물 및 키토산을 활용한 기능성 사료 레시피 개발 및 출시 1건 				
	1단계	목표	<p>○ 생산기술 개발: 동애등에 유충 유래 단백질 가수분해물 및 키토산 분리 기술 개발 및 대량 생산시설 구축</p> <p>○ 유효성·안전성 입증: 마우스 모델 동물 실험을 통한 동애등에 소재(단백질 가수분해물, 키토산) 효능 평가 및 반려견 대상 동물 실험을 통한 사료 시제품의 유효성·안전성 입증</p> <p>○ 사료 제품 상용화: 동애등에 단백질 가수분해물 원료 제품 및 반려동물용 동애등에 가수분해 단백질, 키토산 함유 사료 제품 출시</p>				
	내용	<p>○ 생산기술 개발</p> <ul style="list-style-type: none"> - 곤충 단백질을 가수분해하기 위한 각 단백질 분해효소별 가수분해 반응 조건 확립 					

		<ul style="list-style-type: none"> - 각 효소별 추출된 가수분해 단백질의 아미노산 성분 분석 및 분자량 측정. 100 kDa 이하의 분자량 목표 - 최적 조건의 효소를 활용한 곤충 단백질 가수분해물의 대량 생산 시설 구축하여 월 1톤 생산을 목표 <p>○ 동애등에 단백질 가수분해물 및 키토산 유효성·안전성 입증</p> <ul style="list-style-type: none"> - 기존 육류 단백질과 동애등에 가수분해 단백질의 소화율, 면역증강, 식이 알러지 반응 효능을 비교 평가하고, Positive control로서 밀웬 단백질 가수분해물의 면역증강 또는 알러지 저감 효능 평가 비교 - 기존 키토산과 동애등에 키토산의 혈중 콜레스테롤 개선 효능을 비교 평가하여 콜레스테롤과 관련된 다양한 동물질환 합병증의 예방 가능성 입증 <p>○ 동애등에 단백질 가수분해물 및 키토산을 첨가한 사료의 유효성·안전성 입증</p> <ul style="list-style-type: none"> - 실제 가정에서 사육 중인 반려동물을 대상으로 시제품 사료의 소화성 실험, 식이 알러지 저감, 혈행 개선 효능 임상 평가 <p>○ 사료 제품 상용화</p> <ul style="list-style-type: none"> - 곤충 단백질 가수분해물의 원료 제품개발 및 대량생산을 통한 제품 양산화 - 동애등에 단백질을 주원료로 저 알러지 및 혈중 콜레스테롤 개선 효과가 있는 곤충 키토산 함유 반려동물용 사료 개발
--	--	--

연구개발성과	<p>○ 핵심성과 특허 등록 1건, 논문(SCI) 2편, 고용창출 2명, 제품개발 2건, 매출액 3억 원 이상</p> <p>○ 전략성과</p> <ul style="list-style-type: none"> - 첫째, 동애등에 유래 단백질 가수분해물 및 키토산 제조기술 개발을 통한 소재 대량 생산화 - 둘째, 동애등에 단백질 가수분해물 및 키토산 소재와 이를 활용한 사료 제품의 유효성·안전성 평가 - 셋째, 단백질 가수분해물 소재 및 곤충 키토산을 활용한 기능성 사료 개발 및 출시
연구개발성과 활용계획 및 기대 효과	<ul style="list-style-type: none"> - 본 연구개발을 통해 사료 곤충인 동애등에(Hermeia illucens) 유래 단백질 가수분해물 추출 공정을 개발하고 대량 생산화하여 곤충 자원의 활용에 있어 대한민국 원천기술의 기반을 마련하고, 단백질 가수분해물 소재의 상용화를 통해 국내 사료시장 확대 및 사료 생산 비용 절감 뿐만 아니라, 수출을 통해 전 세계 사료시장으로의 진출로 국가 경제에 기여할 것임. - 고품질 동애등에 단백질 가수분해물 사료 개발을 통해 프리미엄 펫푸드 사업 진출에 발판을 마련하고, 곤충 소재(단백질 가수분해물, 키토산)를 활용한 저 알러지 및 혈중 콜레스테롤 개선 기능성 사료 출시가 국내 최초인 만큼, 마케팅 및 홍보를 충실히 이행하여 자사의 매출 상승에 큰 역할이 기대됨. - 개발된 소재 및 사료는 제품구매 의향서를 체결한 사료회사 및 MOU 체결 기업과 협력하여 관련 시장 유통채널의 활용 및 확장을 통해 성공적인 사료 시장의 진입으로 국내 사료 시장 발전에 기여하는 경제적 가치 창출 및 일자리 창출을 기대함.
연구개발성과의 비공개여부 및 사유	-

연구개발성과의 등록·기탁 건수	논문	특허	보고서 원문	연구 시설 ·장비	기술 요약 정보	소프트 웨어	표준	생명자원		화합물	신품종	
								생명 정보	생물 자원		정보	실물
	3	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
연구시설·장비 종합정보시스템 등록 현황	구입 기관	연구시설 ·장비명	규격 (모델명)	수량	구입 연월일	구입가격 (천원)	구입처 (전화)	비고 (설치장소)	ZEUS 등록번호			
국문핵심어 (5개 이내)	곤충 키토산		곤충 단백질		제품개발		식품		사료			
영문핵심어 (5개 이내)	Insect chitosan		Insect protein		Product development		Food product		Feed product			

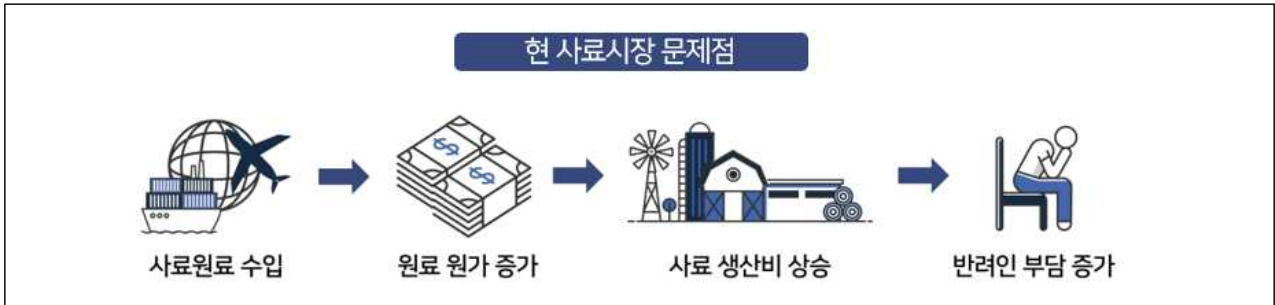
< 목 차 >

1. 연구개발과제의 개요
2. 연구개발과제의 수행 과정 및 수행내용
3. 연구개발과제의 수행 결과 및 목표 달성 정도
4. 목표 미달 시 원인분석
5. 연구개발성과 및 관련 분야에 대한 기여 정도
6. 연구개발성과의 관리 및 활용 계획

별첨 자료

1. 연구개발과제의 개요

가. 사료원료 원가 절감의 필요성



[그림 1] 현 사료시장 문제점

(단위 : 톤, 천 달러)

연도	동물성단백질					
	어분		육골분		소계	
	수입량	금액	수입량	금액	수입량	금액
'16	49,330	86,865	267	441	49,597	87,306
'17	50,024	84,664	291	487	50,315	85,151
'18	50,196	87,898	259	565	50,455	88,463
'19	52,054	84,418	405	785	52,459	85,203

자료: 동물성단백질 수입금액 - 사료편람(2020)

[표 1] 동물성 단백질 수입 현황

(단위 : 톤, 천 달러)

연도	수출액					수입액				
	2016	2017	2018	2019	2020	2016	2017	2018	2019	2020
반려견 사료	3,859	4,450	5,745	11,655	20,544	125,293	145,785	162,541	161,297	177,135
반려묘 사료	9,658	8,253	8,755	25,129	46,946	46,036	63,999	76,385	80,726	93,597
합계	13,517	12,703	14,500	36,784	67,490	171,329	209,874	238,956	242,023	270,732

자료: 관세청(2021.01.19), 수출입무역통계

[표 2] 펫푸드 유형별 수출입 현황

- 동물성단백질 수입액은 2019년 기준 85,203천 달러(한화 약 938억 원)이며, 펫푸드 사료의 경우 2016년 171,329천 달러(한화 약 2억 원)에서 2020년 270,732천 달러(한화 약 3억 원)로 매년 수입이 증가하는 추세임.
- 이처럼 수입제품이 대부분의 사료 시장을 차지하고 있으며, 수입원료 단가 및 수입량이 매년 증가함에 따라 발생하는 수입액이 경제적으로 많은 비용을 차지하고 있어, 사료의 가격 인상을 가져와 사료 생산비를 상승시키는 원인임.
- 따라서 자급률을 높일 수 있는 기술을 개발하고, 자체적으로 원료 수급하여 사료 원료에 대해 경제적으로 발생하는 비용 절감이 필요하다고 판단됨.

나. 수입 대체 단백질 원료로서 곤충 소재 탐색

(1) 곤충 사육의 경제적 이점



[그림 2] 곤충 사육시 경제적 이점

- 곤충은 친환경 소재로서 경제성을 가지고 있어 다양한 산업 분야에서 연구되고 있으며, 면역력 개선과 항산화 효과 등의 효능을 가지고 있어 사료 뿐 만 아니라 의료분야와 화장품 분야에서도 소재로서 각광받고 있음.

(2) 동애등에(Black soldier fly, *Hermetia illucens*) 유충의 사료 소재로써 활용 가치



[그림 3] 동애등에 유용 소재

- 곤충 활용 사료 소재의 경우 꾸준히 증가하고 있는 반려동물 사료의 단백질 소재로 활용되며, 대표적으로 동애등에 유충이 활용되고 있음. 동애등에는 항염, 항생물질을 다량 함유하고, 칼슘과 인의 조화로 뼈 건강, 장운동 활성화 같은 기능성 소재로 활용할 수 있어 친환경적인 미래 농업자원으로 주목받고 있음.
- 또한 동애등에(Black soldier fly, *Hermetia illucens*)는 사료로써 사용할 수 있는 곤충인 타 곤충(갈색거저리 약 3개월, 귀뚜라미 약 3개월, 흰점박이꽃무지 약 6개월 등)에 비해 Life cycle이 1개월로 매우 빠르며, 산란에 의한 증식 비율이 500배로 대량생산에 적합하여 공급 및 생산에 차질없이 산업적으로 활용될 수 있음.
- 동애등에의 지방산 중 대부분을 차지하는 불포화 지방산인 Lauric acid가 약 45% 함유되어 있으며, 이는 동맥경화증에 대한 위험 감소와 연관성 있음. 또한 동애등에 단백질은 면역에 효과가 있어 반려동물의 사료로써 활용가치가 있을 것으로 판단됨.

다. 동애등에 산업 현황




(1) 국내 곤충산업 현황

- 국내에서는 구제역, 조류독감과 같은 다양한 질병요인으로 인하여 이미 축산생산량의 한계에 도달해 있다고 볼 수 있으며, 2013년 UN 식량농업기구(FAO)에서 곤충이 미래의 동물성 단백질원으로 가능성을 보고하였고, 이로 인하여 곤충 산업에 대한 국제적 관심이 집중되고 있음.
- 국내의 곤충 시장은 지역행사, 애완용 곤충, 화분 매개 순으로 그 규모를 이루고 있는 것으로 알려져 있고, 천적 곤충 시장의 정부의 지원 사업 중단으로 침체기를 맞고 있는 상황에서 곤충의 유용물질을 활용한 식용, 의약품, 특히 사료용으로서의 확대 중요성이 대두되고 있음.
- 이처럼 국내 곤충산업이 점차 확대됨에 따라 곤충을 활용하기 위한 다양한 연구가 필요함.

구분		2016	2017	2018	2019	증감률
곤충업 사업체	생산	1,261	2,008	2,180	2,368	8.6
	가공	44	422	499	525	5.2
	유통	818	1,088	1,209	1,338	10.7
	소계	1,597	2,088	2,318	2,535	9.4
1차산물 판매액	장수풍뎅이	6,057	2,338	2,643	2,627	△0.6
	사슴벌레	1,293	1,109	1,316	1,270	△3.5
	흰점박이꽃무지	8,842	16,646	15,338	18,904	△23.2
	갈색거저리	1,270	2,402	2,687	2,813	△4.7
	동애등에 (기타포함)		848	2,193	5,988	△173.1
	귀뚜라미	1,671	5,649	4,586	4,274	△6.8
	기타	3,382	5,510	8,743	4,654	△46.8
	소계	22,514	34,502	37,506	40,530	△8.1
곤충업 종사자수		1,821	3,194	3,341	3,609	8.0

자료: 농림축산식품부

[표 3] 국내 곤충산업 현황

업체명	주요 특징
 C.I.E.F Creative Insect Environment Food	국립수산과학원과 동애등에를 원료로 일반 배합사료보다 영양가가 높고, 기능이 우수한 양식 납치(광어)용 친환경 곤충 배합사료를 개발
 entomo	동애등에 유충을 생육하고 가공 과정을 거쳐 곤충 분말을 활용한 프리미엄 애견 사료 및 곤충 오일을 활용하여 기능성 비누 생산에 활용
 foody worm Premium & Natural	시대흐름에 맞춰 지속적인 혁신기술을 개발하고 적용하여, 국내는 물론 세계에서도 주목 받고 있는 기업으로 특히, ICT가 적용된 스마트팜은 기존 경쟁업체들에 비해 더욱 뛰어난 생산성과 표준화에 그 우수성을 인정받음 동애등에 유충의 오일, 단백질, 키틴, 키토산 소재로 활용하기 위한 기술 개발 및 특허 보유로 생산에서 제조까지 모든 공정에서 타 업체에 비해 우위에 있음

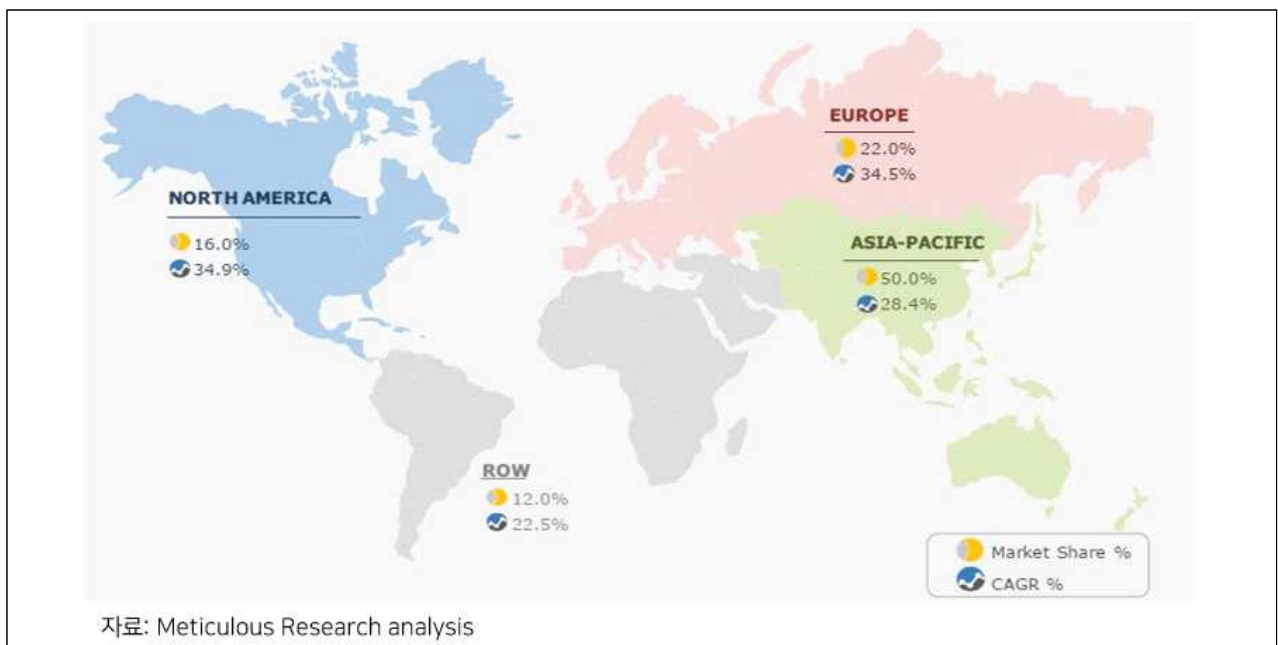
[표 4] 국내 동애등에 산업체 현황

(2) 국내 동애등에 산업체 현황

- 당사는 곤충을 활용한 소재 효능에 대해 지속적인 연구를 해 왔으며, 곤충단백질의 소화 흡수, 영양소 증가율 등에 대한 SCI 논문(Annals of animal science, 2019)에 등재한 이력이 있음. 뿐만 아니라, 곤충을 활용한 키토산 추출 기술을 보유하고 있어 다양한 분야에서 기술 활용이 가능할 것으로 판단됨.

(3) 해외 곤충산업 현황 및 전망

- 동애등에는 유기성 폐자원인 음식물 쓰레기 관리 해결에 큰 도움을 주고 있음(연간 13억 톤: FAO-유엔농업식량기구, 미국). 이를 토대로 2018년 북미와 유럽 정부가 사료, 농업 및 반려동물 사료 응용 분야에 동애등에 사용을 승인하면서 동애등에 산업의 성장이 가속화되었음.
- 전 세계 육류 수요 증가, 양식업 성장, 대두박 가격 상승으로 인한 대체 단백질원에 대한 동물 사료 산업의 수요 증가, 곤충 분말의 가축 사료에 사용에 대한 정부 지원 증가, 동애등에 업계의 지속적인 투자 증가로 인하여 동애등에 시장은 지속적으로 성장할 것으로 예상됨.
- 지리적 측면에서 유럽(22.0%), 북미(16.0%), 기타 국가(12.0%)의 점유율을 보이며, 아시아 지역은 2019년 전 세계 동애등에 시장의 50.0%로 가장 큰 점유율로 아시아 시장은 2019년 5,430 만 달러로 추정되며, 연평균 성장률은 28.4%로 2025년에는 2억 4,330만 달러에 이를 것으로 예상됨.



[그림 4] 세계 동애등에 시장 점유율 및 연평균 성장률(CAGR)

(4) 해외 동애등에 산업체 현황

구분	주요 경쟁 업체						
경쟁사명	에그리프로틴- AgnProtein (남아프리카)	바이오프라이텍- Bioflytech (스페인)	엔테라 피드- Enterra Feed (캐나다)	엔토벨- Entobel (베트남)	프로텍스-Protix (네덜란드)	이노바피드- InnovaFeed (프랑스)	인바이로플라이트- EnviroFlight (미국)
사진							
미션/사업전략	동애등에 유충을 활용한 유기성 폐기물 자원 처리 및 동물 사료용 프리미엄 단백질 기술 개발	곤충을 활용하여 미래의 식량 안보를 보장	동물 및 애완동물 사료에 대한 수요 증가에 따라 환경영향을 최소화 하는 곤충으로 양질의 양소를 제공	동애등에를 활용하여 낮은 가치의 바이오 매스를 고급화 하여 글로벌 먹이사슬에서 누락된 곤충의 연결고리를 이어감	지속 가능한 곤충 단백질, 곤충이해 결핵, 동물복지	세계 인구의 식량 안보를 보장하고, 우수한 영양과 미각을 보장하는 먹거리 개발	세계 최고 품질의 동애등에를 생산하기 위한 노력
제품(Products)	MagMeal™, MagOil™, MagSoil™	Protein flours, Functional fats, Enriched com post	EnterraGrubs™, EnterraProtein™, EnterraOil™	H-Meal, H-Oil, H-Ferti	PROTEINX, LIPID X, PUREEX, FLYTILZEX, OEREL, FRIENDLY FISH, FAIR INSECTS,	ProtNova™, SaniNova™, Frassi Nova™	Enviro bug, Enviro Oil, Enviro Meal, Enviro Frass
투자(백만원)	145,468	22,405	11,875	4,275	63,016	77,299	Darling Ingredients Inc. (삼영회사의 브랜드)
매출(백만원)	5,937	1,875	4,394	3,563	14,250	3,681	17,812

[표 5] 해외 동애등에 산업체 현황

(5) 동애등에 사료 제품 및 적용 유형

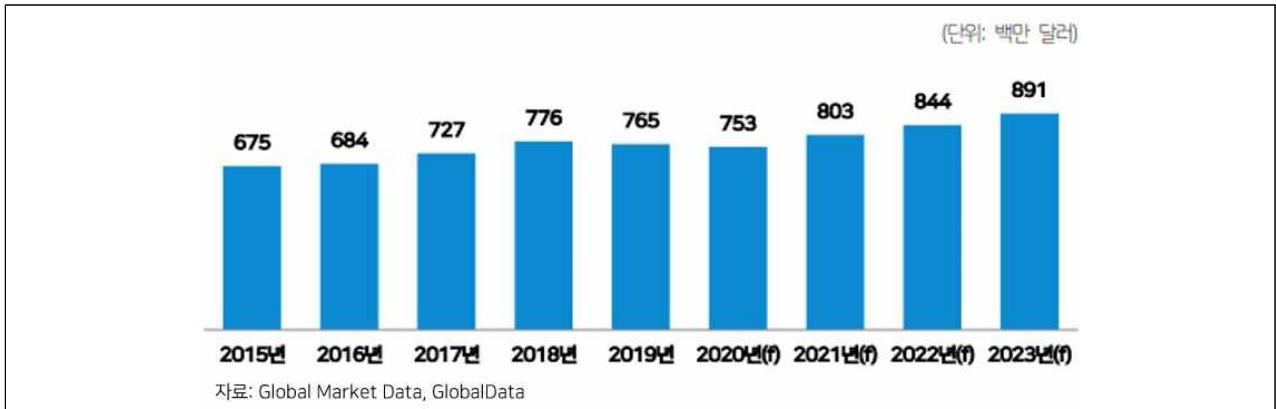
- 전 세계 동애등에 시장은 주로 제품 유형(단백질 분말, 전체 건조 유충, 오일, 키틴/키토산 및 기타 동애등에 제품)과 적용 유형(동물사료, 농업, 애완동물 사료 등)에 따라 분류됨.
- 곤충 단백질 제품은 동물 사료 산업의 단백질 수요 증가에 기인하여 2019년 전 세계 동애등에 시장의 47%를 차지하며, 연평균 성장률 35.8%로 2025년 까지 3억 2천만 달러의 성장세를 보일 것으로 예상됨.



[그림 5] 동애등에 사료 시장 제품 유형

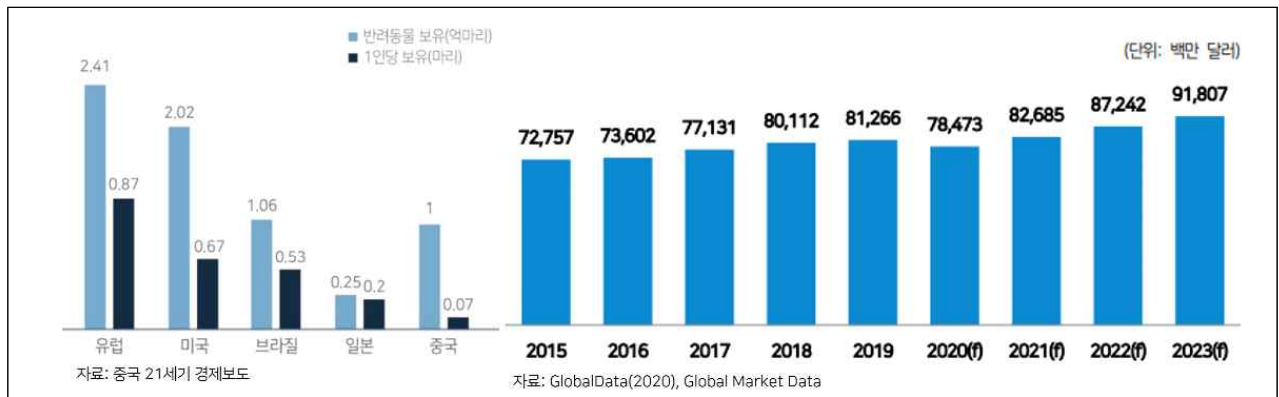
라. 곤충 단백질 가수분해물 개발의 필요성

(1) 국내의 펫푸드 시장 규모의 증가



[그림 6] 국내 펫푸드 시장 현황

- 현재 저출산, 고령화 및 1인 가구의 증가 등 가족 규모가 점차 축소되면서 반려동물에 대한 수요가 증가하고 있으며, 2015년 675백만 달러의 반려동물 시장은 2019년 765백만 달러로 확대됨.
- 농림축산식품부에 따르면 2015년 국내 반려동물 보유 가구수는 457만 가구로 전체 가구의 24.0%를 차지함. 또한 1인 가구 수 증가(16년 538만 가구 20년 606만 가구)에 따른 반려동물 수요 증가로 반려동물 사업은 지속 성장할 것으로 예측됨.

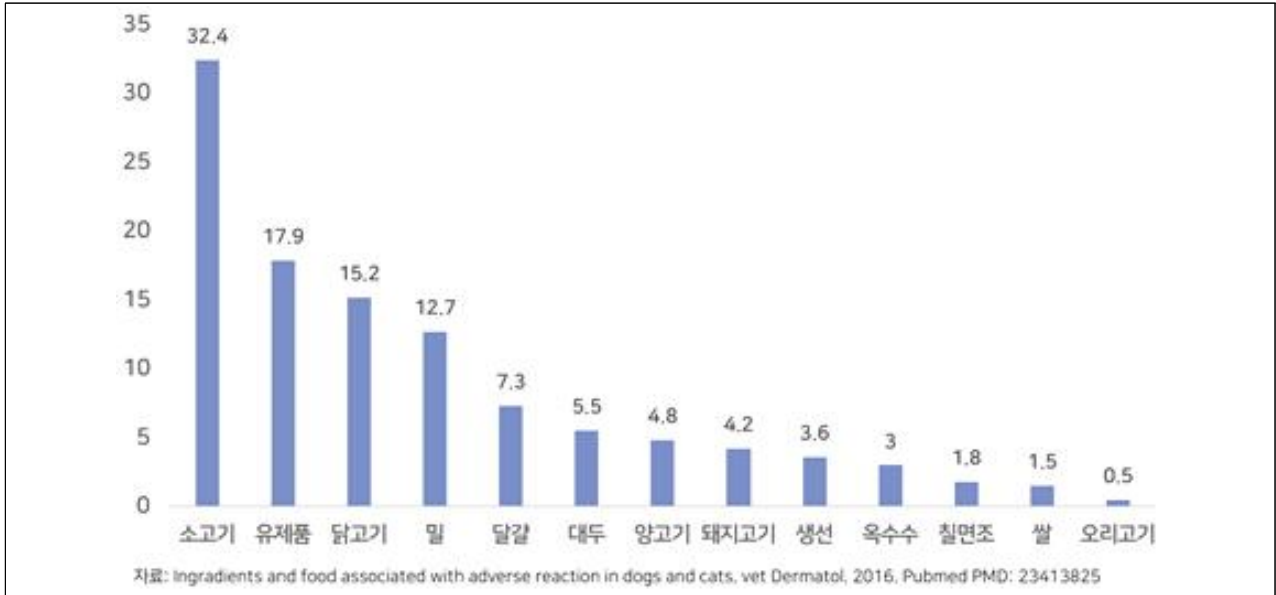


[그림 7] 세계 펫푸드 시장 현황

- 세계적으로 반려동물의 보유 추세가 나날이 증가하고 있으며, 반려동물 시장 또한 증가하고 있음. 특히 북미와 유럽은 세계 반려동물 사료 시장에서 가장 큰 비율을 차지함.
- 세계 펫푸드 시장은 2019년 812억 6,597만 달러로, 이는 2015년 727억 5,703만 달러 대비 11.7% 성장함. 또한 2023년에는 918억 722만 달러로 2020년 대비 17.0% 증가하며 성장세가 계속될 전망이다.

(2) 저 알러지 대체 단백질원의 필요성

- 반려동물의 식이 알러지는 나이나 성별에 관계없이 발생하며, 음식 섭취를 통해 체내로 알러지 유발 원인 물질인 알러지 항원인 알러젠(Allergen)을 없애려는 과정에서 가려움증, 설사나 구토, 소화불량, 눈물, 피부염증 등과 같은 과민반응이 유발됨.



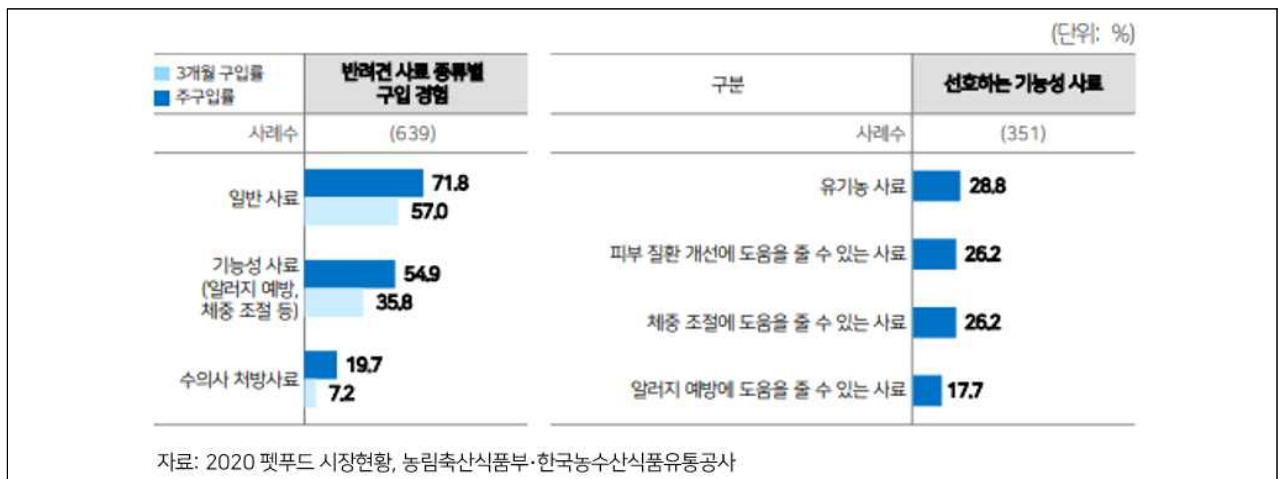
[그림 8] 식품별 개에게 알러지를 유발하는 비율

- 알러지를 유발하는 단백질 항원은 주로 당단백 성분이며, 알러젠이 체내에 과하게 축적되면서 섭취해도 괜찮았던 육류에 알러지 반응이 일어나기도 함. 실제로 상대적으로 소비량이 높은 소고기, 닭고기 등의 노출 단백질원의 반려동물 알러지 유발 비율이 높음.
- 이러한 식이 알러지를 예방할 수 있는 방법은 흔히 접할 수 없는 당단백을 갖고 있는 비노출 단백질을 기초로 만든 사료를 급여하는 것이며, 곤충(동애등에 유충) 단백질은 비노출 단백질원으로 알러지 유발 가능성이 낮고 추가적으로 가수분해하여 저 분자량의 단백질로 체내에서 알레르기 유발 항원의 노출 가능성을 현저히 낮출 수 있음.

마. 곤충 단백질 가수분해물 및 키토산을 활용한 기능성 사료 개발의 필요성

(1) 반려동물 사료 선호도

- 대부분 일반 사료(57.0%)를 주로 구입하고 있으며, 기능성 사료의 구입율은 35.8%로 전반적으로 반려견의 건강 상태에 따라 다양한 기능성에 대한 소비자의 니즈가 있음을 알 수 있음.
- 기능성 사료 구입 경험자는 유기농 사료(28.8%)를 가장 선호하고 있으며 피부 질환 개선, 체중 조절 기능에 대한 선호도 또한 유사함. 이에 당사는 동애등에 단백질 및 키토산의 효능을 활용하여 기능성 사료에 대한 소비자 니즈를 충족할 수 있는 체중 조절 및 알러지 예방과 관련된 기능성 사료를 개발할 예정임.



[그림 9] 반려견 사료 종류별 구입률 및 선호도

(2) 곤충 키토산의 효능



[그림 10] 키토산의 콜레스테롤 개선 효능

- 반려동물의 비만은 혈중 콜레스테롤 수치와 중성지방을 증가시켜 혈압을 상승시키는 요인이며, 결과적으로 심장 질환과 같은 여러 합병증을 유발하여 반려동물의 기대수명 단축 요인으로 알려짐.
- 지방의 소화나 흡수에 중요한 역할을 하는 담즙산은 콜레스테롤로부터 생성되며, 키토산은 체내에서 순환하는 담즙산과 결합하여 체외로 배설되는 특징을 가짐.
- 이에 키토산 섭취를 통해 담즙산이 체외로 배출되면서, 담즙산을 생성하기 위해 체내에 축적된 콜레스테롤이 사용됨으로써 결과적으로 콜레스테롤 수치의 조절을 통해 비만 합병증 예방에 도움이 될 수 있음.

(3) 동애등에 단백질 가수분해물 및 키토산을 활용한 기능성 사료 개발의 필요성

제품명	사랑하개	구푸	꼬시다	제품명	인섹트도그	요라	벨포아
제품사진				제품사진			
곤충단백질 함유량	30%	20%	50%	곤충단백질 함유량	30%	20%	50%
곤충단백질 데이터	X	X	X	곤충단백질 데이터	X	X	X
제조사	한마을(주)	(주)큐어F&B	엔토모	제조사	한마을(주)	(주)큐어F&B	엔토모

[그림 11] 국내의 곤충(동애등에) 사료 출시 현황(좌: 국내, 우: 해외)

- 곤충 단백질은 기존 노출 단백질원과 달리 비노출 단백질원으로 알려지 유발 가능성이 낮고, 이에 더해 가수분해함으로써 저분자량의 단백질원의 체내 항원 노출 가능성을 현저히 낮출 수 있어 최근 동애등에를 활용한 사료 출시가 활발히 이루어지고 있음.
- 기존 곤충을 활용한 사료는 동애등에 원물을 그대로 건조 및 분말화한 소재가 사용되고 있음. 원물 자체도 영양학적인 가치가 충분히 있으나, 곤충 외골격에서 발견되는 키틴(N-acetyl-D-glucosamine)은 체내에 소화되기 어려워 소화율을 낮추고, 소화되지 않은 키틴질은 장에 축적되어 부분적으로 또는 전체적으로 변비를 초래할 수 있어 제거가 필요함.
- 곤충의 단백질 가수분해에 대한 연구는 이루어져 있으나, 이에 대한 유효성 및 안전성 평가에 대해서는 이루어진 바가 없으며 실질적인 사업화를 위한 대량 생산 공정개발은 이루어지지 않음.
- 이에 본 과제에서는 동애등에 유충에서 오일 및 키틴질을 분리한 단백질을 가수분해하여 소화율 및 단백질 함량을 높인 사료 소재 및 대량 생산 기술을 개발하고자 함. 또한 분리된 키틴질은 기능성 소재인 키토산으로 가공하여 혈중 콜레스테롤 개선에 도움을 줄 수 있는 기능성 사료 개발에 활용하고자 함.


2. 연구개발과제의 수행 과정 및 수행 내용

최종 목표:

곤충 유래 단백질 가수분해물 추출기술 개발 및 곤충 키토산이 함유된 저 알러지 및 혈중 콜레스테롤 개선 기능성 반려동물용 사료 개발

- 첫째, 농생명 유용자원의 고부가가치 사료 개발을 위해 기존 노출 단백질원인 육류를 대체하고, 미래 식량 자원이면서 비노출 단백질원인 곤충(동애등에 유충)을 활용하고자 함. 이에 더해 반려동물의 식이 알러지 유발 가능성을 더욱 낮추기 위해 효소를 활용한 단백질 가수분해물의 추출조건을 확립하고, 소재의 대량 생산을 위한 최적의 설비 선택과 공정 조건을 확립하려 함.
- 둘째, 곤충(동애등에 유충) 유래 단백질 가수분해물의 동물에 대한 소화 및 흡수반응이 용이한지 평가하고, 기능성 측면에서 동물면역세포의 면역반응 유지 및 생체방어 면역능력 개선 효과를 규명하려 함. 또한 동애등에 가수분해 단백질의 체내 안정성 측면에서 동물 식이 알러지 반응을 조사하고, 곤충유래 키토산의 동물 혈중 콜레스테롤 개선 기능을 평가하여 콜레스테롤로 기인한 다양한 동물 질환을 예방하거나 억제할 수 있는 동물 건강 기능성 사료를 개발하는 데 목표가 있음.
- 마지막으로, 위의 기능성 규명 데이터를 기반으로 곤충 단백질 가수분해물 분말 원료, 반려동물용 저 알러지 및 혈중 콜레스테롤 개선 기능성 사료 시제품을 제작할 것임. 이 시제품을 활용하여 실제 반려견 대상의 임상 평가를 통해 유해성, 유효성 및 안전성을 평가한 후 제품을 상용화하여 사료 시장에 진입하는 데에 목표가 있음.


기술개발 및 사업화




- 동애등에 단백질 가수분해물 추출 조건 확립
- 대량 생산 공정 확립 및 시설 구축
- 단백질 가수분해물 소재 및 키토산을 활용한 애견 사료 개발

소재 유효성·안전성 평가

제품 유효성·안전성 평가



- 동애등에 단백질 가수분해물 유효성 평가
 - 소화성 평가
 - 면역증강 효능 평가
 - 식이 알러지 저감 효능 평가
- 동애등에 키토산 유효성 평가
 - 혈중 콜레스테롤 개선 효능 평가



- 시제품 유효성 평가
 - 소화성 평가
 - 식이 알러지 저감 효능 평가
 - 혈행 개선 효능 평가

< 기관별 연구개발 목표 >

가. 주관연구개발기관_농업회사법인 푸디웍(주)

(1) 단백질 분해효소(Protease)를 이용한 곤충 단백질 가수분해물 추출조건 확립

- 일반적인 육류 단백질은 가장 보편적이고 우수한 영양가를 가진 단백질원이지만, 저염 농도의 물에 용해되지 않는 섬유상 단백질이 많아 사료소재 및 질소공급 소재로 활용되기 매우 어려운 단점이 있음.
- 따라서 용해성 문제를 해결하기 위해 다양한 단백질 가수분해물인 oligopeptide 혼합물을 조제하여 동물의 소화 및 흡수에 용이하게 만드는 노력들이 이뤄지고 있음. 이러한 단백질 가수분해물(protein hydrolysate)은 고분자인 단백질과 유리 아미노산을 효과적으로 공급할 수 있는 제3의 질소원 형태로 알려져 있음.
- 동애등에 유충 단백질을 가수분해하기 위해 기존 육류 단백질 가수분해에 이용되는 효소 및 효소 별 최적 조건(온도, pH, 반응시간, 첨가량)을 탐색하였음. 또한, 일반적인 식이 알레르기 항원의 대부분은 수용성 당단백으로 약 10 kDa에서 60 kDa 사이의 분자량 분포를 가짐. 따라서 곤충 단백질 가수분해물의 아미노산 조성 및 분자량 크기를 분석하여 10kDa 이하의 단백질 가수분해물이 생성되었는지 분석하였음.

(가) 단백질 분해효소 탐색

- 타 곤충을 활용한 가수분해 단백질 제조방법과 관련된 선행 자료(특허, 논문 등)를 참고하여 Novozyme 社의 Alcalase, Neutrased, Protamex, Flavourzyme 4종의 효소 및 가수분해 조건을 검토하여 동애등에 유충의 단백질 가수분해 연구에 활용하였음.

	Alcalase		Neutrased		Protamex		Flavourzyme
구성	Serine endoprotease		Metallo endoprotease		Serine endoprotease		Exoprotease
Activity	2.4 AU-A/g		0.8 AU-N/g		1.5 AU-N/g		500 LAPU/g
가수분해 작용 정도	Aggressive		Less aggressive		Aggressive		Aggressive
생성물	Peptides		Peptides		Peptides		Peptides and amino acids
쓴맛 제거	X		X		X		O
풍미 향상	O		O		O		O
Optimum pH	6.5-10		6-9		6-9		4-8
Optimum temperature(℃)	50-60		40-50		50		50-55
Maximum %DH	15-25		10-15		10-20		~60
Quality grade	Food grade		Food grade		Food grade		Food grade
비활성 조건	Alcalase		Neutrased		Protamex		Flavourzyme
pH	4	8	4	7	4	8	6-8
Temperature(℃)	50	85	50	80	50	85	90
Time(min.)	30	10	30	5	30	10	10

[그림 1] 단백질 분해효소(protease) 탐색 결과

- Endo-protease인 alcalase, neutrased, protamex 효소는 단백질의 polypeptide chain의 내부에 있는 peptide bond를 절단하여 단백질을 가수분해하는 특징이 있음. 반면, exo-protease인 flavourzyme은 polypeptide chain의 끝에서 한번에 하나의 아미노산을 잘라 가수분해시키는 것으로 알려짐.

- 이때 가수분해된 일부 펩타이드(peptide)는 말단에 소수성 아미노산을 가지고 있는데, 이것이 가수분해물의 쓴맛을 낼 수 있음. Flavourzyme은 이러한 펩타이드 말단의 소수성 아미노산을 잘라 쓴맛을 줄이는 역할을 기대할 수 있어, 단백질 가수분해물의 기호성을 높이는 목적으로 적합함[그림 1].

(나) 동애등에 유충으로부터 단백질 가수분해물 추출

- 단백질 가수분해물을 추출하기 전 유충을 전처리 하여 가수분해 반응에 적절한 기질을 제조하는 방법과 가수분해 조건을 탐색하는 실험 전 사전실험을 통해 적절한 가수분해 조건 범위를 확인하여 도출한 결과를 바탕으로 가수분해 조건 실험에 필요한 기질을 생산하였음.
- 부화 후 20일 이내의 2일 이상 절식시킨 동애등에 유충을 공급받아 세척하여 이물질을 제거한 뒤, 약 90°C에서 5분간 삶아 분쇄한 분쇄물을 원심분리하여 지질층을 제거하였음. 지질층을 제거한 탈지물을 동결건조하여 분쇄한 탈지 분말을 정제수와 혼합하여 10~20%(w/v)의 기질 용액으로 제조하였음.
- 단백질 분해효소인 Alcalase, Neutrase, Protamex, Flavourzyme 4종을 각 기질 용액에 첨가하여 55°C에서 0~24시간 가량 가수분해 후 90°C에서 20분간 열처리하여 효소를 불활성화하였음. 이후 방랭한 가수분해물을 13,500rpm에서 10분간 원심분리 하여 상등액을 취하여 시료로 사용하였음.

(다) 단백질 가수분해물 분자량 측정

- Sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis(SDS-PAGE)를 이용해 가수분해 조건 별 시료들의 분자량 분포를 확인하였음. 10~20% Tris-Glycine gradient gel에 loading 하여 20V에서 6시간 동안 전기영동 하였음. SDS-PAGE 실험 결과를 토대로 10kDa 이하의 분자량 밴드를 보이는 가수분해 조건을 확인하여 분자량 측정을 외부분석기관에 의뢰하여 확인하였음.

(라) 단백질 가수분해물의 가수분해도 측정

- 1차년도에서 Bradford assay를 통해 단백질을 정량하고 TNBS(2,4,6-trinitrobenzene sulfonic acid) 방법을 이용한 사전실험에서 가수분해도를 확인하였으나, 측정이 필요한 시료의 개수가 많고 실험오차가 발생하는 단점을 확인하였음. 2차년도부터 정확도와 편리성을 높이기 위해 Trichloroacetic acid(TCA) precipitation과 BCA assay를 이용한 실험법으로 변경하여 최적조건 재실험을 진행하였음.
- 20% TCA와 가수분해물을 1:1로 하여 30분간 반응시킨 후 원심분리하여 얻은 상등액의 단백질 농도를 BCA assay로 측정하여 TCA 가용성 단백질 농도를 측정하였음. 가수분해도 산출은 아래의 식과 같이 계산하였음.

• Degree of Hydrolysis(%) =

$$[\text{TCA soluble protein}(\text{mg/mL}) / \text{Total protein}(\text{mg/mL})] \times 100$$

- 연구실 수준에서 가수분해 조건 별 시료들의 가수분해도를 파악하여 최적 조건의 가수분해 전, 후 시료의 상등액 내 조단백질 함량을 외부분석기관에 의뢰하여 가수분해도를 확인하였음.

(마) 단백질 가수분해물의 아미노산 변화 측정

- 단백질은 약 20종의 주요 아미노산들로 구성되며, 아미노산들은 비필수아미노산과 필수 아미노산으로 구분됨. 비필수아미노산은 체내 대사과정에서 발생된 탄소 및 질소 대사산물을 이용하여 체내에서 합성이 충분히 가능한 아미노산을 말함. 반면 필수아미노산은 체내에 합성이 되지 않거나, 합성되는 속도가 유지, 성장 및 번식을 위한 아미노산의 요구량을 충족시키지 못하기 때문에 최적의 성장 및 번식을 위해서는 반드시 공급되어야 함.
- 반려견이 필요로 하는 필수 아미노산은 아르기닌, 히스티딘, 아이소류신, 류신, 라이신, 메티오닌, 페닐알라닌, 트레오닌, 트립토판, 발린 10가지가 있음.이 중에서 한 가지라도 부족하게 되면 반려견의 건강에 부정적인 영향을 줄 수 있어 필수 아미노산의 균형은 매우 중요함. 따라서, 가수분해 전후 동애등에 유충 단백질원의 아미노산 조성 변화를 관찰함으로써 반려견에게 도움이 되는 필수 아미노산 등의 함량에 긍정적인 변화가 있는지 확인함.

(2) 단백질 가수분해물의 대량 생산 조건 확립

- 연구실에서 수행한 단백질 가수분해 실험 결과를 토대로 파일럿 규모의 시험생산을 진행하였음. 시험생산을 통해 단백질 가수분해물을 대량 생산 했을 때에도 문제가 없는지 단백질을 회수 및 분석하여 가동 조건을 조정하였음.
- 1차년도에서 Alcalase(1%), Neutrase(0.5%)를 첨가하여 1차 가수분해한 동애등에 유충 단백질 가수분해물을 동결건조한 시료와 추가로 Flavourzyme(3%)를 첨가하여 2차 가수분해한 동결건조 시료를 각각 한국사료협회 사료기술연구소에 성분분석을 의뢰하여 파일럿 규모에서도 가수분해가 적절하게 진행되었는지 확인하였음. 이때 Neutrase는 무작위로 peptide 결합을 분해하는 특성이 있어 첨가하였으나, Alcalase와 그 효용이 중복되고 Alcalase 단일로 사용하였을 때 충분한 가수분해도를 보여 효용성과 원부재료 관리 등의 이유로 대량 생산에서 Neutrase 사용은 배제하였음.
- 위와 같은 사유로 2차년도에서는 Alcalase(1%)와 Flavourzyme(1%)을 첨가하여 파일럿 규모로 생산하여 아미노산 조성, 필수아미노산 함량 변화, 회수량 등을 검토하여 단백질 품질을 확인 하였음. 이후 대량 생산을 통해 가수분해 단백질 제품의 투입원료를 생산 하였음.

(3) 곤충 단백질 가수분해물 및 키틴 대량 생산 시설 구축

- 동애등에 유충 가수분해 단백질 및 키틴 대량 생산 시설 구축을 위해 전문가와 회의를 통해 실제 양산을 위한 공정 및 설비 검토를 완료하였음. 당초 친환경적인 생물학적 공정을 적용한 키틴 대량 생산 시설까지의 구축을 목표하였음.
- 목표 달성을 위해 키틴을 키틴산으로 전환하는 탈아세틸화 공정을 기존 화학적 공정에서 친환경 생물학적 공정을 적용시키기 위해 탈아세틸화 효소를 생산해내는 미생물 3종을 확보하였음. 그러나 본 사업 기간 내 상업적으로 활용할 수준의 균주 개발이 불가하였음. 또한 탈아세틸화 공정을 기존 화학적 공정으로 공장에 적용했을 때, 가수분해 단백질과 동일한 공장 내에 생산이 불가한 점이 있음. 최종적으로 키틴산 이전 키틴 추출까지는 동일한 공장 내에서 생산이 가능하므로 키틴 대량생산 시설까지 구축하고, 키틴산 전용 공정을 설치하기 전까지 외주용역으로 생산할 계획임.

- 곤충(동애등에 유충) 단백질 가수분해물 생산 시설의 경우 가수분해 최적 반응조건 및 파 일럿 생산을 통해 구체적인 가수분해 조건을 파악하고, 설비 구축 전문기업을 통해 공정 설계를 완료함. 산업용지 매매계약 및 건축 준공을 완료하여 '23년 8월 첫 생산 가동을 목표로 함.

(4) 곤충 키토산 및 곤충 가수분해 단백질을 활용한 애견 사료 개발

- 기존 육류 단백질의 단점인 알러지 유발 원인을 현저히 낮춘 동애등에 가수분해 단백질과 비만 합병증 예방에 도움이 되는 곤충 키토산을 첨가한 반려동물 저 알러지 및 혈중 콜레스테롤 개선 기능성 사료를 개발함. 추가로 동애등에 단백질, 키토산을 첨가한 반려견용 체중조절 사료, 덴탈껌 제품을 개발함.

나. 공동연구개발기관(대구한의대학교 산학협력단)

(1) 곤충 유래 키토산의 혈중 콜레스테롤 개선 효능 입증

(가) 동애등에 키토산의 특성화

- 동애등에 키토산(*Hermetia illucens* chitosan, HCS)을 분리 및 정제하여 실험을 진행하였으며, 키토산의 분자량, 탈아세틸화도 및 결정화도를 규명하기 위해 Gel permeation chromatography(GPC), Fourier-transform infrared spectroscopy(FT-IR) 및 X-ray Diffraction(XRD)을 활용하여 키토산을 특성화함.

(나) 동애등에 키토산의 지방합성 억제 및 활성산소 발생 억제 기전 규명

- 지방 전구세포에 분화유도물질을 함유한 배지(MDI, methylisobutylxanthine, dexamethasone, insulin)를 이용했으며, 키토산의 지방 분화 제어능력을 규명하기 위해, 지질 방울을 염색하는 Oil-red O 염색법을 이용하여 지질 방울 염색 및 이를 정량화하여 평가를 진행함.
- 동애등에 키토산의 지방세포 내 활성산소(reactive oxygen species, ROS) 억제 유도 기전을 규명하기 위하여, 2',7'-Dichlorofluorescein diacetate(DCFDA)를 이용하여 활성산소량을 정량적으로 측정하였으며, 형광현미경을 이용해서 이를 시각화하여 동애등에 키토산의 항산화 효과를 바탕으로 지방 분화를 억제하는 능력을 규명함.

(다) 동애등에 키토산의 지방 분화 신호전달 단백질 제어 기전 규명

- 동애등에 키토산의 지방 분화 신호전달 단백질 제어 기전을 규명하기 위해, 지방세포 분화와 관련된 신호전달 단백질인 ser/thr kinase AKT 및 mTOR(mechanistic target of rapamycin)의 인산화 조절 능력을 규명함.
- 또한 Oil-red O 염색을 이용하여 각 신호전달 단백질들이 지방 분화와 연관되어있음을 규명하였으며 FAS의 mRNA의 발현 수준을 측정하여, 지방 분화와 관련된 신호전달 기전을 효율적으로 제어할 수 있는 기능성 물질인지를 파악함.

(라) 동애등에 키토산의 지방 분화 신호전달 전사인자 제어 기전 규명

- 동애등에 키토산의 지방 생성 및 지질 저장, 인슐린 및 포도당 대사 조절의 핵심 전사 인자인 PPAR γ (peroxisome proliferator-activated receptor gamma) 인산화 조절 능력을 immunoblotting 방법을 이용하여 확인함.
- 또한 면역현광염색법을 이용하여 PPAR γ 의 인산화의 활성 정도를 확인하여, 동애등에 키토산이 지방 생성 전사인자인 PPAR γ 의 조절을 통해 지방 분화 억제 및 지질 축적을 감소시킬수 있는지 규명함.

(마) 동물 비만 모델로부터 동애등에 키토산의 항비만 효과 규명

- 동애등에 키토산의 콜레스테롤 개선 평가를 위해 C57BL/6J 마우스 모델 동물 실험을 진행하며, 일반식이(Normal diet, ND) 및 고지방식이(High fat diet, HFD)와 함께 동애등에 키토산을 5주간 급여하여 얻은 혈청에서 총 콜레스테롤(Total cholesterol), HDL 및 LDL 콜레스테롤 농도를 측정함.
- 또한 중성지질(Triglyceride), 유리콜레스테롤(Free cholesterol), 콜레스테롤 에스테르(Cholesteryl ester), 알라닌 아미노전이효소(alanine aminotransferase, ALT) 및 아스파테이트 아미노전이효소(aspartate aminotransferase) 값을 측정하여, 간 질환 및 콜레스테롤과 관련된 다양한 동물 질환 합병증 등을 예방하거나 억제할 수 있는 기능성 사료인지를 파악함.

(2) 곤충 유래 가수분해 단백질의 저 알러지 사료 소재 기능성 입증

(가) 동애등에 가수분해 단백질 사료 조성

- 표준(육류) 단백질, 동애등에 가수분해 단백질(Hermetia illucens hydrolysis protein) 및 갈색 거저리 가수분해 단백질(Tenebrio molitor hydrolysis protein)을 활용한 사료 조성을 분석함.

(나) 동애등에 가수분해 단백질 사료 효율 평가

- 동애등에 가수분해 단백질의 사료 효율을 평가하기 위해 ICR계 마우스 동물모델 실험을 진행하며, 표준(육류) 단백질 식군, 동애등에 가수분해 단백질 식군, 갈색 거저리 단백질 식군 및 무단백질 식군으로 나누어 실험을 진행함.
- 체중 변화(Initial body weight, Final body weight, Body weight gain), 식이 섭취량(Food intake)을 측정하여 사료 효율(Food efficiency ratio)를 평가함.

(다) 동애등에 가수분해 단백질 이용률 평가

- 동애등에 가수분해 단백질의 이용률을 평가하기 위해 각군의 단백질 섭취량(Protein intake)을 측정하여 단백질 효율(Protein efficiency ratio), 순 단백질 보유율(Net protein retention), 순 단백질 이용률(Net protein utilization)을 평가함.

(라) 동애등에 가수분해 단백질 소화율 평가

- 동애등에 가수분해 단백질의 소화성 실험을 위해 질소 평형법을 사용하여 각군의 Fecal(대변)을 채취하여 질소량을 측정하고, 무단백질 식군의 Fecal 중, 즉 내인성 질소량을 뺀 소화율(true digestibility)를 분석함.

(마) 동애등에 가수분해 단백질 장기 독성 평가

- 동애등에 가수분해 단백질의 독성을 평가하기 위해 주요 장기인 간(Liver), 심장(Heart), 신장(Kidney), 비장(Spleen)의 중량을 측정하고 혈액 내 알라닌 아미노전이효소(alanine aminotransferase, ALT) 및 아스파테이트 아미노전이효소(aspartate aminotransferase, AST) 수치를 평가함.

(바) 동애등에 가수분해 단백질 면역 증강 및 알러지 조절 효과 규명

- 동애등에 가수분해 단백질을 섭취한 마우스의 혈청에서 체액성 면역능 지표인 면역글로블린(Ig)G와 세포 매개성 면역능 지표인 IFN- γ 농도 수준을 확인함.
- 동애등에 가수분해 단백질의 식이 알러지 반응(Type 1 과민반응)을 조사하기 위해, 동물 면역세포인 mast 세포에서 혈중으로 분비되는 면역글로블린(Ig)E와 히스타민(Histamine) 농도를 측정하여 동애등에 가수분해 단백질의 식이 알러지 유무를 평가함.

(사) 동애등에 가수분해 단백질 위장관 상피 세포 증식 및 상처 회복 효과 평가

- 위장관 상피 세포(HT-29)에 동애등에 가수분해 단백질 및 갈색 거저리 단백질을 처리하여 세포 증식(Proliferation) 및 상처 회복(Migration)을 평가했으며 이를 현미경으로 시각화하여 확인함.

(아) 동애등에 가수분해 단백질의 염증 억제 효과 규명

- 위장관 상피 세포(HT-29)에 염증 반응을 일으키는 LPS(Lipopolysaccharides)와 함께 동애등에 가수분해 단백질 및 갈색 거저리 단백질을 이용하여 전염증성 사이토카인으로 알려진 Interleukin-6 (IL-6), Tumor necrosis factor- α (TNF- α) 및 Interleukin-1 β (IL-1 β)의 mRNA 유전자 발현 정도를 평가함.

다. 위탁연구개발기관: 중부대학교 산학협력단

(1) 반려동물환자 대상 소화성 평가 및 Food Allergy 저감 유효성 평가

(가) 곤충 사료의 반려동물 대상 소화성 평가

- 동애등에 가수분해 단백질 사료의 소화성 실험 전, 가수분해하지 않은 동애등에 단백질 사료의 소화성 실험을 진행하였음. 실제 가정에서 사육하고 있는 반려동물을 대상으로 임상시험을 수행하였음.
- 동애등에 단백질 투여군의 단백질 소화율 측정은 질소평형법을 사용하며, 각 군의 Fecal (대변)을 채취하여 질소량을 측정하고, 무단백질 식군의 Fecal 중 내인성 질소량을 뺀 소화율(true digestibility)를 분석하였음.
- 국내 대표 반려동물 사육 품종인 퍼그, 비숑프리지, 말티즈, 푸들, 치와와 5종에 대해 종별 소화율 측정을 실시하였으며, 본 연구는 공동연구개발기관의 실험동물 대상 소화성 평가 데이터를 임상에서 뒷받침하게 됨.

(나) 곤충 사료의 반려동물 대상 식이 알러지 저감 효능 평가

- 아토피성 피부염으로 확진된 동물 환자를 모집하여 임상효능평가를 실시하였으며, 환자 모집 및 임상데이터 수집을 통해 Feed Allergy 증상유발에 대한 유효성 평가 데이터를 정리하였음. (1차년도 임상 현장 환자 5두 대상 실시)

(2) 반려동물 환자대상 Food Allergy 저감 유효성 평가, 혈행 개선 유효성 검색

(가) 1·2차 가공원료로 제조된 곤충사료 시제품(LAPOG+)의 반려동물 대상 식이 알러지저감 효능 평가

- 1차년도 임상시험에서 아토피성 피부염으로 확진된 동물 환자를 모집하여 임상효능평가를 실시하였으며, 1차년도 환자 모집 및 임상데이터 수집을 통해 Food Allergy 증상유발에 대한 유효성 평가 데이터를 정리하였고, 2차년도부터는 가수분해공정을 거친 LAPOG+ 시제품 사료를 사용하여 환자대상 유효성 평가를 실시(1차년도에 이어 2차년도 동물환자 대상 임상시험)

(나) 1·2차 가공원료로 제조된 곤충사료 시제품(LAPOG+)의 반려동물 대상 혈행개선 및 혈중콜레스테롤 수치 개선 유효성 검색

- 응고계검사용 샘플 준비: 응고계검사 전용 샘플링 튜브에 sodium citrate 용액을 혈액과 1:9 비율이 되도록 50 μ L씩 넣어둔 뒤 혈액 0.5mL를 혼합하여 10,000rpm에서 3분간 원심분리(Sorvall Biofyge primo, Thermo Scientific, USA)
- 응고계 검사방법: aggregometer 장비와 일본 FUHI DRI-CHEM SLIDE 시약을 사용하여 A&T Corporation 사(Fujisawa-shi.Kanagawa. Japan)의 Cogularion Analyzer CGO2NV 장비로 실시함.
- **Blood cogulation 관련 지표 분석** : prothrombin time(PT), activated partial thromboplastin time (aPTT), Fibrinogen(Fib)을 응고법을 이용하여 매주 일정한 시간에 측정하였음.
 - **PT(Prothrombin Time)**: 혈액 검체 안에 혈전이 생성되는 시간을 측정하는 방법으로 항응고제 와파린(쿠마딘, COUMADIN)의 항혈액응고 역할을 모니터링하여 출혈 질환 진단을 위해 시행하는 검사
 - **aPTT(Activated Partial Thromboplastin Time)**: 설명되지 않는 출혈 및 혈액응고가 관찰될 때 수술전 선별검사로 시행하는 검사법. 출혈질환과 혈전질환의 가능성을 평가하고, 비분획형 헤파린 항응고제를 치료중인 환자를 모니터링하기 위해 시행하는 검사
 - **Fib(Fibrinogen)**: 섬유소원의 농도나 기능을 평가하기 위해 사용되는 검사법. 섬유소원 활성도(Fibrinogen Activity)라고 하며 가능한 출혈장애나 혈전 발생에 대한 검사
 - 중성지방은 체내 효과적인 에너지원으로 공복 시에는 뇌와 적혈구를 제외한 모든 장기의 주요 에너지원으로 사용됨. 그러나, 중성지방이 체내에서 과다하게 합성되고 축적되면, 인슐린의 기능을 저해하고 대사증후군, 당뇨병 및 심혈관계 질환 등 여러 질병의 발생위험을 높일 수 있음.
 - 고중성지방혈증에 의한 심혈관계 질환의 발병기전은 콜레스테롤과 독립적임. 즉, 콜레스테롤 수치가 낮더라도 중성지방이 높으면 심혈관계 질환이 더 잘 발생하므로 혈중 콜레스테롤을 낮추는 것 뿐만 아니라, 혈중 중성지방을 낮추는 방법이 반드시 병행 되어야 함.
 - 혈중 중성지방 개선 기능성을 확인하기 위한 연구유형별 바이오마커 중 보편적으로 자주활용되는 마커는 total cholesterol, HDL, LDL이 있음.

3. 연구개발과제의 수행 결과 및 목표 달성 정도

가. 연구수행 결과

(1) 정성적 연구개발성과

(가) 주관연구개발기관(농업회사법인 푸디웜(주))

① 단백질 분해효소(Protease)를 이용한 곤충 단백질 가수분해물 추출조건 확립

㉞ 단백질 분해효소 탐색

- 식용 또는 사료용 곤충으로부터 가수분해물 제조하는 방법과 관련된 특허를 탐색 후 핵심특허들을 분류하여 단백질 가수분해물 제조 조건 등에 관한 내용을 분석하여 동태동에 유충 단백질 가수분해물의 최적 제조조건 실험 변수 등을 검토하는데 활용하였음. 대부분의 곤충을 활용한 단백질 분해효소는 Novozymes 社 의 Alcalase, Neutrase, Protamex, Flavourzyme을 활용하고 있으며, 곤충 별 최적의 효소 및 반응 조건에는 차이가 있었음.

No.	문헌번호	상태	출원일	명칭	제일리	출원인
60	KR10-19650361	등록	2016-11-16	갈색거저리(Tenebrio molitor, mealworm) 유충의 단백질 가수분해물, 이의 제조방법 및 이를 포함하는 항산화, 간 보호용 및 스페르미딘 가수분해물	-	-
72	KR10-191495861	등록	2017-03-02	갈색거저리 유충의 단백질 가수분해물, 이의 제조방법 및 이를 포함하는 조성물	-	-
68	KR10-193515361	등록	2017-06-02	장수풍뎡이(Alomyia dichotoma) 유충의 단백질 가수분해물, 이의 제조방법 및 이를 포함하는 조성물	-	-
39	KR10-207347761	등록	2018-06-25	갈색거저리 유충의 가수분해물로부터 분리된 항암 펩타이드 및 이를 유효성분으로 포함하는 항암용 조성물	-	-
42	KR10-2020-0000144A	거절	2018-06-22	갈색거저리(Tenebrio molitor) 유충의 단백질 가수분해물을 유효성분으로 포함하는 주름 개선, 상처 치유, 미용 성형, 탈모 치료, 또는 탈모 촉진용 조성물	매일리	계명대학교 산학협력단
43	KR10-2020-0000385A	거절	2019-12-03	갈색거저리(Tenebrio molitor) 유충의 단백질 가수분해물을 유효성분으로 포함하는 주름 개선, 상처 치유, 미용 성형, 탈모 치료, 또는 탈모 촉진용 조성물	매일리	계명대학교 산학협력단
44	KR10-2020-0000366A	거절	2019-12-03	갈색거저리(Tenebrio molitor) 유충의 단백질 가수분해물을 유효성분으로 포함하는 주름 개선, 상처 치유, 미용 성형, 탈모 치료, 또는 탈모 촉진용 조성물	매일리	계명대학교 산학협력단
22	KR10-217373161	등록	2020-08-12	갈색거저리(Tenebrio molitor) 유충의 단백질 가수분해물을 유효성분으로 포함하는 주름 개선, 상처 치유, 미용 성형, 탈모 치료, 또는 탈모 촉진용 조성물	매일리	계명대학교 산학협력단
10	KR10-226248361	등록	2019-04-26	갈색거저리 유충의 단백질 가수분해물로부터 분리된 펩타이드 및 이를 유효성분으로 포함하는 간 손상 예방 또는 치료용 조성물	매일리	계명대학교 산학협력단
1538	WO2020-218727A9	공개	2020-02-26	Peptide isolated from protein hydrolysate of tenebrio molitor mealworm and composition comprising same as active ingredient for prevention or treatment of liver injury	매일리	계명대학교 산학협력단
16	KR10-2021-0000779A	거절	2019-06-25	굴뚝이 효소처리력을 포함하는 식품 조성물 및 그 제조방법	-	김성호
76	KR10-189871161	등록	2017-03-02	갈색거저리의 가수분해물 통한 아미노산 분말의 제조 방법 및 상기 방법으로 제조된 아미노산 분말	-	뉴트라이치에스 주식회사
24	KR10-216904661	등록	2018-12-11	합성박이꽃무지 유충의 효소처리물을 함유하는 항염증용 조성물	-	-
118	KR10-152260461	등록	2013-03-21	곤충 글라이코지미노글라이칸 유래 헤마틴 단편 및 이의 제조 방법	매일리	대한민국(농촌진흥청)
154	KR10-2012-007514A	거절	2010-12-28	곤충유래 헤마틴 대체 제제 조성물의 제조방법 및 이의 용도	매일리	대한민국(농촌진흥청)
24	KR10-216904661	등록	2018-12-11	합성박이꽃무지 유충의 효소처리물을 함유하는 항염증용 조성물	-	-

No.	문헌번호	상태	출원일	명칭	제일리	출원인
59	KR10-2019-0050634A	심사중	2017-11-03	장수풍뎡이 유충 추출물 함유 조성물의 제조방법, 이에 의해 제조된 곤충 추출물 함유 조성물 및 이를 포함하는 식품	매일리	-
1550	WO2019-088774A2	공개	2018-11-02	Dorsalid beetle larva extract and method for preparing same	매일리	-
58	KR10-2019-0050540A	심사중	2017-11-03	쌍별귀뚜라미 추출물 함유 조성물의 제조방법, 이에 의해 제조된 곤충 추출물 함유 조성물 및 이를 포함하는 식품	-	씨제이제일제약(주)
31	KR10-2020-0049691A	심사중	2019-10-31	장수풍뎡이 유충 추출물 및 이의 제조 방법	매일리	-
1544	WO2020-091494A2	공개	2019-10-31	Alomyia dichotoma larva extract and method for preparing same	매일리	-
61	KR10-2021-0059437A	심사중	2019-11-15	유산균 생육 촉진용 조성물 및 유산균 배양배지	-	-
7	KR10-191983961	등록	2018-07-06	귀뚜라미 효소처리물을 함유하는 간보호 또는 숙취해소용 조성물	-	주식회사 한미양행
29	KR10-21203261	등록	2019-11-25	식용곤충 효소처리물 및 생략 추출물을 함유하는 숙취해소 또는 간보호용 조성물	-	주식회사 한미양행
2	KR10-22602661	등록	2020-11-24	귀뚜라미 가입용 효소 및 효소처리물을 함유하는 면역조절용 조성물	-	-
30	KR10-2020-0051965A	심사중	2018-11-06	갈색거저리 유충을 가수분해하여 제조되는 반려동물 사료조성물 및 이의 제조방법	-	(재)전북바이오융합산업진흥원
28	KR10-2020-0062024A	심사중	2019-10-25	고급효소분해법으로 제조된 합성박이꽃무지 유충 추출물을 포함하는 항염증 또는 면역증강용 조성물	-	(주)원광해브
1	KR10-2021-0064829A	심사중	2019-11-26	굴뚝이 효소반응 산출물을 포함하는 간독성 완화용 조성물의 제조방법 및 이에 의해 제조된 간독성 완화용 조성물	-	(주)원광해브
57	KR10-2019-0051676A	심사중	2018-11-07	곤충의 효소 가수분해물을 함유하는 항비만 조성물	-	경상남도
37	KR10-2020-0016813A	심사중	2019-09-07	곤충의 효소 가수분해물을 함유하는 피부 미백용 조성물	-	-
1279	CN103725742B	등록	2013-12-31	Method for preparing queen bee embryo peptide by enzyme hydrolysis method	매일리	Beijing pesnecch Biotech Co., Ltd.
1567	WO2015-100692A1	공개	2014-11-05	Method of preparing queen bee embryo peptides by enzymolysis	매일리	YU LI J ZHAO, Shunin
1357	CN104206640A	거절	2014-09-11	Process for preparing fly larva albumen powder by enzymatic hydrolysis of fly larva	-	Gulin heyindiang new materials co., Ltd.
1063	CN105624253B	등록	2016-03-30	Method for extracting oligopeptide and grease from maggots	-	Jiangnan university

No.	문헌번호	상태	출원일	명칭	제일리	출원인
274	US2018-002452A1	심사중	2015-12-30	Chitin, hydrolysate and method for the production of one or more desired products by means of enzymatic hydrolysis, including pre-treatment with an oxidizing agent	매일리	Insect
813	EP32490361	등록	2015-12-30	Method for the production of chitin and/or chitosan by means of enzymatic hydrolysis, including pre-treatment with an oxidizing agent	매일리	Insect
1078	CN107257860B	등록	2015-12-30	Chitin, hydrolysate and method for the production of one or more desired products by means of enzymatic hydrolysis, including pre-treatment with an oxidizing agent	매일리	Insect
1563	WO2016-108034A1	공개	2015-12-30	Chitin, hydrolysate and method for the production of one or more desired products by means of enzymatic hydrolysis, including pre-treatment with an oxidizing agent	매일리	Insect
254	US2021-0070899A1	출원	2019-12-13	Chitin and process for producing chitin and/or chitosan by the enzymatic and chemical pathway	-	-
253	US1099512462	등록	2015-12-30	Chitin, hydrolysate and production of at least one desired product from insects by means of enzymatic hydrolysis, comprising a combination of steps performed prior to the enzymatic hydrolysis	매일리	Insect
814	EP32490461	등록	2015-12-30	Production of chitin and/or chitosan from insects by means of enzymatic hydrolysis, comprising a combination of steps performed prior to the enzymatic hydrolysis	매일리	Insect
948	CN107278208B	등록	2015-12-30	Chitin, hydrolysate and production of at least one target product from insects by means of enzymatic hydrolysis	매일리	Insect
1564	WO2016-108035A1	공개	2015-12-30	Chitin, hydrolysate and production of at least one desired product from insects by means of enzymatic hydrolysis, comprising a combination of steps performed prior to the enzymatic hydrolysis	매일리	Insect
91	KR10-2017-0106355A	심사중	2015-12-30	Chitin, hydrolysate and method for the production of one or more desired products from insects by means of enzymatic hydrolysis	매일리	Insect
272	US2018-0016367A1	거절	2015-12-30	Chitin, hydrolysate and method for the production of one or more desired products from insects by means of enzymatic hydrolysis	매일리	Insect
406	JP2021-020911A	심사중	2020-10-02	키친, 가수분해물 및 곤충용 효소 가수분해에 하나 이상의 원하는 산출물을 생산하는 방법	매일리	-
463	JP2018-502203A	거절	2015-12-30	키친, 가수분해물 및 곤충용 효소 가수분해에 하나 이상의 원하는 산출물을 생산하는 방법	매일리	-
808	EP32490261	등록	2015-12-30	Chitin, hydrolysate and method for the production of one or more desired products from insects by means of enzymatic hydrolysis	매일리	Insect
1183	CN107428949A	심사중	2015-12-30	Chitin, hydrolysate and method for the production of one or more desired products from insects by means of enzymatic hydrolysis	매일리	Insect
1562	WO2016-108033A1	공개	2015-12-30	Chitin, hydrolysate and method for the production of one or more desired products from insects by means of enzymatic hydrolysis	매일리	Insect

[표 1] 곤충 단백질 가수분해물 제조 관련 특허 분석

② 동애등에 유충으로부터 단백질 가수분해물 추출

㉞ 가열공정의 필요성

- 효소를 투입하기 전 가열 공정의 필요성을 확인하였음. 동애등에 유충 단백질 기질과 단백질 분해효소의 반응도를 높이기 위해 세척한 동애등에 유충을 분쇄하는 과정에서 심한 갈변현상을 발견하였으나, 가열후 분쇄한 유충분쇄물에서는 갈변현상이 관찰되지 않았음.



[그림 1] 갈변현상 관찰

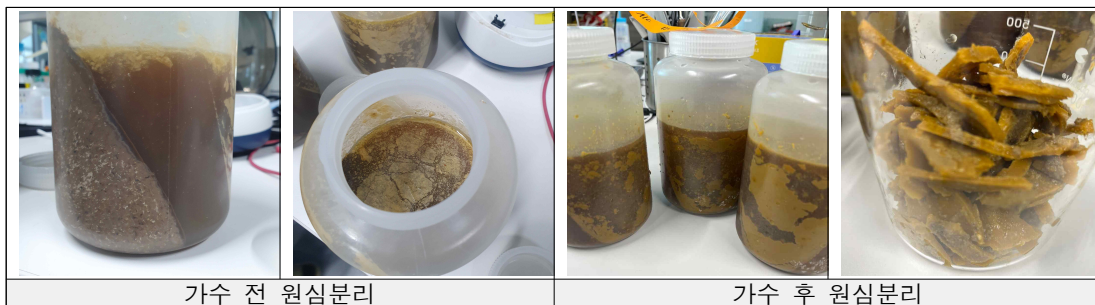
- 이후 가열공정에서 간접가열(증숙), 직접가열(삶음) 두가지 방식에 따른 결과물에서 모두 갈변현상이 관찰되지 않았음. 간접가열(증숙)의 경우 직접가열(삶음)보다 생산 설비 규격이 까다롭게 요구되는 단점이 있고, 세척과정에서 제거되지 못한 이물질을 추가적으로 제거할 수 있는 직접가열(삶음) 방식의 가열공정을 적용하였음.



[그림 2] 가열방식에 따른 유충 형태

㉟ 탈지 과정의 필요성

- 단백질 가수분해 효소의 활성을 높이기 위해 탈지 과정이 필요하며, 가열 전 유충의 경우 심한 갈변현상이 있어 가열 후 유충분쇄물을 탈지하였음. 원심분리를 이용하여 탈지를 시도하였으나, 익힌 유충분쇄물의 물성으로 인하여 원하는 수준의 지질층이 분리되지 않았음. 이후 유충분쇄물에 일정 비율로 가수하여 재시도한 결과 원하는 수준의 지질층이 분리됨을 확인하였음.



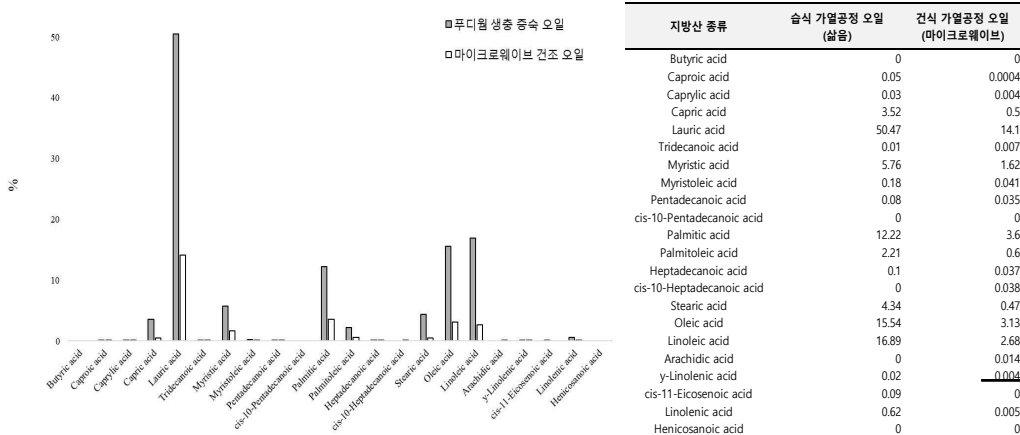
[그림 3] 가수 여부에 따른 오일 회수량 차이

- 추가적으로, 습식 가열(삶음)한 유층 분쇄물을 탈지하는 과정에서 분리된 유층의 오일이 기존 건식(마이크로웨이브) 가열공정을 통해 분리된 오일과 색상 등 품질에서 차이가 발생한 것을 확인하였음. 이는 건식 가열공정의 경우 유층을 마이크로웨이브 건조과정과 건조된 유층을 착유기로 건조하는 과정에서 고온으로 인한 변색이 발생했을 것으로 예상됨. 반면 습식 가열공정의 경우 상대적으로 저온인 90℃에서 짧게 가열하므로, 변색이 일어나지 않아 본래의 색상을 유지할 수 있었음.



[그림 4] 오일의 육안상 품질 변화

- 가열방식에 따라 추출된 오일의 육안상 품질 차이를 확인하고, 지방산을 분석하여 함량에 변화가 있는지 확인하였음. 습식 가열공정 오일의 지방산이 전체적으로 높은 함량을 보이며, 특히 유해 세균과 바이러스에 대한 항균 효과를 가지고 있는 것으로 알려진 라우릭산의 함량이 약 50%로 코코넛 오일에 준하는 함량을 보임. 따라서 습식 가열공정에서 회수된 오일은 육안상 품질과 지방산 함량에 있어 품질이 개선됨을 확인함에 따라 활용도가 높아질 것으로 예상됨.



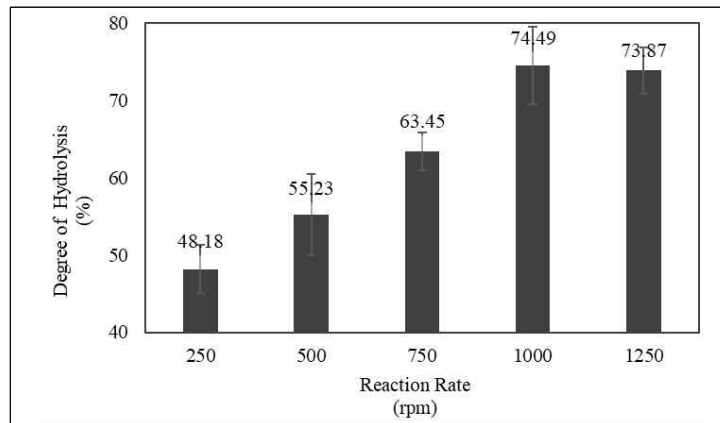
· 가수분해 실험 전 기질의 전처리 과정



[그림 6] 동애등에 유충 전처리 과정

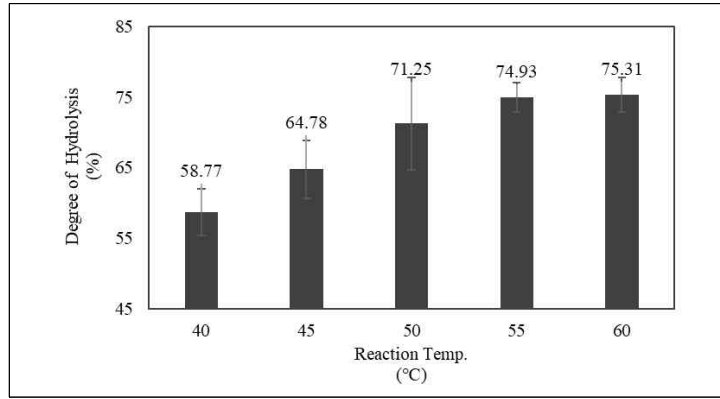
㉔ 가수분해 방법

- 가수분해 최적조건에 필요한 변수 중에서 반응 온도, 반응 속도, 반응시간의 최적조건을 설정하여 가수분해 실험을 진행하였음.
- **반응 속도:** 가수분해 반응을 위해 thermo shaker 기기를 사용하였음. 최대 기질함량에서 원활하게 교반 및 반응 가능한지 250, 500, 750, 1000, 1250 rpm으로 확인하였음. 기질을 15%(w/v), Alcalase를 0.2%(v/v) 비율로 하여 1시간 가량 반응하고 90℃에서 20분간 불활성화 한 반응액의 가수분해도를 측정하였음. 250, 500, 750 rpm에서 반응액에 첨가된 효소의 혼합 정도가 적절하지 않았고, 그 이상의 rpm에서 효소가 적절히 혼합되어 가수분해되었음을 확인함. 1,000, 1,250 rpm에서 반응액의 가수분해도에는 유의미한 차이가 없어 1,000rpm을 최적 반응속도 조건으로 확인하였음.



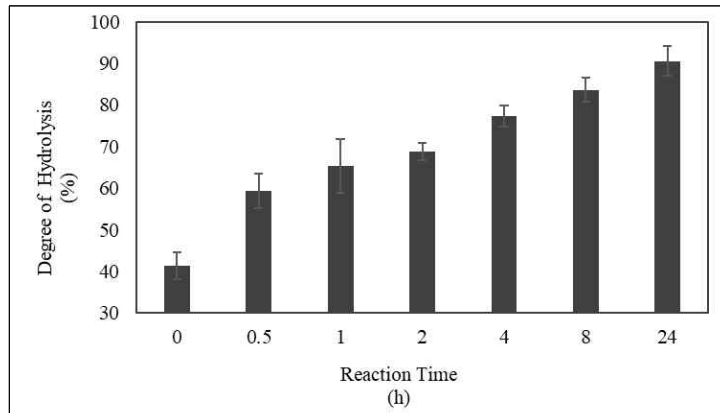
[그림 7] 반응속도에 따른 가수분해도 차이

- **반응 온도:** 각각 40, 45, 50, 55, 60℃에서 반응한 가수분해물의 가수분해도를 확인하여 최적의 반응온도를 확인하였음. 기질을 15%(w/v), Alcalase를 0.2%(v/v) 비율로 하여 1시간 가량 반응하고 90℃에서 20분간 불활성화 한 반응액의 가수분해도를 측정하였음. Alcalase 최적 온도 조건 범위인 50~60℃에서 가수분해도가 가장 높았으며, 55℃와 60℃에서 가수분해도에 유의미한 차이가 없으므로 55℃를 최적 온도조건으로 확인하였음.



[그림 8] 반응온도에 따른 가수분해도 차이

- **반응 시간:** 0.5, 1, 2, 4, 8, 24시간에서 반응한 가수분해물의 품질을 육안상 확인하여 최대 가수분해 시간을 확인하였음. 기질을 15%(w/v), Alcalase를 0.2%(v/v) 비율로 하여 반응시간 별 반응 후 90°C에서 20분간 불활성화 한 반응액의 가수분해도를 측정하였음. 반응시간에 따라 가수분해도가 증가하였으며 8시간 이상 반응하였을 때 가장 높은 가수분해도를 보였음. 그러나 5시간을 경과한 경우에는 부패 악취가 나기 시작하는 것으로 보아 반응시간이 5시간을 경과하면 부패가 일어나는 것으로 판단되었음. 따라서 최대 가수분해 반응시간을 4시간으로 하여 최적조건 실험을 설계하였음.



[그림 9] 반응시간에 따른 가수분해도 차이

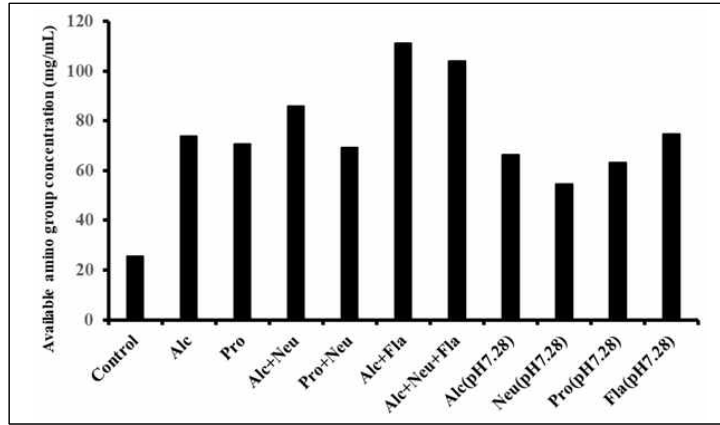
- **가수분해 최적조건 확립 실험변수 :** 사전 실험을 통해 얻은 반응온도, 반응속도, 불활성화조건, 반응시간 범위를 적용하여 실험변수를 설정하였음. 구체적인 가수분해 반응조건을 확인하기 위해 실험변수를 아래와 같이 설정하였음. 특히, 기질 농도의 경우 대량 생산의 효율을 높이기 위해 곤충(동애등에 유충) 단백질 기질을 각 10, 15, 20%(w/v) 비율로 하여 가수분해도에 차이가 있는지 확인하였음.

(1) 기질	동애등에 생충 탈지 분말				
(2) 반응 시간	Ctrl(0h)	0.5h	1h	2h	4h
(3) 기질 농도	10%(1g/10ml) 15%(1.5g/10ml) 20%(2g/10ml)				
(4) 효소 종류	Alcalase	Neutrase	Protamex	Flavourzyme	
(5) 효소 비율	0.2%	0.4%	0.6%	0.8%	1%
(6) 반응 온도	55°C				
(7) 반응 rpm	1000 rpm				
(8) 불활성화	90°C, 20min				
(9) 원심분리	불활성화 후, 13,500rpm에서 10분간 원심분리하여 상층액 분리				

[표 3] 가수분해 실험변수

③ 단백질 가수분해물의 가수분해도 측정

- 1차년도에서 효소를 처리하지 않은 동태등에 유충과 비교하였을 때, 각 가수분해 효소를 처리하여 가수분해 반응을 진행한 반응물의 가수분해도가 증가한 것으로 보아 효소에 의한 가수분해 반응이 정상적으로 진행된 것으로 확인하였음. pH 조정의 유무는 가수분해도에 유의미한 결과를 보이지 않았으며, Alcalase(1%)와 Flavourzyme(3%)을 혼합하여 처리한 단백질 가수분해물의 가수분해도가 가장 높게 측정됨.



[그림 10] 1차년도 가수분해도 측정 결과

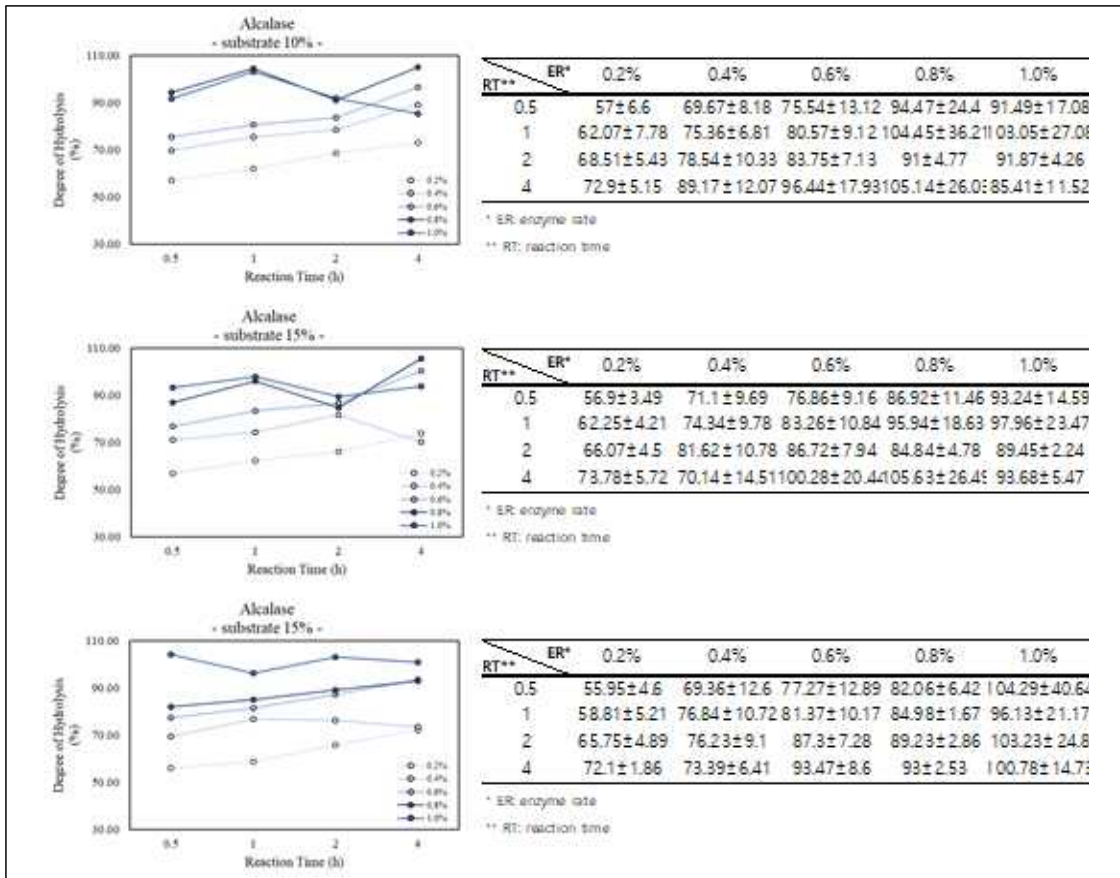
- 1차년도에서는 Bradford assay를 통해 단백질을 정량, TNBS(2,4,6-trinitrobenzene sulfonic acid) 방법을 이용한 사전실험에서 가수분해도를 확인하였음. 그러나, 분자량 3,000Da 이하의 펩타이드와 단백질은 coomassie dye reagent와 색변화를 생성하지 않는 특성이 있어 가수분해도 결과의 정확도가 떨어지는 것을 확인하였음. 따라서, 2차년도에서 정확도를 높이기 위해 Trichloroacetic acid(TCA) precipitation과 BCA assay를 이용하여 가수분해도를 도출하는 방법으로 변경하여 최적조건 재실험을 진행하였음.
- Heterocyclic amino ester를 함유하는 amino ester를 주로 분해하는 Alcalase(1%) 뿐만 아니라 무작위로 peptide 결합을 분해하는 Neutrased(0.5%)를 추가적으로 처리함으로써 동태등에 유충 단백질 가수분해물의 아미노산 함량 및 단백질 회수율이 증가될 것으로 예상한 1차년도의 결과를 가수분해 조건 재실험을 통해 확인하였음.
- 효소를 첨가하지 않은 반응액의 시간별 가수분해도 변화를 확인하였음. 시간이 지남에 따라 가수분해도가 미미하게 증가하는 양상을 보이나, 유의미한 차이는 없었음.

RT**	SR*	10%	15%	20%
0	31.19±5.67	35.15±5.42	35.51±7.17	
0.5	33.32±7.38	33.37±5.08	37.97±7.51	
1	34.12±6.71	35.72±4.89	38.63±6.46	
2	39.31±9.24	40.11±5.74	38.3±2.99	
4	37.08±6.36	41.49±6.9	43.15±6.21	

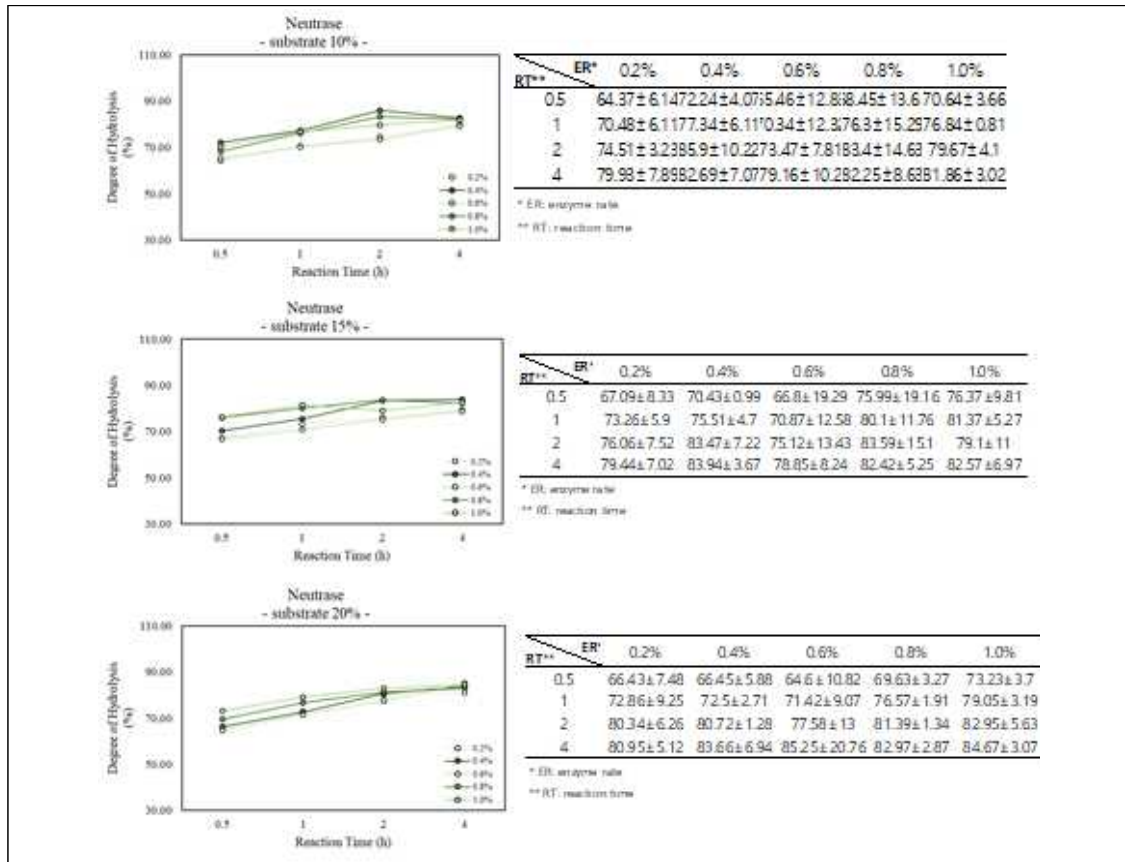
* SR: substrate rate

** RT: reaction time

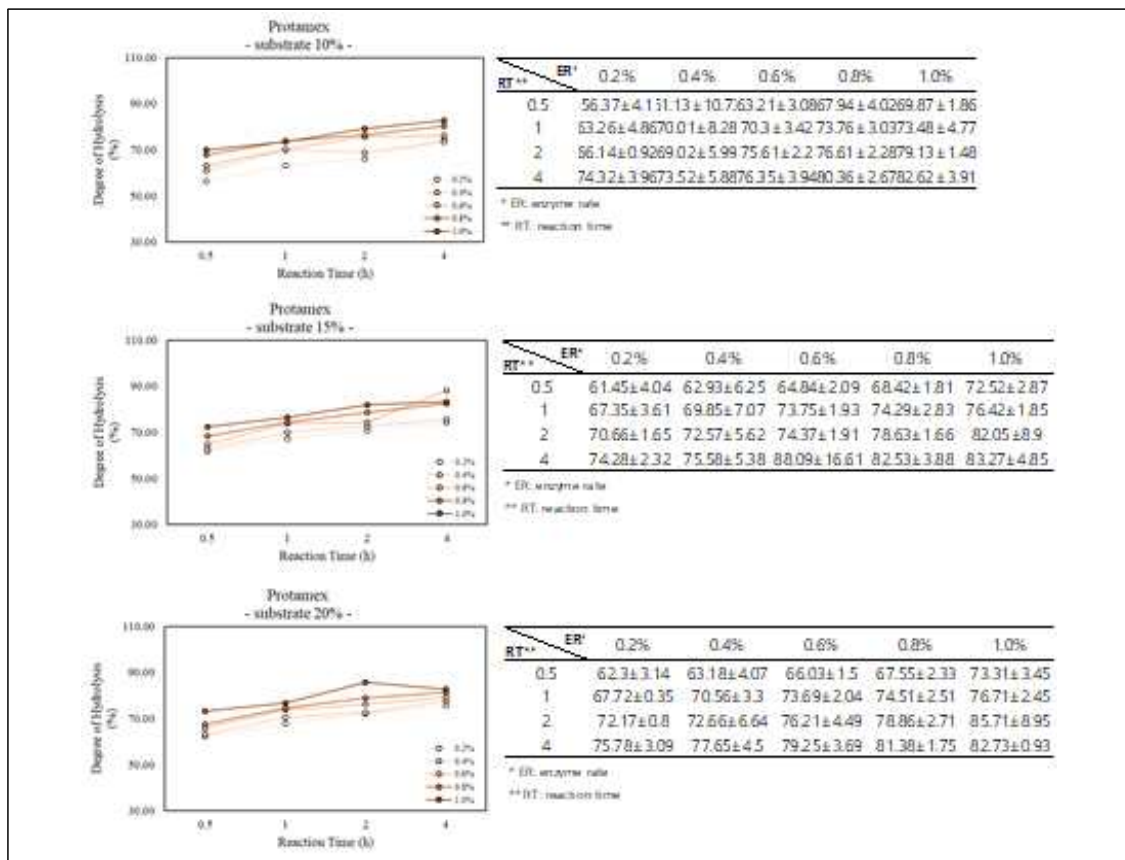
- Endo-protease에서 Alcalase의 최대 가수분해도는 90% 이상이였으며, Neutrase, Protamex의 최대 가수분해도는 80% 대로 상대적으로 낮은 가수분해 효율을 보임. Alcalase의 단일 처리만으로도 충분한 가수분해도를 얻을 수 있음에 따라 해당 효소를 곤충(동애등에 유충) 가수분해 단백질 생산 공정의 투입효소로 결정하였음.
- Exo-protease인 Flavourzyme의 경우 펩타이드 끝에서 한번에 하나의 아미노산을 잘라 가수분해시키는 특성으로 인해 endo-protease와 비교하였을 때 효소 첨가 대비 낮은 가수분해도를 보였음. 그러나 Flavourzyme은 펩타이드 말단의 소수성 아미노산을 잘라 쓴맛을 줄이는 역할을 기대할 수 있어, 대량 생산 공정에서 단백질 가수분해물의 기호성을 높이는 목적으로 Alcalase를 첨가한 1차 반응 후 2차 반응에서 2% 비율로 첨가하였음.



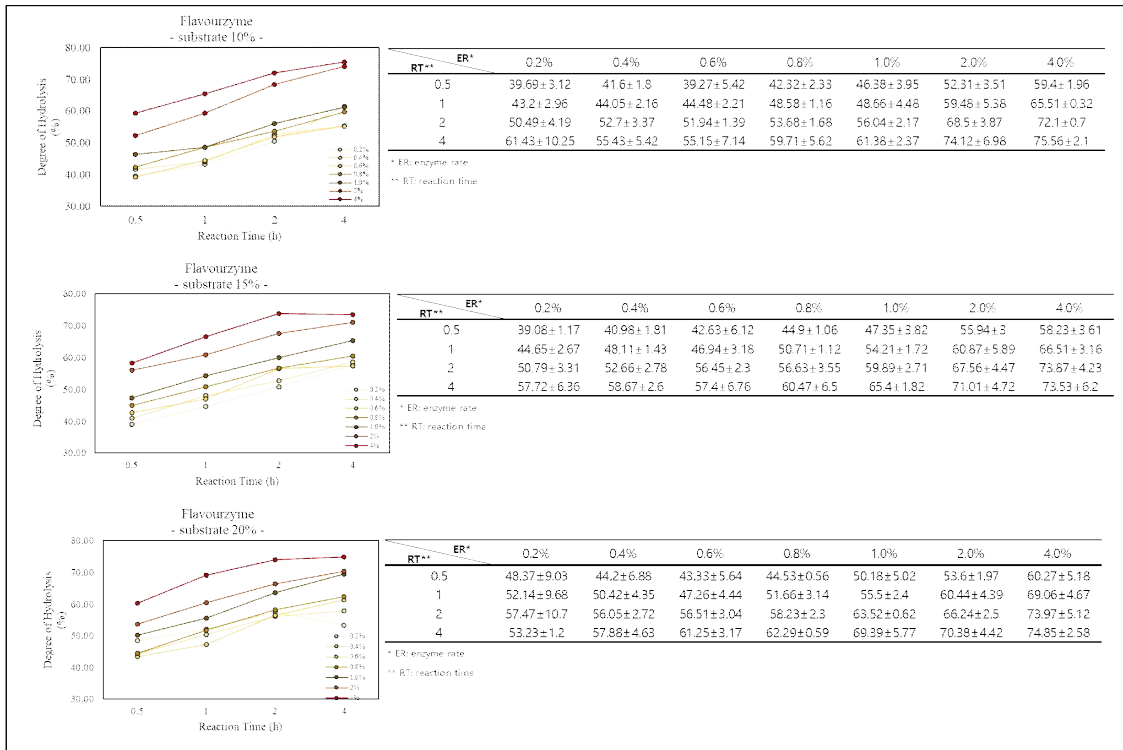
[표 5] 단일 효소(Alcalase) 처리에 따른 가수분해도 변화



[표 6] 단일 효소(Neutrase) 처리에 따른 가수분해도 변화



[표 7] 단일 효소(Protamex) 처리에 따른 가수분해도 변화



【표 8】 단일 효소(Flavourzyme) 처리에 따른 가수분해도 변화

- 모든 실험은 각각 3번 반복하였으며 효소비율, 반응시간, 기질함량에 따른 가수분해도의 유의성 차이를 분석하였음. 통계 분석은 MINITAB 버전 21.1.1.0(USA)을 사용하여 수행하였으며, Duncan의 post-hoc test를 이용한 일원 분산 분석(one-way ANOVA)을 사용하여 실험군 간의 평균값의 차이(p < 0.05)를 결정하였음. 3가지 변수 중 기질 함량을 제외하고 가수분해도에 유의미한 영향을 미치는 것으로 나타남. 각 효소 조건별 가수분해도 결과에 따라 1차 반응에서 Alcalase 0.8%, 반응 2시간, 2차 반응에서 Flavourzyme 2%, 반응 2시간을 최적 조건으로 결정하였으며 기질 함량 10~20% 사이에서 기질 함량에 따른 가수분해도에 영향은 없는 것으로 확인함에 따라 대량 생산 시 생산율을 높이기 위해 기질 함량을 20%로 결정하였음.

	Enzyme_ER	N	평균	표준 편차	95% CI
	Alc_0.2%	36	64.34	7.62	(60.17, 68.51)
Alc_0.4%	36	74.60	11.67	(70.43, 78.77)	
Alc_0.6%	36	85.16	12.52	(80.99, 89.33)	
Alc_0.8%	36	93.57	15.65	(89.40, 97.74)	
Alc_1%	36	97.79	19.12	(93.61, 101.96)	
Ctrl	45	36.963	6.201	(33.230, 40.695)	

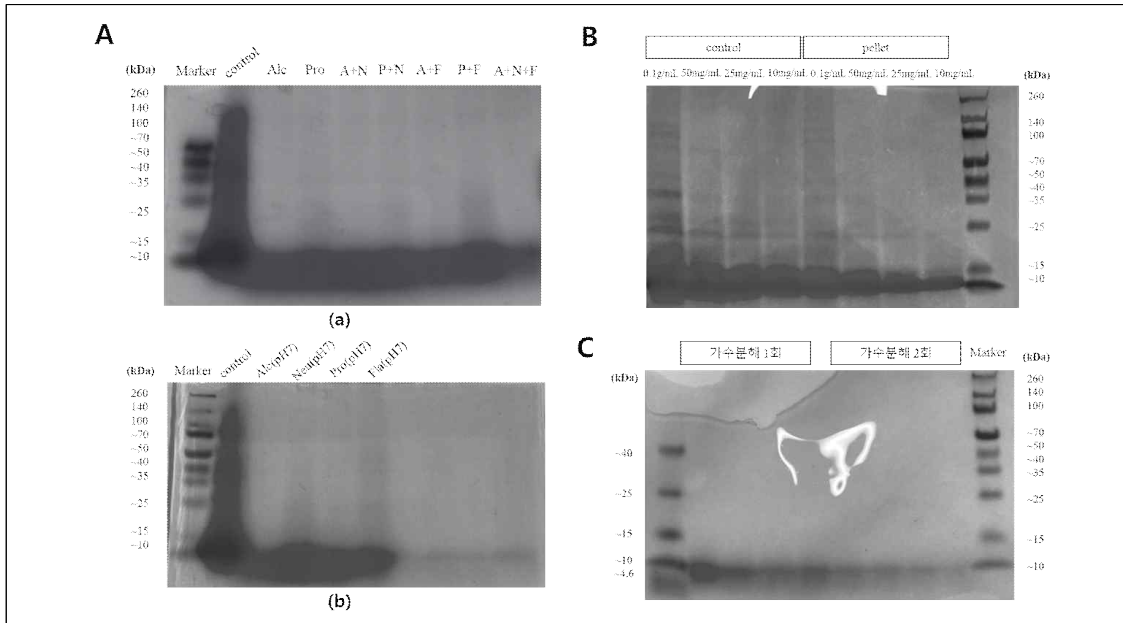
	RT	N	평균	표준 편차	95% CI
	0.0	9	33.95	5.71	(18.65, 49.25)
0.5	54	69.16	22.54	(62.91, 75.40)	
1.0	54	73.39	22.22	(67.15, 79.64)	
2.0	54	77.82	23.08	(71.57, 84.07)	
4.0	54	81.75	26.69	(75.50, 87.99)	

	SR	N	평균	표준 편차	95% CI
	10.00%	75	74.16	25.40	(68.47, 79.86)
15.00%	75	74.59	26.94	(68.90, 80.29)	
20.00%	75	72.84	22.52	(67.15, 78.54)	

【표 9】 실험 변수와 가수분해도의 유의성 분석 결과

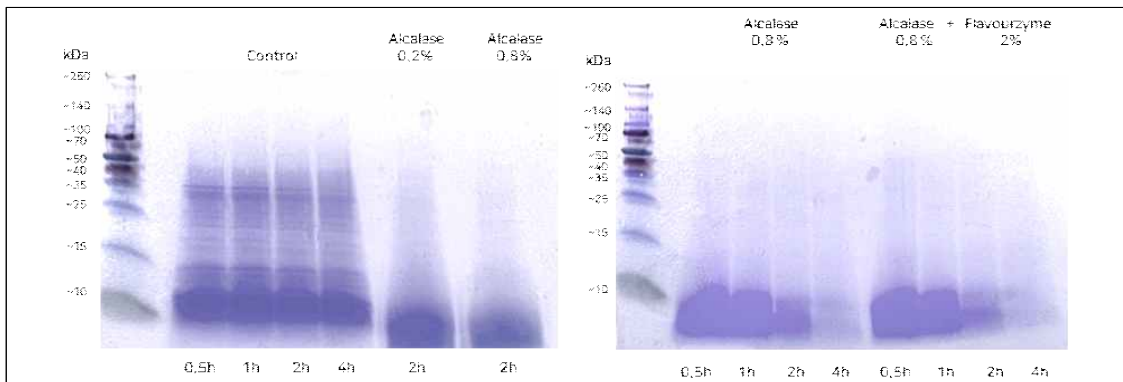
④ 단백질 가수분해물 분자량 측정

- 가수분해 전 동태등에 유충 단백질은 10 kDa 이상의 분자량 분포가 관찰되었으나, 가수분해 과정 이후의 단백질 분자량은 효소의 종류에 상관없이 대부분 10 kDa 이하의 band가 관찰되었음. Flavourzyme 투입 유무에 따라 band상에 분자량 분포의 유의미한 차이는 나타나지 않았으며, Neutralse와 Flavourzyme은 단일로 사용했을 때 Alcalase와 Protamex와 달리 band에서 10kDa 이상의 단백질 패턴이 일부 관찰되었음. 또한, 가수분해 반응 후 가수분해물의 고형분(키틴질)에 잔존하는 단백질의 분자량 밴드가 10kDa 이상에서 관찰됨에 따라 2차년도에서 가수분해 반응 효율을 높이기 위한 조건을 구체화하였음.



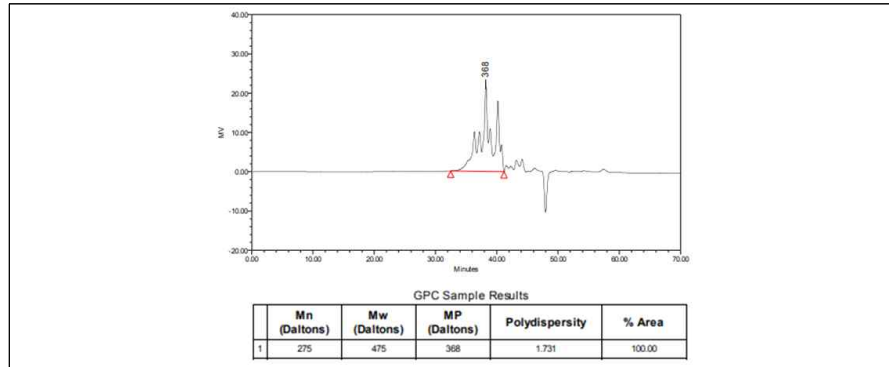
[그림 11] 1차년도 단백질 가수분해물의 SDS-PAGE 결과

- 동태등에 유충 단백질을 Alcalase 0.2%(최소 비율 첨가시 분자량 분포도 차이가 있는지 확인하기 위함)와 Alcalase 0.8%(v/w)에서 2시간 반응한 단백질 가수분해물의 분자량 분포와 Alcalase 0.8%(v/w), Alcalase 0.8% 와 Flavourzyme 2%(w/w)을 혼합한 가수분해물의 분자량 분포를 비교하였음. Alcalase 0.2%에서도 대조군 대비 10kDa 밴드 밑부분으로 단백질 분자량 분포 변화가 관찰되었고, Alcalase 0.8% 첨가한 가수분해물은 10kDa 이상의 밴드가 관찰되지 않았음. 또한 Flavourzyme의 첨가에 유무에 의한 단백질 분자량 분포의 변화는 확인되지 않았으며, 가수분해 반응 시간이 증가함에 따라 저분자량의 단백질 함량이 증가하여 gel의 분자량 밴드가 점점 열리는 것을 확인할 수 있음.



[그림 12] 최적 반응조건으로 제조한 단백질 가수분해물의 SDS-PAGE 결과

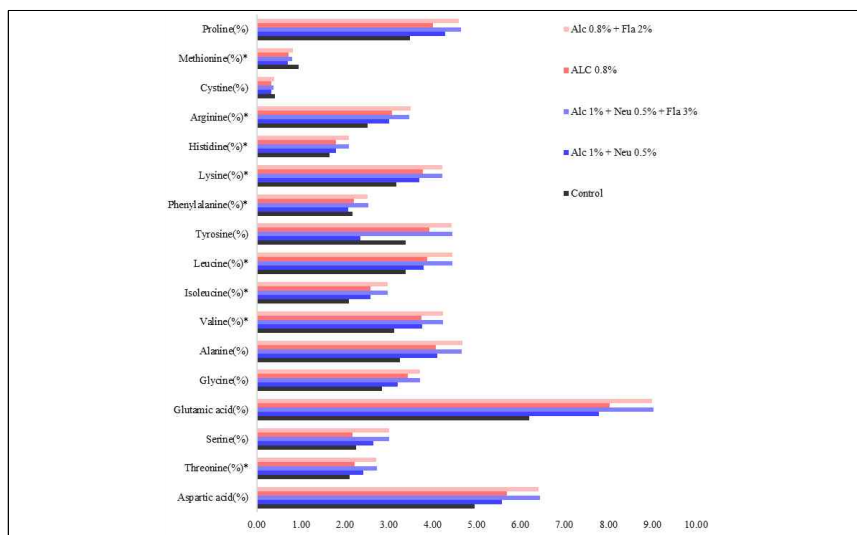
- SDS-PAGE에서 사용한 Alcalase와 Flavourzyme을 각각 0.8%(v/w), 2%(w/w) 비율로 하여 반응한 단백질 가수분해물 시료의 정확한 분자량 분포도를 확인하고자 외부기관에 GPC 분석을 의뢰하였음. 해당 시료의 중량평균분자량(Mw)은 475 Da 으로 일반적인 식이 알레르기 항원들의 분자량 분포(10kDa 이상) 이하의 단백질 가수분해물이 제조되었음을 확인함.



[그림 13] GPC 분석 결과

⑤ 단백질 가수분해물의 아미노산 변화 측정

- 동애등에 유충 탈지물, 사전 실험을 통해 얻은 가수분해 최적조건(Alc 1%+Neu 0.5%와 Alc 1%+Neu 0.5%+Fla3%)과 최적 조건 분실험을 통해 얻은 최적조건(Alc 0.8%와 Alc 0.8%+Fla 2%)을 적용하여 파일럿 규모로 생산한 각각의 가수분해물의 아미노산 함량을 외부 분석기관을 통해 분석하였음[표 10].
- 동애등에 유충 단백질은 가수분해 유무에 관계없이 반려견의 필수 아미노산을 모두 함유하고 있었으며, Flavourzyme 첨가와 가수분해 반응시간이 늘어남에 따라 전체적인 아미노산 함량이 더욱 증가함을 확인하였음.
- 동애등에 유충 단백질은 Alcalase와 Flavourzyme의 투입여부에 따라 아미노산 함량이 변화하였으며, Neutrase의 투입여부에 따른 유의미한 차이는 관찰되지 않았음. 최적조건 실험에서는 Flavourzyme 투입에 따른 가수분해도의 유의미한 차이를 관찰하지 못했지만 아미노산 함량에서는 Flavourzyme 투입에 따라 함량에 유의미한 변화가 있어 해당 효소를 첨가함으로써 맛의 기호도를 높임과 동시에 아미노산 함량을 높일 수 있는 장점을 확인함.

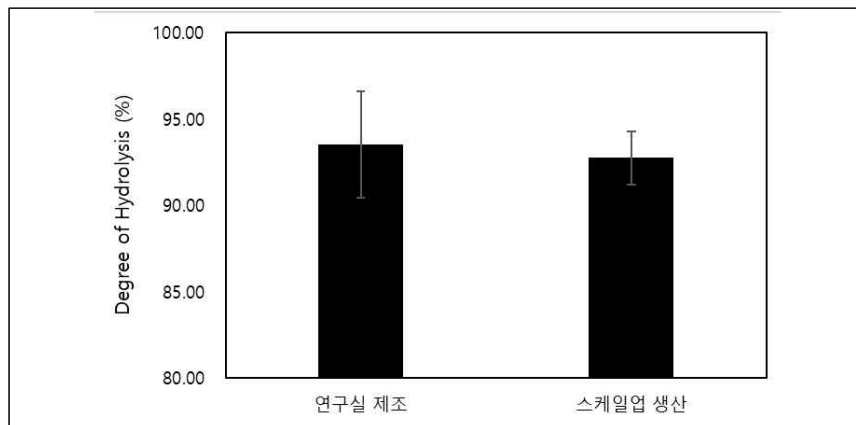


[표 10] 단백질 가수분해물의 아미노산 분석 결과

⑥ 단백질 가수분해물의 대량 생산 조건 확립

㉑ 대량생산 가수분해 단백질 원료의 품질 확인

- 동애등에 유충 단백질 가수분해 최적 조건(1차 반응(Alc 0.8%, 2시간), 2차 반응(Fla 2%, 2시간))으로 반응시킨 가수분해물을 연구실과 스케일업 생산을 통해 각각의 샘플을 회수하여 TCA 침전법을 이용하여 가수분해도를 측정된 결과, 가수분해도 결과에 큰 차이가 없음을 확인함[그림 14-1]. 마찬가지로 각각의 샘플을 원심분리한 상등액을 조단백질 함량을 외부분석기관에 의뢰하여 가수분해도를 계산한 결과 약 81.71%로 TCA 침전법에서 계산된 가수분해도와는 일부 차이가 있음을 확인함[그림 14-2].
- 이는 측정방법에 따른 오차로 생각되고, 해당 시료의 분자량 분포는 10kDa 이하로 목표로 한 제품 생산은 가능함을 확인함. 대량 생산 과정에서 최적온도 55℃를 유지하기 위한 설정온도 값(55±5℃)과 연구장비에서 최적 반응속도(1,000rpm)와 파일럿 생산장비의 반응속도(80rpm 이하) 설정에 차이가 있어, 추후 가수분해조 설비 도입 후 반복 생산을 통해 설비 규격에 따른 온도 설정, 교반 속도 등에 관한 조건을 구체화 하는 것이 필요할 것으로 사료됨.



[그림 14-1] 대량 생산 적용 시 단백질 가수분해도 변화(TCA 침전법)

시험 항목 및 결과				시험 항목 및 결과			
시험 항목	시험 기준	시험 결과	비고	시험 항목	시험 기준	시험 결과	비고
조단백질(g/100mL)	기준없음	2.57		조단백질(g/100mL)	기준없음	4.67	

[그림 14-2] 대량 생산 적용 시 단백질 가수분해도 변화(조단백 함량 적정장치)

$$\begin{aligned}
 \text{가수분해 후 조단백질 함량} &= 4.67\text{g}/100\text{mL} \\
 \text{가수분해 전 조단백질 함량} &= 2.57\text{g}/100\text{mL} \\
 \text{가수분해 전 조단백질 함량} &= 2.57\text{g}/100\text{mL}
 \end{aligned}$$

$$\text{※ 가수분해도}(\%) = \frac{\text{가수분해 후 조단백질 함량} - \text{가수분해 전 조단백질 함량}}{\text{가수분해 전 조단백질 함량}} \times 100 = 81.71(\%)$$

<가수분해도 계산식>

㉒ 가수분해 단백질 및 키틴 생산수율

- 함유율 약 56%의 동애등에 유충 기준 이론수율과 실제 생산수율을 비교하였음. 실제 설비 가동 시 공정 조건을 세분화하여 생산 수율을 이론 수율 만큼 높일 수 있는 방안을 마련할 예정임.

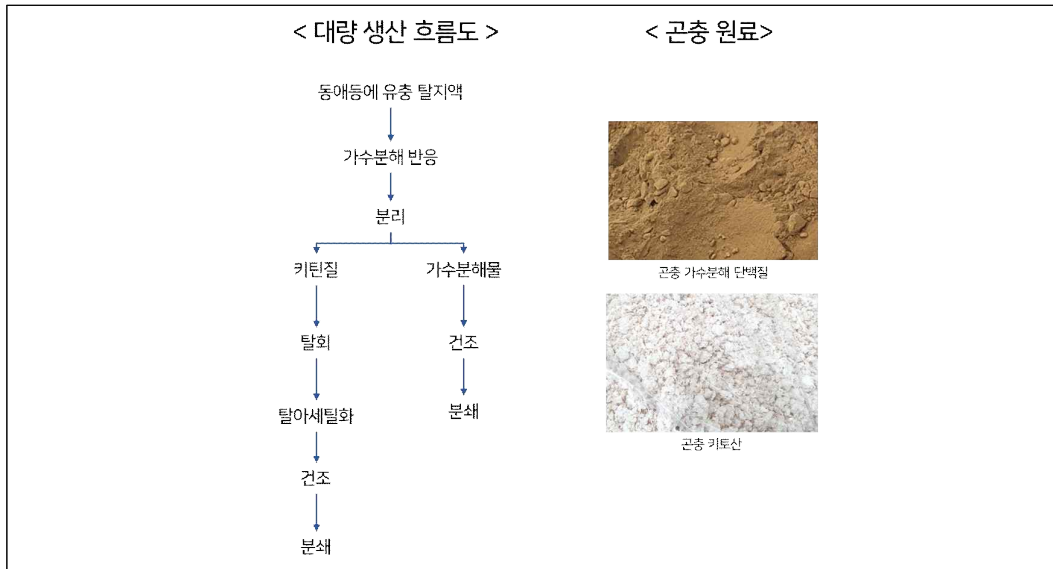
(원료: 동애등에 유충)	이론수율(%)	생산수율(%)
오일	30	23.3
가수분해 단백질	43	41.8
키틴질*	27	25.9
합계	100	91

* 회분 및 섬유질 포함

[표 11] 건조중량 대비 예상수율

㉔ 곤충(동애등에 유충) 가수분해 단백질 사료 단백질 원료 생산

- 대량생산 최적 조건으로 반려견용 가수분해 단백질 사료의 원료를 생산하였음. 2일 이상 절식된 동애등에 유충을 구매하여 자사 내 생산공장에서 전처리 후 가수분해물을 생산하였음. 이후 충남테크노파크 공동장비(100kg 동결건조기)를 활용하여 총 500kg 가수분해 단백질을 생산하였음. 곤충 키토산의 경우 사료 내 0.01% 함량으로 파일럿 규모의 생산이 가능하였음.



[그림 15] 곤충 소재 대량 생산 과정

㉕ 곤충 가수분해 단백질 및 키토산 대량 생산 시설 구축

㉕ 대량 생산 시설 용지 계약

- 대량 곤충 소재 생산 시설 구축을 위해 충북 음성 금왕 테크노밸리 산업단지 내 약 6,000평 규모의 산업용지 매매계약을 체결 및 준공을 완료하였음.



[그림 16] 산업용지 매매계약서



[그림 17] 곤충 대량 생산 시설 건축물

㉔ **대량 생산 시설 구축**

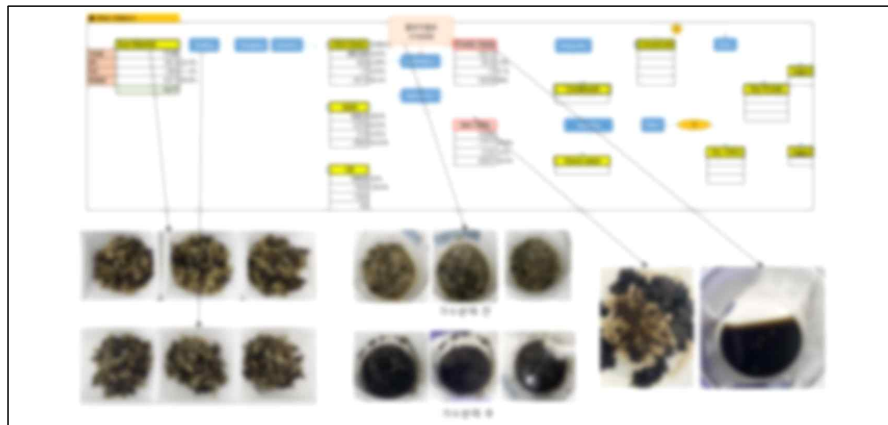
- 곤충(동애등에)을 활용한 소재 가공시설 구축을 위한 전략적 업무 협약(MOA)을 농심 엔지니어링과 체결함. 연구실 규모의 소재 생산에서 대량 생산을 위해 자사의 곤충 가공 노하우와 농심엔지니어링의 수많은 설비 구축 경험을 바탕으로 스케일업 공정 설계 및 시설 구축 협업을 진행함.



[그림 18] 전략적 업무 협약 체결

- 곤충 가수분해 단백질, 키틴 소재의 대량생산 시설구축을 위한 주요 진행 내용

- 유층 분쇄공정에서 가열 공정을 우선 반영하지 않을 경우, 산소 접촉면에 심한 갈변이 발생하여 열처리 전 공정 라인의 경우 밀폐형식의 설계가 필요하였음.
- 생산제품 품질 및 Loss율 검토: 원심분리 후 회수한 오일의 수분 최대 함량 10%, 가수분해 단백질의 단백질 최소 함량 60%, 건조 및 포장시 예상되는 분진 형태의 로스율 약 13% 이내로 검토하였음.
- **Mass Balance** 검토: 각 공정별 수율, 수분, 고형분, 오일 함량을 계산하여 최종 제품의 품질 및 회수량을 검토하였음. 이때 동애등에 유층 원료의 수분 함량에 따라 품질 변동에 예상되어 추후 유층 수급처에 따른 수분함량 검토가 필요함.



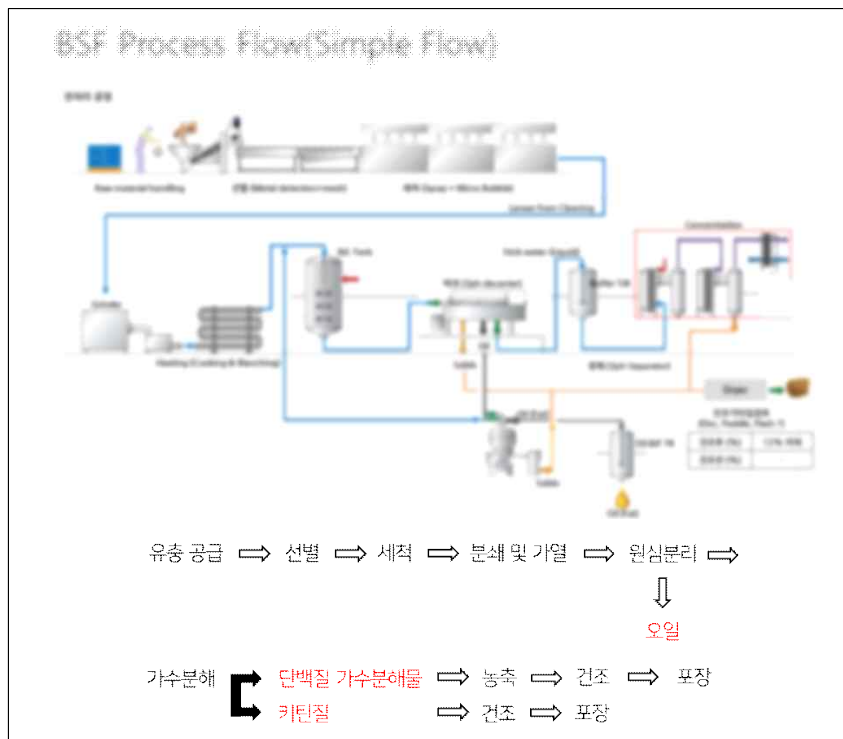
[그림 19] Mass balance 수정

- **Time Table** 검토: 탈지된 반응물을 가수분해조로 이동하여 가수분해 반응 및 회수 시간을 고려하였을 때, 앞 공정이 지연되는 문제가 발생함에 따라 가수분해 공정 설비를 증설하는 과정이 필요하였음.
- **설비 검토**: 적합한 품질의 제품을 회수하기 위해 다양한 설비 업체를 방문하여 생산 테스트를 진행하여 각 공정에 필요한 설비 규격을 구체화 함.



[그림 20] 생산설비 사전 테스트

- 생산시설 구축에 필요한 설비 규격, 공정 순서, 제품 회수율 등을 구체화하여 공정 설계를 완성하였음. 설계된 공정을 바탕으로 설비 구축 계약을 체결하였고, '23년 8월 이후 소재 생산 공장 가동 예정임.



[그림 21] 소재 가공 흐름도



[그림 22] 곤충 가공시설 계약

⑧ 곤충 키토산 및 곤충 가수분해 단백질을 활용한 애견 사료 개발

㉑ 제품화 1: 라포그 플러스, LAPOG+

- 곤충(동애등에 유충) 가수분해 단백질 및 키토산을 활용한 기능성 사료를 제품화 하였음. 곤충 가수분해 단백질에 대해 기존 사료 제조업체에서 사용한 사례가 없어 물성에 대한 시생산 테스트가 필수적임. 위탁 제조사 ‘바우와우’의 생산 설비와 일반적인 사료 레시피를 기반으로 생산 테스트를 진행하였음.

- 생산 테스트 결과

· 사료 내 가수분해 단백질 함량을 각각 5%, 7%, 9%, 15%로 하여 생산 테스트 진행하였음. 5, 7, 9% 함량에서는 대체적으로 사료의 형상이 잘 만들어지나 15%를 첨가할 경우 사료 원료들 간의 결집력이 떨어져 사료의 형성이 잘 이루어지지 않아 10% 내외로 첨가하였음.

- 기호성 테스트

· 각각 동애등에 오일과 연어오일을 첨가한 시제품을 제조하여 자사에서 컨택하고 있는 강아지 미용 업체 수강생들의 반려견 13마리를 대상으로 총 기호성 테스트를 진행하였음.

	양호	보통	불호
동애등에 오일 첨가 시제품	5	5	3
연어 오일 첨가 시제품	8	5	0

[표 12] 동애등에, 연어 오일 첨가에 따른 기호도 테스트 결과

- 사료 레시피 개발

· 초기 레시피: 쌀가루, 쌀단백, 동애등에 가수분해물, 연어오일, 감자전분, 바나나분말, 탄산칼슘, 비타민미네랄합제, 비타민c, 토코페롤, 키토산, 로즈마리추출물, 유화제, 산도조절제, 코코넛오일, 소르빈산칼륨

· 초기 원료 중에서 칼륨, 식이섬유 공급을 위해 첨가한 바나나, 코코넛은 강아지의 식이 알레르기 유발 비율이 높은 원료 중 하나임을 확인하였음. 해당 원료들은 제품 컨셉과 맞지 않는다는 판단으로 레시피를 재수정 하였음.

· 수정 레시피: 바나나를 감자전분 및 비타민 미네랄 합제의 양을 증가하여 대체하였으며, 코코넛은 연어오일 및 감자전분으로 대체하였음. 수정 레시피에서 알레르기 위험 요소는 쌀, 연어오일, 감자전분이 될 수 있음.

- 1차 시제품 테스트

· 수정 레시피를 바탕으로 1차 시제품을 생산하여 검토하였음.

- 물성: 탄성이 느껴지며, 적절한 반습식 사료
- 이취여부: 동애등에 가수분해 단백질 원료 특유의 향이 강하나, 거부감이 드는 이취가 발생하지 않음.
- 기타사항: 시제품이다보니 수제 가공 사료이나 입자들이 일정하지 않음.

· 검토 결과에 따라 원료 입자의 분쇄 및 배합 방식 개선을 위탁 제조사에 요청하여 2차 시제품 테스트를 진행하였음.

- 2차 시제품 테스트

- 1차 테스트 결과에서 문제점이었던 원료 입자의 분쇄 및 배합이 개선되었는지 확인하였음.
 - 물성: 1차 시제품과 비교하였을 때, 약간 단단하지만 큰 차이는 없음
 - 이취여부: 1차 시제품과 차이 없음.
 - 기타사항: 사료 단면에 큰 입자들이 보이지 않게 개선되었고, 사료의 색상이 더 짙어짐.
- 2차 테스트를 통해 제품화에 적절한 품질을 검토하여 최종적으로 가수분해 단백질 사료를 제품화하였음. 위탁 제조사를 통해 생산된 최종 제품은 시제품 대비 일정한 모양과 사료 크기를 줄인 반습식 형태의 제품임.



[그림 23] 제품 개선 과정

- 제품 패키지 디자인 제작

- 처방식 사료의 깔끔하고 간결한 디자인 제작을 목표로 사료에 대한 기능성을 강조하여 패키지 전면에 한글 및 영문으로 작성하였음. 동물병원 전용 처방식 사료임을 강조하기 위해 ‘+’ 기호를 추가하고 제조사 생산시설의 품질인증 마크를 넣어 제품 품질 안전성을 강조함.



[그림 24] 라포그플러스 패키지 디자인



[그림 25] 라포그플러스 패키지

㉔ 제품화 2: 리얼인섹트 웨이트밸런스

- 현재 대부분의 강아지 사료는 기호성을 우선순위로 하여 제조되고 있으며, 부가가치를 높이기 위한 기능성 원료를 첨가한 사료를 출시하는 사례가 증가하고 있음. 이러한 부가 기능성으로는 관절, 피로, 눈건강, 다이어트 등이 있음.
- 국내 반려견들은 실내에서 주로 생활하는 특징이 있어 체중 조절에 대한 소비자 니즈가 꾸준히 발생하고 있음에 따라 반려견의 체중 조절, 장 건강에 도움을 줄 수 있는 원료들을 조사하여 제품화 하였음.
- 동물성 단백질 원료를 곤충(동애등에 유충)을 통한 100% 단일 비노출 단백질원 공급으로 단일화하여 식이 알레르기 유발 가능성을 감소, 체중 조절 기능성 원료를 첨가, 식이 알레르기를 유발할 수 있는 곡물 첨가 배제, 방부제 무첨가 제품임.



[그림 26] 제품 개요

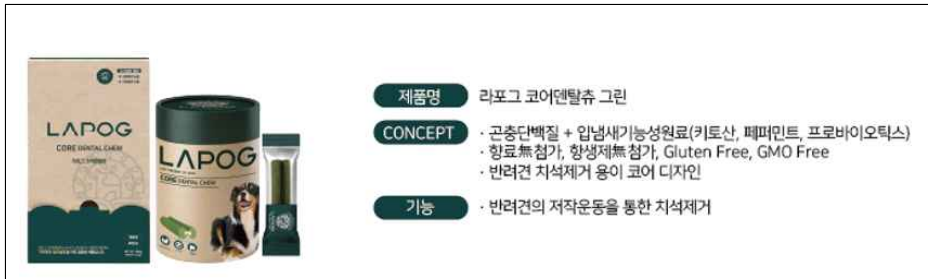
- 체중 조절에 도움을 주는 원료로 가르시니아 추출물을 첨가하여 체내 지방 생성 억제, 스피루리나를 첨가하여 체내 콜레스테롤 수치 감소를 기대할 수 있도록 하였음. 장 건강에 도움을 주는 원료로 유카추출물의 변 냄새 감소, 식이섬유를 첨가하여 장의 연동운동에 도움이 되도록 하였음.
- **기호성 테스트**
 - 곤충 단백질을 전체 원료 중 20% 첨가한 시제품 사료를 활용하여 기호성 테스트를 진행하였음. 자사에서 컨택하고 있는 강아지 미용 업체 수강생들의 반려견을 대상으로 총 14일간 기호성 테스트를 진행하였음. 총 13마리 중 10 마리의 기호성이 우수하였고, 변 상태 또한 양호함을 견주들을 통해 확인함.
- **제품 패키지 디자인 제작**
 - 사료 파우치를 한번 뜯으면 밀봉이 어려워 지퍼백이나 소분 형태 포장을 선호하는 소비자 니즈를 반영하여 소분 형태로 패키지를 제작하였음. 자사의 강아지 캐릭터를 활용하여 친밀한 이미지와 기능성 원료 첨가한 내용을 패키지 앞면에 첨부하여 소비자들이 쉽게 선택할 수 있도록 디자인 하였음.



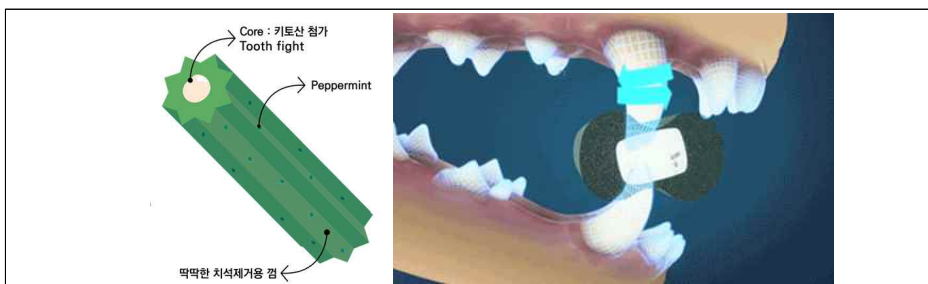
[그림 27] 리얼인섹트 패키지 디자인

㉔ **제품화 3: 코어덴탈츄 그린**

- 9~10cm 크기의 딱딱하고 치석제거를 도와주는 모양의 간식으로 코어부분에 곤충키토산과 페퍼민트 알갱이를 첨가하여 구취 감소, 치석제거, 유탄스균 감소 효과를 기대할 수 있는 동애등에 단백질, 키토산을 첨가한 강아지용 덴탈껌임.



[그림 28] 제품 개요



[그림 29] 제품 구성

- 강아지의 구강 청결에 도움을 주면서 100% 휴먼그레이드 원료를 사용하여 제품 개발을 진행함. 항균 효과를 기대할 수 있는 원료로 곤충 키토산, 페퍼민트, 프로바이오틱스를 첨가하였고, 치아 건강에 도움을 줄 수 있는 스피루리나, 녹차, 다시마, 클로렐라, SHMP를 원료로 사용하였음. 맛 개선을 위해 곤충 단백질을 3% 첨가하였으며, 곤충 키토산은 0.01% 첨가하였음.
 - 키토산: 천연 물질로 유해 충치균이 반려견 이빨에 부착되는 것을 예방
 - 페퍼민트: 구취를 제거하고 유해충치균 억제, 풍부한 비타민
 - 프로바이오틱스: 체내 유익균 증가
 - 스피루리나: 구취 개선
 - 녹차: 구취개선, 유해균 억제
 - 다시마, 클로렐라: 구취개선, 염록소 풍부
 - SHMP: 구취개선, 구강 건강에 도움
- 곤충 소재를 활용한 제품으로 친환경을 컨셉으로 그린 색상을 활용한 패키지 디자인을 제작하였음.

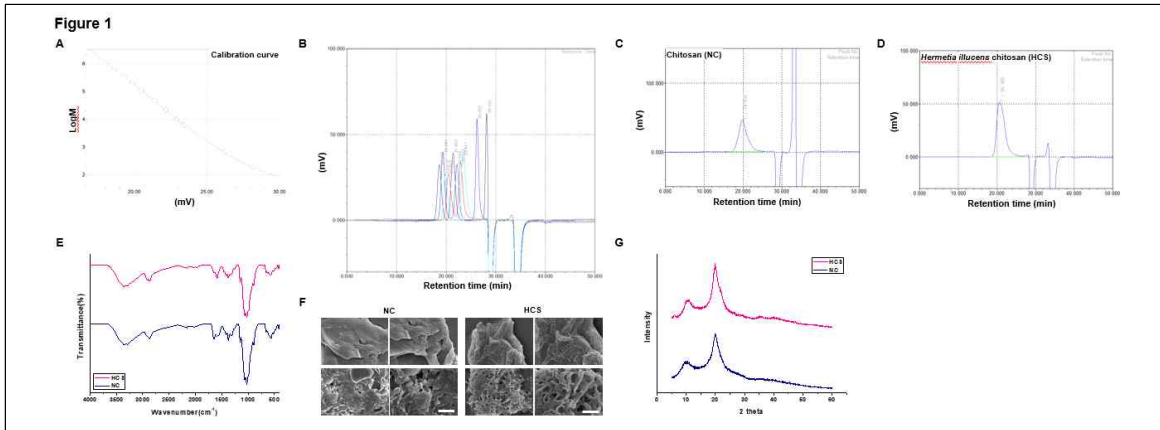


[그림 30] 코어덴탈츄 그린 패키지 디자인

(나) 공동연구개발기관(대구한의대학교 산학협력단)

① 곤충 유래 키토산의 혈중 콜레스테롤 개선 효능 입증

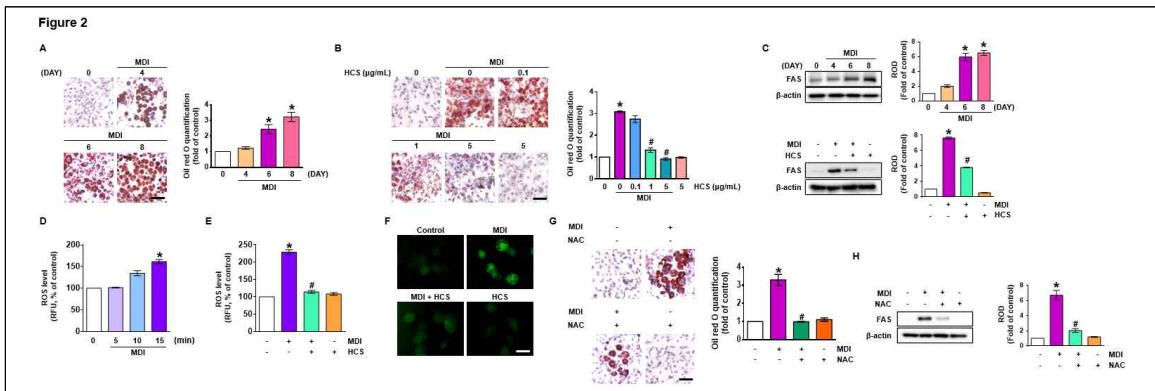
㉞ 동애등에 키토산의 특성화



[그림 1] 동애등에 키토산의 특성화

- 동애등에 키토산(*Hermetia illucens* chitosan, HCS)을 분리 및 정제하였으며, 분자량, 탈아세틸화도 및 결정화도를 규명하기 위해 Gel permeation chromatography(GPC), Fourier-transform infrared spectroscopy(FT-IR) 및 X-ray diffraction(XRD)을 활용하여 키토산을 특성화함.
- 표준 물질로 Polysaccharide을 사용하였으며, 10종의 표준품 Polysaccharide 180Mw (molecular weight), 667Mw, 6100Mw, 9800Mw, 22000Mw, 47100Mw, 107000Mw, 194000Mw, 339000Mw, 642000Mw를 사용하여 표준 검량선을 작성함 [그림 1A, B].
- 분자량이 50,000~270,000(50kDa~270kDa)인 갑각류 키토산(Normal chitosan, NC)을 양성 대조군(positive control)으로 사용하여 겔 투과 크로마토그래피 실험을 진행한 결과, 갑각류 키토산의 분자량 크기는 약 270kDa으로 나타남 [그림 1C]. 동애등에 키토산을 사용하여 겔 투과 크로마토그래피 실험을 진행한 결과, 분자량 크기는 약 83kDa으로 나타남 [그림 1D].
- FT-IR 분석을 통해서 갑각류 키토산의 탈아세틸화도는 75.50%이며 동애등에 키토산의 탈아세틸화도는 82.79%임을 확인함 [그림 1E]. 갑각류 키토산보다 동애등에 키토산이 다공성의 표면을 가지는 것을 주사전자현미경(Field emission scanning electron microscope, SEM) 사진으로 관찰함 [그림 1F], XRD 분석을 통해 갑각류 키토산 및 동애등에 키토산의 결정화도가 각각 40.3%, 32.8%임을 확인함 [그림 1G].
- 이와 같은 결과는 일반 갑각류 키토산보다 동애등에 키토산이 더 작은 분자량, 높은 탈아세틸화도, 다공성의 표면, 낮은 결정화도를 가진다는 것을 통해 식품 및 의료 응용에 적합한 특성을 가짐을 의미하며 그 활용도가 높을 것으로 기대됨.

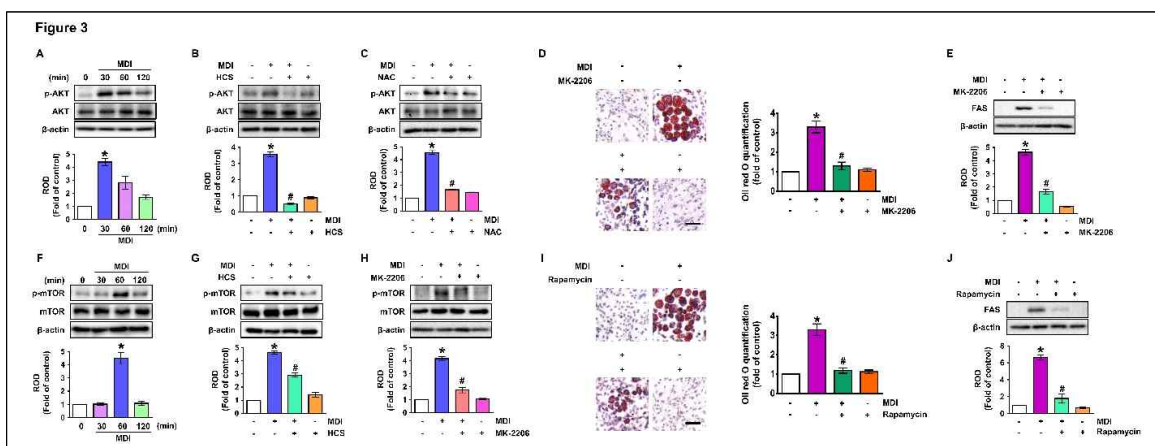
㉔ 동애등에 키토산의 지방합성 억제 및 활성산소 발생 억제 기전 규명



[그림 2] 동애등에 키토산의 지방합성 억제 및 활성산소 발생 억제 기전 규명

- 분화유도물질(methylisobutylxanthine+dexamethasone+insulin, MDI)에 의한 지방전구세포(Preadipocyte, 3T3-L1)의 지방 분화 과정에서 동애등에 키토산(*Hermetia illucens* chitosan, HCS)의 지방 합성 억제 및 항산화 효과를 규명함.
- 지방전구세포는 성숙한 지방 세포로 분화시 산화 효소의 발현이 증가되어 활성산소종(reactive oxygen species, ROS)을 발생시킨다고 알려져 있으며, 그 활성산소종이 세포로 확산되어 인슐린 저항성을 유발한다고 알려짐.
- MDI를 함유한 배지는 6일째부터 3T3-L1의 분화를 유도하여 세포의 크기를 증가시키고 지질 방울 형성 및 지방 합성을 유발함 [그림 2A]. MDI로 인해 분화된 세포에서 동애등에 키토산 1 μg/mL 이상의 농도에서부터 지방 합성 억제 효과가 있음을 오일레드오 실험으로 확인함 [그림 2B]. 지방 생성을 조절하며 지질 대사 효소의 발현을 활성화하는 fatty acid synthesis(FAS)의 인산화는 MDI 처리 후 6일부터 증가했으며 동애등에 키토산이 이를 억제시키는 것을 확인함 [그림 2C].
- 3T3-L1에 지방 분화를 유도하는 물질인 MDI를 처리했을 때, 대조군과 비교하여 ROS의 유의적인 증가가 15분째에 관찰됨 [그림 2D]. 증가한 ROS는 동애등에 키토산의 처리로 감소될 수 있음을 확인하였고 [그림 2E], 이를 형광 현미경으로 관찰함 [그림 2F]. MDI와 항산화제 표준품인 N-acetylcysteine(NAC)을 함께 처리시 MDI의 지방 분화 효과가 유의적으로 억제됨 [그림 2G]. MDI 처리로 증가된 FAS 단백질의 인산화 수준은 NAC 처리로 감소되는 것을 관찰함 [그림 2H].
- 이와 같은 결과는 MDI로 인한 지방 생성 반응의 진행에 있어서, 동애등에 키토산이 세포 내 지방 합성 억제 및 항산화 기능이 있음을 의미하고 그 활용도가 높을 것으로 기대됨.

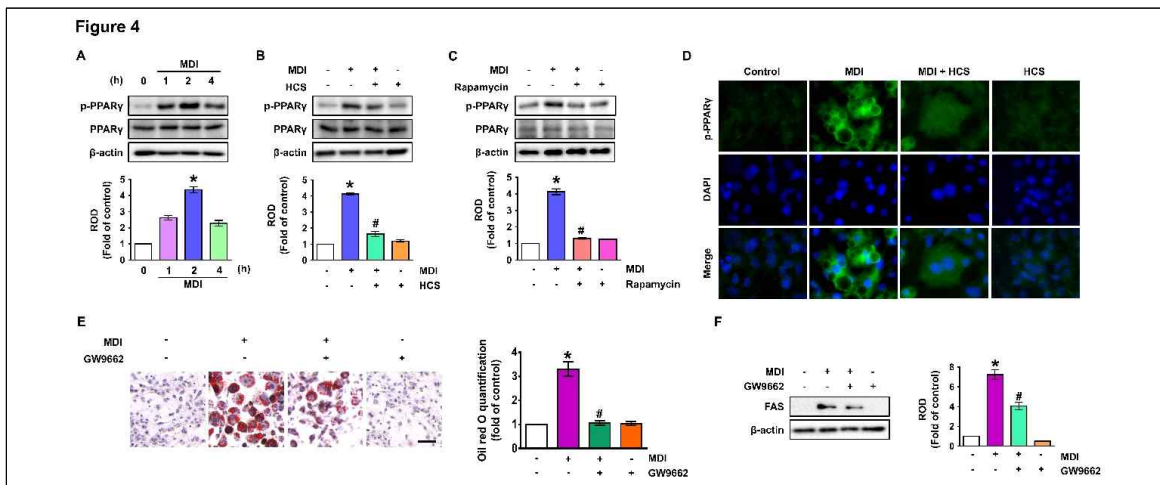
㉕ 동애등에 키토산의 지방 분화 신호전달 단백질 제어 기전 규명



[그림 3] 동애등에 키토산의 지방 분화 신호전달 단백질(AKT, mTOR) 제어 기전 규명

- MDI에 의한 3T3-L1의 지방 분화 과정에서 동애등에 키토산의 지방 분화 신호전달 단백질 제어 기전을 규명함. ROS의 하위 기전으로 알려진 ser/thr kinase AKT(AKT)와 AKT의 대표적인 하위기전인 mTOR(mechanistic target of rapamycin)은 포도당 조절 및 지질 대사에 관여하는 것으로 밝혀짐.
- MDI 처리로 AKT와 mTOR의 인산화가 30분 및 60분째부터 증가하는 것을 관찰함 [그림 3A, 3F]. 증가된 인산화 수준은 동애등에 키토산 처리로 억제되었음 [그림 3B, 3G]. ROS의 억제제인 NAC 및 AKT의 억제제인 MK-2206의 처리로 AKT 및 mTOR의 인산화가 감소됨 [그림 3C, 3H]. MDI와 MK-2206 및 mTOR의 억제제인 Rapamycin의 처리로 분화된 세포에서 지방 합성이 감소되는 것을 확인함 [그림 3D, 3I]. 분화된 3T3-L1에서 증가된 FAS 단백질 발현 수준이 MK-2206 및 Rapamycin의 처리로 억제되는 것을 확인함 [그림 3E, 3J].
- 이와 같은 결과는 동애등에 키토산이 지방 합성 과정에 있어서 신호전달 단백질을 제어함으로써 지질 축적 억제 효과가 있음을 시사하고 체중 조절 사료 첨가물로서 그 활용도가 높을 것으로 기대됨.

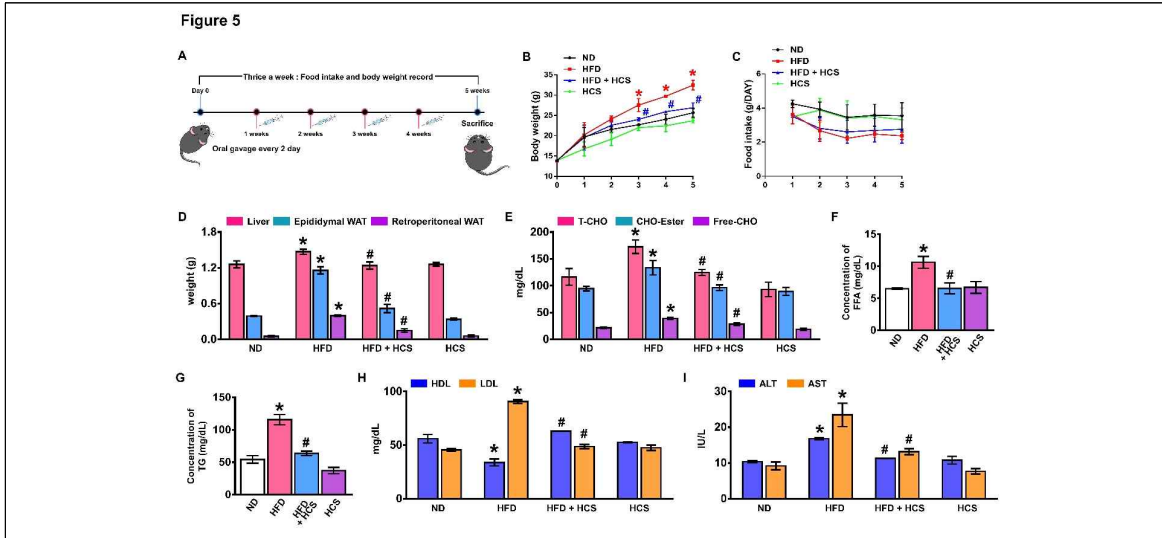
㉔ 동애등에 키토산의 지방 분화 신호전달 전사인자 제어 기전 규명



[그림 4] 동애등에 키토산의 지방 분화 신호전달 전사인자(PPAR γ) 제어 기전 규명

- MDI에 의한 3T3-L1의 지방 분화 과정에서 동애등에 키토산의 지방 분화 및 합성 신호전달 전사 인자 제어 기전을 규명함. 지방 분화 과정에서 PPAR γ (peroxisome proliferator-activated receptor gamma)는 지방의 생성, 지질 저장, 인슐린 및 포도당 대사 조절의 핵심 인자로 알려져있으며 지방 표현형 발달에 관여하는 지방 특이적 유전자의 발현을 조절한다고 보고됨.
- 3T3-L1 세포에 MDI 처리 후 2시간째 가장 PPAR γ 의 인산화가 증가하는 것을 확인함 [그림 4A]. 동애등에 키토산의 처리로 PPAR γ 의 인산화가 억제되는 것을 확인했으며 이를 형광 염색으로 시각화함 [그림 4B, 4D]. mTOR 억제제 Rapamycin의 처리로 PPAR γ 의 인산화가 감소되는 것을 확인함 [그림 4C]. PPAR γ 억제제 GW9662를 처리하여 지질 축적이 감소하는 것을 확인함 [그림 4E]. 분화된 3T3-L1에서 증가한 FAS 단백질 발현이 GW9662 처리로 감소되는 것을 확인함 [그림 4F].
- 이와 같은 결과는 동애등에 키토산이 지질 합성의 핵심 전사인자인 PPAR γ 를 제어함으로써 지방 합성 억제 효과가 있음을 의미하고 비만 관련 질환에서 지질 대사 조절 및 인슐린 저항 효과가 있을 것으로 생각됨.

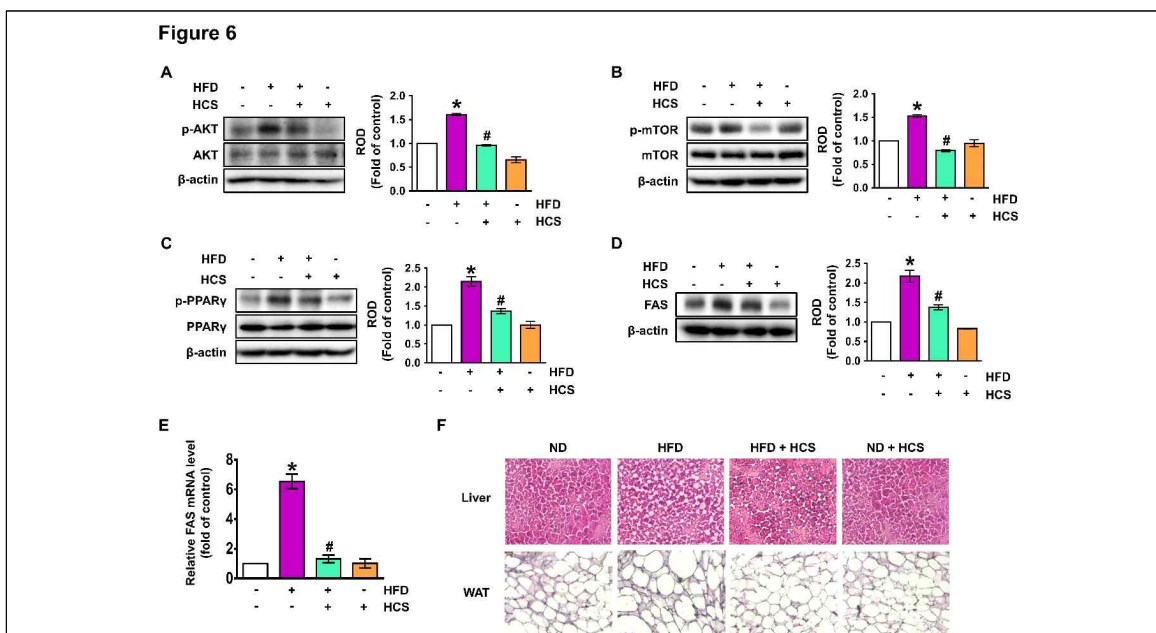
㉔ 동물 비만모델 내 동애등에 키토산의 항비만 효과 규명



[그림 5] 동애등에 키토산 항비만 효과 입증

- 5주 동안 마우스에게 일반 식이(normal diet, ND) 또는 고지방식이(high fat diet, HFD)를 동애등에 키토산과 함께 급여하였음 [그림 5A]. 고지방식이를 섭취한 마우스에서 체중 증가가 나타났으며 고지방식이와 동애등에 키토산을 함께 섭취한 마우스(HFD+HCS)에서는 체중 감소 효과가 나타남 [그림 5B]. 일반 식이를 섭취한 그룹과 동애등에 키토산과 함께 일반 식이(ND+HCS)를 섭취한 그룹보다 고지방식이를 섭취한 두 그룹(HFD, HFD+HCS)의 섭취량이 더 낮은 것을 확인했으며 이는 몸무게 차이로 보이는 것보다 동애등에 키토산의 항비만 효과가 더 크다는 것을 의미함 [그림 5C]. 간(Liver), 후복막 지방(Retroperitoneal WAT) 및 부고환 지방(Epididymal WAT)의 무게는 고지방식이를 섭취한 마우스보다 동애등에 키토산과 함께 고지방식이를 섭취한 마우스에서 효과적으로 감소하는 것을 확인함 [그림 5D].
- 이러한 결과는 동애등에 키토산이 고지방식으로 유도된 비만 마우스에서 체중 감소의 효과를 나타내며 이는 비만 마우스에서 지방 생성과 지질 대사를 개선시킬 수 있는 가능성이 있음을 의미하므로 체중 조절 사료 첨가물로서 그 활용도가 높을 것으로 기대됨.
- 일반적으로 공복 혈장 지질 수치를 나타내는 것으로 알려진 총 콜레스테롤 (total cholesterol, TC), 트리글리세라이드(triglyceride, TG), 저밀도 지단백 콜레스테롤(low density cholesterol, LDL) 수준의 증가는 혈중 지질 농도가 상승하는 것을 의미함. 총 콜레스테롤은 콜레스테롤 에스테르(cholesteryl ester)와 유리 콜레스테롤(free-cholesterol, Free-CHO)로 이루어져 있음. 또한 지방 축적시 유리 지방산(free fatty acid, FFA)를 증가시키는 것으로 알려져 있음. 고밀도 지단백 콜레스테롤(high density cholesterol, HDL)은 혈액 내 과도하게 존재하는 콜레스테롤을 간으로 이동시키는 역할을 하는 것으로 알려져 있음.
- 고지방식이를 섭취한 마우스군에서 일반 식이를 섭취한 마우스 군에 비해 총 콜레스테롤, 콜레스테롤 에스테르, 유리 콜레스테롤, 트리글리세라이드 수치가 크게 증가했지만 동애등에 키토산과 함께 고지방식이를 섭취한 마우스 군에서는 일반 식이 마우스군과 비슷한 정도로 수치가 감소하는 것을 확인함 [그림 5E-G]. 마찬가지로 저밀도 지단백 콜레스테롤 수치는 고지방식이를 섭취한 마우스에서 증가하고 동애등에 키토산의 섭취로 감소되었으나 고밀도 지단백 콜레스테롤 수치는 고지방식이를 섭취한 마우스 군에서 감소하고 동애등에 키토산의 섭취로 증가하였음 [그림 5H].
- 알라닌 아미노전이효소(alanine aminotransferase, ALT)와 아스파테이트 아미노전이효소(aspartate aminotransferase)는 간 독성과 간 질환의 유무를 추측할 수 있는 중요한 척도로 간주됨.

- 일반 식이를 섭취한 마우스군보다 고지방식을 섭취한 마우스군에서 알라닌 아미노전이효소와 아스파테이트 아미노전이효소의 혈장 농도가 증가했지만 동애등에 키토산을 함께 섭취한 고지방식이 마우스군에서는 일반식이를 섭취한 마우스군과 비슷한 정도로 혈장 농도가 감소되는 것을 확인함 [그림 5].
- 이러한 결과는 동애등에 키토산이 혈장 T-CHO, CHO-Ester, Free-CHO, TG, LDL-C, FFA 수준을 유의적으로 감소시킬 수 있음을 의미하고 나아가 비만을 원인으로 발생하는 고혈당증 및 고지혈증을 개선시킬 수 있을 것으로 생각됨. 또한 동애등에 키토산이 혈장 ALT, AST 수치도 유의적으로 감소시키기 때문에 지방 간 유발 비만에도 효과가 있을 것으로 생각됨. 따라서 동애등에 키토산이 비만, 혈장 지질 수준, 고지혈증 및 이와 관련된 합병증의 예방에 기여할 수 있는 가능성이 있기 때문에 체중 조절 사료 첨가물로서 그 활용도가 높을 것으로 예상됨.



[그림 6] 동물비만모델 내 지방 분화 신호전달 인자 분석을 통한 동애등에 키토산의 항비만 효과 규명

- 동물비만모델에서 조직학적 분석을 통해 동애등에 키토산의 항 비만효과를 규명함. 고지방식을 섭취한 마우스군에서 AKT, mTOR, PPAR γ , FAS의 인산화가 증가되었지만 동애등에 키토산과 함께 고지방식을 섭취한 마우스군에서 AKT, mTOR, PPAR γ , FAS의 인산화가 유의적으로 감소하는것을 확인함 [그림 6A-D]. 고지방식을 섭취한 마우스군에서에서 증가된 FAS mRNA 발현 수준이 동애등에 키토산과 함께 고지방식을 섭취한 마우스군에서 감소되는 것을 확인함 [그림 6E].
- 지방간, 복부 및 내장 지방이 지방축적과 관련한 비만에서 대사 증후군과 관련이 있다고 알려짐. 고지방식을 섭취한 마우스군에서 간 지방증 및 지방 세포의 크기가 증가하는 것이 나타나지만 동애등에 키토산과 함께 고지방식을 섭취한 마우스 군에서는 간 지방증 및 지방세포 비대가 유의적으로 감소하는 것을 간 조직 및 지방 조직 절편의 H&E 염색 현미경 사진으로 확인함 [그림 6F].
- 이러한 결과는 동애등에 키토산이 고지방식으로 유도된 비만 마우스에서 지방생성에 관여하는 효소와 전사인자 및 호르몬 등을 조절할 수 있음을 나타내며 항비만 생리활성의 가능성이 있어 체중 조절 사료 첨가물로서 그 활용도가 높을 것으로 기대됨.

② 곤충 유래 가수분해 단백질의 저 알러지 사료 소재 기능성 입증

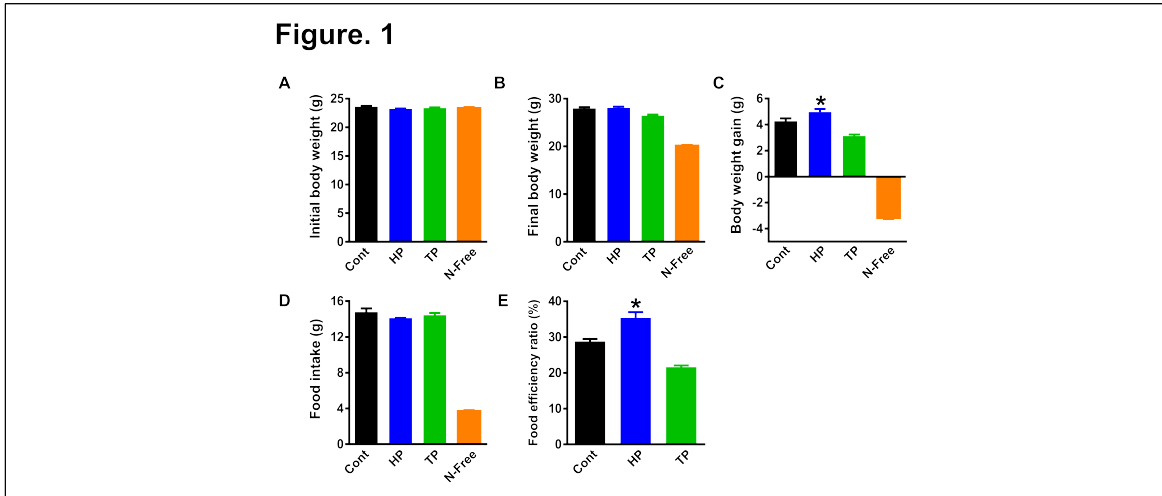
㉠ 동애등에 가수분해 단백질 사료 조성

Ingredient (g/Kg)	Control	HP	TP	N-free
HP		200		
TP			200	
Casein	200			
Sucrose	431.8	431.8	431.8	631.8
Corn Starch	200.0	200.0	200.0	200.0
Corn Oil	54.6	54.6	54.6	54.6
Cellulose	66.462	66.462	66.462	66.462
Vitamin Mix	10.0	10.0	10.0	10.0
Ethoxyquin (antioxidant)	0.01	0.01	0.01	0.01
Mineral Mix	13.37	13.37	13.37	13.37
Calcium Phosphate, dibasic	23.72	23.72	23.72	23.72
Calcium Carbonate	0.038	0.038	0.038	0.038

[표 1] 동애등에 가수분해 단백질(HP) 및 갈색 거저리 단백질(TP) 사료 조성

- 곤충 가수분해 단백질의 소화성 실험을 위해 2주 동안 마우스(ICR)를 Control, HP(Hermetia illucens hydrolysis protein), TP Tenebrio molitor hydrolysis protein) 및 N-free 군으로 나누어 실험을 진행함. 단백질 공급원으로 카제인을 사용한 Control(대조군) 식단, 동애등에 가수분해 단백질 및 갈색 거저리 단백질을 사용한 HP 및 TP 식단, 내인성 단백질량의 추정을 위해 단백질이 없는 N-Free(무단백질) 식단을 공급하였음.
- 각 식단별로 옥수수 전분(Corn starch), 옥수수유(Corn oil), 셀룰로스(Cellulose), 비타민 믹스(Vitamin mix), 에토시퀸(Ethoxyquin), 미네랄 믹스(Mineral mix), 인산칼륨(Calcium Phosphate, dibasic) 및 탄산칼륨(Calcium Carbonate)의 함량은 동일하며 자당(Sucrose) 함량의 경우 control, HP 및 TP 식단의 함량은 431.8 g/Kg로 동일하지만 N-free 식단은 631.8 g/Kg로 가장 높음.

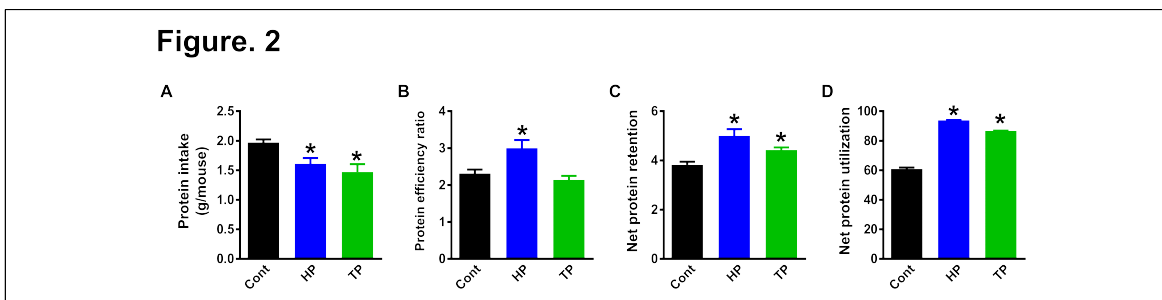
㉔ 동애등에 가수분해 단백질 사료 효율 평가



[그림 7] 동애등에 가수분해 단백질 사료 효율 평가

- ICR 5주령 마우스 모델에서 2주간 Control, HP, TP 및 N-free군의 체중변화를 관찰한 결과 초기 체중(Initial body weight)은 모든 군에서 비슷하며 [그림 1A], 실험 종료 후 체중의 변화(Final body weight, Body weight gain)는 HP, Control 및 TP군 순으로 증가했고 N-Free군에서는 무게가 감소하는 것을 확인함[그림 1B, C]. N-Free군 외에 그룹간의 식이 섭취량(Food intake)은 차이가 없었으며 사료 효율(Food efficiency ratio)의 경우 HP, Control 및 TP 순으로 높았음[그림 D, E]. 이러한 결과는 표준(육류) 단백질 식단 및 갈색 거저리 단백질 식단을 섭취한 그룹보다 동애등에 단백질 식단을 섭취한 그룹의 식이 품질이 더 우수하다는 것을 의미함.

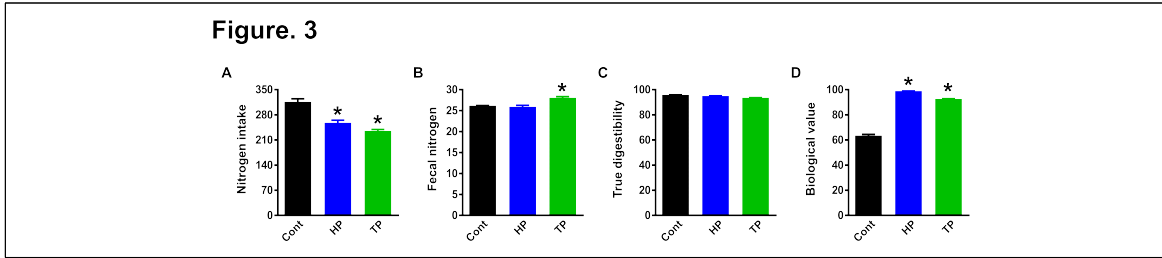
㉕ 동애등에 가수분해 단백질 이용률 평가



[그림 8] 동애등에 가수분해 단백질 이용률 평가

- 각 단백질에 대한 이용 효율을 알아보기 위해 단백질 섭취량(Protein intake)을 측정하여 단백질 효율(Protein efficiency ratio), 순 단백질 보유율(Net protein retention), 순 단백질 이용률(Net protein utilization)을 측정함. 단백질 섭취량은 대조군보다 HP 및 TP군이 낮지만[그림 2A], 단백질 효율은 HP군이 가장 높은 것을 확인하였음[그림 2B]. 순 단백질 보유율은 HP, TP, 대조군 순으로 높았으며[그림 2C], 순 단백질 이용률의 경우 대조군보다 HP 및 TP군에서 높은 것을 확인할 수 있었음[그림 2D]. 이러한 결과는 표준(육류) 단백질 식단을 섭취한 그룹보다 동애등에 단백질 식단 및 갈색 거저리 단백질 식단의 단백질 밀도가 높다는 것을 의미함.

㉔ 동애등에 가수분해 단백질 소화율 평가



[그림 9] 동애등에 가수분해 단백질 소화율 평가

- 각 단백질에 대한 소화성 평가를 위해 질소 평형법을 사용하여 질소 섭취량(Nitrogen intake), 대변 질소 함유량(Fecal nitrogen), 순 소화율(True digestibility), 생물학적 가치(Biological value)를 측정함. 질소 섭취량은 대조군이 가장 높았으며[그림 3A], 대변 질소 함유량은 TP군이 가장 높은 것을 확인함[그림 3B]. 순 소화율은 모든 군에서 비슷한 수치임을 확인했고[그림 3C], 생물학적 가치는 HP, TP 및 대조군 순으로 높은 것을 확인함[그림 3D]. 이와 같은 결과는 동애등에 가수분해 단백질 및 갈색 거저리 단백질의 생물학적 이용 가능성이 높다는 것을 의미하며 사료 첨가물로서 그 활용도가 높을 것으로 기대됨.

㉕ 동애등에 가수분해 단백질 장기 독성 평가

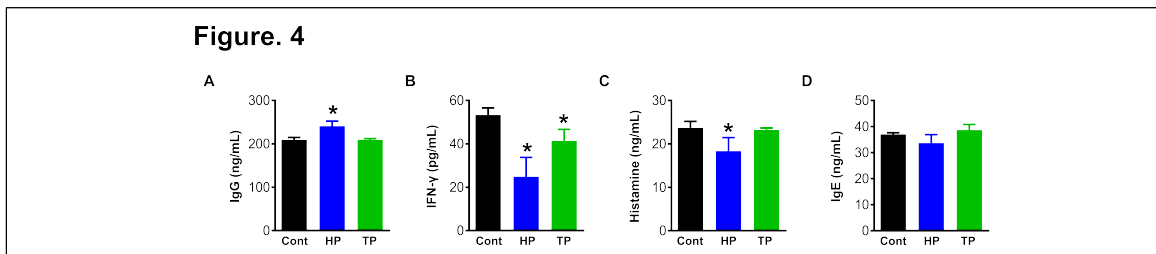
Table 2. Effect of control, HP and TP on internal organ weight, AST and ALT levels in mice.

	Control	HP	TP
Liver (g)	1.883 ± 0.028	1.725 ± 0.046	1.730 ± 0.038
Heart (g)	0.217 ± 0.004	0.215 ± 0.005	0.230 ± 0.005
Kidney (g)	0.298 ± 0.004	0.271 ± 0.003	0.290 ± 0.006
Spleen (g)	0.126 ± 0.006	0.122 ± 0.008	0.122 ± 0.006
AST (IU/L)	16.88 ± 0.6592	16.71 ± 0.8642	16.44 ± 0.3807
ALT (IU/L)	3.895 ± 0.1799	4.462 ± 0.237	3.855 ± 0.1242

[표 2] 동애등에 가수분해 단백질 장기 독성 평가

- 장기 독성에 대한 식단의 영향을 평가하기 위해 간(Liver), 심장(Heart), 신장(Kidney), 비장(Spleen)의 중량 및 혈액 내 알라닌 아미노전이효소(alanine aminotransferase, ALT), 아스파테이트 아미노전이효소(aspartate aminotransferase) 농도를 측정함.
- 간의 무게(g)는 대조군 1.883 ± 0.028 HP군 1.725 ± 0.046, TP군 1.730 ± 0.038이며 심장의 무게(g)는 대조군 0.217 ± 0.004, HP군 0.215 ± 0.005, TP군 0.230 ± 0.005으로 간 및 심장 무게의 차이는 관찰되지 않은 것을 확인함. 신장의 무게(g)는 대조군 0.298 ± 0.004, HP군 0.271 ± 0.003, TP군 0.290 ± 0.006이고 비장의 무게(g)는 대조군 0.126 ± 0.006, HP군 0.122 ± 0.008, TP군 0.122 ± 0.006으로 신장 및 비장의 무게 변화는 관찰되지 않음을 확인함. AST 수치(IU/L)는 대조군의 경우 16.88 ± 0.6592, HP군의 경우 16.71 ± 0.8642, TP군의 경우 16.44 ± 0.3807으로 비슷한 농도임을 확인함. 마찬가지로 ALT 수치(IU/L)는 대조군의 경우 3.895 ± 0.1799, HP군의 경우 4.462 ± 0.237, TP군의 경우 3.855 ± 0.1242로 유의적 농도 차이가 없음을 확인함.
- 이와 같은 결과는 동애등에 가수분해 단백질 및 갈색 거저리 가수분해 단백질 식단이 장기 독성을 유발하지 않음을 의미함.

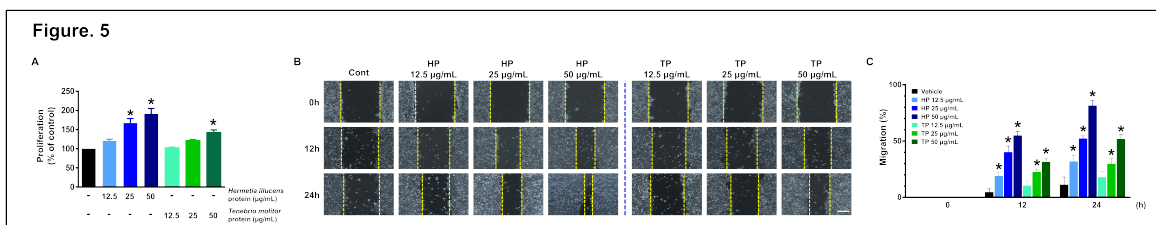
㉞ 동애등에 가수분해 단백질 면역 증강 및 알러지 조절 효과 규명



[그림 10] 동애등에 가수분해 단백질 면역 증강 및 알러지 조절 효과 규명

- 각 단백질 식단의 면역 증강 및 식이 알러지 유무를 평가하기 위해 면역글로불린(Ig)G, IFN(Interferon)- γ , 면역글로불린(Ig)E 및 히스타민(Histamine) 농도를 측정함. HP군에서 IgG 수치가 증가했으나 TP군은 대조군과 비슷한 수치를 가지는 것을 확인함[그림 4A]. IFN- γ 의 경우 대조군과 비교했을 때, HP 및 TP군에서 그 수치가 수치가 감소되는 것을 확인함[그림 4B]. Histamine과 농도 또한 HP군에서 감소했으나 TP군에서는 대조군과 비슷한 수치인 것을 확인함[그림 4C] IgE의 경우 모든 군에서 비슷한 수치를 가지는 것을 확인함[그림 4D].
- 이러한 결과는 동애등에 가수분해 단백질 식단이 감염으로부터 보호한다고 알려진 IgG 수치를 증가시키고 식이 알러지 반응(Type 1 과민반응)의 주 원인인 IFN- γ 및 IgE 수치를 낮추므로 면역 증강과 알러지 저감에 효과가 있다는 것을 의미함.

㉞ 동애등에 가수분해 단백질 위장관 상피 세포 증식 및 상처 회복 효과 평가

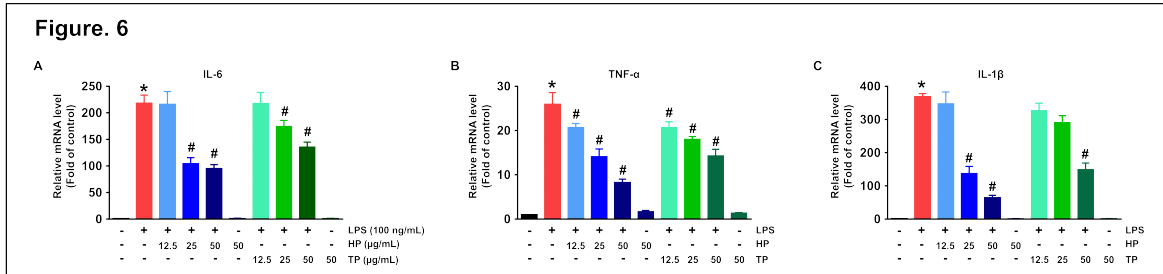


[그림 11] 동애등에 가수분해 단백질 위장관 상피 세포 증식 및 상처 회복 효과 평가

- 위장관 상피 세포(HT-29)에 동애등에 가수분해 단백질(HP) 및 갈색 거저리 단백질(TP)을 처리하여 세포 증식(Proliferation) 및 상처 회복(Migration)을 평가했으며 이를 현미경으로 시각화하여 입증함.
- HP 및 TP를 농도별(12.5-50 μ g/mL)로 위장관 상피 세포(HT-29)에 처리하였을 때, HP 25 μ g/mL농도, TP 50 μ g/mL농도에서 세포 증식 효과가 나타나는 것을 확인함[그림 5A]. HP를 농도별(12.5-50 μ g/mL)로 HT-29에 처리하였을 때, 12.5 μ g/mL농도에서 12시간 처리 후부터 위장관 상처가 20% 이상 회복되는 것을 알 수 있었음. 마찬가지로 HP 12.5 μ g/mL농도에서 24시간 처리 후부터 위장관 상처가 40% 이상 회복되는 것을 알 수 있었음[그림 5B, C].
- 반면에 TP를 농도별(12.5-50 μ g/mL)로 HT-29에 처리하였을 때, 25 μ g/mL농도에서 12시간 처리 후부터 위장관 상처가 20% 이상 회복되는 것을 알 수 있었으며 24시간 처리의 경우 25 μ g/mL농도에서 위장관 상처가 40% 이상 회복되는 것을 알 수 있었음[그림 5B, C].

- 이러한 결과는 동애등에 가수분해 단백질이 갈색 거저리 가수분해 단백질보다 2배 이상의 적은 농도로 위장관 세포 상처 회복 능력을 가지며, 다양한 위장관 상피 손상 반응에 있어서 적은 농도로 빠른 위장관 상피 세포 이동(이주), 재생 및 성숙 기능을 효율적으로 제어할 수 있는 가능성이 있으므로 사료 첨가물로서 그 활용도가 높을 것으로 기대됨.

㉠ 동애등에 가수분해 단백질의 염증 억제 효과 규명



[그림 12] 동애등에 가수분해 단백질의 염증 억제 효과 규명

- 염증 반응을 일으키는 LPS(Lipopolysaccharides)와 함께 동애등에 가수분해 단백질 및 갈색 거저리 단백질을 위장관 상피 세포(HT-29)에 처리하여 전염증성 사이토카인으로 알려진 Interleukin-6 (IL-6), Tumor necrosis factor- α (TNF- α) 및 Interleukin-1 β (IL-1 β)의 mRNA 유전자 발현 정도를 평가함.
- LPS (100 ng/mL)를 24시간 동안 HT-29에 처리했을 때, 대조군과 비교하여 약 200 배만 큼 세포 염증성 사이토카인 IL-6유전자 발현양이 유의적으로 증가함을 확인함. HP를 함께 처리할 경우, LPS 단독처리군과 비교하여 25 μ g/mL에서 약 2배만큼 감소 효과를 보여주었지만, TP의 경우 50 μ g/mL에서 약2배만큼 감소 효과를 보여줌[그림 6A].
- TNF- α 및 IL-1 β 의 mRNA 유전자 발현 정도도 마찬가지로 LPS 처리시 대조군보다 약 25, 350배 증가했지만 HP를 함께 처리할 경우, LPS 단독처리군과 비교하여 25 μ g/mL에서 약 2배 정도의 감소 효과를 보여주었지만, TP의 경우 50 μ g/mL에서 약 2배만큼 감소 효과를 보여줌[그림 6B, C].
- 이와 같은 결과를 통해 동애등에 가수분해 단백질이 갈색 거저리 가수분해 단백질보다 2배 이상의 적은 농도로 염증 억제 및 면역 조절 효과를 가지므로 염증 반응의 진행에 있어서 적은 농도로 염증 반응을 효율적으로 제어할 수 있는 가능성이 있기 때문에 사료 첨가물로서 그 활용도가 높을 것으로 기대됨.

(다) 위탁연구개발기관(중부대학교 산학협력단)

① 반려동물환자 대상 소화성 평가 및 Food Allergy 저감 유효성 평가

㉞ 일반 곤충 단백질 사료 소화성 평가결과

	일반사료 (Negative Control)	수입 곤충사료 (Positive Control)	자사 곤충사료
제품사진			
제품명	로얄캐닌社 스타터	요세라社 인섹트 하이포알러제닉	라포그社 리얼인섹트

[표 1] 급여 사료

- 반려동물 종별 단백질 소화율을 일반사료(Negative Control로 간주), 수입 곤충사료(Positive Control로 간주)와 비교분석하였고 [표1], 치와와의 경우 모든 사료 중 가장 단백질 소화율이 높은 것으로 확인되었음.
- 국내 대표 반려동물 사육 품종인 퍼그, 비숑프리제, 말티즈, 푸들, 치와와 5종에 대해 종별 단백질 소화율 측정을 실시한 결과는 다음과 같았으며, 실험 결과는 산술 평균 값(x), 표준 편차(±SD)를 t-test로 검정하여 P 값이 0.05 미만일 때 통계적으로 유의한 차이가 있는 것으로 나타남.

항목	Group ¹		유의성	Group		유의성
	퍼그A	퍼그C		퍼그B	퍼그C	
단백질 소화율 (%)	43.36±1.00	61.93±0.14	*	80.33±0.22	61.93±0.14	*

¹퍼그A = 요세라 사료, 퍼그B = 로얄캐닌 사료, 퍼그C = 라포그 사료.
* P<0.05

[표 2] 퍼그의 단백질 소화율 측정 결과

- 모든 처리구에서 통계적 유의성이 인정됨(P<0.05). 퍼그 품종에서는 로얄캐닌 사료 처리구(퍼그B)에서 단백질 소화율이 제일 높았으며, 그 다음으로 라포그 사료(퍼그 C), 요세라 사료(퍼그A) 처리구 순으로 나타남.

항목	Group ¹		유의성	Group		유의성
	비송A	비송C		비송B	비송C	
단백질 소화율 (%)	59.80±0.58	79.67±0.29	*	87.23±0.58	79.67±0.29	*

¹비송A = 요세라 사료, 비송B = 로얄캐닌 사료, 비송C = 라포그 사료.
* P<0.05

[표 3] 비송의 단백질 소화율 측정 결과

- 모든 처리구에서 통계적 유의성이 인정됨(P<0.05). 비송은 로얄캐닌 사료 처리구(비송B)에서 단백질 소화율이 가장 높았으며, 그 다음은 라포그 사료(비송C), 요세라 사료(비송 A)처리구 순으로 나타남.

항목	Group ¹		유의성	Group		유의성
	말티즈A	말티즈C		말티즈B	말티즈C	
단백질 소화율 (%)	63.40±0.53	58.68±0.47	*	76.30±0.24	58.68±0.47	*

¹말티즈A = 요세라 사료, 말티즈B = 로얄캐닌 사료, 말티즈C = 라포그 사료.
* P<0.05

[표 4] 말티즈의 단백질 소화율 측정 결과

- 모든 처리구에서 통계적 유의성이 인정됨(P<0.05). 말티즈는 로얄캐닌 사료 처리구(말티즈B)에서 단백질 소화율이 가장 높았으며, 그 다음으로 요세라 사료 처리구(말티즈A), 라포그 사료(말티즈C) 처리구 순으로 나타남.

항목	Group ¹		유의성	Group		유의성
	푸들A	푸들C		푸들B	푸들C	
단백질 소화율 (%)	49.64±0.31	58.49±0.08	*	77.59±0.02	58.49±0.08	*

¹푸들A = 요세라 사료, 푸들B = 로얄캐닌 사료, 푸들C = 라포그 사료.
* P<0.05

[표 5] 푸들의 단백질 소화율 측정 결과

- 모든 처리구에서 통계적 유의성이 인정됨(P<0.05). 푸들은 로얄캐닌 사료 처리구(푸들B)에서 단백질 소화율이 제일 높았으며, 그 다음으로 라포그 사료(푸들B), 요세라 사료(푸들A) 처리구 순으로 나타남.

항목	Group ¹		유의성	Group		유의성
	치와와A	치와와C		치와와B	치와와C	
단백질 소화율 (%)	49.01±0.10	88.74±0.35	*	86.40±0.25	88.74±0.35	*

¹치와와A = 요세라 사료, 치와와B = 로얄캐닌 사료, 치와와C = 라포그 사료.
* P<0.05

[표 6] 치와와의 단백질 소화율 측정 결과

- 모든 처리구에서 통계적 유의성이 인정됨(P<0.05). 치와와는 라포그 사료(치와와C) 처리구에서 단백질 소화율이 제일 높았으며, 그 다음으로 로얄캐닌 사료 처리구(치와와B), 요세라 사료(치와와A) 처리구 순으로 나타남.
- 비송, 푸들, 피그 중에서 자사브랜드(라포그) 리얼인섹트 사료는 일반사료보다 소화율이 높았으나, 수입 사료보다는 소화율이 낮았음. 말티즈에서는 일반사료와 수입사료보다 단백질 소화율이 낮아 가수분해 공정을 적용한 사료에 대한 단백질 소화율과 임상현상 유효성/독성 평가 결과를 주목할 필요가 있음.


④ Foody Allergy 저감 유효성 평가결과

- 아토피성 피부염으로 확진된 동물 환자를 모집하여 임상효능평가를 실시하였으며, 환자 모집 및 임상데이터 수집을 통해 Food Allergy 증상 유발에 대한 유효성 평가 데이터를 정리한 결과는 다음과 같음.
- 약 2주 간격으로 총 3차 방문을 통해 경과 소견을 내렸으며, clinical sign을 객관적 정량 지표로 보기 위해 가려움증 시각상사척도(Visual Analogue Scale, VAS SCORE)와 피부 전반적인 상태를 수치화하는 방법으로 국제적으로 공인된 평가방법인 Canine Atopic Dermatitis Extent and Severity Index (CADESI-04)를 활용하여 점수를 부여함.


임상치료 보고서

환자 정보					
환자번호	1	성별	중성화수컷	체중	2.3kg
나이	5Y	품종	푸들	최초 내원 일자	21년 8월 18일
방문 일자: 21년 8월 18일					
1차 방문	치료/처방	Prednisolone, 라포그 리얼인섹트 사료급여			
	VAS score	7 / 10			
	CADESI-04	45 / 180			
	진단	Cutaneous adverse food reaction			
	결과 소견				
방문 일자: 21년 9월 18일					
2차 방문	치료/처방	라포그 리얼인섹트 사료 급여			
	VAS score	2 / 10			
	CADESI-04	15 / 180			
	진단	Cutaneous adverse food reaction			
	결과 소견	음식물 알레르기 증상 크게 완화되어 PDS 처방종료			
방문 일자: 21년 10월 13일					
3차 방문	치료/처방	라포그 리얼인섹트 사료 급여			
	VAS score	2 / 10			
	CADESI-04	18 / 180			
	진단	Cutaneous adverse food reaction			
	결과 소견	PDS 처방이 종료된 이후에도 증상 재발 없음.			
종합의견: 라포그 리얼인섹트 사료급여를 통해 PDS 투약이 종료된 이후에도 음식물 알레르기 증상이 재발하지 않으므로 음식물 알레르기 반응 억제에 효과가 있음.					

1차 방문 시 병변 사진



3차 방문 시 병변 사진



평가 기관 : 오리전 동물피부과병원
평가자 : 원장 강 정 훈 DVM, PhD (인)


[그림 1] 환자 임상 치료 보고서(환자번호: 1)

- 아토피성 피부염으로 면역반응억제제, 염증반응 억제제로 사용되는 스테로이드 계열의 호르몬인 프레드니솔론(prednisolone)을 투약하고 있는 1번 푸들 환자에게 동애등에 유충 단백질 사료인 자사의 라포그 리얼인섹트 사료급여를 통해 PDS(Prednisolone) 투약이 종료된 이후에도 Feed Allergy 증상이 재발하지 않았으므로, 곤충 단백질이 알레르기 반응 억제에 효과가 있음이 평가됨 [그림 1].


임상치료 보고서

환자 정보					
환자번호	2	성별	중성화암컷	체중	9.1kg
나이	7Y	품종	Mongrel	최초 내원 일자	21년 9월 2일
방문 일자: 21년 9월 2일					
1차 방문	치료/처방	기존의 로얄캐닌 하이포알러제닉 가수분해사료에서 라포그 리얼인섹트 사료로 변경			
	VAS score	2 / 10			
	CADESI-04	12 / 180			
	진단	Cutaneous adverse food reaction			
	결과 소견				
방문 일자: 21년 9월 16일					
2차 방문	치료/처방	라포그 리얼인섹트 사료 급여 중단			
	VAS score	6 / 10			
	CADESI-04	38 / 180			
	진단	Cutaneous adverse food reaction			
	결과 소견	음식물 알레르기 증상 악화되어 급여 종료			
방문 일자: 년 월 일					
3차 방문	치료/처방				
	VAS score				
	CADESI-04				
	진단				
	결과 소견				
종합의견: 음식물 알레르기 로 진단되어 로얄캐닌 하이포알러제닉 가수분해 사료를 통해 양호하게 증상조절이 되던 환자였으나 라포그 리얼인섹트 사료로 변경한 이후 음식물 알레르기 증상이 재발하였음. 라포그 리얼인섹트 사료는 가수분해가 아닌 곤충 단일단백질 원료의 사료로써 제조 원리상 민감한 음식물 알레르기 환자의 증상 관리에는 한계점이 있음.					

1차 방문 시 병변 사진



2차 방문 시 병변 사진



평가 기관 : 오리전 동물피부과병원
평가자 : 원장 강 정 훈 DVM, PhD (인)

[그림 2] 환자 임상 치료 보고서(환자번호: 2)

- 2번 Mongrel 환자는 기존 로얄캐닌 하이포알러제닉 가수분해 사료를 통해 Feed Allergy 증상조절이 양호하게 조절되던 환자였으나, 라포그 리얼인섹트 사료로 변경하여 급여한 결과 알레르기 증상이 재발하였음[그림 2]. 라포그 리얼인섹트 사료는 가수분해가 아닌 곤충 단일단백질 원료의 사료로써 제조 원리상 민감한 음식물 알레르기 환자의 증상 관리에는 한계점이 있음이 나타남.

임상치료 보고서

환자 정보	
환자번호	3
나이	8Y
성별	중성화수컷
종종	푸들
체중	8.1kg
최초 내원 일자	21년 9월 18일

방문 일자	21년 9월 18일
치료/처방	Oclacitinib, 벨포아 라프고 리얼인섹트 사료로 변경
VAS score	2 / 10
CADESI-04	15 / 180
진단	Cutaneous adverse food reaction
결과 소견	기존 사료급여를 통해 안정적인 피부상태 유지하고 있음

방문 일자	21년 10월 1일
치료/처방	Oclacitinib, 라프고 리얼인섹트 사료 급여
VAS score	2 / 10
CADESI-04	18 / 180
진단	Cutaneous adverse food reaction
결과 소견	사료변경 후에도 증상악화 없음

방문 일자	21년 10월 16일
치료/처방	Oclacitinib, 라프고 리얼인섹트 사료 급여
VAS score	2 / 10
CADESI-04	16 / 180
진단	Cutaneous adverse food reaction
결과 소견	사료변경 후에도 증상악화 없음

종합의견: 상기 환자는 아포켈 정 (Oclacitinib) 투약을 하고 있으나 음식을 알레르기원 섭취 시에는 투약에도 불구하고 매우 강한 알레르기 증상을 보여왔던 환자로 기존에는 독일 벨포아社 의 곤충사료 급여를 통해 안정적인 피부상태를 유지하였음. 라프고 리얼인섹트 사료로 처방을 변경하였음에도 약 4주간 알레르기 증상의 재발이 없었으며 독일 벨포아社 의 곤충사료와 유사한 효능을 나타낸 것으로 판단됨.

평가 기관 : 오리진 동물피부과병원
평가자 : 원장 강 정 훈 DVM, PhD (인)

[그림 3] 환자 임상 치료 보고서(환자번호: 3)

- 3번 푸들 환자는 알레르기성 피부염 치료제인 아포켈 정 (Oclacitinib) 투약을 하고 있으나, 음식물 알레르기원 섭취 시에는 투약에도 매우 강한 알레르기 증상을 보여왔던 환자로, 기존 독일 벨포아社 의 곤충사료 급여를 통해 안정적인 피부 상태를 유지해왔음. 라프고 리얼인섹트 사료로 처방을 변경하였음에도 약 4주간 알레르기 증상의 재발이 없었으며, 독일 벨포아社 의 곤충사료와 유사한 효능을 보인 것으로 판단됨[그림 3].

임상치료 보고서

환자 정보	
환자번호	4
나이	7Y
성별	중성화수컷
종종	페키니즈
체중	9.3kg
최초 내원 일자	21년 10월 5일

방문 일자	21년 10월 5일
치료/처방	Oclacitinib, 라프고 리얼인섹트 사료급여
VAS score	8 / 10
CADESI-04	54 / 180
진단	Cutaneous adverse food reaction
결과 소견	

방문 일자	21년 10월 19일
치료/처방	라프고 리얼인섹트 사료 급여
VAS score	2 / 10
CADESI-04	20 / 180
진단	Cutaneous adverse food reaction
결과 소견	음식물 알레르기 증상 크게 완화되어 Oclacitinib 처방종료

방문 일자	21년 11월 2일
치료/처방	라프고 리얼인섹트 사료 급여
VAS score	2 / 10
CADESI-04	18 / 180
진단	Cutaneous adverse food reaction
결과 소견	Oclacitinib 처방이 종료된 이후에도 증상 재발 없음.

종합의견: 라프고 리얼인섹트 사료급여를 통해 Oclacitinib 투약이 종료된 이후에도 음식물 알레르기 증상이 재발하지 않았으므로 음식을 알레르기 반응 억제에 효과가 있음.

평가 기관 : 오리진 동물피부과병원
평가자 : 원장 강 정 훈 DVM, PhD (인)


[그림 4] 환자 임상 치료 보고서(환자번호: 4)

- 4번 페키니즈 환자는 라프고 리얼인섹트 사료급여를 통해 Oclacitinib 투약이 종료된 이후에도 Feed Allergy 증상이 재발하지 않았으므로, 동애등에 유충 단백질원이 음식물 알레르기 반응 억제에 효과가 있음[그림 4].


임상치료 보고서

환자 정보					
환자번호	5	성별	중성화수컷	체중	11.7kg
나이	2Y	품종	시바이누	최초 내원 일자	21년 10월 12일
1차 방문	방문 일자:	21년 10월 12일			
	치료/처방	Oclacitinib, 라포그 리얼인섹트 사료급여			
	VAS score	7 / 10			
	CADESI-04	30 / 180			
	진단	Cutaneous adverse food reaction			
결과 소견					
2차 방문	방문 일자:	21년 10월 26일			
	치료/처방	라포그 리얼인섹트 사료 급여			
	VAS score	1 / 10			
	CADESI-04	12 / 180			
	진단	Cutaneous adverse food reaction			
결과 소견	음식물 알레르기 증상 크게 완화되어 Oclacitinib 처방종료				
3차 방문	방문 일자:	21년 11월 9일			
	치료/처방	라포그 리얼인섹트 사료 급여			
	VAS score	1 / 10			
	CADESI-04	10 / 180			
	진단	Cutaneous adverse food reaction			
결과 소견	Oclacitinib 처방이 종료된 이후에도 증상 재발 없음.				
종합여견: 라포그 리얼인섹트 사료급여를 통해 Oclacitinib 투약이 종료된 이후에도 음식물 알레르기 증상이 재발하지 않으므로 음식물 알레르기 반응 억제에 효과가 있음.					

1차 방문 시 별변 사진



3차 방문 시 별변 사진



평가 기관 : 오리진 동물피부과병원
평가자 : 원장 강 정 훈 DVM, PhD (인)

[그림 5] 환자 임상 치료 보고서(환자번호: 5)

- 5번 시바이누 환자는 라포그 리얼인섹트 사료급여를 통해 Oclacitinib 투약이 종료된 이후에도 음식물 알레르기 증상이 재발하지 않으므로, 음식물 알레르기 반응 억제에 효과가 있었음[그림 5].
- 5마리의 아토피성 피부염 환자들 중, 4마리의 경우 일반 곤충 단백질 사료 섭취에 의해 증상 완화가 유지되었으나, 1마리의 경우 사료 교체와 동시에 피부 증상이 악화됨을 확인하였음. 라포그 리얼인섹트 사료의 현재 제형과 원료 가공방식은 곤충 사료 특유의 소화율 및 저 알레르기성의 보편적 유효성이 관찰되나, 처방식 사료로서의 가치를 지니기 위해서는 가수분해 공정을 거쳐 저 알레르기 기능성을 구현하는 것이 필요할 것으로 사료됨.

② 반려동물 대상 Food Allergy 저감 유효성 평가 및 혈행 개선 유효성 검색결과


㉞ 곤충 가수분해 단백질 사료의 식이 알레르기 저감 유효성 평가 결과

- 아토피성 피부염으로 확진된 동물 환자를 모집하여 1차년도에 이어 (계속) 임상효능 평가를 실시하였으며, 환자 모집 및 임상데이터 수집을 통해 Food Allergy 증상유발에 대한 LAPOG+ 가수분해 사료의 유효성 평가 데이터를 정리한 결과는 다음과 같음.


임상치료 보고서

환자 정보					
환자번호	1	성별	중성화수컷	체중	11kg
나이	4Y	품종	Mongrel	최초 내원 일자	22년 6월 1일
1차 방문	방문 일자:	22년 6월 1일			
	치료/처방	Oclacitinib, LAPOG+ 사료급여			
	VAS score	8 / 10			
	CADESI-04	34 / 180			
	진단	Cutaneous adverse food reaction			
결과 소견					
2차 방문	방문 일자:	22년 6월 15일			
	치료/처방	Oclacitinib, LAPOG+ 사료급여			
	VAS score	1 / 10			
	CADESI-04	10 / 180			
	진단	Cutaneous adverse food reaction			
결과 소견	음식물 알레르기 증상 크게 완화되어 Oclacitinib 처방종료				
3차 방문	방문 일자:	22년 6월 29일			
	치료/처방	LAPOG+ 사료급여			
	VAS score	1 / 10			
	CADESI-04	12 / 180			
	진단	Cutaneous adverse food reaction			
결과 소견	Oclacitinib 처방이 종료된 이후에도 증상 재발 없음.				
종합여견: LAPOG+ 사료급여를 통해 Oclacitinib 투약이 종료된 이후에도 음식물 알레르기 증상이 재발하지 않으므로 음식물 알레르기 반응 차단에 효과가 있음.					

1차 방문 시 별변 사진



3차 방문 시 별변 사진



2022년 7월 11일
평가 기관 : 오리진 동물피부과병원
평가자 : 원장 강 정 훈 DVM, PhD (인)


[그림 6] 환자 임상 치료 보고서(환자번호: 1)

- LAPOG+ 급여 후 Oclacitinib 투약이 종료된 이후에도 음식물 알레르기 증상이 재발하지 않으므로 음식물 알레르기 반응 차단에 효과가 있음.


임상치료 보고서

환자 정보				
환자번호	성별	증상화수컷	체중	7kg
나이	7Y	종종	Mongrel	최초 내원 일자
22년 6월 7일				
1차 방문	방문 일자:	22년 8월 7일		
	치료/제방	기존의 퓨리나 HA 가수분해사료에서 LAPOG+ 사료로 변경		
	VAS score	2 / 10		
	CADESI-04	12 / 180		
	진단	Cutaneous adverse food reaction		
2차 방문	방문 일자:	22년 8월 21일		
	치료/제방	LAPOG+ 사료 급여 중단		
	VAS score	4 / 10		
	CADESI-04	20 / 180		
	진단	Cutaneous adverse food reaction		
결과 소견	입주변 음식을 알레르기 증상 악화되어 급여 종료			
3차 방문	방문 일자:	년 월 일		
	치료/제방			
	VAS score			
	CADESI-04			
	진단			
결과 소견				

1차 방문 시 병변 사진



2차 방문 시 병변 사진



2022년 7월 12일
평가 기관 : 오리진 동물피부과병원
평가자 : 임상 장 정 훈 DVM, PhD (인)

중요메시지: 상기 환자는 음식물 알레르기 특히 연어와 같은 생선류에 매우 민감하여 섭취 시 알레르기 증상이 입주변을 중심으로 악화되는 병력을 가지고 있는 환자임. 기존에는 육류, 해산물 단백질원이 모두 배제된 퓨리나 HA급여를 통해 안정적인 증상관리가 되고 있었으나, 연어유가 함유된 LAPOG+를 급여하여 입주변 알레르기 증상이 악화되었음. 이는 LAPOG+에 함유된 연어유로 인해 생선류에 민감한 알레르기 반응을 가지고 있는 환자는 증상악화가 발생할 수 있다는 가능성을 시사함.


[그림 7] 환자 임상 치료 보고서(환자번호: 2)

- 상기 환자는 음식물 알레르기, 특히 연어와 같은 생선류에 매우 민감하여 섭취 시 알레르기 증상이 입주변을 중심으로 악화되는 병력을 가지고 있는 환자임. 기존에는 육류, 해산물 단백질원이 모두 배제된 퓨리나 HA급여를 통해 안정적인 증상관리가 되고 있었으나, 연어유가 함유된 LAPOG+를 급여하여 입주변 알레르기 증상이 악화되었음. 이는 LAPOG+에 함유된 연어유로 인해 생선류에 민감한 알레르기를 가지고 있는 환자는 증상악화가 발생할 수 있다는 가능성을 시사함.


임상치료 보고서

환자 정보				
환자번호	성별	증상화수컷	체중	4.1kg
나이	5Y	종종	치와와	최초 내원 일자
22년 6월 4일				
1차 방문	방문 일자:	22년 6월 4일		
	치료/제방	PDS, Cytopoint (4주치), LAPOG+ 사료급여		
	VAS score	9 / 10		
	CADESI-04	42 / 180		
	진단	Cutaneous adverse food reaction, Allergic dermatitis		
2차 방문	방문 일자:	22년 6월 18일		
	치료/제방	Cytopoint (6월4일 처방), LAPOG+ 사료급여		
	VAS score	2 / 10		
	CADESI-04	11 / 180		
	진단	Cutaneous adverse food reaction		
결과 소견	음식물 알레르기 증상 크게 완화되어 PDS 처방종료			
3차 방문	방문 일자:	22년 7월 2일		
	치료/제방	Cytopoint (6월4일 처방), LAPOG+ 사료급여		
	VAS score	1 / 10		
	CADESI-04	15 / 180		
	진단	Cutaneous adverse food reaction		
결과 소견	안정적인 증상관리를 할 수 있으며 유지되고 있음			

1차 방문 시 병변 사진



3차 방문 시 병변 사진



2022년 7월 13일
평가 기관 : 오리진 동물피부과병원
평가자 : 임상 장 정 훈 DVM, PhD (인)

중요메시지: 병력과 임상증상에서 음식물 알레르기 소인을 뚜렷하게 가지고 있으면서, 환경원성 알레르기성 피부염도 함께 가지고 있는 환자로 가수분해사료 처방과 환경원성 알레르기 차단이 함께 필요한 증례임. Cytopoint는 음식물 알레르기 차단효과는 매우 미미하므로 만약 LAPOG+가 상기 환자에서 음식물 알레르기 반응을 유발하였다면, 양호한 치료반응을 보이지 못했을 것임. 따라서 LAPOG+ 사료 급여와 Cytopoint 처방을 병용하여 우수한 치료반응을 보였기 때문에 LAPOG+ 사료가 음식물 알레르기 반응에 차단 효과가 있었음.


[그림 8] 환자 임상 치료 보고서(환자번호: 3)

- 병력과 임상증상에서 음식물 알레르기 소인을 뚜렷하게 가지고 있으면서, 환경원성 알레르기성 피부염도 함께 가지고 있는 환자로 가수분해사료 처방과 환경원성 알레르기 차단이 함께 필요한 증례임. Cytopoint는 음식물 알레르기 차단효과는 매우 미미하므로 만약 LAPOG+가 상기 환자에서 음식물 알레르기 반응을 유발하였다면, 양호한 치료반응을 보이지 못했을 것임. 따라서 LAPOG+ 사료 급여와 Cytopoint 처방을 병용하여 우수한 치료반응을 보였기 때문에 LAPOG+ 사료가 음식물 알레르기 반응에 차단 효과가 있었음.


임상치료 보고서

환자 정보			
환자번호	4	성별	중성체수컷
나이	11Y	종종	다스종드
체중	5.9kg	최종 내원 일자	22년 6월 19일
발문 일자:	22년 6월 10일		
치료/제방	Oclacitinib, LAPOG+ 사료급여		
VAS score	8 / 10		
CADESI-04	84 / 180		
진단	Cutaneous adverse food reaction		
경과 소견			
발문 일자:	22년 6월 24일		
치료/제방	LAPOG+ 사료 급여		
VAS score	2 / 10		
CADESI-04	11 / 180		
진단	Cutaneous adverse food reaction		
경과 소견	음식을 알려주기 증상 크게 완화되어 Oclacitinib 처방중임		
발문 일자:	22년 7월 8일		
치료/제방	LAPOG+ 사료 급여		
VAS score	1 / 10		
CADESI-04	8 / 180		
진단	Cutaneous adverse food reaction		
경과 소견	Oclacitinib 처방이 종료된 이후에도 증상 재발 없음		
총합의견:	LAPOG+ 사료급여를 통해 Oclacitinib 투약이 종료된 이후에도 음식물 알레르기 증상이 재발하지 않으므로 음식을 알려주기 반응 차단에 효과가 있음.		

1차 방문 시 병변 사진



3차 방문 시 병변 사진



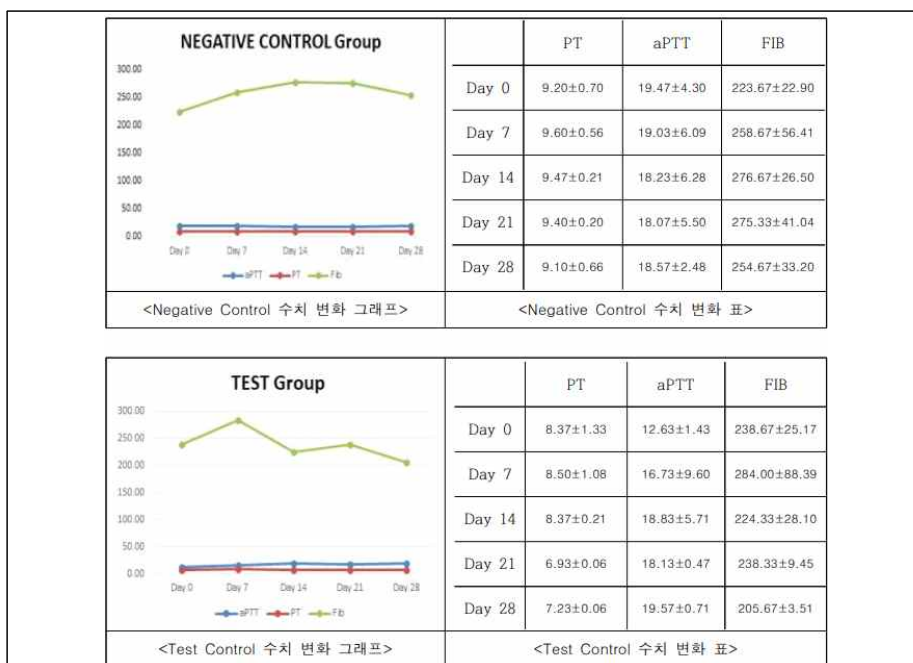
2022년 7월 14일
평가 기관 : 오리진 동물피부과병원
평가자 : 원장 강 영 훈 DVM, PhD (반)

[그림 9] 환자 임상 치료 보고서(환자번호: 4)

- LAPOG+ 사료급여를 통해 Oclacitinib 투약이 종료된 이후에도 음식물 알레르기 증상이 재발하지 않으므로 음식물 알레르기 반응 차단에 효과가 있음.
- 결론적으로, 4마리의 음식물 알레르기를 가진 개에게 LAPOG+ 사료를 급여하여 음식물 알레르기 반응이 유발되는지 여부를 관찰하였음. 증례 1과 증례 4는 양호한 호전 반응을 보여 LAPOG+ 사료가 음식물 알레르기 치료에 처방할 수 있음을 확인하였음. 또한 증례 3과 같이 음식물 알레르기와 환경원성 알레르기가 복합된 경우에서도 효과적으로 음식물 알레르기 반응을 차단하여 환경원성 알레르기 치료와 병행하여도 안정적인 치료반응을 보였음. 다만, 증례 2에서 LAPOG+에 함유되어 있는 연어유는 생선에 민감한 알레르기가 있을 경우 음식물 알레르기의 발생원리상 낮은 확률이지만 알레르기 유발 가능성이 존재할 것으로 추정됨.

④ 혈행개선 유효성 검색결과

- LAPOG+를 급여한 후 혈행개선에 대한 유효성 검색 결과는 다음과 같았음.



[표 7] 군별 총 지표 수치 변화

- NC Group과 T Group의 전체 혈행개선 관련 지표들의 변화를 측정한 결과에서 PT값과 aPTT값의 경우, 두 그룹 모두에서 유의한 증가나 다른 변화 양상이 관찰되지 않았으나 Fib 값의 경우 T 그룹에서 유의하게 감소하는 양상을 보였음.

NEGATIVE CONTROL Group		PT	
	Day 0	9.20±0.70	
	Day 7	9.60±0.56	
	Day 14	9.47±0.21	
	Day 21	9.40±0.20	
	Day 28	9.10±0.66	
	<Negative Control PT 주차별 그래프>		<Negative Control PT 주차별 표>

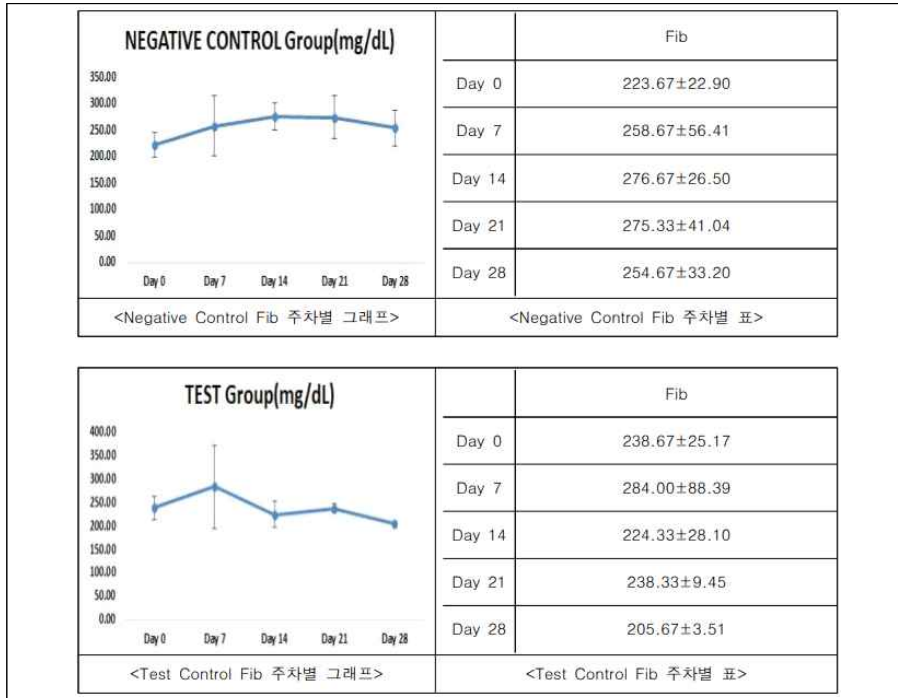
TEST Group		PT	
	Day 0	8.37±1.33	
	Day 7	8.50±1.08	
	Day 14	8.37±0.21	
	Day 21	6.93±0.06	
	Day 28	7.23±0.06	
	<Test Control PT 주차별 그래프>		<Test Control PT 주차별 표>

[표 8] PT 주차별 수치 변화

NEGATIVE CONTROL Group		aPTT	
	Day 0	19.47±4.30	
	Day 7	19.03±6.09	
	Day 14	18.23±6.28	
	Day 21	18.07±5.50	
	Day 28	18.57±2.48	
	<Negative Control aPTT 주차별 그래프>		<Negative Control aPTT 주차별 표>

TEST Group		aPTT	
	Day 0	12.63±1.43	
	Day 7	16.73±9.60	
	Day 14	18.83±5.71	
	Day 21	18.13±0.47	
	Day 28	19.57±0.71	
	<Test Control aPTT 주차별 그래프>		<Test Control aPTT 주차별 표>

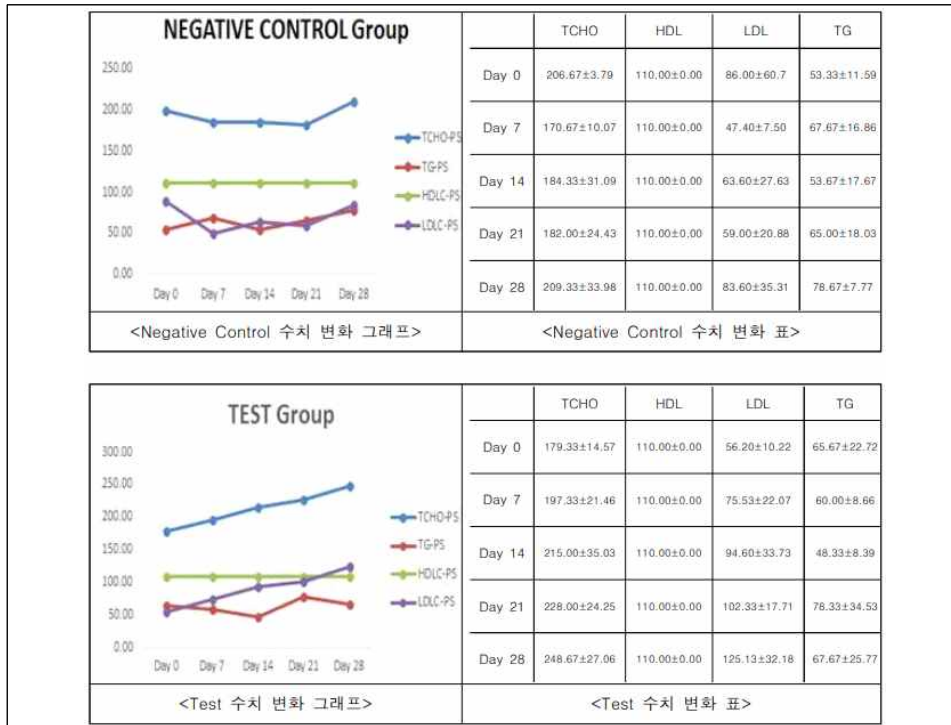
[표 9] aPTT 주차별 수치 변화



[표 10] Fib 주차별 수치 변화

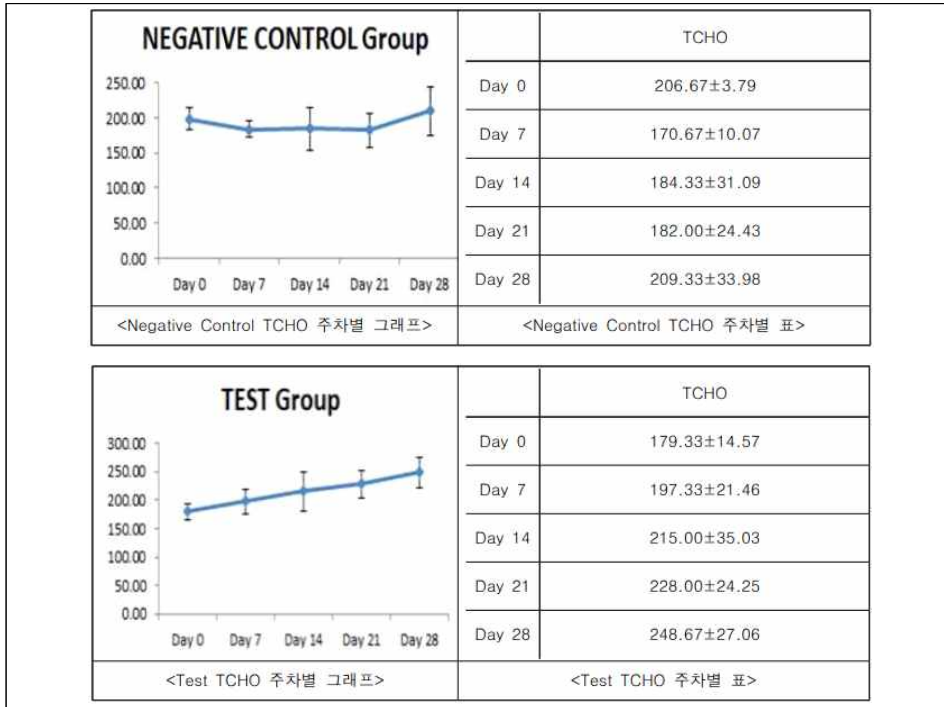
- T그룹의 aPTT 값이 서서히 증가하는 양상으로 보일 수 있으나, STDEV가 커서 유의한 변화로는 판단할 수 없음. Fib의 경우 STDEV가 큰 구간이 있음에도 불구하고, 혈중 농도는 유의하게 감소하는 양상이 관찰되었음. 즉, 혈행개선과 관련된 지표 중 Fib 값을 감소시키는 밝혀지지 않은 기전이 있을 수 있다고 판단됨. (후속 연구 필요)

㉔ 혈중지질농도개선 유효성 검색 결과

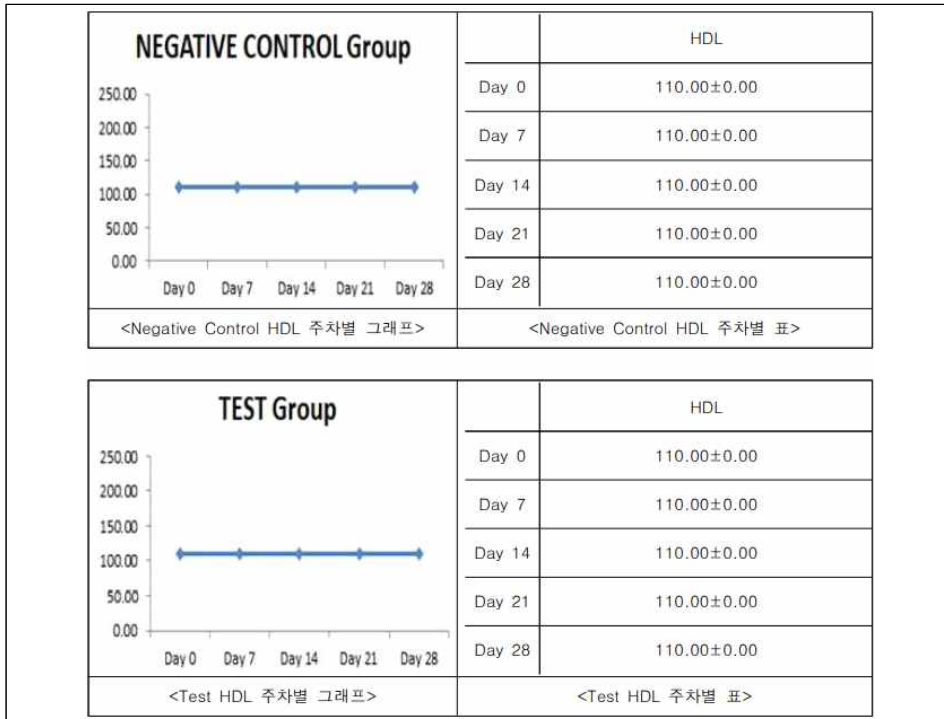


[표 11] 군별 총 수치변화

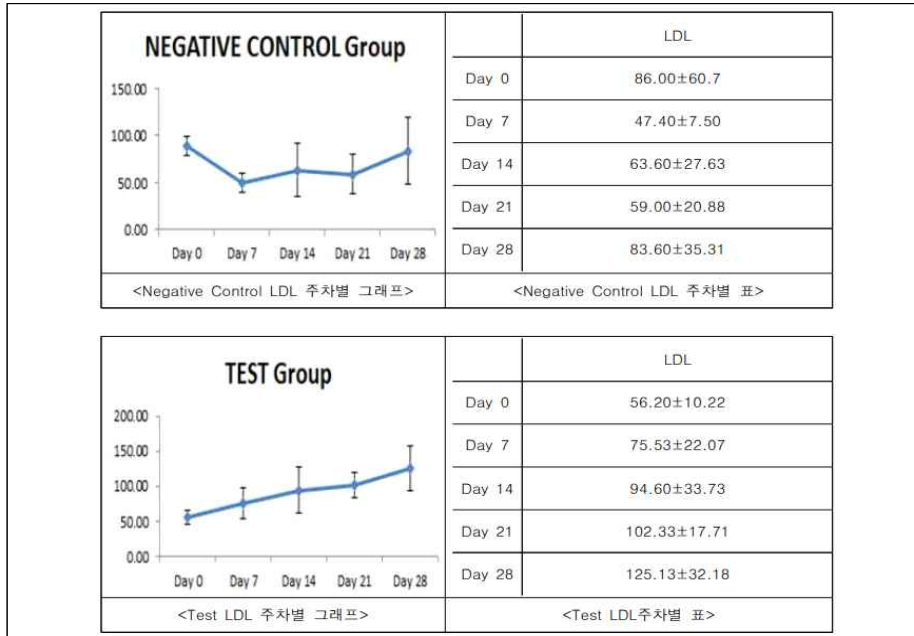
- T그룹에서 총 콜레스테롤 수치가 유의적으로 증가하는 양상을 보였고, LDL값 역시 유의적으로 증가하는 양상이 관찰되었음.



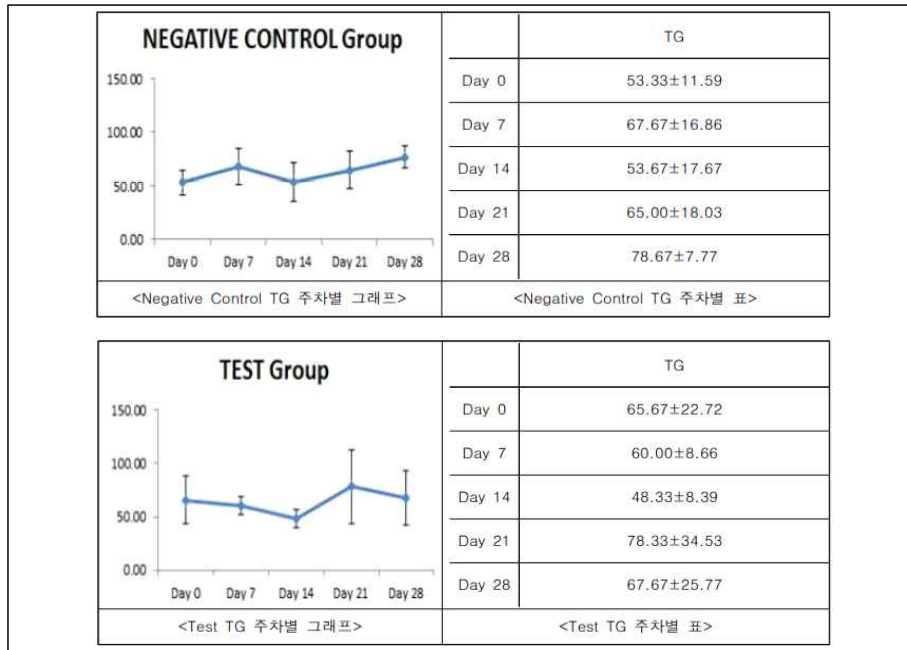
[표 12] 주차별 총 콜레스테롤 수치 변화



[표 13] 주차별 HDL 수치 변화



[표 14] 주차별 LDL 수치 변화



[표 15] 주차별 TG 수치 변화

- 본 연구결과만으로 판단했을 때 혈행개선에 대한 유효성은 관찰되지만, 지질대사 개선에 대한 유효성은 없는 것으로 사료됨.
- 그러나, 라우릭산 투여시 일반적으로 연구에서 보고된 “총 콜레스테롤 수치가 증가하나, LDL보다 HDL이 증가하는 양상을 보여 혈행개선에 유효한 효과를 보인다.” 내용과는 반대로, 총 콜레스테롤 증가 양상과 LDL 수치가 같이 증가하는 양상을 보임. 이는 라포그 플러스 제품에 라우릭산이 풍부한 동애등에 오일이 아닌 기호성 향상을 위해 대체한 연어 오일로 인한 것으로 사료됨.
- 1차년도의 단백질 수화율이 우수하다는 유효성과는 반대로 지질대사에 미치는 영향이 좋지 않을 수도 있다는 결론이 도출될 수 있어 추가 연구가 필요함. 그럼에도 불구하고, 혈행개선 지표 중 Fib의 값이 유의하게 감소되는 것으로 확인되어 후속연구를 통해 좀 더 많은 반려견을 대상으로, 그리고 생애주기별로 특정기간에 초점을 맞춘 연구가 필요할 것으로 사료됨.

㉔ 4주간 투여 후 안전성 평가 결과

Table 1. Hematological profiles of pre-test				Table 2. Hematological profiles of post-test					
	Day 0	NC	T1	Ref. Range		Day 28	NC	T1	Ref. Range
WBC (× 10 ⁹ /μL)	12.77±2.55	10.50±4.39	6.0 - 17.0		WBC (× 10 ⁹ /μL)	9.57±2.48	9.80±1.11	6.0 - 17.0	
Lymph# (× 10 ⁹ /μL)	4.87±0.42	2.30±1.31	0.8 - 5.1		Lymph# (× 10 ⁹ /μL)	4.50±0.87	2.47±1.20	0.8 - 5.1	
Mon# (× 10 ⁹ /μL)	1.13±0.74	1.07±0.31	0.0 - 1.8		Mon# (× 10 ⁹ /μL)	1.10±0.66	0.80±0.10	0.0 - 1.8	
Gran# (× 10 ⁹ /μL)	10.17±1.42	6.83±2.75	4.0 - 12.6		Gran# (× 10 ⁹ /μL)	8.93±0.74	8.47±1.17	4.0 - 12.6	
Lymph% (%)	23.37±2.06	14.13±1.69	12.0 - 30.0		Lymph% (%)	24.43±2.92	21.30±8.42	12.0 - 30.0	
Mon% (%)	6.93±1.50	9.93±1.27	2.0 - 9.0		Mon% (%)	7.47±1.89	7.47±0.15	2.0 - 9.0	
Gran% (%)	69.33±3.59	74.10±7.81	60.0 - 83.0		Gran% (%)	68.60±8.12	73.13±5.95	60.0 - 83.0	
RBC (× 10 ⁹ /μL)	7.27±1.06	6.83±0.98	5.50 - 8.50		RBC (× 10 ⁹ /μL)	6.76±0.74	6.24±0.72	5.50 - 8.50	
HGB (Xg/dL)	14.43±2.21	14.53±1.74	11.0 - 19.0		HGB (Xg/dL)	15.90±1.71	13.93±0.86	11.0 - 19.0	
HCT (%)	43.40±0.89	42.50±0.75	39.0 - 56.0		HCT (%)	45.27±3.67	44.03±2.23	39.0 - 56.0	
MCV (fL)	68.20±4.20	70.57±1.03	62.0 - 72.0		MCV (fL)	69.87±2.90	70.33±6.63	62.0 - 72.0	
MCH (pg)	24.30±0.44	22.67±0.50	20.0 - 25.0		MCH (pg)	24.03±0.78	22.03±2.03	20.0 - 25.0	
MCHC (g/dL)	32.50±1.14	33.50±2.13	30.0 - 38.0		MCHC (g/dL)	33.53±2.42	32.83±2.57	30.0 - 38.0	
RDW (%)	13.27±0.76	11.93±0.67	11.0 - 15.5		RDW (%)	12.93±0.72	12.47±0.12	11.0 - 15.5	
PLT (× 10 ⁹ /μL)	247.67±112.72	470.00±48.28	117 - 460		PLT (× 10 ⁹ /μL)	257.33±107.61	600.67±328.99	117 - 460	
MPV (fL)	9.00±1.55	7.90±1.23	7.0 - 12.9		MPV (fL)	8.13±0.60	7.10±0.17	7.0 - 12.9	
PDW	13.57±1.88	14.43±2.42	-		PDW	14.03±1.76	14.53±2.02	-	
PCT (%)	0.29±0.24	0.46±0.16	-		PCT (%)	0.31±0.19	0.55±0.05	-	
Eos (%)	7.77±6.26	15.63±4.38	-		Eos (%)	6.40±5.76	11.33±7.00	-	

[표 16] CBC 결과

Table 3. Serum Biochemistry profiles of pre-test			Table 4. Serum Biochemistry profiles of post-test				
	Day 0	NC	T1		Day 28	NC	T1
BUN-PS (mg/dl)	19.90±6.80	13.03±4.54		BUN-PS (mg/dl)	16.40±3.86	14.37±4.37	
CRE-PS (mg/dl)	1.48±0.29	1.34±0.66		CRE-PS (mg/dl)	1.38±0.46	1.27±0.70	
GOT-PS (u/l)	34.00±13.89	33.33±8.14		GOT-PS (u/l)	38.67±5.03	31.00±4.58	
GGT-PS (u/l)	3.33±2.08	1.67±1.15		GGT-PS (u/l)	4.33±0.58	4.33±1.15	
GPT-PS (u/l)	54.00±16.52	54.67±30.99		GPT-PS (u/l)	48.67±14.57	97.33±69.06	
ALP-PS (u/l)	65.67±15.82	166.00±70.45		ALP-PS (u/l)	96.33±15.31	153.33±70.47	

[표 17] Serum Biochemistry 결과

- 제공받은 LAPOG+ 사료의 투여 전·후 CBC와 Serum Biochemistry Profile에 특이점이나 주목할만한 변화는 없었으므로, LAPOG+ 사료의 투여에 의한 독성은 없는 것으로 판단됨.

(2) 정량적 연구개발성과

(가) 전담기관 등록·기탁 지표

① 논문(SCI): 계획 2건, 달성 2건

- Kaempferol Blocks the Skin Fibroblastic Interleukin 1β Expression and Cytotoxicity Induced by 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate by Suppressing c-Jun N-terminal Kinase

· 저 알레르기 사료 소재로써 동애등에 키토산과 가수분해 단백질에 대한 연구는 키토산에 함유된 다양한 플라보노이드의 항염증 및 항산화 기작에 대한 기초 연구가 필요하였음. 이는 플라보노이드의 항염증 특성을 조사한 Kaempferol에 대한 연구가 키토산의 항염증 기전을 이해하는 데 기여한 연구 중 하나일 수 있음을 시사함.

· 연구진은 플라보노이드에 대한 기초 연구 결과를 바탕으로 키토산과 가수분해 단백질 소재의 잠재적인 항염증 및 항산화 효과를 추정하고, 위장관 상피세포 독성 및 염증 조절 능력을 실험하는 연구를 수행할 수 있었음. 따라서 Kaempferol에 대한 연구는 사료 소재로서의 키토산 사용과 관련된 플라보노이드의 항염증 기작에 대한 통찰력을 제공함으로써 동애등에 키토산 및 가수분해 단백질 연구 수행에 다양한 실험기반을 제공함.

- Astaxanthin Inhibits Autophagic Cell Death Induced by Bisphenol A in Human Dermal Fibroblasts

· 동애등에 키토산의 지방분화 및 혈중 콜레스테롤 억제, 그리고 지방 축적을 억제하는 기능성 항산화 효능을 입증하기 위한 연구를 진행하면서, 활성산소 억제를 통한 세포분화 조절 메커니즘에 대한 기초연구가 필요하였음. 특히 세포의 자가포식(Autophagy)을 조절하는 메커니즘은 동애등에 키토산의 지방분화 조절, 콜레스테롤 개선 및 비만을 조절하는 잠재적인 효과를 이해하는데 중요한 세포대사 기전임.

· 따라서 새우, 게 등 조개류에 풍부하게 함유된 Astaxanthin에 대한 세포분화조절 연구는 지방분화 조절에서 키토산 사용과 관련된 자가포식(Autophagy)기작에 대한 통찰력을 제공함으로써 동애등에 키토산 지방분화 조절 연구 수행에 다양한 실험기반 및 기본 분자 메커니즘을 제공함.

② 논문(비SCI): 계획 0건, 달성 1건

③ 특허출원: 계획 1건, 달성 2건

④ 특허등록: 계획 1건, 달성 0건

(나) 연구개발과제 특성 반영 지표

① 고용창출: 계획 2건, 달성 26건

② 제품화: 계획 2건, 달성 3건

㉠ 제품 1) 라포그 플러스(제품용도: 반려견 처방식 사료, 제품 출시일: 2022.07.14.)



㉠ 제품 2) 리얼인섹트 웨이트밸런스(제품용도: 반려견 사료, 제품 출시일: 2021.08.09.)



㉡ 제품 3) 코어덴탈츄 그린(제품용도: 반려견 처방식 사료, 제품 출시일: 2021.12.09.)



③ 매출액: 계획 300,000 천원, 달성 303,000 천원

- 라포그 플러스 매출액: 7,712 천원
- 리얼인섹트 웨이트밸런스 매출액: 233,005 천원
- 코어덴탈츄 그린 매출액: 62,506 천원

④ 수출액: 계획 10,000 천원, 달성 4,000 천원

- 코어덴탈츄 그린 수출액: 4,000 천원

⑤ 홍보전시: 계획 1건, 달성 15건

- 가장 규모가 큰 5월 펫페어(일산)에서 수요조사를 진행하고 반려동물 시장의 경쟁 현황을 파악하여 홍보 및 제품개발 방향을 설정하였음. 기업 브랜딩 및 인지도 확보와 신규 고객 유치 진행을 위한 박람회 및 전시회 총 15회 참가. 위드코로나로 오프라인 시장 확대를 중점으로 마케팅을 진행함.

2022 코리아펫쇼
(2022.04.01~2022.04.03)



▲ 부스 시안



▲ 현장 결과

2022 케이펫페어 세텍
(2022.04.08~2022.04.10)

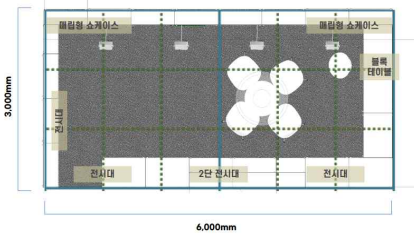


▲ 부스 시안



▲ 현장 결과

2022 케이펫페어 부산
(2022.04.22~2022.04. 24)

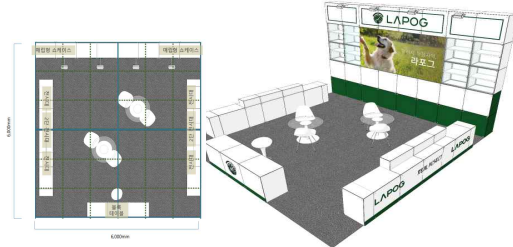


▲ 부스 시안



▲ 현장 결과

2022 마이펫페어 송도
(2022.04.29 ~2022.05.01)



▲ 부스 시안



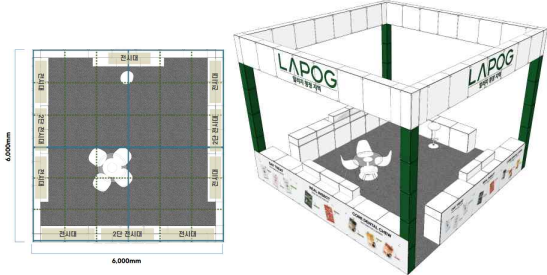
▲ 현장 결과

2021 케이펫페어 일산
(2021.11.19.~2021.11.21)



▲ 부스 시안

2022 케이펫페어 일산
(2022.05.20~2022.05.22)



▲ 부스 시안



▲ 현장 결과



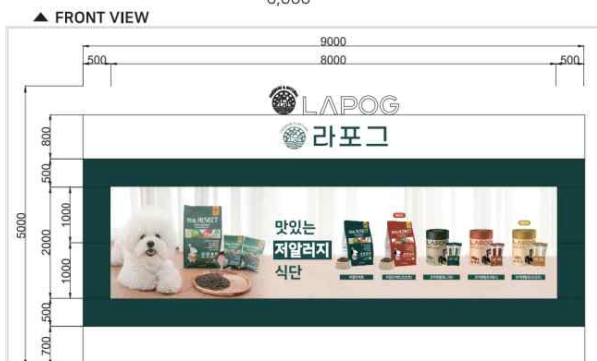
▲ 현장 결과

2021 마이펫페어 송도
(2021.07.09.~2021.07.11.)



▲ 부스 시안

2021 케이펫페어 코엑스
송도(2021.08.06.~2021.08.08)



▲ 부스 시안



▲ 현장 결과



▲ 현장 결과

2021 서울펫쇼
(2021.09.03.~2021.09.05)



▲ 부스 시안

2021 부산펫쇼
(2021.09.10.~2021.09.12)



▲ 부스 시안



▲ 현장 결과



▲ 현장 결과

2022 케이펫페어 코엑스
(2022.07.22~2022.07.24)



▲ 부스 시안

2022 서울펫쇼
(2022.09.16.~2022.09.18)



▲ 부스 시안



▲ 현장 결과

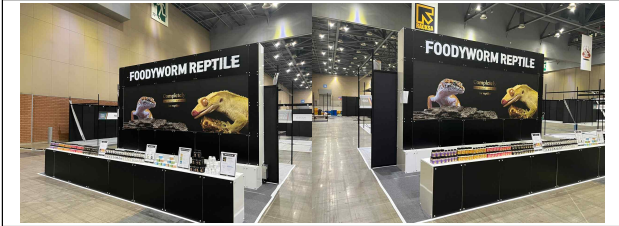


▲ 현장 결과

2022 희귀반려동물박람회
(2022.10.01 ~ 2022.10.02)



▲ 부스 시안



▲ 현장 결과

2022 케이펫페어 대구
(2022.10.07 ~ 2022.10.09)

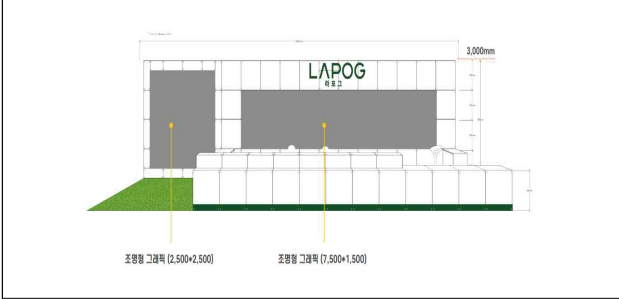


▲ 부스 시안



▲ 현장 결과

2022 마이펫페어 수원
(2022.10.21~2022.10.23)

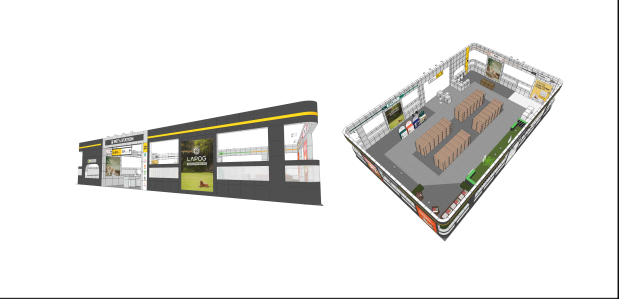


▲ 부스 시안

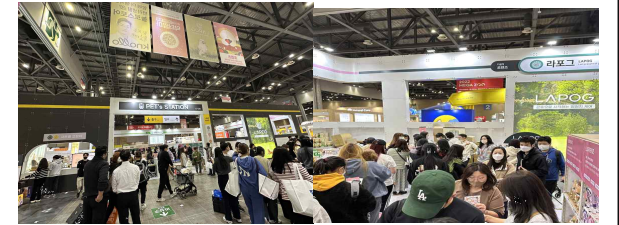


▲ 현장 결과

2022 케이펫페어 일산
(2022.11.18~2022.11.20)



▲ 부스 시안



▲ 현장 결과

(다) 연구개발성과 성능지표

① 유해성 평가_중금속(납, 카드뮴, 비소)

- 납: (계획) 5이하, (달성) 불검출
- 카드뮴: (계획) 0.5이하, (달성) 불검출
- 비소: (계획) 2이하, (달성) 1.85
 - 평가방법: 사료표준분석 4.19.ICP발광분광분석법
 - 평가환경: 한국사료협회 사료기술연구소

중금속		
납(ppm)	불검출	사료표준분석 4.19.ICP발광분광분석법
카드뮴(ppm)	불검출	사료표준분석 4.19.ICP발광분광분석법
비소(ppm)	1.85	사료표준분석 4.19.ICP발광분광분석법

② 유해성 평가_미생물(대장균, 클로스트리디움, 살모넬라)

- 대장균: (계획) 불검출, (달성) N.C(10^1)
 - 평가방법: 식품공전 4.7.2 정량시험 다.건조필름법
 - 평가환경: 한국사료협회 사료기술연구소
- 살모넬라: (계획) 불검출, (달성) 불검출
 - 평가방법: 사료표준분석 8.1.살모넬라 다.효소면역기법
 - 평가환경: 한국사료협회 사료기술연구소
- 클로스트리디움: (계획) 불검출, (달성) 불검출
 - 평가방법: 평가환경 기준
 - 평가환경: 한국기능식품연구원

대장균(cfu/g)	N.C(10^1)	식품공전 4.7.2 정량시험 다.건조필름법
살모넬라	불검출	사료표준분석 8.1.살모넬라 다.효소면역기법
시험 항목		시험 결과
클로스트리디움 퍼프린젠스		음성

③ 단백질 가수분해물 분자크기

- 분자량: 계획 10kDa 이하, 달성: 400Da ~ 10kDa
 - 평가방법: SDS-PAGE(자체평가), GPC 분석
 - 평가환경: 자체평가, 한국고분자시험연구소

	Mn (Daltons)	Mw (Daltons)	MP (Daltons)	Polydispersity	% Area
1	275	475	368	1.731	100.00

④ 아미노산 분석

- 계획: 1건, 달성: 1건

- 평가방법: 사료표준분석 3.2.Ninhydrin법
- 평가환경: 한국사료협회 사료기술연구소

아미노산			아미노산		
Aspartic acid(%)	4.95	사료표준분석 3.2.Ninhydrin법	Aspartic acid(%)	5.58	사료표준분석 3.2.Ninhydrin법
Threonine(%)	2.10	사료표준분석 3.2.Ninhydrin법	Threonine(%)	2.42	사료표준분석 3.2.Ninhydrin법
Serine(%)	2.25	사료표준분석 3.2.Ninhydrin법	Serine(%)	2.65	사료표준분석 3.2.Ninhydrin법
Glutamic acid(%)	6.19	사료표준분석 3.2.Ninhydrin법	Glutamic acid(%)	7.78	사료표준분석 3.2.Ninhydrin법
Glycine(%)	2.84	사료표준분석 3.2.Ninhydrin법	Glycine(%)	3.20	사료표준분석 3.2.Ninhydrin법
Alanine(%)	3.26	사료표준분석 3.2.Ninhydrin법	Alanine(%)	4.11	사료표준분석 3.2.Ninhydrin법
Valine(%)	3.12	사료표준분석 3.2.Ninhydrin법	Valine(%)	3.76	사료표준분석 3.2.Ninhydrin법
Isoleucine(%)	2.09	사료표준분석 3.2.Ninhydrin법	Isoleucine(%)	2.59	사료표준분석 3.2.Ninhydrin법
Leucine(%)	3.39	사료표준분석 3.2.Ninhydrin법	Leucine(%)	3.83	사료표준분석 3.2.Ninhydrin법
Tyrosine(%)	3.38	사료표준분석 3.2.Ninhydrin법	Tyrosine(%)	2.35	사료표준분석 3.2.Ninhydrin법
Phenylalanine(%)	2.17	사료표준분석 3.2.Ninhydrin법	Phenylalanine(%)	2.08	사료표준분석 3.2.Ninhydrin법
Lysine(%)	3.17	사료표준분석 3.2.Ninhydrin법	Lysine(%)	3.69	사료표준분석 3.2.Ninhydrin법
Histidine(%)	1.65	사료표준분석 3.2.Ninhydrin법	Histidine(%)	1.79	사료표준분석 3.2.Ninhydrin법
Arginine(%)	2.52	사료표준분석 3.2.Ninhydrin법	Arginine(%)	3.00	사료표준분석 3.2.Ninhydrin법
Cystine(%)	0.41	사료표준분석 3.2.Ninhydrin법	Cystine(%)	0.32	사료표준분석 3.2.Ninhydrin법
Methionine(%)	0.94	사료표준분석 3.2.Ninhydrin법	Methionine(%)	0.70	사료표준분석 3.2.Ninhydrin법
Proline(%)	3.48	사료표준분석 3.2.Ninhydrin법	Proline(%)	4.29	사료표준분석 3.2.Ninhydrin법
control			Alc 1% + Neu 0.5%		
아미노산			아미노산		
Aspartic acid(%)	6.44	사료표준분석 3.2.Ninhydrin법	Aspartic acid(%)	5.69	사료표준분석 3.2.Ninhydrin법
Threonine(%)	2.73	사료표준분석 3.2.Ninhydrin법	Threonine(%)	2.22	사료표준분석 3.2.Ninhydrin법
Serine(%)	3.00	사료표준분석 3.2.Ninhydrin법	Serine(%)	2.17	사료표준분석 3.2.Ninhydrin법
Glutamic acid(%)	9.02	사료표준분석 3.2.Ninhydrin법	Glutamic acid(%)	8.03	사료표준분석 3.2.Ninhydrin법
Glycine(%)	3.71	사료표준분석 3.2.Ninhydrin법	Glycine(%)	3.43	사료표준분석 3.2.Ninhydrin법
Alanine(%)	4.66	사료표준분석 3.2.Ninhydrin법	Alanine(%)	4.07	사료표준분석 3.2.Ninhydrin법
Valine(%)	4.24	사료표준분석 3.2.Ninhydrin법	Valine(%)	3.75	사료표준분석 3.2.Ninhydrin법
Isoleucine(%)	2.98	사료표준분석 3.2.Ninhydrin법	Isoleucine(%)	2.58	사료표준분석 3.2.Ninhydrin법
Leucine(%)	4.45	사료표준분석 3.2.Ninhydrin법	Leucine(%)	3.87	사료표준분석 3.2.Ninhydrin법
Tyrosine(%)	4.45	사료표준분석 3.2.Ninhydrin법	Tyrosine(%)	3.92	사료표준분석 3.2.Ninhydrin법
Phenylalanine(%)	2.54	사료표준분석 3.2.Ninhydrin법	Phenylalanine(%)	2.21	사료표준분석 3.2.Ninhydrin법
Lysine(%)	4.21	사료표준분석 3.2.Ninhydrin법	Lysine(%)	3.78	사료표준분석 3.2.Ninhydrin법
Histidine(%)	2.09	사료표준분석 3.2.Ninhydrin법	Histidine(%)	1.79	사료표준분석 3.2.Ninhydrin법
Arginine(%)	3.46	사료표준분석 3.2.Ninhydrin법	Arginine(%)	3.07	사료표준분석 3.2.Ninhydrin법
Cystine(%)	0.38	사료표준분석 3.2.Ninhydrin법	Cystine(%)	0.32	사료표준분석 3.2.Ninhydrin법
Methionine(%)	0.80	사료표준분석 3.2.Ninhydrin법	Methionine(%)	0.72	사료표준분석 3.2.Ninhydrin법
Proline(%)	4.65	사료표준분석 3.2.Ninhydrin법	Proline(%)	4.00	사료표준분석 3.2.Ninhydrin법
Alc 1% + Neu 0.5% + Fla 3%			Alc 0.8%		
아미노산			/		
Aspartic acid(%)	6.40	사료표준분석 3.2.Ninhydrin법			
Threonine(%)	2.72	사료표준분석 3.2.Ninhydrin법			
Serine(%)	3.00	사료표준분석 3.2.Ninhydrin법			
Glutamic acid(%)	8.99	사료표준분석 3.2.Ninhydrin법			
Glycine(%)	3.71	사료표준분석 3.2.Ninhydrin법			
Alanine(%)	4.67	사료표준분석 3.2.Ninhydrin법			
Valine(%)	4.24	사료표준분석 3.2.Ninhydrin법			
Isoleucine(%)	2.98	사료표준분석 3.2.Ninhydrin법			
Leucine(%)	4.45	사료표준분석 3.2.Ninhydrin법			
Tyrosine(%)	4.43	사료표준분석 3.2.Ninhydrin법			
Phenylalanine(%)	2.52	사료표준분석 3.2.Ninhydrin법			
Lysine(%)	4.22	사료표준분석 3.2.Ninhydrin법			
Histidine(%)	2.09	사료표준분석 3.2.Ninhydrin법			
Arginine(%)	3.50	사료표준분석 3.2.Ninhydrin법			
Cystine(%)	0.39	사료표준분석 3.2.Ninhydrin법			
Methionine(%)	0.81	사료표준분석 3.2.Ninhydrin법			
Proline(%)	4.59	사료표준분석 3.2.Ninhydrin법			
Alc 0.8% + Fla 2%					

⑨ IFN- γ 농도수치

- 계획: 10 이상, 달성: 26.06(전후 차이값)

- 평가방법: ELISA IFN- γ (KET7003, Abbkine, Shanghai, China) kit 실험
- 평가환경: 대구한의대 산학협력단 자체평가

⑩ 면역글로블린 (IgE) 농도수치

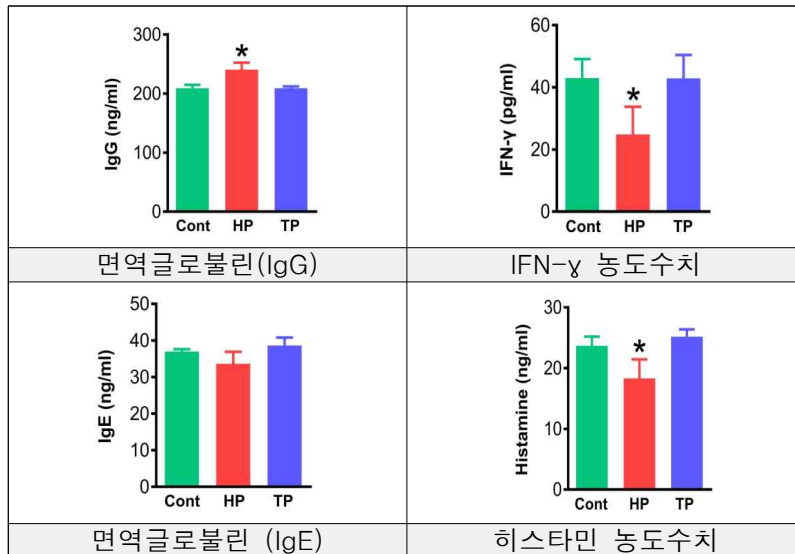
- 계획: 10 이하, 달성: 11.10(전후 차이값)

- 평가방법: ELISA IgE(OKEH03652, Aviva Systems Biology, California, USA) kit 실험
- 평가환경: 대구한의대 산학협력단 자체평가

⑪ 히스타민 농도수치

- 계획: 10 이하, 달성: 10.01(전후 차이값)

- 평가방법: ELISA Histamine(OKEH02576, Aviva Systems Biology, California, USA) kit
- 평가환경: 대구한의대 산학협력단 자체평가



⑫ 반려견 대상 임상 실험결과 보고서

- 계획: 1건, 달성: 1건

- 평가환경: 중부대학교 산학협력단 자체평가

IPET위탁과제 연구보고서

위탁연구책임자 : 정 태 호 (인)

중부대학교 반려동물학부
 동물행동복지학전공
 동물사육학전공
 동물보건학과

2022년 07월 23일

< 정량적 연구개발성과표 >

(단위 : 건, 천원)

성과지표명		연도	1단계 (2021~2022)	계	가중치 (%)
전담기관 등록·기탁 지표 ¹⁾	논문(SCI)	목표(단계별)	2	2	-
		실적(누적)	2	2	
	논문(비SCI)	목표(단계별)	0	0	-
		실적(누적)	1	1	-
	특허출원	목표(단계별)	1	1	10
		실적(누적)	2	2	
	특허등록	목표(단계별)	1	1	20
		실적(누적)	0	0	
연구개발과제 특성 반영 지표 ²⁾	고용창출	목표(단계별)	2	2	10
		실적(누적)	26	26	
	제품화	목표(단계별)	2	2	20
		실적(누적)	3	3	
	매출액	목표(단계별)	300,000	300,000	20
		실적(누적)	303,000	303,000	
	수출액	목표(단계별)	10,000	10,000	10
		실적(누적)	4,000	4,000	
	홍보전시	목표(단계별)	1	1	10
		실적(누적)	10	10	
계		목표(단계별)	310,009	310,009	100
		실적(누적)	306,045	306,045	73

< 연구개발성과 성능지표 >

평가 항목 (주요성능 ¹⁾)		단위	전체 항목에서 차지하는 비중 ²⁾ (%)	세계 최고		연구개발 전 국내 성능수준	연구개발 목표치	목표설정 근거
				보유국/보유기관	성능수준	성능수준	1단계 (2021~2022)	
1	유해성 평가_중금속(납, 카드뮴, 불소, 수은)	ppm	4	유럽/ 유럽식품안전청	납(5이하), 카드뮴(0.5 이하), 비소(2 이하)	납(5이하), 카드뮴(0.5 이하), 비소(2 이하)	납(5이하), 카드뮴(0.5 이하), 비소(2 이하)	유럽식품안 전청
2	유해성 평가_미생물(대장균, 클로스트리디움, 살모넬라)	-	4	대한민국/ 농림축산식품부	불검출	불검출	불검출	국내 사료 기준
3	단백질 가수분해물 분자크기	kDa	8	-	5이하	20이하	10이하	선행 연구자료
4	아미노산 분석	건	8	-	-	-	1	선행 연구자료
5	가수분해도	%	8	-	35이상	25이상	30이상	선행 연구자료
6	단백질 함량	%	8	-	80	60	70	선행 연구자료
7	총 콜레스테롤 농도수치	ng/dL	8	-	20이하	20 이하	10 이하	기능성판단 및 유의값
8	면역글로불린(IgG) 농도수치	ng/mL	8	-	20이상	20 이상	10 이상	기능성판단 및 유의값
9	IFN-γ 농도수치	ng/mL	8	-	10이상	10 이상	10 이상	기능성판단 및 유의값
10	면역글로불린(IgE) 농도수치	ng/mL	8	-	15이하	15 이하	10 이하	기능성판단 및 유의값
11	히스타민 농도수치	ng/mL	8	-	15이하	15 이하	10 이하	기능성판단 및 유의값
12	반려견 대상 임상 실험결과 보고서	건	20	-	-	-	1	-
합계			100					

(3) 세부 정량적 연구개발성과

[과학적 성과]

논문(국내외 전문 학술지) 게재

번호	논문명	학술지명	주저자명	호	국명	발행기관	SCIE 여부 (SCIE/BISSCIE)	게재일	등록번호 (ISSN)	기여율
1	Kaempferol Blocks the Skin Fibroblastic Interleukin 1b Expression and Cytotoxicity Induced by 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate by Suppressing c-jun N-terminal Kinase	Nutrients	박수지	8	Switzerland	MDPI	SCIE	2021.09.01	N/A(2072-6643)	100%
2	Astaxanthin Inhibits Autophagic Cell Death Induced by Bisphenol A in Human Dermal Fibroblasts	Antioxidants	임성령	9	Switzerland	MDPI	SCIE	2021.08.11	N/A(2076-3921)	100%
3	Dioscorea batatas Decne Glycoprotein Prevents Ecotoxicological Effects of Bisphenol A in Gastrointestinal Epithelial Cells and Improves Fecal Malodor and Feed Efficiency in Mice	한국환경과학회	김도완	1	대한민국	KENSS	비SCIE	2022.01.31	1225-4517	100%

국내 및 국제 학술회의 발표

번호	회의 명칭	발표자	발표 일시	장소	국명
1	한국제약공학회 2021년 추계 학술발표회	이세중	2021.12.03	온라인(Zoom)	대한민국
2	한국실험동물학회 2022년 동계심포지엄	이세중	2022.01.21	강원도 평창 알펜시아컨벤션	대한민국
3	한국생물공학회 2022년 춘계 학술발표대회 및 국제심포지엄	이세중	2022.04.13	대전컨벤션센터	대한민국

기술 요약 정보

- 해당없음.

보고서 원문

- 해당없음.

생명자원(생물자원, 생명정보)/화합물

- 해당없음.

[기술적 성과]

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

번호	지식재산권 등 명칭 (건별 각각 기재)	국명	출원				등록			기여율	활용 여부
			출원인	출원일	출원 번호	등록 번호	등록인	등록일	등록 번호		
1	동애등에 유충의 단백질 가수분해물 및 이의 제조방법	대한민국	농업회사법인 푸디웬(주)	2022-11-29	10-2022-0162533	-	-	-	-	100	○
2	동애등에 유충의 단백질 가수분해물을 유효성분으로 포함하는 식이 알러지 예방 또는 저감용 사료 조성물	대한민국	농업회사법인 푸디웬(주)	2023-01-04	10-2023-0001137	-	-	-	-	100	○

○ 지식재산권 활용 유형

번호	제품화	방어	전용실시	통상실시	무상실시	매매/양도	상호실시	담보대출	투자	기타
1	√									
2	√									

저작권(소프트웨어, 서적 등)

- 해당없음.

신기술 지정

- 해당없음.

기술 및 제품 인증

- 해당없음.

표준화

○ 국내표준

- 해당없음.

○ 국제표준

- 해당없음.

[경제적 성과]

□ 시제품 제작

번호	시제품명	출시/제작일	제작 업체명	설치 장소	이용 분야	사업화 소요 기간	인증기관 (해당 시)	인증일 (해당 시)
1	라포그 플러스 가수분해단백질 사료	2022.07.14	푸디웜(주)	-	처방식 사료	12개월	-	-
2	라포그 리얼인섹트 웨이트밸런스	2021.08.09	푸디웜(주)	-	사료	4개월	-	-
3	라포그 코어덴탈츄 그린	2021.12.09	푸디웜(주)	-	간식	7개월	-	-

□ 기술 실시(이전)

- 해당없음.

□ 사업화 투자실적

- 해당없음.

□ 사업화 현황

번호	사업화 방식 ¹⁾	사업화 형태 ²⁾	지역 ³⁾	사업화명	내용	업체명	매출액		매출 발생 연도	기술 수명
							국내 (천원)	국외 (달러)		
1	제품출시	신제품 개발	국내	라포그 플러스	가수분해 단백질	푸디웜(주)	7,713	-	2022	7년
2	제품출시	신제품 개발	국내	리얼인섹트 웨이트밸런스	사료	푸디웜(주)	233,006	-	2022	5년
3	제품출시	신제품 개발	국내/해외	코어덴탈츄 그린	간식	푸디웜(주)	62,507	2,957	2022	5년

* 1) 기술이전 또는 자기실시

* 2) 신제품 개발, 기존 제품 개선, 신공정 개발, 기존 공정 개선 등

* 3) 국내 또는 국외

□ 매출 실적(누적)

사업화명	발생 연도	매출액		합계	산정 방법
		국내(천원)	국외(달러)		
라포그 플러스	2022	7,713	-	7,713	거래명세서
리얼인섹트 웨이트밸런스	2022	233,006	-	233,006	거래명세서
코어덴탈츄 그린	2022	62,507	2,957	66,382	거래명세서/Invoice
합계		303,226	3,876(천원)	307,101	1,310원/usd 환율

□ 사업화 계획 및 무역 수지 개선 효과

성과		반려동물 사료 및 간식			
사업화 계획	사업화 소요기간(년)	5			
	소요예산(천원)	1,000,000,000			
	예상 매출규모(천원)	현재까지	3년 후	5년 후	
		2,637,927	5,000,000	9,000,000	
	시장 점유율	단위(%)	현재까지	3년 후	5년 후
			국내	7	10
국외			2	3	
향후 관련기술, 제품을 응용한 타 모델, 제품 개발계획		곤충 유래 키틴 나노파이버 개발			
무역 수지 개선 효과(천원)	수입대체(내수)	현재	3년 후	5년 후	
		5,000	10,000	50,000	
	수출	42,450달러	50,000달러	60,000달러	

고용 창출

순번	사업화명	사업화 업체	고용창출 인원(명)		합계
			2021년	2022년	
1	곤충 소재 공정개발	푸디웜(주)	16	10	26
합계			16	10	26

고용 효과

구분			고용 효과(명)
고용 효과	개발 전	연구인력	6
		생산인력	1
		마케팅인력	4
		경영관리 인력	3
	개발 후	연구인력	19
		생산인력	2
		마케팅인력	12
		경영관리 인력	5

비용 절감(누적)

- 해당없음.

경제적 파급 효과

(단위: 천원/년)

구분	사업화명	수입 대체	수출 증대	매출 증대	생산성 향상	고용 창출 (인력 양성 수)	기타
해당 연도	반려동물 사료 및 간식	5%	-	80%	20%	16	
기대 목표	수입원료 대체, 원료 원가 절감	20%	100%	100%	100%	30	

산업 지원(기술지도)

- 해당없음.

기술 무역

- 해당없음.

[사회적 성과]

- 해당없음.

법령 반영

- 해당없음.

정책활용 내용

- 해당없음.

설계 기준/설명서(시방서)/지침/안내서에 반영

- 해당없음.

전문 연구 인력 양성

- 해당없음.

산업 기술 인력 양성

- 해당없음.

다른 국가연구개발사업에의 활용

- 해당없음.

국제화 협력성과

- 해당없음.

□ 홍보 실적

번호	홍보 유형	매체명	제목	홍보일
1	전시회	메세이상	2021 마이펫페어 송도	2021.07.09.~2021.07.11
2	전시회	메세이상	2021 케이펫페어 코엑스	2021.08.06.~2021.08.08
3	전시회	미래전람	2021 서울펫쇼	2021.09.03.~2021.09.05
4	전시회	미래전람	2021 부산펫쇼	2021.09.10.~2021.09.12
5	전시회	메세이상	2021 케이펫페어 일산	2021.11.19.~2021.11.21
6	전시회	더페어스	2022 코리아펫쇼	2022.03.31. ~2022.04.03
7	전시회	메세이상	2022 섹터 케어펫페어	2022.04.07.~2022.04.10
8	전시회	메세이상	2022 부산 케이펫페어	2022.04.21.~2022.04.24
9	전시회	메세이상	2022 송도 마이펫페어	2022.04.28.~2022.05.01
10	박람회	렉사이모런	2022 희귀애완동물박람회	2022.05.13.~2022.05.15
11	전시회	미래전람	2022 서울펫쇼	2022.09.15.~2022.09.18
12	박람회	렉사이모런	2022 희귀반려동물박람회	2022.09.30.~2022.10.02
13	전시회	메세이상	2022 대구케이펫페어	2022.10.06.~2022.10.09
14	전시회	마이팁페어스	2022 수원 마이펫페어	2022.10.20.~2022.10.23
15	전시회	메세이상	2022 일산 마이펫페어	2022.11.17.~2022.11.20

□ 포상 및 수상 실적

번호	종류	포상명	포상 내용	포상 대상	포상일	포상 기관
1	포상	유망중소기업	기술,경영,판매력이 우수한 유망중소기업으로 선정	푸디웜(주)	22.07.14	청주시
2	수상	우수포스터상	우수포스터상	김은주, 김예영, 김태훈, 이세중	2021. 12. 03	한국제약공학회

[인프라 성과]

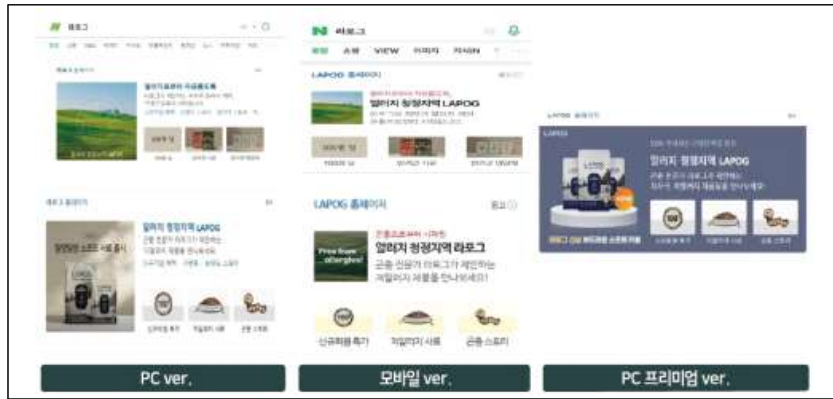
□ 연구시설·장비

- 해당없음.

[그 밖의 성과]

○ 마케팅: 브랜드 검색 광고

- 1차년도 및 2차년도 전시회 등을 통해 수집한 정보에서 반려동물 보호자 대부분이 반려동물 용품(펫푸드 포함)의 구입처는 인터넷 구매비율이 높다고 확인되어 이커머스 마케팅의 집중 활용을 통해 매출을 극대화 하였음.
- 인지도 높은 네이버 검색을 통해 라포그 브랜드 홍보 및 브랜드 가치 향상을 기대하였으며 클릭수 및 매출 전환을 관리를 통해 자사 브랜드몰 유입 및 매출증가를 확인하였음.



[표 1] 브랜드 검색 광고 결과



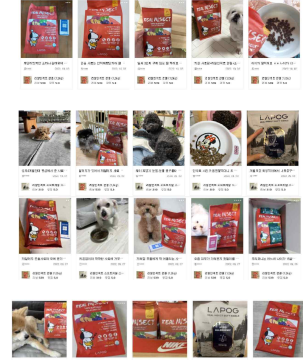
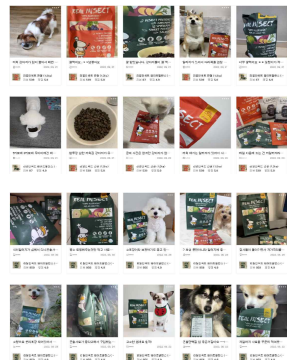
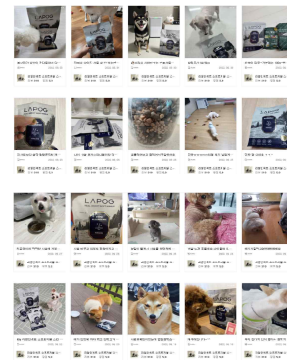
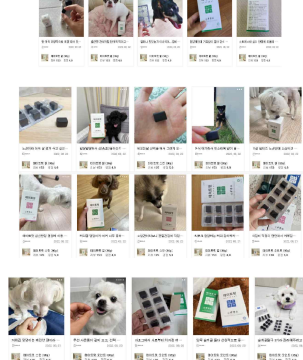
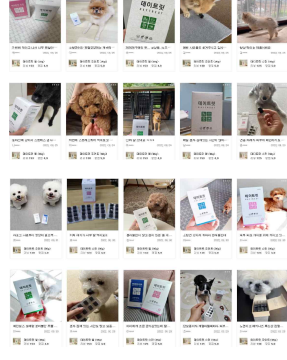
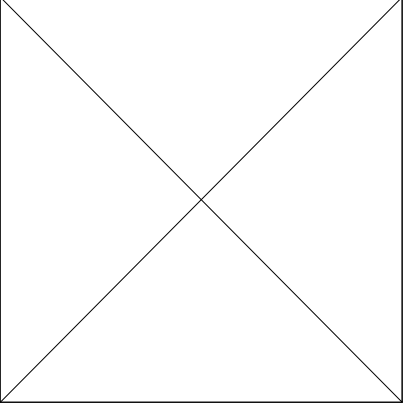
○ 마케팅: SNS 마케팅

- 페이스북/인스타그램 등 광고 채널을 활용하여 ‘라포그’ 브랜드몰 광고를 집행하였음. 다양한 광고 소재를 테스트 운영하여 마케팅 방향을 준비하였음.
- 페이스북 채널을 활용한 광고집행으로 KPI (노출 17,732, 873회/광고소재22건 제작)을 달성하여 매출 75백만원을 달성하였음.

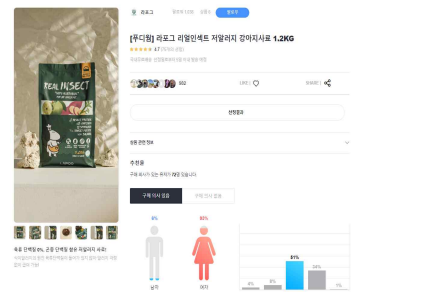
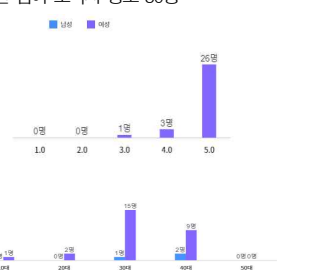
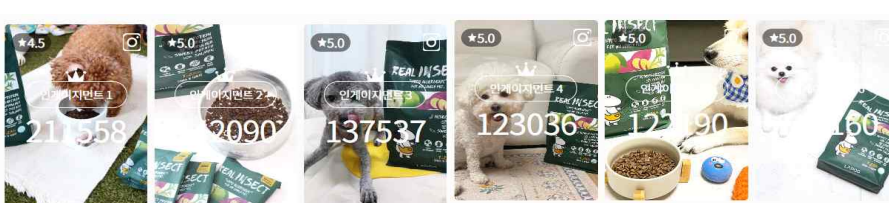
	<p>[채팅단 이벤트] 라포그 리얼인sect 웨이브팩트/관찰 사료 2종 100명 모집</p> <p>건강한 반려견 사료 리얼인sect 웨이브팩트/관찰 사료 2종 100명 모집 오랜 연구 끝에 발간한 과학적 검증의 리얼인sect 영양분 그 결과? 맛과 영양을 높기, 면역력을 높기, 활력 증가, 영생소 증가 국내 유일 스타트업 인증업체로 리얼인sect의 안전한 품질 테스트 시스템으로 제어하여 철저한 품질관리 & 안전한 제조시설을 갖춘 만큼 믿을 수 있는 라포그 리얼인sect 양조 사료 2종 웨이브팩트를 위한 라포그 리얼인sect 사료용 채팅단 100명을 모집합니다.</p> <p>-채팅단 이벤트> -채팅방법: 1) 라포그 리얼인sect 웨이브팩트 2) 라포그 리얼인sect 관찰 -모집기간: 2022-06-30(목)~2022-07-31(일) -모집인원: 100명 (기행) 중 50명(남성) -채팅단 당첨일: 2022-08-08(일) -채팅단 신청방법: 1) 채팅단 모집 페이지를 가제, 링크로 SNS 공개 공유해주세요 2) 채팅단 신청서를 작성해주세요. * 채팅단 신청하기: https://bit.ly/3nkP2zR ※ 채팅단 신청서 작성 후 30분 이내로 채팅 단 신청이 이루어지도록 하겠습니다.</p>

[표 2] 카페 광고배너(체험단)

○ 마케팅: 자사물 리뷰체험단, 인스타 체험단, 배너광고 등

<div style="border: 1px solid black; padding: 5px; text-align: center;">리뷰 체험단</div> <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th style="width: 20%;">구분</th> <th style="width: 80%;">내용</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>계약 업체</td> <td>리뷰플래이스</td> </tr> <tr> <td>리뷰 작업 캠페인 수</td> <td>26건</td> </tr> <tr> <td>리뷰 작업 세부 내용</td> <td>1) 10명 * 2건 = 20명 2) 20명 * 5건 = 100명</td> </tr> <tr> <td>총 리뷰 작업 인원 수</td> <td>310명</td> </tr> <tr> <td>리뷰 작업 기간</td> <td>2022-07-26~2022-10-03</td> </tr> <tr> <td>작업 진행 제품</td> <td>6건 (사료 3종 & 영양제 3종)</td> </tr> </tbody> </table>	구분	내용	계약 업체	리뷰플래이스	리뷰 작업 캠페인 수	26건	리뷰 작업 세부 내용	1) 10명 * 2건 = 20명 2) 20명 * 5건 = 100명	총 리뷰 작업 인원 수	310명	리뷰 작업 기간	2022-07-26~2022-10-03	작업 진행 제품	6건 (사료 3종 & 영양제 3종)	 <p>리뷰체험단: 22.08.27 - 22.09.04 [자사물] 반려견 피루에 영양제 데이트로 스킨 추천!♥ 사료&사료 영양제 피루에 데이트로 스킨 (3kg) 1개 25,000P</p> <p>리뷰체험단: 22.09.23 - 22.10.03 [자사물] 건강관 저칼орий 견종케어 사료 추천해요!♥ 사료&사료 건강케어 저칼орий 견종 케어 (1.2kg) 3개 25,000P</p> <p>리뷰체험단: 22.09.14 - 22.10.03 [자사물] 건강관 저칼орий 견종케어 사료 추천해요!♥ 사료&사료 건강케어 저칼орий 견종 케어 (1.2kg) 3개 25,000P</p>	 <p>리뷰체험단: 22.08.23 - 22.09.01 [자사물] 반려견 피루에 영양제 데이트로 스킨 추천!♥ 사료&사료 영양제 피루에 데이트로 스킨 (3kg) 22,000P</p> <p>리뷰체험단: 22.08.23 - 22.09.01 [자사물] 건강관 저칼орий 견종케어 데이트로 스킨 추천!♥ 사료&사료 건강케어 저칼орий 견종 케어 (1.2kg) 3개 22,000P</p> <p>리뷰체험단: 22.08.23 - 22.09.01 [자사물] 건강관 저칼орий 견종케어 데이트로 스킨 추천!♥ 사료&사료 건강케어 저칼орий 견종 케어 (1.2kg) 3개 25,000P</p> <p>리뷰체험단: 22.08.18 - 22.08.28 [자사물] 제2당영양제 곤충단백질 견종케어 추천해요!♥ 사료&사료 제2당영양제 곤충단백질 견종 케어 (1.2kg) 3개 (홍콩출판권) * 3개 25,000P</p>
구분	내용															
계약 업체	리뷰플래이스															
리뷰 작업 캠페인 수	26건															
리뷰 작업 세부 내용	1) 10명 * 2건 = 20명 2) 20명 * 5건 = 100명															
총 리뷰 작업 인원 수	310명															
리뷰 작업 기간	2022-07-26~2022-10-03															
작업 진행 제품	6건 (사료 3종 & 영양제 3종)															
<p><리뷰 내용> - 사료 3종</p> 																
<p>- 영양제 3종</p> 																

[표 3] 자사물 리뷰 체험단

 <p>쿠폰 4,000 원</p> <p>[유대형] 리얼인sect 저칼орий 견종케어 1.2kg ★ 4,700 원 (10%) 리얼인sect 곤충단백질 견종케어</p> <p>3,900 원</p> <p>영양제 영양제 중형용 개사육 12개월 이상용</p> <p>남자 8% 여자 91%</p>	<p>캠페인 참여 소비자 정보 30명</p> <p>4.8/5.0</p>  <p>9% 91%</p> <p>남자 9% 여자 91%</p>
<p style="text-align: center;">인스타그램 베스트 경험</p>  <p>★4.5 인게이지먼트 1 211558</p> <p>★5.0 인게이지먼트 2 2090</p> <p>★5.0 인게이지먼트 3 137537</p> <p>★5.0 인게이지먼트 4 123036</p> <p>★5.0 인게이지먼트 5 12590</p> <p>★5.0 인게이지먼트 6 160</p>	

[표 4] 인스타그램 체험단

(4) 계획하지 않은 성과 및 관련 분야 기여사항

○ 탈아세틸화 효소종 개발

- 전 세계 키틴 수요량보다 키틴 공급량은 수요에 절대적으로 부족한 실정이며, 국내 키틴산 생산업체 또한 원료 확보에 어려움을 겪고 있음. 따라서, 이를 대체할 새로운 생물소재의 필요성과 더불어 밀집 대량생산이 가능하고 품질이 좋은 곤충(동애등에)의 외피로부터 생물효소학적 처리에 따른 고순도의 키틴산 생산 공정 개발이 절실히 요구됨. 따라서 가천대학교 산학협력단에 연구 용역을 의뢰하여 키틴 탈아세틸화 효소를 생산하는 미생물 효소 생산 균주 확보, 효소생산 최적화, 기질반응 최적화, 유전자 클로닝 및 재조합 효소 발현에 따른 생물효소학적으로 키틴/키틴산 생산 노하우 및 기술력을 확보하고자 하였음.
- Chitinase, Chitin Deacetylase 생성 능력이 있는 균주 3종을 확보하였으며, 각 효소의 최적 조건과 키틴산 전환율을 확인하였음. 다만, 상업적으로 적용하기에는 낮은 수준의 전환율이므로, 가장 높은 Chitin Deacetylase 활성을 나타내는 균주를 선별하여 해당 효소를 상업적으로 활용하기 위한 추가 연구를 진행 중에 있음.

선별 미생물	키틴산 전환율 (%)
SH-01	1.12±0.03
SH-02	2.58±0.03
SH-03	3.60±0.02

[표 1] 후보 균주 3종의 키틴산 전환율

- 키틴/키틴산 제조에 있어서 고농도 가성소다 사용은 인체/환경적인 측면에서 사용상의 위험도가 매우 높으며, 환경오염의 원인이 지속적으로 발생하게 되어 많은 문제를 발생시킴. 이를 극복하고자 많은 연구자들이 지속적으로 생물효소학적 처리법을 강구하고 있으나 현실적으로 실용화되지 못하는 실정임. 생물효소학적 처리법에 따른 키틴/키틴산 제조과정에서의 친환경적 공정 개발이 산업용 규모로까지 연결된다면 곤충 소재의 가치를 극대화할 수 있을 것으로 기대함.

2) 목표 달성 수준

추진 목표	달성 내용	달성도(%)
○ 동애등에 단백질 가수분해물 추출 조건 확립	○ 곤충 단백질 추출기술 개발 ○ 추출 단백질의 가수분해 조건 확립 ○ 가수분해물의 성분 분석	○ 100
○ 대량 생산 공정 확립 및 시설 구축	○ 곤충 단백질 대량 제조공정 확립 ○ 대규모 가수분해 조건 확립 ○ 대량 생산 시설 건축 준공 및 설비 계약 완료	○ 100
○ 단백질 가수분해물 소재(동애등에 단백질 가수분해물, 키틴산)를 활용한 애견사료 개발	○ 단백질 및 가수 분해물을 이용한 사료제품개발 - 라포그 플러스(가수 분해물 활용 사료) - 리얼인섹트 웨이트밸런스(단백질, 키틴산) - 코어덴탈츄 그린(단백질, 키틴산 활용 간식)	○ 100
○ 동애등에 단백질 가수분해물 유효성 평가	○ 곤충(동애등에 유충, 갈색거저리) 유래 단백질 가수분해물의 사료소재로서의 기능성 규명(마우스 모델)	○ 100
○ 동애등에 키틴산 유효성 평가	○ 곤충(동애등에 유충) 유래 키틴산의 사료소재로서의 기능성 규명(마우스 모델)	○ 100
○ 시제품 유효성 평가	○ 곤충(동애등에 유충) 단백질, 가수분해 단백질, 키틴산 소재를 첨가한 사료 시제품의 반려동물 대상 기능성 규명	○ 100

4. 목표 미달 시 원인분석

1) 목표 미달 원인(사유) 자체분석 내용

○ 정량적 성과항목 1) 특허 등록

- 가수분해 추출 조건에 활용한 효소 4종이 이미 타 곤충 가수분해 조건 선행특허에 기술되어 있어, 동애등에 유충에 한정된 가수분해 추출 조건이더라도 출원 자체는 가능하나 등록가능성이 낮음을 담당 특허법인을 통해 전달받음. 제조공정 보완요소로 인해 등록에 어려움이 있어 특허 가치를 높이기 위해 제조기술 등을 추가하는 과정에서 효율적인 등록이 어려웠음.

○ 정량적 성과항목 2) 수출액

- 해외 소재에 대한 영업 활동이 미비하여 목표 수출액 달성을 하지 못하였음.
 - 2022년 11월 18일 태국 반려동물 제품 판매 업체인 VIVA PREMIUM PET STORES CO.,LTD 와 40피트 컨테이너 수출 계약을 진행하였으나, 당해년도 매출액이 발생되지 않음.
-

2) 자체 보완활동

○ 정량적 성과항목 1) 특허 등록

- 등록성을 높이기 위한 방안으로 곤충(동애등에 유충) 단백질의 특정 아미노산 생산량을 높일 수 있는 가수분해 조건이 포함된 기술에 관한 특허를 구체화하기 위해 준비중임. 특정 아미노산이라 함은 자돈사료에 필수 조건인 트립토판, 메티오닌, 라이신, 트레오닌 임.
- 양돈산업에서 사료는 양돈 생산비에서 약 60% 이상을 차지하고 양돈용 원료사료 중에서 단백질 및 아미노산 공급원들은 가격이 비교적 높고, 사료 내 단백질 및 아미노산의 효율적인 이용은 원료사료 내 단백질의 품질에 달려있어, 양돈 생산성을 좌우하는 중요한 요소임. 이러한 필요성을 바탕으로 자돈사료의 필수첨가 아미노산의 함량을 높일 수 있는 기술을 개발하여 목표를 달성하기 위해 노력중에 있음.

○ 정량적 성과항목 2) 수출액

- 해외 사료 소재산업 전시회 일정을 확인하여 전시회 참가를 계획하고 있으며, 2023년 전시회 참관을 통해 전시회 참가에 필요한 자료 등을 준비하여 2024년 직접 전시회 부스를 운영할 예정임.
-

3) 연구개발 과정의 성실성

○ 정량적 성과항목 1) 특허 등록

- 양돈산업에서 사료는 양돈 생산비에서 약 60% 이상을 차지하고 양돈용 원료사료 중에서 단백질 및 아미노산 공급원들은 가격이 비교적 높고, 사료 내 단백질 및 아미노산의 효율적인 이용은 원료사료 내 단백질의 품질에 달려있어, 양돈 생산성을 좌우하는 중요한 요소임. 이러한 필요성을 바탕으로 자돈사료의 필수첨가 아미노산의 함량을 높일 수 있는 기술을 개발하여 목표를 달성하기 위해 노력중에 있음.
- 또한 공동연구개발기관의 연구개발 결과가 포함된 특허 출원을 3월 중 진행할 예정임.

○ 정량적 성과항목 2) 수출액

- 2022년 11월 18일 태국 반려동물 제품 판매 업체와 40피트 컨테이너 수출 계약을 체결하였음.
-



< 수출 계약서 >

- 2023~2024년도 해외 소재 전시회 일정을 정리하여 구체적인 전시회 참관 및 참여를 계획하였음. 3월 중 태국에서 열리는 ‘VIV Asia 2023 in co-location with Meat Pro Asia’ 동물성 단백질 소재 전시회에 참여하여 사료 소재로서 활용되고 있는 단백질 소재들을 파악하고 곤충(동애등에 유충) 유래 가수분해 단백질과 기존 단백질 소재들의 비교데이터를 점검하여 사업성을 높일 방안을 수립하여 하반기 전시회에도 지속적으로 참관하여 가수분해 단백질 소재의 수출 증가를 목표로함.

23년 축산전시회

전시회명	전시회기간	국가	홈페이지	정보	적합여부
IPPE 2023 에틀란타가금류박람회	1/24-26	미국	https://www.ippexpo.org/	International Fair of Production and Processing	
NCBA TRADE SHOW	2/1-3	미국	https://convention.ncba.org/trade-show	미국내 큰 전시회중하나, 머크, 카길참여, 설비장비, 사료, 첨가물 포함 https://www.expodweb.com/23beef/ec/forms/attendee/index5.aspx#fpPanel	
Zootechnia Thessaloniki	2/2-5	그리스/Thessaloniki	https://www.tradefairdates.com/Zootechnia-M5572/Thessaloniki.html	International fair for livestock & poultry 가축 전체 공작기계, 자동차설비	
Dutch Pork Expo 2023	2/14-15	네덜란드/Brabanten Den Bosch	https://www.dutchporkexpo.nl/	2019(https://www.youtube.com/watch?v=vyezri-vFY) 2021(https://www.youtube.com/watch?v=eNRhdBcp49A&list=PLMA_Fv97wvQCdgaKO1oNKZ8R46KjcodD&index=4)	
Tier&technik 2023	2/23-26	스위스/장크트갈렌(새인트갈렌)	https://www.tierundtechnik.ch/de	가축 농업 전범위, 인터내셔널 축산, 농업 생산, 특수작물 및 농업 기술을 위한 무역 박람회 https://www.youtube.com/watch?v=d5k6szZD_XM	
Salon international de lagriculture	2/25-3/5	프랑스/파리	https://en.salonagriculture.com/Catalogue	엑스포 형식, 낙농 노닐, 돼지(pig333검체), cows, bulls, horses, donkeys, goats, sheep and dogs	
AFIA PURCHASING & INGREDIENT SUPPLIERS CONFERENCE	03월 01일	미국	https://www.afia.org/event/pisc-2023/	컨버런스 발표를 통해 미국내 사료산업 동향 정보 공유(법규변화, 유행병 등) 스펠서비용을 내면 회사배너 및 홈페이지 QR 등 광고가능 American Feed Industry Association(미국 사료산업협회)	부적합
VIV Asia 2023 in co-location with Meat Pro Asia	3/8-9 2년마다 개최 (네덜란드가 최초, viv=worldwide)	태국/방콕	https://www.youtube.com/watch?v=sjHSmMsk7c	다국적 소매기업(DSM, 푸른 등)이 참여하는 전시회로 첨가물 관련성이 높을것으로 추정됨 Vakbeurs Innovatieve Veehouderij, which simply became VIV for non-Dutch speakers worldwide https://koreascience.kr/article/AKO201953457807446.page (한국어기사) https://vivasia.nl/about/show-concept-and-profile/ https://www.dytours.com/home/ex_good/index.asp?ts=exhibition_view&g_seq=1138&qotopage=1(동양 항공예약)	적합
Figan	3/28-31	스페인/zaragoza	https://www.feriazaragoza.com/figan-2023	축산물(Animal product), 소관련 사육설비 https://www.youtube.com/watch?v=Ni8Y9TdE	
National show of livestock	4/22-26	체코/Brno Exhibition Centre			
World Pork Expo	6/7-9	미국/Des moines, IOWA	https://www.worldpork.org/	돼지관련 농장관련 아카데미 운영, 생산성 증가 방향, pig333검체, 카길참여 (https://www.youtube.com/watch?v=On72kT6CHA) https://porkcheckoff.org/events/world-pork-expo/ 2013부스예시 (https://www.youtube.com/watch?v=nu7rCJ6U90) http://www.pignpork.com/news/articleView.html?idxno=4716(한국어기사)	적합
LIVESTOCK ASIA 2023	7/5-7	필리핀/마닐라		예보닉 참여, 14초 첨가물 (https://www.youtube.com/watch?v=geHCw_-0-Eg)	
VIV Turkey 2023	7/6-8	터키/이스탄불	https://www.vivturkey.com/en/index.html		
Australian Sheep & Wool Show 2023	7/14-16	호주	https://sheepshow.com/	양, 염소	부적합
SPACE (Rennes) 스페이스 쉐	9/12-14	프랑스/렌	https://www.space.fr/	pig333검체, 프랑스어 통역사 필요할수있음, 동물 사료 및 영양, 가축 장비, 가축 장비, 건물, 유전학, 동물 건강, 가축 폐수 처리, 에너지, 농업 생물학, 착유, 양식업 용품 등 https://www.expobeds.com/event/space	
VICTAM 라틴아메리카	10/3-5	브라질/상파울루	https://victamlatam.com/en-us/		
Agri week	10/11-13	일본/Chiba - Makuhari Messe	https://www.agriespo-week.jp/kyo/en-gb.html		
North American International Livestock Exposition 2023	10/31-11/7	미국/	https://livestockexpo.org/	우수품종경연대회	

2024년도 전시회

VICTAM Europe 2025	25.06.03-05	네덜란드/Utrecht	https://victaminternational.com/exhibiting/who-why	animal feed processing industries. The exhibition is a 'one-stop' show for the decision-makers within these industries. Each visitor will be able to find what they are looking for, all under one roof over three days.	적합
VIV europe 2022	24 or 25년	22년 네덜란드에서 개최	https://www.viveurope.nl/	중요전시회	적합
British pig and poultry fair	24.3.15-16	영국/NEC BIRMINGHAM	https://pigandpoultry.org.uk/		
International Poultry & Pig Show Japan 2022	24년	일본/나고야	https://jpps2022.com/en/index_en		적합
EuroTier 2022 - 격년 개최	2024 예정	독일/하노버	https://www.iebtour.com/item/Item_view.asp?item_id=52145	축산 박람회(가축소재)	매우적합(하림)
VICTAM Europe 2025	25.06.03-05	네덜란드/Utrecht	https://victaminternational.com/exhibiting/who-why	Animal feed processing industries. The exhibition is a 'one-stop' show for the decision-makers within these industries. Each visitor will be able to find what they are looking for, all under one roof over three days.	적합

5. 연구개발성과의 관련 분야에 대한 기여 정도

(1) 연구개발성과의 우월성

- 기존 곤충을 사료 원료로 활용함에 있어, 곤충 단백질은 비노출 단백질원으로 식이 알레르기 유발 비율이 낮을 것이라는 가능성을 소비자에게 마케팅 포인트로 활용하였지만 이에 대한 근거로 활용할만한 연구는 미비한 실정이었음. 본 연구 개발을 통해 실제 식이 알레르기로 고생하고있는 반려동물 환자를 대상으로 임상을 진행하여 곤충(동애등에 유충) 단백질 및 가수분해물 소재의 식이 알레르기 개선 유효성 결과를 도출함에 따라 근거를 갖춘 식이 알레르기 가능성을 낮춘 소재임을 입증함.
- 또한 기존 동애등에를 활용한 원료사료는 유충을 원물 그대로 건조 및 분말화한 소재로, 그 자체로도 영양학적 가치가 충분히 있으나, 곤충 외골격에서 발견되는 키틴질은 체내에 소화되기 어려워 소화율을 낮추고 소화되지 않은 키틴질은 장내 축적되어 부분적으로 변비를 초래할 수 있는 단점이 있었음. 본 연구개발을 통해 키틴질을 분리하여 단백질 가수분해물 추출기술을 개발함으로써 이전보다 개선된 소재의 생산이 가능해짐.

(2) 기여한점

- 곤충 단백질 및 가수분해물 소재 개발을 통해 곤충의 소재산업에서의 활용도를 더욱 증가시키고, 원료 소재의 국산화로 국내 사료시장에서 생산비용 절감 및 사료기술 발전을 통해 국가 경제에 기여할 수 있을 것으로 기대함.
- 전 세계적으로 곤충 소재 가공 기술에 관한 연구는 꾸준히 이어지고 있지만, 대량 생산화한 사례는 극히 드물어 동애등에 유충 소재의 대량 생산화와 기술력 확보로 국가 기술 경쟁력 발전에 기여할 것임.

(3) 국내외 기술개발 현황에서 차지하는 위치

- 국내에서 곤충으로 동애등에를 활용한 가수분해 단백질을 생산하는 사례는 없는 것으로 파악되어, 국내의 기술개발 에서는 선두주자에 있다고 판단됨. 또한 동애등에를 다루는 해외 기업은 주로 유럽과 아시아 기업이며, 대규모 자동화 공장을 가동 중인 기업으로는 네덜란드의 Protix, 프랑스의 InnovaFeed, 베트남의 Entobel, 아일랜드의 Hexafly, 말레이시아의 Nutrition Technologies임. 이들은 동애등에를 사육 및 가공하는 공장을 보유하고 있으며, 자체공장 혹은 연구실을 보여하고 있는 것으로 예상되나 공개된 정보는 거의 없었음. 곤충 효소 가수분해방법에 관해서는 네덜란드의 Protix사에서 유럽등록 특허를 보유하고 있음. 해외 기업 또한 유충을 생산하는 기술에서는 선두에 있으나, 동애등에를 활용한 가수분해 단백질 소재를 생산하는 기술에 있어서는 선두에 있는 것으로 판단됨.

(단위 : 백만원, %)

총괄과제명	세부과제명	기관명	유형	총 연구개발비 (A)	정부지원 연구개발비 (B)	정부지원 연구개발비 비율 (C=B/A)	성과 유형	기술기여도	
								산정 근거	비율
곤충 유래 단백질 가수분해물 추출기술 개발 및 곤충 키토산이 함유된 저 알러지 및 혈중 콜레스테롤 개선 기능성 반려동물용 사료 개발	곤충 유래 단백질 가수분해물 추출기술 개발 및 곤충 키토산이 함유된 저 알러지 및 혈중 콜레스테롤 개선 기능성 반려동물용 사료 개발	농업회사법인 푸디웜 (주)	중소기업 (영리)	262.5	210	0.8	제품화	해당 없음	80
계				262.5	210	-	-	-	-

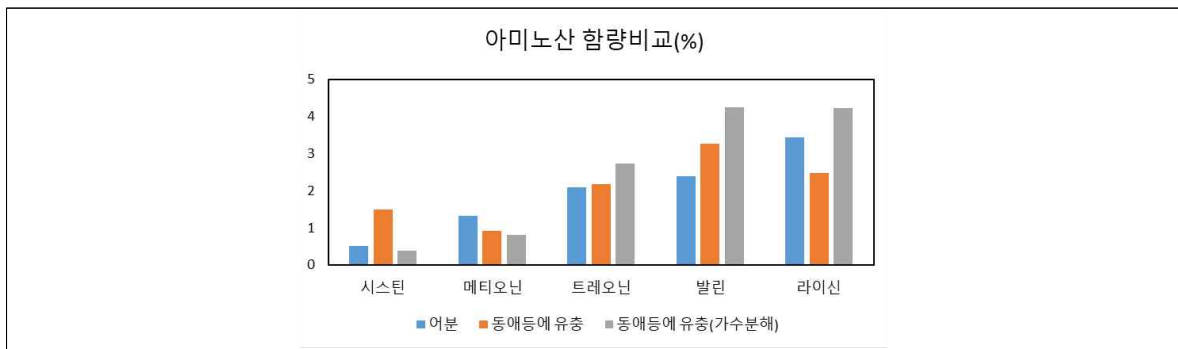
6. 연구개발성과의 관리 및 활용 계획

(1) 활용분야

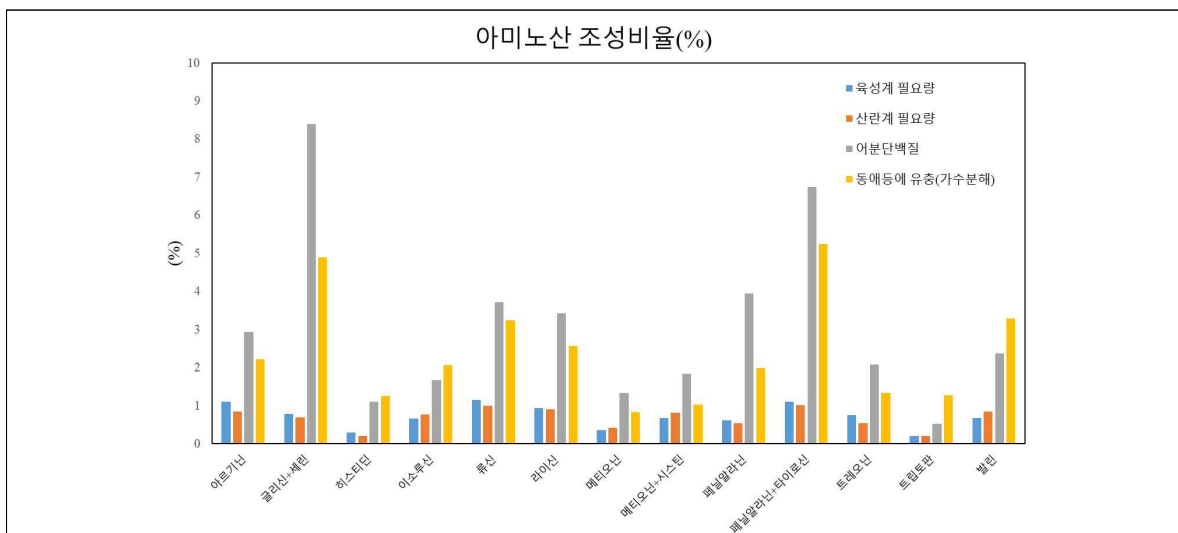
- 본 사업을 통해 개발한 곤충(동애등에 유충) 가수분해 단백질 소재를 반려동물 및 축산 원료사료 소재로써 활용할 계획임.

(2) 활용방안

- 곤충 단백질을 평균 500 Da 이하의 크기로 가수분해하여 식이 알레르기 개선 효과를 보인 임상결과와 필수 아미노산 함량 증가, 키틴 분리로 소화율을 높인 동애등에 가수분해 단백질 소재의 특성과 분리한 키틴을 가공한 키토산 소재의 효능결과를 적극적으로 활용하여 제품의 차별성을 부각한 마케팅 활동으로 사료소재 산업분야에 그 적용범위를 넓혀나갈 계획임.
- 구체적인 활용방안으로 강아지·고양이 사료, 자돈사료, 계육(산란계, 육계)사료의 원료사료로의 활용하고자함. 자돈 사료 내 단백질 원료 사료인 어분과 동애등에 유충 단백질, 동애등에 유충 가수분해 단백질의 주요 아미노산 함량을 간단히 비교하였을 때, 가수분해 단백질의 아미노산 함량이 전체적으로 우위에 있어 자돈사료 내 단백질 원료사료로의 활용가능성이 높을 것으로 예상됨. 또한, 산란계와 육성계 사료내 아미노산 필요량과 동애등에 유충 가수분해 단백질 함량을 비교하였을 때 계육사료의 아미노산 필요량을 100% 이상 충족하는 것으로 보아 계육 사료 산업으로의 진출도 가능할 것으로 사료됨.



〈자돈사료 내 필수 아미노산 함량 비교〉



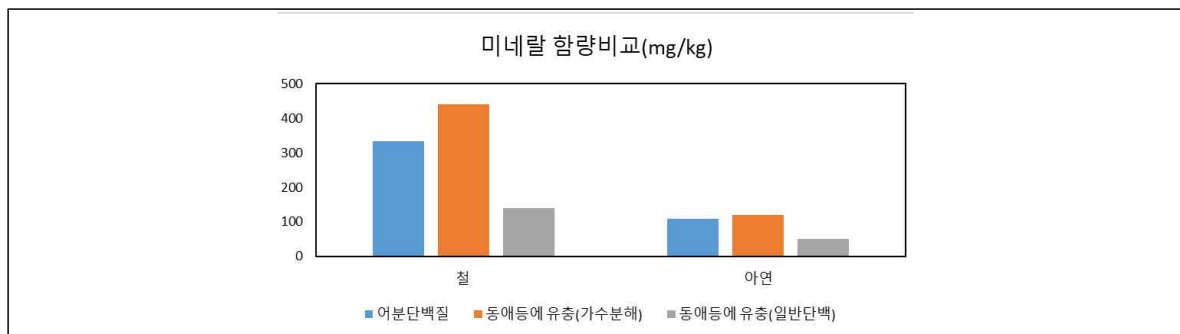
〈계육 사료 내 아미노산 필요량과 가수분해 단백질 내 아미노산 함량 비교〉

(3) 추가 연구의 필요성

- 곤충 가수분해 단백질 및 키토산을 첨가한 가수분해 사료에서 강아지를 대상으로 기호성이 떨어져 연어유로 대체함에 따라 사료의 지질개선 효능 유효성 평가 결과 중 일부 상이한 결과를 보였음. 생선류에 민감한 식이 알레르기 반응을 보이는 강아지의 경우 식이 알레르기 발생률이 올라갈 수 있어, 추후 동애등에 오일의 기호성을 높이기 위한 방안과 곤충 오일 첨가량에 따른 기호성 변화를 추가 연구하여 기호성을 유지하면서 식이 알레르기 발생률을 더욱 낮춘 사료 연구가 필요할 것으로 사료됨.
- 개발한 사료를 IACUC (Institutional Animal Care and Use Committee, 동물실험윤리위원회/실험동물운영위원회) 심의를 받아 동물실험을 통해 임상 결과에 대한 인증을 보완할 예정임.
- 2022년 출원 2건을 완료, 2023년 1건 출원 진행중, 2024년 1건 출원 예정이므로 출원 및 출원 예정인 특허들에 대한 보완실험을 조속히 완료하여 특허 등록을 달성할 계획임.

(4) 타 연구에의 응용

- 곤충(동애등에 유충) 단백질의 특정 아미노산 생산량을 높일 수 있는 가수분해 조건이 포함된 기술에 관한 특허를 구체화하기 위해 자돈사료에 필수 첨가조건인 트립토판, 메티오닌, 라이신, 트레오닌 4종의 아미노산의 함량을 높일 수 있는 가수분해물 추출조건 고도화 연구가 필요함.
- 가축사료에서 에너지와 단백질의 중요성은 인식하고 있지만, 신진대사 활성화에 기여하는 미네랄의 급여에는 무관심한 경우가 많아 가축의 생산성이 떨어지는 원인이 되고 있으며, 미네랄 급여시 체내 정확한 효과 규명이 없는 실정임. 따라서 곤충(동애등에 유충) 단백질 소재 내 미네랄 함량을 높일 수 있는 추가 연구와 더불어 급여시 효능 규명을 통해 부가가치를 높일 수 있는 미네랄 첨가제를 개발할 계획이 있음.



<어분단백질과 동애등에 소재의 미네랄 함량 비교>

- 추가로, 곤충(동애등에 유충) 가수분해 단백질 추출기술을 활용하는 과정에서 부가적으로 생산되는 오일, 키틴의 공정 고도화에 응용하고자 함.

(5) 기업화 추진방안

- 본 연구개발 결과인 곤충(동애등에 유충) 가수분해 단백질 생산 최적 조건 및 대량 생산화 기술을 적용한 대량 소재 생산 공장을 2023년도 하반기부터 운영 및 가동하여 본격적인 사업화에 들어갈 예정임.

< 연구개발성과 활용계획표 >

구분(정량 및 정성적 성과 항목)		연구개발 종료 후 5년 이내				
		2023	2024	2025	2026	2027
국외논문	SCIE	-	-	-	-	-
	비SCIE	-	-	-	-	-
	계	-	-	-	-	-
국내논문	SCIE	-	-	-	-	-
	비SCIE	-	-	-	-	-
	계	-	-	-	-	-
특허출원	국내	1	1	-	-	-
	국외	-	-	-	-	-
	계	1	1	-	-	-
특허등록	국내	1	-	-	-	-
	국외	-	-	-	-	-
	계	1	-	-	-	-
인력양성	학사	-	-	-	-	-
	석사	-	-	-	-	-
	박사	-	-	-	-	-
	계	-	-	-	-	-
사업화	상품출시	-	-	-	-	-
	기술이전	-	-	-	-	-
	공정개발	-	-	-	-	-
	매출액(단위 : 천원)	300,000	400,000	600,000	800,000	1,000,000
	기술료(단위 : 천원)	2,400	3,200	4,800	6,400	8,000
제품개발	시제품개발	1	-	-	-	-
비임상시험 실시		-	-	-	-	-
임상시험 실시 (IND 승인)	의약품	1상	-	-	-	-
		2상	-	-	-	-
		3상	-	-	-	-
	의료기기	-	-	-	-	-
진료지침개발		-	-	-	-	-
신의료기술개발		-	-	-	-	-
성과홍보		1	1	-	-	-
포상 및 수상실적		-	-	-	-	-
정성적 성과 주요 내용		-	-	-	-	-

< 별첨 자료 >

중앙행정기관 요구사항	별첨 자료
1.	1) 자체평가의견서
	2) 연구성과 활용계획서
2.	1) 연구성과 실적 증빙자료 - SCI 논문
	2) 연구성과 실적 증빙자료 - 비 SCI 논문
	3) 연구성과 실적 증빙자료 - 특허 출원서
	4) 연구성과 실적 증빙자료 - 제품개발확인서
	5) 연구성과 실적 증빙자료 - 정량적 성과지표



Article

Astaxanthin Inhibits Autophagic Cell Death Induced by Bisphenol A in Human Dermal Fibroblasts

Seong-Ryeong Lim ¹, Do-Wan Kim ¹, Junghee Sung ², Tae Hoon Kim ³, Chang-Hyung Choi ^{4,*} and Sei-Jung Lee ^{1,*}

¹ Department of Pharmaceutical Engineering, Daegu Haany University, Gyeongsan 38610, Korea; mang9811@dhu.ac.kr (S.-R.L.); sosr200211@dhu.ac.kr (D.-W.K.)

² Research Center, Reanzen Co., Ltd., Anyang 14056, Korea; jhsung@reanzen.com

³ FoodyWorm Inc., Yancheongsongdae-gil 10, Ochang-eup, Cheongwon-gu, Choenu-si 28118, Korea; ceo@foodyworm.com

⁴ Division of Cosmetic Science and Technology, Daegu Haany University, Gyeongsan 38610, Korea

* Correspondence: cchoi@dhu.ac.kr (C.-H.C.); sjlee@dhu.ac.kr (S.-J.L.); Tel.: +82-54-819-1806 (S.-J.L.)

Abstract: Astaxanthin, a natural antioxidant carotenoid, is a nutrient with diverse health benefits, given that it decreases the risk of oxidative stress-related diseases. In the present study, we investigate the functional role of astaxanthin during autophagic cell death induced by the estrogenic endocrine-disrupting chemical bisphenol A (BPA) in normal human dermal fibroblasts (NHDF). BPA significantly induced apoptotic cell death and autophagy in NHDF. Autophagic cell death evoked by BPA was significantly restored upon a treatment with astaxanthin (10 μ M) via the inhibition of intracellular reactive oxygen species (ROS) production. Astaxanthin inhibited the phosphorylation of extracellular signal-regulated kinases (ERK) stimulated by ROS production, but it did not influence the activation of c-Jun N-terminal kinase (JNK) and p38 mitogen-activated protein kinase (MAPK) in BPA-treated NHDF. Astaxanthin abrogated the ERK-mediated activation of nuclear factor-kappa B (NF- κ B), which is responsible for the mRNA expression of LC3-II, Beclin-1, Atg12, and Atg14 during apoptotic cell death induced by BPA. These results indicate that astaxanthin is a pharmacological and nutritional agent that blocks the skin fibroblastic autophagic cell death induced by BPA in human dermal fibroblasts.

Keywords: astaxanthin; autophagic cell death; bisphenol A; normal human dermal fibroblasts; reactive oxygen species



Citation: Lim, S.-R.; Kim, D.-W.; Sung, J.; Kim, T.H.; Choi, C.-H.; Lee, S.-J. Astaxanthin Inhibits Autophagic Cell Death Induced by Bisphenol A in Human Dermal Fibroblasts. *Antioxidants* **2021**, *10*, 1273. <https://doi.org/10.3390/antiox10081273>

Academic Editor: Scott Powers

Received: 2 July 2021

Accepted: 9 August 2021

Published: 11 August 2021

Publisher's Note: MDPI stays neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.



Copyright: © 2021 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

1. Introduction

Bisphenol A (BPA), ubiquitously present in consumer products containing polycarbonate plastics and epoxy resins, has been utilized extensively in dentistry, food packaging, thermal printing papers, and lacquers [1]. Owing to its hormone-like features, BPA is known to manipulate the activation of many estrogen receptors in mammalian cells, evoking toxicological cellular responses related to prostate and breast cancer, as well as respiratory diseases [2,3]. While oral intake from contaminated food and drinks represents the predominant source of BPA exposure and given the well-known pathophysiological role of ingested BPA, the potential risk of BPA exposure via dermal contact and absorption in the skin is not well documented. Skin is the largest organ of human body consisting of three primary layers and diverse cell types [4], where dermal fibroblasts are an essential component, maintaining the structure of fibers by producing a collagen-rich extracellular matrix and playing an important role in the production of inflammatory mediators against chemical, microbial, viral, and fungal agents [5–7]. Given that approximately 46% of BPA is diffused through the skin [8], recent studies have suggested that BPA causes oxidative dermal damage and thus stimulates the expression of many pro-inflammatory mediators associated with human skin diseases [9]. However, the underlying pathophysiological mechanisms of BPA involved in oxidative dermal damage remain undescribed.

the elongation of the phagophore double-layer membrane [38–41]. Indeed, earlier work showed the transcription factor NF- κ B directly binds to the promoters of Beclin-1 and LC3-II and upregulates its mRNA and protein levels, leading to the autophagic process [36,42]. Thus, our findings are consistent with the idea that astaxanthin inhibits the transcriptional regulation of NF- κ B for close working together with the cellular autophagic machinery to protect against oxidative dermal damage caused by BPA exposure. Intriguingly, the inhibition of the autophagic process in NHDF reduces the level of apoptotic cell death, suggesting the involvement of the autophagic machinery coupled with cell death as elicited by BPA. This result is supported by previous findings showing that the cleavage of Beclin-1 mediated by the caspase activation promotes crosstalk between autophagy and apoptosis [43]. Taken together, the biological activities of astaxanthin obtained from this study strongly indicate that astaxanthin may be a viable candidate as a potent anti-oxidative agent to inhibit autophagic cell death induced by BPA in dermal fibroblasts.

5. Conclusions

Our findings indicate that astaxanthin abrogates the autophagic cell death initiated by BPA and that the ROS production coupled with activation of ERK and NF- κ B is a necessary step in the promotion of autophagy responsible for the apoptosis in the human dermal fibroblasts. This suggests that autophagic cell death is a predominant mechanism for controlling cell viability in the promoting of skin dermal damages induced by BPA. Thus, studies regarding the ROS/ERK/NF- κ B signaling pathway regulated by astaxanthin during the BPA exposure are likely to be critical to develop the pharmacological and cosmetic agents against the skin dermal damages.

Supplementary Materials: The following are available online at <https://www.mdpi.com/article/10.3390/antiox10081273/s1>, Table S1: PCR primer sequences, Figure S1: The role of astaxanthin on the level of autophagy-related proteins in BPA-treated NHDF.

Author Contributions: S.-R.L., Study concept and design, investigation, writing—original draft preparation, formal analysis; D.-W.K., J.S., and T.H.K., investigation, methodology, writing—review and editing; C.-H.C. and S.-J.L., funding acquisition, study concept and design, investigation, writing—review and editing. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: This research was supported by the National Research Foundation of Korea (NRF) grant funded by the Korea government (MSIT) (2019R1A2C1088927) and by the Korea Institute of Planning and Evaluation for Technology in Food, Agriculture, and Forestry (IPET) through the Useful Agricultural Life Resources Industry Technology Development Program, funded by the Ministry of Agriculture, Food, and Rural Affairs (MAFRA) (321095021CG000).

Institutional Review Board Statement: Not applicable.

Informed Consent Statement: Not applicable.

Data Availability Statement: Data is contained within the article and Supplementary Materials.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

Abbreviations

BPA: bisphenol A; CM-H₂DCFDA: 2',7'-dichlorofluorescein diacetate; ERK: extracellular signal-regulated kinase; LC3-II: microtubule-associated proteins light chain-II; MAPKs: mitogen-activated protein kinases; NF- κ B: nuclear factor-kappa B; NHDF: normal human dermal fibroblasts; ROS: reactive oxygen species.

Article

Kaempferol Blocks the Skin Fibroblastic Interleukin 1 β Expression and Cytotoxicity Induced by 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate by Suppressing c-jun N-terminal Kinase

Su-Ji Park ¹, Do-Wan Kim ¹, Seong-Ryeong Lim ¹, Junghee Sung ², Tae Hoon Kim ³, In Sun Min ⁴, Chang-Hyung Choi ⁵ and Sei-Jung Lee ^{1,*}

¹ Department of Pharmaceutical Engineering, Daegu Haany University, Gyeongsan 38610, Korea; bloodslain@dhu.ac.kr (S.-J.P.); sosr200211@dhu.ac.kr (D.-W.K.); mang9811@dhu.ac.kr (S.-R.L.)

² Research Center, Reanzen Co., Ltd., Anyang 14056, Korea; jhsung@reanzen.com

³ FoodyWorm Inc., Yancheongsongdae-gil 10, Ochang-eup, Cheongwon-gu, Choenju-si 28118, Korea; ceo@foodyworm.com

⁴ Fragrance of the Moon, 23 Taepyeong-ro, Jung-gu, Daegu 41900, Korea; etuire0209@gmail.com

⁵ Division of Cosmetic Science and Technology, Daegu Haany University, Gyeongsan 38610, Korea; cchoi@dhu.ac.kr

* Correspondence: sjlee@dhu.ac.kr; Tel.: +82-54-819-1806



Citation: Park, S.-J.; Kim, D.-W.; Lim, S.-R.; Sung, J.; Kim, T.H.; Min, I.S.; Choi, C.-H.; Lee, S.-J. Kaempferol Blocks the Skin Fibroblastic Interleukin 1 β Expression and Cytotoxicity Induced by 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate by Suppressing c-jun N-terminal Kinase. *Nutrients* **2021**, *13*, 3079. <https://doi.org/10.3390/nu13093079>

Academic Editor:
María-Teresa García Conesa

Received: 11 August 2021
Accepted: 31 August 2021
Published: 1 September 2021

Publisher's Note: MDPI stays neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.



Copyright: © 2021 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

Abstract: Kaempferol, a bioflavonoid present in fruits and vegetables, has a variety of antioxidant and anti-inflammatory capacities, but the functional role of kaempferol in oxidative skin dermal damage has yet to be well studied. In this study, we examine the role of kaempferol during the inflammation and cell death caused by 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate (TPA) in normal human dermal fibroblasts (NHDF). TPA (5 μ M) significantly induced cytotoxicity of NHDF, where a robust increase in the interleukin (IL)-1 β mRNA among the various pro-inflammatory cytokines. The skin fibroblastic cytotoxicity and IL-1 β expression induced by TPA were significantly ameliorated by a treatment with 100 nM of kaempferol. Kaempferol blocked the production of the intracellular reactive oxygen species (ROS) responsible for the phosphorylation of c-jun N-terminal kinase (JNK) induced by TPA. Interestingly, we found that kaempferol inhibited the phosphorylation of nuclear factor-kappa B (NF- κ B) and the inhibitor NF- κ B (I κ B α), which are necessary for the expression of cleaved caspase-3 and the IL-1 β secretion in TPA-treated NHDF. These results suggest that kaempferol is a functional agent that blocks the signaling cascade of the skin fibroblastic inflammatory response and cytotoxicity triggered by TPA.

Keywords: 12-O-tetradecanoylphorbol 13-acetate; apoptosis; kaempferol; normal human dermal fibroblast; reactive oxygen species

1. Introduction

Human skin has the two layers consisting of epidermis and the dermis, where dermal fibroblasts play an important role in the secretion of inflammatory mediators against chemical and microbial agents, maintaining the structural and mechanical properties of fibers by producing a dense extracellular matrix protein [1,2]. 12-O-tetradecanoyl phorbol-13-acetate (TPA), known as a phorbol ester, is a potent inflammagen that elicits skin edema and the cellular response of inflammation in response to the infiltration of neutrophils [3]. Increasing evidence has suggested that TPA is a tumor promoter that potentiates epidermal hyperplasia by producing reactive oxygen species (ROS) to create the oxidative stress responsible for the many human diseases [3,4]. Indeed, the ROS caused by oxidative stress has detrimental effects on the skin, such as membrane lipid peroxidation, pro-inflammatory responses, and alternation of protein and DNA structures, eventually causing skin dermal

production triggered by TPA, Figure S2: The regulatory effect of kaempferol on the production of ROS and the phosphorylation of JNK and NF- κ B for long-term exposure of TPA in NHDF, Table S1 PCR primer sequences.

Author Contributions: S.-J.P., Study concept and design, investigation, methodology, writing—original draft preparation, formal analysis; D.-W.K., S.-R.L., C.-H.C., investigation, methodology, writing—review and editing; J.S., T.H.K. and I.S.M., investigation, methodology, formal analysis; S.-J.L., funding acquisition, study concept and design, investigation, writing—review and editing. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: The following are results of a study on the “Leaders in Industry-university Cooperation + Project, supported by the Ministry of Education and National Research Foundation of Korea and this research also was supported by the Korea Institute of Planning and Evaluation for Technology in Food, Agriculture, and Forestry (IPET) through the Useful Agricultural Life Resources Industry Technology Development Program, funded by the Ministry of Agriculture, Food, and Rural Affairs (MAFRA) (321095021CG000).

Institutional Review Board Statement: Not applicable.

Informed Consent Statement: Not applicable.

Data Availability Statement: Data is contained within the article and supplementary material.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

Abbreviations

JNK: c-jun N-terminal kinases; TPA: 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate; NF- κ B: Nuclear factor-kappa B; NHDF: Normal human dermal fibroblasts; IL-1 β : interleukin-1 β ; ROS: Reactive oxygen species; Bax: Bcl-2 associated X protein; MAPKs: Mitogen-activated protein kinases; NAC: N-acetylcysteine.

References

- Rinnerthaler, M.; Bischof, J.; Streubel, M.K.; Trost, A.; Richter, K. Oxidative stress in aging human skin. *Biomolecules* **2015**, *5*, 545–589. [[CrossRef](#)]
- Quan, C.; Cho, M.K.; Shao, Y.; Mianeki, L.E.; Liao, E.; Perry, D.; Quan, T. Dermal fibroblast expression of stromal cell-derived factor-1 (SDF-1) promotes epidermal keratinocyte proliferation in normal and diseased skin. *Protein. Cell* **2015**, *6*, 890–903. [[CrossRef](#)]
- Adami, M.; Prudente Ada, S.; Mendes, D.A.; Horinouchi, C.D.; Cabrini, D.A.; Otuki, M.F. Simvastatin ointment, a new treatment for skin inflammatory conditions. *J. Dermatol. Sci.* **2012**, *66*, 127–135. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- Liu, Z.; Shen, C.; Tao, Y.; Wang, S.; Wei, Z.; Cao, Y.; Wu, H.; Fan, F.; Lin, C.; Shan, Y.; et al. Chemopreventive efficacy of menthol on carcinogen-induced cutaneous carcinoma through inhibition of inflammation and oxidative stress in mice. *Food. Chem. Toxicol.* **2015**, *82*, 12–18. [[CrossRef](#)]
- Hu, W.; Han, W.; Huang, C.; Wang, M.H. Protective effect of the methanolic extract from *Duchesnea indica* against oxidative stress in vitro and in vivo. *Environ. Toxicol. Pharmacol.* **2011**, *31*, 42–50. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- Takeda, T.; Doiyama, S.; Azumi, J.; Shimada, Y.; Tokuji, Y.; Yamaguchi, H.; Nagata, K.; Sakamoto, N.; Aso, H.; Nakamura, T. Organogermanium suppresses cell death due to oxidative stress in normal human dermal fibroblasts. *Sci. Rep.* **2019**, *9*, 13637–13654. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- Elmore, S. Apoptosis: A review of programmed cell death. *Toxicol. Pathol.* **2007**, *35*, 495–516. [[CrossRef](#)]
- Nakamura, Y.; Murakami, A.; Ohto, Y.; Torikai, K.; Tanaka, T.; Ohigashi, H. Suppression of tumor promoter-induced oxidative stress and inflammatory responses in mouse skin by a superoxide generation inhibitor 1'-acetoxychavicol acetate. *Cancer Res.* **1998**, *58*, 4832–4839.
- Gonzalez-Ponce, H.A.; Rincon-Sanchez, A.R.; Jaramillo-Juarez, F.; Moshage, H. Natural dietary pigments: Potential mediator against hepatic damage induced by over-the-counter non-steroidal anti-inflammatory and analgesic drugs. *Nutrients* **2018**, *10*, 117. [[CrossRef](#)]
- Pandey, K.B.; Rizvi, S.I. Plant polyphenols as dietary antioxidants in human health and disease. *Oxid. Med. Cell. Longev.* **2009**, *2*, 270–278. [[CrossRef](#)]
- Imran, M.; Salehi, B.; Sharifi-Rad, J.; Aslam Gondal, T.; Saeed, F.; Imran, A.; Shahbaz, M.; Tsouh Fokou, P.V.; Umair Arshad, M.; Khan, H.; et al. Kaempferol: A key emphasis to its anticancer potential. *Molecules* **2019**, *24*, 2277. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- Zhang, Y.; Chen, A.Y.; Li, M.; Chen, C.; Yao, Q. Ginkgo biloba extract kaempferol inhibits cell proliferation and induces apoptosis in pancreatic cancer cells. *J. Surg. Res.* **2008**, *148*, 17–23. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

ORIGINAL ARTICLE

환경호르몬 비스페놀 A가 유도한 위장관 세포독성 제어효과를 가진 마 당단백질이 마우스의 식이 효율 및 악취저감에 미치는 영향

김도완 · 박문기 · 김태훈¹⁾ · 이세중*

대구한의대학교 제약공학과, ¹⁾ 푸디웜

Dioscorea batatas Decne Glycoprotein Prevents Ecotoxicological Effects of Bisphenol A in Gastrointestinal Epithelial Cells and Improves Fecal Malodor and Feed Efficiency in Mice

Do-Wan Kim, Moon-Ki Park, Tae Hoon Kim¹⁾, Sei-Jung Lee*

Department of Pharmaceutical Engineering, Daegu Haany University, Gyeongsan 38610, Korea

¹⁾ FoodyWorm Inc., Choenju 28118, Korea

Abstract

As a herbal supplement, *Dioscorea batatas* Decne (DBD) presents potent antioxidant activity and diverse health benefits. In the present study, functions of a 30 kDa glycoprotein isolated from DBD (hereafter, DBD glycoprotein) in the regulation of feed efficiency and fecal malodor in mice were explored. DBD glycoprotein produced protective effect against cytotoxicity induced by the ecotoxicological endocrine-disrupting substance bisphenol A in gastrointestinal epithelial HT-29 cells. To investigate its potential roles in the regulation of feed efficiency and fecal malodor, mice were administered an oral injection of DBD glycoprotein for 2 weeks. Compared with the control values, the weight of internal organs (liver, heart, kidney, and spleen) and levels of glutamate pyruvate transaminase, glutamate oxaloacetate transaminase, and lactic dehydrogenase were not significantly changed during DBD glycoprotein administration for 2 weeks. Interestingly, DBD glycoprotein improved feed efficiency and reduced hydrogen sulfide concentration without altering the ammonia level in mouse feces. Collectively, these results indicate that DBD glycoprotein is a functional agent that exerts gastrointestinal protective effects against ecotoxicological substances, improves feed efficiency, and reduces fecal malodor.

Key words : *Dioscorea batatas* Decne, Ecotoxicological substance, Feed efficiency, Fecal malodor, Glycoprotein

1. 서론

현대사회의 산업이 급속하게 발달함에 따라 가축 사료 성분 포함된 다양한 농약 및 화학 비료 잔류 물질이 가

축들에게 지속적으로 축적되었으며, 특히 천연 호르몬을 모방하여 호르몬 수용체와 결합하는 환경호르몬 (environmental hormone)들 중 비스페놀 A(bisphenol A)의 경우, 사료 잔류 물질뿐만 아니라 수도관과 캔 내부

Received 1 September, 2021; Revised 10 November, 2021;

Accepted 7 December, 2021

*Corresponding author: Sei-Jung Lee, Biopharmaceutical Engineering Lab., Department of Pharmaceutical Engineering, Daegu Haany University, Gyeongsan 38610, Korea.
Phone: +82-53-819-1806
E-mail: sjlee@dhu.ac.kr

© The Korean Environmental Sciences Society. All rights reserved.

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

사료된다 (McSweeney et al., 2001). 종합적으로, 마 당단백질의 경우 NH₃에 대하여 소취 효과를 보이지 못하지만, 식이 효율과 더불어 분내 악취물질인 황화수소의 농도를 감소시키는 선택적인 효과를 가지고 있음을 시사한다. 또한 마로부터 정제한 마 당단백질은 H₂S 악취발생에 대한 선택적인 가축분뇨 악취저감제로서의 그 가능성을 제시한다.

종합적으로, 위와 같은 결과는 마 당단백질은 환경유해물질의 세포사멸을 제어하고, 동물의 장기 및 세포 독성 효과를 가지지 않으면서 가축의 증체량 변화 및 악취저감에 효능이 있는 물질이라고 요약할 수 있다.

4. 결론

DBD는 마과에 속하는 당갈성 여러해살이풀로 폐와 신장 등 다양한 질병을 치료하는데 사용되어 왔으며 당뇨 및 면역체계를 개선시키는 약제로 사용되어 왔다. 최근 연구 결과에서 천연유래 당단백질들은 항산화 능력이 뛰어나 장 세포 사멸을 제어하였으며, 본 연구에서는 마로부터 추출된 30 kDa의 식물성 당단백질(DBD glycoprotein)이 탁월한 항산화 효과를 바탕으로 환경유해물질로 알려진 비스페놀 A(Bisphenol A)가 유도한 세포 사멸을 제어하는 능력을 가지고 있다. 이러한 환경유해물질에 대한 제어효과를 가진 마 당단백질을 14일간 마우스에 경구 투여한 결과, 독성으로 인한 무게의 변화가 고려되는 주요 내부 장기의 무게 및 조직세포 특성유무 생체표지자인 Glutamate Pyruvate Transaminase (GPT), Glutamate Oxaloacetate Transaminase (GOT) 및 lactate dehydrogenase (LDH) 혈액내 방출 수준은 대조군과 비교하여 유의적인 차이를 보이지 않았다. 이러한 무독성의 마 당단백질이 동물의 영양소 이용효율에 미치는 효과를 조사한 결과, 동물식이 효율을 증가시켜서, 소량의 사료 섭취량으로도 유의적인 체중 증가량을 나타내었다. 게다가 마 당단백질은 분내 악취 주요 원인 물질로 알려진 hydrogen sulfide (H₂S)의 농도를 유의적으로 감소시켜 악취에 대한 소취능력을 가지고 있었다. 따라서 이러한 결과를 종합하면, 마 당단백질은 세포 내 환경유해물질의 작용을 억제하고, 동물의 장기 및 조직세포에 독성 효과를 가지지 않으며, 동물의 식이 효율 및 H₂S에 대한 소취 효과를 촉진하여 동물의 성장을 촉진하

는 물질이라고 요약할 수 있다.

감사의 글

이 논문은 농림축산식품의 재원으로 농림식품기술기획평가원의 유용농생명자원산업화기술개발사업의 지원을 받아 수행된 연구임 (No. 321095021CG000).

REFERENCE

- Bindhumol, V., Chitra, K. C., Mathur, P. P., 2003, Bisphenol A induces reactive oxygen species generation in the liver of male rats, *Toxicology*, 188, 117-124.
- Byeon, S., Oh, J., Lim, J. S., Lee, J. S., Kim, J. S., 2018, Protective effects of *Dioscorea batatas* flesh and peel extracts against ethanol-induced gastric ulcer in mice, *Nutrients*, 10, 1680-1694.
- Cheng, Z., O'Connor, E. A., Jia, Q., Demmers, T. G., Wathes, C. M., Wathes, D. C., 2014, Chronic ammonia exposure does not influence hepatic gene expression in growing pigs, *Animal*, 8, 331-337.
- Cho, I. K., Nam, H. S., Jeon, Y., Na, T. W., Kim, B. J., Kan, E., 2016, Residue study for bisphenol A in agricultural reservoirs, *Korean J. Environ. Agric.*, 35, 270-277.
- Cho, S. B., Hwang, O. H., Yang, S. H., Kwag, J. H., Choi, D. Y., Yang, S. B., Kim, D. H., Park, S. K., 2014, Comparison of volatile organic compound and volatile fatty acid concentration in feces and urine of finishing pigs, *Journal of the Korean Society of Grassland and Forage Science*, 34, 120-124.
- Choi, E. M., Koo, S. J., Hwang, J. K., 2004, Immune cell stimulating activity of mucopolysaccharide isolated from yam (*Dioscorea batatas*), *J. Ethnopharmacol.*, 91, 1-6.
- Deluca, J. A. A., Kimberly, F. A., Menon, R., Riordan, R., Weeks, B. R., Jayaraman, A., Allred, C. D., 2018, Bisphenol-A alters microbiota metabolites derived from aromatic amino acids and worsens disease activity during colitis, *Exp. Biol. Med.* (Maywood), 243, 864-875.
- Duan, Z., Sun, R., Liu, R., Zhu, C., 2007, Accurate thermodynamic model for the calculation of H₂S solubility in pure water and brines, *Energy & Fuels*, 21, 2056-2065.
- Fan, H., Wu, D., Tian, W., Ma, X., 2013, Inhibitory effects of

- 연구성과 실적 증빙자료 3) 특허 출원서

관인생략

출원번호통지서

출원일자 2022.11.29
특기사항 심사청구(유) 공개신청(무) 참조번호(10966)
출원번호 10-2022-0162533 (접수번호 1-1-2022-1277709-56)
(DAS접근코드A812)
출원인명칭 농업회사법인 푸디원 주식회사(1-2017-070634-6)
대리인성명 특허법인 충현(9-2010-100021-9)
발명자성명 김태훈 정병욱 신민규 이소원 이정민 최다윤
발명의명칭 동애등에 유충의 단백질 가수분해물 및 이의 제조방법

특 허 청 장

<< 안내 >>

1. 귀하의 출원은 위와 같이 정상적으로 접수되었으며, 이후의 심사 진행상황은 출원번호를 이용하여 특허로 홈페이지(www.patent.go.kr)에서 확인하실 수 있습니다.
2. 출원에 따른 수수료는 접수일로부터 다음날까지 등록된 납입영수증에 성명, 납부자번호 등을 기재하여 가까운 은행 또는 우체국에 납부하여야 합니다.
※ 납부자번호 : 0131(기관코드) + 접수번호
3. 귀하의 주소, 연락처 등의 변경사항이 있을 경우, 즉시 [특허고객번호 정보변경(경정), 정정신고서]를 제출하여야 출원 이후의 각종 통지서를 정상적으로 받을 수 있습니다.
4. 기타 심사 절차(제도)에 관한 사항은 특허청 홈페이지를 참고하시거나 특허고객상담센터(☎ 1544-8080)에 문의하여 주시기 바랍니다.
※ 심사제도 안내 : <https://www.wipo.go.kr> 지식재산제도

【이 발명을 지원한 국가연구개발사업】

【과제고유번호】 1545022738
【과제번호】 321095021SB010
【부처명】 농림축산식품부
【과제관리(전문)기관명】 농림식품기술기획평가원
【연구사업명】 유용농생명자원산업화기술개발 (R & D)

-40-3

2022-11-29

【연구과제명】 곤충 유래 단백질 가수분해물 추출기술 개발 및 곤충 키토산이 함유된 저 알러지 및 혈중 콜레스테롤 개선 기능성 반려동물용 사료 개발

【기여율】 1/1

【과제수행기관명】 농업회사법인푸디원(주)

【연구기간】 2021.04.01 ~ 2021.12.31

【취지】 위와 같이 특허청장에게 제출합니다.

대리인 특허법인 충현

(서명 또는 인)

관인생략

출원번호통지서

출원일자 2023.01.04
 특기사항 심사청구(유) 공개신청(무) 참조번호(10968)
 출원번호 10-2023-0001137 (접수번호 1-1-2023-0012897-39)
 (DAS접근코드C3F4)
 출원인명칭 농업회사법인 푸디웜 주식회사(1-2017-070634-6)
 대리인성명 특허법인 충현(9-2010-100021-9)
 발명자성명 김태훈 신대철 신민규 이소원 이정인 최다운 정병욱 정태호 김나영 김세리 천정민
 발명의명칭 동애등에 유충의 단백질 가수분해물을 유효성분으로 포함하는 식이 알러지 예방 또는 저감용 사료 조성물

특 허 청 장

<< 안내 >>

1. 귀하의 출원은 위와 같이 정상적으로 접수되었으며, 이후의 심사 진행상황은 출원번호를 이용하여 특허로 홈페이지(www.patent.go.kr)에서 확인하실 수 있습니다.
 2. 출원에 따른 수수료는 접수일로부터 다음날까지 동봉된 납입영수증에 성명, 납부자번호 등을 기재하여 가까운 은행 또는 우체국에 납부하여야 합니다.
 ※ 납부자번호 : 0131(기관코드) + 접수번호
 3. 귀하의 주소, 연락처 등의 변경사항이 있을 경우, 즉시 (특허고객번호 정보변경(경정), 정정신고서)를 제출하여야 출원 이후의 각종 통지서를 정상적으로 받을 수 있습니다.
 4. 기타 심사 절차(제도)에 관한 사항은 특허청 홈페이지를 참고하시거나 특허고객상담센터☎ 1544-8080에 문의하여 주시기 바랍니다.
 ※ 심사제도 안내 : <https://www.kipo.go.kr>-지식재산제도

2023-01-04

【출원언어】 국어
【심사청구】 청구
【이 발명을 지원한 국가연구개발사업】
【과제고유번호】 1545022738
【과제번호】 321095021SB010
【부처명】 농림축산식품부
【과제관리(전문)기관명】 농림식품기술기획평가원
【연구사업명】 유용농생명자원산업화기술개발 (R & D)
【연구과제명】 곤충 유래 단백질 가수분해물 추출기술 개발 및 곤충 키토산이 함유된 저 알러지 및 혈중 콜레스테롤 개선 기능성 반려동물용 사료 개발
【기여율】 1/1
【과제수행기관명】 농업회사법인푸디웜(주)
【연구기간】 2021.04.01 ~ 2022.12.31
【취지】 위와 같이 특허청장에게 제출합니다.
 대리인 특허법인 충현 (서명 또는 인)

- 연구성과 실적 증빙자료 4) 제품개발확인서

농림축산식품 연구개발과제 제품출시 확인서

과제명	곤충 유래 단백질 가수분해물 추출기술 개발 및 곤충 키토산이 함유된 저알러지 및 혈중 콜레스테롤 개선 기능성 반려동물용 사료 개발		
주관연구기관	농업회사법인 푸디원(주)	참여기관	대우한의대학교 산학협력단, 중부대학교 산학협력단
연구책임자	김태훈	연구기간	21년 04월 ~ 22년 12월 (총 1년 9개월)
총 정부출연금	350,000,000 원		

해당 기술의 제품출시 유형

시제품(제품출시 예정)	()	기존 제품 공정개선	()
신제품(제품출시 완료)	(3)	기 타	()

제품 출시 실적

제품명	제품사진	제품용도	제품 출시일	해당 기술의 제품출시 기여율(%)
라포그 플러스 가수분해 단백질 사료		반려견 처방식 사료	2022.07.14	100
라포그 리얼인섹트 웨이트밸런스		반려견 사료	2021.08.09	25

라포그 코어텐탈츄 그린		반려견 간식	2021.12.09	25
--------------	---	--------	------------	----

* 첨부 : 당해연도 제품출시 여부를 확인할 수 있는 자료(제조년월일 표기사진, 제품등록번호 등)

상기와 같이 R&D 기술을 제품화한 실적을 보고합니다.

2023년 01월 18일
연구책임자 : 김 태 훈 (서명인)



- 연구성과 실적 증빙자료 5) 정량적 성과지표

1. 유해성평가
_중금속

성분분석결과서			
문서번호	연구소 28호	통보일자	2022.02.14
접수일자	2022.01.27	제조일자	
접수번호	220127-1145	Lot No.	
제품명	BSF_DP(CENTRI)		
사료명칭	유도단백질		
수신	농업회사법인 주디엠(주)(연구개발팀)		
성분명	분석결과	분석방법	
아미노산			
Arginine(%)	2.41	사료표준분석 3.2.Ninhydrin법	
Cystine(%)	0.24	사료표준분석 3.2.Ninhydrin법	
Methionine(%)	0.72	사료표준분석 3.2.Ninhydrin법	
Proline(%)	3.87	사료표준분석 3.2.Ninhydrin법	
곰팡이독소			
아플라톡신(ppb)	불검출	사료표준분석 7.7 .AOZ 동시분석법	
오크라톡신(ppb)	불검출	사료표준분석 7.7 .AOZ 동시분석법	
중금속			
납(ppm)	불검출	사료표준분석 4.19.ICP발광분광분석법	
카드뮴(ppm)	불검출	사료표준분석 4.19.ICP발광분광분석법	
비소(ppm)	1.85	사료표준분석 4.19.ICP발광분광분석법	
수은(ppm)	0.0091	사료표준분석 5.5.수은전용분석기법	
크롬(ppm)	불검출	사료표준분석 4.19.ICP발광분광분석법	
몰스(ppm)	9.34	사료표준분석 5.2.나.이온메타법	
미생물			
세균수(cfu/g)	1x10 ⁴	식품공전 4.5.1 일반세균수 나.건조필름법	
대장균군(cfu/g)	1x10 ²	식품공전 4.7.2 정량시험 다.건조필름법	
진균수(cfu/g)	N.C(10 ⁴)	AOAC 997.02	
살모넬라	불검출	사료표준분석 8.1.살모넬라 다.효소연역기법	
기타성분			
염분(탄탈)(%)	1.96	사료표준분석 4.8.나.탄탈법	
취발성염기태질소(%)	0.06	사료표준분석 21.3.취발성염기태질소	

의뢰하신 시료의 분석결과를 위와 같이 통보 드립니다.

2022. 02. 14

한국사료협회 사료기술연구소장



담당자 강미숙 수석연구원 홍현진
우)15426 경기도 안산시 단원구 산단로 325(신길동) 리드스마트스퀘어 1053호 / 전화 (031)365-5345

본 시험결과는 KS Q ISO/IEC 17025와 KOLAS 인청과 관련 없음.

2.
유해성평가_
미생물

성분분석결과서			
문서번호	연구소 27호	통보일자	2022.02.11
접수일자	2022.01.26	제조일자	
접수번호	220126-1110	Lot No.	
제품명	BSF-DP		
사료명칭	유도단백질		
수신	농업회사법인 주디엠(주)(연구개발팀)		
성분명	분석결과	분석방법	
일반성분			
수분(%)	3.90	사료표준분석 1.1.가.135도2시간	
조단백질(%)	51.89	사료표준분석 1.2.나.KjeltecMethod	
조지방(%)	7.83	사료표준분석 1.4.조지방	
조섬유(%)	7.11	사료표준분석 1.3.조섬유	
조회분(%)	23.23	사료표준분석 1.5.조회분	
무기물			
칼슘(%)	8.58	사료표준분석 4.19.ICP발광분광분석법	
인(%)	1.05	사료표준분석 4.19.ICP발광분광분석법	
칼륨(%)	1.34	사료표준분석 4.19.ICP발광분광분석법	
나트륨(%)	0.64	사료표준분석 4.19.ICP발광분광분석법	
마그네슘(%)	0.43	사료표준분석 4.19.ICP발광분광분석법	
철(ppm)	440	사료표준분석 4.19.ICP발광분광분석법	
아연(ppm)	120	사료표준분석 4.19.ICP발광분광분석법	
곰팡이독소			
아플라톡신(ppb)	불검출	사료표준분석 7.7.AOZ 동시분석법	
오크라톡신(ppb)	불검출	사료표준분석 7.7.AOZ 동시분석법	
중금속			
납(ppm)	불검출	사료표준분석 4.19.ICP발광분광분석법	
카드뮴(ppm)	1.60	사료표준분석 4.19.ICP발광분광분석법	
비스(ppm)	2.08	사료표준분석 4.19.ICP발광분광분석법	
수은(ppm)	0.0693	사료표준분석 5.5.수은전용분석기법	
크롬(ppm)	1.16	사료표준분석 4.19.ICP발광분광분석법	
불소(ppm)	19.17	사료표준분석 5.2.나.이온메타법	
미생물			
세균수(cfu/g)	1x10 ⁴ 2	식품공전 4.5.1 일반세균수 나.건조필름법	
대장균군(cfu/g)	N.C.(10 ⁴ *1)	식품공전 4.7.2 정량시험 다.건조필름법	
살모넬라	불검출	사료표준분석 8.1.살모넬라 다.효소면역기법	
기타성분			

의뢰하신 시료의 분석결과를 위와 같이 통보 드립니다.

2022. 02. 11



한국사료협회 사료기술연구소장

담당자 강미숙 수석연구원 홍현진
우)15426 경기도 안산시 단원구 산단로 325(신길동) 리드스마트스퀘어 1053호 / 전화 (031)365-5345

본 시험결과는 KS Q ISO/IEC 17025와 KOLAS 인정과 관련 없음.

제 D2023011855 호
 문서화인 V999-T042-M8G0

참고용 시험성적서

본 성적서는 식품의약품안전처 「식품·의약품분야 시험·검사 등에 관한 법률」에 따른 것이 아닙니다.

제품명	BSP가수분해단백질	제조일자 (유통기한, 품질유지 기한 또는 소비기한)	2023-01-13
의뢰인	업체명	농업회사법인주더콤주식회사	성명
	주소		김태훈
제조번호		접수년월일	2023-01-25
시험목적	참고용	접수번호	D2023011855

귀하가 우리 연구원에 시험의뢰한 결과는 다음과 같습니다.

시험·검사 완료일 : 2023-01-30
 시험·검사 책임자 : 장정순
 시험관련 총 책임자 : 김천희

시험 항목	시험 결과	시험·검사원
글로스트리디움 퍼프린젠스	음성	홍서연

끝.

- ※ 이 시험 결과는 의뢰자가 제시한 시료 및 시료명에만 한정됩니다.
- ※ 본 성적서는 광고용 성적서입니다. 시험 결과는 시험 목적 이외의 광고 및 홍보, 자가품질검사용 등에 사용할 수 없습니다.
- ※ 법적 효력이 없으며, 정부기관 제출용으로만 사용할 수 있습니다.
- ※ 본 성적서는 KS Q ISO/IEC 17025 및 KOLAS 인정과 관련이 없습니다.
- ※ 지면이 부족한 경우 시험 및 결과란은 별지로 작성 가능합니다.

2023년 01월 30일

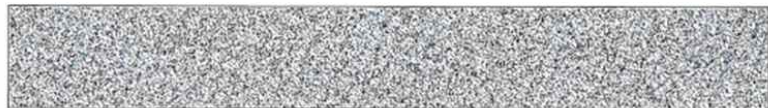
한국기능식품연구원 장



(사)한국건강기능식품협회 부산 한국기능식품연구원 <http://www.khfi.re.kr> 전화번호 (051) 709-1111 / (031) 628-0400-1

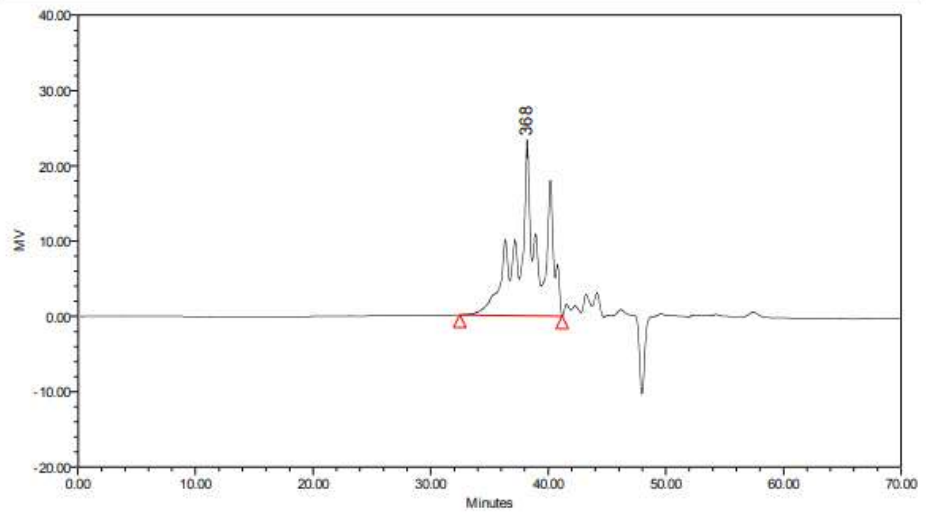


KHFI



SAMPLE INFORMATION

Sample Name:	concentration DP	Sample Set Name:	20220615
Sample Type:	Broad Unknown	Acq. Method Set:	STARTUP_20171208
Vial:	21	Column Name:	Ultrahydrogel 120, 250, 500, 1000 (7.8mm x 300 mm)
Injection #:	1	Flow rate:	1 ml/min
Injection Volume:	50.00 ul	Detector:	RI
Eluent:	Water [0.1M NaNO3/ACN (9/1)]		
Date Acquired:	6/15/2022 2:18:20 PM		



GPC Sample Results

	Mn (Daltons)	Mw (Daltons)	MP (Daltons)	Polydispersity	% Area
1	275	475	368	1.731	100.00

3. 단백질
가수분해물
분자크기



참고용 시험성적서



본 성적서는 식품의약품안전처 「식품·의약품분야 시험·검사 등에 관한 법률」에 따른 것이 아닙니다.

발행번호	R20230203-0007	접수번호	230100404-002	
검사완료일	2023-02-03	접수완료일	2023-01-26	
제품명	BSPHP(A1h2F0.1h1)_SL	제조(수입)일 (제조번호)		
		품목제조신고번호		
유형·재질·품목명	기타기준규격외	유통기한, 품질유지기한 또는 소비기한		
의뢰자	성명	김태훈	업체명	농업회사법인 푸디윌주식회사
	소재지	(28118)충청북도 청주시 청원구 오창읍 양청송대길 10, 404호-409호(청주미래누리터(지식산업센터))		
제조원	전화번호		팩스번호	
	전자우편			
제조원	업체명		제조국	
	소재지			
시험목적	식품 기타참고용검사)			

시험 항목 및 결과

시험 항목	시험 기준	시험 결과	비고
조단백질(g/100mL)	기준없음	4.67	



종합과정 : 상기실험확인함

시험검사원 : 고준호

시험검사책임자 : 안희찬

비고 :

※ 동 시험성적서는 법적 효력이 없으며, 시험목적 이외에는 사용할 수 없습니다.

2023년 02월 03일

(주)한국바이오분석연구원



15808 경기도 군포시 영예스루 163 종산빌딩 6층

T:031-602-9000

F:031-604-9001



※ 본 증명서는 인터넷으로 발급되었으며, 발급번호를 통하여 위변조 여부를 확인할 수 있습니다. 또한, 문서하단의 바코드로도 진위확인(스캐너를 문서확인프로그램)을 하실 수 있습니다. <http://ims.mfds.go.kr> Page 1 of 1

7. 반려견 대상 임상 실험 결과 보고서 (1년차)

1. 위탁연구과제 연구목적 및 추진체계

(1) 위탁연구과제 연구목적

- 1-2차 가공원료로 제조된 곤충사로 시제품의 반려동물 대상 소화성 평가
 - 연구 목적
 - 유충농성명자원을 활용하고 산업의 측면에서 곤충(동애동물) 유래 가수분해 단백질의 소화율 및 영양성을 평가하여 고부가가치 사료로서의 가능성을 규명하고자 함.
 - 연구 내용
 - 1차 원료인 동애동물에 가수분해 단백질과 2차 원료인 동애동물에 키토산으로 제조된 시제품 사료의 소화성 실험을 위해 실제 가정에서 사육중인 반려동물들 대상으로 임상시험을 수행할 예정임. (1차년도)
 - 곤충 가수분해 단백질 투여군의 단백질 소화율 측정은 질소평형법을 사용하며, 각군의 Fecal (대변)을 채취하여 질소량을 측정하고, 무단백질 식군의 Fecal 중, 즉 내인성 질소량을 뺀 소화율(true digestibility)을 분석할 것임.
 - 반려동물들 대상으로 하는 본 연구는 공동연구개발기관의 실험동물 대상 소화성 평가 데이터를 임상에서 뒷받침 함.
- 2) 1-2차 가공원료로 제조된 곤충사로 시제품의 반려동물 대상 식이 알려지 지각 효능 평가
 - 연구 목적
 - 1차 원료인 동애동물에 가수분해 단백질과 2차 원료인 동애동물에 키토산으로 제조된 시제품 사료가 아토피 증을 환자 대상으로 식이성 알려지기 반응을 유발하지 않음을 확인하는 임상 유효성 평가 사항
 - 연구 내용
 - 아토피성 피부염으로 확진된 동물 환자를 모집하여 임상효능평가를 실시하며, 환자 모집 및 임상데이터 수집을 통해 Food Allergy 증상유발에 대한 유효성 평가 실시할 예정임. (1-2차년도)
 - 가정에서 사용하는 반려동물들 대상으로 Field Test를 수행하며, CBC, Serum Chemistry를 병행하여 안전성평가를 병행할 예정임.
- 3) 1-2차 가공원료로 제조된 곤충사로 시제품의 반려동물 대상 혈행 개선 효능 평가
 - 연구 목적
 - 1차 원료인 동애동물에 가수분해 단백질과 2차 원료인 동애동물에 키토산으로 제조된 시제품 사료가 식이성 개별인정 평가 항목인 "혈행개선에 도움을 줄 수 있음" 수준의 혈행개선 능력이 있는 지에 대한 유효성 평가 예정임.
 - 연구 내용
 - 실제 가정에서 사육중인 반려동물들 대상으로 임상시험을 수행, 1차 원료인 곤충 가수분해 단백질

3. 연구개발과제의 수행 결과 및 목표 달성 정도

1) 정성적 연구개발성과

- 아토피성 피부염으로 확진된 동물 환자를 모집하여 임상효능평가를 실시하였으며, 환자 모집 및 임상데이터 수집을 통해 Food Allergy 증상유발에 대한 유효성 평가 데이터를 정리한 결과는 다음과 같았음.

임상치료 보고서

환자 정보					
환자번호	1	성별	중성화수컷	체중	2.9kg
나이	5Y	품종	푸들	최초 내원 일자	21년 8월 18일
방문 일자: 21년 8월 18일					
1차 방문	치료/처방	Prednisolone, 라보그 리얼인젝트 사료급여			
	VAS score	7 / 10			
	CADESI-04	45 / 180			
	진단	Cutaneous adverse food reaction			
결과 소견					
방문 일자: 21년 9월 18일					
2차 방문	치료/처방	라보그 리얼인젝트 사료 급여			
	VAS score	2 / 10			
	CADESI-04	15 / 180			
	진단	Cutaneous adverse food reaction			
결과 소견					
방문 일자: 21년 10월 18일					
3차 방문	치료/처방	라보그 리얼인젝트 사료 급여			
	VAS score	2 / 10			
	CADESI-04	18 / 180			
	진단	Cutaneous adverse food reaction			
결과 소견					
종합의견: 라보그 리얼인젝트 사료급여를 통해 PDS 투여이 종료된 이후에도 음식물 알레르기 증상이 재발하지 않으므로 음식물 알레르기 반응 억제에 효과가 있음.					

질과 2차원료인 곤충키토산으로 제조된 시제품 사료를 투여하여 PT, aPTT 및 Fib과 연관 유무에 대한 유효성 평가 예정임. (2차년도)

· TCHL, HDL, LDL 수치 변화에 대한 유효성평가도 병행함. ("혈중콜레스테롤 수치 개선에 도움을 줄 수 있음" 참조)

(2) 위탁연구과제 추진체계

- 1차년도: 1) 반려동물 대상 소화성평가 (1차년도 7월-10월) 2) Food Allergy 저감 유효성 평가 (반려동물환자 대상 임상시험) (1차년도 5월-2차년도 10월)
- 2차년도: 1) Food Allergy 저감 유효성 평가 (반려동물환자 대상 임상시험, 계속) (1차년도 5월-2차년도 10월) 2) 반려동물대상 혈행 개선 유효성 검사 (2차년도 3월-8월)

2. 연구개발과제의 수행 과정 및 수행 내용

- 1) 1-2차 가공원료로 제조된 곤충사로 시제품의 반려동물 대상 소화성 평가
 - 1차 원료인 동애동물에 가수분해 단백질과 2차 원료인 동애동물에 키토산으로 제조된 시제품 사료의 소화성 실험을 위해 실제 가정에서 사육중인 반려동물들 대상으로 임상시험을 수행하였음.
 - 국내 5개 대표 반려동물 사육 품종인 피그, 비숄프리지, 밀티즈, 푸들, 치와와에 대해 중별 소화율 측정을 실시하였음.
 - 곤충 가수분해 단백질 투여군의 단백질 소화율 측정은 질소평형법을 사용하며, 각군의 Fecal(대변)을 채취하여 질소량을 측정하고, 무단백질 식군의 Fecal 중, 즉 내인성 질소량을 뺀 소화율(true digestibility)을 분석하였음.
 - 반려동물들 대상으로 하는 본 연구는 공동연구개발기관의 실험동물 대상 소화성 평가 데이터를 임상에서 뒷받침 하게 됨.
- 2) 1-2차 가공원료로 제조된 곤충사로 시제품의 반려동물 대상 식이 알려지 지각 효능 평가
 - 아토피성 피부염으로 확진된 동물 환자를 모집하여 임상효능평가를 실시하였으며, 환자 모집 및 임상데이터 수집을 통해 Food Allergy 증상유발에 대한 유효성 평가 데이터를 정리하였음. (1차년도 임상 환자 5두 대상 실시)
 - 3차년도 부터는 가정에서 사용하는 반려동물 환자를 대상으로 Field Test를 이어 수행하며, CBC, Serum Chemistry를 병행하여 안전성평가 데이터를 병행하여 수집 할 예정임.

1차 방문 시 병변 사진



3차 방문 시 병변 사진



평가 기관 : 오리진 동물피부과병원
평가자 : 원장 강 정 훈 DVM, PhD (인)

임상치료 보고서

환자 정보					
환자번호	2	성별	중성화암컷	체중	9.1kg
나이	7Y	품종	Mongrel	최초 내원 일자	21년 9월 2일
1차 방문	방문 일자:	21년 9월 2일			
	치료/치방	기존의 문양제닌 하이포알러제닉 가수분해사료에서 라포그 리얼인젝트 사료로 변경			
	VAS score	2 / 10			
	CADESI-04	12 / 180			
	진단	Cutaneous adverse food reaction			
경과 소견					
2차 방문	방문 일자:	21년 9월 16일			
	치료/치방	라포그 리얼인젝트 사료 급여 중단			
	VAS score	6 / 10			
	CADESI-04	38 / 180			
	진단	Cutaneous adverse food reaction			
경과 소견					
3차 방문	방문 일자:	년 월 일			
	치료/치방				
	VAS score				
	CADESI-04				
	진단				
경과 소견					

종합의견: 음식물 알레르기 기 진단되어 로알케닌 하이포알러제닉 가수분해 사료를 통해 양호하게 증상조절이 되던 환자였으나 라포그 리얼인젝트 사료로 변경한 이후 음식물 알레르기 증상이 재발하였음, 라포그 리얼인젝트 사료는 가수분해가 아닌 곤충 단백질백질 원료의 사료로써 제조 원리상 민감한 음식물 알레르기 환자의 증상 관리에는 한계가 있음.

1차 방문 시 병변 사진



2차 방문 시 병변 사진



평가 기관 : 오리진 동물피부과병원
평가자 : 원장 강 정 훈 DVM, PhD (인)

임상치료 보고서

환자 정보					
환자번호	3	성별	중성화수컷	체중	8.1kg
나이	8Y	품종	푸들	최초 내원 일자	21년 9월 18일
1차 방문	방문 일자:	21년 9월 16일			
	치료/치방	Oclacitimb, 멜포아 인드곤 인젝트 사료에서 라포그 리얼인젝트 사료로 변경			
	VAS score	2 / 10			
	CADESI-04	15 / 180			
	진단	Cutaneous adverse food reaction			
경과 소견					
2차 방문	방문 일자:	21년 10월 1일			
	치료/치방	Oclacitimb, 라포그 리얼인젝트 사료 급여			
	VAS score	2 / 10			
	CADESI-04	18 / 180			
	진단	Cutaneous adverse food reaction			
경과 소견					
3차 방문	방문 일자:	21년 10월 16일			
	치료/치방	Oclacitimb, 라포그 리얼인젝트 사료 급여			
	VAS score	2 / 10			
	CADESI-04	16 / 180			
	진단	Cutaneous adverse food reaction			
경과 소견					

종합의견: 상기 환자는 아포젤 정 (Oclacitimb) 투약을 하고 있으나 음식물 알레르기원 섭취 시에는 투약에도 불구하고 매우 강한 알레르기 증상을 보여왔던 환자로 기존에는 독일 멜포아하 의 곤충사료 급여를 통해 안정적인 피부상태를 유지하였음, 라포그 리얼인젝트 사료로 치방을 변경하였음에도 약 4주간 알레르기 증상의 재발이 없었으며 독일 멜포아하 의 곤충사료와 유사한 효능을 나타낸 것으로 판단됨.

1차 방문 시 병변 사진



3차 방문 시 병변 사진



평가 기관 : 오리진 동물피부과병원
평가자 : 원장 강 정 훈 DVM, PhD (인)

임상치료 보고서

환자 정보					
환자번호	4	성별	중성화수컷	체중	9.3kg
나이	7Y	품종	페키니즈	최종 내원 일자	21년 10월 5일
방문 일자: 21년 10월 5일					
1차 방문 시 병변 사진	치료/처방	Oclacitimb, 라포그 리얼인섹트 사료급여			
	VAS score	8 / 10			
	CADESI-04	54 / 180			
	진단	Cutaneous adverse food reaction			
	결과 소견				
방문 일자: 21년 10월 19일					
2차 방문 시 병변 사진	치료/처방	라포그 리얼인섹트 사료 급여			
	VAS score	2 / 10			
	CADESI-04	20 / 180			
	진단	Cutaneous adverse food reaction			
	결과 소견	음식물 알레르기 증상 크게 완화되어 Oclacitimb 처방종료			
방문 일자: 21년 11월 2일					
3차 방문 시 병변 사진	치료/처방	라포그 리얼인섹트 사료 급여			
	VAS score	2 / 10			
	CADESI-04	18 / 180			
	진단	Cutaneous adverse food reaction			
	결과 소견	Oclacitimb 처방이 종료된 이후 예도 증상 재발 없음.			
종합의견: 라포그 리얼인섹트 사료급여를 통해 Oclacitimb 투약이 종료된 이후에도 음식물 알레르기 증상이 재발하지 않으므로 음식물 알레르기 반응 억제에 효과가 있음.					



평가 기관 : 오리진 동물피부과병원
평가자 : 원장 강 정 훈 DVM, PhD (인)

임상치료 보고서

환자 정보					
환자번호	5	성별	중성화수컷	체중	11.7kg
나이	2Y	품종	시바이누	최종 내원 일자	21년 10월 12일
방문 일자: 21년 10월 12일					
1차 방문 시 병변 사진	치료/처방	Oclacitimb, 라포그 리얼인섹트 사료급여			
	VAS score	7 / 10			
	CADESI-04	30 / 180			
	진단	Cutaneous adverse food reaction			
	결과 소견				
방문 일자: 21년 10월 28일					
2차 방문 시 병변 사진	치료/처방	라포그 리얼인섹트 사료 급여			
	VAS score	1 / 10			
	CADESI-04	12 / 180			
	진단	Cutaneous adverse food reaction			
	결과 소견	음식물 알레르기 증상 크게 완화되어 Oclacitimb 처방종료			
방문 일자: 21년 11월 9일					
3차 방문 시 병변 사진	치료/처방	라포그 리얼인섹트 사료 급여			
	VAS score	1 / 10			
	CADESI-04	10 / 180			
	진단	Cutaneous adverse food reaction			
	결과 소견	Oclacitimb 처방이 종료된 이후 예도 증상 재발 없음.			
종합의견: 라포그 리얼인섹트 사료급여를 통해 Oclacitimb 투약이 종료된 이후에도 음식물 알레르기 증상이 재발하지 않으므로 음식물 알레르기 반응 억제에 효과가 있음.					



평가 기관 : 오리진 동물피부과병원
평가자 : 원장 강 정 훈 DVM, PhD (인)

- 결론 : 5마리의 아로피성 피부염 환자 중, 4마리의 경우 유치가 되었으나, 1마리의 경우 사료 교체와 동시에 피부 증상이 악화됨을 확인. 현재 제형과 원료 가공방식은 곤충사료 특유의 소화율 및 저알러지성의 보편적 유효성이 관찰되나, 처방식사료로서의 가치를 지니기 위해서는 가수분해 공정을 거쳐 저알러지 가능성을 구현하는 것이 필요할 것으로 사료됨.

2) 정량적 연구개발성과

→ 국내 5개 대표 반려동물 사육 품종인 피그, 비숄프리제, 말티즈, 푸들, 치와와에 대해 증별 단백질 소화율 측정용 실시한 결과는 다음과 같았음.

표 1. 피그의 단백질 소화율 결과

항목	Group ¹		유의성	Group		유의성
	피그A	피그C		피그B	피그C	
단백질 소화율 (%)	43.36±1.00	61.93±0.14	*	80.33±0.22	61.93±0.14	*

¹피그A = 요세라 사료, 피그B = 로얄캐닌 사료, 피그C = 라포그 사료.
*P<0.05

→ 모든 처리구에서 통계적 유의성이 인정됨(P<0.05)
→ 피그는 로얄캐닌 사료 처리구(피그B)에서 단백질 소화율이 제일 높았으며 그다음은 라포그 사료(피그C), 요세라 사료(피그A) 처리구 순으로 나타남.

표 2. 비숄프의 단백질 소화율 결과

항목	Group ¹		유의성	Group		유의성
	비숄A	비숄C		비숄B	비숄C	
단백질 소화율 (%)	59.80±0.58	79.67±0.29	*	87.23±0.58	79.67±0.29	*

¹비숄A = 요세라 사료, 비숄B = 로얄캐닌 사료, 비숄C = 라포그 사료.
*P<0.05

→ 모든 처리구에서 통계적 유의성이 인정됨(P<0.05)
→ 비숄은 로얄캐닌 사료 처리구(비숄B)에서 단백질 소화율이 제일 높았으며 그다음은 라포그 사료(비숄C), 요세라 사료(비숄A) 처리구 순으로 나타남.

표 3. 말티즈의 단백질 소화율 결과

항목	Group ¹		유의성	Group		유의성
	말티즈A	말티즈C		말티즈B	말티즈C	
단백질 소화율 (%)	63.40±0.53	58.68±0.47	*	76.30±0.24	58.68±0.47	*

¹말티즈A = 요세라 사료, 말티즈B = 로얄캐닌 사료, 말티즈C = 라포그 사료.
*P<0.05

- 13 -

- 14 -

→ 모든 처리구에서 통계적 유의성이 인정됨(P<0.05)
→ 말티즈는 로얄캐닌 사료 처리구(말티즈B)에서 단백질 소화율이 제일 높았으며 그 다음은 요세라 사료 처리구(말티즈A), 라포그 사료(말티즈C) 처리구 순으로 나타남.

표 4. 푸들의 단백질 소화율 결과

항목	Group ¹		유의성	Group		유의성
	푸들A	푸들C		푸들B	푸들C	
단백질 소화율 (%)	49.64±0.31	58.49±0.08	*	77.59±0.02	58.49±0.08	*

¹푸들A = 요세라 사료, 푸들B = 로얄캐닌 사료, 푸들C = 라포그 사료.
*P<0.05

→ 모든 처리구에서 통계적 유의성이 인정됨(P<0.05)
→ 푸들은 로얄캐닌 사료 처리구(푸들B)에서 단백질 소화율이 제일 높았으며 그다음은 라포그 사료(푸들B), 요세라 사료(푸들A) 처리구 순으로 나타남.

표 5. 치와와의 단백질 소화율 결과

항목	Group ¹		유의성	Group		유의성
	치와와A	치와와C		치와와B	치와와C	
단백질 소화율 (%)	49.01±0.10	88.74±0.35	*	86.40±0.25	88.74±0.35	*

¹치와와A = 요세라 사료, 치와와B = 로얄캐닌 사료, 치와와C = 라포그 사료.
*P<0.05

→ 모든 처리구에서 통계적 유의성이 인정됨(P<0.05)
→ 치와와들은 라포그 사료(치와와C) 처리구에서 단백질 소화율이 제일 높았으며 그다음은 로얄캐닌 사료 처리구(치와와B), 요세라 사료(치와와A) 처리구 순으로 나타남.

- 결론 : 반려동물 증별 단백질 소화율을 일반사료(Negative Control로 간주), 수입 곤충사료(Positive Control로 간주)와 비교분석하였고, 치와와의 경우 모든 사료 중 가장 단백질 소화율이 높은 것으로 확인되었고, 비숄/피그/푸들 중에서 일반사료보다는 소화율이 높았으나, 수입 사료 보다는 단백질 소화율이 낮았음. 말티즈에서는 일반사료와 수입사료보다 단백질 소화율이 낮아 2차년도부터 수행 예정인 곤충원료의 가수분해 공정을 적용한 사료에 대한 단백질 소화율과 임상현장 유효성/특성 평가 결과를 주목할 필요가 있음.

IPET 위탁과제 연구보고서

위탁연구책임자 : 정 태 호 (인)

중부대학교 반려동물학부
동물행동복지학전공
동물사육학전공
동물보건학석사
2022년 07월 23일

1. 연구목적 및 추진체계

(1) 연구목적

- 1차 가공원료로 제조된 곤충사료 시제품의 반려동물 대상 소화성 평가 (1차년도, Finished)
- 1차 가공원료로 제조된 곤충사료 시제품의 반려동물 대상 식이 알러지 저감 효능 평가 (1-2차년도, Continued)
 - 연구 목적
 - 1차 원료인 동애종에 가수분해 단백질과 2차 원료인 동애종에 키토산으로 제조된 시제품 시료가 아토피 동물 환자 대상으로 식이성 알레르기 반응을 유발하지 않음을 확인하는 임상 유효성 평가 시험
 - 연구 내용
 - 아토피성 피부염으로 확진된 동물 환자를 모집하여 임상효능평가를 실시하며, 환자 모집 및 임상데이터 수집을 통해 Food Allergy 증상에 대한 유효성 평가 실시 (1-2차년도 계속 평가)
 - 가정에서 사용하는 반려동물용 대상으로 Field Test를 수행하며, CBC, Serum Chemistry를 병행하여 안전성평가를 병행
- 1차 2차 가공원료로 제조된 곤충사료 시제품의 반려동물 대상 혈행 개선 효능 평가 (2차년도)
 - 연구 목적
 - 1차 원료인 동애종에 가수분해 단백질과 2차 원료인 동애종에 키토산으로 제조된 시제품 시료가 식이성 개선 평가 항목인 "혈행개선에 도움을 줄 수 있음" 수준의 혈행개선 효능이 있는 지에 대한 유효성 평가 수행

- 1 -

2. 연구개발과제의 수행 과정 및 수행 내용 (2차년도)

- 1차 2차 가공원료로 제조된 곤충사료 시제품(LAPOG+)의 반려동물 대상 식이 알러지 저감 효능 평가
 - 1차년도 임상시험에서 아토피성 피부염으로 확진된 동물 환자를 모집하여 임상효능평가를 실시하였으나, 1차년도 환자 모집 및 임상데이터 수집을 통해 Food Allergy 증상유발에 대한 유효성 평가 데이터를 정리하였고, 2차년도부터는 가수분해공정을 거친 LAPOG+ 시제품 사료를 사용하여 환자대상 유효성평가를 실시 (1차년도에 이어 2차년도 동물환자 대상 임상시험)
- 1차 2차 가공원료로 제조된 곤충사료 시제품(LAPOG+)의 반려동물 대상 혈행개선 및 혈중콜레스테롤 수치 개선 유효성 검역
 - 응고검사 전용 셀룰로오스 sodium citrate 용액을 혈액과 1:9 비율이 되도록 50µl씩 넣어 둔 뒤 혈액은 0.5ml 씩 뽑아 잘 섞어서 10,000rpm으로 3분 간 원심분리(Sorvall BioType primo, Thermo Scientific, USA)한 후에 응고검사에 사용
 - Blood coagulation 관련 지표 분석으로는 prothrombin time (PT), activated partial thromboplastin time (aPTT), Fibrinogen (Fib)을 응고법을 이용하여 매우 일정한 시간에 측정하였고, aggregometer 장비와 일본 FUJII DRI-CHEM SLIDE 시약을 사용하여 A&T Corporation 세이(Fujisawa-shi,Kanagawa, Japan)의 Coagulation Analyzer CGO2NV 장비로 응고계 검사를 실시
 - PT(Prothrombin Time)는 혈액을 용해 하는 항응고제인 워파린(쿠마딘, COUMADIN)의 항혈액응고 작용을 모니터링하고 출혈 상황을 진단하기 위해 시행하는 검사로 혈액 검사 전에 혈전이 생성되는 시간을 측정하는 검사법
 - aPTT(Activated Partial Thromboplastin Time)이란 출혈정화와 혈전질환의 가능성을 평가하고 비특이적 워파린 항응고제를 시료중의 환자를 모니터링하기 위해 시행하는 검사로 상정되지 않는 출혈 및 혈액응고가 있을 때(비특이적 워파린 항응고제 치료시) 수술전 선별검사로 시행하는 검사법
 - Fib(Fibrinogen)은 섬유소원 활성도(Fibrinogen Activity)라고 하며 가능한 출혈장애나 혈전 발생에 대한 조사의 일부로서, 특히 섬유소원의 농도를 평가하기 위해 사용
 - 중성지방은 체내 효과적인 에너지원으로 공복 시에는 뇌와 척수를 제외한 모든 장기의 주요 에너지원으로 사용된다. 그러나 중성지방이 체내에서 과다하게 합성되고 축적되면, 인슐린의 기능을 저해하고, 대사증후군, 당뇨병, 및 심혈관계 질환 등 여러 질병의 발생위험을 높일 수 있다. 고중성지방혈증에 의한 심혈관계 질환의 발병기전은 콜레스테롤과 독립적이다. 즉 콜레스테롤이 낮아도 중성지방이 높으면 심혈관계 질환이 더 잘 발생하므로 혈중 콜레스테롤을 낮추는 것뿐만 아니라 혈중 중성지방을 낮추는 방법이 병행되어야 한다. 혈중 중성지방 개선 가능성을 확인하기 위한 연구유형별 바이오마커 중 보편적으로 자주 활용되는 마커는 total cholesterol, HDL, LDL이다.

- 3 -

- 연구 내용
- 실제 가정에서 사육중인 반려동물용 대상으로 임상시험을 수행, 시제품 사료(LAPOG+)를 투여하여 PT, aPTT 및 Fibrinogen 연장 유무에 대한 유효성 평가 수행
- TGOL, HDL, LDL수치 변화에 대한 유효성평가 병행("혈중콜레스테롤 수치 개선에 도움을 줄 수 있음" 참조)

(2) 추진체계

- 1차년도: 1) 반려동물 대상 소화성평가 (1차년도 7월-10월) 2) Food Allergy 저감 유효성 평가 (반려동물환자 대상 임상시험) (1차년도 5월-2차년도 10월)
- 2차년도: 1) Food Allergy 저감 유효성 평가 (반려동물환자 대상 임상시험, 계속) (1차년도 5월-2차년도 10월) 2) 반려동물대상 혈행 개선 유효성 검역 (2차년도 3월-8월)

- 2 -

3. 연구개발과제의 수행 결과 및 목표 달성 정도

1) 정상적 연구개발성과


- 아토피성 피부염으로 확진된 동물 환자를 모집하여 1차년도에 이어 (계속) 임상효능평가를 실시하였으며, 환자 모집 및 임상데이터 수집을 통해 Food Allergy 증상유발에 대한 LAPOG+ 가 수분해 사료의 유효성 평가 데이터를 정리한 결과는 다음과 같았음.

환자 정보				
환자번호	1	성별	중성화수컷	체중
나이	4Y	종종	Mongrel	최소 내림 일자
				22년 6월 1일
1차 방문	방문 일자:	22년 6월 1일		
	치료/제방	Oclacitinib, LAPOG+ 사료급여		
	VAS score	8 / 10		
	CADESI-04	34 / 180		
	진단	Cutaneous adverse food reaction		
경과 소견				
2차 방문	방문 일자:	22년 6월 15일		
	치료/제방	Oclacitinib, LAPOG+ 사료급여		
	VAS score	1 / 10		
	CADESI-04	10 / 180		
	진단	Cutaneous adverse food reaction		
경과 소견	음식을 알레르기 증상 크게 완화되어 Oclacitinib 처방종료			
3차 방문	방문 일자:	22년 6월 29일		
	치료/제방	LAPOG+ 사료급여		
	VAS score	1 / 10		
	CADESI-04	12 / 180		
	진단	Cutaneous adverse food reaction		
경과 소견	Oclacitinib 처방이 종료된 이후에도 증상 재발 없음.			
참고사항: LAPOG+ 사료급여를 통해 Oclacitinib 투약이 종료된 이후에도 음식물 알레르기 증상이 재발하지 않았으며 음식물 알레르기 반응 차단에 효과가 있음.				


- 4 -

7. 반려견 대상 임상 실험 결과 보고서 (2년차)

1차 방문 시 병변 사진



3차 방문 시 병변 사진



2022년 7월 11일

평가 기관 : 오리진 동물피부과병원
평가자 : 원장 강 정 훈 DVM, PhD (인)

1차 방문 시 병변 사진



2차 방문 시 병변 사진



2022년 7월 12일

평가 기관 : 오리진 동물피부과병원
평가자 : 원장 강 정 훈 DVM, PhD (인)

임상치료 보고서

환자 정보					
환자번호	2	성별	중성화수컷	체중	7kg
나이	7Y	품종	Mongrel	최초 내원 일자	22년 6월 7일
방문 일자: 22년 6월 7일					
1차 방문	치료/치방	기존의 푸리나 HA 가수분해제로에서 LAPDG+ 시료로 변경			
	VAS score	2 / 10			
	CADESI-04	12 / 180			
	진단	Cutaneous adverse food reaction			
경과 소견					
방문 일자: 22년 6월 21일					
2차 방문	치료/치방	LAPDG+ 시료 급여 중단			
	VAS score	4 / 10			
	CADESI-04	20 / 180			
	진단	Cutaneous adverse food reaction			
경과 소견					
방문 일자: 22년 6월 21일					
3차 방문	치료/치방				
	VAS score				
	CADESI-04				
	진단				
경과 소견					
<p>종합의견: 상기 환자는 음식을 알레르기 특히 연어와 같은 생선류에 매우 민감하여 섭취 시 알레르기 증상이 일주일후 중심으로 악화되는 병력을 가지고 있는 환자임. 기존에는 육류, 채산물 단백질원이 모두 배제된 푸리나 HA급여를 통해 안정적인 증상관리가 되고 있었으나 연어유기 함유된 LAPDG+ 급여해보고 일주일 알레르기 증상이 악화되었음. 이는 LAPDG+ 에 함유된 연어유로 인해 생선류에 민감한 알레르기를 가지고 있는 환자는 증상악화가 발생할 수 있다는 가능성을 시사함.</p>					

임상치료 보고서

환자 정보					
환자번호	3	성별	중성화암컷	체중	4.1kg
나이	5Y	품종	치와와	최초 내원 일자	22년 6월 4일
방문 일자: 22년 6월 4일					
1차 방문	치료/치방	PDS, Cytopoint (4주지속), LAPDG+ 시료급여			
	VAS score	9 / 10			
	CADESI-04	42 / 180			
	진단	Cutaneous adverse food reaction, Allergic dermatitis			
경과 소견					
방문 일자: 22년 6월 18일					
2차 방문	치료/치방	Cytopoint (6월4일 처방), LAPDG+ 시료급여			
	VAS score	2 / 10			
	CADESI-04	11 / 180			
	진단	Cutaneous adverse food reaction			
경과 소견					
방문 일자: 22년 7월 2일					
3차 방문	치료/치방	Cytopoint (6월4일 처방), LAPDG+ 시료급여			
	VAS score	1 / 10			
	CADESI-04	10 / 180			
	진단	Cutaneous adverse food reaction			
경과 소견					
<p>종합의견: 병력과 임상증상에서 음식을 알레르기 소인을 뚜렷하게 가지고 있으면서 환경원성 알레르기성 피부염도 함께 가지고 있는 환자로 가수분해제로 치방과 환경원성 알레르기 차단이 함께 필요한 증례임. Cytopoint는 음식을 알레르기 차단효과가 매우 미미하므로 만약 LAPDG+ 가 상기 환자에서 음식을 알레르기 반응을 유발하였다면 양호한 치료반응을 보이지 못했을 것이나 LAPDG+ 시료 급여와 Cytopoint 처방을 병용하여 우수한 치료반응을 얻을 수 있었음.</p>					

1차 방문 시 병변 사진



3차 방문 시 병변 사진



2022년 7월 13일

평가 기관 : 오리진 동물피부과병원
평가자 : 원장 강 정 훈 DVM, PhD (인)

- 9 -

1차 방문 시 병변 사진



3차 방문 시 병변 사진



2022년 7월 14일

평가 기관 : 오리진 동물피부과병원
평가자 : 원장 강 정 훈 DVM, PhD (인)

- 11 -

임상치료 보고서

환자 정보					
환자번호	4	성별	중성화수컷	체중	6.9kg
나이	11Y	품종	닥스후트	최초 내원 일자	22년 6월 10일
1차 방문	방문 일자:	22년 6월 10일			
	치료/처방	Oclacitinib, LAPOG+ 사료급여			
	VAS score	8 / 10			
	CADESI-04	54 / 180			
	진단	Cutaneous adverse food reaction			
결과 소견					
2차 방문	방문 일자:	22년 6월 24일			
	치료/처방	LAPOG+ 사료 급여			
	VAS score	2 / 10			
	CADESI-04	11 / 180			
	진단	Cutaneous adverse food reaction			
결과 소견	음식을 알레르기 증상 크게 완화되어 Oclacitinib 처방 종료				
3차 방문	방문 일자:	22년 7월 8일			
	치료/처방	LAPOG+ 사료 급여			
	VAS score	1 / 10			
	CADESI-04	8 / 180			
	진단	Cutaneous adverse food reaction			
결과 소견	Oclacitinib 처방이 종료된 이후 예도 증상 재발 없음				

종합의견: LAPOG+ 사료급여를 통해 Oclacitinib 투약이 종료된 이후에도 음식을 알레르기 증상이 재발하지 않으므로 음식을 알레르기 반응 차단에 효과가 있음.

- 10 -

- 결론 : 4마리의 음식을 알레르기를 가진 개에게 LAPOG+ 사료를 급여하여 음식을 알레르기 반응이 유발 되는지 여부를 관찰하였을 중에 1과 중에 4는 양호한 호전반응을 보여 LAPOG+ 사료가 음식을 알레르기 치료에 처방할 수 있음을 확인하였음. 또한 중에 3과 같이 음식을 알레르기와 환경원성 알레르기가 복합된 경우에서도 효과적으로 음식을 알레르기 반응을 차단하여 환경원성 알레르기가 복합된 경우에서도 효과적인 치료반응을 보였음. 다만 중에 2에서의 경우와 같이 LAPOG+에 함유되어 있는 연어유는 생선 또는 연어에 민감한 알레르기가 있을 경우 음식을 알레르기의 발생원리 상 낮은 확률이지만 알레르기 유발 가능성이 존재할 것으로 추정됨.

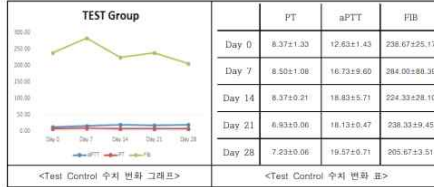
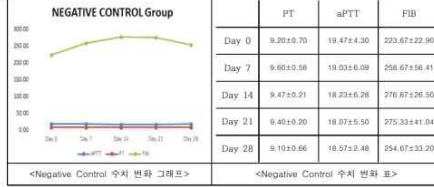
- 12 -

2) 정량적 연구개발성

- LAPOG+를 급여한 후 ①혈행개선 및 ②혈중지질농도개선에 대한 유효성 검색 결과는 다음과 같았음.

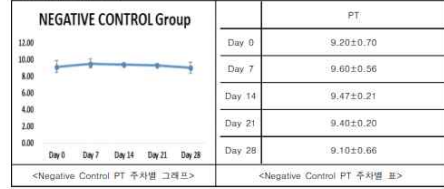
① 혈행개선 유효성 검색 결과

- 개별 총 지표 수치 변화

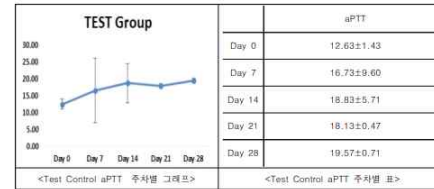
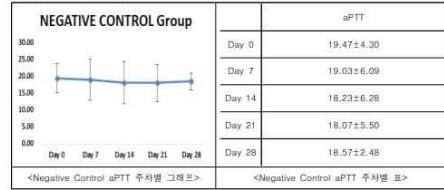


- NC그룹과 T그룹의 전체 혈행개선 관련 지표들의 변화를 측정할 결과, PT값과 aPTT값의 경우 두 그룹 모두에서 유의한 증가나 다른 변화 양상이 관찰되지 않았으나, FIB값의 경우 T그룹에서 유의하게 감소하는 양상을 보였음.

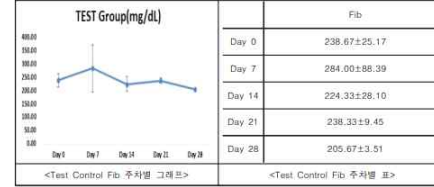
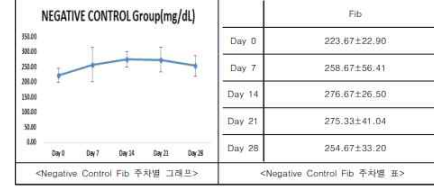
- PT 주차별 수치 변화



- aPTT 주차별 수치 변화



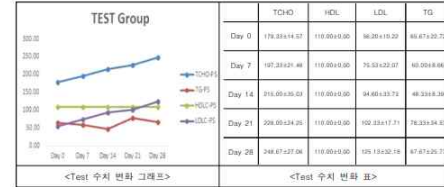
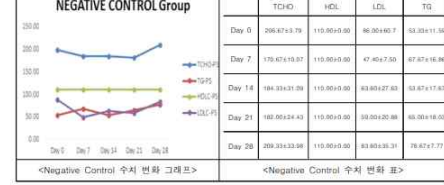
- FIB 주차별 수치 변화



- 결론 : T그룹의 aPTT값이 서서히 증가하는 양상을 보일 수 있으나, StDev가 커서 유의한 변화로 판단할 수 없었고, FIB값의 경우 StDev값이 큰 구간이 있음에도 불구하고 서서히 혈중농도는 유의하게 감소하는 양상이 관찰되었음. 즉, 혈행개선과 관련된 지표 중 FIB 값을 감소시키는 밝혀지지 않은 기전이 있을 수 있다고 판단됨. (후속 연구 필요)

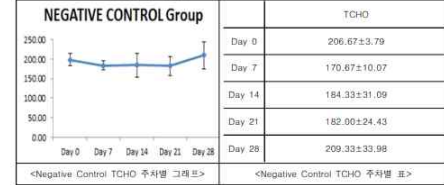
② 혈중지질농도개선 유효성 검색 결과

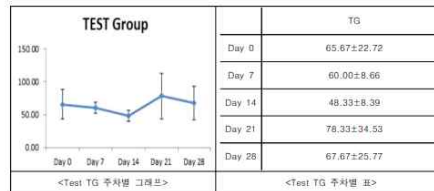
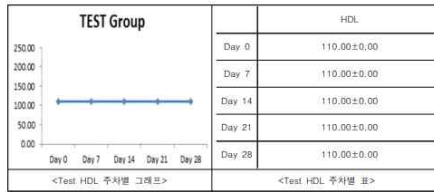
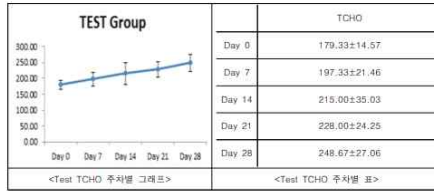
- 개별 총 지표 수치 변화



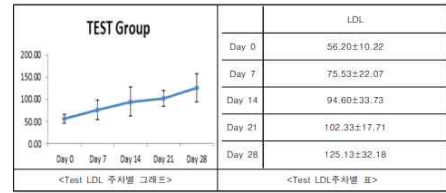
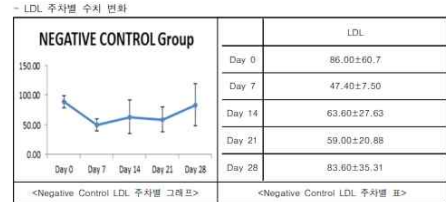
- T그룹에서 Total Cholesterol이 유의적으로 증가하는 양상을 보였고, LDL값 역시 유의적으로 증가하는 양상이 관찰되었음.

- Total Cholesterol 주차별 수치 변화





- 결론 : 본 연구 결과만으로 판단할 때 혈당개선에 대한 유효성은 있었고, 지질대사 개선에 대한 유효성은 없는 것으로 사료됨. 그러나, 라우릭산 투여시 일반적으로 연구에서 보고된 "총콜레스테롤 수치가 증가하나, LDL보다 HDL이 증가하는 양상과 LDL수치가 같이 증가하는 양상을 보여 결과의 해석이 어려운 특이한 결과였음. 1차년도와 단계별 소파를 이 우수하다는 유효성과는 반대로 지질대사에 미치는 영향이 좋지 않을 수도 있다는 결론이 도출될 수 있어 추가 연구가 필요하며, 그럼에도 불구하고, 혈당개선 치료 중 FIB의 값이 유의하게 감소되는 것으로 확인되었기 때문에, 후속연구를 통해 좀 더 많은 반례를 대상으로, 그리고 생애주기별로 특정기간에 초점을 맞춘 연구가 필요할 것으로 사료됨.



④ 4주간 투여 후 안전성 평가 결과

- CBC 결과

Table 1. Hematological profiles of pre-test

	Day 0	NC	T1	Ref. Range
WBC (x 10 ⁹ /L)	12.77±2.55	10.50±4.39	6.0 - 17.0	
Lymph# (x 10 ⁹ /L)	4.87±0.42	2.30±1.31	0.8 - 5.1	
Mon# (x 10 ⁹ /L)	1.13±0.74	1.07±0.31	0.0 - 1.8	
Gran# (x 10 ⁹ /L)	10.17±1.42	6.83±2.75	4.0 - 12.6	
Lymph% (%)	22.37±2.06	14.13±1.69	12.0 - 30.0	
Mon% (%)	6.93±1.50	9.93±1.27	2.0 - 9.0	
Gran% (%)	69.33±3.59	74.10±7.81	60.0 - 83.0	
RBC (x 10 ¹² /L)	7.27±1.06	6.83±0.98	5.50 - 8.50	
HGB (g/dL)	14.43±2.21	14.33±1.74	11.0 - 19.0	
HCT (%)	43.40±0.89	42.50±0.75	39.0 - 56.0	
MCV (fL)	68.20±4.20	70.57±1.03	62.0 - 72.0	
MCH (pg)	24.30±0.44	22.67±0.50	20.0 - 26.0	
MCHC (g/dL)	32.50±1.14	38.50±2.13	30.0 - 38.0	
RDW (%)	13.27±0.76	11.39±0.67	11.0 - 15.5	
PCT (x 10 ¹² /L)	247.67±112.72	470.50±18.50	117 - 460	
MPV (fL)	9.08±1.55	7.90±1.23	7.0 - 12.9	
PDW	13.37±1.88	14.43±2.42	-	
PCT (%)	0.29±0.24	0.46±0.16	-	
Eos (%)	7.77±8.28	10.83±4.38	-	

<Day 0 CBC 검사 결과>

Table 2. Hematological profiles of post-test

	Day 28	NC	T1	Ref. Range
WBC (× 10 ⁹ /L)	9.57±2.48	9.80±1.11	6.0 - 17.0	
Lymph# (× 10 ⁹ /L)	4.50±0.87	2.47±1.20	0.8 - 5.1	
Mon# (× 10 ⁹ /L)	1.10±0.66	0.80±0.19	0.0 - 1.8	
Gran# (× 10 ⁹ /L)	8.93±0.74	8.47±1.17	4.0 - 12.6	
Lymph% (%)	24.43±2.32	21.30±8.42	12.0 - 30.0	
Mon% (%)	7.47±1.86	7.27±0.19	2.0 - 9.0	
Gran% (%)	68.80±8.12	73.12±5.95	60.0 - 83.0	
RBC (× 10 ¹² /L)	6.76±0.74	6.24±0.72	5.50 - 8.50	
HGB (%)	15.90±1.71	13.30±0.86	11.0 - 19.0	
HCT (%)	45.27±3.67	44.03±2.23	39.0 - 56.0	
MCV (fL)	69.67±2.90	70.33±4.63	62.0 - 72.0	
MCH (pg)	24.83±0.78	22.83±2.23	25.0 - 25.0	
MCHC (g/dL)	33.53±2.42	32.83±2.57	30.0 - 38.0	
RDW (%)	12.93±0.22	12.47±0.12	11.0 - 15.5	
PLT (× 10 ⁹ /L)	257.33±107.61	600.67±328.99	117 - 400	
MPV (fL)	8.13±0.60	7.10±0.17	7.0 - 12.0	
PDW	14.93±1.76	14.53±2.02	-	
PCT (%)	0.31±0.19	0.55±0.05	-	
Eos (%)	6.40±5.76	11.33±7.00	-	

<Day 28 CBC 검사 결과>

- Serum Biochemistry 결과

Table 3. Serum Biochemistry profiles of pre-test

	Day 0	NC	T1
BUN-PS (mg/dl)	19.90±6.80	13.03±4.54	
CRE-PS (mg/dl)	1.48±0.29	1.34±0.66	
GGT-PS (u/l)	34.00±13.89	33.33±8.14	
GGT-PS (u/l)	3.33±2.08	1.67±1.15	
GPT-PS (u/l)	54.00±16.52	54.67±30.99	
ALP-PS (u/l)	65.67±15.82	168.00±75.45	

<Day 0 serum Biochemistry 검사 결과>

Table 4. Serum Biochemistry profiles of post-test

	Day 28	NC	T1
BUN-PS (mg/dl)	16.40±3.86	14.37±4.37	
CRE-PS (mg/dl)	1.38±0.46	1.27±0.70	
GGT-PS (u/l)	38.67±5.03	31.00±4.58	
GGT-PS (u/l)	4.33±0.58	4.33±1.15	
GPT-PS (u/l)	48.67±14.57	97.33±69.06	
ALP-PS (u/l)	96.33±15.31	193.33±70.47	

<Day 28 serum Biochemistry 검사 결과>

- 결론 : 제공받은 LAPOG+ 사료의 투여 전-후 CBC와 Serum Biochemistry Profile에 특이점이나 주목할 만한 변화는 없었으므로, LAPOG+ 사료의 투여에 의한 특성은 없는 것으로 판단됨.

주 의

1. 이 보고서는 농림축산식품부에서 시행한 유용농생명자원 산업화기술개발 사업의 연구보고서입니다.
2. 이 보고서 내용을 발표하는 때에는 반드시 농림축산식품부에서 시행한 유용농생명 자원산업화 기술개발 사업의 연구결과임을 밝혀야 합니다.
3. 국가과학기술 기밀 유지에 필요한 내용은 대외적으로 발표 또는 공개하여서는 안 됩니다.