

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

기술사업화지원사업 2019년도 최종보고서

11-1543000-003201-01

가수분해 곤충단백질을 이용한 반려동물 사료 및 기능성 첨가제 개발 최종보고서

2020. 07. 17.

주관연구기관 / 대한사료(주)

참여연구기관 / (재)전라북도생물산업진흥원

참여연구기관 / (재)베리&바이오식품연구소

농림축산식품부

농림식품기술기획평가원

제 출 문

농림축산식품부 장관 귀하

본 보고서를 “가수분해 곤충단백질을 이용한 반려동물 사료 및 기능성 첨가제 개발”
(개발기간 : 2017.5.30 ~ 2019.12.31)과제의 최종보고서로 제출합니다.

2020. 7. 17.

주관연구기관명 : 대한사료(주) (대표자) 이 상 민



참여기관명 : (재)전라북도생물산업진흥원 (대표자) 김 동 수



참여기관명 : (재)베리&바이오식품연구소 (대표자) 조 성 욱



주관연구책임자 : 대한사료(주) 조 경 훈

참여기관책임자 : (재)전라북도생물산업진흥원 정 이 형

참여기관책임자 : (재)베리&바이오식품연구소 권 규 택

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

<보고서 요약서>

과제고유번호	817025-3	해당 단계 연구 기간	2017.5.30.~2019.12.31	단 계 구 분	(3차년)/ (총3차년)
연구 사업 명	중 사업 명	기술사업화 지원사업			
	세부 사업명				
연구 과제 명	대 과 제 명	가수분해 곤충단백질을 이용한 반려동물 사료 및 기능성 첨가제 개발			
	세부 과제명				
연구 책임자	조 경 훈	해당단계 참여연구원 수	총: 21명 내부: 19명 외부: 2명	해당단계 연구개발비	정부: 300,000천원 민간: 200,000천원 계: 500,000천원
		총 연구기간 참여연구원 수	총: 27명 내부: 24명 외부: 3명	총 연구개발비	정부: 800,000천원 민간: 534,000천원 계: 1,334,000천원
연구기관명 및 소속부서명	대한사료(주) 중앙연구소			참여기업명 (재)전라북도생물산업진흥원 (재)베리&바이오식품연구소	
국제공동연구	상대국명:해당 없음			상대국 연구기관명:해당 없음	
위탁연구	연구기관명:해당 없음			연구책임자:해당 없음	

※ 국내외의 기술개발 현황은 연구개발계획서에 기재한 내용으로 같음

연구개발성과의 보안등급 및 사유	공개
----------------------	----

9대 성과 등록·기탁번호

구분	논문	특허	보고서 원문	연구시설· 장비	기술요약 정보	소프트 웨어	화합물	생명자원		신품종	
								생명정 보	생물자 원	정보	실물
등록·기탁 번호	4	3									

- 주) 논문 및 특허는 실적현황은 본문 147-148 페이지에 정리되어 있음

국가과학기술종합정보시스템에 등록된 연구시설·장비 현황

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

요약	보고서 면수
<ul style="list-style-type: none"> ○ 갈색거저리 유충 원료 사료화를 위한 영양학적 기준 확립 <ul style="list-style-type: none"> ● 갈색거저리 유충 원료사료 가치(영양소 함량) 및 품질 평가 ● 갈색거저리 유충 분말 및 가수분해물 회장 및 In vitro 소화율 ● 갈색거저리 유충 분말 및 가수분해물 알러지 반응 연구 ● 갈색거저리 유충 가수분해물과 이유자돈의 성장률 관계 ● 갈색거저리 유충油에 대한 비글견의 기호성 연구 ● 갈색거저리 유충 분말의 어분 대체효과 측정 ● 갈색거저리 유충 분말, 가수분해물 및 발효물에 대한 전분소화율 	5/본문 28
<ul style="list-style-type: none"> ○ 갈색거저리 유충 전용사료 개발과 대량사육체계 적용 <ul style="list-style-type: none"> ● 갈색거저리 유충 대량사육을 위한 대체원료의 탐색 ● 갈색거저리 유충 사육을 위한 사료 개발(Pilot 수준) ● 갈색거저리 전용사료를 이용한 농가 적용 현장 실증 ● 갈색거저리 유충 전용사료 및 수분사료 적정성 평가 ● 갈색거저리 유충 사육 Pilot 건설 및 사육체계 확립 ● 갈색거저리 유충 사육자동화 설비 구축을 위한 기반 확보 	21,23/본문 56, 68
<ul style="list-style-type: none"> ○ 갈색거저리 유충활용 반려동물 food 시제품화 및 기능성 물질 개발 <ul style="list-style-type: none"> ● 갈색거저리 유충 활용 반려동물 food 배합비 개발 ● 갈색거저리 유충 유래 기능성물질(원료) 함유 배합비 개발 ● 갈색거저리 유충 함유 반려동물 Food 시제품 소비자 반응조사 	22/본문 60
<ul style="list-style-type: none"> ○ 곤충(갈색거저리 유충)산업 사업화를 위한 비즈니스 모델 제안 <ul style="list-style-type: none"> ● 기술사업화 장애요인 분석 및 해결방안 연구 ● Value Chain 구축안 	23/본문 66
<ul style="list-style-type: none"> ○ 갈색거저리 유충 기능성 소재화 공정기술 개발 <ul style="list-style-type: none"> ● 갈색거저리 가수분해(효소처리) 공정개발 ● 갈색거저리 가수분해물 품질특성 분석 	31/본문 74
<ul style="list-style-type: none"> ○ 갈색거저리 유충 유래 기능성 소재 가공기술 개발 <ul style="list-style-type: none"> ● 갈색거저리 가수분해를 위한 발효공정 개발 ● 갈색거저리 가수분해물(발효공정) 품질특성 분석 	37/본문 82
<ul style="list-style-type: none"> ○ 갈색거저리 유충과 허물에 대한 기능적 특성 조사 <ul style="list-style-type: none"> ● 갈색거저리 유충과 허물을 활용한 항균효과 탐색 ● BALB/c 마우스를 활용한 갈색거저리 유충 및 허물의 prebiotic 효능확인 ● 마우스 장내 미생물 확인-총균 및 유산균 증감 ● 맹장에서 의 차세대염기서열분석(NGS) 	43/본문 101
<ul style="list-style-type: none"> ○ 갈색거저리 유충 가공기술에 따른 효능 평가 <ul style="list-style-type: none"> ● 가공기술에 따른 prebiotic 효능 평가 ● BALB/c 마우스를 활용한 갈색거저리 유충 가공기술에 따른 분해산물의 항알러지 효능 확인 ● BALB/c 마우스 혈액 내 chemokine과 cytokine 그리고 interleukin 분비 확인 ● BALB/c 마우스 장 내 미생물과 연계한 항알러지 영향 확인 ● 체중변화 등을 포함한 동물(쥐) 사양실험 	46/본문 119

〈요약문〉

<p>연구의 목적 및 내용</p>	<p>1. 최종목표</p> <p>가. 곤충산업 비즈니스 모델 개발 및 기술사업화</p> <ol style="list-style-type: none"> 1) 곤충자원의 사료원료 소재로서의 원료가치 및 품질평가 2) 곤충자원 활용 반려동물사료 생산시스템 구축 (생산경제성 확보) 3) 곤충산업 비즈니스 모델개발 <p>나. 곤충자원의 소재화 및 고도화 기술개발</p> <ol style="list-style-type: none"> 1) 갈색거저리 유충 전용 사료 개발 2) 갈색거저리 유충 원료사료화 가공기술 개발 3) 갈색거저리 유충 유래 기능성 소재 가공기술 개발 <p>다. 곤충자원 소재의 효능 평가</p> <ol style="list-style-type: none"> 1) 갈색거저리 유충의 원료사료적 효능 평가 2) 갈색거저리 유충 가수분해 가공기술에 따른 효능 평가 3) 갈색거저리 유충 발효분해 가공기술에 따른 효능 평가 <p>2. 연구내용</p> <p>가. 주관기관: 대한사료(주)</p> <ol style="list-style-type: none"> 1) 갈색거저리 유충에 대한 단백질 원료로서의 사료가치 및 품질 평가 <ul style="list-style-type: none"> ○ 갈색거저리 유충 주령 별 일반 영양성분 및 아미노산 함량 분석 ○ 갈색거저리 유충 지방산 조성 분석 및 에너지 함량 비교분석 ○ 갈색거저리 유충 분말 및 가수분해물에 대한 In vitro 및 회장소화율 측정 ○ 갈색거저리 유충 분말 및 가수분해물에 대한 알리지 반응 연구 ○ 갈색거저리 유충油에 대한 비글견의 기호성 연구 ○ 갈색거저리 유충 분말의 자돈에서의 어분 대체효과 연구 ○ 갈색거저리 유충 분말, 가수분해물 및 발효물에 대한 전분소화율 측정 ○ 갈색거저리 유충 가수분해물 급여 시 이유자돈의 성장률 측정 및 비교 2) 갈색거저리 유충 전용 사료 개발과 대량 사육 체계 확립 및 적용 <ul style="list-style-type: none"> ○ 갈색거저리 유충 전용 사료 개발 및 수분사료 적정성 평가 ○ 갈색거저리 유충 사육 Pilot 구축을 통한 사육체계 확립 ○ 갈색거저리 유충 사육 자동화 설비 구축을 위한 기반 확보 3) 갈색거저리 유충 활용 반려동물 사료의 시제품화 및 기능성 사료 개발 <ul style="list-style-type: none"> ○ 갈색거저리 유충 함유 반려동물 food 배합비 개발 ○ 갈색거저리 유충 유래 기능성 물질(원료) 활용한 pet food 개발 ○ 갈색거저리 유충 유래 물질 함유 반려동물 food 시제품 소비자 반응 설문조사 4) 곤충 (갈색거저리 유충) 산업 활성화를 위한 비즈니스 모델 제안 <ul style="list-style-type: none"> ○ 기술사업화 장애요인 분석 및 해결방안 연구 ○ Value Chain 제안 <p>나. 참여기관 I : (재)전북생물산업진흥원</p> <ol style="list-style-type: none"> 1) 갈색거저리 유충전용 사료의 개발 <ul style="list-style-type: none"> ○ 갈색거저리 유충 대량사육을 위한 대체 원료의 탐색
----------------------------	--

- 갈색거저리 유충 사육을 위한 사료 개발(Pilot 수준)
 - 갈색거저리 전용 사료를 이용한 농가 적용 현장 실증
 - 2) 갈색거저리 유충 기능성 소재화 공정기술 개발
 - 갈색거저리 가수분해(효소처리) 공정개발
 - 갈색거저리 가수분해물 품질특성 분석
 - 3) 갈색거저리 유충 유래 기능성 소재 가공기술 개발
 - 갈색거저리 유충 가수분해를 위한 발효공정 개발
 - 갈색거저리 유충 가수분해(발효공정)물 품질특성 분석
- 다. 참여기관 II : (재) 베리&바이오식품연구소
- 1) 갈색거저리 유충과 허물에 대한 기능적 특성 평가
 - 갈색거저리 유충과 허물에 대한 항균효과 탐색
 - 체중변화 등을 포함한 동물(쥐) 사양실험
 - BALB/c 마우스 활용 갈색거저리 유충과 허물의 prebiotic 효능 확인
 - 맹장에서의 차세대 염기서열 분석(NGS)
 - 2) 갈색거저리 유충 가공기술에 따른 효능 평가
 - 체중변화 등을 포함한 동물(쥐) 사양실험
 - 가공분해물에 대한 prebiotic 효능평가
 - BALB/c 마우스를 활용한 갈색거저리 유충 가공기술에 따른 항알러지 효능 확인
 - RBL-2H3 세포 활용 갈색거저리 유충 가공기술에 따른 항알러지 효능
 - BALB/c 마우스 혈액 내 chemokine과 cytokine 그리고 interleukin 분비 확인
 - BALB/c 마우스 장 내 미생물과 연계한 항알러지 영향 확인

연구개발성과

1. 주관기관: 대한사료(주)

가. 갈색거저리 유충에 대한 단백질 원료로서의 사료가치 평가

- 갈색거저리 유충 일반 영양성분 및 아미노산 함량 분석
- (1) 갈색거저리 유충 주령 별 일반성분 (단위 %)

[갈색거저리 유충 주령 별 일반성분 (단위 %) 비교]

구분	수분	조단백질	조지방	조섬유	조회분	칼슘	총인
5주	61.8	20.6	11.9	4.9	1.7	0.05	0.32
10주	61.0	21.3	11.0	7.4	1.5	0.05	0.34
15주	63.7	21.1	10.3	5.2	1.9	0.05	0.14
건물기준							
5주		53.9	31.0	12.9	4.4	0.13	0.84
10주		54.6	28.3	18.8	3.9	0.13	0.87
15주		58.3	28.3	14.4	5.3	0.14	0.39

[대한사료(주) 중앙연구소 분석실]

- 갈색거저리 유충의 주령이 증가할수록 단백질 함량은 증가하며 지방함량은 감소하는 경향을 보임
- 칼슘과 인의 비율 상대적으로 다른 동물성 단백질 원료에 비해 낮아 칼슘의 추가 공급이 필요함
- 조섬유 함량은 건물기준 약 13~19% 범위로 분석되는데, 유충의 외피에 포함 되어 있는 키틴함량이 포함되어 있을 것으로 판단됨

(2) 갈색거저리 유충의 일반성분 조성(%) 비교

[갈색거저리 유충과 주요 곤충 및 원료들의 일반성분 조성(%) 비교]

구분	밀웜유 충	밀웜 박	귀뚜 라미	동애등애 유충	전지 대두	대두박	계육분
수분	5.9	7.2	4.1	4.5	7.1	12.8	5.5
CP	47.8	64.3	61.0	32.9	37.5	45.5	64.5
C.Fat	34.6	13.0	15.9	35.0	18.9	1.2	13.3
Ca	0.05	0.05	0.20	4.49	0.28	0.31	3.3
TP	0.59	0.69	0.82	0.64	0.55	0.55	2.1
Ca/TP	0.09	0.07	0.24	7.02	0.51	0.56	1.57

[대한사료(주) 중앙연구소 분석실]

(3) 갈색거저리 유충 아미노산함량(g/100g CP)

[갈색거저리 유충 아미노산함량(g/100g CP)]

구분	밀웜 유충	밀웜박	귀뚜 라미	동애등애 유충 ¹⁾	대두박	계육분	어분
Met	1.5	1.3	1.4	2.1	1.4	2.1	2.7
Cys	0.8	0.9	0.8	0.1	1.5	0.9	0.9
Lys	5.4	5.5	5.4	6.6	6.2	5.9	7.5
Thr	4.0	4.1	3.6	3.7	3.9	3.9	4.1
Tryp	0.6	n/s	0.6	0.5	1.3	0.8	1.1
Val	6.0	5.3	5.1	8.2	4.8	4.5	5.0

¹⁾ Makkar (2014), 그외 대한사료(주) 중앙연구소 분석실

○ 갈색거저리 유충 지방산 조성 분석 및 에너지 함량 비교분석

(1) 갈색거저리 유충 지방산 조성(%/총지방산 함량)

[갈색거저리 유충 지방산 조성(%/총지방산 함량)]

구분	밀웜	우지	계지	대두유	돈지	동애등애
C12:1	0.43	0.15	0.11			47.31
C14:1	4.08	2.75	1.16		2.06	7.23
C16:0	16.54	26.35	24.96	11.31	25.47	13.41
C16:1	2.27	3.66	7.11		2.62	2.82
C18:0	2.30	13.6	5.59	4.63	12.13	2.71
C18:1	44.83	40.61	43.73	23.17	42.33	13.96
C18:2	26.58	7.83	14.07	53.22	12.48	6.60

[대한사료(주) 중앙연구소 분석실]

(2) Pet food 관련 갈색거저리 유충 대사에너지 함량 평가 및 비교

- 결론 : 탈지한 갈색거저리 유충의 pet food 에서의 대사에너지(ME, metabolizable energy)는 약 4,620kcal/kg로 전지대두의 3,611보다 959kcal/kg, (+)26.2% 높으며, 탈지를 한 분말박의 경우 3,352kcal/kg 으로 계육분 3,562kcal/kg 보다는 (-)210kcal/kg, 육분 3,171kcal/kg 보다는 (+)181kcal/kg 로 양질의 에너지 공급원이 될 수 있음
- Pet food 의 경우 소, 돼지, 닭 및 양어와 같이 경제성을 고려해야 하는 동물보다는 원료의 에너지함량에 대하여 덜 민감하지만 원료의 에너지 함량을 파악해야만 과도한 에너지 공급에 의한 비만 등의 문제점 발생을 사전에 예방할 수 있으므로 원료의 에너지함량은

이런 측면에서 중요한 요소가 됨

(3) Aqua feed 관련 갈색거저리 유충 가소화 및 대사에너지 함량 평가 및 비교

- 결론 : 양어사료에 사용하기 위해서 계산한 양어용 에너지의 경우 탈지하지 않은 갈색거저리분말의 양어용 가소화에너지(DE, digestible energy) 함량은 5,184kcal/kg 로 전지대두 4,063kcal/kg 대비 (+)1,721kcal/kg, 그리고 대사에너지는 4,625kcal/kg 로 전지대두 대비 (+)983kcal/kg 높아 각각 42.4% 및 27.0% 높은 것으로 계산됨
- 그리고 탈지한 밀웜박의 경우 가소화에너지함량과 대사에너지 함량은 각각 4,431kcal/kg 와 3,638kcal/kg 로 백색어분의 가소화 및 대사 에너지인 4,018kcal/kg, 3,236kcal/kg 와 비교하여 (+)413kcal/kg, (+)402kcal/kg 로 각각 10.3% 및 12.4% 높은 것으로 계산되었으며, 갈색어분의 가소화에너지 4,242kcal/kg, 그리고 대사에너지 3,420kcal/kg 와 비교하여 각각 (+)189kcal/kg, (+)218kcal/kg 로 밀웜박의 가소화에너지와 대사에너지가 각각 (+)4.5% 및 (+)6.4% 높은 것으로 계산됨
- 이는 그 동안의 사전 연구에서 진행된 양어성장 실험에서 갈색거저리 유충을 급여한 어류의 성장이 높았던 결과를 설명할 수 있는 근거가 될 수 있음

나. 갈색거저리 유충에 대한 단백질 원료로서의 품질 평가

○ 갈색거저리 유충 분말, 가수분해물에 대한 *In vitro* 소화율 측정

(1) 갈색거저리 유충분말 및 주요 단백질 사료의 *In vitro* 소화율

[갈색거저리 유충분말 및 주요 단백질 사료의 *In vitro* 소화율¹⁾]

구분	원료명	원산지	분석건수	Book 자료(%) ²⁾	소화율(%)	SE	CV
식물성	DDGS	미국	38	79	64.3	2.10	3.26
	대두박	인도	8	90	91.0	2.01	2.22
	대두박	남미	30	90	92.8	1.22	1.32
	옥수수	남미	14	91	86.4	1.59	1.84
	옥수수	미국	24	91	85.8	1.23	1.44
동물성	어분55	국산	6	87	71.8	1.87	2.60
	어분68	칠레	6	87	73.0	2.77	3.80
	육분60	국산	6	81	75.0	1.81	2.42
	계육분	국산	6	-	73.6	2.40	3.26
	밀웜	국산	4	-	83.3	0.50	0.60
	밀웜박	유압식	4	-	81.7	0.32	0.39
	밀웜박	압착식	4	-	83.9	0.23	0.27

¹⁾ 분석방법: Asian-Aust. J Anim Sci. 2011;Vol.24(7):1007-1010 [대한사료(주) 중앙연구소 분석실]

²⁾ Book 자료는 CVB feed table 2011인용함

- 결론 : 갈색거저리(밀웜) 유충의 Book value는 제시된 것이 없으며, 어분 및 계육분과 비교시 소화율이 높아 82~84% 범위임

(2) 갈색거저리 유충 분말 및 주요 동물성 단백질사료의 펩신소화율

[갈색거저리 유충 분말 및 주요 동물성 단백질사료의 펩신소화율]

구분	밀웜	어분	육분	계육분
펩신소화율(%) ¹⁾	70.3	60~85	53~85	47~56

¹⁾ 대한사료(주) 중앙연구소 0.0002% 펩신용액 소화율 분석데이터

- 주요 동물성단백질의 펩신소화율과 비교하여 갈색거저리(밀웜) 유충 단백질의 품질이 상대적으로 양호함을 알 수 있음
- 일반적인 분석법에는 0.2%의 펩신용액을 사용하도록 되어 있으므로 상기 분석결과는 1,000배 희석된 펩신소화율 결과임에도 갈색거저리 유충은 높은 소화율을 보임
- 다른 주요 단백질 원료와 비교하여 펩신소화율이 양호한 원인은 다른 동물성 단백질은 렌더링 과정 중에 고온에 노출되어 단백질의 일부 구조가 변성되기 때문으로 판단됨

(3) 갈색거저리 유충박(밀웜박), 갈색거저리 유충 가수분해물 및 동물성 가공단백질사료의 질소용해도(%)와 *In vitro* 소화율(%)

[질소용해도(%)¹⁾와 *In vitro* 소화율(%)²⁾]

구분	밀웜박	밀웜 가수분해물	가수분해 계육분	발효 Fish soluble
2N HCl ¹⁾	16.23	85.71	68.82	41.88
<i>In vitro</i> ²⁾	82.80 ³⁾	98.96	93.77	82.78

¹⁾ Chobert et al., 1996

²⁾ 분석방법: Asian-Aust. J Anim Sci. 2011;Vol.24(7):1007-1010

³⁾ (1)번 분석결과의 평균값임

- 갈색거저리 유충박의 2N HCl용해도는 상당히 낮게 측정되었는데 40° C 온수에서의 용해도가 13.03%(대한사료(주) 분석결과)인 것을 고려하면 염산에서의 질소 용해도는 상당히 낮음을 알 수 있음. 그러나 *In vitro*소화율이 82.80%로 분석되어 체내에서의 이용성에는 문제없음
- 갈색거저리 유충가수분해물의 질소 용해도는 상당히 높아 분자량이 작은 펩타이드로 가수분해가 잘 일어났음을 알 수 있으며 다른 두 종류의 가공동물성 단백질보다도 용해도가 우수함을 알 수 있음

○ 갈색거저리 유충 분말 및 가수분해물, 발효물에 대한 알러지 반응 연구

(1) 갈색거저리 유충 분말 알러지 반응연구 결과

- 비글견 자견 및 성견 10두를 대상으로 갈색거저리 유충분말의 알러지 유발 현상에 대한 조사 실시
- 결과 요약 : 혈구분석결과 갈색거저리 급여 전후 혈구숫자의 유의미한 변화는 없었으며, 특히 알러지 반응 시 Basophil이 감소하고 Eosinophil이 증가하는데, 이와 관련된 유의적인 변화가 없었음. 일부 실험견에서 Serum 총 IgE의 증가 (23~32%)가 관찰되었으나 심각한 임상적인 증상은 관찰되지 않았고, Serum Histamine의 양은 변함이 없거나 오히려 감소하였음

- ① 혈구분석결과 갈색거저리 급여 전후 혈구숫자의 유의미한 변화 ($p < 0.05$)는 없었음. 특히 알러지 반응 시 Basophil이 감소하고 Eosinophil이 증가하는데, 이와 관련된 유의적인 변화가 없었음
- ② 특징적으로 10마리 실험견 중 9마리가 lymphocyte수치가 정상수치보다 증가되어 있는데, 현재 세균성 상기도 감염이나 바이러스 감염 상태임을 보여줌
- ③ Neutrophil은 immature한 형태인 banded neutrophil과 mature한 형태인 segmented neutrophil로 나누어지는데 10마리의 실험견 중 7마리에서 세균 및 진균에 대한 체내 방어능력을 나타내는 segmented neutrophil이 정상수치보다 낮은 것으로 보아 감염에 취약한 상태임을 보여줌. 그러나 정상범위에서 크게 벗어나지 않아 임상적으로는 문제없는 수치 범위임
- ④ 실험견 1두에서 급성 알러지반응과 관계있는 Eosinophil이 정상범위보다 높았으나 대조군 데이터가 없어(응집반응으로 실험불가) 비교가 어려움. 그러나 표2에서 살펴본 IgE와 Histamine수가 대조군과 실험군에서 별 차이가 없었고, 호흡곤란, 설사, 구토, 쇼크, 발작, 코마, 잇몸이 파랗게 변함, 사지가 떨림, 심장박동 증가, 맥박이 약해짐 같은 임상적인 증상이 없었던 것으로 보아 다른 요인(기생충 감염)으로 인한 Eosinophil의 증가로 보임
- ⑤ 급성알러지 반응과 관련 있는 Serum 총 IgE와 Histamine의 양을 측정한 결과, Serum 총 IgE의 경우 30~200ug/ml 범위로 정상적인 개의 Serum 총 IgE의 평균인 182.57과 유사했음 (J. S. Ninmmow ILKI, 1990), 그리고 전체적으로 Serum 총 IgE가 유의적으로 증가하였고($p < 0.05$) 1번, 7번견의 경우 대조군에 비해 갈색거저리를 먹인 실험군에서 Serum 총 IgE이 23~32% 정도 증가하였으나, 호흡곤란, 설사, 구토, 쇼크, 발작, 코마, 잇몸이 파랗게 변함, 사지가 떨림, 심장박동 증가, 맥박이 약해짐 같은 심각한 임상적인 증상이 없었고 Serum Histamine의 증가를 동반하지 않음
- ⑥ 실험견 10마리 모두 갈색거저리 급이 후 Serum Histamine의 양은 변함이 없거나 오히려 감소하였음.

(2) 건조갈색거저리 유충 분말 알러지 감각테스트 및 가수분해 갈색거저리 유충의 효능

- 비글견 자견 및 성견 20두를 대상으로 갈색거저리 유충분말 및 가수분해물의 알러지 유발 현상에 대한 조사 실시
- 결과 요약 : 일반 건조갈색거저리 유충을 급이한 1차 테스트 결과, 전체적으로 serum IgE가 유의적으로 증가하지 않았고 육안검사에서도 알러지 반응을 보인개체 없었음. 몇 마리가 유의적으로 Serum IgE가 증가하는 것을 관찰했고, 알러지에 과민화된 상태, 즉 광의의 감각(sensitization)과 유사한 상태가 이루어진 것으로 판단함. 1차 테스트 결과 serum IgE가 증가한 10마리를 선발하여 가수분해갈색거저리 유충의 효능을 테스트하기 위해 2차 테스트를 진행함. 일부 개체(2번견)의 경우, 38%가 증가한 1차 테스트에 비해 IgE가 약간만(11%) 증가하였고, 10마리의 실험대상 중 5마리에서는 오히려

IgE가 감소하였음. 2차 테스트에 선발된 10마리의 IgE의 증가율이 1차 테스트의 IgE의 증가율에 비해 유의적으로 줄어들었음을 보여줌 ($p=0.033$). 결론적으로, 일반 건조갈색거저리 유충을 급이할 경우에 급성 식이성 알러지가 발생하지 않아, 가수분해 갈색거저리 유충의 식이성 알러지에 대한 효능을 테스트하지는 못했지만, 가수분해 갈색거저리 유충을 급이할 경우, 알러지에 과민화된 상태, 즉 광의의 감작(sensitization)이 효과적으로 줄어드는 것을 확인하였음

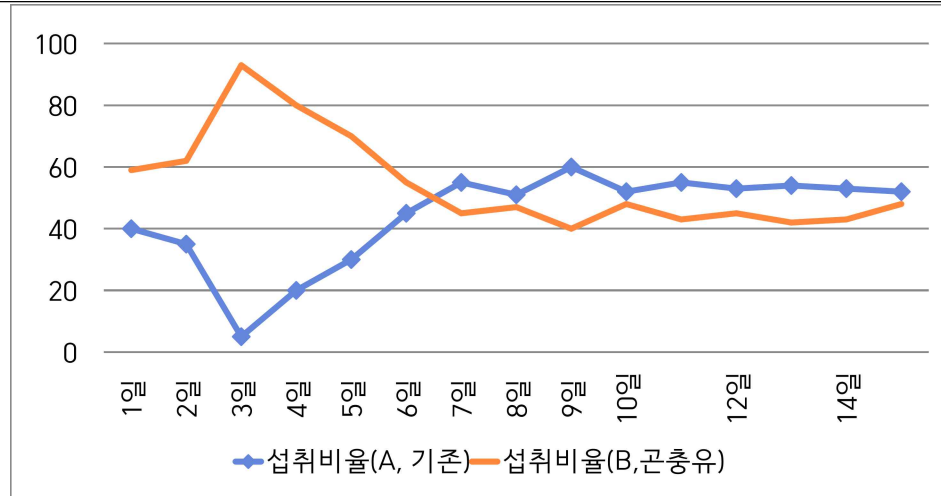
① 1차 알러지 감작테스트 혈구숫자 변화를 보면, 분석결과 갈색거저리 유충 급여 전후 혈구숫자의 유의미한 변화는 없었음. 특히 알러지 반응시 basophil이 감소하고 eosinophil이 증가하는데, 이와 관련된 유의적인 변화가 없었음. 특징적으로 20마리 실험견 중 (응집반응으로 분석이 어려운 샘플을 제외하고) 9마리의 lymphocyte수치가 정상수치보다 증가되어 있는데, 현재 세균성 상기도 감염이나 바이러스 감염상태일 수 있음을 보여줌. Neutrophil은 immature한 형태인 banded neutrophil과 mature한 형태인segmented neutrophil로 나누어지는데 10마리의 실험견 중 7마리에서 세균 및 진균에 대한 체내 방어능력을 나타내는 segmented neutrophil이 정상수치보다 낮은 것으로 보아 감염에 취약한 상태임을 보여줌. 그러나 정상범위에서 크게 벗어나지 않아 임상적으로는 문제없는 수치 범위임. 일부 실험견의 경우 급성 알러지반응과 관계있는 Eosinophil이 정상범위보다 높았으나 대조군 데이터도 역시 정상범위 이상이었음. 그러나 표2에서 살펴본 IgE와 histamine수가 대조군과 실험군에서 오히려 줄어들거나 별차이가 없었고, 호흡곤란, 설사, 구토, 쇼크, 발작, 코마, 잇몸이 파랗게 변함, 사지가 떨림, 심장박동 증가, 맥박이 약해짐 같은 임상적인 증상이 없었던 것으로 보아 다른 요인(기생충 감염)으로 인한 eosinophil의 증가로 보임

② 1차 알러지 감작테스트 Serum 총 IgE, Histamine 변화를 보면, 개, 고양이에서 식이성 알러지 반응을 진단하는 현재까지 알려진 가장 좋은 방법은 알러젠의 제거식이(elimination diet)와 재급이를 통한 방법임. 그러나 시간이 오래 걸리고 편의성이 떨어짐. 그리고 lymphocyte proliferation test와 patch test가 그 뒤를 이음. Lymphocyte proliferation test는 정확성이 높지만, 어려운 분석법으로 연구목적에 적합하고 (Ishida *et al.* 2004), patch test도 정확성(accuracy) 및 음성예측도(negative predictibility)가 높은 편이어서 제거식의 대상을 찾는 데 적합함 (Bethlehem *et al.* 2012; Johanson *et al.* 2017). 개에서 식이성 알러지를 진단하기 위해 Serum IgE를 분석하는 방법은 58~87%의 정확도만을 보여주었음 (Jeffers *et al.* 1991; Ishida *et al.* 2004; Ishida *et al.* 2012). 건조갈색거저리 유충을 급이한 예비실험(preliminary feeding test)에서 일반적으로 급성알러지 반응과 관련있는 serum 총 IgE와 histamine의 양을 측정하였고, 실험견들이 모두 육안검사에서 건조갈색거저리 유충에 대한 알러지반응을 보이지는 않았음. 즉, 건조갈색거저리 유충이 직접적으로 알러지반응을 유발하지는 않았음. 그러나

일부 실험견에서 IgE가 유의적으로 증가하는 것으로 보아 감각이 일어나는 것으로 판단하고, 추후 serum 총 IgE 분석을 통해 감각에 대한 가수분해 갈색거저리 유충의 효능을 검증하기로 하고 실험을 설계하고 1,2차 테스트 진행함. 1차 알러지-감작 테스트 결과 Serum IgE의 경우 12~190ug/ml 범위로 다양한 견종을 분석한 선행연구의 Serum IgE의 평균인 182.57(range 25~410 ug/ml)과 유사했으나 (Nimmo Wilkie et. al, 1990), 정상적인 비글견의 Serum IgE 범위인 15~88ug/ml (In studies at Life Diagnostics) 보다는 다소 높은 개체가 몇 마리 있었음. 전체적으로 Serum IgE가 유의적으로 증가하지 않았음(p>0.05) 2번견의 경우 대조군에 비해 갈색거저리를 먹인 실험군에서 serum IgE이 38% 정도 증가하였으나, 호흡곤란, 설사, 구토, 쇼크, 발작, 코마, 잇몸이 파랗게 변함, 사지가 떨림, 심장박동 증가, 맥박이 약해짐 같은 임상적인 증상이 없었고 serum histamine의 증가를 동반하지 않았음. 그러나 유의적으로 serum 총 IgE가 증가하여 알러지에 과민화된 상태, 즉 광의의 감작 (sensitization)과 유사한 상태가 이루어진 것으로 판단함. 실험견 20마리 모두 건조갈색거저리 유충 급이 후 Serum Histamine의 양은 큰 차이가 없었음. 일반 건조갈색거저리 유충을 급이하는 1차 테스트 후 serum IgE양이 증가한 10마리를 선발하여 가수분해갈색거저리 유충을 급이하는 2차 테스트를 진행함

- ③ 2차 알러지 감작테스트 혈구 숫자 변화를 보면, 1차 테스트 결과와 비교하여 유의적인 차이 없었음
- ④ 2차 알러지 감작테스트 Serum 총 IgE, Histamine 변화를 보면, 1차 테스트 결과와 달리 serum IgE수치가 줄어든 실험견 5마리가 나타남. Serum IgE의 경우 24~192ug/ml 범위로 1차 테스트 및 다양한 견종을 분석한 선행연구의 serum IgE의 평균인 182.57(range 25~410 ug/ml)과 유사했으나 (Nimmo Wilkie et. al, 1990), 정상적인 비글견의 serum IgE 범위인 15~88ug/ml (In studies at Life Diagnostics) 보다는 다소 높은 개체가 몇 마리 있었음. 전체적으로 serum IgE의 유의적인 변화를 보이지는 않았지만, 2번견의 경우 38%가 증가한 1차 테스트에 비해 IgE가 약간만(11%) 증가하였고, 10마리의 실험대상 중 5마리에서는 오히려 IgE가 감소하였음. 1차 테스트와 마찬가지로 2차 테스트에 선발된 10마리 개체 모두 호흡곤란, 설사, 구토, 쇼크, 발작, 코마, 잇몸이 파랗게 변함, 사지가 떨림, 심장박동 증가, 맥박이 약해짐 같은 알러지의 임상적인 증상이 없었고, Serum Histamine의 증가를 동반하지 않았음. 주목할 점은 2차 테스트에 선발된 10마리의 IgE의 증가율이 1차 테스트의 IgE의 증가율에 비해 유의적으로 줄어들었음 (p=0.033). 즉, 가수분해갈색거저리 유충을 급이할 경우, 알러지에 과민화된 상태, 즉 광의의 감작 (sensitization)이 효과적으로 줄어드는 것을 확인함.

○ 갈색거저리 유충油에 대한 비글견의 기호성 연구



[갈색거저리 유충油를 함유한 사료 섭취량 변화 곡선]

- 곤충유를 사용한 시험사료(B)의 경우 시험기간 내 하루평균 125g, 기존사료(A)의 경우 하루평균 111g를 섭취했고, 평균섭취량 236g 중 53%를 시험사료(B)를 섭취함. 그러나 기호성테스트 초반에만 선호도가 급격히 높고 이내 평준화한 것으로 보아 neophilia(novelty effect, 새로운것 선호)로 보임. 실제로 기호성이 더 좋은지는 장기테스트가 필요함.
- Neophilia는 neophilia(새로운것 선호), neophobia(새로운것 혐오), aversion(혐오)와 같은 개, 고양이의 섭취행동 중 하나로 새로운 것을 선호하는 것을 의미함
- Neophilia의 강도는 새로운 사료자체의 기호성, 기존사료의 섭취기간에 따라 달라짐. 즉, 새로운 사료의 기호성이 좋고, 기존사료를 먹은 기간이 긴 경우 neophilia현상이 오래 지속됨 (Mugford, 1997 ; Ferrel, 1984).
- 그러나 위의 경우 neophilia현상이 3~4일정도 밖에 지속되지 않은 것으로 보아 곤충유가 들어간 새로운 사료의 기호성이 기존사료에 비해 그리 높지 않은 것으로 보임. 그리고, neophilia는 일시적인 섭취율의 동반을 가져오는 데, 곤충유 사료를 급이한 후, 섭취량이 평균 섭취량보다 많아진 것으로 보아, neophilia의 영향이 맞는 것으로 보임

○ 갈색거저리 유충 분말의 자돈에서의 어분 대체효과 연구

(1) 어분대체 원료로써 곤충단백이 이유자돈에 성장능력에 미치는 효과

[어분 대체 곤충단백질 급여효과]

Items	어분 100% 대조구	동애등에 어분 50% 대체	동애등에 어분 100% 대체	갈색거저리 어분 50% 대체	갈색거저리 어분 100% 대체	SEM ¹⁾
Body weight, kg						
Initial	6.93	6.93	6.93	6.93	6.93	0.00
wk1	8.05	7.98	8.06	7.96	8.04	0.04

wk3	13.61 ^a	13.07 ^b	13.46 ^a	13.08 ^b	13.47 ^a	0.12
wk5	21.81 ^a	21.01 ^b	21.55 ^{ab}	21.09 ^b	21.41 ^{ab}	0.21
Overall						
ADG,g	425 ^a	402 ^b	418 ^{ab}	404 ^b	413 ^{ab}	6
DFI,g	575	561	578	560	574	10
FCR	1.354	1.398	1.387	1.387	1.39	0.033

¹⁾ Standard error of means.

^{a,b} Means in the same row with different superscripts differ (P < 0.05)

(2) 어분대체 원료로써 곤충단백이 이유자돈에 분변상태에 미치는 효과
[어분 대체 곤충단백질 급여 시 분변에 미치는 영향]

Items	어분 100% 대조구	동애등에 어분 50% 대체	동애등에 어분 100% 대체	갈색거저리 어분 50% 대체	갈색거저리 어분 100% 대체	SEM ¹⁾
Fecal score ²⁾						
wk1	3.32	3.34	3.34	3.38	3.25	0.05
wk2	3.20	3.23	3.21	3.23	3.16	0.05
wk3	3.18	3.21	3.25	3.23	3.20	0.07
wk4	3.23	3.20	3.18	3.21	3.20	0.06
wk5	3.14	3.09	3.13	3.18	3.16	0.05

¹⁾ Standard error of means.

²⁾ Score = 1 = hard, dry pellets in a small, hard mass; 2 = hard, formed stool that remains firm and soft; 3 = soft, formed, and moist stool that retains its shape; 4 = soft, unformed stool that assumes the shape of the container; 5 = watery, liquid stool that can be poured.

(3) 어분대체 원료로써 곤충단백이 이유자돈에 소화율에 미치는 효과

[어분 대체 곤충단백 급여 시 소화율(%)]

Items	어분 100% 대조구	동애등에 어분 50% 대체	동애등에 어분 100% 대체	갈색거저리 어분 50% 대체	갈색거저리 어분 100% 대체	SEM ¹⁾
건물	81.87 ^a	78.81 ^b	80.41 ^{ab}	79.85 ^{ab}	81.27 ^a	0.89
질소	81.61 ^a	78.57 ^b	80.27 ^{ab}	79.54 ^{ab}	81.28 ^a	0.86
Energy	80.28	79.46	79.28	79.74	80.48	1.37

¹⁾ Standard error of means.

^{a,b} Means in the same row with different superscripts differ (P < 0.05).

• 결론 : 동애등에 유충과 비교하여 갈색거저리 분말이 영양소 소화율 측면에서 보다 높은 것으로 보아 갈색거저리가 어분을 대체할 수 있을 것이라 생각 되며, 본 연구에서 자돈 2호 구간에 있어서 곤충 단백질 어분을 대체에는 무리가 있으며, 자돈 3호 구간에서 어분을 대체하여 사용할 수 있을 것이라 사료됨

○ 갈색거저리 유충분말, 가수분해 및 발효물에 대한 전분채취 소화율 측정

(1) 갈색거저리 유충 분말의 반려건(비글)에서 소화율 및 분변지수

[영양소 소화율(%)]

구분	계육분	육분	어분	밀웜	SEM ¹⁾
건물	74.69	74.56	75.01	74.88	0.74

질소	72.85	72.60	73.09	72.93	0.66
에너지	74.06	73.94	74.48	74.21	0.70

¹⁾ Standard error of means.

[분변지수]

Items	계육분	육분	어분	밀웁	SEM ¹⁾
급여 7일째 분변지수 ²⁾	3.13	3.23	3.27	3.23	0.03

¹⁾ Standard error of means.

²⁾ Score = 1 = hard, dry pellets in a small, hard mass; 2 = hard, formed stool that remains firm and soft; 3 = soft, formed, and moist stool that retains its shape; 4 = soft, unformed stool that assumes the shape of the container; 5 = watery, liquid stool that can be poured.

- 갈색거저리 유충 (밀웁) 분말과 다른 동물성 단백질원간에 건물, 질소 및 에너지 소화율에 차이가 없었으며, 분변지수에도 통계적인 유의차가 발견되지 않았다. 따라서, 본 시험 결과를 토대로 갈색거저리 유충분말은 반려견 사료에서 가수분해 계육분, 가수분해 어분 등을 대체할 수 있을 것이라 사료 된다.

(2) 갈색거저리 유충 가수분해물의 반려견(비글)에서 소화율 및 분변지수

[영양소 소화율(%)]

구분	갈색 거저리박	가수분해 갈색 거저리	가수분해 계육분	가수분해 어분	가수분해 돼지 장점막	SEM ¹⁾	P-value
건물	85.37 ^b	88.74 ^a	87.32 ^{ab}	88.68 ^a	86.30 ^b	0.68	0.016
조단백질	90.85 ^b	91.95 ^a	92.05 ^a	92.24 ^a	91.02 ^b	0.28	0.012
조지방	98.95	99.04	99.12	98.82	99.06	0.14	0.618
조섬유	54.12 ^b	66.58 ^a	60.84 ^{ab}	69.49 ^a	59.45 ^{ab}	3.76	0.089
조회분	86.16 ^b	90.65 ^a	89.22 ^{ab}	91.54 ^a	88.96 ^{ab}	1.07	0.035
칼슘	32.99 ^c	56.92 ^{ab}	58.03 ^{ab}	73.17 ^a	53.80 ^b	5.78	0.016
총인	61.55	71.18	67.43	69.90	66.19	3.65	0.420

^{ab} Means in a same row with different superscript significantly different (P<0.05).

¹⁾Standard error of means.

[분변지수]

구분	갈색 거저리박	가수분해 갈색거저리	가수분해 계육분	가수분해 어분	가수분해 돼지장점막	SEM ¹⁾
분변지수 ²⁾	3.21	3.32	3.13	3.27	3.14	0.23

¹⁾ Standard error of means.

²⁾ Fecal score: 1 = hard, dry pellets in a small, hard mass; 2 = hard, formed stool that remains firm and soft; 3 = soft, formed, and moist stool that retains its shape; 4 = soft, unformed stool that assumes the shape of the container; 5 = watery, liquid stool that can be poured.

- 건물소화율에 있어서는 가수분해 갈색거저리와 가수분해 어분을 급여한 처리구는 갈색거저리와 가수분해 돼지장점막을 급여한 처리구와 비교하여 유의적으로 높게 나타났다(P<0.05). 단백질 소화율에 있어서 가수분해 갈색거저리, 가수분해 계육분 및 가수분해 어분을 급여한 처리구가 갈색거저리와 가수분해 돼지장점막을 급여한 처리구와 비교하여 유의적으로 높게 나타났다(P<0.05). 지방 및 인 소화율에 있어서는 처리구간에 유의적인 차

이를 나타내지 않았다. 조섬유 및 회분 소화율은 가수분해 갈색거저리 및 가수분해 어분을 급여한 처리구가 갈색거저리를 급여한 처리구와 비교하여 유의적으로 높게 나타났다($P < 0.05$). 칼슘 소화율에 있어서는 가수분해 어분 처리구 가장 높은 소화율(73.17%)을 보여 주었으며, 갈색거저리를 급여한 처리구가 가장 낮은 소화율(32.99%)을 보여주었다($P < 0.05$). 갈색거저리 유충 및 가수분해 동물성 원료 급여에 따른 분변 지수는 유의적인 차이를 나타내지 않았다.

- 본 시험 결과를 토대로 가수분해 갈색거저리 유충은 반려견 사료에서 가수분해 계육분, 가수분해 어분 등을 대체할 수 있을 것이라 사료 된다.

(3) 갈색거저리 유충 발효물의 반려견(비글)에서 소화율
[영양소 소화율(%)]

구분	일반사료	건조갈색거저리 유충	갈색거저리 유충발효물	SEM ¹⁾	P-value
건물	92.01	90.67	86.52	2.09	0.927
단백질	93.50	93.80	93.90	0.99	0.987
지방	99.58	99.42	99.40	0.09	0.719
섬유소	65.78	66.48	68.92	5.48	0.975
회분	70.90	71.61	72.82	4.55	0.988
칼슘	64.95	43.49	52.13	8.15	0.569
인	67.81	51.50	58.76	7.46	0.684

- 가수분해 갈색거저리 유충과 일반 갈색거저리 유충 그리고 일반 Pet food의 건물, 단백질, 지방 섬유소 및 칼슘과 인의 소화율에는 차이가 없었다.

○ 갈색거저리 유충 분말 및 가수분해물 회장소화율 측정

(1) 갈색거저리 유충 분말의 육성돈에서의 회장소화율
[외관상 회장소화율, AID(%)]

구분	처리구 ¹⁾				SEM	p-value
	어분	육분	계육분	밀웜		
건물	84.35	86.99	87.65	89.44	2.679	0.08
조단백질	85.04	86.76	87.87	89.58	2.387	0.05
총아미노산	85.37	86.90	87.97	89.60	1.543	0.05
라이신	86.13 ^b	87.36 ^{ab}	88.40 ^b	89.65 ^b	1.296	0.04
메치오닌	85.53	87.19	87.76	89.56	1.440	0.06
트레오닌	84.17	86.82	87.59	89.53	1.925	0.06
아르지닌	87.37 ^b	87.66 ^b	88.93 ^{ab}	89.74 ^a	0.961	0.03
시스틴	83.00 ^b	86.02 ^b	87.64 ^{ab}	89.57 ^a	2.406	0.04

SEM, standard error of means.

¹⁾ 어분, corn-vegetable by-product based diet with 9.95% fish meal; 육분, corn-vegetable by-product based diet with 9.95% meat meal; 계육분, corn-vegetable by-product based diet with 9.95% poultry meal; 밀웜, corn-vegetable by-product based diet with 9.95% dried *Tenebrio molitor* larvae.

^{ab} Means in a same row with different superscript significantly different ($p < 0.05$).

[진정 회장소화율, SID(%)]

구분	처리구 ¹⁾				SEM	p-value
	어분	육분	계육분	밀웜		

건물	85.66	88.31	88.96	89.53	2.484	0.08
조단백질	85.55	87.32	88.38	90.05	2.270	0.06
총아미노산	85.85	87.44	88.44	90.05	1.527	0.06
라이신	86.51	87.78	88.73	89.96	1.264	0.05
메치오닌	85.87	87.53	88.17	89.89	1.439	0.06
트레오닌	84.79	87.50	88.21	90.12	1.910	0.06
아르지닌	87.61 ^b	87.95 ^b	89.17 ^{ab}	89.97 ^a	0.947	0.04
시스틴	83.62 ^b	86.64 ^b	88.35 ^{ab}	90.21 ^a	2.425	0.04

SEM, standard error of means.

¹⁾ 어분, corn-vegetable by-product based diet with 9.95% fish meal; 육분, corn-vegetable by-product based diet with 9.95% meat meal; 계육분, corn-vegetable by-product based diet with 9.95% poultry meal; 밀웬, corn-vegetable by-product based diet with 9.95% dried *Tenebrio molitor* larvae.

^{ab} Means in a same row with different superscript significantly different (p<0.05).

• 결과 : Lys의 AID는 어분사료를 먹은 돼지보다 갈색거저리 유충분말 사료를 먹은 돼지에서 더 높았다 (p<0.05). 갈색거저리 유충분말 사료를 섭취 한 돼지는 어분사료 또는 육분사료를 섭취 한 돼지에 비해 His 및 Arg의 AID가 증가한 것으로 나타났다 (p<0.05). Cys의 AID는 계육분사료를 먹은 돼지와 갈색거저리 유충분말 사료를 급여한 돼지에서 어분사료를 급여한 돼지에 비해 증가되었다 (p<0.05). Arg의 SID는 갈색거저리 유충분말 사료를 먹은 돼지에서 어분이나 육분 사료를 먹은 돼지에서보다 높았다 (p<0.05). 또한, 계육분 사료 또는 갈색거저리 유충분말 사료를 급여한 돼지에서 어분 사료를 먹은 돼지에 비해 Cys의 SID가 증가한 것으로 나타났다 (p<0.05). 결론적으로, 돼지에게 갈색거저리 유충을 함유한 사료를 급여하면 영양소의 AID 및 SID 가 향상되었다. 건조 된 밀웬 유충 단백질의 소화율과 생체 내에서의 활용도 또한 우수하다. 따라서, 건조 된 밀웬 유충 단백질은 성장하는 돼지에서 10 % 수준으로 단백질 공급원으로 사용될 수 있다.

(2) 갈색거저리 유충 가수분해물의 육성돈에서의 회장소화율

[외관상 회장소화율, AID(%)]

구분	처리구 ¹⁾				SEM	p-value
	DMLM	HML	FPBM	HFS		
건물	87.45 ^b	89.47 ^a	87.05 ^b	85.88 ^b	0.462	<0.01
조단백질	86.37 ^{ab}	89.31 ^a	85.55 ^b	83.41 ^b	0.942	0.02
총아미노산	78.09	79.52	78.17	75.35	0.845	0.06
라이신	79.68 ^{ab}	79.92 ^a	78.87 ^{bc}	78.74 ^c	0.269	0.05
메치오닌	79.78 ^a	79.93 ^a	79.17 ^{bc}	79.08 ^b	0.160	0.02
트레오닌	79.36 ^{ab}	79.92 ^a	78.94 ^b	78.83 ^b	0.224	0.05
아스파틱산	74.83 ^a	78.36 ^a	77.74 ^a	68.06 ^b	1.895	0.03
글루타민	72.71 ^{bc}	78.98 ^a	77.07 ^{ab}	69.88 ^c	1.319	0.01
글리신	65.32 ^a	76.83 ^a	76.35 ^a	39.53 ^c	4.709	<0.01
알라닌	76.17 ^a	78.68 ^a	77.74 ^{ab}	65.96 ^c	1.385	<0.01

SEM, standard error of means.

¹⁾ DMLM, corn-vegetable by-product basal diet+10.0% defatted mealworm (*Tenebrio molitor*) larvae meal (MPC, MILAE Bioresources Co., Ltd, Korea); HML, corn-vegetable by-product basal diet+10% hydrolysate of mealworm (*Tenebrio molitor*) larvae; FPBM, corn-vegetable by-product basal diet+10% fermented poultry by-product (Neo-Pep, MOABIO Co., INC, Korea); and HFS, corn-vegetable by-product basal diet+10% hydrolyzed fish soluble (FS Peptide, Sopropêche, France).

^{ab} Means in a same row with different superscript significantly different (p<0.05).

SEM, standard error of means.

¹⁾ DMLM, corn-vegetable by-product basal diet+10.0% defatted mealworm (*Tenebrio*

[진정 회장소화율, SID(%)]

구분	처리구 ¹⁾				SEM	p-value
	DMLM	HML	FPBM	HFS		
건물	91.29 ^{ab}	93.31 ^a	90.89 ^{bc}	88.96 ^c	0.462	0.02
조단백질	90.21 ^{ab}	93.15 ^a	89.39 ^b	86.46 ^b	1.081	0.04
총아미노산	81.93	83.36	82.01	79.19	0.845	0.06
라이신	83.52 ^{ab}	83.76 ^a	82.71 ^{bc}	82.58 ^c	0.269	0.05
메치오닌	83.62 ^a	83.77 ^a	83.01 ^b	82.92 ^b	0.160	0.02
트레오닌	83.20 ^{ab}	83.76 ^a	82.78 ^{bc}	82.67 ^c	0.224	0.02
아스파틱산	78.67 ^a	82.20 ^a	81.58 ^a	71.90 ^b	1.895	0.03
글루타민	76.55 ^{bc}	82.82 ^a	80.91 ^{ab}	73.72 ^c	1.319	0.01
글리신	69.16 ^a	80.67 ^a	80.19 ^a	43.37 ^c	4.709	<0.01
알라닌	80.01 ^a	82.44 ^a	81.58 ^a	69.80 ^b	1.385	<0.01

molitor) larvae meal (MPC, MILAE Bioresources Co., Ltd, Korea); HML, corn-vegetable by-product basal diet+10% hydrolysate of mealworm (*Tenebrio molitor*) larvae; FPBM, corn-vegetable by-product basal diet+10% fermented poultry by-product (Neo-Pep, MOABIO Co., INC, Korea); and HFS, corn-vegetable by-product basal diet+10% hydrolyzed fish soluble (FS Peptide, Sopropêche, France).

^{ab} Means in a same row with different superscript significantly different (p<0.05).

• 결과 : 건물의 회장 소화율 (AID)이 HML 사료를 먹은 돼지에서 가장 높았고 (p<0.01), 조단백질의 AID는 HML과 DMLM 사료를 먹은 돼지에서 높았다. 유의미한 차이는 없었지만, 총 아미노산의 AID는 HML사료를 섭취 한 돼지에서 높았으며 (p=0.06), FPBM과 DMLM 사료를 먹은 돼지에서 다음으로 높았다. Lys, Met 및 Thr의 AID는 DMLM 및 HML사료를 먹은 돼지에서는 차이가 없었으나, FPBM 및 HFS사료를 먹은 돼지에 비해 더 높은 경향 (각각 p=0.05, p=0.02 및 p=0.05)을 나타냈다. 다른 필수 아미노산의 AID에는 차이가 없었다. 비 필수 아미노산 (Asp, Gly 및 Ala)의 AID는 HFS 사료를 섭취 한 돼지보다 HML, FPBM 및 DMLM 사료를 섭취 한 돼지에서 더 높은 경향을 나타냈다 (각각 p=0.03, p<0.01 및 p<0.01). 특히, 기호성 증진인자로 알려진 Glu의 AID는 HML 및 FPBM사료를 먹은 돼지에서 더 높았고, 다음으로 DMLM사료를 먹은 돼지에서 높았다 (p<0.01). HML사료를 공급받은 돼지는 다른 두개의 가공동물성 단백질인 FPBM 및 HFS사료를 공급받은 돼지에 비해 건물 및 조단백질의 SID가 더 높았다 (p=0.02 및 p=0.04). HML과 DMLM사료에 비해, 통계적 차이는 없지만 HML사료를 먹은 돼지는 더 높은 소화율을 보여 주었다. 총 아미노산의 SID의 경우, 처리간에 차이가 없었다 (p=0.06). 그러나 HML사료를 먹은 돼지는 소화율이 높았으며 다음으로 FPBM과 DMLM사료를 급여한 돼지에서 높았다. Lys, Met 및 Thr의 SID에서, HML 및 DMLM 사료를 섭취 한 돼지는 FPBM 및 HFS 사료를 섭취 한 돼지에 비해 SID가 높았다 (각각 p=0.05, p=0.02 및 p=0.02). 다른 필수 아미노산의 SID에는 차이가 없었다. AID의 경향과 동일하게, 비 필수 아미노산 (Asp, Gly 및 Ala)의 SID는 HML, FPBM 및 DMLM사료를 먹은 돼지에서보다 높은 경향 (각각 p=0.03, p<0.01 및 p<0.01)을 보였다. 기호성 증진 제로 알려진 Glu의 SID는 HML 및 FPBM사료를 먹은 돼지에서 더 높았고, 다음으로 DMLM 사료를 먹은 돼지에서 높았다 (p<0.01).

• 결론적으로, 밀웜 유충의 가수 분해물은 상업적으로 사용되는 가공 동물성 단백질 공급원을 대체 할 수있어 사료 산업에서 어린 동물에게 매력

적인 대체 단백질 사료공급원이 될 수 있다. 거저리 유충 가수분해물은 발효가금 부산물 및 가수분해 fish soluble과 비교하여 DM, CP, Lys, Met 및 Thr에서 더 높은 소화율을 보였다. 따라서, 밀웬 유충의 가수분해물은 성장하는 돼지에서 10 % 수준의 단백질 공급원으로서 사용될 수 있다.

○ 갈색거저리 가수분해물 급여 시 이유자돈의 성장률에 미치는 영향

(1) 갈색거저리 유충 가수분해물 급여 시 이유자돈의 성장에 미치는 효과
[이유자돈의 성장에 미치는 효과]

Items	갈색 거저리 유충	가수분해 갈색 거저리 유충	가수분해 돼지 장점막	가수분해 어분	가수분해 계육분	SEM ¹	P-value ²
Body weight, kg							
Initial	7.93	7.94	7.96	7.96	7.95	0.01	0.5000
D15	12.49 ^b	12.94 ^{ab}	12.66 ^{ab}	13.12 ^a	12.83 ^{ab}	0.15	0.1924
D35	24.65 ^{ab}	25.63 ^a	24.49 ^b	25.40 ^{ab}	24.78 ^{ab}	0.27	0.1319
D 15							
ADG, g	304	333	314	344	325	10	0.2129
ADFI, g	399	428	408	440	421	17	0.5421
FCR	1.312	1.284	1.302	1.279	1.295	0.015	0.5979
D 35							
ADG, g	608	634	592	614	598	14	0.3656
ADFI, g	924	946	904	922	904	20	0.6012
FCR	1.520	1.492	1.529	1.5	1.512	0.032	0.9783
Overall							
ADG, g	478 ^{ab}	505 ^a	472 ^b	499 ^{ab}	481 ^{ab}	8	0.1356
ADFI, g	699	724	691	715	697	15	0.5541
FCR	1.464	1.433	1.464	1.435	1.449	0.025	0.8222

¹Standard error of means.

²Means in the same row with different superscript differ significantly (P<0.05)

^{a,b}Means in the same row with different superscripts differ (P < 0.05).

• 결론 : 시험 15일차 체중에 있어 가수분해어분 처리구가 갈색거저리유충 처리구에 비해 유의적으로 높게 나타났고 (P<0.05), 시험 종료 시 (35일) 체중 및 전체 시험기간 동안의 일당 증체량에 있어 가수분해 갈색거저리 유충 처리구가 높게 나타났다 (P<0.05).

(2) 갈색거저리 유충 가수분해물이 이유자돈의 분변상태에 미치는 효과

[이유자돈의 분변상태에 미치는 효과]

Items	갈색 거저리	가수분해 갈색 거저리	가수분해 돼지 장점막	가수분해 어분	가수분해 계육분	SEM ¹	P-value ²
Fecal score ³							
Initial	3.50	3.52	3.52	3.54	3.51	0.02	0.7316
D15	3.44	3.46	3.47	3.44	3.44	0.03	0.8894
D35	3.21	3.22	3.19	3.16	3.22	0.04	0.6396

¹Standard error of means.

²Means in the same row with different superscript differ significantly (P<0.05).

³Score = 1 = hard, dry pellets in a small, hard mass; 2 = hard, formed stool that remains firm and soft; 3 = soft, formed, and moist stool that retains its shape; 4 = soft, unformed stool that assumes the shape of the container; 5 = watery, liquid stool that can be poured.

- 결론 : 시험 개시, 15일 및 종료 시 (35일) 분변 지수에 있어 처리구간의 유의적인 차이는 나타나지 않았다.

(3) 갈색거저리 유충 가수분해물이 이유자돈의 혈액특성에 미치는 효과

[이유자돈의 혈액특성에 미치는 영향]

Items	갈색거저리	가수분해 갈색거저리	가수분해 돼지 장점막	가수분해 어분	가수분해 계육분	SEM ¹	P-value ²
BUN, mg/dL	8.5	7.3	8.3	6.3	8.5	0.8	0.2461
IGF-1, ng/dL	136.0	139.5	112.1	122.2	147.3	13.1	0.3729
IgG, mg/dL	222.8	233.5	239.3	250.8	265.3	20.0	0.6254
IgA, mg/dL	191.5	188.0	185.8	193.0	192.8	12.7	0.9917

¹Standard error of means.

²Means in the same row with different superscript differ significantly (P<0.05).

- 결론 : 시험 종료 시 (35일) 혈액 내 BUN, IGF-1, IgG 및 IgA 수치에 있어 처리구간의 유의적인 차이는 나타나지 않았다.

(4) 갈색거저리 유충 가수분해물이 이유자돈의 소화율에 미치는 효과

[이유자돈의 영양소 소화율에 미치는 영향]

Items, %	갈색거저리	가수분해 갈색거저리	가수분해 돼지 장점막	가수분해 어분	가수분해 계육분	SEM ¹	P-value ²
Dry matter	79.04	80.28	78.96	79.81	78.77	1.38	0.9261
Nitrogen	77.29	78.35	77.12	77.82	76.67	1.26	0.8969
N-retention	3.19	3.22	3.14	3.12	3.05	0.10	0.7796

¹Standard error of means.

²Means in the same row with different superscript differ significantly (P<0.05).

- 결론 : 시험 종료 시 (35일) 건물, 질소 소화율 및 N-retention에 있어 처리구간의 유의적인 차이는 나타나지 않았다.

(5) 종합결과 : 건조 갈색거저리 (*Tenebrio molitor*) 유충은 이유자돈 용 동물성 단백질 공급원이 될 수 있으며, 가수분해 탈지 건조 갈색거저리 (*Tenebrio molitor*) 유충은 이유자돈에서 건조 갈색거저리 (*Tenebrio molitor*) 유충과 비교 한 결과, 일당증체량에서 개선된 결과가 나타났음.

다. 갈색거저리 유충 전용 사료 개발과 대량 사육 체계 확립 및 적용

- 갈색거저리 유충 전용사료 개발

[전용사료 사양시험 결과]

Items	소맥피	CP 14.5	CP 18	CP 20	CP 20 + LCM 5%	CP 20 + LCM 10%	SEM
첫 번째기 발생시기	85 ^a	75 ^b	73 ^b	76 ^b	74 ^b	73 ^b	2

갈색거저리 유충 무게(100마리 기준, 10주)	18.67	18.90	18.26	17.91	17.71	17.20	0.40
번데기 무게(100마리 기준, 14주)	12.91	12.88	13.01	12.80	12.86	12.74	0.17

[대한사료(주) 중앙연구소 분석실]

• 결론 : 밀웬 유충의갈색거저리 유충 전용 사료 개발을 위하여 단백질 함량을 달리하여 급여한 시험에서 소맥피를 제외한 시험구에서 첫 번데기 발생시기가 조기에 발견되는 결과를 보여주었다(P<0.05). 갈색거저리 유충 무게에 있어서는 단백질 수준에 따라 숫자적으로 감소하는 경향을 보여주었으나, 처리구간의 유의적인 차이를 보이지 않았다. 갈색거저리의 번데기 무게에 있어서는 처리구간에 유의적인 차이를 보이지 않았다. 소맥피 대비 CP 14.5%의 처리구 사료가 더 경제적으로 사육할 수 있는 결과를 보여주었음

○ 갈색거저리 유충 전용사료 제형에 대한 평가

• 목적 : 소맥피 사용 보관시 부피에 대한 문제점을 가지고 있어 가공사료 급여에 따른 생산성 변화를 알아보고자 함.

[갈색거저리 유충 전용사료 제형에 따른 효과]

Items	소맥피	가루	크립블	펠렛	SEM
갈색거저리 유충 무게, g (100마리 기준, 8주)	5.68 ^a	5.53 ^a	5.12 ^b	5.25 ^b	0.22
갈색거저리 유충 길이, cm (500마리 측정)	1.79 [□]	1.66 ^a	1.54 ^b	1.51 ^b	0.18

[대한사료(주) 중앙연구소 분석실]

• 결과 : 소맥피 처리구와 가루 처리구가 가공된 사료 처리구보다 가 갈색거저리 가공사료와 비교하여 유충 무게 및 길이가 짧아진 결과를 보여주었다. 이러한 결과는 사료 급여시 소맥피 및 가루 사료대비 가공사료가 급여 사료간의 공극이 있어 먹이 섭취가 용이 하지 않기 때문이라 생각됨

○ 갈색거저리 유충 수분사료 적정성 평가

• 목적 : 기존 수분 공급원인 배추의 경우, 계절에 따라 수급 문제가 있어 이를 대체 하기위 한 수분 공급원으로써 (주)케일에서 개발한 수분 전용 젤리에 대하여 평가하여 사육농가 적용가능성을 평가함

[수분사료 사양시험 결과]

Items	수분사료 급여군	배추 급여군	SEM	P-value
갈색거저리 유충 무게, g (100마리 기준, 8주)	5.637	5.629	0.22	0.976
갈색거저리 유충 길이, cm (500마리 측정)	1.819 ^b	1.860 ^a	0.268	0.014

[대한사료(주) 중앙연구소 분석실]

• 결과 : 갈색거저리 유충 길이에 대하여 수분 공급원으로써 배추를 급여한 처리구가 수분사료를 급여한 처리구와 비교하여 유의적으로 길게 나타났으나 (P<0.05), 갈색거저리 유충의 무게는 수분 공급원에 따른 처리구간의 유의적인 차이를 보이지 않아 사육농가에서 실제 적용가능

할 것으로 판단

- 갈색거저리 유충 사육 Pilot 설비 구축을 통한 사육체계 및 자동화 구축 기반 확보
 - 대한사료 주식회사는 2016년 12월 갈색거저리 사육사 시설 및 가공 공장을 구축을 완료 하였음.
 - 이를 통해 갈색 거저리 사료 연구개발 및 안전화된 갈색거저리 유충을 생산을 할 수 있는 시설을 갖추게 되었음.
 - 실험설비에서 다양한 사양시험을 진행하여 갈색거저리 유충 사육 및 자동화 설비 구축을 위한 기초자료 확보

라. 갈색거저리 유충 활용 반려동물 사료의 시제품화 및 기능성 사료 개발

- 갈색거저리 유충 함유 반려동물 food 배합비 개발 : 배합비 개발 완료

마. 갈색거저리 유충 함유 pet food 시제품 소비자 반응 설문조사

- 곤충 반려동물 사료에 대한 인식

[곤충 반려동물 사료에 대한 인식(N=254)]

질문	답변	답변수(비율)
1. 곤충의 사료원료로서 인지여부	예	119(47%)
	아니오	135(53%)
2. 곤충 반려동물사료의 필요성 (중복답변)	미래식량확보	97(38%)
	새로운 영양제공	120(47%)
	알레르기가 없는 새로운 단백질 공급원	94(37%)
	미래환경을 고려한 소비	41(16%)
	새로운 맛 제공	17(7%)
	향균, 비만치료 등 기능성 제공	12(5%)
3. 곤충 반려동물사료 구매의사	예	106(42%)
	고민해보겠다	142(56%)
	아니오	6(2%)
4. 비구매원인 (3 번질문에서 “아니오” 만 답변, 중복답변)	곤충에 대한 거부감	5(71%)
	사육, 제조환경 등 위생문제	1(14%)
	건강, 안전성 문제	1(14%)

바. 곤충 (갈색거저리 유충) 산업 활성화를 위한 비즈니스 모델

- 흰점박이 꽃무지 유충, 누에 등 일부 곤충자원은 건조분말 판매, 엑기스 제조 및 판매 등으로 부가가치를 창출하며 일부이기는 하지만 기반을 구축하여 사업을 영위하고 있으나, 갈색거저리 유충의 경우에는 아직은 대량생산을 견인 할 수 있을 규모로 산업이 확대되지 못하고 있는데,
- 이는 아직까지 생산되는 갈색거저리 유충의 소비모델이 충분하지 않아 자동화에 기반한 대량생산이 어렵고 그에 따라 생산단가가 높아 산업화 소재의 장벽으로 작용하고 있기 때문임
- 따라서, 갈색거저리 유충의 산업화를 위해서는 Value-chain 이 구축되어야 하고 산업화를 제한하는 제 1 장벽인 갈색거저리 유충의 생산비를 낮추기 위한 관련업체간의 연계구축이 필요함

2. 참여기관 1 : (재)전북생물산업진흥원

1) 갈색거저리 유충전용 사료개발

가) 갈색거저리 유충 대량사육을 위한 대체 원료의 탐색

(1) 갈색거저리 유충 전용 사료 개발을 위한 소맥피 대체 가능자원 선정

○ 수행결과

- ① 주요 원료사료 및 주요 농업부산물의 일반성분 함량 등을 국립축산과학원, 대한사료, 정피엔씨로부터 제공받아 분석한 결과, 총 5종의 대체사료 후보군을 선정하였다.
- ② 선정된 대체사료 후보군으로는 쌀가루, 주정박, 타피오카전분, 팜박, 야자박이며 선정된 대체사료 후보군의 원료가격, 일반성분 함량은 아래 표에 나타내었다.
- ③ 또한, 곤충의 기호도를 높이기 위하여 섭취자극물질이 풍부한 농업부산물인 복분자박과 커피박을 부원료 후보로 선정하고 이들의 섭취자극물질 함량을 아래 표에 나타내었다.
- ④ 섭취자극물질 : 곤충이 먹이를 섭식하기 위해서는 필요한 물질로 영양물질로는 아미노산, 탄수화물, 스테롤, 비타민 등이 있으며 비영양물질로는 클로로젠산, 시니그린, 플라보노이드 등 40여 종이 있다. 부원료로 선정한 복분자와 커피의 경우 비영양물질인 클로로젠산과 플라보노이드가 풍부하게 포함되어 있다.

[대체사료원료 후보군의 원료가격 및 일반성분 함량]

(단위 : 원/kg, %)

구분	원료 가격	일반성분 함량					
		수분	조단백질	조지방	조섬유	조회분	가용무질소물
소맥피	263.0	14.20	13.70	2.90	8.20	4.30	56.70
쌀가루	211.0	13.82	6.94	1.08	0.23	1.28	76.65
타피오카전분박	215.0	12.62	2.52	0.57	5.51	6.09	69.41
팜박	183.0	10.00	16.50	4.90	14.00	4.50	50.10
야자박	258.0	11.70	21.00	3.00	10.50	6.80	47.00
주정박(Corn DDGS)	294.0	10.50	26.00	6.50	5.10	6.00	45.90

[원료가격 2019년 12월 기준]

[대체사료원료 후보군의 아미노산 및 무기질 함량]

(단위 : %)

구분	아미노산				무기질	
	라이신	트레오닌	메치오닌	시스틴	Ca	P
소맥피	0.560	0.462	0.224	0.294	0.10	0.74
쌀가루	0.302	0.266	0.151	0.158	0.03	0.30
타피오카전분박	0.088	0.079	0.031	0.028	0.75	0.10
팜박	0.465	0.480	0.294	0.232	0.47	0.58
야자박	0.577	0.693	0.346	0.346	0.10	0.58
주정박(Corn DDGS)	0.806	0.988	0.702	0.494	0.05	0.85

[출처 : 대한사료 2017]

[부원료 후보군의 섭취자극물질 함량]

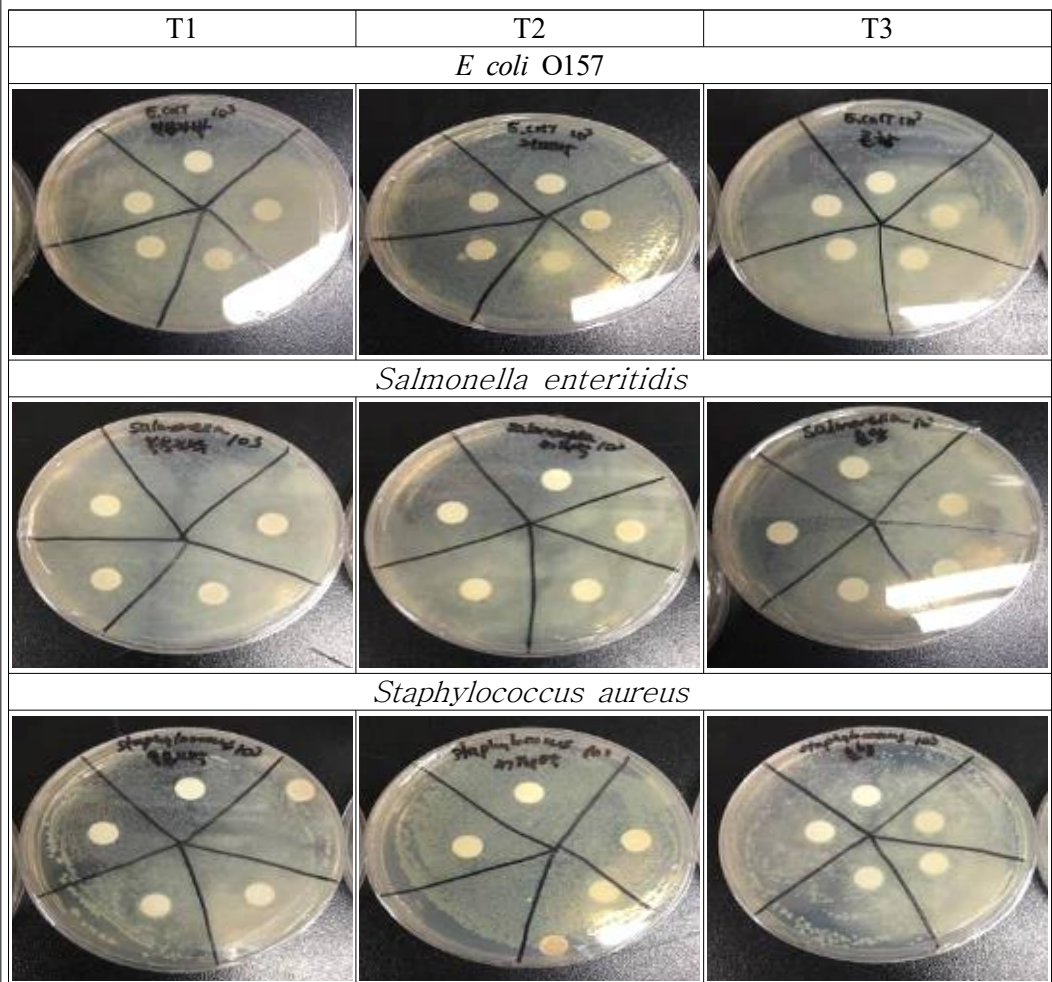
(단위 : mg/g)

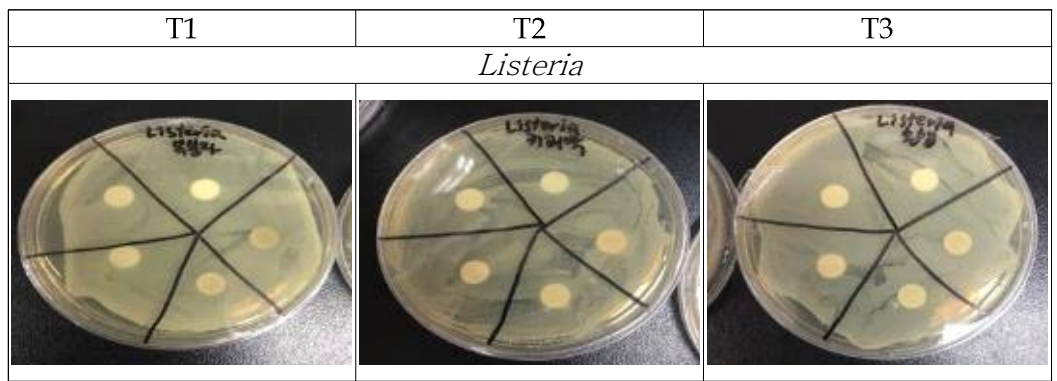
구분	비영양 섭취자극물질 함량*	
	클로로겐산	총 플라보노이드
복분자박(분말)	-	17.57±0.20
커피박(분말)	5.33±0.42	-

*Mean±SE

(2) 부원료 후보군(복분자박, 커피박) 처리농도에 따른 유해균 억제 효과 조사

○ 수행결과 : 각각 0%, 1%, 3%, 5%, 10%의 농도로 부원료 후보군(복분자박, 커피박)을 추출하여 처리한 결과 처리군 모두 분해능이 나타나지 않아 저농도에서는 유해균저해효과가 없는 것으로 나타났다.





T1 : 복분자박, T2 : 커피박, T3 : 복분자박 50% + 커피박 50%
 [부산물사료 첨가제의 항균실험]

나) 갈색거저리 유충 사육을 위한 사료 개발(Pilot 수준)

(1) 갈색거저리 부원료 후보군(복분자박, 커피박) 조성물 영양성분 조사

○ 분석결과

- 부원료 후보군(복분자박, 커피박)의 총에너지, 일반성분 함량 및 영양성분 함량은 아래 표들 나타내었다.

[부원료 후보군(복분자박, 커피박)의 총에너지 및 일반성분 함량]

(단위 : kcal/100g, %)

구분	총에너지 ¹⁾	일반성분 함량*				
		수분	조단백질	조지방	조회분	가용무질소물 ²⁾
복분자박	370.60	6.1±0.10	11.2±0.40	0.6±0.00	2.0±0.00	80.10
커피박	190.00	52.3±0.20	7.1±0.00	0.4±0.00	0.7±0.00	39.50

¹⁾ 총에너지 = (탄수화물 함량 × 4) + (조단백질 함량 × 4) + (조지방 함량 × 9)

²⁾ 가용무질소물 = 100 - (수분 + 회분 + 조단백질 + 조지방)

* Mean ± SE

[부원료 후보군(복분자박, 커피박)의 영양성분 함량¹⁾]

구분	pH	당류	포화지방	트랜스지방	콜레스테롤	나트륨
복분자박	3.95±0.04	5.30±0.20	0.50±0.00	N.D	13.90±3.40	1.00±0.10
커피박	5.00±0.03	N.D	0.30±0.00	N.D	N.D	3.00±0.10

N.D : not detect, Mean ± SE

¹⁾ 콜레스테롤과 나트륨의 단위는 mg/100g로 표시하였고 당류, 포화지방, 트랜스지방은 g/100g으로 표시하였다.





(2) 갈색거저리 유충 부원료 후보군의 보조사료 가능성 실험

[복분자박 및 커피박 첨가비율별 사료조성표]





소맥피	커피박	복분자박	복분자박 + 커피박(5:5)
100%	0%	0%	0%
99%	1%	1%	1%
93%	3%	3%	3%
95%	5%	5%	5%
90%	10%	10%	10%

① 사육결과

- 부원료 후보군의 보조사료 가능성을 확인하기 위해서 농가로부터 공급받은 유충을 처리군별로 13개로 나누어, 총 20일 동안 갈색거저리 유충의 생존여부와 생육특성을 관찰하였다.
- 유충의 생존여부를 관찰한 결과 저농도에서 커피박과 복분자박의 처리가 갈색거저리 유충의 생존에 영향을 미치지 않음을 알 수 있었다. 일부 처리구에서 유충이 검게 굳어 사체가 발생하였으나, 이는 사료원에 의한 원인보다는 충분한 수분공급이 이루어지지 않아 시들고 마른 것으로 판단된다.

			
탈피한 유충의 사진	용화된 유충의 사진	우화된 유충의 사진	까맣게 굳은 유충의 사진

[유충의 생태적 변화]

			
우화 1일 경과 후 (머리부분만 붉은색)	우화 2일 경과 후 (몸 전체가 붉은색)	우화 3일 경과 후 (몸 전체가 갈색)	우화 4일 경과 후 (몸 전체가 검은색)

[우화된 성충의 성장단계별 특징]

[복분자박 및 커피박 첨가비율별 갈색거저리 유충의 생존율]

(단위 : %)

구분	유충 생존율	구분	유충 생존율	구분	유충 생존율
C	100%	C	100%	C	100%
T 1	80%	T 5	80%	T 9	80%
T 2	60%	T 6	60%	T 10	80%
T 3	80%	T 7	80%	T 11	80%
T 4	100%	T 8	80%	T 12	100%

C : 소맥피 100%, T1 : 소맥피 99% + 커피박 1%, T2 : 소맥피 97% + 커피박 3%, T3 : 소맥피 95% + 커피박 5%, T4 : 소맥피 90% + 커피박 10%, T5 : 소맥피 99% + 복분자박 1%, T6 : 소맥피 97% + 복분자박 3%, T7 : 소맥피 95% + 복분자박 5%, T8 : 소맥피 90% + 복분자박 10%, T9 : 소맥피 99% + (커피박 : 복분자박 = 5:5) 1%, T10 : 소맥피 97% + (커피박 : 복분자박 = 5:5) 3%, T11 : 소맥피 95% + (커피박 : 복분자박 = 5:5) 5%, T12 : 소맥피 90% + (커피박 : 복분자박 = 5:5) 10%

다) 대체사료 5종 농가현장 실증실험

(1) 사육결과

- 쌀가루로 사육한 실험군에서 69.1%로 높은 성충생존율을 보였으며, 팥박은 35.0%로 낮은 생존율을 보였다.
- 반면, 사료섭취율은 대조군인 밀기울 15.1%, 팥박 13.5%, 주정박 10.2%의 순으로 나타났다. 생존율이 가장 좋았던 쌀가루는 1.2%의 낮은 섭취율을 보였으나, 유충의 성장길이를 측정 한 결과 174.4%로 가장 높은 성장률을 나타내었다.
- 특히, 팥박의 경우 성충의 사료 소비량은 많았으나, 생존율이 35%로 제일 낮았으며, 유충의 사육 시에도 폐사되는 경우가 많아 대체사료원으로는 적절하지 않음을 알 수 있었다.
- 주정박(Corn DDSG)의 경우 성충의 증체율과 유충의 성장률에서 다른 처리구에 비해 높게 측정되어 대체사료원으로 가장 적합한 성향을 보였다.
- 반면, 갈색거저리 성충 및 유충의 먹이 선호성 측면에서는 쌀가루 처리구가 가장 좋음을 알 수 있었다.

[대체사료별 성충의 생존율]

(단위 : 마릿수)

구분	C	T1	T2	T3	T4	T5
입식수(A)	2,000	2,000	2,000	2,000	2,000	2,000
생존수(B)	1,080	1,382	903	1,108	1,035	700
생존율(C=B/A*100,%)	54.0	69.1	45.2	55.4	51.8	35.0

C : 소맥피, T1 : 쌀가루, T2 : 야자박, T3 : Corn DDSG(주정박), T4 : 타피오카+전분박, T5 : 팥박

[대체사료별 성충의 사료 섭취율]

(단위 : g)

구분	C	T1	T2	T3	T4	T5
입식시 사료량(A)	7,450	7,450	4,600	7,450	4,600	7,450
30일 경과후 사료량(B)	660	180	485	390	130	520
사료섭취율(C=B/A*100,%)	8.86	2.42	10.54	5.23	2.83	6.98

C : 소맥피, T1 : 쌀가루, T2 : 야자박, T3 : Corn DDSG(주정박), T4 : 타피오카+전분박, T5 : 팥박

[대체사료별 성충의 증체율*]

(단위 : g)

구분 ¹⁾	C	T1	T2	T3	T4	T5
입식시 성충무게(A)	0.08 ±0.03	0.11 ±0.03	0.12 ±0.04	0.10 ±0.03	0.11 ±0.04	0.11 ±0.03
30일 경과후 성충무게(B)	0.09 ±0.03	0.21 ±0.07	0.23 ±0.08	0.28 ±0.09	0.33 ±0.12	0.23 ±0.09
성충증체율 (C=[(B-A)/A]*100,%)	12.5	90.9	91.6	180.0	200.0	109.1

¹⁾ C : 소맥피, T1 : 쌀가루, T2 : 야자박, T3 : Corn DDSG(주정박), T4 : 타피오카+전분박, T5 : 팥박

* Mean±SE

[대체사료별 유충의 성장률]

(단위 : mm)

구분	C	T1	T2	T3	T4	T5
입식시 유충길이(A)	3.11 ±0.03	3.09± 0.03	3.04 ±0.04	3.06 ±0.02	3.07 ±0.02	3.08 ±0.03
30일 경과후 유충길이(B)	7.21 ±0.06	7.56 ±0.07	4.75 ±0.06	7.75 ±0.03	4.74 ±0.07	4.08 ±0.59
유충성장율 (C=[(B-A)/A]*100,%)	131.83	144.66	56.25	153.27	54.40	32.47

¹⁾ C : 소맥피, T1 : 쌀가루, T2 : 야자박, T3 : Corn DDSG(주정박), T4 : 타피오카+전분박, T5 : 팥박

* Mean±SE



[대체사료별 성충 및 유충의 먹이 선호성]

(2) 결론

○ 대체사료 원료 5종과 부원료 2종으로 사육한 갈색거저리 유충의 생육 특성을 분석한 결과

- 사료에 대한 먹이 선호성은 쌀가루가 제일 좋았으나, 섭취율은 주정박이 제일 높았다. 유충의 성장률 측면에서도 주정박과 쌀가루가 각각 144.46%, 153.27%로 나타나 다른 처리군에 비해 높음을 알 수 있었다.
- 또한 부원료인 커피박과 복분자박 모두 저농도 첨가수준에서는 생육저해가 일어나지 않음을 알 수 있었다.
- 따라서 대체사료 원료 및 부원료로서는 쌀가루, 주정박, 복분자박 및 커피박이 적합하며, 이들을 혼합하여 사육할 경우 생육저해가 일어나지 않고, 유충의 성장을 빠르게 할 수 있다고 생각된다.
- 분석결과에 따라 대체사료의 원료 및 부원료를 첨가하여 단백질 함량이 20% 이상인 사료를 개발하기 위해서는 아래와 같은 비율로 첨가되어야 한다.

[대체사료 배합비율(%)]

구분	최종 대체사료 혼합 비율
쌀가루	6.25% ~ 8.50%
주정박	70.00% ~ 75.00%
커피박	6.25% ~ 12.50%
복분자박	6.25% ~ 12.50%

라) 갈색거저리 전용사료를 이용한 농가 적용 현장 실증 : 제형에 따른 효과

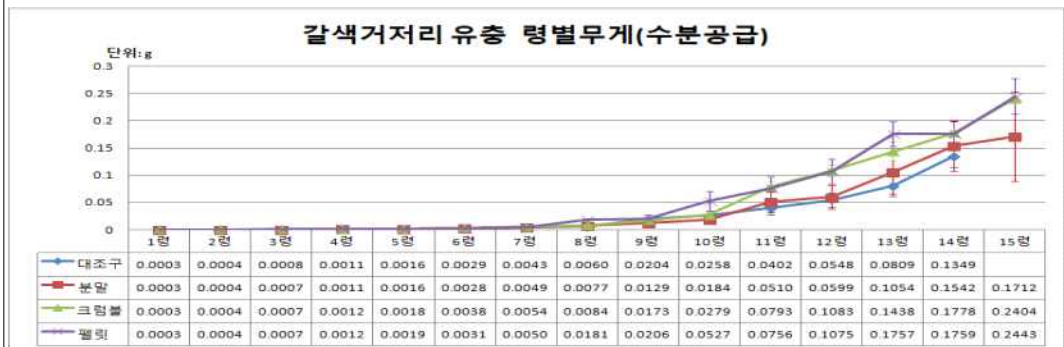
(1) 갈색거저리 유충 전용 인공사료 현장실증

- 수행결과 : 사료의 제형(크기 : 대조구(소맥피)=분말 < 크럼블 < 펠렛)이 커질수록 무게는 높았으며, 인공사료 사용시 대조구보다 유충 ~ 성충 도달시기가 평균적으로 약 6일 빠르며 무게 또한 0.0629g 많음. 사료 공급시 수분공급의 경우 수분 미공급보다 무게 및 령주기 모두 효과적인 조건임을 확인, 최종결과 펠렛제형으로 수분을 공급하는 것이 최적 사육조건 확인. 그러나 이는 대한사료(주)의 실험과는 다른 결과인데 농가에서의 대량사육시에는 가루형대의 제형이 다 바람직한 것으로 사료됨

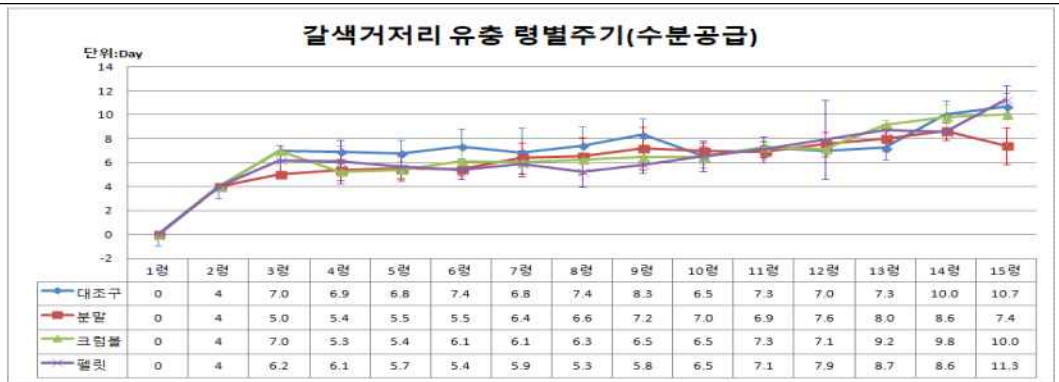
[갈색거저리 전용 인공사료 조성비]

재료	소맥	쌀	타피오카	소맥피	주정박
비율(%)	20	20	10	20	30

[갈색거저리 유충 령별무게]



[갈색거저리 유충 령별 주기]



2) 갈색거저리 유충 기능성 소재화 공정기술 개발

가) 갈색거저리 유충 가수분해(효소) 공정개발

(1) 공정개발 결과

- 갈색거저리 유충 분말과 물(1:9) 비율로 혼합하여 효소의 최적 활성조건을 위해 98% NaOH 분말을 사용하여 pH 6.5 조정 후 효소 (Alcalase + Flavourzyme) 0.01% 첨가한다. 이후 50℃, 3hr, 50rpm 가수분해, 80℃, 30min, 효소 불활성화 후 압착기를 사용하여 큰 부산물 여과 후 분리된 액상을 원심분리하여 작은 부산물 분리하여 액상 취득하고 진동막분리기를 이용하여 액상에 존재하는 미생물 제거한다. 동결건조시 가수분해된 액상의 짙은 농도에 의해 뭉침현상을 방지하기 위해 가수분해물 액상의 Brix 대비 말토덱스트린 1:1 비율로 혼합한다. 이 후 5day 동결건조하여 분말 획득한다.

[가수분해 시 효소 및 시간에 따른 단백질 정량]

시간 (hr)	Protein (ug/mL)			
	Alcalase 2.4L	Neutrase 0.8L	Flavourzyme 500MG	Protamex
1	5,006.3	4,112.6	3,889.1	4,715.4
2	5,392.0	4,423.4	4,072.6	4,512.6
3	6,197.1	5,097.1	4,093.1	5,372.6
4	6,185.1	5,475.4	4,571.4	5,405.1
5	6,638.3	5,714.9	4,449.7	5,650.3
15	2,934.3	1,601.1	1,457.1	1,482.3
24	1,934.3	1,722.9	1,077.7	1,515.4

- 5hr 가수분해 경우 높은 단백질값을 확인 하였으며, 3~5hr 단백질량이 비슷하였고, Alcalase 2.4L 효소에서 가장 높은 단백질량을 확인하였다.

[혼합효소 처리에 따른 단백질 정량값]

효소혼합	Flavourzyme 500MG + Alcalase 2.4L	Flavourzyme 500MG + Neutrase 0.8L	Flavourzyme 500MG + Protamex
Protein (ug/mL)	9,132.5	7,457.5	7,937.5
효소혼합	Alcalase 2.4L + Neutrase 0.8L	Alcalase 2.4L + Protamex	Neutrase 0.8L + Protamex
Protein (ug/mL)	8,287.5	8,462.5	7,750.0

○ 갈색거저리 가수분해에서 효소 Alcalase 2.4L와 Flavourzyme 500MG을 사용하였을때 가장 높은 단백질량이 검출됨을 확인하였다.

[단일효소와 혼합 효소 농도 차이에 따른 단백질 측정값]

효소농도	Protein (ug/mL)	
	Alcalase 2.4L	Flavourzyme 500MG + Alcalase 2.4L
0.01%	7,484.5	9,038.2
0.1%	9,704.0	10,135.4
0.5%	10,581.1	11,564.0

○ 효소의 농도가 높을수록 단백질 정량값이 높게 나타났지만, 효소의 양과 가격을 비교하여 단백질 획득량에서 Flavourzyme + Alcalase 0.01%가 가장 효율이 좋음을 확인함.

갈색거저리 대량 가수분해



갈색거저리 유충 분말제품



가수분해 탱크



pH 보정



가수분해 탱크 내부



가수분해 온도



효소불활성화 온도



압착기



원심분리



한외 여과장치



30 kDa 필터



100 kDa 필터



진동막 여과장치

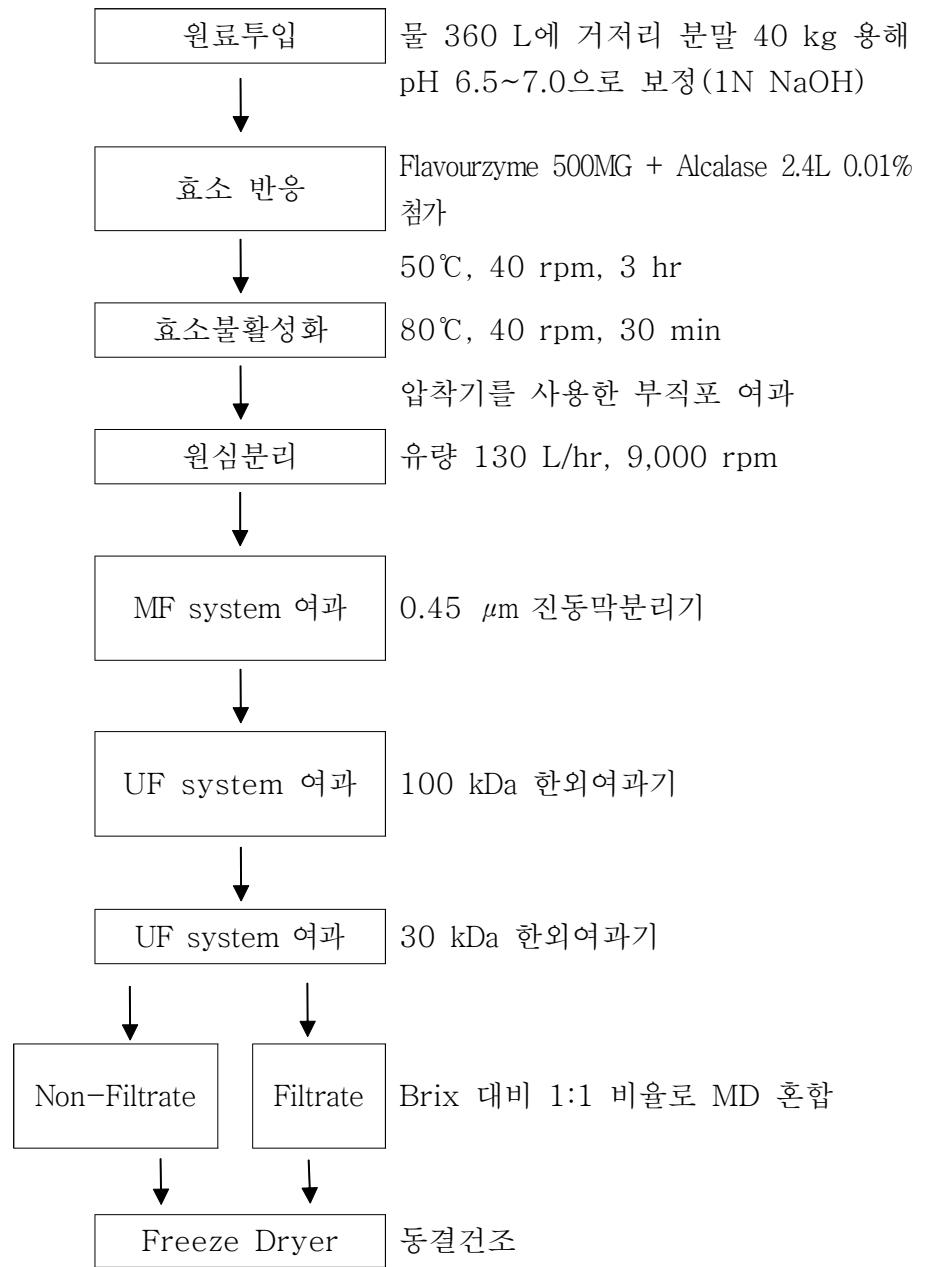


동결건조



분획물

[갈색거저리 대량 가수분해 공정 사진]



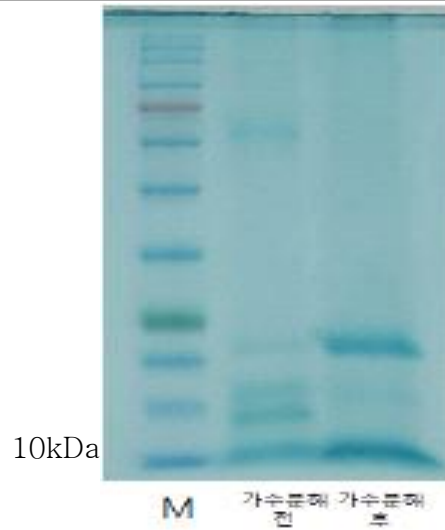
[갈색거저리 유충 대량 가수분해 공정도]

나) 갈색거저리 가수분해물의 품질특성 분석

(1) SDS-PAGE(sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis)

○ 수행결과 : 가수분해 전보다 가수분해 후 10kDa 밴드가 선명해짐을 확인하였다.

SDS-PAGE



(2) 가수분해물의 아미노산 및 유리 아미노산 분석

[아미노산함량, ug/g]

분석항목	갈색거저리 유충	100 kDa	30 kDa
Cystine	150.3	195.0	204.0
Methionine	104.8	627.0	616.0
Aspartic acid	461.3	137.3	143.8
Threonine	256.2	690.0	729.0
Serine	397.6	947.0	102.5
Glutamic acid	927.2	298.8	318.5
Glycine	353.0	129.5	134.8
Alanine	328.3	113.6	117.8
Valine	305.5	796.0	835.0
isoleucine	218.9	543.0	573.0
Leucine	543.6	123.6	129.0
Tyrosine	239.8	600.0	625.0
Phenylalanine	243.8	658.0	698.0
Lysine	407.7	292.9	290.7
Histidine	93.4	262.0	264.0
Arginine	467.7	926.0	966.0
Proline	342.2	103.0	109.8

- 아미노산 조성을 분석한 결과 원물에서는 Histidine, Glutamic acid, Leucine의 순으로 가장 많이 나타났으며, 저분자 그룹(100kDa, 30kDa) 그룹에서는 Serine, Arginine, valine의 순으로 가장 많이 나타났다.
- 분석결과와 같이 갈색거저리는 아미노산이 고르게 함유된 것으로 확인되었으며, 특히 저분자화 될수록 반려동물(개, 고양이)에게 필요한 필수아미노산 함량이 대체로 증가하여 반려동물 단백질 사료로 적합함을

확인할 수 있었다.

- 저분자 그룹에서는 저분자 그룹에서는 반려견의 필수아미노산인 7종 (Threonine, Valine, Isoleucine, Histidine, Arginine, Cystine, Methionine과 반려묘의 9종 아미노산(반려견 7종 아미노산 + Tyrosine, Phenylalanine 추가)이 원물대비 22%~83%까지 증가함을 알 수 있었다.

[유리 아미노산 함량, ug/g]

분석항목	갈색거저리 유충	100 kDa	30 kDa
O-phosphoserine	12.0	228.3	1104.6
Taurine	4.0	49.9	191.7
O-phosphoethanolamine	5.1	67.0	186.9
L-Aspartic acid	7.1	60.9	45.3
L-Hydroxyproline	1.2	4.2	2.5
L-Threonine	7.5	117.6	100.5
L-Serine	8.5	46.3	32.4
L-Glutamic acid	24.5	236.5	180.6
Sarcosine	0.3	0.8	0.4
L-2-Aminoadipic acid	1.3	15.2	9.7
L(-)-Proline	11.8	44.8	36.9
Glycine	9.5	57.7	41.9
L-Alanine	48.6	300.2	228.0
L-Citrulline	1.7	23.6	19.4
DL-2-Aminobutyric acid	3.8	97.8	105.9
L-Valine	8.4	176.3	116.8
L-Methionine	434.1	706.0	517.4
L(-)-Cystine	1.4	4.8	0.0
L-Cystathionine	1.2	14.2	6.9
L-isoleucine	5.1	106.0	121.2
L-Leucine	10.3	309.0	221.1
L-Tyrosine	3.3	46.3	34.4
L-Phenylalanine	5.5	149.2	132.2
B-Alanine	3.1	42.1	75.3
DL-3-Aminoisobutyric acid	0.7	12.3	46.9
4-Aminobutyric acid	100.5	359.2	231.8
2-Aminoethanol	1.0	83.4	51.3
DL-plus allo- δ - Hydroxylysine	0.8	2.9	1.9
L-Ornithine	2.0	133.9	85.2
L-Lysine	1289.9	1965.7	1257.0
L-1-Methylhistidine	0.0	0.0	0.0
L-Histidine	2.1	35.9	23.3
L-3-Methylhistidine	0.5	2.0	1.3

L-Anserine	0.0	0.0	0.0
L-Carnosine	0.0	0.0	0.0
L-Arginine	15.6	2.8	1.3

○ 체내에 존재하는 유리아미노산의 경우 원물에 비해 저분자그룹에서 63% 증가함을 알 수 있었으며, 반려동물의 필수아미노산 역시 저분자 그룹에서 증가하였다. 특히 Lysine과 Leucine의 경우 34%~96%까지 증가함을 알 수 있었다.

3) 갈색거저리 유충 유래 기능성 소재 가공기술 개발

가) 갈색거저리 가수분해(발효) 공정 개발

(1) 갈색거저리 유충으로부터 분리한 균주의 특성

○ 수행결과 : 갈색거저리에서 미생물 활성이 좋은 *Aspergillus oryzae*(황국균)을 활용하여, 수분함량 33%, 30℃, 4day 조건으로 배양하는 최적화된 발효조건임을 확인하였다.

1 일									
	AO 1% 밀기울			AO 1%			AO 2%		
	D-W 33%l	D-W 40%	D-W 45%	D-W 33%l	D-W 40%	D-W 45%	D-W 33%l	D-W 40%	D-W 45%

2 일									
	AO 1% 밀기울			AO 1%			AO 2%		
	D-W 33%l	D-W 40%	D-W 45%	D-W 33%l	D-W 40%	D-W 45%	D-W 33%l	D-W 40%	D-W 45%

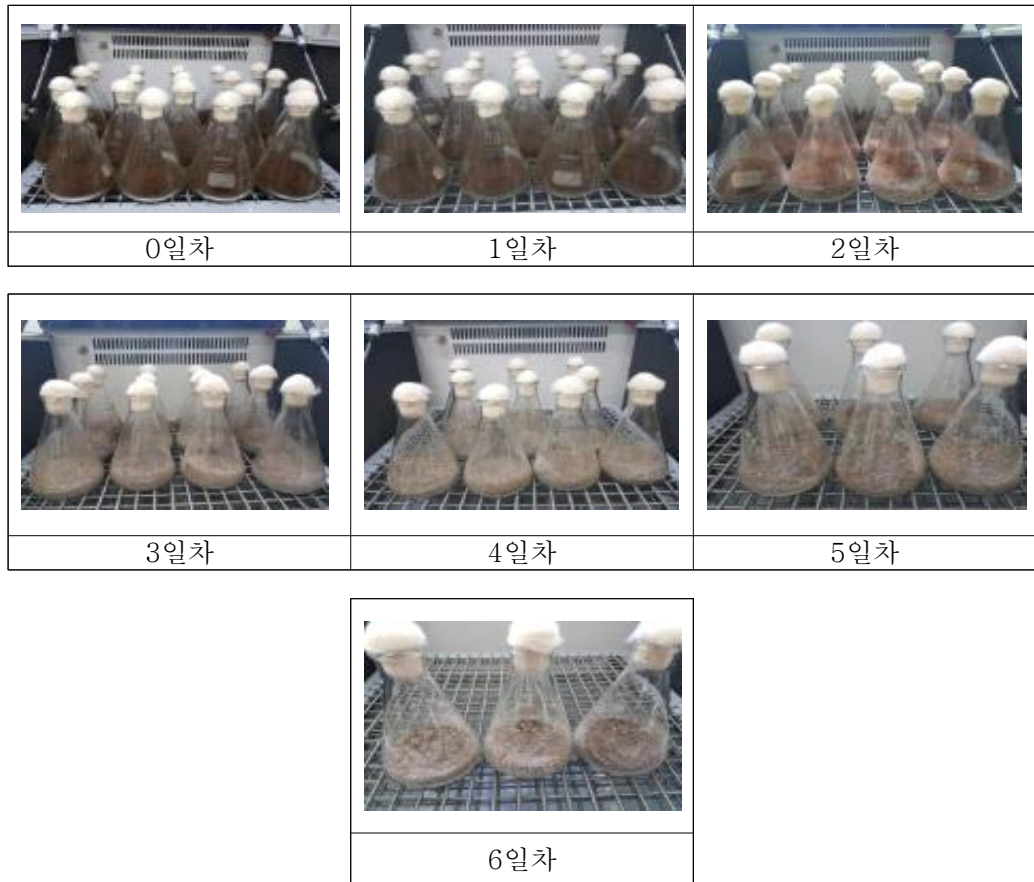
3 일									
	AO 1% 밀기울			AO 1%			AO 2%		
	D-W 33%l	D-W 40%	D-W 45%	D-W 33%l	D-W 40%	D-W 45%	D-W 33%l	D-W 40%	D-W 45%

[A·O 균 사용 조건별 발효]

[A·O 균 사용 조건별 발효물 protease 활성]

발효 조건	Protease 활성 (u/g)								
	수분(33%)			수분(40%)			수분(45%)		
	1day	2day	3day	1day	2day	3day	1day	2day	3day
A·O 1% (밀기울)	5.22	5.18	5.66	5.91	5.88	5.93	5.69	5.64	6.56
A·O 1%	6.53	6.52	8.09	4.78	4.97	5.76	5.91	6.06	5.62
A·O 2%	5.98	6.17	8.11	5.64	5.58	5.74	5.38	5.38	7.27

- 밀기울을 섞어 발효시 육안으로는 하얀색으로 발효되는 과정이 뚜렷이 확인되었지만 protease 활성도에서는 낮은 값을 보였다.
- A·O 1% 3일, protease활성과 A·O 2% 3일, protease활성이 좋으며 큰 차이가 없었다.
- protease 활성이 균 접종량에 비해 비슷하여 A·O 1% 조건으로 발효 재실험 하였다.



[A·O 1% 접종 1~6일 발효사진]

[A·O 1%, 발효 1~6일 protease 활성]

Sample NO.	Protease 활성 (u/g)					
	A·O 1%, 수분(33%)					
	1day	2day	3day	4day	5day	6day
Sample 1	4.37	4.01	5.48	8.14	7.70	6.93
Sample 2	4.12	4.74	4.99	8.28	6.64	6.68
Sample 3	4.22	4.42	5.71	8.01	6.55	7.37
Aver	4.24	4.39	5.39	8.14	6.96	6.99

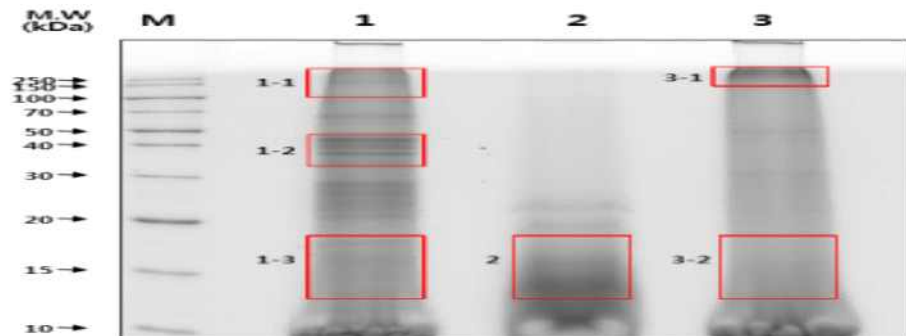
- 1~4일차까지 protease활성이 지속적으로 증가 하였으며, 4일차 protease활성 수치가 최대값을 보이고, 5일차부터 감소하였다.
- 최종적으로 protease활성이 최대값을 보인 *Aspergillus oryzae*균을 사용하여 수분 33%, 30℃, 4day 배양하는 것이 최적화된 발효조건임을 확인하였다.

나) 갈색거저리 가수분해(발효)물 품질특성

(1) 갈색거저리 유충 가수분해 조성물의 품질특성 분석

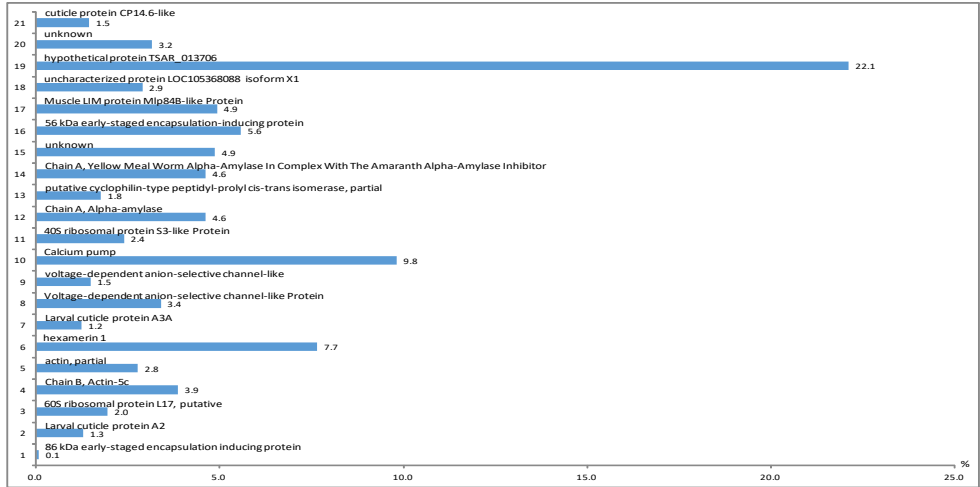
○ 단백질 함량 및 단백질 분자량 측정

- 효소가수분해와 고상발효를 처리한 갈색거저리의 단백질 구성을 분석하기 위하여 1차적으로 전기영동을 실시하고, 15kDa 사이즈를 Fraction하여 LC-MS를 통해 동정한 결과 효소처리한 갈색거저리(2 Fraction) 경우 액틴의 함량(근육형성 도움)이 많은 ataxin-2homolog 단일 단백질로 분포하였고, 원물의 경우 21가지 단백질, 고상발효한 시료는 12가지 단백질로 구성되어 있음을 확인하였다.

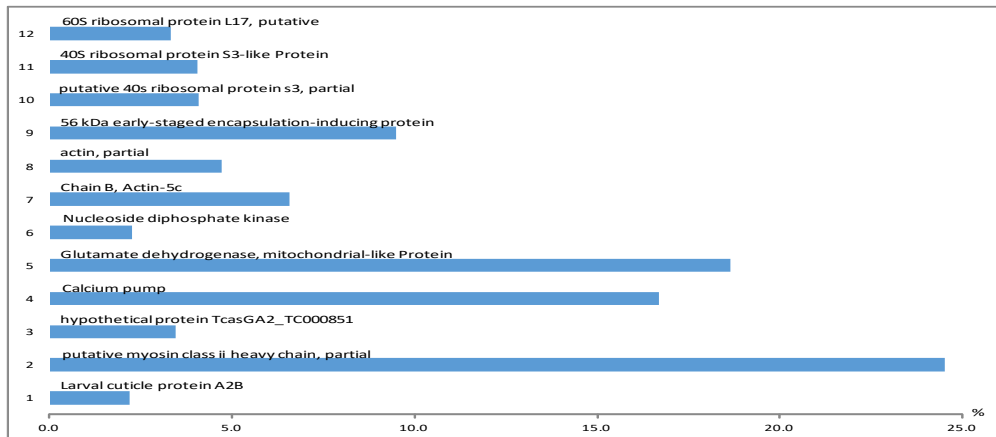


[갈색거저리 유충 가수분해물 SDS-PAGE]

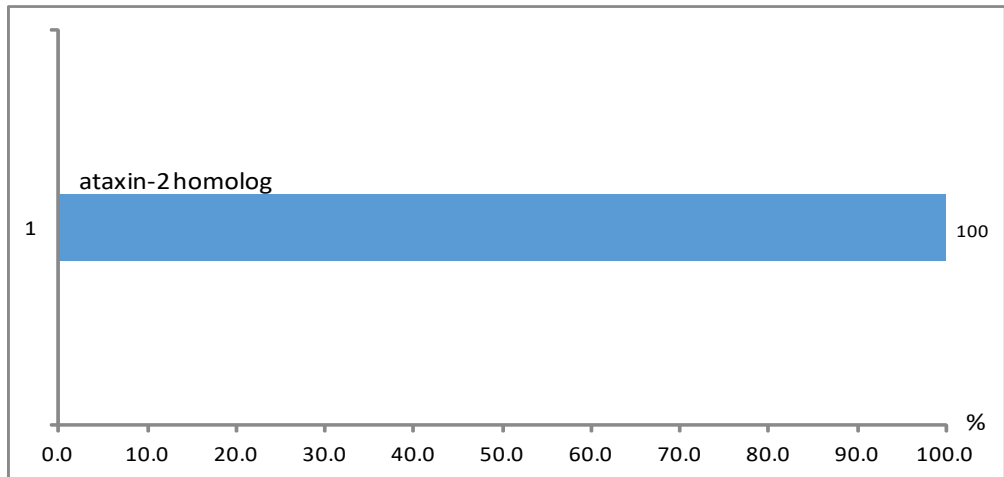
- 위 그림 중 fraction 설정하여 단백질 동정결과 fraction 2에서 일주기 행동, 액틴 필라멘트 형성, 눈 발달 및 난모 형성을 포함한 다양한 과정을 조절하는 RNA 결합 단백질(ataxin-2 homolog)과 fraction 3-2에서는 기존 단백질과 유사한 계열인 미검토된 단백질들이 확인됨



[1-3 Fraction 동정결과]

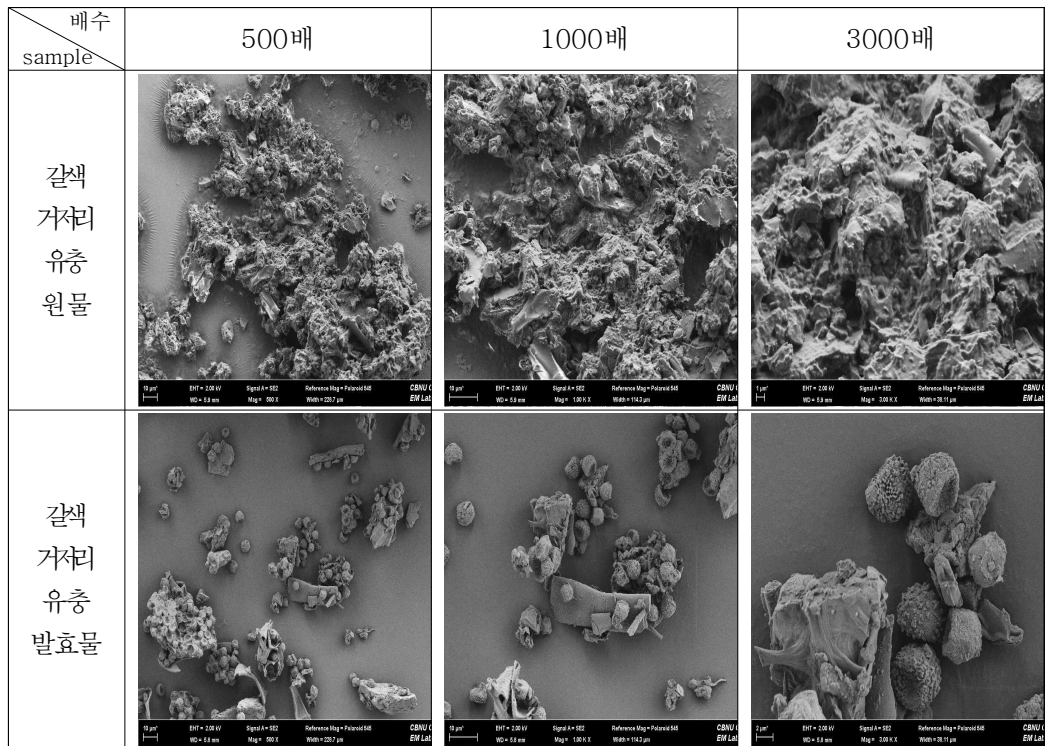


[3-2 Fraction 동정결과]



[2 Fraction 동정결과]

○ 가수분해물 미세구조(SEM)



[갈색거저리 원물 및 발효물 SEM 사진]

- 위 그림에서 미세구조 분석결과 원물대비 발효물의 구조가 분해됨 확인

○ 가수분해물 아미노산

단위 (ug/g)

분석항목	갈색거저리 유충 원물 (중국산)	발효물	갈색거저리 유충 원물 (국내산)	발효물
Glycine	307.5	292.5	290	3390
Alanine	1343.9	320.4	1284.6	6698.7
Serine	273	94.5	346.5	4476.5
Proline	609.5	126.5	4293.3	2717.8
Valine	468	117	1361.1	4446
Threonine	1059.1	107.1	166.6	2622
Leucine	733.6	235.8	388.6	5117.7
isoleucine	235.8	52.4	611.3	3096
Asparagine	158.4	39.6	92.4	198
Aspartic acid	159.6	172.9	106.4	3626.5
Lysine	10234.6	788.4	515.9	2209.5
Glutamine	58.4	175.2	1109.6	233.6
Glutamic acid	3028.2	837.9	1945.3	9594.2
Methionine	5930.2	670.5	79.5	392.4
Histidine	0	0	723.3	676.8

Phenylalanine	396	264	258.5	2249.5
Arginine	208.8	121.8	2479.5	1983.6
Tyrosine	181	253.4	1442	3782.9
Trp	40.8	61.2	1040.4	918
Cystine	0	0	0	192

- 중국산과 국내산 갈색거저리의 고상발효물의 아미노산조성을 분석한 결과 중국산은 발효 후 반려동물 필수아미노산이 크게 감소하였고, 국내산은 필수아미노산 함량이 급격하게 증가하는 경향을 보였다.
- 국내산 갈색거저리를 A.O.로 발효처리를 한 결과 아미노산 함량은 원물 대비 230% 증가하였으며, 특히 반려동물에서 필수아미노산인 Leucine, Threonine이 급격히 증가하였으며, 고양이에게서 중요한 Phenylalanine도 크게 증가하였다.
- 따라서, 반려동물 단백질원으로 갈색거저리유충을 사용할 경우 원물로 사용하기보다는 고상발효를 통해 반려동물 필수아미노산 함량을 증가시켜 사용하는 것이 타당할 것으로 사료된다.

(2) 갈색거저리 유충 가수분해 조성물의 황산화 활성 측정

- DPPH(황산화 활성 측정)

Concentration (mg/mL)	Ascorbic acid	30kDa	100kDa	발효물
10	84.63±0.79	18.91±2.94	21.76±2.38	23.15±2.21
5	83.97±1.49	16.01±2.10	20.06±2.28	21.86±2.26
2.5	84.42±0.79	16.75±2.24	19.27±2.86	24.61±2.51
1.25	85.48±0.88	14.45±6.25	17.83±1.83	31.01±2.12
0.625	83.02±1.05	15.78±2.34	17.49±2.20	30.91±2.05
0.3125	75.14±1.04	14.26±2.23	16.51±2.56	29.09±2.56
0.15625	42.31±2.65	11.59±1.91	15.13±2.86	34.64±2.20

(3) 갈색거저리 유충 가수분해 조성물의 기준규격 설정

[갈색거저리유충 원물 및 발효물 일반세균 및 대장균군]

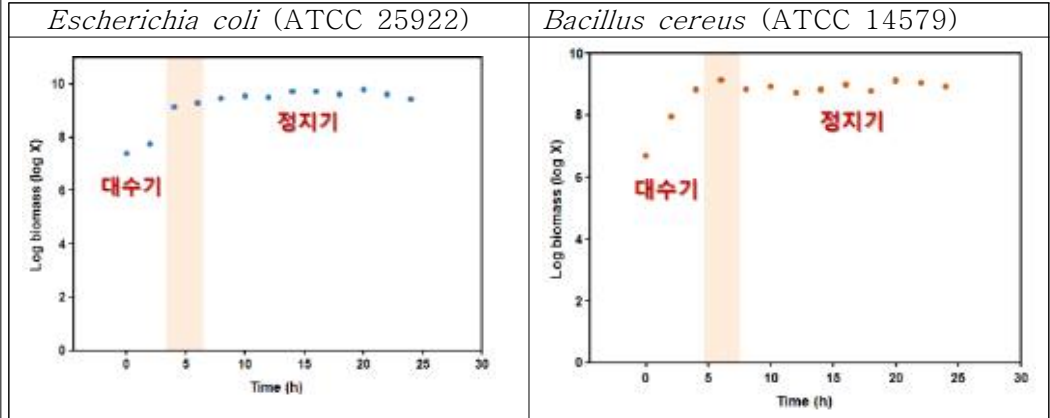
거저리 발효물	희석배수					
	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁻⁶
일반세균	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
대장균군	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D

2. 참여기관 2 : (재)베리&바이오식품연구소

1) 갈색거저리 유충과 허물에 대한 효능 평가

가) 갈색거저리 유충 최적 건조 분쇄 추출에 따른 항균효과 탐색

○ 수행결과 : 생육 곡선



○ 수행결과 : 항균실험

Escherichia coli (ATCC 25922)



Bacillus cereus (ATCC 14579)

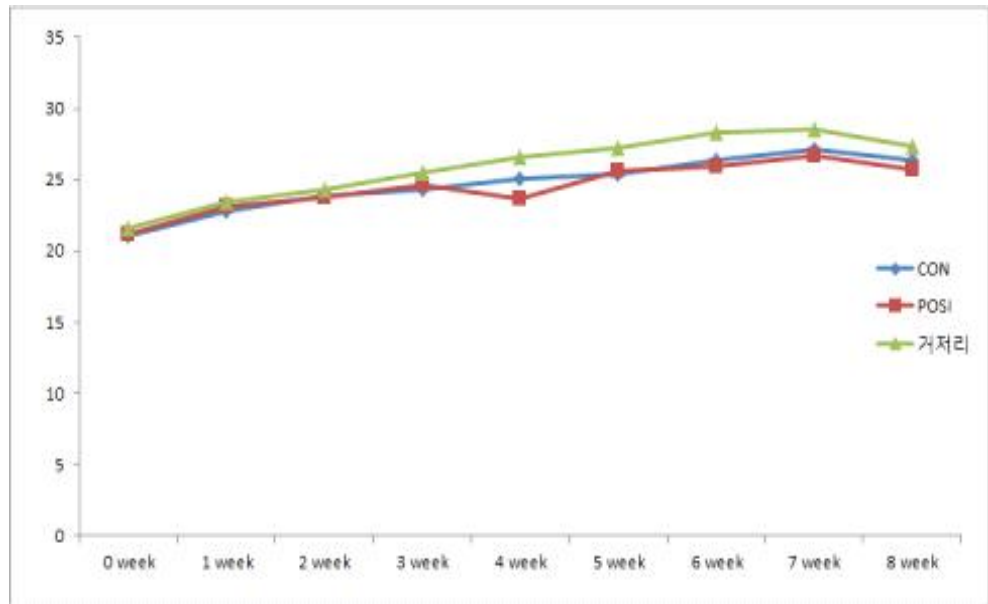


- 항균 실험 결과 거저리 유충 발효물 및 거저리 유충 가수분해 물에서는 항균효과가 없는 것으로 나타남

나) 체중 변화 등을 포함한 동물사양실험

(1) 거저리 유충 허물에 섭취에 의한 체중변화

○ 수행결과 : <8주>

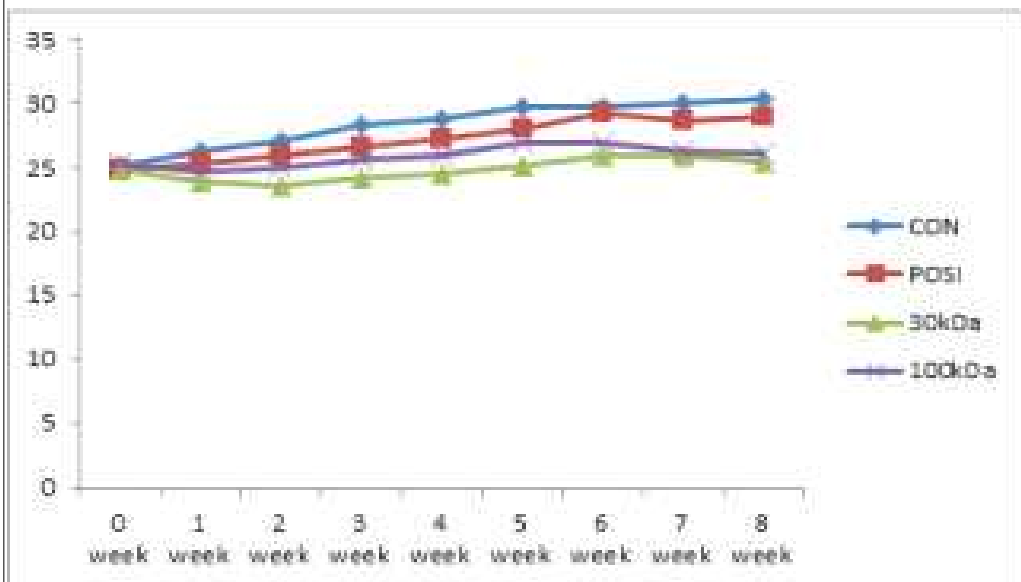


* CON : AIN-76A diet; POSI : Positive diet; 거저리 : 거저리유충 허물 diet

- 갈색거저리유충 허물 섭취에 의한 체중 변화는 섭취그룹 모두 그룹간의 차이가 없는 것으로 확인됨

(2) 갈색거저리 유충 가수분해물 섭취 결과

○ 수행결과 : 갈색거저리 유충 가수분해물의 섭취에 의한 체중변화

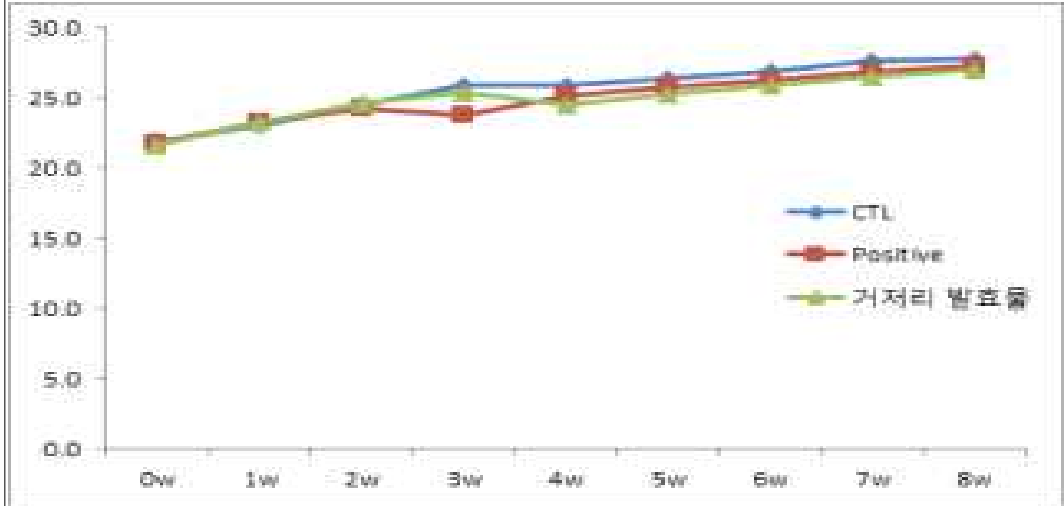


* CON : AIN-76A diet; POSI : Positive diet; 30kDa, 100kDa : 갈색거저리 유충 가수분해물

- 8주 동안 거저리 유충 가수분해물 섭취에 의한 체중변화는 30kDa, 100kDa 두 그룹 모두에서 con 및 posi 식이에 비해 감소하는 것을 확인했으며, 비만 억제에 효과가 있을 것으로 판단됨

(3) 거저리 유충 발효물 섭취 결과

○ 수행결과 : 갈색거저리 유충 발효물에 섭취에 의한 체중변화



* CON : AIN-76A diet; POSI : Positive diet; 거저리 발효물 : 갈색거저리 유충 발효물

- 거저리 유충 발효물 섭취에 의한 체중변화는 그룹간에 없는 것으로 확인됨.

다) BALB/c 마우스를 활용한 갈색거저리 유충과 허물의 prebiotic 효능확인

(1) 거저리 허물에 의한 prebiotic 효과

○ 수행결과 : 4주 거저리유충 허물섭취

시료	총균수 (Log CFU/mL)	대장균군 (Log CFU/mL)	대장균 (Log CFU/mL)	유산균 (Log CFU/mL)
CON	3.3±0.8 ^{ab}	1.9±1.2 ^{ab}	1.9±1.2 ^{ab}	2.9±0.9 ^a
Positive	3.5±0.5 ^a	2.2±0.6 ^a	2.2±0.6 ^a	2.9±0.5 ^a
거저리허물	3.0±0.5 ^b	1.3±1.3 ^b	1.3±1.3 ^b	3.1±0.7 ^a

- 8주 동안 control과 positive가 갈색거저리유충 허물 보다 유의적으로 높은 대장균군과 대장균수를 보였음. 유산균수의 경우, 세 시료 모두 유의적인 차이를 보이지 않아, 통계적으로 세 시료간의 유산균수는 같다고 볼 수 있음.

○ 수행결과 : 8주 거저리유충 허물섭취

시료	총균수 (Log CFU/mL)	대장균군 (Log CFU/mL)	대장균 (Log CFU/mL)	유산균 (Log CFU/mL)
CON	4.1±0.9 ^a	2.0±1.2 ^a	2.0±1.2 ^a	4.7±0.8 ^a
Positive	3.5±0.9 ^{ab}	1.5±0.7 ^a	1.4±0.8 ^a	3.4±0.9 ^b
거저리허물	3.1±0.7 ^b	1.9±0.6 ^a	1.9±0.6 ^a	4.5±0.8 ^a

- 통계적으로 세 시료간의 대장균군과 대장균수는 같다고 볼 수 있음. control과 갈색거저리유충 허물간의 유산균 수에 있어서 유의적인 차이가 없었으며, control과 갈색거저리유충 허물사료 섭취군이 positive 보다는 유의적으로 높은 유산균 수를 나타내었음.

○ 수행결과 : 갈색거저리유충 허물 농도별 섭취에 의한 효과

시료	유산균 (Log CFU/mL)	총균수 (Log CFU/mL)	대장균 (Log CFU/mL)	대장균군 (Log CFU/mL)
5%	5.7±0.9A	3.7±0.5A	2.0±1.3A	2.5±0.8A
10%	5.3±0.6AB	3.5±0.6A	2.1±1.0A	2.2±0.9A
20%	6.0±0.8A	3.6±0.7A	2.1±1.3A	2.0±1.4A
C	4.5±0.7BC	3.6±1.1A	1.5±1.0A	2.0±0.9A
P	4.2±0.8C	3.7±0.7A	2.2±1.2A	2.4±0.8A

- 유산균수에서 5, 10, 20 시료는 유의적 차이가 나타나지 않았고, C, P 시료도 유의적인 차이가 나타나지 않았으며, 5, 10, 20 시료는 P시료에 비해 유의적으로 유산균수가 더 높았음.
- 총균수에서 전체 시료는 유의적 차이가 없었음.
- 대장균수에서 전체 시료는 유의적 차이가 없었음.
- 대장균군수에서 전체 시료는 유의적 차이가 없었음.

(2) 갈색거저리유충 가수분해물에 의한 prebiotic 효과

○ 수행결과 : 갈색거저리유충 가수분해 물 섭취

시료	유산균 (Log CFU/mL)	총균수 (Log CFU/mL)	대장균 (Log CFU/mL)	대장균군 (Log CFU/mL)
C	4.7±0.8aB	3.8±0.6bA	2.0±0.5cA	2.1±0.4cA
P	5.4±0.4aAB	4.1±0.3bA	1.5±1.1cA	1.8±1.3cA
30	5.9±0.8aA	3.9±0.5bA	1.7±0.6cA	2.1±0.4cA
100	5.8±0.9aA	3.9±0.5bA	1.4±0.9cA	1.8±0.7cA

- 유산균수에 유산균수에서 P, 30, 100 시료는 유의적 차이가 나타나지 않았고, C, P 시료도 유의적인 차이가 나타나지 않았으며, C, 100kD, 30kD 시료는 유의적 차이가 나타났음. 100kD, 30kD시료는 C시료에 비해 유의적으로 높았음.
- 총균수에서 전체 시료는 유의적 차이가 없었음.
- 대장균수에서 전체 시료는 유의적 차이가 없었음.
- 대장균군수에서 전체 시료는 유의적 차이가 없었음.

(3) 갈색거저리 유충 발효물에 의한 prebiotic 효과

○ 수행결과 : 갈색거저리 유충 발효물 섭취

시료	유산균 (Log CFU/mL)	총균수 (Log CFU/mL)	대장균 (Log CFU/mL)	대장균군 (Log CFU/mL)
C(장)	3.4±1.2 ^{Bab}	4.5±1.3 ^{BCa}	2.1±1.6 ^{BCDb}	2.1±1.6 ^{BCb}

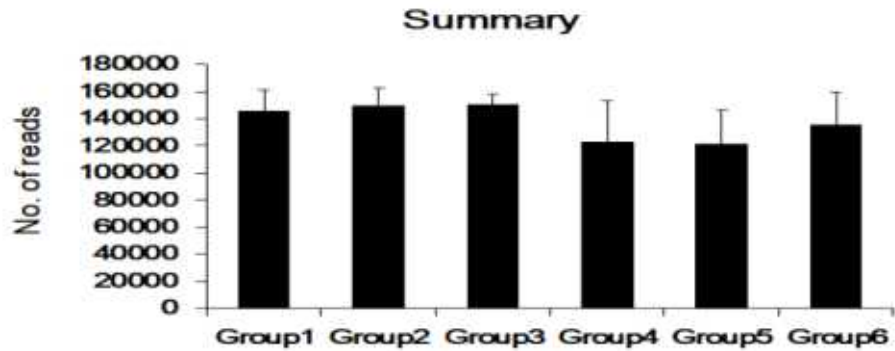
P(장)	2.2±0.9 ^{Ba}	3.0±1.0 ^{Ca}	0.4±0.5 ^{Db}	0.4±0.5 ^{Cb}
거(장)	3.1±0.5 ^{Bb}	4.4±0.5 ^{BCa}	1.2±0.6 ^{CDc}	1.3±0.4 ^{BCc}
C(분변)	6.4±0.4 ^{Aa}	6.7±0.2 ^{Aa}	4.9±1.2 ^{Aa}	4.9±1.2 ^{Aa}
P(분변)	5.8±0.5 ^{Aa}	5.7±0.5 ^{ABa}	3.1±0.8 ^{ABb}	3.1±0.8 ^{ABb}
거(분변)	5.5±0.3 ^{Aa}	6.1±0.2 ^{Aa}	2.9±0.8 ^{BCb}	2.8±0.5 ^{ABb}

- 시료의 검출한계는 1 CFU/mL 였으며 데이터는 평균±표준편차로 나타내었음.
- 각 데이터 간의 유의성 검증을 위하여 ANOVA테스트(Tukey HSD)를 실시했으며, 유의수준은 0.05이하이고(P<0.05), 같은 알파벳으로 표기된 데이터는 유의적인 차이가 나타나지 않음.
- 알파벳 소문자는 같은 시료에서의 비교(가로)를, 알파벳 대문자는 군에 따른 시료의 비교(세로)를 나타냄.
- 총균수에서 C(분변), P(분변), 거(분변) 시료 사이에서는 유의적인 차이가 없었지만 C(장), P(장), 거(장) 시료보다 유의적으로 높았음.
- 유산균수에서 C(분변)와 거(분변)시료는 P(분변) 시료와 유의적인 차이는 없었지만 C(장), P(장), 거(장) 시료보다 유의적으로 높았고, 거(분변) 시료는 P(장) 시료보다 유의적으로 높았음.
- 대장균군수에서 C(분변)시료는 P(분변)시료와 유의적인 차이는 없었고 다른 모든 시료들 보다 유의적으로 높았다. P(분변)시료는 거(분변)시료, C(장)시료와 유의적인 차이가 없었고 P(장), 거(장)시료보다 유의적으로 높았다. 거(분변)시료는 C(장), 거(장)시료와 유의적인 차이가 없었고 P(장)시료보다 유의적으로 높았음.
- 대장균수에서 C(분변) 시료는 P(분변), 거(분변)시료와 유의적인 차이가 없었고 C(장), P(장), 거(장) 시료보다 유의적으로 높았다. C(장), 거(장), P(분변), 거(분변) 시료간의 유의적인 차이는 없었고, 거(장) 시료는 P(분변), 거(분변)시료보다 유의적으로 낮았음.
- C(장) 시료에서 총균수는 다른 군들과 유의적인 차이가 없었고, 유산균 수는 대장균군수와 대장균수 보다 유의적으로 높았다. 대장균군수는 대장균수와 유의적인 차이가 없었음.
- P(장) 시료에서 총균수는 유산균수와 유의적인 차이가 없었고, 대장균군수와 대장균수는 유산균과 총균수보다 유의적으로 낮았다. 대장균군수는 대장균수와 유의적인 차이가 없었음.
- 거(장) 시료에서 총균수는 유산균수 보다 유의적으로 낮았고, 대장균군수와 대장균수 보다 유의적으로 높았다. 대장균군수는 대장균수와 유의적인 차이가 없었다.
- C(분변) 시료에서는 모든 군 사이의 유의적인 차이가 없었음.
- P(분변) 시료에서 총균수는 유산균수와 유의적인 차이가 없었고, 대장균군수와 대장균수는 유산균과 총균수보다 유의적으로 낮았다. 대장균군수는 대장균수와 유의적인 차이가 없었음.
- 거(분변) 시료에서 총균수는 유산균수와 유의적인 차이가 없었고, 대장균군수와 대장균수는 유산균과 총균수보다 유의적으로 낮았다. 대장균군수는 대장균수와 유의적인 차이가 없었음.

라) 맹장에서의 차세대염기서열분석(NGS)

(1) 갈색거저리 허물 섭취에 의한 맹장에서의 NGS 분석

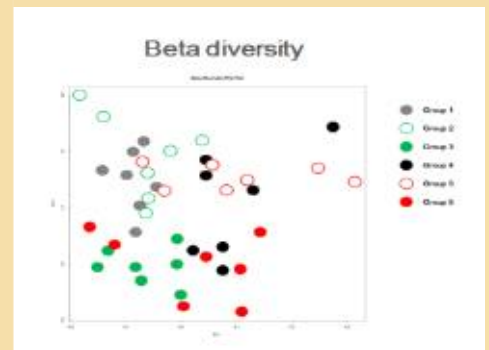
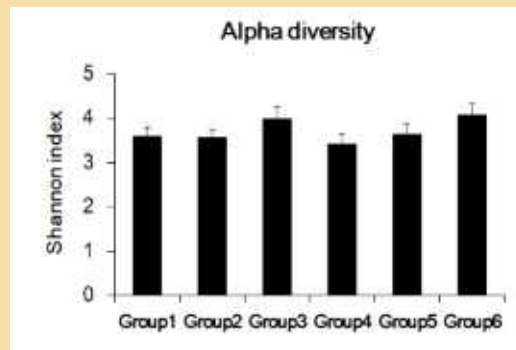
- 수행결과 : NGS 결과 그룹당 평균 137,898 (\pm 22,591) reads를 확보하였으며 그룹당 큰 차이가 없었음.



* Group1~3 : 4주 섭취, Group4~6: 8주 섭취

* Group1,4:AIN-76A diet, Group2,5: positive control diet, Group3,6: 거저리 유충 허물 diet

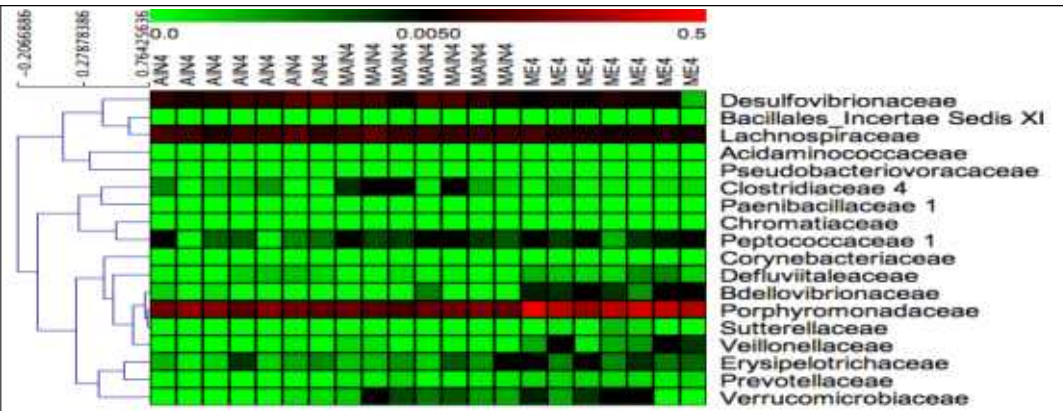
○ 수행결과 : Taxonomy 분석



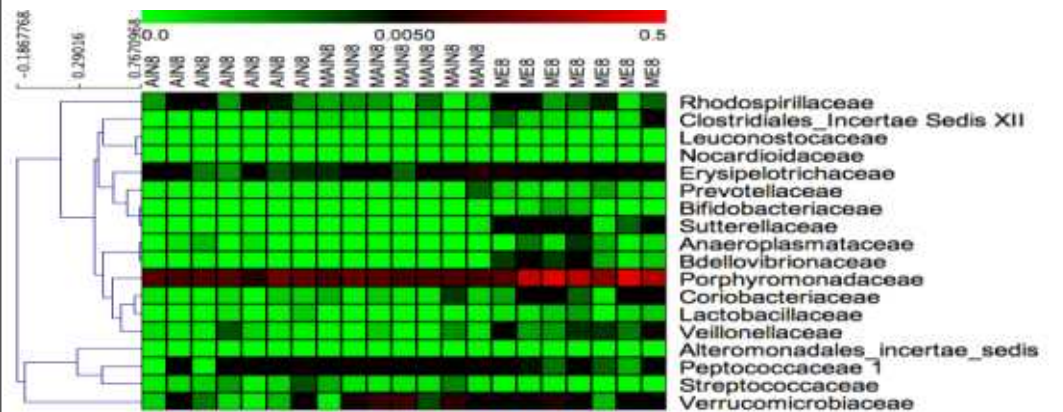
- Taxonomy 분석을 통해 얻은 OUT (operational taxonomic unit) 를 바탕으로 다양성 분석을 실시하였음. Alpha diversit 를 통해 그룹 별로 그 박테리아 다양성이 큰 차이가 없음을 확인하였으나, beta diversity를 통해 그 다양성의 구성이 차이가 있음을 확인하였음.

○ 수행결과 : Family bacteria relative abundances 비교

[Family bacteria relative abundances (4 weeks)]



[Family bacteria relative abundances (8 weeks)]

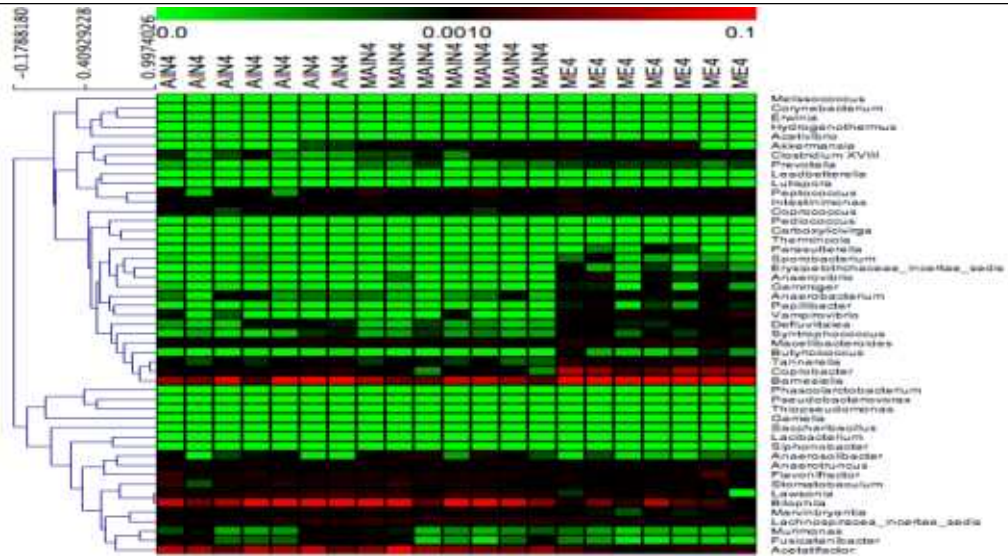


AIN4: Group1, MAIN4: Group2, ME4: Group3
 AIN8: Group4, MAIN8: Group5, ME8: Group6

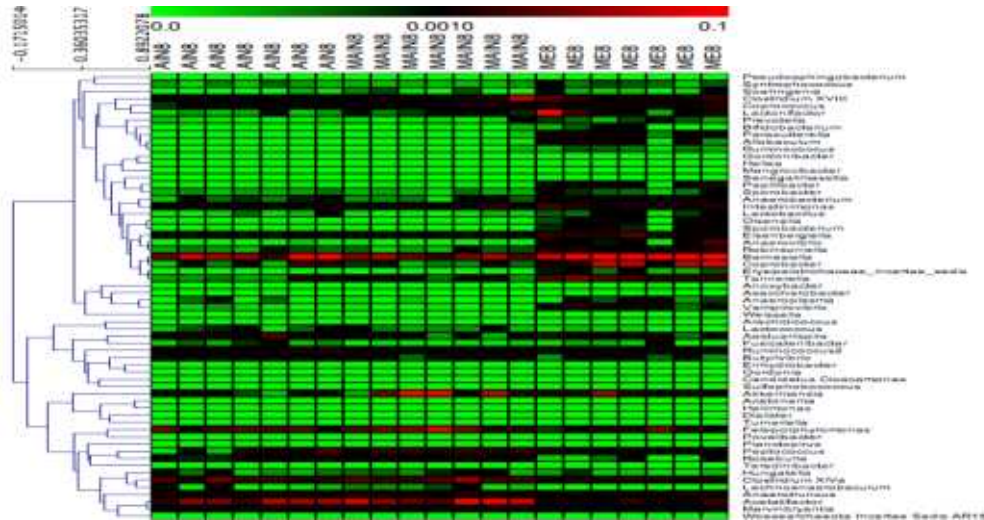
- 갈색거저리 유충허물을 먹인 군에서 증가 또는 감소한 균을 4주, 8주로 나누어 각각 통계 분석한 결과 family 수준에서는 모두 18개 씩 유의한 변화를 보였음. 이 중, Porphyromonadaceae, Erysipelotrichaceae, Veillonellaceae, Sutterellaceae, Bdellovibrionaceae 등이 많은 비율을 차지하였고, 특히 4주 식이급여 그룹에 존재하였던 Verrucomicrobiaceae, Desulfovibrionaceae는 감소하였고 Sutterellaceae는 증가 하였음.

○ 수행결과 : Genus bacteria relative abundances 비교

[Genus bacteria relative abundances (4 weeks)]



[Genus bacteria relative abundances (8 weeks)]

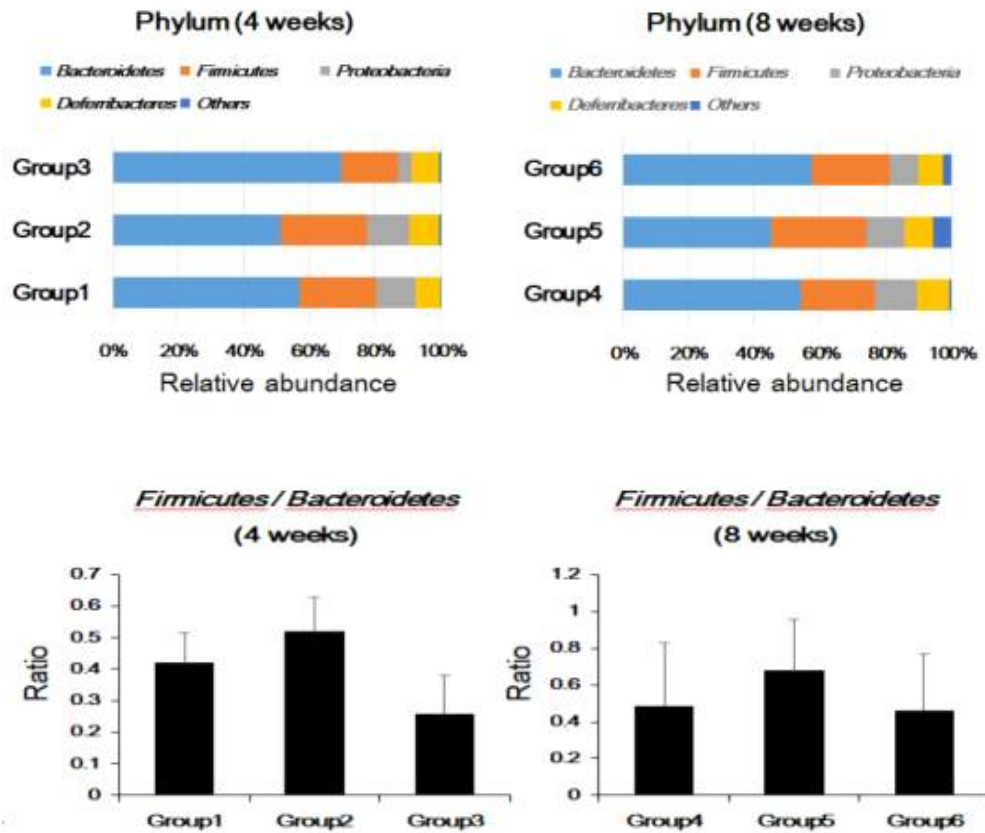


AIN4: Group1, MAIN4: Group2, ME4: Group3
 AIN8: Group4, MAIN8: Group5, ME8: Group6

- 갈색거저리 유충허물을 먹인 군에서 증가 또는 감소한 균을 4주, 8주로 나누어 각각 통계 분석한 결과 Genus 수준에서는 4주 식이그룹에서는 49개, 8주 식이그룹에서는 61개의 유의한 변화를 보였음. 이 중 *Barnesiella*, *Coprobacter*, *Tannerella* 등이 많은 비율을 차지하였고, *Lactonifactor*, *Eisenbergiella*가 8주 식이그룹에서 유의하게 증가하였음.

○ 수행결과 : NGS 분석을 통한 다른 시료와의 미생물 군집 패턴 차이

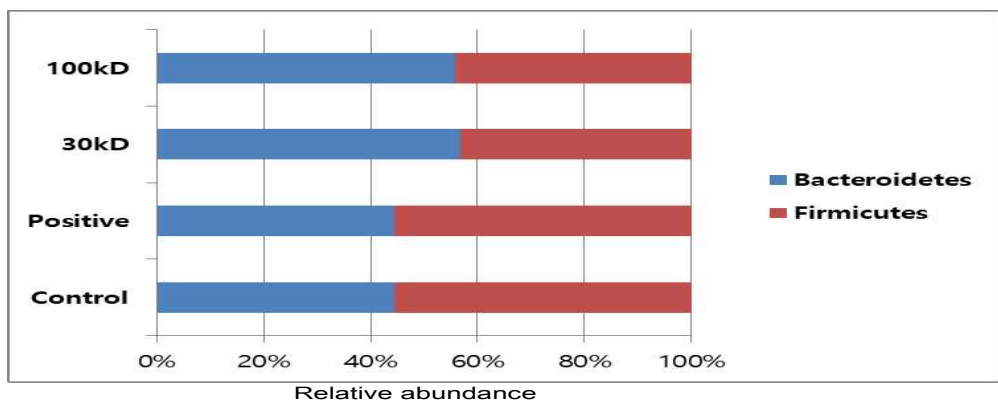
[Phylum Bacteroidetes균과 Firmicutes균 상관관계 비교]



- 갈색거저리 유충허물을 먹인 군에서 다른 군에 비해 Phylum Bacteroidetes가 증가 되었고, Firmicutes가 감소하는 경향을 보임. 이는 일반적으로 비만에서 나타나는 현상과 반대되는 결과를 보임.

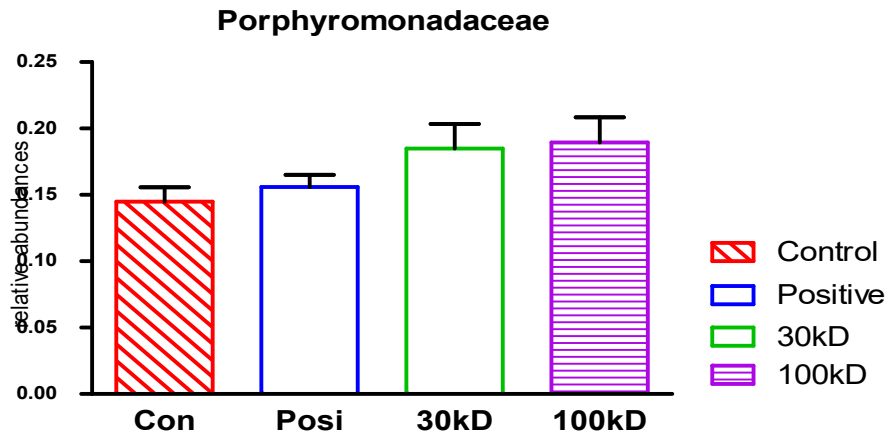
(2) 갈색거저리 가수분해물 섭취에 의한 맹장에서의 NGS 분석

[Phylum-Bacteroidetes 균과 Firmicutes 균 상관관계 비교]



- 수행결과 : 장내 미생물 불균형은 병원균이 대장 벽에 침투 하는 것을 막지 못하는데, 정상인과 비교했을 때 과민성 대장 증후군 환자의 마이크로바이오타는 Ruminococcus, Clostridium, Dorea 를 포함해 Firmicutes가 증가한 반면 Bifidobacterium과 Gaecalibacterium은 현저하게 감소하였으며, 일반적으로 의간균인

Bacteroidetes에 대한 장내 후벽균인 Firmicutes 비율이 높은 것이 큰 특징이다. Firmicutes/Bacteroidetes 비율은 장내 세균총의 다양성이 감소 및 증가 되었다는 지표로 사용되고 있으며 2006년 nature journal을 보면 고도비만 환자가 체중을 감량함에 따라 Phylum의 Firmicutes과 Bacteroidetes 분포에 대해 발표한 연구 결과가 있다. 이 연구에서 고도비만 환자는 당초 Firmicutes가 전체의 90%를 차지했지만 체중 감량 12주 후에는 Firmicutes가 소폭 감소하고 거의 없던 Bacteroidetes는 10%로 증가했다.



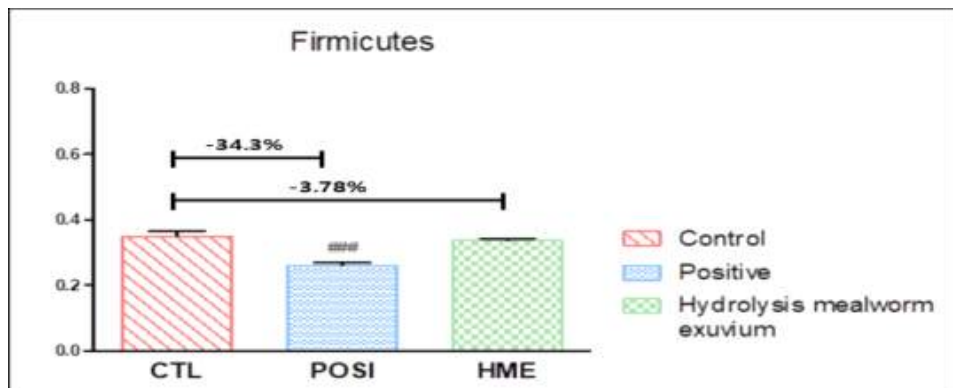
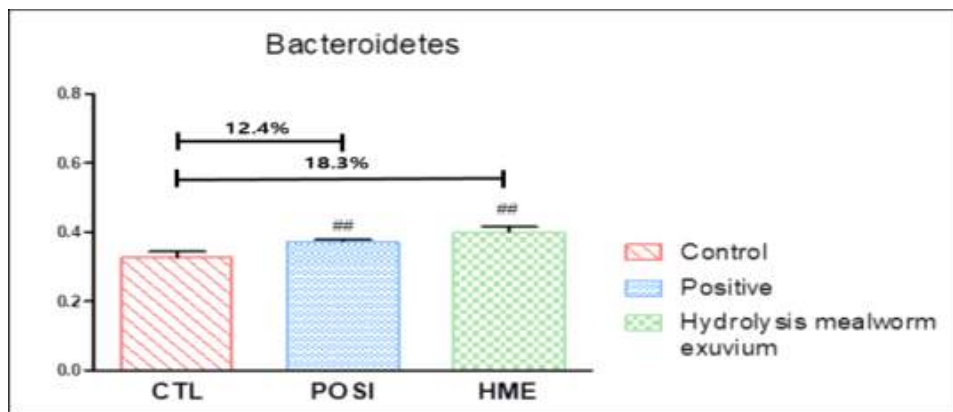
○ 본 연구에서는 갈색거저리 유충 가수분해물 30kD 군에서 Control (0.311 ± 0.063) 군에 비해 Bacteroidetes (0.412 ± 0.115)가 약 12.4% 증가하였고, Firmicutes (0.313 ± 0.062)는 약 12.4% 감소하는 경향을 보였다. 갈색거저리 유충 가수분해물 100kD 군에서도 마찬가지로 Control (0.39 ± 0.07) 군에 비해 Bacteroidetes (0.449 ± 0.073)가 약 11.4% 증가 Firmicutes (0.356 ± 0.069)가 약 11.4% 감소하는 경향을 보였다. 장내에서 또는 장 조직에 붙어서 공생하는 마이크로바이옴은 음식과 인체에서 소화하는 과정에서 대사물질을 생성하며, 이것은 다른 미생물들과의 상호작용을 통해 인체의 면역체계, 대사, 신경계, 뇌 행동 발달 조절 등 다양한 부분에 작용하여 인체 건강에 영향을 끼치는 것으로 알려져 있다. 장내 마이크로바이옴은 질병과도 깊은 관련성이 있는 것으로 밝혀져 최근 많은 마이크로바이옴 연구가 진행되고 있고 그 중 식용 곤충의 한 종류인 갈색 거저리의 유충인 밀웜은 최근 기능성 소재로 질병과 연구하여 많은 연구를 하고 있고 이 중 마이크로바이옴 상관관계 기초 연구에 대한 필요성이 제시되고 있다.

○ 수행결과 : 갈색거저리 유충 가수분해물 8주 섭취 후 맹장에서의 NGS 분석결과 family 그룹에서는 Porphyromonadaceae, Bacteroidetes Lachnospiraceae 군주가 증가하였다. 증가 군주 중 가수분해 거저리 섭취 동물 그룹에서 가장 많은 비율을 차지하는 family 미생물 군주인 Porphyromonadaceae는 건강한 성인에서 많이 발견되는 군으로 분석결과 통계적으로 유의성은 보이지 않으나 30kD(0.185 ± 0.058), 100kD(0.189 ± 0.06) 두 군에서 Control(0.145 ± 0.031) 군보다 약 22%정도 늘어나는 경향을 보

이고 있으며 특히, Porphyromonadaceae의 genus에 속한 균주인 Barnesiella는 항염증 작용을 보이며 항생제 내성 균을 저해하는 효과가 있다고 알려져 있는 것으로 가수분해 거저리 균인 30kD(0.081 ± 0.048)와 100kD(0.095 ± 0.041)에서 Control(0.048 ± 0.019) 균보다 약 40% 늘어나는 경향을 알 수 있으며, 100kD 균에서는 약 48% 증가하여 유의성 있는 결과가 확인되었다.

(3) 갈색거저리 유충 발효물 섭취에 의한 맹장에서의 NGS 분석

[Phylum- Bacteroidetes 균과 Firmicutes 균 상관관계 비교]



Statistical analyses were done by t-Test and Manna-Whitney test.
 ## $p < 0.01$ and ### $p < 0.001$ compared with Control vs Positive vs HME

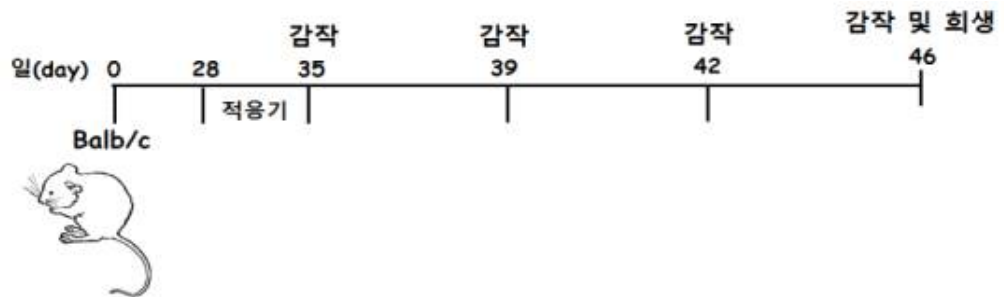
- 수행결과 : Firmicutes/Bacteroidetes 비율은 장내 세균총의 다양성이 감소 및 증가 되었다는 지표로 사용되고 있으며 2006년 nature journal을 보면 고도비만 환자가 체중을 감량함에 따라 Phylum의 Firmicutes과 Bacteroidetes 분포에 대해 발표한 연구결과가 있다. 이 연구에서 고도비만 환자는 당초 Firmicutes가 전체의 90%를 차지했지만 체중 감량 12주 후에는 Firmicutes가 소폭 감소하고 거의 없던 Bacteroidetes는 10%로 증가했다.
- 본 연구에서는 HME군에서 Control군(0.327 ± 0.05)에 비해 Bacteroidetes(0.4 ± 0.05)가 약 18.3% 증가하여 통계학적으로 유의성 있는 결과를 확인하였고, Positive군(0.373 ± 0.05)에서도 마찬가지로 Control군과 비교하여 약 12.4% 증가함을 확인 할 수 있었다. Firmicutes 군주는 Control군(0.349 ± 0.05)에 비해 HME군($0.336 \pm$)에서 약 3.78% 감소하는 경향을 보였고, Positive군(0.260 ± 0.03)에서는 Control군과 비교하여 약 34.3% 감소하여 유의성 있는 결과를 확인 할 수 있었다.

2) 갈색거저리 유충 가공기술에 따른 효능 평가

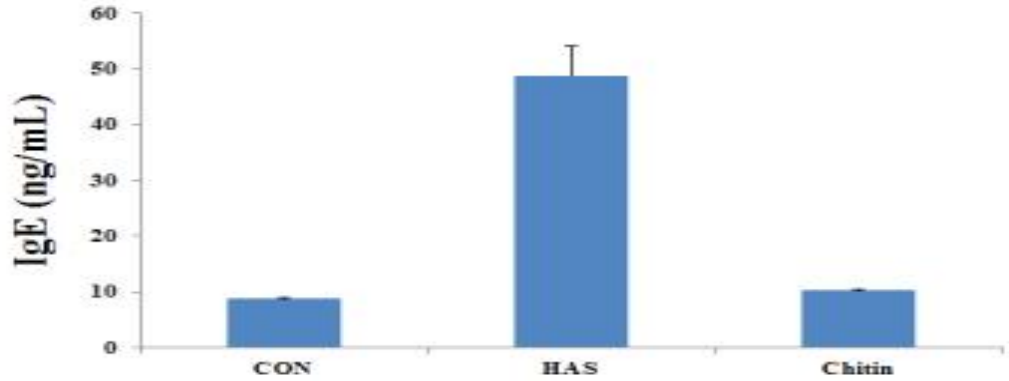
가) BALB/c 마우스를 활용한 갈색거저리 유충 가공기술에 따른 항알러지 효능 확인

(1) 알러지 동물모델 개발

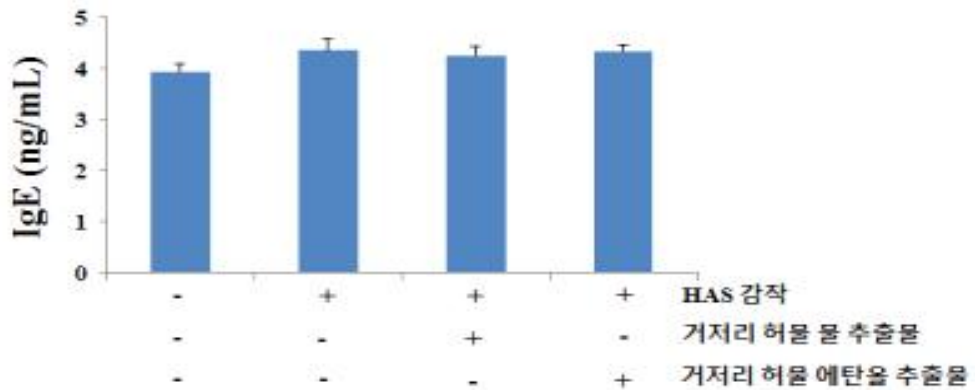
- 수행목적 : 동물을 활용한 식품활용 알러지 감작 모델은 아직까지 개발되어 있지 않음. 따라서 본 실험에서 HSA 및 chitin을 활용하여 식품의 알러지 검증을 위한 알러지 동물모델을 개발하려 함.



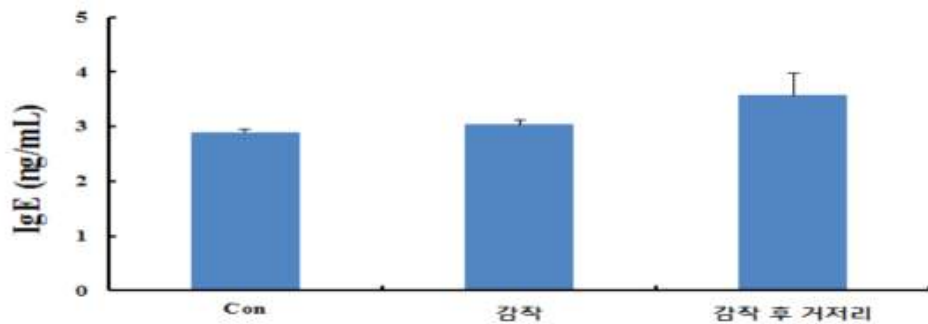
- 수행결과 : 마우스에서의 알러지 반응을 확인하기 위해 위의 그림과 같은 방법으로 human serum albumin (HSA) 및 Chitin을 이용하여 마우스에 4회 감작 후 희생하여 얻은 혈액으로 IgE의 농도를 확인하였음.



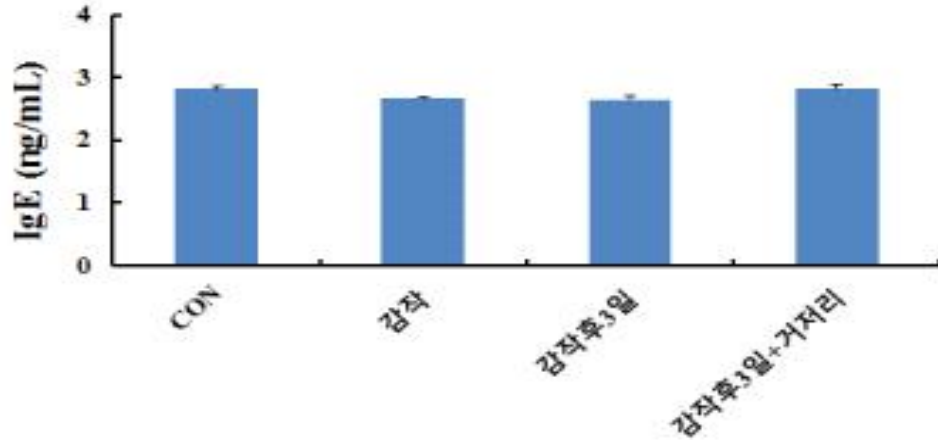
- 위의 그래프와 같이 control에 비해 HSA 감작에 의해 IgE가 증가되는 것으로 보아 HSA감작에 의해 알러지 반응이 일어남을 확인하였음.



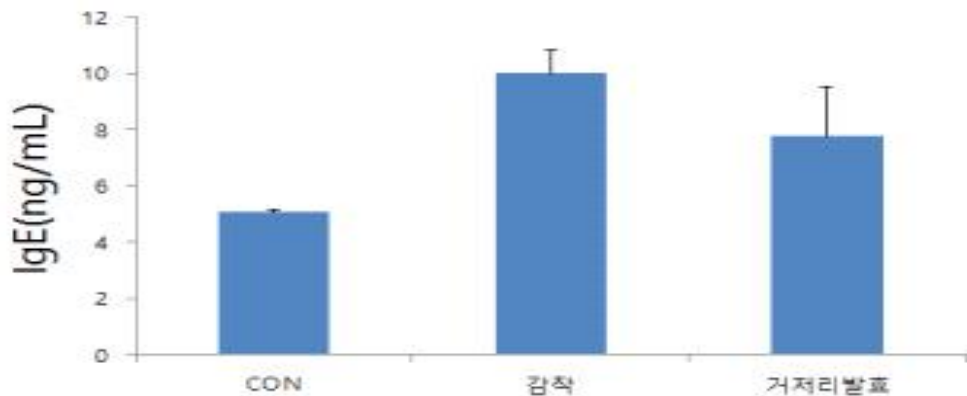
- HSA 감작에 의해 IgE 가 증가된 결과를 토대로 갈색거저리허물 추출물을 경구 투여하기 위해 추출물 투여군은 하루전날 HSA 감작을 진행하였고, 해부 당일에 갈색거저리 허물 물 및 에탄올 추출물을 경구 투여하여 실험동물을 희생함. 위의 그래프와 같이 HSA 감작에 의해 IgE 가 증가 되는 것을 확인하였으나 추출물 처리에 의한 변화를 보이지 않아 실험디자인을 변경하기로 함.



- 감작 후 3일 뒤에 control 수준으로 IgE 농도가 떨어지는 것을 확인하였고 경구투여한 갈색거저리 물 추출물에서 IgE의 농도가 다시 증가하는 것을 확인하였음. 물질의 알러지 반응을 테스트하기 위해서는 감작 후 3일 뒤 control 수준으로 IgE가 내려왔을 때 경구투여로 실험해야 될 것으로 판단됨



- 앞선 실험에서 감작에 의한 영향을 확인할 수가 없어 재 실험을 수행한 결과 감작에 의한 증가는 나타나지 않았으며 감작 후 3일과 갈색거저리 경구투여에 의한 결과는 앞선 결과와 같은 것으로 판단되나 감작의 농도를 다시 수행하여야 될 것으로 판단됨
- 5주령 Balb/c를 1주일간 환경에 적응시킨 후 3일 간격으로 HSA로 피하에 감작시킴. 최종일에는 감작 군만 감작시키고 갈색거저리유충 발효물을 경구투여 후 1시간 뒤에 혈액을 채취하여 IgE를 확인함



- 갈색거저리유충 발효물 경구투여시 IgE 수준이 감소하는 경향을 보이나, 유의적 차이를 보이지 않아 알러지를 억제 하지는 않는 것으로 판단됨

(2) 알러지 인덱스 개발을 위한 일반사료 및 알러지 저감사료의 알러지 반응 확인

- 실험 방법 : 5주령 Balb/c를 1주일간 환경에 적응시킨 후 3일 간격으로 HSA로 피하에 감작시킴. 최종일에는 감작 군만 감작시키고 일반 및 저감사료 물 추출물을 경구투여 후 1시간 뒤에 혈액을 채취함. 그리고 HSA는 PBS에 녹인 후 Alum 과 1:1로 희석하여 사용함

[HSA 감작 : -, + 로 표시, HSA 농도: 200 ug/ml]

Days	0 day	3 day	6 day	9 day (해부)
Control	-	-	-	-
감작그룹	+	+	+	+
경구 투여 그룹 (사료추출물)	+	+	+	-

○ 수행 결과 : 1차 실험 결과

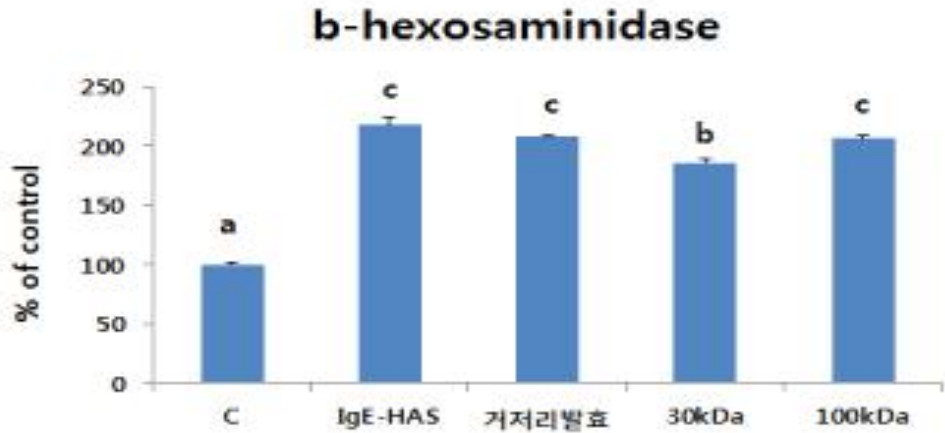
	CON	감작	저감사료	일반사료
1	5.907181	15.12094	7.119685	7.483915
2	5.907181	12.07044	5.398063	9.375289
3	5.888197	6.579778	5.201896	7.943113
4	5.945332	16.89693	6.916388	10.87151
평균	5.911973	12.66702	6.159008	8.918457
표준오차	0.011986	2.260609	0.499302	0.765524
감작군 대비 유의성	O		O	X

○ 수행 결과 : 2차 실험 결과

	CON	감작	저감사료	일반사료
1	4.8888	10.0057	7.9104	8.6983
2	5.3241	6.6697	5.8545	9.4121
3	4.9442	8.7264	7.1018	11.1091
4	5.1307	8.8822	8.4909	9.8301
5	5.2476	11.8097	7.9359	13.9391
6	5.0650	10.5345	8.1037	6.2942
7	4.8496	13.2181	5.7333	9.7043
평균	5.0643	9.9780	7.3043	9.8553
표준오차	0.0685	0.8147	0.4204	0.8795
감작군 대비 유의성	O		O	X

- 갈색거저리유충 감작 그룹에 비해 저감사료 군에서는 알러지의 지표인 IgE 농도가 유의적으로 감소하였으며, 일반사료 군에서는 감작그룹과 비교하여 유의적 차이가 없는 것을 확인함.
- 1, 2차 실험 결과는 알러지 관련 동물 모델이 확립된 것으로 판단됨.

나) RBL-2H3 세포를 활용한 갈색거저리 유충 가공기술에 따른 항알러지 효능 확인



○ 수행 결과 : RBL-2H3세포에 갈색거저리유충 발효물 및 갈색거저리유충 가수분해물을 처리하여 알러지 지표로 사용되는 β -hexosaminidase를 확인한결과 갈색거저리 유충 가수분해물(30kDa)에서 β -hexosaminidase의 감소를 확인하여 알러지 억제에 도움을 줄 수 있는 것을 확인함

다) BALB/c 마우스 혈액 내 chemokine과 cytokine 그리고 interleukin 분비 확인

[갈색거저리유충 허물 섭취에 의한 혈액내 알러지 지표 변화]

	IL2	IL4	IL5	IL6	IL10	IL12
CON	1±0.03	1±0.02	1±0	1±0.06	1±0.01	1±0.02
POSI	0.97±0.01	0.95±0.01	0.88±0.01	0.77±0.01	0.91±0.01	0.84±0
5%	0.92±0.01	0.81±0.01	0.98±0.01	1.22±0.01	1.02±0	0.89±0.01
10%	0.94±0.01	0.93±0.01	0.92±0	0.95±0	0.97±0.01	1.07±0
20%	0.93±0	0.86±0.01	0.85±0.01	0.68±0.01	0.95±0	0.89±0.01

	IL13	IL17A	IL23	IFN γ	TNF α	TGF β 1
CON	1±0.02	1±0	1±0.05	1±0.01	1±0.03	1±0.01
POSI	3.1±0.05	1.03±0	0.99±0.01	0.89±0.01	0.94±0.01	1.07±0.01
5%	0.9±0	1.03±0.01	0.72±0.01	0.98±0	1.11±0.03	0.95±0.01
10%	0.94±0	1.01±0.01	0.69±0.01	0.94±0.01	0.9±0.02	1.01±0.01
20%	0.97±0.01	0.73±0	0.7±0.01	0.91±0.01	0.88±0.02	0.96±0.01

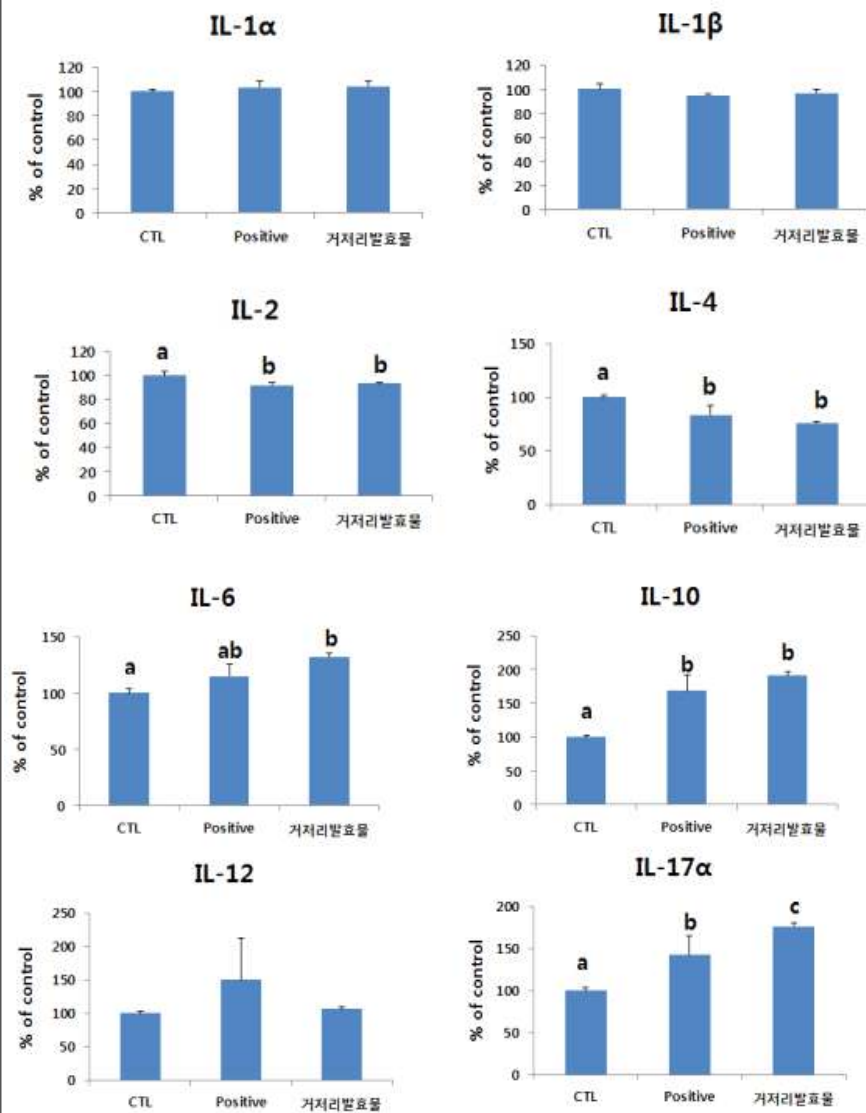
○ 수행 결과 : 알러지 반응에 의해 증가될 수 있는 사이토카인들을 확인한 결과 8주간의 거저리허물의 농도별 섭취에 의해서는 조사한 12종의 사이토카인들의 변화가 없는 것을 관찰하였다. IL-6, IL17A, IL-23, TNF α 의 경우에는 Control그룹에 비해 유의적으로 사이토카인 수준이 감소하는 것으로 보아 알러지 반응이 일어나지 않은 것으로 판단됨.

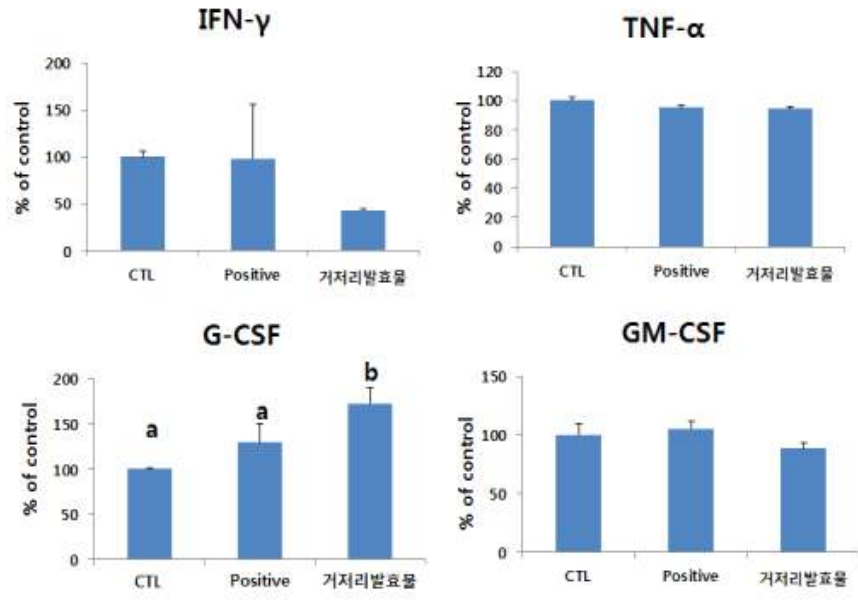
[갈색거저리유충 가수분해물 섭취에 의한 혈액내 알리지 지표 변화]

	IL2	IL4	IL5	IL6	IL10	IL12	IL13	IL17A	IL23	IFN γ	TNF α	TGF β 1
Con	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
Posi	109.8	111.8	113.5	93.7	89.4	103.9	90.2	103.8	83.3	102.0	100.0	96.8
30	103.9	103.9	101.9	94.9	78.8	105.9	54.9	103.8	67.9	98.0	100.0	103.2
100	103.9	103.9	105.8	97.5	102.4	105.9	53.3	101.9	73.1	116.0	107.7	101.6

○ 수행 결과 : 알리지 반응에 의해 증가될 수 있는 사이토카인들을 확인한 결과 8주간의 가수분해 갈색거저리유충 섭취에 의해서는 IL-10, IL-13, IL-23의 경우에는 Control그룹에 비해 유의적으로 사이토카인 수준이 감소하는 것으로 보아 알리지 반응이 일어나지 않은 것으로 판단됨.

[갈색거저리유충 발효물 섭취에 의한 혈액내 알리지 지표 변화]

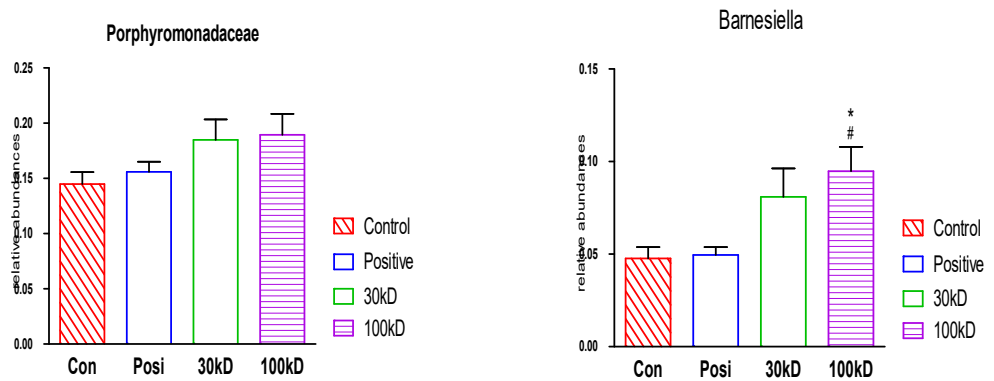




○ 수행 결과 : 갈색거저리유충 발효물 섭취에 의한 마우스 혈액에서의 cytokine 변화를 확인한 결과 IL-2, IL-4의 경우 감소 하는 경향을 보였고 IL-10, IL-6, G-CSF, IL17a의 경우 증가하는 경향을 보였다. cytokine의 경우 알러지 반응을 일으킬 수도 있지만, 면역력 증진과도 연계되어 있어 이 지표의 추가 연구가 필요할 것으로 사료됨.

라) BALB/c 마우스 장 내 미생물과 연계한 항알러지 영향 확인

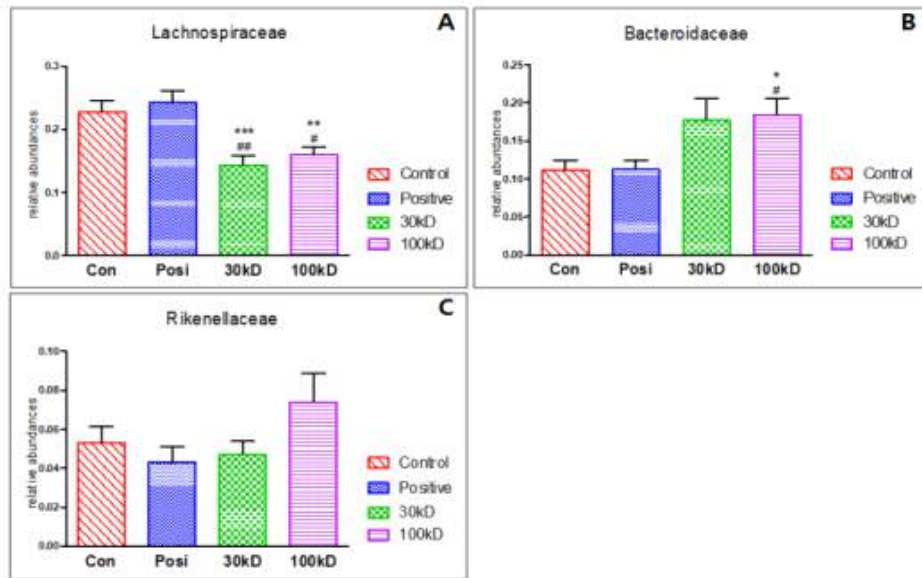
[갈색거저리유충 가수분해물 섭취에 의한 알러지 및 염증 관련 미생물 변화]



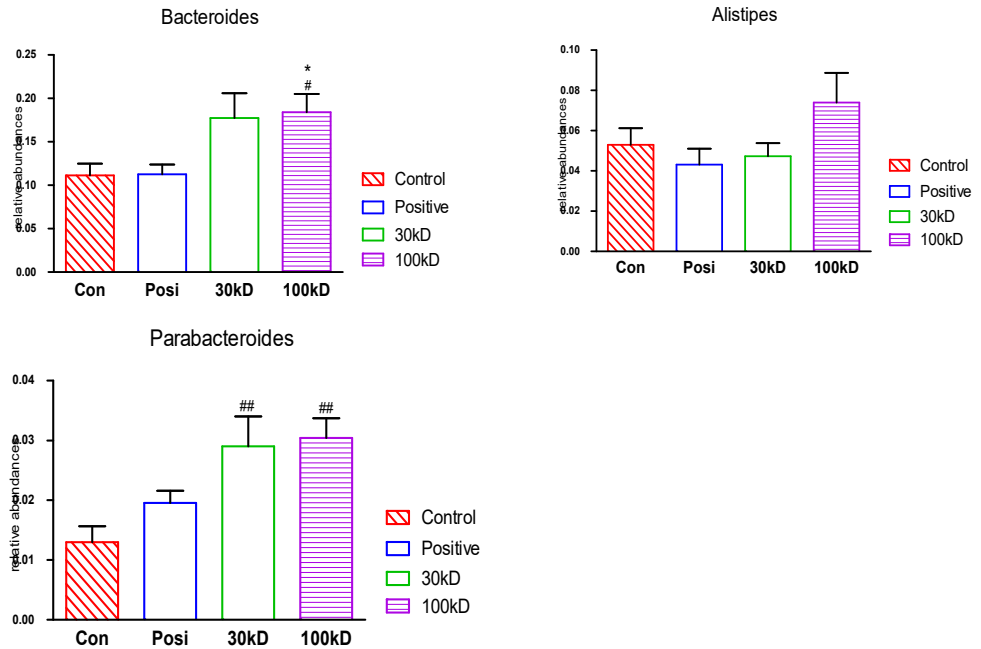
○ 수행 결과 : 동물시험에서 갈색거저리 유충 가수분해물을 먹인 후 NGS 분석결과 family 그룹에서는 Porphyromonadaceae, Bacteroidetes Lachnospiraceae 균주가 증가하였고 이에 속하는 genus 균들이 역시 증가하였다.

○ 증가 균주 중 가수분해 갈색거저리 동물 그룹에서 가장 많은 비율을 차지하는 family 미생물 균주인 Porphyromonadaceae는 건강한 성인에서 많이 발견되는 균으로 분석결과 통계적으로 유의성은 보이지 않으나 30KD(0.185±0.058), 100KD(0.189±0.06) 두 군에서

Control(0.145 ± 0.031) 군보다 약 22% 정도 늘어나는 경향을 보이고 있으며 특히, Porphyromonadaceae의 genus에 속한 균주인 *Barnesiella*는 항염증 작용을 보이며 항생제 내성 균을 저해하는 효과가 있다고 알려져 있는 것으로 가수분해 갈색거저리 균인 30KD(0.081 ± 0.048)와 100KD(0.095 ± 0.041) 에서 Control(0.048 ± 0.019) 군보다 약 40% 늘어나는 경향을 알 수 있으며, 100KD 군에서는 약 48% 증가하여 유의성 있는 결과가 확인되었다.

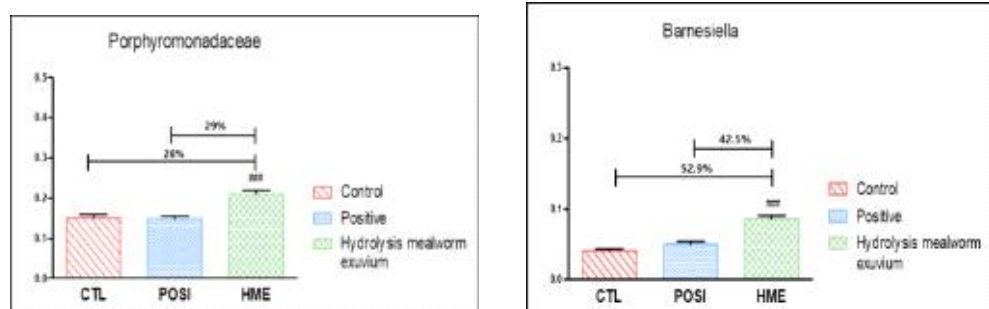


- 수행 결과(A) : 면역반응에 영향을 미치는 균으로 인간 질병과 관련된 스트레스 후 명백한 증가를 보이는 균인 Lachnospiraceae균은 control(0.227 ± 0.059)과 비교하였을 때 30kD(0.143 ± 0.049), 100kD(0.159 ± 0.040)균에서 약 58% 정도 유의하게 감소하였다. 스트레스가 감소하는 경향을 보이기는 하나 추 후 더 자세한 연구가 필요할 것으로 보인다.
- 수행 결과(B) : Bacteroidaceae균은 당뇨, 비만 그리고 알코올 중독자에서 적게 발견된다는 연구 결과가 있으며 본 실험에서는 30kD(0.177 ± 0.009)에서 증가하는 경향을 보였고, 100kD(0.184 ± 0.066)에서는 약 39.6% 증가로 유의한 차이를 확인하였다.
- 수행 결과(C) : 고지방 식이를 먹인 쥐에서 증가한다는 보고가 있는 Rikenellaceae균은 30kD(0.047 ± 0.021)에서 control(0.053 ± 0.026) 그룹과 비슷한 양상을 보였으나 100kD(0.074 ± 0.047)에서는 약 28.3% 증가함을 확인할 수 있었다.
- 수행 결과 : 최근 알츠하이머병 환자와 정상인의 마이크로바이옴 비교분석 결과가 2017년 10월, Scientific Reports 를 통해 나왔는데, 알츠하이머병 환자 25명과 정상인 94명의 대변에서 bacterial 16s rRNA 시퀀싱한 결과, 속 (Genus) 수준에서는 Bacteroides, Alistipes 균주가 풍부할수록 아밀로이드 부하(burden)이 심한 것으로 결과가 확인되어 향후 알츠하이머의 상관관계 연구가 필요 할 것



으로 판단되어진다. 그리고 Rikenellaceae에 Genus 군에 속하는 Alistipes는 염증성 장 질환, 궤양 성 대장염 및 크론병 환자에게서 감소하는 양상을 보인다. 본 연구에서 Control (0.053 ± 0.026) 군과 비교하여 100kD (0.074 ± 0.047)는 약 28.3% 증가하는 경향을 확인 할 수 있었다. 또한 Parabacteroides 균주는 hetero- 및 iso-antagonic 효과를 갖는 박테리오신의 생산을 하고 이것은 장내 미생물에서의 외인성 미생물의 침입에 대한 방어를 제시하는 효과로 알려져 있는데 본 연구에서 Control (0.013) 군과 비교하여 30kD (0.029 ± 0.016), 100kD (0.03 ± 0.01) 약 56% 증가로 유의성 있는 결과가 확인되어 면역관련에 효과가 있는 것으로 판단되어진다.

[갈색거저리 발효물 섭취에 의한 알리지 및 염증 관련 미생물 변화]



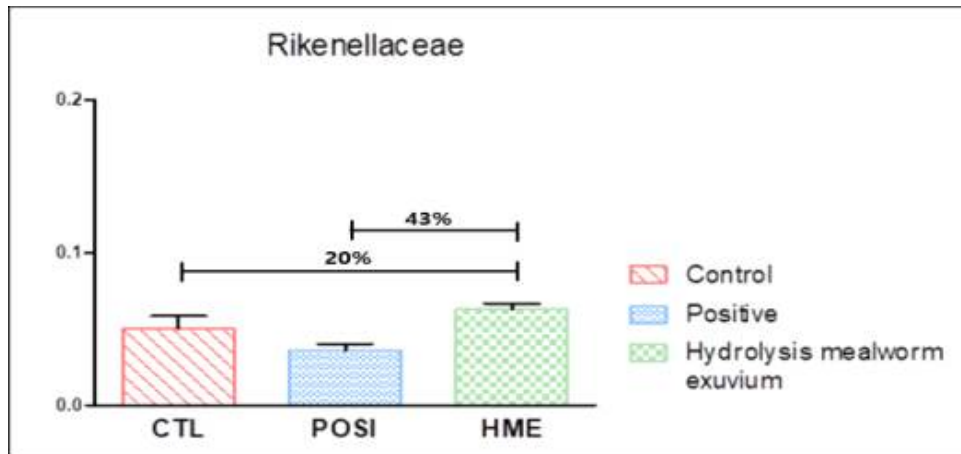
Statistical analyses were done by t-Test and Mann-Whitney test.

###p<0.001 compared with Control vs HME

*HME: 갈색거저리 유충 발효물 식이

- 수행 결과 : 본 연구에서는 갈색거저리 유충 발효물 섭취 후 NGS 분석결과, family 그룹에서는 Porphyromonadaceae 균주가 증가하였고 이에 속하는 Barnesiella 균 역시 증가함을 확인하였다. Porphyromonadaceae는 HM 군에서 많은 비율을 차지하는 family 미생물 균주로 건강한 성인에서 많이 발견되는 균이다. 분석결과

Control (0.150 ± 0.028) 군, Positive (0.148 ± 0.017) 군과 비교하여 HME (0.210 ± 0.024) 군에서 약 28-29% 정도 통계적으로 유의한 증가를 확인 할 수 있었다. 특히, *Barnesiella*는 항염증 작용을 보이며 항생제 내성균을 저해하는 효과가 있다고 알려져 있는 것으로 HM (0.086 ± 0.015) 군에서 Control (0.040 ± 0.010) 군보다 약 52.9% 늘어나는 경향을 알 수 있으며, Positive (0.049 ± 0.014) 군보다는 약 42.5% 증가하여 유의성 있는 결과가 확인되었다.



○ 수행 결과 : Rikenellaceae는 gut에 있는 박테리아이며 소화기관의 건강을 나타내며 연구 결과 고지방 식이를 먹인 쥐에서 증가한다고 보고되었다. Control 군과 비교하여 Positive 군에서는 감소하였지만, HM 군에서는 증가하는 경향을 보였지만 유의적인 차이는 두 처리군에서 모두 없었다. 그리고 Rikenellaceae에 Genus 군에 속하는 *Alistipes*는 염증성 장 질환, 궤양성 대장염 및 크론병 환자에서 감소하는 양상을 보인다. 분석 결과 Control 군에서는 발견되었지만 Positive 군과 HM 군 모두에서 발견할 수 없었다.

연구개발성과의 활용계획 (기대효과)

- 기술적 측면
 - 본 과제를 통해 갈색거저리 유충과 갈색거저리 유충 가수분해물의 영양학적 가치를 확립하고, 가수분해물의 기능성을 검증하여 주요 동물성 단백질 원료 대체를 위한 이론적인 배경과 가능성 확보
 - 갈색거저리 유충의 성장을 촉진하여 생산효율을 향상시킬 수 있는 전용사료 배합비 개발로 갈색거저리 유충 사육농가의 생산성 향상 기여
 - 갈색거저리 유충의 가치를 향상시키고 기능성을 확보하기 위한 가수분해 및 발효기술 확보
 - 갈색거저리 유충분말과 가수분해물로 타 동물성단백질을 대체할 수 있는 Pet food 배합비 확보
 - 갈색거저리 유충 사료비를 절감할 수 있는 추가 연구계획을 수립하여 산업화의 장벽인 생산비를 추가로 절감할 수 있는 기술을 지속적으로 개발할 계획임

	<ul style="list-style-type: none"> ▪ 갈색거저리 유충 허물, 가수분해물 및 발효물의 프리바이오틱 효과 확인 ▪ 갈색거저리 유충 가수분해물의 알러지 저감 효과 확인 ○ 상품화/사업화 측면 <ul style="list-style-type: none"> ▪ 특허등록이 완료된 갈색거저리 유충 전용사료를 사육농가에 경제성 있는 가격으로 공급하여 생산효율을 높일 수 있을 것임 ▪ 동물성 단백질 원료를 대체하고, 기능성이 확인된 갈색거저리 유충 가수분해물을 활용하여 Pet food 제품을 생산하여 공급할 수 있음 ▪ 입증된 갈색거저리 유충 가수분해물의 효능을 통하여 고급 동물성 단백질 공급원 대체 효능을 홍보할 계획임 ▪ 갈색거저리 유충 가수분해물을 이용한 prebiotic 제품 개발의 기초 데이터 확보 ○ 경제·산업적 측면 <ul style="list-style-type: none"> ▪ 전용사료 공급과 제안된 사업화모델을 기반으로 사육농가의 애로사항을 해결하며 사육규모를 늘릴 수 있는 사육체계를 확보할 계획임 : 계약 사육을 통한 생산 안정화 시스템 구축(곤충 대량생산 체계 구축) ▪ 성장세에 있는 Pet 산업에서 기능성 Pet food를 기반으로 수입사료를 대체하여 국내시장점유율을 높여 무역수지 개선에 기여할 수 있음 ▪ 곤충자원을 고급어분, 혈장단백질 및 타동물성 단백질 등의 대체제로 활용함으로써 산업적 적용성을 확대하고자 함 ▪ 본 연구과제 수행 중에 확보된 기술과 국유특허 기술을 결합하여 기능성 Pet food와 기능성 첨가제를 생산하여 산업화 추진 ▪ 갈색거저리 유충의 특성을 활용하여 동애등애와 결합한 사업모델 지속적으로 개발 ▪ 갈색거저리 유충 가수분해물을 이용한 프리바이오틱 시장 진출을 통한 곤충산업의 발전을 도모할 수 있음 				
국문 핵심어 (5개 이내)	곤충단백	반려동물	기능성 사료	알러지	면역
영문 핵심어 (5개 이내)	Insect protein	Companion animal	Functional food	Allergy	Immune

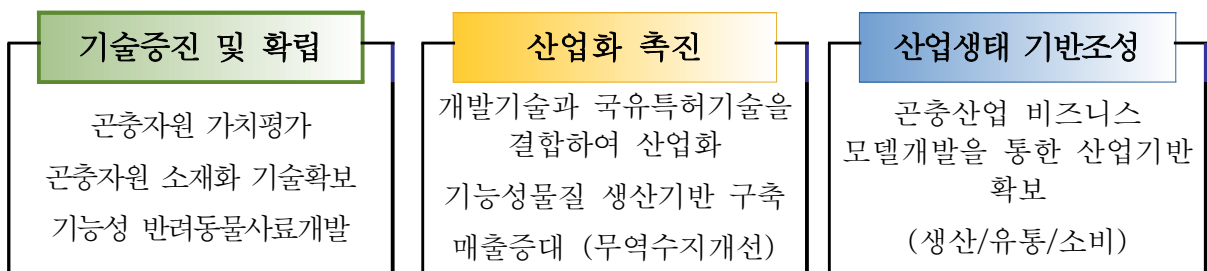
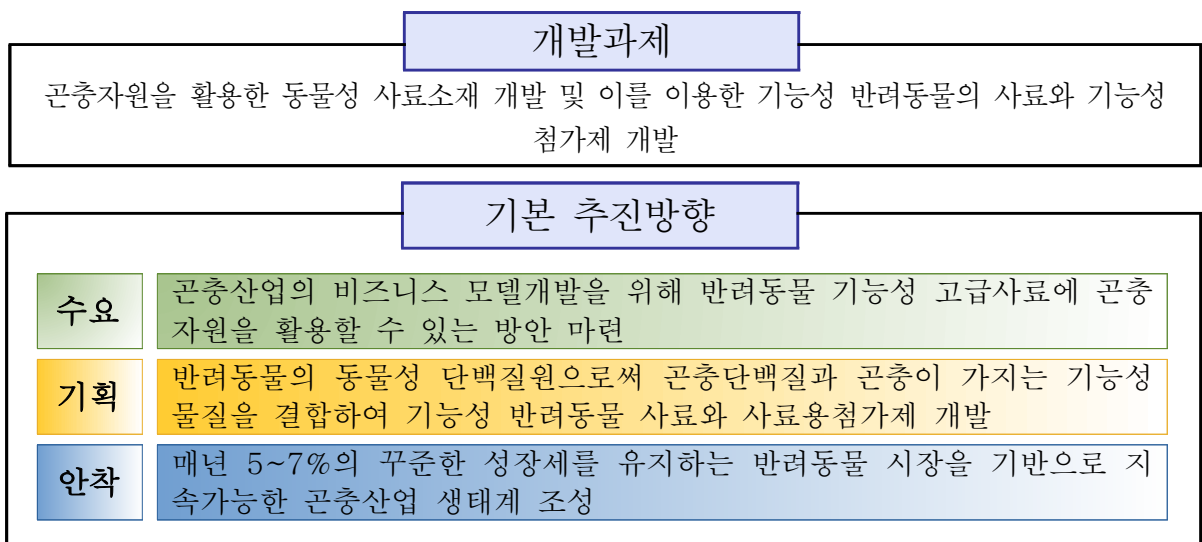
〈 목 차 〉

제1장. 연구개발과제의 개요	1
제1절. 연구개발 목적	1
제2절. 연구개발의 배경	1
제3절. 연구개발 필요성	18
제4절. 연구개발 범위	21
제2장. 연구수행 내용 및 결과	29
제1절. 곤충산업 비즈니스모델 개발 및 기술사업화[대한사료(주)]	29
제2절. 곤충자원의 소재화 및 고도화 기술개발[(재)전북생물산업진흥원]	69
제3절. 곤충자원 소재의 효능평가[(재)베리&바이오식품연구소]	102
제4절. 국내외 전시회, 박람회 및 학술대회 등 참가 실적	130
제3장. 목표 달성도 및 관련 분야 기여도	140
제1절. 연구개발 목표	140
제2절. 목표 달성 여부	142
제3절. 목표 미달성시 원인(사유) 및 차후 대책	153
제4절. 관련분야 기여도	154
제4장. 연구결과의 활용 계획	156
제1절. 대량생산 시스템 및 곤충자원의 활용방안 확립	156
제2절. 소비트랜드에 최적화된 맞춤형 Pet food 생산으로 시장점유 확대	159
제3절. 국가 정책에 부합하는 사업화 지속적 추진	159
제4절. 연구결과의 의의	160
붙임. 참고 문헌	161

제1장. 연구개발과제의 개요

제1절. 연구개발 목적

- 산업적인 기반이 미약한 국내 곤충산업의 기반을 구축하고, 국내생산 반려동물 Pet food의 시장점유율을 높여 수입 Pet food의 과점을 극복하기 위하여, (가) 산업적으로 활용성이 높은 곤충자원을 선별하여 양학적 가치를 확립하고, (나) 기능성을 검증하여 주요 동물성 단백질 원료 대체를 위한 이론적인 배경과 가능성을 확보한 후, (다) 국내 정책적인 지원, 반려동물 건강에 대한 소비자 관심도 증가 및 시장의 니즈를 반영하여 곤충자원을 활용한 반려동물 기능성 고급사료와 첨가제를 개발하고, (라) 이를 기반으로 국내생산 곤충자원의 효율적인 비즈니스 모델을 개발하고자 함



제2절. 연구개발의 배경

1. 곤충자원 연구의 배경

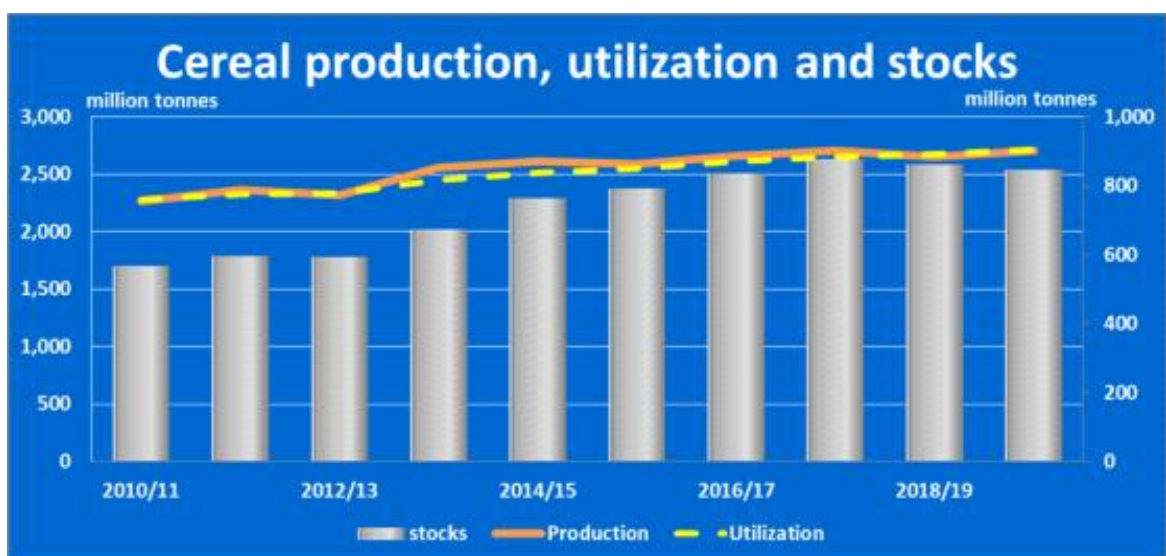
- [축산물생산을 위한 식물성 단백질원 대체 자원 개발] 식량자원의 생산한계 (가뭄 등 기후환경악화와 사막화 등 생산면적 감소)와 세계 곡물 소비량 증가 (바이오에너지, 가축사

료, 인구증가 등)에 따라 새로운 생물자원의 효율적 활용방안 필요성 대두

- 2050년 약 90억 명에 이를 것으로 예측되는 인구를 먹이려면 2050년까지 현재보다 60%의 식량 증산이 필요하다고 UN 세계식량농업기구(FAO)는 예측하였으며, 육류소비량 예측값은 2030년 약 40억 톤에 이를 것으로 보고되고 있으며(Rabobank, 2011), 2010년 대비 2050년 육류와 우유 소비량은 각각 58%와 70% 증가할 것으로 예상하고 있음 (FAO, 2011). 가축을 생산하기 위한 사료 요구량이 증가함에 따라 어분, 동물성 단백질 및 대두박과 같은 단백질 공급원에 대한 요구도 증가
- 2016/17년 회기 년도 세계 곡물 소비량 25.6억 톤(전년 대비 1.6% 증가)이며, 2050년 곡물 생산량(예정) 33억 톤인데 예상 수요량은 46억 톤으로 13억 톤 수급불균형 발생
- FAO에 의하면 전 세계 농지면적은 지구면적의 약 37%인 50억 헥타르이며 이중 농작물과 사료 및 식품을 생산하기 위한 면적은 13.5억 헥타르에 불과하고, 이미 전 세계 경작 가능 면적의 80%가 경작되고 있어 추가로 식량 증산을 위하여 경지를 확장하여 증가하는 인구에 맞추어 생산량을 늘리는데도 제한이 따름
- 이런 상황에서 가축에 대한 식물성 단백질 원료 (대두박 등)의 증가하는 요구사항을 충족시키기 위해 작물 생산을 증가시키는 데 한계가 있으며, 전통적인 단백질 공급원으로는 지속 가능한 방식으로 요구량을 완전히 만족시키기에 부족해지고 있음

[표 1. 1인당 GDP와 육류소비와의 관계]

연도	1990	2000	2010	2030	2050
GDP(US\$/인)	4,335	5,217	6,103	8,286	11,248
육류소비량 (kg/일/인)	34.1	38.6	43.3	54.6	68.8



[그림 1. 세계 곡류생산량, 소비량 및 재고량 변화]

□ [양식어류 생산을 위한 어분대체 자원 개발] 양식 사료용 어분을 대체할 수 있는 고급 동물성 단백질 대체 원료 사료 개발 필요성이 대두되고 있음

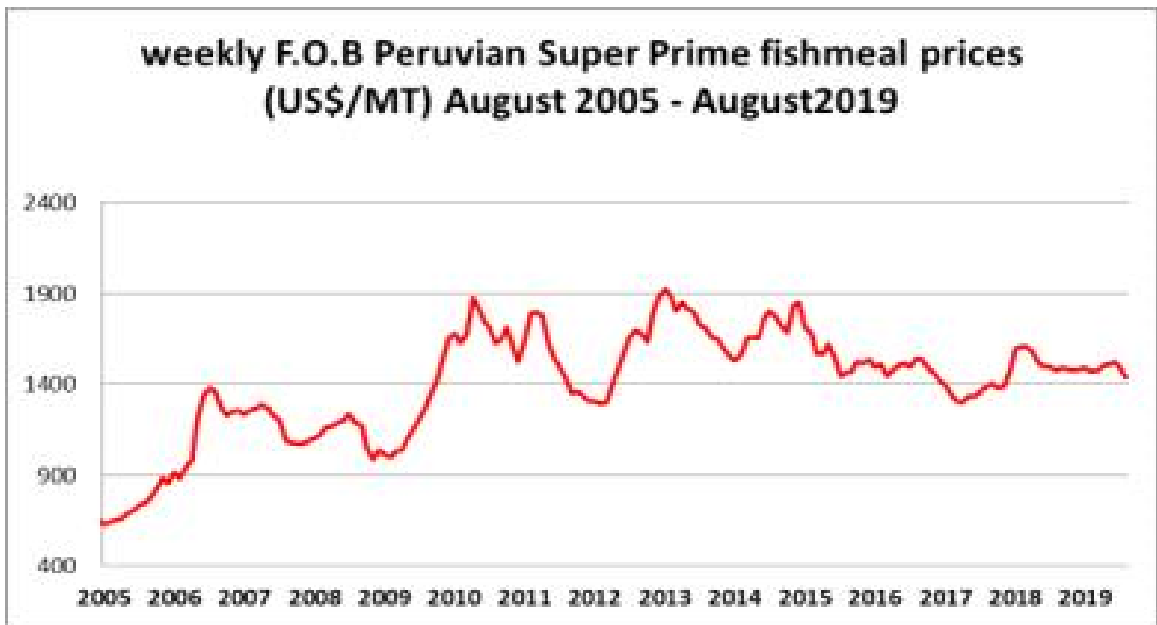
- 세계 어로어업 생산량이 1995년 9,384만 톤을 정점으로 점차 감소하고 있음에도 불구하고, 세계 양식업 생산량은 1995년 24백만 톤에서 2016년 80백만 톤으로 약 3.3배나 증가(FAO, 2017)함으로써 세계 수산업 생산량 증가의 견인차 역할을 하고 있으며, 이러한 추세라면 2020년 이전에 세계 양식업생산량이 세계 어로어업 생산량을 추월할 것으로 예측
- 어류양식 생산량 증가에 따라 양식 어류에게 급여할 사료에 배합되는 어분의 사용량도 증가할 것이나, 전 세계적으로 해양오염, 어종 고갈 등에 따른 어획량 감소로 세계 어분 생산량은 1990년대 중반 최고 생산을 기록한 이후 전반적으로 감소 추세를 보임
 - IFFO(국제어분어유기구)에 따르면 2012년 475만6000 톤이었던 IFFO회원국의 어분 생산량은 2016년 167만 톤까지 급감하면서 세계 어분시장의 불확실성을 높이고 있음



[그림 2. 세계 양식업 및 어로어업 생산량 변화]

- FAO에 따른 세계 어업생산 동향을 살펴보면, 어류남획 등에 따라 해양생물자원의 지속적인 감소와 해역별 어획량 제한/규제의 심화로 인하여 전 세계 어획량은 90년도 초반부터 성장이 둔화한 것을 알 수 있음 그에 반해 해양생물의 양식기술 발달과 생산량 증가에 따라 전 세계 양식 생산량은 끊임없는 성장을 지속하고 있으며 향후에도 인구증가에 따라 전 세계 식량자원으로서 해양생물 양식생산의 중요성은 더욱 커질 것으로 예상됨
- 2013년 이후 어분 생산량이 심각하게 줄고 있지는 않으나, 환경변화와 기후 이변으로 인한 어획량 변동이 어분의 시장가격에 대한 불확실성을 높이고 있음
 - 2011년 3분기 평균 톤당 1,424달러였던 슈퍼 프라임급 어분의 가격은 2012년 3분기에는 톤당 1,736달러로 상승한 데 이어 2014년 3분기에는 톤당 1,974달러까지 높아졌고 2015년 하반기 톤당 1,559달러, 2016년 하반기 어분 가격은 톤당 1,409달러를 기록하면서 이후 점차 하락하고 있으나, 장기적인 관점에서는 어분 가격은 지속해서 증가할 것으로 판단하고 있음

- 우리나라를 포함하여 세계 여러 연구소의 양식어류 영양학자들이 늘어나는 어분 소요량에 대처하기 위하여 식물성 단백질로 어분을 대체할 수 있는 연구를 진행하고 있으며 어느 정도 성과를 내고는 있으나 아직 생산성을 유지하면서 유의미한 수준까지 어분을 감소시킬 수 있는, 만족할 만한 연구결과가 나오지는 않고 있으며, 현실적으로 고급 양식어종은 생리적으로 동물성 원료인 어분 사용이 생산성을 담보하기 위한 필수 요소임
- 어분 가격은 비록 2014년 3분기를 전후로 다소 하락하는 기조를 보이거나 세계 양식어업 생산량이 33% 이상 늘어날 것으로 보여 2020년까지 50% 이상 급등할 것으로 예상하고 있음



[그림 3. 세계 어분 가격변화 동향]

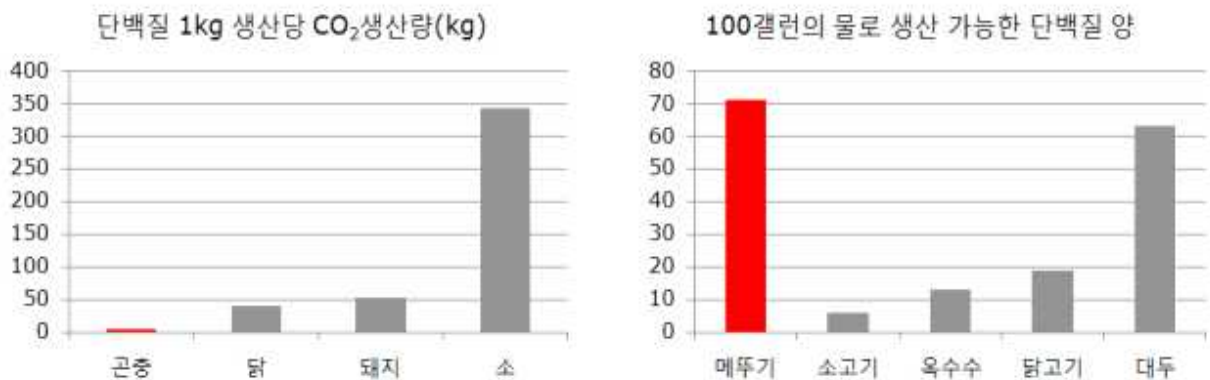
- '30년까지 전 세계 수산물 소비량은 151.8 백만 톤까지 증가 될 것으로 예상하며, 그 중 양식 수산물의 비중이 전체의 62%를 차지 할 것으로 예상함. 양식 수산물의 중요성과 소비량이 증가함에 따라 어분을 포함하여 다른 단백질 소요량 증가를 견인하고 있음



[그림 4. 세계 수산물 소비량 변화 예측]

- [**가축전염병 이슈로부터 자유로운 대체 자원 개발**] 질병 문제에서 상대적으로 자유로운 동물성 단백질 대체 원료 사료 개발 필요성이 대두되고 있음
 - 우리나라는 최근 발생한 ASF와 주기적으로 FMD 및 AI 등이 발생하여 육분, 계육분 등의 동물성 단백질 원료 사용에 제한을 받고 있으나, 곤충은 생물분류 체계상 척추동물과 상당한 거리를 유지하고 있어 고병원성 조류 인플루엔자 (AI), 광우병 (Mad-cow disease) 및 구제역 (FMD) 등과 같은 인수 공통질병이나 급성전염병의 감염 우려가 적음
 - 곤충은 동물성 단백질원 중 유일하게 질병(BSE, AI, 콜레라 등)을 전이하지 않고 단백질 함량이 높은 안전성과 영양성이 보장된 원료로서, 기존의 동물성 단백질을 대체할 수 있는 새로운 자원으로 부각되고 있음

- [**곤충은 환경친화적 자원**] 우리의 식탁에 오르는 전통적인 축산물은 인간이 살아가는데 필요한 단백질을 공급하고 있지만 온실가스 배출 등 환경에 문제를 야기한다고 거론되고 있음
 - 육류를 생산하기 위한 畜産活動에 기인하여 지구 전체 온실가스의 약 15~20% 정도를 방출하고 있어 환경오염의 주된 원인으로 인식되고 있으며 (FAO, 2006), 이런 육류 단백질을 대체할 수 있는 代案으로서 곤충 단백질이 제시되고 있음
 - 돼지나 소의 축산물 생산과 비교하여 온실가스 발생량이 100배 정도 낮음 (FAO, 2013)



[그림 5. 지구환경에 영향을 미치는 정도 비교]

- 곤충의 식·사료 이용 확대가 식량 및 환경문제 해결에 기여 할 것으로 판단되고 있으며 (FAO보고서, '13. 5) 곤충을 사육할 경우 사료 효율이 높고 기존 농약, 가축분뇨, 비료 등 환경오염 요소에서도 자유로워 공익적 가치에도 기여함

[그림 6. 곤충과 가축사육 시 사료 효율 비교]

- 동일한 양의 단백질을 생산하기 위하여 소요되는 자원을 고려하면 곤충 단백질은 전통적인 축산물에 비하여 사료 효율이 비약적으로 좋음. 그뿐만 아니라 가축을 생산하는데 소요되는 물의 양도 곤충을 생산하는데 필요한 물의 양보다 훨씬 많으며, 사육면적도 곤충을 사육하는데 소요되는 면적보다 더 많은 면적을 요구함

[미래 농업자원으로 대두] 곤충은 식량 · 기능성 소재 · 농업자재 등 미래 농업자원으로 유망함



- 곤충은 지구 전체 동물계의 70% 이상을 차지하는 미개발 생물자원이며, 이를 발굴 · 활용하는 곤충산업이 새로운 농산업으로 대두됨
- 농림부의 제2차 곤충산업 육성계획에 따르면, 곤충자원의 용도 확장에 따라 지속적으로 성장이 예상되며 농업소득 수준의 정체 속에서 농업 · 농촌의 새로운 사업모델로 부각되고 있음

[표 2. 용도에 따른 곤충자원 분류]

구분	특징	대표곤충
천적곤충	작물의 생산과정에서 생산성을 저하시키는 해충을 억제하는데 이용되는 포식성 곤충과 기생성곤충뿐만 아니라 균을 먹는 균식성 곤충	무당벌레 진디혹파리
화분매개곤충	야생식물뿐 아니라 재배식물의 꽃을 방문하여 꽃가루를 매개해 줌으로써 식물의 수분에 도움을 주는 곤충으로 꽃피는 식물의 약 85%가 곤충을 포함한 동물에 의하여 화분매개가 이루어지는 것으로 알려짐	벌 나비
식용곤충	인구증가와 식량부족으로 육류를 대체할 수 있는 단백질 공급원으로 관심의 대상이 된 곤충으로 직접 사람이 먹는 식용과 다른 가축의 사료용으로 구분	귀뚜라미 갈색거저리
약용곤충	각종 질병을 치료할 목적으로 의약 또는 민간약재로 이용되는 곤충으로 몸체뿐 아니라 곤충이 생산하는 산물과 체내 특정물질 등을 직접 또는 가공하여 이용	메뚜기 꽃벙이 갈색거저리
정서애완곤충	인간의 심미적 활동인 취미활동, 관광 등에 활용되는곤충	사슴벌레 장수풍뎅이
환경정화곤충	자연 및 인공 환경에서 썩어가는 동식물 조직을 분해하여 그 주변 환경을 청소하는 역할을 하는 곤충	동애등에

(산업곤충도감, 2016)

- 곤충자원 유래 기능성 소재, 바이오매스 등은 IT, BT, CT 기술과 다양한 방식의 융합이 가능한 산업이며 곤충산업은 기존 농업과는 달리 적은 토지를 기반으로, 새로운 용도 개발에 따라 무한한 시장 창출이 가능한 지식산업임
- 2010년에 제정되어 몇 번의 개정을 거친 우리나라의 곤충산업 육성 및 지원에 관한 법

를 통하여 정부는 곤충산업을 체계적이고 종합적으로 육성하기 위하여 노력하고 있으며, 우리나라 곤충산업법 시행령 제6조 1항 [별표 1]에 의한 식용 및 사료용 곤충 중에서 사료 산업에서 활용성과 응용성이 높은 곤충은 갈색거저리유충, 귀뚜라미, 동애등에 유충임

구분	관련법 조항	종류	
식용곤충	식품위생법 제7조 제1항에 따라 고시된 곤충과 같은 조 제2항 및 같은 법 시행규칙 제5조 제1항에 따라 인정된 곤충	머메뚜기, 누에번데기, 갈색거저리유충, 흰점박이꽃무지, 귀뚜라미, 장수풍뎅이유충, 백강잠	
사료용 곤충	사료관리법 제2조 제2호에 의거 위임된 사료 등의 기준 및 규격 제4조 [별표 1]에 고시된 곤충	거저리유충, 건조귀뚜라미, 건조메뚜기, 동애등에유충, 번데기[번데기박 포함], 장구벌레, 파리유충, 혼합곤충	
	갈색거저리 유충	귀뚜라미	동애등에
			

[그림 7. 주요 식용곤충과 사료용 곤충]

- 인구증가에 기인하여 단백질의 생산과 소비는 심한 불균형을 초래하였고, 특히 어류는 무분별한 포획과 지구 온난화 등의 환경변화로 인하여 점차 자원이 고갈되고 있음. 따라서 육류와 어류를 대체할 수 있는 동물성 단백질원에 대한 연구가 진행되었으며, 이 과정에서 곤충 단백질이 기존 육류와 어류의 단백질과 비교하여 품질과 양에서 차이가 거의 없음이 알려졌다



[그림 8. 곤충자원의 활용 예시]

2. 우리나라 곤충산업 현황 : 곤충자원 연구 및 활용현황

- 곤충산업 시장은 향후 국내에서 뿐만 아니라 세계적으로도 연평균 13%의 성장이 기대되고 있는데, 세계적으로 약 20억의 인구가 1,900여 종의 곤충을 식용으로 사용하고 있으며, 우리나라에서도 식품의약품안전처로부터 허가받은 7종의 곤충(메뚜기, 누에번데기, 백강잠누에, 갈색거저리유충, 흰점박이꽃무지유충, 장수풍뎅이유충, 귀뚜라미)이 식품으로 인정받고 있음
- 세계 시장규모는 2007년 11조 원에서 2020년 37조 원으로 연평균 13%의 성장세를 보일 것으로 예상하고 있으며, 이중 식용곤충은 시장규모는 약 3조 7천 억 원으로 추정함

□ 국내 곤충산업 시장 현황

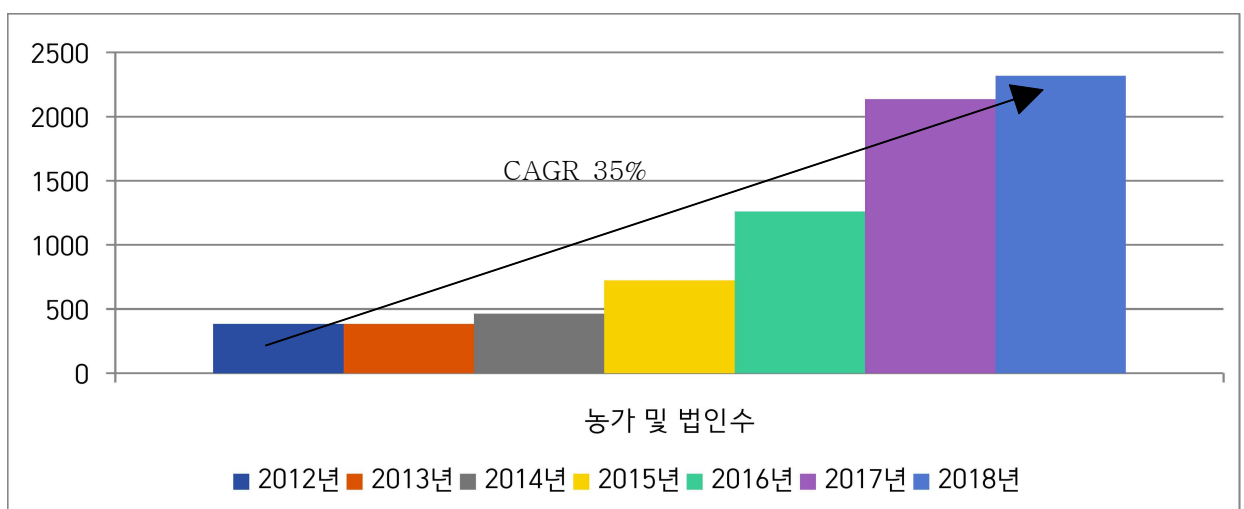
- 농림축산식품부는 2016년 4월 26일 제2차 곤충산업육성 5개년 계획을 발표하여 2020년까지 국내 연간 곤충산업 규모를 5,000억 원 규모로 확대하기로 계획하고 여러 가지 정책을 진행하고 있음
- 2018년 곤충 업 신고 농가·법인수는 2,318개소로 '17년 2,136농가 대비 8.5%로 소폭 증가

[표 3. 2018년 지역별 곤충업 신고 농가 및 법인 수]

지역	계	경기 (서울·인천)	강원	충북	충남 (세종·대전)	경북 (대구)	경남 (부산·울산)	전북	전남 (광주)	제주
신고(개소)	2,318	588	101	206	247	455	292	189	207	33

(농림축산식품부, 2018 곤충산업 실태조사)

- 곤충별 생산 현황은 흰점박이꽃무지 1,305개소 > 장수풍뎅이 425개소 > 귀뚜라미 399개소 > 갈색거저리 291개소 > 사슴벌레 160개소 > 동애등에 51개소 > 나비 22개소 > 반딧불이 8개소 > 기타 89개소

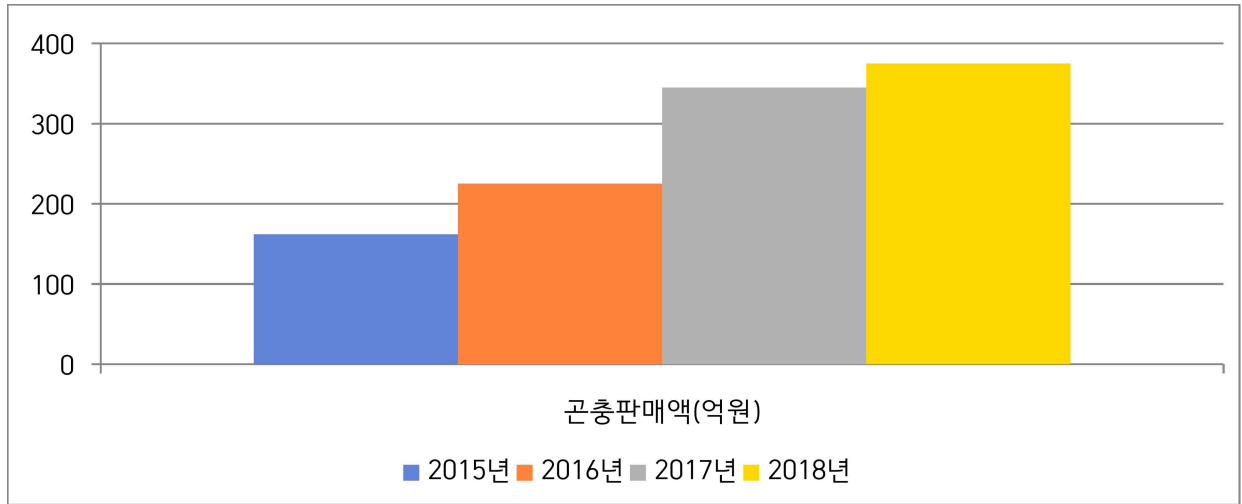


(농림축산식품부, 2018 곤충산업 실태조사)

[그림 9. 연도별 곤충사육농가 및 법인수 변화]

- 2018년 곤충 판매액은 흰점박이꽃무지 153억원 > 귀뚜라미 46억원 > 갈색거저리 27억원 > 장수풍뎅이 26억원 > 동애등에 22억원 > 사슴벌레 13억원으로 총 375억원 규모

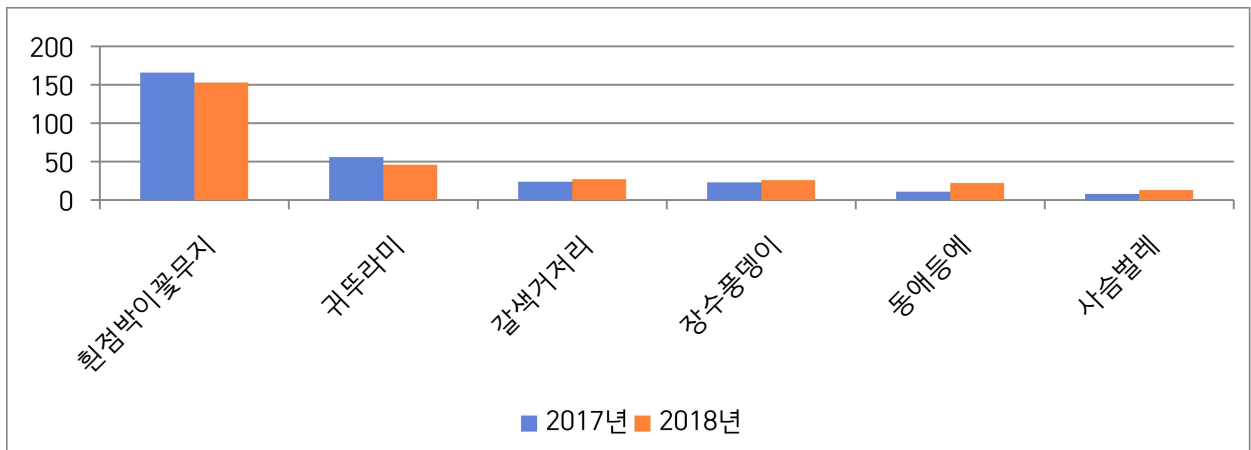
임 (단, 천적, 화분매개(꿀벌), 누에 등 제외된 식용/사료용/학습애완용 곤충 판매액만 집계)



(농림축산식품부, 2018 곤충산업 실태조사)

[그림 10. 연도별 곤충 판매액 변화]

- 2018년 곤충 판매액 375 억원은 '17년 345 억원에 비해 8.7% 다소 증가하였으며, 특이사항으로 사료용 곤충인 동애등에의 판매액이 22 억원으로 '17년 8 억원에 비해 159% 증가함



(농림축산식품부, 2018 곤충산업 실태조사)

[그림 11. 2017년과 18년 곤충 종류별 판매액 변화]

□ 국내 곤충산업의 한계

- 곤충산업은 향후 농가소득 창출에 기여도가 높은 사업이나, 현재 산업적 기반 조성이 미흡한 실정으로 사육 농가의 시설 및 생산 규모는 타 농업과 비교하면 매우 영세함.
- 2015년 사육시설의 70%가 비닐하우스, 판넬 형태이며 사육 규모는 200m² 이하가 절반 이상이었으나 2018년도의 경우 비닐하우스 및 판넬 형태의 사육시설이 67.1%로 소폭 감소하였으나 여전히 사육시설이 영세한 실정임
- 2018년 사육시설 현황 : 판넬 817개소(34.1%) > 비닐하우스 792개소(33.0%) > 일

반사육사 309개소(12.9%) > 철골(콘크리트) 238개소(9.9%) > 기타 241개소(10.1%)

- 사육사 평균 규모는 비닐하우스 281㎡, 일반사육사 190㎡, 판넬 185㎡, 철골(콘크리트) 165㎡ 등
- 곤충의 활용범위가 점차 다양해지면서 2013년에 비하여 곤충사육농가, 유통업체, 곤충표본 및 용품생산업체, 생태원 및 체험학습장, 곤충관련 연구소 등 다양한 분야에서 사업이 운영되고 있으며, 온라인 활동을 포함한 동호회, 지역 영농조합 등을 통한 보급도 활발히 이루어지고 있으나 아직은 산업적인 인프라가 구축되어 있지 않음

[표 4. 2018년 국내 곤충산업 현황]

구분	사육농가 및 업체수 (생산)	가공 및 유통업체수	곤충표본 및 용품생산, 유통업체수	생태원 및 체험학습장수	곤충관련 연구소
2013년	232	72	20	69	17
2018년	2,180	1,708	38	105	16

(농림축산식품부, 2018 곤충산업 실태조사)

- 2011년부터 추진하고 있는 정부의 곤충산업육성 5개년 계획 1, 2차 추진결과 규모면에서는 괄목할만한 성장을 하였음을 알 수 있음
- 2018년 사업 주체별 분포를 보더라도 신고자 중 농가형 1,563개소(67.4%), 업체형(사업자등록 개인) 587개소(25.3%), 법인형(농업회사·영농조합 법인) 168개소(7.2%)로서 업체형과 법인형 구성이 32.5%를 차지함.
- 또한 부업(50% 이하) 923개소(39.8%), 주업(전체소득의 80% 이상) 829개소(35.8%), 겸업(80~50%) 566개소(24.4%)로 부업 규모의 사육업체가 39.8%를 차지하고 있음
- 국내 곤충산업 시설의 영세화, 곤충 식품에 대한 소비자 인식 부족, 기능성 물질 양산 및 산업화 부족 그리고 동물 사료의 단백질 원료로서의 경제성 부족 등이 곤충산업의 성장을 방해하는 장벽으로 작용하고 있어 곤충자원을 활용하는 BM 확립이 미흡함



[그림 12. 우리나라 곤충산업 성장장벽 (농촌경제연구원 및 농림축산식품부)]

□ 국내 곤충 관련 기술 및 연구현황

- 국내 곤충 관련 기술은 기능성 양잠 연구를 중심으로 기능성 소재 및 인체 보형물 기술이 특히 발달 되었으며 선진국 대비 75% 기술 수준임 (농촌진흥사업 기본계획, 농촌진흥청, 2014년)

[표 5. 곤충 주요기술의 나라별 기술 수준]

연구지표	국내	선진국 수준			
		미국	유럽	일본	중국
곤충자원의 소재화 기술	80%	100%	80%	90%	60%
곤충자원 산업화 이용기술	70%	90%	100%	85%	60%

○ 곤충자원 관련 연구현황

- 국내에서 반려동물을 대상으로 한 곤충산업화 연구를 수행하는 독립된 국가기관 또는 출연기관은 아직 없으며, 대학, 국·공립연구소 및 민간연구소 등에서 연구를 수행 중임
- 대학에서는 실험용, 유전자원의 보존, 생태·분류연구, 해충방제, 생물검정 및 발생생리 등에 관한 연구를 위해 사육을 하고 있음
- 국공립연구기관에서는 해충방제, 위생곤충의 방제연구, 유용곤충자원의 개발 및 유전자원확보, 전시용 곤충의 수집 및 분류 등으로 국익을 위한 목적으로 사육되고 있음
- 민간에서는 농약회사에서 자사 생산품의 약제에 대한 검증을 위한 목적으로 사육되고 있음

- 국내 농업관련 연구기관의 약 30% 정도가 9목 87종의 곤충을 사육하고 있으며, 농약실험, 천적연구용, 기생곤충, 포식성 곤충, 화분매개 곤충 등의 연구로 활용할 뿐 농가소득 또는 경제적 효과가 있는 산업 곤충관련 연구는 미약한 실정임

[표 6. 국내 연구기관 사육곤충 현황]

곤충목	종수	곤충명	곤충목	종수	곤충명
바퀴목	5	독일바퀴 등	딱정벌레목	20	무당벌레, 하늘소류 등
메뚜기목	2	벼메뚜기	벌목	7	꿀벌, 호박벌, 먹좀벌류 등
노린재목	6	광대노린재 등	파리목	11	모기류, 파리류 등
매미목	6	멸구, 매미충류	나비목	29	호랑나비, 나방류 등
풀잠자리목	1	풀잠자리류			
주요사용목적		실험용, 유전자원보존, 생태분류연구, 해충방제, 생물검정, 발생생리 등			

(한국과학기술연구원 생명공학연구소, 2010년)

○ 정부지원 곤충 R&D 기술개발 현황

- 곤충의 산업적 가치가 재발견되고 관련기술이 발달함에 따라 농식품, 비농식품, 용복

합 영역 등 다양한 분야에서 농촌진흥청을 중심으로 연구가 진행 중임

- 곤충산업 유망 분야인 식용, 기능성소재, 사료화 등 분야별 원천 기술개발에 총 385억원(54개 과제) 지원[식용(6), 사료용(3), 기능성(16), 곤충자원 분류 등 기타(29)]되었음

[표 7. 정부의 곤충관련 연구비 지원 현황]

과제명	총연구비 (정부출연금, 억원)	시행 주체	기간
곤충자원을 이용한 양돈사료화 이용 기술 및 제품 개발	13.7(12)	농기평	'12~'15
오리와 반려자견의 생산성 및 면역력 개선을 위한 곤충기반 맞춤형 사료개발 및 산업화	12.6(12)	농기평	'15~'18
아메리카왕거저리의 식용화를 위한 기반연구와 집파리와 아메리카동애등에유충을 이용한 닭사료첨가제 개발 및 상품화	7.5(6)	농기평	'14~'16

- 곤충자원의 식용화 과제 개발 동향은 식용곤충에 대한 저변확대와 관련된 과제가 많으며 활용 곤충자원으로는 갈색거저리, 귀뚜라미에 대한 과제가 있음
- 사료개발 과제 동향은 곤충자원을 활용하여 양계, 양돈, 오리, 양식어류 등 산업가축과 관련된 건이며 반려동물 사료에 대한 건은 부분적으로 있거나 없었음
- 기능성 관련 개발 동향은 봉독, 누에고치 등을 활용하여 심리치료, 동물용 치료제, 화상치료제, 탈모방지제 등 주료 의약, 보건 부분에 초점을 맞춘 개발에 대한 지원이 이루어지고 있음
- 곤충자원 기타로는 곤충산업의 기반이 되는 곤충분류, 대량사육 시스템 개발, 농가현장 적용 기술 등에 지원하고 있음

□ 국내 곤충관련 국유특허 현황

- 곤충 기능성 소재 관련 기술 개발 동향 (갈색거저리 한정)

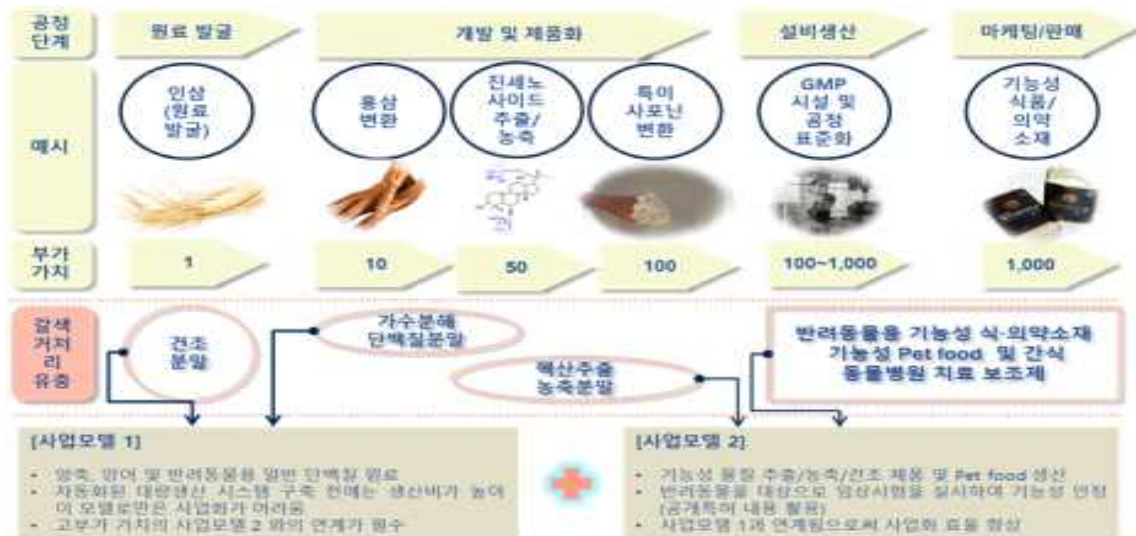
[표 8. 곤충 (갈색거저리 유충) 관련 특허출원 현황]

분류	출원번호	발명의 명칭
약학소재	10-2012-0126880	갈색거저리 유충을 포함하는 염증성 질환 치료용 조성물
약학소재	10-2014-0134155	갈색거저리의 현탁액을 유효성분으로 포함하는 류마티스 관절염 예방 또는 치료용 조성물
약학소재	10-2014-0134185	갈색거저리 유충 또는 이의 추출물을 유효성분으로 포함하는 당뇨 예방 또는 치료용 조성물
약학소재	10-2014-0134331	갈색거저리 유충의 추출물 또는 갈색거저리 유충의 현탁액을 유효성분으로 포함하는 비만 예방 또는 치료용 조성물
기계, 장치	20-2013-0002902	거저리 배설물 분리장치
재배사육	10-2014-0134933	갈색거저리 유충 발육기간 단축방법
재배사육	10-2014-0134965	갈색거저리 유충의 장기 보존 방법
진단, 검출	10-2012-0091705	지방산 비율을 이용한 국내산 갈색거저리의 판별 방법
진단, 검출	10-2016-0041492	갈색거저리로부터 분리한 신규화합물 및 이의 분리 방법

3. 우리나라 곤충산업에서 해결해야 할 문제점

□ 곤충자원 생산·유통·소비 단계에서 Value-Chain 확립

- 곤충산업이 미래 고소득농업으로 도약할 기반을 마련할 필요성이 대두됨에 따라, 정부는 ‘제2차 곤충산업 육성 5개년 계획’을 기반으로 대내외환경변화에 따른 산업적 활성화를 통하여, 2020년 곤충산업 규모 5,000억을 목표로 정책을 제시한 바 있으나, 현재 대량생산된 곤충자원의 효과적인 유통·소비 단계에서의 비즈니스 모델 부재로 인하여 효과적인 곤충자원 대량생산 및 소비시스템이 확립되지 못하고 있음
- 국내 곤충 시장은 2015년 약 3,000억 원 규모로, 곤충의 소비는 지역행사용 매출이 대부분(1810억 원)이며, 애완용, 화분 매개용과 천적용으로 880억 원, 사료용과 식의약 관련용으로 약 340억 원의 시장이 형성되어 있으나, 다양한 분야에서 고른 성장을 보이지 않고 있음. 따라서, 곤충의 대량생산을 담보하기 위한 대량소비 모델, 즉 Value-Chain 개발이 필요함

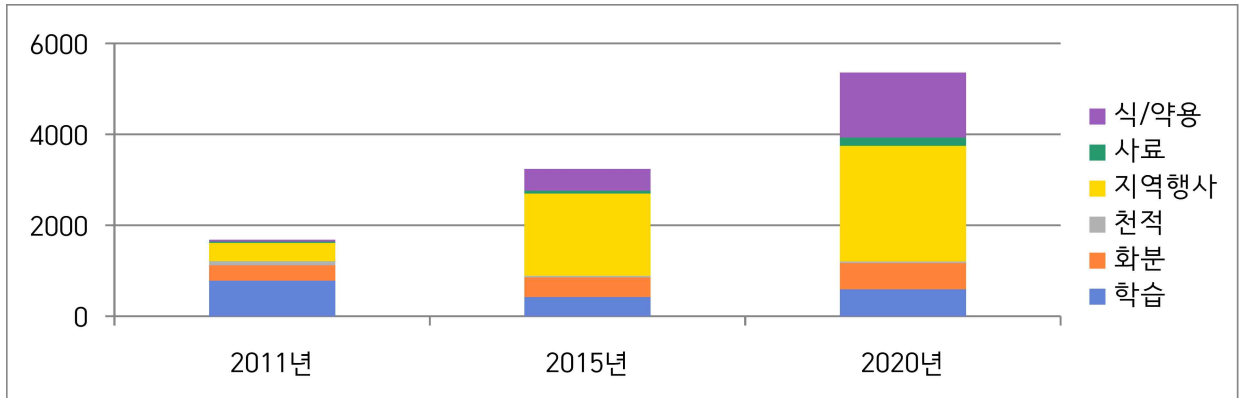


[그림 13. 곤충산업 Value-Chain 구축 예시]

- 곤충자원에 대한 소비자 인식의 전환 : 식용곤충의 산업 규모를 늘리기 위하여 지속적인 홍보를 통하여 식용곤충 자원에 대한 소비자의 인식을 변화시키는 노력이 필요함. 최근 곤충 관련 지역행사에서 곤충함유 식품에 대한 홍보가 지속적으로 이루어지고 있으며, 식품에 대한 레시피, 곤충자원의 영양학적 우수성 등이 홍보되어 점차 개선되고 있으나 아직 대중적이지 못한 것이 사실임

- 곤충자원 이용 소비자의 신뢰도 개선을 위해 곤충 먹이부터 생산 종료 단계까지 HACCP 기준을 마련하여 제품의 안전성 확보 필요 : 국내 사료 자원용 곤충의 사육기술과 생산기반 시설 취약 및 높은 노동비 등으로 인하여 곤충자원의 가격경쟁력은 이웃 국가인 중국의 1/3~1/4 수준 (예를 들면, 갈색거저리 유충) 이나, 중국의 경우 곤충에게 남은 음식물 등 안전성이 담보되지 않은 먹이로 사육하는 등의 안전성문제가 제기되는 상황임에 따라 국내

사료관리법과 식품공전에 등록된 안전한 곤충 먹이만으로 사육하고, 사육 및 최종 판매 단계까지의 모든 과정에 대한 위해요소를 파악하고 관리하여 곤충자원 소비자의 제품 신뢰도를 확보한다면 국내산 곤충자원의 품질 우위를 기반으로 경쟁력을 갖출 수 있음



[그림 14. 우리나라 곤충산업 사업별 규모(억원) 변화]

4. 우리나라 곤충산업의 전망

□ 곤충산업에 대한 전체적인 발전 가능성은 긍정적 59.5%, 보통 35.3%, 부정적 5.2%로 나타나 비교적 곤충산업 전망은 밝은 것으로 나타났다. 이는 미래 대안 자원으로써 곤충의 잠재력을 높이 평가한 것으로 보인다. 용도별로는 식용(76.5%), 약용(88.2%), 사료용(76.5%) 곤충의 전망이 매우 밝은 것으로 분석됨

[표 9. 국내 곤충산업 전망에 대한 설문조사]

용도	부정적	보통	긍정적
천적	11.8	52.9	35.3
화분매개		35.3	64.7
학습애완	11.8	35.3	52.9
지역축제	5.9	70.6	23.5
환경친화	11.8	29.4	58.8
식용		23.5	76.5
약용	5.9	5.9	88.2
사료용		23.5	76.5
양봉		41.2	58.8
계	5.2	35.3	59.5



(농촌경제연구원 : 2015.6.5.~6.25)

□ 대체 식량으로서 곤충은 고영양, 친환경, 경제성, 다양성 및 환경 적응성을 가지고 있어 미래의 단백질 식량으로 충분한 가능성을 가지고 있는 것으로 평가되고 있으며, 갈색거저리 유충 및 동애등에 유충 등은 아미노산 프로파일이 양호하여 사료의 단백질 源으로 사용할 수 있음

- 환경오염(미세플라스틱)으로 어류 단백질 섭취에 대한 우려가 현실화되고 있으며, 이는 곤충단백질에 대한 관심으로 이어져 국내에서도 새로운 식량자원으로서의 곤충에 관한 관심이 증가할 것이며 타당성을 제공할 것임



[그림 14. 미세플라스틱 위험성에 대한 현황 예시]

- 곤충을 급여하여 사육한 축산물에 대한 EU 소비자 의식 : 설문 조사 결과, 응답자의 70%가 곤충을 급여한 축/수산물을 섭취할 수 있다고 했으며, 64%가 사람에게 전혀 또는 거의 해가 없다고 했으며, 73%가 곤충이 함유된 식품을 섭취할 용의가 있고, 88%의 응답자가 곤충자원에 대한 홍보, 교육 등이 필요하다고 하였음 (PROteINSECT White Paper 2016).
- 곤충 단백질의 안전성에 대한 지속적인 연구가 진행됨으로써 점차 곤충의 사료화에 대한 산업화가 진행될 것이며, 일부 전문가들은 앞으로 2~5년 이내에 어분, 육분 및 대두박 등의 단백질 원료를 곤충단백질이 일부 대체할 것으로 예견하고 있음

5. 우리나라 반려동물산업 전망

□ 국내 반려동물 관련 산업 현황

- 1인 가구증가 (2000년 222만에서 2018년 579만), 저 출산 및 고령화 등으로 반려동물 보유 마리 수, 보유 가구 수 및 관련 시장이 지속해서 증가하고 있으며, 반려동물 보유 규모 1,500만세대 및 반려동물 수 1,000만 시대로 접어들고 있어 전체 가구 수의 23.7%가 반려동물 보유 (농림축산부)
- 고급 원료를 첨가한 Pet food 선호와 소비자의 Needs가 다양해지면서 처방식 food 등 기능성 food에 대한 시장규모가 커지고 있는데, 반려동물용품에 지출한 돈이 1인당 월 평균 13만원으로 패션, 뷰티용품보다는 7%, 식품, 생활용품보다는 37% 높은 금액
- Pet Care Service,에 대한 관심과 친환경에 관한 선호도 증가

- 반려동물 관련 산업이 증가하고 있으나 Pet food 분야는 외국계 다국적 기업이 주류를 이룸

- 국내 애완동물 사료 시장의 60~70%는 외국계 다국적 기업인 네슬레, 로얄캐닌, 힐스, 네추럴발란스, 마스, 등이 차지하며 그밖에 해외 사료업체는 뉴트로(Nutro), 유카누바(Eukanuba), 캐니대(Canidae) 등이 진출하고 있으며, 국내업체는 중저가품 위주로 그 이외의 나머지 시장을 점유하고 있음 (조우재, 2016)
 - 주요 3국이 국내 수입사료 전체의 68%를 차지함 : 미국(35%), 프랑스(18%), 중국(14%), 단 중국은 사료보다는 간식류 위주임
 - 경기침체에도 불구하고 수입사료는 꾸준히 증가하고 있으며, 특히 고양이 사료 증가가 두드러지게 나타나고 있음
 - 최근 로얄캐닌이 국내에 반려동물용 사료 생산 공장을 건설 중에 있음



[그림 15. 국내 반려동물 산업 현황 (김광희, 농림축산식품부, 2016)]

[표 10. 반려동물사료 수출 및 수입액, 억원]

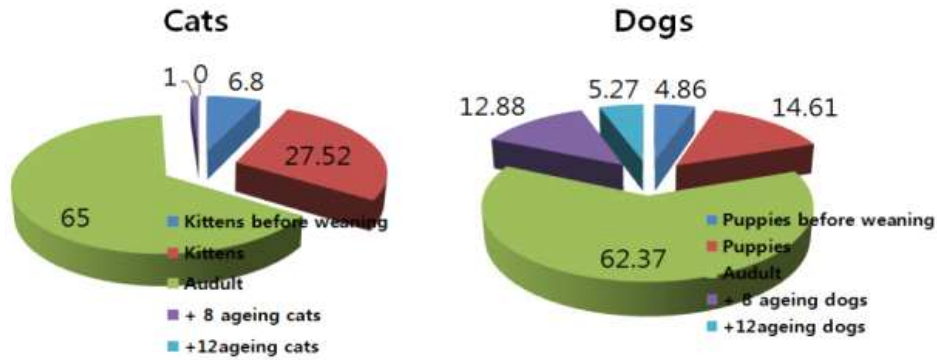
년도	수출		수입		무역수지	
	중량(톤)	금액(억원)	중량(톤)	금액(억원)	중량(톤)	금액(억원)
2013	4,642	126	39,478	1,493	-34,836	-1,367
2014	6,421	160	41,954	1,594	-35,536	-1,434
2015	6,488	155	47,865	1,775	-41,377	-1,620
2016	6,613	162	53,292	2,056	-46,679	-1,894
2017	6,181	136	60,598	2,241	-54,417	-2,105

(관세청 수출입 무역통계자료)

- 국내 Pet 산업이 성장세이며, 특히 Pet food 도 Pet 마리 수 증가에 따라 증가할 것으로 예상되지만 [표 10]에서 볼 수 있듯이 국내 생산 사료 보다는 외국에서 수입되는 사료의 양이 점차 증가하여 (-)무역수지를 나타내고 있음을 볼 수 있음. 이는 아직도 국내 많은 소비자가 국내생산 Pet food 에 대한 불신이 높다는 것을 의미하여, 소비자들의 의식을 변화시킬 수 있는 계기가 필요함

□ 반려동물의 나이도 점차 노령기에 접어든 개체의 비율이 증가(8세 이상 노령견 비율이 2006년 13%에서 2016년 현재 약 30%까지 증가한 것으로 추정)함에 따라, 사람들에게게서 문제가 되는 만성 질병(신장, 심장, 관절, 안질환, 당뇨 및 비만)을 예방하기 위한 기능성 사료에 관한 관심도 점차 증가하고 있음.

- 이를 반영하여 국내에서 최근 Pet에 대한 보험상품도 개발하여 판매되고 있음



[그림 16. 국내 반려동물의 나이 구성비율]

□ 반려동물용 Pet food에 곤충자원 사용에 대한 국내 소비자 설문 조사 결과 (대한사료(주), 2017)

- 식용곤충에 대해 알고 있습니까? [그림 17의 결과 A]
 - 아주 잘 알고 있음 (6.04%)과 어느 정도 알고 있음 (17.36%)를 합하여 23.4%로 식용곤충에 대하여 반려동물 소유자는 잘 알고 있지 못한 상황임
 - 이를 극복하기 위해서는 정부 또는 지자체 차원에서 식용곤충에 대한 홍보를 지속적으로 계속해야 함을 나타내고 있음
- 식용곤충을 Pet food에 사용하는 것에 대해 어떻게 생각합니까? [그림 17의 결과 B]
 - 적극 찬성한다. 6.42%, 그리고 찬성한다. 26.04%로서, 총 32.46%가 곤충사용에 대하여 긍정적으로 답변하였음
 - 이는 위에서 식용곤충에 대하여 어느 정도 알고 있는 응답자들이 곤충에 대하여 비교적 우호적인 생각을 하는 것으로 생각할 수 있음
- 기능성 식용곤충을 Pet food에 사용할 경우 구매 의사는 있습니까? [그림 17의 결과 C]
 - 적극 구매하겠다가 9.81%, 그리고 구매 의사가 있다 73.21%를 합하면 기능성 Pet food를 구매할 의사를 표현한 소비자가 83.02%로 기능성 Pet food에 대하여 긍정적인 반응을 보임
 - 곤충자원에 대한 기능성을 과학적으로 검증하여 증명하고, 적극적인 마케팅과 홍보를 통하여 블루오션 시장으로 개척할 수 있는 가능성 있음



[그림 17. 곤충자원 사용에 대한 국내 소비자 설문조사 결과]

- 결론으로 현재 반려동물 소유 소비자의 경우 곤충자원에 대하여 많이 알고 있지 못하며, 현 상태에서는 곤충자원을 사용한 반려동물 Pet food에 대하여 다소 부정적인 의견을 가지고 있으나, 곤충자원의 효능과 효율성, 그리고 새로운 자원으로서의 잠재력을 꾸준히 홍보하여 알리고, 기능성에 대한 임상실험 결과 등을 정확하게 홍보한다면 곤충자원의 잠재적인 소비시장으로서 성장할 가능성이 존재함

제3절. 연구개발의 필요성

□ 반려동물용 Pet food와 곤충자원을 결합할 수 있는 기능성

- 현재 곤충자원과 연관된 기능성 중에서 산업적으로 활용 가능성이 큰 기능성은 항산화 기능 (Anti-oxidation)을 들 수 있다. 왜냐하면, 수입제품의 경우 장거리 운송 기간만 40일 ~ 60일이 소요되고, 일부 적도를 건너야 하므로 지방 산화를 방지하기 위해 항산화제를 불가피하게 사용해야 하는데. 이에 대한 유해성이 계속 제기되고 있기 때문이고, 국내 제조 Pet food의 경우에도 지방함량이 높은 제품은 유통과정 중 지방의 산화를 방지하기 위하여 항산화제를 사용해야 하기 때문임. 그뿐만 아니라 계지, 우지, 어유 등 동물성 지방의 산화를 방지하기 위하여 이들 원료에 항산화제가 포함되어 있어 비록 국내 제조 시 항산화제를 사용하지 않았다 할지라도 이들 원료를 통하여 비록 소량이지만 항산화제가 제품에 포함될 수 있음
- Pet food 산업의 현황을 살펴보면, 항산화제로 주로 합성 항산화제인 BHA 또는 에톡시퀸 등을 사용하거나 소르빈산을 사용하는데 현재 논란이 되는 이들 항산화제의 실질적인 유해성은 차치하고 일부 Pet food 제조사에서 이를 이슈화하여 판매 마케팅을 진행함에 따라 소비자들의 관심이 높은 사항임
- 항산화제는 말 그대로 산화작용을 감소시키는 기능을 가진 물질을 말하는데, 크게 체내 세포에서 일어나는 산화작용을 억제하는 체내 항산화 물질 (체내 세포 대사 활동결과로 발생하는 과산화물 또는 활성산소를 제거하는 물질로 비타민 C와 E, 아연, 셀레늄 등)과 사료의 산화를 방지하는 항산화제로 구분할 수 있으며 (비타민 E 또는 C는 체내에서 그리고 사료의 산화를 방지할 수 있는 물질임), 여기서 논란이 되는 합성 항산화제는 후자를 의미함
- 따라서 항산화 기능은 현재 Pet food 산업에서 광범위하게 적용할 수 있는 이슈가 될 수 있기 때문에 곤충 단백질이 가지고 있는 의미 있는 기능성 중 하나가 될 수 있음
- 한국애견신문에 따르면 반려동물의 비만 및 과체중은 강아지의 경우 52.7%이며, 고양이의 경우 57.9%로 매우 심각한 상황임을 보도하면서 반려동물 비만에 관한 관심이 고조
- 문화체육관광부, 농촌진흥청, (사)한국펫사료협회가 공동 발간한 “2018 반려동물 보유 현황 및 국민인식조사보고서”에 따르면 먹이 구매 시 가장 많이 고려하는 부분으로 다수의 응답자가 개·고양이 모두 소화율과 체중조절(비만)을 응답하여 반려동물 사료 항비만 기능성 연구가 필요함
- 인간의 장내 미생물이 비만, 당뇨, 염증성 장질환, 자폐증 등 다양한 질환에 연관이 있다는 논문들이 지속적으로 발표되고 있음. 최근 반려견의 장내 미생물총의 차이가 사료 및 식습관의 차이에서 기인함. 이를 통한 장내 미생물 연구가 필요함
- 곤충은 새우 및 갑각류의 알러지 반응이 있는 사람이 섭취할 경우 알러지 반응을 일으

킬 수 있다고 알려져 있음. 또한 반려동물의 경우에서도 이와 같은 사례가 보고되고 있음. 따라서 알려지를 저감할 수 있는 곤충 원료가 필요함.

- 곤충 단백질은 산업적인 확장성이 크고 (사료자원 > 식품자원 > 기능성물질 자원), 식품공전에 등재되어 안전성이 확보되었으며, 최근 2019년 7월부터 곤충이 축산법에 의하여 가축으로 분류되어 성장기반이 확보되어 거대 블루오션 시장임에도 불구하고 아직 발전 진입 단계로 그 가능성이 무궁무진함
- 곤충 단백질은 전통적인 식물성 단백질 원료를 대체하고, 수산양식용 어분을 대체할 수 있으며, 다양한 질병 문제에서도 자유로운 새로운 자원으로서 식량안보에 대한 대안으로도 제시될 수 있음
- 가축 사육 시 이슈가 되는 온실가스 발생 등의 환경문제와 냄새 발생에 대한 민원, 동물복지법에 대한 제약 등에서 자유로운 자원으로 귀농 인구의 새로운 정착 대책으로 관심이 증가되고 있으며, 디지털 산업의 스마트 농법 적용이 가능함
- 곤충 자원에 대한 관심은 이미 오래전부터 유럽을 필두로 세계로 확산되는 경향을 보이고 있고 그 성장세는 더욱 높아질 것으로 예상되고 있으나, 대기업과 중소기업에 대한 구분 또는 브랜드 경쟁력 등 보다는 Value-Chain 개발에 근거한 비즈니스 모델 개발이 우선시되고 있기 때문에 새로운 기회 요인임. 따라서, 우리 산업구도 체계 속에서 한국적인 부가가치 시스템 도입을 위한 연구개발이 절실히 요구
- 산업적인 확장성은 크지만, 현재 기반이 확립되어 있지 않은 곤충산업의 기반을 확보할 수 있는 비즈니스 모델에는 식용자원·기능성 원료자원·사료원료(동물성 원료) 등이 있음.
 - 식용자원 : 민간기업 또는 개인·법인 등이 식용곤충을 사육하며 식품으로 개발하여 사업화하고 있으나 소비자 인식 부족 등으로 현재까지 국내에서 극소수를 제외하고는 연간 매출액이 많지 않은 경우가 많음
 - 사료자원 : 아직 생산비가 높아 곤충을 사용하여 가격경쟁력이 있는 제품을 개발하여 생산·판매하기가 상대적으로 어려워 기업에서는 애로를 겪고 있는 경우가 많음. 상대적으로 가격이 고가인 어린 돼지 사료용 원료 및 어분 대체 원료로 사용하기에도 현재 생산비는 높은 수준임. 따라서 곤충자원에 관심이 있는 기업들이라 할지라도 대부분 수입산 곤충자원을 사용하고 있거나 국내산일 경우 사용량이 미미함
 - 기능성 원료 및 물질 자원 : 따라서, 부가가치를 창출할 수 있는 기능성 원료 또는 물질을 개발하여 식용자원·사료 자원과 함께 곤충산업 발전을 견인할 수 있음
- 정부는 2011년부터 1, 2차 “곤충산업 발전을 위한 5개년 계획”을 수립하여 2020년 산업 규모 5,000억 달성 목표를 이루기 다양한 정책을 수립하여 시행하고 있으며, 여러 과제를 지원하고 있으나 아직 생산·유통·소비 등이 유기적으로 확립되어 있지 않아 수익 창출 및 규모확장 등에 어려움을 겪고 있음
 - 곤충산업이 지속 가능한 산업으로 성장할 수 있도록, 정부에서도 정책적인 발전방안을

마련하여 지원하는 국내 반려동물 산업과 연계한 소비모델 개발이 필요

- 가축으로서 사육에 필요한 전용 사료, 사육 및 마케팅 전략 등 다양한 정보 제공이 필요
- 따라서, 본 연구로 사육 농가에 실질적으로 도움이 되는 곤충 사료에 대한 정보를 제공하고 이를 통해 생산성을 향상 시키며 민간기업과 상생할 수 있는 계열화 등의 모델에 참여시킬 수 있다면, 사업확장에 장벽이 되는 생산비 저감이 가능할 것으로 판단됨

□ 국내기업 반려동물 산업의 성장과 곤충자원을 결합한 시너지 모델 연구개발 필요

- 곤충자원은 단백질의 품질이 우수하고 사료 안전성 측면에서도 동물성 단백질원료 대체체로서 이용하기 위한 충분한 요건을 갖추고 있는 것으로 나타났음
- 뿐만 아니라 현재 곤충자원에 대하여 연구된 기능성을 반려동물용 Pet food에도 적용할 수 있는 가능성 존재
- 반려견 보호자의 66% 이상이 kg 당 1~2 만원의 고가, 고품질 수입 사료를 구매하며, 국내산 반려견사료에 대해서는, 품질, 위생 및 안전성 제고, 다양한 기능적 요구를 충족시켜 주기를 희망하고 있음 (반려견 사료의 소비 실태조사 분석결과 참고, 소경민, 2016)
- 국내기업들 역시 반려동물시장의 성장성을 인식하고 사료의 고급화에 힘을 기울이고 있는 상황 (국내 주요 Pet food 제조회사 : 대한사료, 대주사료, 이레본, 하림 등)
- 펫 용품 및 Pet food 산업은 펫시장에서 절반 이상인 53%를 차지하지만, 체계적인 발전기반이 미흡하며, 동물성 원료수급의 불안정과 유기농 펫사료 인증제 등의 관련 제도 미비로 우수한 품질의 펫 food 개발 유인이 부족함
- 반려동물 관련 산업을 확장시키기 위한 국가정책과도 부합
 - 국가 신산업 육성 분야에 “반려동물 및 관련산업 육성” 포함
 - 농촌진흥청 융복합 프로젝트의 연구개발 내용에 “곤충 및 쌀 등을 이용한 알리지 저감 기능성 프리미엄 국산 반려동물사료개발” 을 포함하여 반려동물 산업화 지원 추진하고 있음
 - 곤충자원과 반려동물 Pet food 생산기술을 융합한 고부가 국산 기능성 프리미엄 반려동물 food 개발을 통한 신시장 창출
 - 특히 노령견 증가에 따른 대사성 질병 예방 및 항병력 강화 기능을 마케팅 전략으로 활용



[그림 18. 곤충자원에 대한 산업적인 활용성 모델]

- 반려동물 시장의 성장 및 국가 정책을 활용하고, 곤충의 안정성과 기능성을 결합하여 고품질의 기능성 반려동물용 Pet food 개발로 국내기업의 시장 점유율 확대와 곤충산업의 성장 견인

제4절. 연구개발의 범위

1. 연구개발 범위 개요

(1) 목표

- 곤충자원 활용 기능성 고품질 반려동물 사료 및 첨가제 개발
- 곤충산업의 생산/유통/소비에 대한 산업적인 기반 (비즈니스 모델) 확립

(2) 추진전략

- 국유특허기술과 연구개발 기술의 융합으로 산업화 촉진
- 관련 기관과 협업체제 유지하여 공동연구
- 주관기관의 산업화 역량에 맞춘 반려동물 사료 생산/판매 극대화

(3) 개발과제

- 곤충자원 원료 소재화 및 대량생산 시스템 구축
- 기능성 물질 추출 기술개발 및 특허기술 유효성 검증 시험
- 곤충자원 활용 기능성 반려동물 사료 및 사료 첨가제 개발

2. 연구개발 범위 방향

(1) 소재의 선택과 집중

- 다양한 곤충이 사료 및 식량 대체제로 평가를 받고 있지만, 신속한 사업화를 위해서는 주변 여건이 잘 조성되어야 함. 또한, 연구 성과물의 부가가치를 높이기 위해서 제품군의 확장 가능성이 높은 갈색거저리 유충으로 활용하고자 함
- 확장 가능성 : 곤충의 경우 식품 대체제로서 영양적·기능적 측면에서 우수하나 국내 소비자에게 아직 낮은 소재여서, 소비자 섭취를 위한 제품개발(환자식, 애호가식품)에는 시장규모가 사업적으로 한계가 있음. 따라서 식용곤충을 활용해 반려동물 기능성 소재 연구 및 사업화를 우선적으로 실시하고 이를 통해 전 임상단계의 기능성 결과물을 확보한 뒤 소비자 기호도가 개선이 되면 식품 기능성 소재로 확장을 하고자 함
- 선정 곤충의 안전성 확보 : 식용이나 민간요법으로 전통적으로 장기간 사용한 기록 확인 및 선행연구 결과 조사
- 법적 근거 마련 : 2010년 곤충산업육성법 발효 후 식품공전에 식품원료로 인정되어 식용으로 판매 가능한 곤충으로 등록되었으며, 2019년 7월 25일부로 축산법에 가축으로 등재되어 축산법에 의해서 일반가축과 동일하게 관리될 수 있음
 - 곤충산업 육성 및 지원에 관한 법률에 따른 유통 또는 판매 가능한 곤충 14종
 - 갈색 거저리유충, 장수풍뎅이, 흰점박이꽃무지, 누에, 호박벌, 머리빨가위벌, 애반딧불이, 늦반디불이, 넓적사슴벌레, 통사슴벌레, 여치, 왕귀뚜라미, 방울벌레, 왕지

네

- 곤충사육 농가는 축산농가로, 곤충사육시설은 축산시설로 제도적 혜택 가능
- 축산시설로서 3만 제곱미터 미만 범위 내에서 산지전용 허가 가능

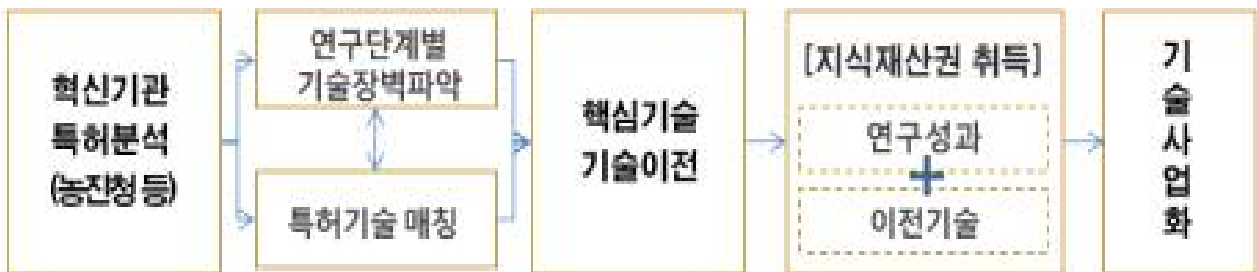
○ 산업 소재로서의 가능성 확인 : 대량사육시스템이 확립되어 있고, 국내 사육농가 다수 존재(제2차 곤충산업 육성 5개년 계획, 농림축산식품부, 2016년) : 사료용 곤충으로 국내외에서 관심받고 있으며, 실제 산업적으로 사육되고 있는 동애등에의 경우 파리에 별레와 비슷하여 사육 시 민원이 발생할 우려가 있으며 소비자의 선호도가 감소될 수 있음

(2) 연구개발 : 산업체에서 요구하는 곤충에 대한 수요파악(수입되는 사료원료 및 첨가물 대체, 곤충 원료의 경제성 확보)과 곤충자원의 부가가치를 높일 수 있는 가능성을 연구하여, 이를 기반으로 곤충자원의 안정적인 산업기반을 구축

(3) 기술사업화 : 연구기관에서 개발된 결과물의 사업화 촉진을 위해, 주관인 대한사료는 주관기관의 주력사업 분야인 반려동물 사료부분에서 우선 사업화하고 이후, 곤충산업 저변을 확대하여, 관련 중소기업 등이 함께 상생하며 곤충산업의 기반을 넓힐 수 있는 비즈니스 모델을 구축

(4) 정부정책 부합 : 정부와 국가출연 연구기관의 곤충산업육성정책 및 기술로드맵에 따라 개발된 기술을, 단계적 기술사업화 전략에 따라 기술이전을 확보하고, 연구사업을 통해 취득한 핵심기술과 융합하여 기술의 지속성을 확보하고자 함

3. 연구개발의 최종목표 및 세부목표



□ [주관연구기관] 대한사료(주) : 곤충산업 비즈니스 모델 개발 및 기술사업화

최종목표	세부목표
1. 곤충자원 사료원료소재의 원료가치 및 품질평가	1.1 곤충자원 사료원료 소재화(반려동물에서의 사료적 가치평가) 1.2 생산조건(예:건조 조건)에 따른 곤충단백질의 품질변화 확인 1.3 곤충사육을 위한 곤충사 구축(임대 및 사육시설 구축)
2. 곤충자원 활용 반려동물 사료 생산시스템 구축(생산 경제성 확보)	2.1 곤충자원의 안전성 확보를 위한 표준공정 및 품질관리 매뉴얼 개발 2.2 단위면적당 생산량 극대화 및 경제성 확보를 위한 사육 시스템 구축 2.3 곤충자원 활용한 기능성 반려동물사료의 생산 및 기호성, 소화율 확인 2.4 곤충자원 활용한 기능성 반려동물 사료의 기능성(알러지 저감) 확인
3. 곤충산업 비즈니스 모델	

개발	3.1 기능성증진 반려동물 사료 및 첨가제(기능성 첨가제) 제품생산 3.2 곤충자원의 원료 사료화 타당성 분석 및 생산, 유통 경제성 확립 3.3 곤충생산농가와 연계협력을 통한 비즈니스 모델 개발
----	---

□ [참여기관 1] (재)전북생물산업진흥원 : 곤충자원의 소재화 및 고도화 기술개발

최종목표	세부목표
1. 갈색거저리 유충 전용 사료 개발	1.1 갈색거저리 유충 대량사육을 위한 대체 원료의 탐색 1.2 갈색거저리 유충 사육을 위한 사료 개발(Pilot 수준)
2. 갈색거저리 유충 원료사료화 가공기술 개발	2.1 갈색거저리유충 전용사료를 이용한 농가 적용 현장 실증 2.2 갈색거저리유충 처리공정에 따른 영양·기능성분 함량변화 분석 2.3 갈색거저리 유충 원료의 유통 안전·안정성 평가
3. 갈색거저리 유충 유래 기능성 소재 가공기술 개발	3.1 갈색거저리 유충의 미생물발효 처리방법에 따른 특성분석 3.2 갈색거저리 유충 이용성 개선을 위한 공정개발

□ [참여기관 2] (재)베리&바이오식품연구소 : 곤충자원 소재의 효능 평가

최종목표	세부목표
1. 갈색거저리 유충의 원료 사료적 효능평가	1.1 갈색거저리 유충과 허물 등을 활용한 알러지 증상 출현 평가 1.2 갈색거저리 유충과 허물을 활용한 기능적 특성 확인
2. 갈색거저리 유충 사료원료화 가공기술에 따른 효능평가	2.1 갈색거저리 유충 처리 가공기술에 따른 prebiotic 효능평가 2.2 갈색거저리 유충 처리 가공기술에 따른 항알러지 영향평가
3. 갈색거저리 유충 발효분해 기술에 따른 효능 평가	3.1 갈색거저리 유충 발효분해물에 대한 prebiotic 효능평가 3.2 갈색거저리 유충 발효분해물에 따른 항알러지 영향 평가

4. 제1차 년도 연구개발 내용

(1) 주관연구기관 : 대한사료(주) [곤충자원 사료원료소재의 원료가치 및 품질평가]

- 갈색거저리 유충 원료사료화를 위한 영양학적 기준 마련
 - 갈색거저리 유충의 주령별 영양소함량
 - 조단백질, 조지방 등의 일반 영양성분 조사
 - 지방산 조성, 아미노산 및 비타민 등 세부 영양성분의 조사
 - 에너지를 포함한 원료사료 가치 조사

- 갈색거저리 유충의 영양학적 가치를 평가하기 위한 외관상 소화율 측정(I)
 - 갈색거저리 유충 영양학적 가치평가를 위한 실험동물 활용 회장소화율 측정
 - 반려동물을 활용한 갈색거저리 유충 전분소화율 측정
- 갈색거저리 유충 사육사 구축

(2) 참여기관 1 : (재)전라북도생물산업진흥원 [갈색거저리 유충 전용 사료의 개발]

- 갈색거저리 유충 대량사육을 위한 대체 원료의 탐색
 - 갈색거저리 유충전용 사료개발을 위해 영양성분, 에너지가 및 경제성을 고려한 소맥 피 대체 가능자원(옥수수, 대두박, 쌀가루 등) 탐색
 - 복분자 부산물 농도에 따른 갈색거저리 유충 병원성 진균의 억제 효과 조사 : 곤충병원성 진균 중 병원성이 높은 균주(*Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopilae* 등)를 선발하여 복분자 부산물 형태(분말, 추출물 등)에 따른 항진균 효과 검증
- 갈색거저리 유충 사육을 위한 사료 개발
 - 갈색거저리 유충 생산을 위한 사료 배합비 설정 : 대체자원의 일반성분 조성파 복분자 부산물의 항진균 효과 비율 고려 최적 배합비 설정
 - 대조군 및 각 실험군의 사료조성물 영양성분 조사 : 사료 등의 기준 및 규격에 의거하여 일반성분, 총 에너지함량, 무기물 함량을 분석
 - 대조군 및 실험군의 유충 발육특성 조사 : 유충 생존율, 유충무게, 유충 개체수, 용화율, 용무게 및 발육기간 비교 실험

(3) 참여기관 2 : (재)베리&바이오식품연구소 [갈색거저리 유충의 원료사료적 효능평가]

- 갈색거저리 유충과 허물을 활용한 기능적 특성 확인
 - 갈색거저리 유충과 허물 등의 물 혹은 에탄올 추출물에 대한 유해/유효 미생물 항균력 평가
 - BALB/c 마우스를 활용하여 갈색거저리 유충과 허물 등에 대한 prebiotic 효능 평가
 - 체중 변화 등을 포함한 동물사양실험
 - BALB/c 마우스 장 내 미생물 확인 - 총균과 유산균 증감 확인
 - BALB/c 마우스 분변을 통한 유산균 소실 확인
 - 갈색거저리 유충 사료 급이 중단 이후 장 내 미생물 변화 확인 - 총균과 유산균 등

5. 제2차 년도 연구개발 내용

(1) 주관연구기관 : 대한사료(주) [곤충자원 활용 반려동물 생산시스템 구축]

- 갈색거저리 유충 대량사육 전용 사료의 개발 및 적용
 - 1차년도 대한사료(주)와 전북생물산업진흥원 연구내용 기반 갈색거저리 유충 전용 사료 개발

- 전복생물산업진흥원 사양 연구결과 기반 대량 생산체계 확립 : 유충 생존율, 유충무게, 유충 개체수, 용화율, 용무게 측정
- 갈색거저리 유충 생산 농가 육성형 갈색거저리 유충 전용 사료 시제품의 출시
- 갈색거저리 유충과 허물을 활용한 기능적 특성 확인
 - 갈색거저리 유충 사료적 가치 평가를 위한 소화율 측정
 - 실험동물을 활용한 *In-Vivo* 평가 : 외관상 회장소화율 측정(II)
 - 반려동물을 활용한 *In-Vivo* 평가 : 전분소화율 측정 및 변상대를 통한 소화율 확인
 - 반려동물을 활용한 외관상 및 혈액성상을 통한 알러지 반응 측정 : Chemokine, interleukin 및 Cytokine 분비 확인
- 갈색거저리 유충 세부성분과 실험동물 사양실험 평가를 통한 반려동물 사료 내 대체가능 사료성분검토
 - 갈색거저리 유충을 원료로 한 반려동물 사료 배합비 검토 (원료 타당성 검토)
 - 갈색거저리 유충 원료 반려동물 사료 제형 검토 - 전복생물산업진흥원 2차년도 연구 내용 기반
- 갈색거저리 유충함유 반려동물 사료 시제품 생산(I)

(2) 참여기관 1 : (재)전라북도생물산업진흥원 [갈색거저리 유충 원료사료화 가공기술(가수분해) 개발]

- 갈색거저리 전용사료를 이용한 농가 적용 현장 실증
 - 출하 유충 도달령까지 최적 생육환경에 따른 크기 및 생존율 등을 측정
- 갈색거저리 유충 전처리공정에 따른 영양·기능성분 함량변화 분석
 - 열풍건조, 진공건조, 동결건조 및 마이크로웨이브 건조 방법에 따른 일반성분, 아미노산, 무기질 및 지방산 조성 분석 및 SOP 설정
 - 압착(롤밀) 및 고속회전 방식(핀밀 : 100mesh, 60mesh) 등 분쇄방법에 따른 일반성분, 아미노산, 무기질 및 지방산 조성 분석
 - 용매(정제수, 에탄올, CO₂) 및 추출방법에 따른 추출물과 추출박의 일반성분, 아미노산, 무기질 및 지방산 조성 분석
 - 건조, 분쇄 및 추출 공정의 표준가공운영 매뉴얼 개발 : 사료가공 공정 개선을 위한 공정별 표준안 확립과 매뉴얼의 개발
- 갈색거저리 유충 원료의 유통 안전·안정성 평가
 - 갈색거저리 유충 원료사료의 유통 안전성 확인을 위해 사료 등의 기준 및 규격에 의거하여 중금속, 위해미생물(살모넬라, *E-coli* O157, 곰팡이 독소 등) 및 잔류농약을 분석
 - 갈색거저리 유충 원료사료의 유통 안정성 확인을 위해 저장기간별 일반세균, 대장균수, pH, 수분함량, 수분활성도 및 지표물질 분석

- 갈색거저리 유충 가수분해를 위한 공정 개발
- 갈색거저리 유충 가수분해물 품질특성 분석
 - 갈색거저리 유충 가수분해 조성물의 품질특성 분석
 - 가수분해도, 단백질 함량 및 단백질 분자량 측정
 - 발효조성물의 미세구조 관찰 (SEM)
 - 아미노산 조성 및 향미성분(유리 아미노산) 등 측정
 - 갈색거저리 유충 가수분해 조성물의 항산화 활성 측정 : 환원력, DPPH 등
 - 갈색거저리 유충 가수분해 조성물의 기준규격 설정
 - 사료 등의 기준 및 규격(농림축산식품부 고시)에 의거하여 배합사료 기준규격 설정
 - 일반성분 (수분, 조단백질, 조섬유, 조회분 등), 일반세균, 대장균 수, pH 등

(3) 참여기관 2 : (재)베리&바이오식품연구소 [갈색거저리 유충 사료 원료화 가공기술에 따른 효능평가]

- 갈색거저리 유충 전처리 가공기술(가수분해)에 따른 prebiotic 효능평가
 - 최적 건조·분쇄·추출에 따른 항균효과 탐색 : 갈색거저리 유충과 허물 등의 물 혹은 에탄올 추출물에 대한 유해/유효 미생물 항균력 평가
 - BALB/c 마우스를 활용한 갈색거저리 유충 가수분해물의 prebiotic 효능 확인
 - 체중 변화 등을 포함한 동물사양실험(쥐) 결과 측정
 - BALB/c 마우스 장 내 미생물 확인 - 총균과 유산균 증감 확인 (차세대염기서열 분석을 통한 장 내 균총 확인)
 - BALB/c 마우스 분변을 통한 유산균 소실 확인
- 갈색거저리 유충 전처리 가공기술(가수분해)에 따른 항알러지 영향 평가
 - 갈색거저리 유충 전처리 가공기술 적용에 따른 물 혹은 에탄올 추출물이 RBL2H3 세포의 알러지 민감도에 미치는 영향 평가
 - Chemokine과 cytokine 그리고 interleukin 분비 확인
 - ERK를 중심으로 한 알러지 유발기전 확인 - WB 또는 PCR 확인
 - 장 내 미생물과 연계하여 BALB/c 마우스를 활용한 갈색거저리 유충 가수분해물의 항알러지 효능 확인
 - 체중 변화 등을 포함한 동물사양실험
 - BALB/c 마우스 혈액 내 chemokine과 cytokine 그리고 interleukin 분비 확인
 - BALB/c 마우스 장 내 미생물과 연계한 항알러지 영향 확인

6. 제3차 년도 연구개발 내용

(1) 주관연구기관 : 대한사료(주) [곤충산업 비즈니스 모델개발]

□ 갈색거저리 유충 활용 반려동물 사료 개발

○ 반려동물 사료 내 단백질 원료 대체원으로서 갈색거저리 유충의 이용성 평가

- 2차 년도 연구기반인 갈색거저리 유충 가공 방법에 따른 사료적 가치평가 결과에 따라 갈색거저리 유충을 반려동물 사료 원료로 활용 - 기호도 조사 Association of American Feed Control Officials(AAFCO) 또는 FEDIAF(유럽반려동물산업연방)등의 국제표준을 확인해서 실험시 반영

○ 갈색거저리 유충 활용 반려동물 사료 생산 공정 확립

- 전북생물산업진흥원 2년, 3년 차 연구내용을 기반으로 하여 갈색거저리 유충 활용 반려동물 사료 생산을 위한 공정 점검
- 갈색거저리 유충 활용 반려동물 사료 생산을 위한 최종공정 확립

○ 갈색거저리 유충 활용 반려동물 사료 시제품 생산(II)

- 시제품 생산에 따른 시장 내 소비자 반응 조사
- 반려동물 사료에 대한 소비자 반응 조사결과 적용 - 포장단위, 디자인 등

□ 갈색거저리 유충 활용 반려동물 사료 첨가제 개발

○ 갈색거저리 유충 활용 반려동물 사료첨가제 시제품 생산

- 전북생물산업진흥원과 베리&바이오식품연구소 3차 년도 연구내용을 기반으로 갈색거저리 유충 활용 반려동물 사료첨가제 시제품 생산 공정 점검과 생산

□ 곤충 사업화를 위한 비즈니스 모델 개발

○ 갈색거저리 유충의 일령, 번데기, 허물과 변 등의 데이터를 활용하여 최적의 원료사료 단계 설정과 경제성을 동반한 전용사료 및 농가 전략형 비즈니스 모델 개발

○ 사료 상품기획 및 특허맵 작성을 통한 사업화 기반 마련

(2) 참여기관 1 : (재)전라북도생물산업진흥원 [갈색거저리 유충 유래 기능성 소재 가공기술의 개발]

□ 갈색거저리 유충 가수분해를 위한 발효공정 개발

○ 프로테아제 활성이 우수한 균주 선발 및 확보

- 갈색거저리 유충으로부터 분리한 균주 성장특성(온도 및 pH 조건별 YPD 액체배지를 이용하여 생장을 측정) 확인
- 미생물기탁기관 분양균주 (프로테아제 효소활성 우수 균주 선별)의 성장특성 확인
- 선발된 미생물들의 protease 활성 측정 (반응법으로 흡광도 측정)

○ 갈색거저리 유충 발효공정 개발

- 프로테아제 활성이 우수한 2 type (Bacteria, Fungi)의 미생물을 활용하여 갈색

거저리 유충 가수분해 발효공정 확립

- 갈색거저리 유충 첨가수준에 따른 생균수, pH 분석을 통해 최적 배지 조성 비율 도출
- 초기 종균 접종 수, 발효온도 및 시간 등을 고려한 배양공정 확립

□ 갈색거저리 유충 발효물 품질특성 분석

○ 갈색거저리 유충 발효 조성물의 품질특성 분석

- 가수분해도, 단백질 함량 및 단백질 분자량 측정
- 발효조성물의 미세구조 관찰 (SEM)
- 아미노산 조성 및 향미성분(유리 아미노산) 등 측정

○ 갈색거저리 유충 발효 조성물의 항산화 활성 측정 : 환원력, DPPH 등

○ 갈색거저리 유충 발효 조성물의 기준규격 설정

- 사료 등의 기준 및 규격(농림축산식품부 고시)에 의거하여 배합사료 기준규격 설정
- 일반성분 (수분, 조단백질, 조섬유, 조회분 등), 일반세균, 대장균 수, pH 등

(3) 참여기관 3 : (재)베리&바이오식품연구소 [갈색거저리 유충 발효기술에 따른 효능 평가]

□ 갈색거저리 유충 가수분해물에 대한 prebiotic 효능평가

○ 최적 발효 분해물에 따른 항균효과 탐색 : 갈색거저리 유충 발효 분해물의 물 혹은 에탄올 추출물에 대한 유해/유효 미생물 항균력 평가

○ BALB/c 마우스를 활용한 갈색거저리 유충의 prebiotic 효능 확인

- 체중 변화 등을 포함한 동물사양실험 결과 측정
- BALB/c 마우스 장 내 미생물 확인 - 총균과 유산균 증감 확인
- BALB/c 마우스 분변을 통한 유산균 소실 확인

□ 갈색거저리 유충 발효 분해물에 따른 항알러지 영향 평가

○ 갈색거저리 유충 가수분해기술 적용에 따른 물 혹은 에탄올 추출물이 RBL2H3 세포의 알러지 민감도에 미치는 영향 평가

- Chemokine과 cytokine 그리고 interleukin 분비 확인
- ERK를 중심으로 한 알러지 유발기전 확인 - WB 또는 PCR 확인

○ 갈색거저리 유충 발효분해물의 BALB/c 마우스를 활용한 갈색거저리 유충의 항알러지 효능 확인

- 체중 변화 등을 포함한 동물사양실험(쥐)
- BALB/c 마우스 혈액 내 chemokine과 cytokine 그리고 interleukin 분비 확인
- BALB/c 마우스 장 내 미생물과 연계한 항알러지 영향 확인

제2장. 연구수행 내용 및 결과

제1절. 곤충산업 비즈니스 모델 개발 및 기술사업화

[주관연구기관 : 대한사료(주)]

1) 갈색거저리 유충의 원료 가치 및 품질 평가

가) 곤충선정 : 사료원료와 기능성 물질 소재로서의 가치를 결합 시키기 적당한 곤충자원으로 갈색거저리 유충을 선정함

- (1) 식용곤충으로 등재되어 있음
- (2) 타 곤충과 비교하여 비교적 질병에 강하며, 아직 심각한 전염병은 보고된 것이 없음
- (3) 현재 애완동물 먹이로 활용되고 있어 소비자에게 친숙함
- (4) 사육 정서상 대량사육체계 구축이 용이함 (민원발생 우려 상대적으로 적음)
- (5) 급여할 수 있는 먹이 스펙트럼이 다양하며 사육이 용이함
- (6) 사료원료 및 기능성 물질에 대한 학문적인 선행연구가 진행되어 있으며, 국제공통 등록종으로 등록되어 있고 세계적으로 여러 국가에서 산업적으로 사육되어 교역되고 있음 (쥐케일의 자료에 의하면 2018년 세계적인 갈색거저리유충 사육회사인 Ynsect사(프)와 Proti-farm사(네)에서 각각 500톤/년, 3,000톤/년 생산할 수 있는 능력이 있는 것으로 파악되고 있음)
- (7) 축산법에 가축으로 등재되어 정부로부터의 체계적인 사육지원이 가능하게 되었음
- (8) '18년 기준 갈색거저리는 291 농가에서 2,358 백만 마리를 사육하였으며, 연간 판매액은 약 27억원 이었음

나) 곤충선정갈색거저리 유충의 원료가치

(1) 갈색거저리 유충 주령 별 일반성분

[표 11. 갈색거저리 유충 주령별 일반성분(%) 변화]

구분	수분	조단백질	조지방	조섬유	조회분	칼슘	총인
5주	61.8	20.6	11.9	4.9	1.7	0.05	0.32
10주	61.0	21.3	11.0	7.4	1.5	0.05	0.34
15주	63.7	21.1	10.3	5.2	1.9	0.05	0.14
건물기준							
5주		53.9	31.0	12.9	4.4	0.13	0.84
10주		54.6	28.3	18.8	3.9	0.13	0.87
15주		58.3	28.3	14.4	5.3	0.14	0.39

[대한사료(주) 중앙연구소 분석실]

- 갈색거저리 유충의 주령이 증가할수록 단백질 함량은 증가하며 지방함량은 감소하는 경향을 보임
- 칼슘과 인의 비율 상대적으로 다른 동물성 단백질 원료에 비해 낮아 가축의 생산성 감소를 예방하기 위해서는 칼슘의 추가 공급이 필요함
- 조섬유 함량은 건물기준 약 13~19% 범위로 분석되는데, 유충의 외피에 포함되어

있는 키틴함량이 포함되어 있으며, 일반적으로 연구된 연구결과에 따르면 갈색거저리에는 약 2.8%의 키틴이 함유(Finke, 2013)되어 있는 것으로 알려져 있음

(2) 갈색거저리 유충의 일반성분 조성 비교

- 지방을 추출하지 않은 갈색거저리 유충 분말은 전지 대두와 성분구성이 유사하며, 지방을 추출한 후의 갈색거저리 유충박의 성분은 동물성 단백질 원료인 계육분 및 귀뚜라미 성분과 유사함
- 갈색거저리 유충박의 칼슘과 총인 비율이 상대적으로 다른 원료들에 비해 낮으므로 반려동물 또는 경제동물 사료 원료로 사용하기 위해서는 칼슘의 추가 공급이 필요함 (다만, 실제 사료배합 시에는 각 칼슘과 총인을 포함하는 모든 성분을 입력한 후에 요구량을 충족시키는 최소비용 배합비(Least cost formulation)로 설계함)

[표 12. 갈색거저리 유충 및 주요 곤충, 원료의 일반성분 함량(%)]

구분	밀웜유충	밀웜박	귀뚜라미	동애등에 유충	전지 대두	대두박	계육분
수분	5.9	7.2	4.1	4.5	7.1	12.8	5.5
CP	47.8	64.3	61.0	32.9	37.5	45.5	64.5
C.Fat	34.6	13.0	15.9	35.0	18.9	1.2	13.3
Ca	0.05	0.05	0.20	4.49	0.28	0.31	3.3
TP	0.59	0.69	0.82	0.64	0.55	0.55	2.1
Ca/TP	0.09	0.07	0.24	7.02	0.51	0.56	1.57

[대한사료(주) 중앙연구소 분석실]

(3) 갈색거저리 유충의 아미노산 함량 비교

- 지방추출 후 갈색거저리 유충(밀웜유충)의 아미노산 조성은 귀뚜라미와 유사함
- 동애등에와 비교하여 라이신과 메치오닌 함량은 낮으나 트레오닌 함량은 다소 높음
- 일반 경제동물 사료원료로 사용되는 대두박과 비교할 경우 메티오닌과 트레오닌 함량은 유사하나, 라이신과 트립토판 함량은 다소 낮음
- 동물성 원료인 계육분과 비교할 경우, 라이신, 트레오닌 및 트립토판 함량은 유사하나 메티오닌 함량이 다소 낮으며, 어분과 비교할 경우에는 트레오닌 함량은 유사하나 다른 필수 아미노산인 라이신, 메치오닌 및 트립토판 함량은 낮은 것으로 분석됨

[표 13. 갈색거저리 유충 및 주요 곤충, 원료의 아미노산 함량(g/100g CP)]

구분	밀웜유충	밀웜박	귀뚜라미	동애등에유충 ¹⁾	대두박	계육분	어분
Met	1.5	1.3	1.4	2.1	1.4	2.1	2.7
Cys	0.8	0.9	0.8	0.1	1.5	0.9	0.9
Lys	5.4	5.5	5.4	6.6	6.2	5.9	7.5
Thr	4.0	4.1	3.6	3.7	3.9	3.9	4.1
Tryp	0.6	n/s	0.6	0.5	1.3	0.8	1.1
Val	6.0	5.3	5.1	8.2	4.8	4.5	5.0

¹⁾ Makkar (2014), 그외 대한사료(주) 중앙연구소 분석실

(4) 갈색거저리 유충의 지방산 함량 비교

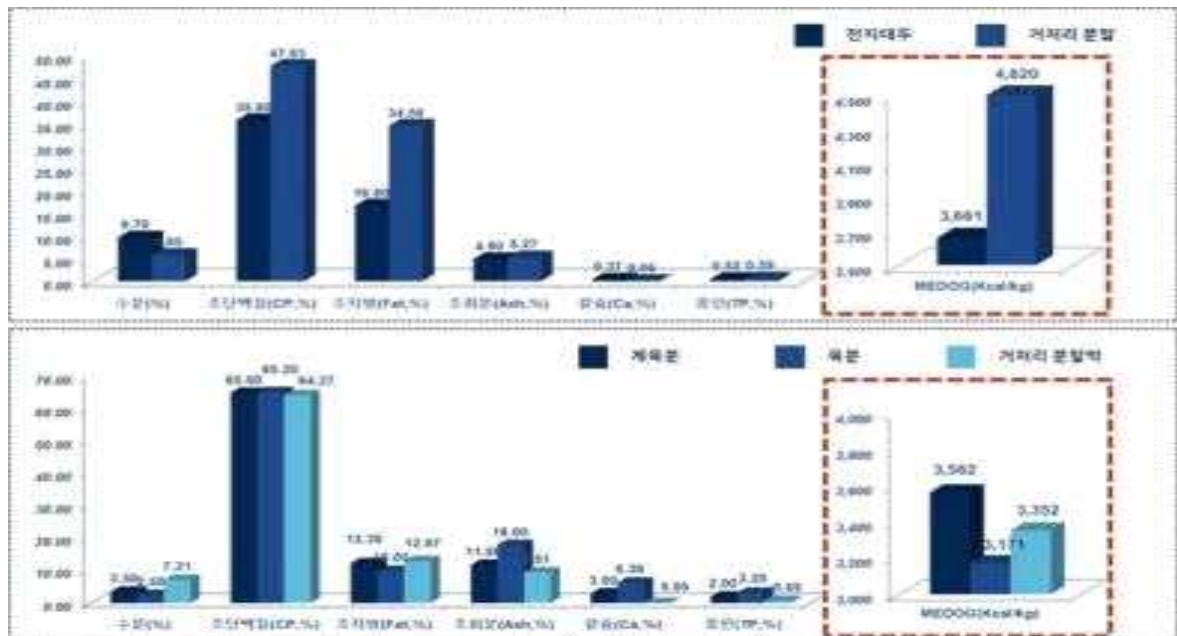
- 갈색거저리 유충 지방의 지방산 구성 특징은 필수지방산인 올레익산(Oleic acid, C18:1)과 리놀레익산(Linoleic acid, C18:2)의 함량이 70% 이상이며, 이는 올리브유 및 대두유와 같은 식물성 유지와 거의 유사한 함량임
- 동애등에의 지방산 조성 특징은 항균력이 높은 라우릭산(C12:1) 함량이 높아 약 47%를 함유하고 있는데 이 함량은 사람의 모유에 함유된 함량과 유사한 것으로 알려져 있음

[표 14. 갈색거저리 유충, 동애등에 및 주요 원료의 지방산 함량(%/총지방산함량)]

구분	밀웍	우지	계지	대두유	돈지	동애등에
C12:1	0.43	0.15	0.11			47.31
C14:1	4.08	2.75	1.16		2.06	7.23
C16:0	16.54	26.35	24.96	11.31	25.47	13.41
C16:1	2.27	3.66	7.11		2.62	2.82
C18:0	2.30	13.6	5.59	4.63	12.13	2.71
C18:1	44.83	40.61	43.73	23.17	42.33	13.96
C18:2	26.58	7.83	14.07	53.22	12.48	6.60

[대한사료(주) 중앙연구소 분석실]

(5) 갈색거저리 유충의 Pet food 및 양어 원료로서 에너지 함량



[대한사료(주) 중앙연구소 분석실]

[그림 20. 밀웍분말 및 밀웍박의 Pet 대사에너지 함량(kcal/kg) 비교]

- 탈지한 갈색거저리 유충의 Pet food 에서의 대사에너지(ME, metabolizable energy)는 약 4,620kcal/kg로 전지대두의 3,611보다 959kcal/kg, (+)26.2% 높음

며, 탈지를 한 분말박의 경우 3,352kcal/kg 으로 계육분 3,562kcal/kg 보다는 (-)210kcal/kg, 육분 3,171kcal/kg 보다는 (+)181kcal/kg 로 양질의 에너지 공급원이 될 수 있음

- Pet food 의 경우 소, 돼지, 닭 및 양어와 같이 경제성을 고려해야하는 동물보다는 원료의 에너지 함량에 대하여 덜 민감하지만, 원료의 에너지를 파악해야만 과도한 에너지 공급에 의한 비만 등의 문제점 발생을 사전에 예방할 수 있으므로 원료의 에너지 함량은 이런 측면에서 중요한 요소가 됨
- 양어사료에 사용하기 위해서 계산한 양어용 에너지의 경우 탈지하지 않은 갈색거저



[대한사료(주) 중앙연구소 분석실]

[그림 19. 밀웜분말 및 밀웜박의 양어 대사에너지 함량(kcal/kg) 비교]

리유충분말의 양어용 가소화에너지(DE, digestible energy) 함량은 5,184kcal/kg 로 전지대두 4,063kcal/kg 대비 (+)1,721kcal/kg, 그리고 대사에너지는 4,625kcal/kg 로 전지대두 대비 (+)983kcal/kg 높아 각각 42.4% 및 27.0% 높은 것으로 계산됨

- 그리고 탈지한 밀웜박의 경우 가소화에너지함량과 대사에너지 함량은 각각 4,431kcal/kg 와 3,638kcal/kg로 백색어분의 가소화 및 대사에너지인 4,018kcal/kg, 3,236kcal/kg 와 비교하여 (+)413kcal/kg, (+)402kcal/kg 로 각각 10.3% 및 12.4% 높은 것으로 계산되었으며, 갈색어분의 가소화에너지 4,242kcal/kg, 그리고 대사에너지 3,420kcal/kg 와 비교하여 각각 (+)189kcal/kg, (+)218kcal/kg 로 밀웜박의 가소화에너지와 대사에너지가 각각 (+)4.5% 및 (+)6.4% 높은 것으로 계산됨
- 이는 그동안의 사전 연구에서 진행된 양어성장 실험에서 갈색거저리 유충을 급여한 어류의 성장이 높았던 결과를 설명할 수 있는 근거가 될 수 있음

다) 갈색거저리 유충의 품질평가

(1) 갈색거저리 유충 분말 및 주요 단백질 원료의 *In vitro* 소화율

- 갈색거저리 유충분말의 이용성(소화율)을 비교적 짧은 시간에 적은 비용으로 다른

단백질 원료와 비교할 방법은 *In vitro* 소화율을 측정하는 방법이며, 이를 서로 비교하여 소화율을 간접적으로 평가할 수 있음. 그러나 현재 갈색거저리 유충의 *In vitro* 소화율에 대한 자료는 제시된 문헌이 없으며, 이번 과제의 연구 결과 측정된 *In vitro* 소화율은 아래 표에 제시되어 있음

[표 15. 갈색거저리 유충분말 및 주요 원료의 *In vitro*¹⁾ 소화율(%)]

구분	원료명	원산지	분석건수	Book 자료(%) ²⁾	소화율(%)	SE	CV
식물성	DDGS	미국	38	79	64.3	2.10	3.26
	대두박	인도	8	90	91.0	2.01	2.22
	대두박	남미	30	90	92.8	1.22	1.32
	옥수수	남미	14	91	86.4	1.59	1.84
	옥수수	미국	24	91	85.8	1.23	1.44
	어분55	국산	6	87	71.8	1.87	2.60
동물성	어분68	칠레	6	87	73.0	2.77	3.80
	육분60	국산	6	81	75.0	1.81	2.42
	계육분	국산	6	-	73.6	2.40	3.26
	밀웜	국산	4	-	83.3	0.50	0.60
	밀웜박	유압식	4	-	81.7	0.32	0.39
	밀웜박	압착식	4	-	83.9	0.23	0.27

¹⁾ 분석방법: Asian-Aust. J Anim Sci. 2011;Vol.24(7):1007-1010

[대한사료(주) 중앙연구소 분석실]

²⁾ Book 자료는 CVB feed table 2011 인용함

- 주요 곡류 중 하나인 옥수수의 소화율은 Book value에서는 90% 이상 높게 제시되었으나 실측한 결과는 약 86%로 측정되었으며, 주요 식물성 단백질 원료인 대두박은 Book value와 실측값 모두 90% 이상의 소화율을 보였음. 그러나, DDGS는 79%로 제시된 Book value보다 낮은 64%의 소화율을 보였음
- 동물성 단백질 원료인 어분과 육분의 소화율은 Book value가 제시되어 있으나 계육분은 제시되어 있지 않음. 제시된 동물성 단백질 원료들의 소화율은 81~87%의 값을 보였으나 실측한 결과는 72~75%의 소화율 범위를 보였음. 그리고 계육분의 소화율은 74% 였음
- 착유하지 않은 갈색거저리 유충 분말 또는 착유 후의 갈색거저리 유충분말박의 소화율은 82~84%로 측정되어 다른 동물성 단백질 원료의 소화율보다 높게 측정되었음

(2) 갈색거저리 유충 분말 및 주요 단백질 원료의 펩신소화율

[표 16. 갈색거저리 유충 분말 및 주요 단백질 원료의 펩신 소화율(%)]

구분	밀웜	어분	육분	계육분
펩신소화율(%) ¹⁾	70.3	60~85	53~85	47~56

¹⁾ 대한사료(주) 중앙연구소 0.0002% 펩신용액 소화율 분석데이터

- 주요 동물성 단백질의 펩신소화율과 비교하여 갈색거저리(밀웜) 단백질의 품질이 상

대적으로 양호함을 알 수 있음

- 일반적인 분석법에는 0.2%의 펩신 용액을 사용하게 되어 있으므로 상기 분석결과는 1,000배 희석된 펩신소화율 결과임에도 밀웜은 높은 소화율을 보임
 - 다른 주요 단백질 원료와 비교하여 펩신소화율이 양호한 원인은 다른 동물성 단백질은 렌더링 과정 중에 고온에 노출되어 단백질의 일부 구조가 변성되기 때문으로 판단됨
- (3) 갈색거저리 유충 분말, 가수분해물 및 주요 가공 동물성 단백질 원료의 질소 용해도와 *In vitro* 소화율
- 밀웜박의 2N HCl 용해도는 상당히 낮게 측정되었는데 40° C 온수에서의 용해도가 13.03% (대한사료(주) 분석결과)인 것을 고려하면 염산에서의 질소 용해도는 상당히 낮음을 알 수 있음. 그러나 *In vitro* 소화율이 82.80%로 분석되어 체내에서의 이용성에는 문제없음

[표 17. 질소용해도(%)와 *In vitro* 소화율(%)]

구분	밀웜박	밀웜 가수분해물 ⁴⁾	가수분해 계육분 ⁵⁾	발효 Fish soluble ⁶⁾
2N HCl ¹⁾	16.23	85.71	68.82	41.88
<i>In-Vitro</i> ²⁾	82.80 ³⁾	98.96	93.77	82.78

¹⁾ Chobert et al., 1996

²⁾ 분석방법: Asian-Aust. J Anim Sci. 2011;Vol.24(7):1007-1010

³⁾ 표14 분석결과의 평균값임 : Deahanfeed Co. LTD.

⁴⁾ Hydrolysate of mealworm (*Tenebrio molitor*) larvae.

⁵⁾ Fermented poultry by-product : Neo-Pep, MOABIO Co., INC, Korea.

⁶⁾ Hydrolyzed fish soluble : FS Peptide, Sopropêche, France.

- 밀웜 가수분해물의 질소 용해도는 상당히 높아 분자량이 작은 펩타이드로 가수분해가 잘 일어났음을 알 수있으며 다른 두 종류의 가공동물성 단백질보다도 용해도가 우수함을 알수있음

(4) 갈색거저리 유충 분말에 대한 알러지 반응연구 결과

○ 목적 : 갈색거저리 유충 분말 5%을 함유하는 사료 섭취 시의 알러지 반응이 발생하는지 조사하기 위하여 테스트 비글자견 및 성견 10두를 대상으로 갈색거저리 유충분말의 알러지 유발 현상에 대한 조사 실시

○ 방법 :

- ① 저알러지 사료를 급여한 후, 갈색거저리 유충분말을 함유하는 사료를 그여하여 급성 알러지 반현 여부를 확인하기 위하여 우선 기존사료에서 저알러지 사료로 7일간의 사료교체기를 가짐
- ② 하루 섭취량 600g을 기준으로 오전, 오후에 나누어 300g씩 제공하고, 사료교체기에는 기존사료와 저알러지 사료를 8:2, 6:4, 4:6, 2:8 이런 식으로 점차 늘려줌
- ③ 저알러지 사료를 28일간 급여하여 저알러지 사료에 적응토록 함
- ④ 28일 후 각 개체에 대하여 혈액채취를 하여, 급성 알러지와 관련된 IgE, Histamine, Blood cell count (12가지 항목)의 standard를 만듦 (대조군으로 사용)
- ⑤ 혈액 채취 후 7일간의 안정기를 가진 후, 사료에 갈색거저리를 5% 토평하여 급여함
- ⑥ 급여 30분 후 혈액을 채취하여 위의 급성 알러지 관련 물질을 분석함

○ 조사항목

- ① 섭취량 : 남은 사료량을 측정하여 비교
 - ② 분변상태 (변상태, 색, 냄새, 기타 특이사항) : 관능 테스트
 - ③ 알레르기 반응검사 : 혈액검사(급이 전, 후 2회)
- 결과(종합) : 혈구분석결과 갈색거저리 유충 급여 전후 혈구 숫자의 유의미한 변화는 없었으며, 특히 알러지 반응 시 Basophil이 감소하고 Eosinophil이 증가하는데, 이와 관련된 유의적인 변화가 없었음. 일부 실험견에서 Serum 총 IgE의 증가(23~32%)가 관찰되었으나 심각한 임상적인 증상은 관찰되지 않았고, Serum Histamine의 양은 변함이 없거나 오히려 감소하였음
- Blood cell 숫자

[표 18. Blood cell 숫자]

	RBC(B)			WBC(B)			Hct			Hb		
	Ref.	Cont	Treat	Ref.	Cont	Treat	Ref.	Cont	Treat	Ref.	Cont	Treat
1	4.8~9.3	6.50	6.11	4~15.5	10.8 8	8.50	36~55	49.4 0	46.4	12.1~20. 3	14.5	14.1
2	4.8~9.3	6.51	6.76	4~15.5	10.1 3	8.05	36~55	41.8 0	44.6	12.1~20. 3	14.9	15.3
3	4.8~9.3	6.32	6.05	4~15.5	8.84	9.71	36~55	43.6 0	38.6	12.1~20. 3	14.5	14.2
4	4.8~9.3	6.32	6.65	4~15.5	7.10	7.72	36~55	43.5 0	43.3	12.1~20. 3	14.9	15.0
5	4.8~9.3		6.68	4~15.5		10.46	36~55		40.1	12.1~20. 3		14.6
6	4.8~9.3	6.03	5.79	4~15.5	11.3 1	8.67	36~55	43.3 0	40.6	12.1~20. 3	13.6	12.9
7	4.8~9.3	5.98	6.69	4~15.5	6.45	7.20	36~55	36.0 0	43.0	12.1~20. 3	14.4	15.2
8	4.8~9.3		5.97	4~15.5		8.43	36~55		37.7	12.1~20. 3		13.4
9	4.8~9.3		6.58	4~15.5		8.87	36~55		41.0	12.1~20. 3		15.8
10	4.8~9.3		6.55	4~15.5		11.99	36~55		41.7	12.1~20. 3		15.3
			10 ⁶ /μL			10 ⁶ /μL			%			g/dL
	Platelet			Lymphocyte			Granulocyte			Monocyte		
1	170~460	289	283	12~30	48.2	48.4	60~83	51.8	51.6	3~10	5.3	4.7
2	170~460	285	297	12~30	41.3	43.6	60~83	58.7	56.4	3~10	4.0	2.2
3	170~460	226	229	12~30	31.6	28.3	60~83	68.4	71.7	3~10	5.4	5.6
4	170~460	71	347	12~30	25.0	26.7	60~83	75.0	73.3	3~10	4.1	5.0
5	170~460		314	12~30		39.0	60~83		61.0	3~10		3.5
6	170~460	372	366	12~30	37.1	36.4	60~83	62.9	63.6	3~10	4.8	4.2
7	170~460	516	541	12~30	45.4	45.0	60~83	54.6	55.0	3~10	3.1	3.7
8	170~460		220	12~30		45.2	60~83		54.8	3~10		4.3
9	170~460		250	12~30		30.9	60~83		69.1	3~10		2.9
10	170~460		545	12~30		25.2	60~83		74.8	3~10		4.0
			10 ⁹ /μL			%			%			%
	Eosinophil			B. Neutrophil			S.Neutrophil			Basophil		
1	2~10	2.2	3.6	0~3	0.0	0.0	60~77	44.1 0	43.0	0~1	0.2	0.3
2	2~10	3.7	3.9	0~3	0.0	0.0	60~77	50.9 0	50.0	0~1	0.1	0.3
3	2~10	1.8	3.9	0~3	0.0	0.0	60~77	61.0 0	61.9	0~1	0.2	0.3
4	2~10	4.3	3.4	0~3	0.0	0.0	60~77	66.4 0	64.8	0~1	0.2	0.1
5	2~10		8.6	0~3		0.0	60~77		48.5	0~1		0.4
6	2~10	1.8	3.0	0~3	0.0	0.0	60~77	56.2 0	56.2	0~1	0.1	0.2
7	2~10	3.0	3.0	0~3	0.0	0.0	60~77	48.1 0	48.0	0~1	0.4	0.3
8	2~10		3.6	0~3		0.0	60~77		46.6	0~1		0.3
9	2~10		14.4	0~3		0.0	60~77		51.5	0~1		0.3
10	2~10		3.3	0~3		0.0	60~77		67.3	0~1		0.2
			%			%			%			%

- ① 혈구분석결과 갈색거저리 유충 급여 전후 혈구 숫자의 유의미한 변화($p < 0.05$)는 없었음. 특히 알러지 반응시 Basophil이 감소하고 Eosinophil이 증가하는데, 이와 관련된 유의적인 변화가 없었음
- ② 특징적으로 10마리 실험견중 9마리가 lymphocyte 수치가 정상수치보다 증가되어 있는데, 현재 세균성 상기도 감염이나 바이러스 감염상태 임을 보여줌
- ③ Neutrophil은 immature한 형태인 banded neutrophil과 mature한 형태인 segmented neutrophil로 나누어지는데 10마리의 실험견중 7마리에서 세균 및 진균에 대한 체내 방어능력을 나타내는 segmented neutrophil이 정상수치보다 낮은 것으로 보아 감염에 취약한 상태임을 보여줌. 그러나 정상범위에서 크게 벗어나지 않아 임상적으로는 문제없는 수치 범위임
- ④ 9번 실험견의 경우 급성 알러지 반응과 관계있는 Eosinophil이 정상범위보다 높았으나 대조군 데이터가 없어(응집반응으로 실험불가) 비교가 어려움. 그러나 표2에서 살펴본 IgE와 Histamine수가 대조군과 실험군에서 별 차이가 없었고, 호흡곤란, 설사, 구토, 쇼크, 발작, 코마, 잇몸이 파랗게 변함, 사지가 떨림, 심장박동 증가, 맥박이 약해짐 같은 임상적인 증상이 없었던 것으로 보아 다른 요인(기생충 감염)으로 인한 Eosinophil의 증가로 보임

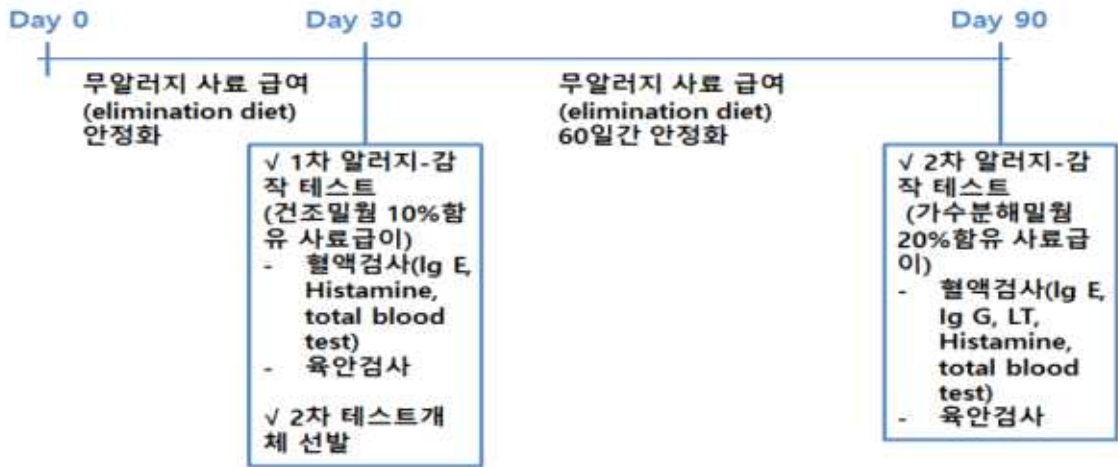
□ Serum 총 IgE, Histamine 측정결과

[표 19. Serum 총 IgE, Histamine 함량 측정 결과]

No.	Name	Histamine (Rodent)		IgE (immunoglobulin E, canine)		Rate
		Con.	Day 1	Con.	Day 1	
1	1-1.	0.658	<0.500	31062.155	38223.294	23%
2	1-2.	0.632	<0.500	30036.275	37548.232	25%
3	2-1.	<0.500	<0.500	54610.441	55981.684	3%
4	2-2.	<0.500	<0.500	56022.466	58467.181	4%
5	3-1.	<0.500	<0.500	74845.249	74891.936	0%
6	3-2.	<0.500	<0.500	72328.052	75247.261	4%
7	4-1.	1.705	1.040	40501.970	45206.240	12%
8	4-2.	1.451	1.128	40770.589	45650.690	12%
9	5-1.	0.894	0.523	43154.397	46658.155	8%
10	5-2.	0.874	0.537	42342.643	46119.372	9%
11	6-1.	0.534	<0.500	177203.590	188976.990	7%
12	6-2.	0.529	<0.500	178708.618	203507.183	14%
13	7-1.	0.613	0.613	37180.231	46187.546	24%
14	7-2.	0.654	0.505	37250.918	49106.494	32%
15	8-1.	0.850	<0.500	29902.793	30009.567	0%
16	8-2.	0.794	<0.500	29184.446	30176.584	3%
17	9-1.	0.636	<0.500	101282.711	103763.349	2%
18	9-2.	0.559	<0.500	100051.461	104001.117	4%
19	10-1.	0.544	<0.500	39073.958	41397.116	6%
20	10-2.	0.507	<0.500	40299.064	40974.240	2%

- ① 급성알러지 반응과 관련있는 Serum 총 IgE와 Histamine의 양을 측정하여 비교하였는데, Serum 총 IgE의 경우 30~200ug/ml 범위로 정상적인 개의 Serum 총 IgE 의 평균인 182.57과 유사했음 (J. S. NIMMOW ILKI, 1990)

- ② 그리고 전체적으로 Serum 총 IgE 가 유의적으로 증가하였고 (p<0.05) 1번, 7번 견의 경우 대조군에 비해 갈색거저리유충을 먹인 실험군에서 Serum 총 IgE이 23~32% 정도 증가하였으나, 호흡곤란, 설사, 구토, 쇼크, 발작, 코마, 잇몸이 파랗게 변함, 사지가 떨림, 심장박동 증가, 맥박이 약해짐 같은 심각한 임상적인 증상이 없었고 Serum Histamine의 증가를 동반하지 않음
- ③ 실험견 10마리 모두 갈색거저리유충 급이 후 Serum Histamine의 양은 변함이 없거나 오히려 감소하였음에 따라 갈색거저리 유충 분말 5% 수준에서는 급성알러지 현상이 발생하지 않아 안전하게 Pet food 원료로 사용할 수 있음
- (5) 갈색거저리 유충 가수분해물에 대한 알러지 반응연구 결과
 - 목적 : 건조밀웜을 사용한 알러지, 감각 테스트 및 가수분해 밀웜의 효능검을 위하여 테스트 비글성견 20두를 대상으로 갈색거저리 유충분말과 갈색거저리 유충 가수분해 분말의 알러지 유발 현상에 대한 조사 실시
 - 방법 :
 - ① 시험설계 (요약)



- 무알러지 사료 30일간 급여
- 이후 건조밀웜 10% 사료를 급여하여 1차 알러지-감작 테스트 후 알러지 반응을 보이거나 혹은 감작된 개체를 선발
- 무알러지 사료(elimination diet)로 2달 이상의 안정화를 거침
- 가수분해 밀웜 20% 사료를 급여하여 2차 알러지 및 감작 테스트
- ② 시험사료의 조성 및 급여방법
 - 무알러지 사료 (가수분해 대두단백과 가수분해 동물성단백질 원료)
 - 건조밀웜 10% 사료 (무알러지 사료+건조밀웜 10%)
 - 가수분해 밀웜 20% 사료 (무알러지 사료+가수분해 밀웜 20%)
 - 하루 섭취량 400g을 기준으로 200g씩 하루 두 번에 나눠 급여
- ③ 조사항목
 - 섭취량 : 남은 사료량을 측정해서 테스트
 - 분변상태 (변상태, 색, 냄새, 기타 특이사항) : 관능테스트
 - 혈액검사(밀웜급여 전,후 및 가수분해 밀웜급여 전,후 총 4회)

- 육안검사 : 피부발진, 호흡곤란, 설사, 구토, 쇼크, 발작, 코마, 잇몸이 파랗게 변함, 사지가 떨림, 심장박동 증가, 맥박이 약해짐 같은 임상적인 증상
- 통계처리 : Paired t-test (95% 유의수준)

○ 결과 (종합) : 일반 건조밀웜을 급이한 1차 테스트 결과, 전체적으로 serum IgE가 유의적으로 증가하지 않았고 육안 검사에서도 알러지 반응을 보인 개체 없었음. 몇 마리가 유의적으로 Serum IgE가 증가하는 것을 관찰했고, 알러지에 과민화된 상태, 즉 광의의 감작(sensitization)과 유사한 상태가 이루어진 것으로 판단함. 1차 테스트 결과 serum IgE가 증가한 10마리를 선발하여 가수분해밀웜의 효능을 테스트하기 위해 2차 테스트를 진행함. 일부 개체(2번견)의 경우, 38%가 증가한 1차 테스트에 비해 IgE가 약간만(11%) 증가하였고, 10마리의 실험대상 중 5마리에서는 오히려 IgE가 감소하였음. 2차 테스트에 선발된 10마리의 IgE의 증가율이 1차 테스트의 IgE의 증가율에 비해 유의적으로 줄어들었음을 보여줌 (p=0.033). 결론적으로, 일반 건조밀웜을 급이할 경우에 급성 식이성 알러지가 발생하지 않아, 가수분해밀웜의 식이성 알러지에 대한 효능을 테스트하지는 못했지만, 가수분해밀웜을 급이할 경우, 알러지에 과민화된 상태, 즉 광의의 감작(sensitization)이 효과적으로 줄어드는 것을 확인하였음

[표 20. Whole Blood cell count (1차 알러지, 감작 테스트 결과)]

Name	RBC(B)			WBC(B)			Hct			Hb		
	Ref.	Cont	Treat	Ref.	Cont	Treat	Ref.	Cont	Treat	Ref.	Cont	Treat
1	4.8~9.3		6.44	4~15.5		7.87	36~55		50.9	12.1~20.3		14.7
2	4.8~9.3	6.23		4~15.5	9.04		36~55	49.2		12.1~20.3	14.0	
3	4.8~9.3		6.58	4~15.5		8.45	36~55		52.8	12.1~20.3		15.1
4	4.8~9.3	6.20	6.64	4~15.5	8.15	7.76	36~55	48.4	52.9	12.1~20.3	14.0	14.9
5	4.8~9.3	7.28	5.98	4~15.5	9.86	8.91	36~55	54.0	47.3	12.1~20.3	16.2	13.6
6	4.8~9.3			4~15.5			36~55			12.1~20.3		
7	4.8~9.3	6.67	6.52	4~15.5	8.38	9.49	36~55	53.5	42.9	12.1~20.3	15.6	16.4
8	4.8~9.3	7.38	7.44	4~15.5	10.01	9.31	36~55	55.7	57.5	12.1~20.3	17.7	18.3
9	4.8~9.3	5.55	5.46	4~15.5	8.94	7.80	36~55	40.3	43.6	12.1~20.3	13.4	12.9
10	4.8~9.3	7.29	6.68	4~15.5	8.51	9.61	36~55	56.2	51.8	12.1~20.3	16.6	15.4
11	4.8~9.3		6.62	4~15.5		8.91	36~55		55.5	12.1~20.3		15.5
12	4.8~9.3	6.13		4~15.5	7.33		36~55	44.0		12.1~20.3	14.4	
13	4.8~9.3			4~15.5			36~55			12.1~20.3		
14	4.8~9.3		4.71	4~15.5		7.91	36~55		39.4	12.1~20.3		11.4
15	4.8~9.3	6.49	6.38	4~15.5	10.85	10.55	36~55	45.3	49.1	12.1~20.3	14.7	14.2
16	4.8~9.3	6.28	6.52	4~15.5	11.05	8.84	36~55	50.1	51.9	12.1~20.3	13.9	14.5
17	4.8~9.3	6.24	5.84	4~15.5	8.63	9.06	36~55	43.3	45.6	12.1~20.3	14.3	13.1
18	4.8~9.3	6.08	5.61	4~15.5	6.44	6.05	36~55	52.0	48.8	12.1~20.3	13.9	13.2
19	4.8~9.3	6.55		4~15.5	9.32		36~55	51.0		12.1~20.3	15.5	
20	4.8~9.3	6.89	6.87	4~15.5	9.88	10.38	36~55	51.2	53.3	12.1~20.3	15.3	15.3
Unit	10 ⁶ /μL			10 ³ /μL			%			g/dL		
Name	Platelet			Lymphocyte			Granulocyte			Monocyte		
	Ref.	Cont	Treat	Ref.	Cont	Treat	Ref.	Cont	Treat	Ref.	Cont	Treat
1	170~460		258	12~30		25.20	60~83		74.80	3~10		5.2
2	170~460	295		12~30	26.10		60~83	73.90		3~10	5.6	
3	170~460		320	12~30		34.50	60~83		65.50	3~10		4.5
4	170~460	202	193	12~30	34.80	34.40	60~83	65.20	65.60	3~10	5.6	5.7
5	170~460	155	184	12~30	33.10	27.40	60~83	66.90	72.60	3~10	4.9	5.8

6	170-460			12~30			60-83			3-10		
7	170-460	409	221	12~30	30.80	24.90	60-83	69.20	75.10	3-10	2.8	7.9
8	170-460	264	312	12~30	30.20	31.30	60-83	69.80	68.70	3-10	5.3	4.2
9	170-460	395	341	12~30	39.00	30.40	60-83	61.00	69.60	3-10	2.9	2.9
10	170-460	210	231	12~30	34.70	34.60	60-83	65.30	65.40	3-10	4.0	4.2
11	170-460		208	12~30		27.80	60-83		72.20	3-10		5.7
12	170-460	211		12~30	23.70		60-83	76.30		3-10	4.2	
13	170-460			12~30			60-83			3-10		
14	170-460		234	12~30		30.80	60-83		69.20	3-10		6.8
15	170-460	331	270	12~30	30.90	32.50	60-83	69.10	67.50	3-10	3.5	3.8
16	170-460	278	231	12~30	19.30	24.00	60-83	80.70	76.00	3-10	6.3	5.4
17	170-460	557	514	12~30	31.10	31.30	60-83	68.90	68.70	3-10	4.2	4.1
18	170-460	190	201	12~30	31.40	28.20	60-83	68.60	71.80	3-10	5.4	7.2
19	170-460	270		12~30	28.60		60-83	71.40		3-10	6.2	
20	170-460	242	265	12~30	30.80	31.70	60-83	69.20	68.30	3-10	3.3	3.5
Unit	10 ³ /μL			%			%			%		
Name	Eosinophil			B. Neutrophil			S. Neutrophil			Basophil		
	Ref.	Cont.	Treat.	Ref.	Cont.	Treat.	Ref.	Cont.	Treat.	Ref.	Cont.	Treat.
1	2~10		3.8	0~3		0.0	60~77		65.5	0~1		0.3
2	2~10	4.8		0~3	0.0		60~77	63.4		0~1	0.1	
3	2~10		3.5	0~3		0.0	60~77		55.9	0~1		1.6
4	2~10	10.4	10.7	0~3	0.0	0.0	60~77	49.0	49.0	0~1	0.2	0.2
5	2~10	10.2	11.0	0~3	0.0	0.0	60~77	51.4	55.6	0~1	0.4	0.2
6	2~10			0~3			60~77			0~1		
7	2~10	8.4	6.5	0~3	0.0	0.0	60~77	57.8	60.4	0~1	0.2	0.3
8	2~10	4.9	4.4	0~3	0.0	0.0	60~77	59.3	59.8	0~1	0.3	0.3
9	2~10	4.6	5.6	0~3	0.0	0.0	60~77	53.3	60.3	0~1	0.2	0.8
10	2~10	7.0	5.6	0~3	0.0	0.0	60~77	53.7	55.3	0~1	0.6	0.3
11	2~10		5.7	0~3		0.0	60~77		60.5	0~1		0.3
12	2~10	4.4		0~3	0.0		60~77	67.4		0~1	0.3	
13	2~10			0~3			60~77			0~1		
14	2~10		4.1	0~3		0.0	60~77		58.0	0~1		0.3
15	2~10	6.1	6.5	0~3	0.0	0.0	60~77	59.2	56.7	0~1	0.3	0.5
16	2~10	2.2	3.2	0~3	0.0	0.0	60~77	72.1	67.2	0~1	0.1	0.2
17	2~10	4.0	3.2	0~3	0.0	0.0	60~77	60.4	61.1	0~1	0.3	0.3
18	2~10	3.3	5.9	0~3	0.0	0.0	60~77	59.6	58.4	0~1	0.3	0.3
19	2~10	3.6		0~3	0.0		60~77	61.1		0~1	0.5	
20	2~10	6.3	4.8	0~3	0.0	0.0	60~77	59.2	59.5	0~1	0.4	0.5
Unit	%			%			%			%		

※ 빈공간은 응집(clotting)으로 인해 미분석

※ Ref. 범위를 초과하거나 미달하는 분석수치는 붉은 색으로 표시함

- ① 혈구분석결과 갈색거저리유충 급여 전후 혈구수의 유의미한 변화 (p>0.05)는 없었으며, 특히 알러지 반응시 basophil이 감소하고 eosinophil이 증가하는데, 이와 관련된 유의적인 변화가 없었음
- ② 특징적으로 20마리 실험견 중 (응집반응으로 분석이 어려운 샘플을 제외하고) 9마리의 lymphocyte수치가 정상수치보다 증가되어 있는데, 현재 세균성 상기도 감염이나 바이러스 감염상태일 수 있음을 보여줌
- ③ Neutrophil은 immature한 형태인 banded neutrophil과 mature한 형태인 segmented neutrophil로 나누어지는데 10마리의 실험견중 7마리에서 세균 및 진균에 대한 체내 방어능력을 나타내는 segmented neutrophil이 정상수치보다 낮은

것으로 보아 감염에 취약한 상태임을 보여줌. 그러나 정상범위에서 크게 벗어나지 않아 임상적으로는 문제없는 수치 범위임

- ④ 4,5번 실험견의 경우 급성 알러지반응과 관계있는 Eosinophil이 정상범위보다 높았으나 대조군 데이터도 역시 정상범위 이상이었음. 그러나 표2에서 살펴본 IgE와 histamine수가 대조군과 실험군에서 오히려 줄어들거나 별차이가 없었고, 호흡곤란, 설사, 구토, 쇼크, 발작, 코마, 잇몸이 파랗게 변함, 사지가 떨림, 심장박동 증가, 맥박이 약해짐 같은 임상적인 증상이 없었던 것으로 보아 다른 요인(기생충 감염)으로 인한 eosinophil의 증가로 보임.

[표 21. Serum 총 IgE, Histamine 함량 (1차 알러지, 감각 테스트결과)]

	Histamine (Rodent)		IgE(Immunoglobulin E, Canine)		
	Cont	Treat	Cont	Treat	ratio
1	1.1645	<0.500	92,341	99,860	1.08
2	<0.500	<0.500	96,183	132,367	1.38
3	0.6625	<0.500	59,147	57,807	0.98
4	<0.500	<0.500	119,735	124,352	1.04
5	<0.500	<0.500	180,448	151,488	0.84
6	0.5955	<0.500	129,007	122,864	0.95
7	0.8165	<0.500	161,853	183,700	1.13
8	<0.500	<0.500	116,489	110,556	0.95
9	<0.500	<0.500	30,293	32,820	1.08
10	1.2225	<0.500	138,078	125,990	0.91
11	1.2245	<0.500	166,140	190,732	1.15
12	<0.500	<0.500	72,442	64,797	0.89
13	0.5505	<0.500	52,870	59,286	1.12
14	1.433	<0.500	32,534	28,932	0.89
15	<0.500	<0.500	81,230	91,638	1.13
16	<0.500	<0.500	44,951	45,672	1.02
17	0.594	<0.500	46,130	53,512	1.16
18	<0.500	<0.500	50,475	44,203	0.88
19	<0.500	<0.500	12,500	12,500	1.00
20	<0.500	<0.500	109,567	111,479	1.02
Unit	ng/mL	ng/mL	ng/mL	ng/mL	

※ 노란색으로 표시한 실험견 (1,2,4,7,9,11,13,15,17,20 번)은 2차 테스트 대상으로 선정

- ① 개, 고양이에서 식이성 알러지반응을 진단하는 현재까지 알려진 가장 좋은 방법은 알러젠의 제거 식이(elimination diet)와 재급이를 통한 방법임. 그러나 시간이 오래 걸리고 편의성이 떨어짐. 그리고 lymphocyte proliferation test와 patch test가 그 뒤를 이음
- ② lymphocyte proliferation test는 정확성이 높지만, 어려운 분석법으로 연구목적에 적합하고 (Ishida *et al.* 2004), patch test도 정확성(accuracy) 및 음성예측도(negative predictibility)가 높은 편이어서 제거식이의 대상을 찾는 데 적합함 (Bethlehem *et al.* 2012, Johanson *et al.* 2017)
- ③ 개에서 식이성 알러지를 진단하기 위해 Serum IgE를 분석하는 방법은 58~87%의 정확도만을 보여주었음. (Jeffers *et al.* 1991; Ishida *et al.* 2004; Ishida *et al.* 2012)
- ④ 건조밀웜을 급이한 예비실험(preliminary feeding test)에서 일반적으로 급성알러

지 반응과 관련있는 serum 총 IgE와 histamine의 양을 측정하였고, 실험견들이 모두 육안검사에서 건조밀웍에 대한 알러지반응을 보이지는 않았음. 즉, 건조밀웍이 직접적으로 알러지 반응을 유발하지는 않았음

- ⑤ 그러나 일부 실험견에서 IgE가 유의적으로 증가하는 것으로 보아 감각이 일어나는 것으로 판단하고, 추후 serum 총 IgE 분석을 통해 감각에 대한 가수분해 밀웍의 효능을 검증하기로 하고 실험을 설계하고 1,2차 테스트 진행함
- ⑥ 1차 알러지-감각 테스트 결과 Serum IgE의 경우 12~190ug/ml 범위로 다양한 견종을 분석한 선행연구의 Serum IgE의 평균인 182.57 (범위 25~410 ug/ml)과 유사했으나 (Nimmo Wilkie *et. al*, 1990), 정상적인 비글견의 Serum IgE 범위인 15~88ug/ml (In studies at Life Diagnostics) 보다는 다소 높은 개체가 몇 마리 있었음
- ⑦ 전체적으로 Serum IgE가 유의적으로 증가하지 않았음($p>0.05$) 2번 견의 경우 대조군에 비해 갈색거저리 유충을 먹인 실험군에서 serum IgE이 38% 정도 증가하였으나, 호흡곤란, 설사, 구토, 쇼크, 발작, 코마, 잇몸이 파랗게 변함, 사지가 떨림, 심장박동 증가, 맥박이 약해짐 같은 임상적인 증상이 없었고, serum histamine의 증가를 동반하지 않았음. 그러나 유의적으로 serum 총 IgE가 증가하여 알러지에 과민화된 상태, 즉 광의의 감각(sensitization)과 유사한 상태가 이루어진 것으로 판단함
- ⑧ 실험견 20마리 모두 건조밀웍 유충 급이 후 Serum Histamine의 양은 큰 차이가 없었음
- ⑨ 일반 건조밀웍 유충을 급이하는 1차 테스트 후 serum IgE양이 증가한 10마리를 선발하여 갈색거저리 유충 가수분해물을 급이하는 2차 테스트를 진행함.

[표 22. Whole Blood cell count (2차 알러지, 감각 테스트 결과)]

Name	RBC(B)			WBC(B)			Hct			Hb		
	Ref.	Cont	Treat	Ref.	Cont	Treat	Ref.	Cont	Treat	Ref.	Cont	Treat
1	4.8~9.3		6.38	4~15.5		7.55	36~55		46.6	12.1~20.3		15.2
2	4.8~9.3	7.35	6.85	4~15.5	9.66	9.86	36~55	56.7	52.6	12.1~20.3	16.8	15.6
4	4.8~9.3		6.42	4~15.5		7.64	36~55		48.3	12.1~20.3		14.5
7	4.8~9.3	6.42	6.56	4~15.5	9.81	10.15	36~55	48.7	48.3	12.1~20.3	15.0	15.1
9	4.8~9.3	6.95	6.77	4~15.5	8.38	8.37	36~55	51.6	49.3	12.1~20.3	16.5	15.8
11	4.8~9.3	6.58	6.42	4~15.5	12.19	9.34	36~55	50.0	51.6	12.1~20.3	15.9	14.8
13	4.8~9.3	7.19	6.91	4~15.5	11.12	10.35	36~55	56.8	54.1	12.1~20.3	17.0	15.6
15	4.8~9.3	7.22	6.84	4~15.5	10.90	10.11	36~55	53.0	49.6	12.1~20.3	16.1	15.0
17	4.8~9.3		6.54	4~15.5		8.53	36~55		47.8	12.1~20.3		14.9
20	4.8~9.3	6.92	6.24	4~15.5	11.60	11.99	36~55	50.4	45.6	12.1~20.3	15.8	13.6
Unit	10 ⁶ /μL			10 ³ /μL			%			g/dL		
Name	Platelet			Lymphocyte			Granulocyte			Monocyte		
	Ref.	Cont	Treat	Ref.	Cont	Treat	Ref.	Cont	Treat	Ref.	Cont	Treat
1	170~460		256	12~30		25.3	60~83		74.7	3~10		3.6
2	170~460	292	225	12~30	24.9	21.8	60~83	75.1	78.2	3~10	5.6	5.4
4	170~460		215	12~30		34.6	60~83		65.4	3~10		5.2
7	170~460	555	632	12~30	32.4	31.1	60~83	67.6	68.9	3~10	4.3	3.6
9	170~460	276	287	12~30	40.6	38.2	60~83	59.4	61.8	3~10	2.7	2.3
11	170~460	280	255	12~30	29.3	29.8	60~83	70.7	70.2	3~10	5.4	4.2
13	170~460	196	173	12~30	32.4	31.0	60~83	67.6	69	3~10	5.1	3
15	170~460	293	277	12~30	36.1	36.2	60~83	63.9	63.8	3~10	3.3	3.1
17	170~460		415	12~30		33.5	60~83		66.5	3~10		4.7

20	170-460	320	313	12-30	31.6	24.7	60-83	68.4	75.3	3-10	3.3	3.3
Unit	10 ³ /μL			%			%			%		
Name	Eosinophil			B. Neutrophil			S. Neutrophil			Basophil		
	Ref.	Cont	Treat	Ref.	Cont	Treat	Ref.	Cont	Treat	Ref.	Cont	Treat
1	2~10		2.2	0-3		0.0	60~77		68.7	0-1		0.2
2	2~10	6.2	7.0	0-3	0.0	0.0	60~77	63.1	65.6	0-1	0.2	0.2
4	2~10		9.3	0-3		0.0	60~77		50.8	0-1		0.1
7	2~10	5.5	5.0	0-3	0.0	0.0	60~77	57.6	60.0	0-1	0.2	0.3
9	2~10	4.3	4.1	0-3	0.0	0.0	60~77	52.3	55.1	0-1	0.1	0.3
11	2~10	6.8	5.7	0-3	0.0	0.0	60~77	58.2	59.9	0-1	0.3	0.4
13	2~10	1.9	2.2	0-3	0.0	0.0	60~77	60.4	63.6	0-1	0.2	0.2
15	2~10	5.1	5.1	0-3	0.0	0.0	60~77	55.2	55.1	0-1	0.3	0.5
17	2~10		4.0	0-3		0.0	60~77		57.5	0-1		0.3
20	2~10	4.8	4.0	0-3	0.0	0.0	60~77	60.0	67.6	0-1	0.3	0.4
Unit	%			%			%			%		

※ 빈공간은 응집(clotting)으로 인해 미분석

※ Ref. 범위를 초과하거나 미달하는 분석수치는 붉은 색으로 표시함

① 1차 테스트 결과와 비교하여 유의적인 차이 없었음

[표 23. Serum 총 IgE, Histamine 측정결과 (2차 알러지, 감각 테스트 결과)]

	Histamine (Rodent)		IgE(Immunoglobulin E, Canine)		ratio
	Cont	Treat	Cont	Treat	
1	0.575	0.5435	100,314	85,718	0.85
2	1.3225	0.695	89,041	98,482	1.11
4	0.7555	2.7985	83,606	88,751	1.06
7	<0.500	0.6235	192,145	185,024	0.96
9	1.528	<0.500	24,615	28,302	1.15
11	2.878	0.5405	136,812	121,540	0.89
13	1.4655	<0.500	43,518	51,157	1.18
15	1.5925	0.8195	45,355	44,557	0.98
17	1.205	0.5165	41,621	33,689	0.81
20	0.9665	0.5225	103,509	109,365	1.06
Unit	ng/mL	ng/mL	ng/mL	ng/mL	

- ① 1차 테스트 결과와 달리 serum IgE수치가 줄어든 실험견 5마리를 노란색(1, 7, 11, 15, 17번 실험견)으로 표시함
- ② Serum IgE의 경우 24~192ug/ml 범위로 1차 테스트 및 다양한 견종을 분석한 선행연구의 serum IgE의 평균인 182.57(range 25~410 ug/ml)과 유사했으나 (Nimmo Wilkie et. al, 1990), 정상적인 비글견의 serum IgE 범위인 15~88ug/ml (In studies at Life Diagnostics) 보다는 다소 높은 개체가 몇 마리 있었음
- ③ 전체적으로 serum IgE의 유의적인 변화를 보이지는 않았지만(p>0.05), 2번견의 경우 38%가 증가한 1차 테스트에 비해 IgE가 약간만(11%) 증가하였고, 10마리의 실험대상 중 5마리에서는 오히려 IgE가 감소하였음. 1차 테스트와 마찬가지로 2차 테스트에 선발된 10마리 개체 모두 호흡곤란, 설사, 구토, 쇼크, 발작, 코마, 잇몸이 파랗게 변함, 사지가 떨림, 심장박동 증가, 맥박이 약해짐 같은 알러지의 임상적인 증상이 없었고, Serum Histamine의 증가를 동반하지 않았음
- ④ 주목할 점은 2차 테스트에 선발된 10마리의 IgE의 증가율이 1차 테스트의 IgE의

증가율에 비해 유의적으로 줄어들었음. ($p=0.033$) 즉, 가수분해밀웜을 급이할 경우, 알러지에 과민화된 상태, 즉 광의의 감각(sensitization)이 효과적으로 줄어드는 것을 확인함

(6) 갈색거저리 유충油에 대한 비글견의 기호성 연구결과

○ 목적 : 갈색거저리 유충이 함유하고 있는 약 35% 정도의 지방이 기호성에 미치는 영향을 파악하기 위하여 사양시험을 실시함

○ 방법 :

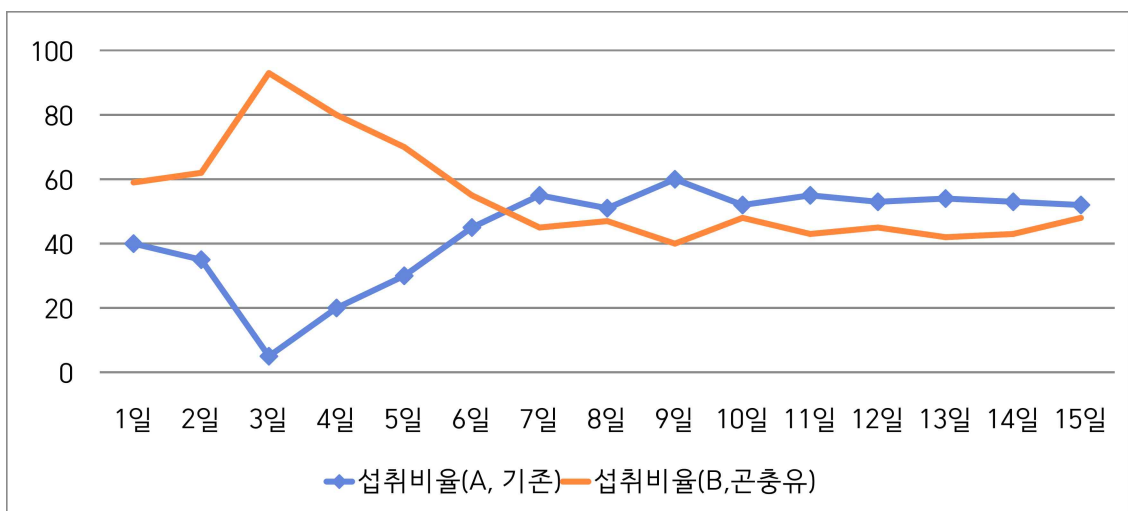
① 시험견 10마리에게 시판 Pet food (A)와 곤충유를 5% 사용한 시험사료 (B) 이 용하여 Two-bowl 테스트 (남은 사료량을 측정해서 섭취량을 측정)

② 분변상태 테스트는 하지 않았으며, 기호성 테스트를 위하여 A, B 사료를 모두 오전, 오후 2번 150g씩 하루에 300g씩 급이하여 진행함

○ 결과 :

① 기호성 : 곤충유를 5% 사용한 시험사료(B)의 경우 하루평균 125g, 기존사료 (A)의 경우 하루평균 111g을 섭취했고, 하루평균섭취량 236g 중 53%를 시험사료 (B)로 섭취함. 그러나 기호성 테스트 초반에만 선호도가 급격히 높고 이내 평준화한 것으로 보아 neophilia (novelty effect, 새로운 것 선호)로 보임. 실제로 기호성이 더 좋은지는 장기테스트가 필요함

② 분변상태 : 별도 분변상태를 측정하지는 않았으나 전반적으로 양호한 상태를 보여 5% 곤충유가 분변상태에 미치는 영향은 크지 않은 것으로 나타남



[그림 21. 갈색거저리 유충 추출유 5% 함유가 사료섭취량에 미치는 영향]

- 곤충유를 사용한 시험사료(B)의 경우 시험기간 내 하루평균 125g, 기존사료(A)의 경우 하루평균 111g를 섭취했고, 평균섭취량 236g중 53%를 시험사료(B)를 섭취함. 그러나 기호성테스트 초반에만 선호도가 급격히 높고 이내 평준화한 것으로 보아 neophilia(novelty effect, 새로운것 선호)로 보임. 실제로 기호성이 더 좋은지는 장기테스트가 필요함
- Neophilia는 neophilia(새로운것 선호), neophobia(새로운것 혐오), aversion(혐오)와 같은 개, 고양이의 섭취행동 중 하나로 새로운 것을 선호하는 것을 의미하

는데, neophilia의 강도는 새로운 사료자체의 기호성, 기존 사료의 섭취기간에 따라 달라짐. 즉, 새로운 사료의 기호성이 좋고, 기존 사료를 먹은 기간이 긴 경우 neophilia현상이 오래 지속됨 (Mugford, 1997; Ferrel. 1984).

- 그러나 이번 시험의 경우 neophilia 현상이 3~4일정도 밖에 지속되지 않은 것으로 보아 곤충유가 들어간 새로운 사료의 기호성이 기존 사료에 비해 그리 높지 않은 것으로 보임

(7) 갈색거저리 유충 분말의 자돈에서의 어분 대체효과 연구

○ 목적 : 자돈사료의 성장 능력 및 사료 섭취 개선의 목적으로 현재 어분을 사용하고 있으나, 연이은 국제 단백질 원료 상승으로 인하여 어분의 가격 또한 상승하고 있어, 곤충 단백을 이용하여 고가의 어분을 대체하고자 하는 데 목적이 있음

○ 방법 :

- ① 시험동물 : 3원 교잡종 이유자돈 200두
- ② 시험구 처리 : 5처리구, 8반복, 반복당 5마리
- ③ 시험구 1 : 대조구 (대한사료(주) 시판사료인 에코프리플러스)
- ④ 시험구 2 : 동애등에분말 어분 50% 대체
- ⑤ 시험구 3 : 동애등에분말 어분 100% 대체
- ⑥ 시험구 4 : 갈색거저리유충 분말 어분 50% 대체
- ⑦ 시험구 5 : 갈색거저리유충 분말 어분 100% 대체

○ 시험사료 급여프로그램

- ① 1단계 이유 후 0~7 일 : 1단계 사료 급여(일반사료 급여)
- ② 2단계 8~21 일 : 2단계 사료 급여(시험사료 급여)
- ③ 3단계 22~35 일령 : 3단계 사료 급여(시험사료 급여)

○ 결과 : 동애등에 유충과 비교하여 갈색거저리 유충분말이 영양소 소화율 측면에서 보다 높은 것으로 보아 갈색거저리 유충이 어분을 대체할 수 있을 것이라 생각되며, 본 실험에서 자돈 2호 구간에 있어서 곤충 단백질이 어분을 대체에는 무리가 있으나, 자돈 3호 구간에서 어분을 대체하여 사용할 수 있을 것이라 사료됨

- ① 이유자돈의 성장능력에 미치는 영향

[표 24. 어분대체로 곤충단백질이 이유자돈의 성장에 미치는 영향]

Items	어분 100% 대조구	동애등에 어분 50% 대체	동애등에 어분 100% 대체	갈색거저리 유충 어분 50% 대체	갈색거저리 유충 어분 100% 대체	SEM ¹⁾
Body weight, kg						
Initial	6.93	6.93	6.93	6.93	6.93	0.00
wk1	8.05	7.98	8.06	7.96	8.04	0.04
wk3	13.61 ^a	13.07 ^b	13.46 ^a	13.08 ^b	13.47 ^a	0.12
wk5	21.81 ^a	21.01 ^b	21.55 ^{ab}	21.09 ^b	21.41 ^{ab}	0.21
Overall						
DG,g	425 ^a	402 ^b	418 ^{ab}	404 ^b	413 ^{ab}	6
DFI,g	575	561	578	560	574	10
FCR	1.354	1.398	1.387	1.387	1.39	0.033

¹⁾ Standard error of means.

^{a,b} Means in the same row with different superscripts differ (P < 0.05).

- 자돈 사료 1호(1주차) : 대한사료(주)의 일반 제품을 급여한 구간으로써 처리구 간의 유의적인 차이를 보여지지 않았음 (P>0.05)
 - 자돈 사료 2호(3주차) : 어분 100%인 대조구가 곤충 단백질 50% 대체(동애등에, 갈색거저리유충) 처리구와 비교하여 유의적으로 높게 나타났으나 (P<0.05), 사료 섭취량, 사료 요구율에 있어서는 유의적인 차이를 보이지 않았음 (P>0.05)
 - 자돈 사료 3호(5주차) : 일당중체량, 일당사료섭취량, 사료요구율에 있어 처리구 간에 유의적인 차이를 보이지 않았음 (P>0.05)
 - 전체 기간 : 어분 100%인 대조구가 곤충 단백질 50% 대체(동애등에, 갈색거저리유충) 처리구와 비교하여 유의적으로 높게 나타났으나(P<0.05), 사료섭취량, 사료요구율에 있어서는 유의적인 차이를 보이지 않았음 (P>0.05)
- ② 분변지수에 미치는 영향

[표 25. 어분대체로 곤충단백질이 이유자돈의 분변상태에 미치는 영향]

Items	어분 100% 대조구	동애등에 어분 50% 대체	동애등에 어분 100% 대체	갈색거저리유충 어분 50% 대체	갈색거저리유충 어분 100% 대체	SEM ¹⁾
Fecal score ²⁾						
wk1	3.32	3.34	3.34	3.38	3.25	0.05
wk2	3.20	3.23	3.21	3.23	3.16	0.05
wk3	3.18	3.21	3.25	3.23	3.20	0.07
wk4	3.23	3.20	3.18	3.21	3.20	0.06
wk5	3.14	3.09	3.13	3.18	3.16	0.05

¹⁾ Standard error of means.

²⁾ Score = 1 = hard, dry pellets in a small, hard mass; 2 = hard, formed stool that remains firm and soft; 3 = soft, formed, and moist stool that retains its shape; 4 = soft, unformed stool that assumes the shape of the container; 5 = watery, liquid stool that can be poured.

- 분변상태 : 어분대체물질로써 곤충단백 급여가 이유자돈의 분변 상태에 미치는 영향에 대한 결과는 표 2에 나타내었다. 어분을 곤충단백으로 대체하여 급여하여도 분변 상태가 변화하지 않았음

③ 영양소 소화율

[표 26. 어분대체로 곤충단백질이 이유자돈의 영양소 소화율에 미치는 영향]

Items	어분 100% 대조구	동애등에 어분 50% 대체	동애등에 어분 100% 대체	갈색거저리유충 어분 50% 대체	갈색거저리유충 어분 100% 대체	SEM ¹⁾
건물	81.87 ^a	78.81 ^b	80.41 ^{ab}	79.85 ^{ab}	81.27 ^a	0.89
질소	81.61 ^a	78.57 ^b	80.27 ^{ab}	79.54 ^{ab}	81.28 ^a	0.86
Energy	80.28	79.46	79.28	79.74	80.48	1.37

¹⁾ Standard error of means

a,b) p<0.05

- 소화율 : 시험 종료시 측정된 건물 및 질소 소화율에 있어서는 어분 100% 급여 구 및 갈색거저리유충 어분 100% 대체 급여구가 동애등에 어분 50% 대체 급여 구 보다 유의적으로 높게 나타났음 ($P < 0.05$)

(8) 갈색거저리 유충 분말의 반려견(비글)에서 소화율 및 분변지수

○ 목적 : 비글견의 동물성단백질원 (계육분, 육분, 어분, 밀웜분말) 첨가 급여에 따른 단백질 외관소화율에 미치는 영향을 알아보고자 실시함

○ 방법 :

- ① 시험동물 및 시험설계 : 총 12 마리 비글 자견을 1주간 기초 사육한 후 사양시험은 1주로 총 2주간 시험을 실시하였다. 시험 개시시 체중은 14.69 ± 1.62 kg 이었으며, 시험설계는 1) 계육분, 2) 육분, 3) 어분 및 4) 밀웜분말로 4처리, 처리당 3반복, 반복당 3마리씩 완전 임의 배치
- ② 시험사료와 사양관리 : 사양시험은 충남 예산군 덕산면에 위치한 대한FS 시험농장에서 실시하였음, 시험사료에 동물성단백질원으로 계육분, 육분, 어분, 밀웜분말을 첨가하여 생산한 제품을 (단백질 30%, 대사에너지 4,100 kcal/kg 동일) 하루 섭취량 300g을 기준으로 150g씩 오전 10시 및 오후 5시에 각각 나눠 급여 하였으며, 물은 자동급수기를 이용하여 자유로이 먹을 수 있도록 조절함

③ 조사항목 및 방법

(ㄱ) 영양소 소화율 : 영양소 소화율은 4일간의 적응기를 거친 후 3일간 뇨를 채취하는 전분채취법 (총 collection)을 사용하였다. 사료 내 산화크롬 (Cr_2O_3)을 표시물로서 0.2% 첨가하여 급여 후종료시 (7일)까지 3일간 항문 마사지법으로 분을 채취하였다. 채취한 분은 60°C의 건조기에서 72시간 건조시킨 후 Willey mill로 분쇄하여 분석에 이용한다. 사료의일반성분과 표시물로 혼합 된 Cr은 AOAC (2000)의 방법에 준하여 분석하고, 단백질 소화율을 분석하였다.



(ㄴ) 분변처리 : 분변지수는 전체 시험기간동안 동안 매일 측정하여 다음과 같은 지수로 (Score: 1 = hard, dry pellets in a small, hard mass; 2 = hard, formed stool that remains firm and soft; 3 = soft, formed, and moist stool that retains its shape; 4 = soft, unformed stool that assumes the shape of the container; 5 = watery, liquid stool that can be poured.) 수치화하여 시험 종료 시 (7일)평균 값을 산출 하였다.

(ㄷ) 통계처리 : 모든 자료는 SAS (2013)의 General Linear Model procedure를 이용하여 Duncan's multiple range test (Duncan, 1955)로 처리하여 평균간의 유의성을 검정하였다.

○ 결과 : 갈색거저리 유충 (밀웜) 분말과 다른 동물성 단백질원간에 건물, 질소 및 에너지 소화율에 차이가 없었으며 ($p > 0.05$), 분변지수에도 통계적인 유의차가 발견되

지 않음에 따라, 갈색거저리 유충분말은 반려견 사료에서 가수분해 계육분, 가수분해 어분 등을 대체 할 수 있을 것이라 사료됨

- ① 영양소 소화율 : 동물성단백질원 (계육분, 육분, 어분, 밀웜분말)에 첨가 급여에 따른 비글견의 영양소 소화율에 미치는 영향은 Table 1에 나타내었다. 시험 종료시 (7일) Nitrogen 소화율에 있어 모든 처리구간 유의적인 차이가 나타나지 않았다 ($P > 0.05$).

[표 27. 동물성 단백질원의 첨가가 영양소 소화율(%)에 미치는 영향]

Items	계육분	육분	어분	밀웜	SEM ¹⁾
건물	74.69	74.56	75.01	74.88	0.74
질소	72.85	72.60	73.09	72.93	0.66
에너지	74.06	73.94	74.48	74.21	0.70

¹⁾ Standard error of means

- ② 분변지수 : 시험 종료시 (7일) 분변지수에 있어 모든 처리구간 유의적인 차이가 나타나지 않았다 ($P > 0.05$).

[표 28. 동물성 단백질원의 첨가가 분변지수에 미치는 영향]

Items	계육분	육분	어분	밀웜	SEM ¹⁾
급여 7일째 분변지수 ²⁾	3.13	3.23	3.27	3.23	0.03

¹⁾ Standard error of means.

²⁾ Score = 1 = hard, dry pellets in a small, hard mass; 2 = hard, formed stool that remains firm and soft; 3 = soft, formed, and moist stool that retains its shape; 4 = soft, unformed stool that assumes the shape of the container; 5 = watery, liquid stool that can be poured.

(9) 갈색거저리 유충 가수분해물의 반려견(비글)에서 소화율 및 분변지수

○ 목적 : 밀웜분말, 밀웜가수분해물 및 가수분해 동물성단백질원(계육분, 어분, 돼지내장분말)에 따른 건물, 단백질, 조지방, 조섬유 및 조회분 총장관 소화율 측정

○ 방법 :

- ① 시험동물 및 실험설계 : 비글 자견 20마리를 대상으로, 5개의 시험구에 4 마리씩 임의배치하여 갈색거저리 유충분말, 가수분해 갈색거저리 유충분말, 가수분해 계육분, 가수분해 어분, 가수분해 돼지내장분말을 사용하여 만든 5종의 사료를 급여.
- ② 시험사료와 사양관리 : 시험 사료는 일반 Pet food 제품 (단백질 30%, 대사에너지 4000kcal/kg 동일)에 동물성 단백질원 10%를 혼합하여 하루 섭취량 300g을 기준으로 150g씩 두 번에 나눠 오전10시와 오후5시 급여
- ③ 조사항목 : 단백질 소화율측정 (전분시험법)과 분변상태 (변상태, 색, 냄새, 기타 특이사항)를 관능조사 함

○ 결과 : 가수분해 갈색거저리 유충분말은 반려견 사료에서 가수분해 계육분, 가수분해 어분 등 고급단백질 공급원을 대체 할 수 있을 것이라 사료됨

- ① 영양소 소화율 : 건물소화율에 있어서는 가수분해 갈색거저리와 가수분해 어분을 급여한 처리구는 갈색거저리유충과 가수분해 돼지장점막을 급여한 처리구와 비교

하여 유의적으로 높게 나타났다($P<0.05$). 단백질 소화율에 있어서 가수분해 갈색 거저리유충, 가수분해 계육분 및 가수분해 어분을 급여한 처리구가 갈색거저리유충과 가수분해 돼지장점막을 급여한 처리구와 비교하여 유의적으로 높게 나타났다($P<0.05$). 지방 및 인 소화율에 있어서는 처리구간에 유의적인 차이를 나타내지 않았다($P>0.05$). 조섬유 및 회분 소화율은 가수분해 갈색거저리유충 및 가수분해 어분을 급여한 처리구가 갈색거저리유충을 급여한 처리구와 비교하여 유의적으로 높게 나타났다($P<0.05$). 칼슘 소화율에 있어서는 가수분해 어분 처리구 가장 높은 소화율(73.17%)을 보여 주었으며, 갈색거저리유충을 급여한 처리구가 가장 낮은 소화율(32.99%)을 보여주었다($P<0.05$).

[표 29. 가수분해 동물성 단백질원의 첨가가 영양소 소화율(%)에 미치는 영향]

구분	갈색 거저리 유충박	가수분해 갈색거저리 유충	가수분해 계육분	가수분해 어분	가수분해 돼지장점막	SEM ¹⁾	P-value
건물	85.37 ^b	88.74 ^a	87.32 ^{ab}	88.68 ^a	86.30 ^b	0.68	0.016
조단백질	90.85 ^b	91.95 ^a	92.05 ^a	92.24 ^a	91.02 ^b	0.28	0.012
조지방	98.95	99.04	99.12	98.82	99.06	0.14	0.618
조섬유	54.12 ^b	66.58 ^a	60.84 ^{ab}	69.49 ^a	59.45 ^{ab}	3.76	0.089
조회분	86.16 ^b	90.65 ^a	89.22 ^{ab}	91.54 ^a	88.96 ^{ab}	1.07	0.035
칼슘	32.99 ^c	56.92 ^{ab}	58.03 ^{ab}	73.17 ^a	53.80 ^b	5.78	0.016
총인	61.55	71.18	67.43	69.90	66.19	3.65	0.420

^{ab} Means in a same row with different superscript significantly different ($P<0.05$).

¹⁾Standard error of means.

- ② 분변지수 : 갈색거저리 유충 및 가수분해 갈색거저리 유충분말을 포함하여 동물성 원료 급여에 따른 분변지수는 유의적인 차이를 나타내지 않았음($P>0.05$)

[표 30. 동물성 단백질원의 첨가가 분변지수에 미치는 영향]

구분	갈색 거저리 박	가수분해 갈색거저리 유충	가수분해 계육분	가수분해 어분	가수분해 돼지장점막	SEM ¹⁾
분변지수 ²⁾	3.21	3.32	3.13	3.27	3.14	0.23

¹⁾Standard error of means.

²⁾Fecal score: 1 = hard, dry pellets in a small, hard mass; 2 = hard, formed stool that remains firm and soft; 3 = soft, formed, and moist stool that retains its shape; 4 = soft, unformed stool that assumes the shape of the container; 5 = watery, liquid stool that can be poured.

(10) 갈색거저리 유충 발효물의 반려견(비글)에서 소화율 및 분변지수

○ 목적 : 갈색거저리 유충 발효물과 일반 갈색거저리 유충분말의 건물, 단백질, 지방 섬유소 및 칼슘과 인의 총 장관 소화율을 측정하여 일반 Pet food와 비교

○ 방법 :

- ① 시험동물 및 실험설계 : 비글 성견 6마리(3년생)를 3개의 시험구에 2마리씩 임의 배치하여 대조구(Pet food), 갈색거저리 유충, 발효 갈색거저리 유충을 사용하여

만든 3종의 사료 급여를 3반복씩 급여함.

	애완견 A, D	애완견 B, E	애완견 C, F
1반복	일반 Pet food	갈색거저리 유충	발효 갈색거저리 유충
2반복	갈색거저리 유충	발효 갈색거저리 유충	일반 Pet food
3반복	발효 갈색거저리 유충	일반 Pet food	갈색거저리 유충

* 4일간 사료 적응 기간을 두었으며, 3일동안 분을 채취 하였음.

② 시험사료와 사양관리 : 시험사료는 Pet food와 갈색거저리 유충 및 발효 갈색거저리 유충을 함유한 제품(단백질 30%, 대사에너지 4,000 kcal/kg 동일)을 제조하여, 각각 하루 사료 300g을 기준으로 150g씩 두 번 나누어 급여함(오전 10시, 오후 5시 급여). 1,2차년도에 실시한 갈색거저리 유충 소화율을 토대로 배합비에 적용하여 작성하였음.

③ 조사항목 : 영양소 소화율(%)

○ 결과 :

① 영양소 소화율 : 건물, 조단백, 조회분, 조지방, 조섬유, 칼슘, 인의 영양소 소화율에 있어서 일반사료, 갈색거저리 유충 및 발효 갈색거저리 유충을 급여한 처리구간에 유의적인 차이를 보이지 않았다. 이러한 결과는 1, 2차년도에 양돈과 반려견을 통하여 직,간접적(돼지, 반려견)으로 갈색거저리 유충에 대한 영양소 평가가 정확히 평가되어 배합비에 적용됨에 얻어진 결과로 보여진다. 발효 갈색거저리 유충에 대한 영양소 소화율은 갈색거저리 유충과 동일한 소화율을 보여 주었다. 3차년도에 반려동물은 체골격 및 소화기관이 완전히 발달한 건강한 성견이었기 때문에 소화율에는 큰차이를 보이지 않았던 것으로 사료된다.

[표 31. 영양소 소화율(%)]

구분	일반사료	건조갈색거저리 유충	갈색거저리 유충발효물	SEM ¹⁾	P-value
건물	92.01	90.67	86.52	2.09	0.927
단백질	93.50	93.80	93.90	0.99	0.987
지방	99.58	99.42	99.40	0.09	0.719
섬유소	65.78	66.48	68.92	5.48	0.975
회분	70.90	71.61	72.82	4.55	0.988
칼슘	64.95	43.49	52.13	8.15	0.569
인	67.81	51.50	58.76	7.46	0.684

¹⁾Standard error of means

(11) 갈색거저리 유충분말의 육성돈에서 회장소화율(%)

○ 목적 : 건조 된 갈색거저리 (*Tenebrio molitor*) 유충의 영양소 회장소화율을 조사하고 육성돼지에서 3 개의 동물성 단백질 부산물과 비교 하였음

○ 방법 :

① 시험동물 및 실험설계 : 평균 체중이 24.12 ± 0.68 kg 인 교배종 ([Landrace x Yorkshire] x Duroc) 육성돈에게 인증된 수술방법으로, 24 시간 절식 후 회장 캐

늘라를 외과적으로 장착한 후, 회복 기간은 2 주 후, 총 12 마리의 돼지를 개별 대사 틀에 배정하고 완전임의배치법으로 3 반복, 4 처리 시험 실시

- ② 시험사료와 사양관리 : 시험사료는, i) 어분, 옥수수-식물성 단백질박 사료 + 9.95 % 어분; ii) 육분, 옥수수-식물성 단백질박 사료 + 9.95 % 육분; iii) 계육분, 옥수수-식물성 단백질박 사료 + 9.95 % 가금부산물; iv) 밀웜, 옥수수-식물성 단백질박 사료 + 9.95 % 건조 갈색거저리 유충이며, 하루 각 돼지에게 07:00, 11:00, 15:00 및 19:00 h에 하루 4 회 시험사료 1kg을 공급하였는데, 이는 유지 에너지 요구량의 2.8 배 (ME_n = 106 kcal ME / kg^{0.75})에 해당함. 물은 자유급여 하게 함

- ③ 조사항목 : 영양소 회장 소화율(%) 측정

○ 결과 : 결론적으로, 체중 25kg 전후의 육성돈에게 갈색거저리 유충을 함유한 사료를 급여하면 필수 및 비 필수 아미노산뿐만 아니라 영양소의 AID 및 SID가 증가함에 따라, 건조 갈색거저리 유충 단백질은 성장하는 돼지에서 10 % 수준으로 단백질 공급원으로서 사용될 수 있음

- ① 갈색거저리 유충 분말 및 동물성 단백질 원료의 육성돈에서의 외관상 회장소화율 (AID, %) : Lys의 AID는 어분사료를 먹은 돼지보다 갈색거저리 유충분말 사료를 먹은 돼지에서 더 높았다 (p <0.05). 갈색거저리 유충분말 사료를 섭취 한 돼지는 어분사료 또는 육분사료를 섭취 한 돼지에 비해 His 및 Arg의 AID가 증가한 것으로 나타났다 (p <0.05). Cys의 AID는 계육분사료를 먹은 돼지와 갈색거저리 유충분말 사료를 급여한 돼지에서 어분사료를 급여한 돼지에 비해 증가되었다 (p <0.05).

[표 32. 외관상 회장소화율, AID(%)]

구분	처리구 ¹⁾				SEM	p-value
	어분	육분	계육분	밀웜		
건물	84.35	86.99	87.65	89.44	2.679	0.08
조단백질	85.04	86.76	87.87	89.58	2.387	0.05
총아미노산	85.37	86.90	87.97	89.60	1.543	0.05
라이신	86.13 ^b	87.36 ^{ab}	88.40 ^b	89.65 ^b	1.296	0.04
메치오닌	85.53	87.19	87.76	89.56	1.440	0.06
트레오닌	84.17	86.82	87.59	89.53	1.925	0.06
아르지닌	87.37 ^b	87.66 ^b	88.93 ^{ab}	89.74 ^a	0.961	0.03
시스틴	83.00 ^b	86.02 ^b	87.64 ^{ab}	89.57 ^a	2.406	0.04

SEM, standard error of means.

¹⁾ 어분, corn-vegetable by-product based diet with 9.95% fish meal; 육분, corn-vegetable by-product based diet with 9.95% meat meal; 계육분, corn-vegetable by-product based diet with 9.95% poultry meal; 밀웜, corn-vegetable by-product based diet with 9.95% dried *Tenebrio molitor* larvae.

^{ab} Means in a same row with different superscript significantly different (p<0.05).

- ② 갈색거저리 유충 분말 및 동물성 단백질 원료의 육성돈에서의 진정 회장소화율 (SID, %) : Arg의 SID는 갈색거저리 유충분말 사료를 먹은 돼지에서 어분이나 육분 사료를 먹은 돼지에서보다 높았다 (p <0.05). 계육분 사료 또는 갈색거저리 유충분말 사료를 급여한 돼지에서 어분 사료를 먹은 돼지에 비해 Cys의 SID가 증가한 것으로 나타났다 (p <0.05). 결론적으로, 돼지에게 갈색거저리 유충을 함유

한 사료를 급여하면 영양소의 AID 및 SID 가 향상되었다. 건조 된 밀웬 유충 단백질의 소화율과 생체 내에서의 활용도 또한 우수하다.

[표 33. 진정 회장소화율, SID(%)]

구분	처리구 ¹⁾				SEM	p-value
	어분	육분	계육분	밀웬		
건물	85.66	88.31	88.96	89.53	2.484	0.08
조단백질	85.55	87.32	88.38	90.05	2.270	0.06
총아미노산	85.85	87.44	88.44	90.05	1.527	0.06
라이신	86.51	87.78	88.73	89.96	1.264	0.05
메치오닌	85.87	87.53	88.17	89.89	1.439	0.06
트레오닌	84.79	87.50	88.21	90.12	1.910	0.06
아르지닌	87.61 ^b	87.95 ^b	89.17 ^{ab}	89.97 ^a	0.947	0.04
시스틴	83.62 ^b	86.64 ^b	88.35 ^{ab}	90.21 ^a	2.425	0.04

¹⁾ 어분, corn-vegetable by-product based diet with 9.95% fish meal; 육분, corn-vegetable by-product based diet with 9.95% meat meal; 계육분, corn-vegetable by-product based diet with 9.95% poultry meal; 밀웬, corn-vegetable by-product based diet with 9.95% dried *Tenebrio molitor* larvae.

SEM, standard error of means.

(12) 갈색거저리 유충 가수분해물의 육성돈에서 회장소화율(%) : 영문논문 전문 별첨 첨부

○ 목적 : 갈색거저리 (*Tenebrio molitor*) 유충 가수분해물의 영양소 회장소화율을 조사하고 육성돼지에서 3 개의 동물성 단백질 가수분해물과 비교 하였음

○ 방법 :

① 시험동물 및 실험설계 : 평균 체중이 28.70 ± 0.32 kg 인 교배종 ([Landrace x Yorkshire] x Duroc) 육성돈에게 인증된 수술방법으로, 24 시간 절식 후 회장 캐놀라를 외과적으로 장착한 후, 회복 기간은 2 주 후, 총 12 마리의 돼지를 개별 대사 틀에 배정하고 완전임의배치법으로 3 반복, 4 처리 시험 실시

② 시험사료와 사양관리 : 시험사료는, i) DMLM, 옥수수-식물성 단백질박 사료 + 10.0 % 탈지 갈색거저리 유충박; ii) HML, 옥수수-식물성 단백질박 사료 + 10.0 % 갈색거저리 유충가수분해물; iii) FPBM, 옥수수-식물성 단백질박 사료 + 10.0% 발효 가금부산물; iv) HFS, 옥수수-식물성 단백질박 사료 + 10.0 % 가수분해 어즙분말이며, 하루 각 돼지에게 07:00 및 19:00 h에 하루 2 회 시험사료 1.15kg을 공급하였는데, 이는 유지 에너지 요구량의 2.8 배 (ME_n = 106 kcal ME / kg^{0.75})에 해당함. 물은 자유급여 하게 함

③ 조사항목 : 영양소 회장 소화율(%) 측정

○ 결과 : 결론적으로, 밀웬 유충의 가수 분해물은 상업적으로 사용되는 가공 동물성 단백질 공급원을 대체 할 수있어 사료 산업에서 어린 동물에게 매력적인 대체 단백질 사료공급원이 될 수 있다. 거저리 유충 가수 분해물은 발효가금 부산물 및 가수분해 fish soluble과 비교하여 DM, CP, Lys, Met 및 Thr에서 더 높은 소화율을 보였다. 따라서, 밀웬 유충의 가수 분해물은 성장하는 돼지에서 10 % 수준의 단백질 공급원으로서 사용될 수 있다.

- ① 갈색거저리 유충 분말, 가수분해물 및 가공 동물성 단백질 원료의 용해도 및 소화율 : 갈색거저리 유충 가수 분해물의 용해도 및 *In vitro* 소화율이 가장 높았으며 (각각 85.71 및 98.96 %), 발효 가금류 부산물 및 가수 분해 된 어즙분말의 용해도가 다음으로 높았음. 탈지된 갈색거저리 유충분의 질소 용해도 및 *In vitro* 소화율이 가장 낮았음 (각각 16.23 % 및 50.11 %)

[표 34. 용해도 및 소화율(%) 분석결과]

구분	처리구				SEM	p-value
	DMLM ³⁾	HML ⁴⁾	FPBM ⁵⁾	HFS ⁶⁾		
2N HCl Solubility ¹⁾	16.23 ^d	85.71 ^a	68.82 ^b	41.88 ^c	0.39	p<0.01
<i>In-Vitro</i> Digestibility ²⁾	50.11 ^d	98.96 ^a	93.77 ^b	82.78 ^c	0.28	P<0.01

¹⁾ Method described by Chorbert *et al.*, 1988

²⁾ Method described by Cho and Kim, 2019

³⁾ Defatted mealworm (*Tenebrio molitor*) larvae meal : MPC, MILAE Bioresources Co., Ltd, Korea.

⁴⁾ Hydrolysate of mealworm (*Tenebrio molitor*) larvae.

⁵⁾ Fermented poultry by-product : Neo-Pep, MOABIO Co., INC, Korea.

⁶⁾ Hydrolyzed fish soluble : FS Peptide, Sopropêche, France.

^{abc} Means in a same row with different superscript significantly different (p<0.01).

- [표 15]의 밀웜박(탈지 갈색거저리 유충분) *In vitro* 평균소화율 결과인 82.80%와 비교하여 이 실험에서 측정된 소화율은 50.11%로 상대적으로 낮은 결과를 보이는데 이는 갈색거저리 유충의 탈지 과정에서 이용성에 영향을 미칠 수 있음을 시사하고 있으며, 비록 갈색거저리 유충박 (밀웜박)의 *In vitro* 소화율이 50% 정도로 낮게 분석되었으나 10% 함유하고 있는 실험사료의 회장소화율에는 큰 영향이 없었음(아래 AID 및 SID 결과 참고)
- ② 갈색거저리 유충 분말, 가수분해물 및 가공 동물성 단백질 원료의 외관상 회장소화율(AID, %) : 건물의 회장 소화율 (AID)이 HML 사료를 먹은 돼지에서 가장 높았고 (p < 0.01), 조단백질의 AID는 HML과 DMLM 사료를 먹은 돼지에서 높았다. 유의미한 차이는 없었지만, 총 아미노산의 AID는 HML사료를 섭취 한 돼지에서 높았으며 (p = 0.06), FPBM과 DMLM 사료를 먹은 돼지에서 다음으로 높았다. Lys, Met 및 Thr의 AID는 DMLM 및 HML사료를 먹은 돼지에서는 차이가 없었으나, FPBM 및 HFS 사료를 먹은 돼지에 비해 더 높은 경향 (각각 p = 0.05, p = 0.02 및 p = 0.05)을 나타냈다. 다른 필수 아미노산의 AID에는 차이가 없었다. 비 필수 아미노산 (Asp, Gly 및 Ala)의 AID는 HFS 사료를 섭취 한 돼지보다 HML, FPBM 및 DMLM 사료를 섭취 한 돼지에서 더 높은 경향을 나타냈다 (각각 p = 0.03, p < 0.01 및 p < 0.01). 특히, 기호성 증진인자로 알려진 Glu의 AID는 HML 및 FPBM사료를 먹은 돼지에서 더 높았고, 다음으로 DMLM 사료를 먹은 돼지에서 높았다 (p < 0.01).

[표 35. 외관상 회장 소화율(%)]

구분	처리구 ¹⁾				SEM	p-value
	DMLM	HML	FPBM	HFS		
건물	87.45 ^b	89.47 ^a	87.05 ^b	85.88 ^b	0.462	<0.01
조단백질	86.37 ^{ab}	89.31 ^a	85.55 ^b	83.41 ^b	0.942	0.02

총아미노산	78.09	79.52	78.17	75.35	0.845	0.06
라이신	79.68 ^{ab}	79.92 ^a	78.87 ^{bc}	78.74 ^c	0.269	0.05
메치오닌	79.78 ^a	79.93 ^a	79.17 ^{bc}	79.08 ^b	0.160	0.02
트레오닌	79.36 ^{ab}	79.92 ^a	78.94 ^b	78.83 ^b	0.224	0.05
아스파탁산	74.83 ^a	78.36 ^a	77.74 ^a	68.06 ^b	1.895	0.03
글루타민	72.71 ^{bc}	78.98 ^a	77.07 ^{ab}	69.88 ^c	1.319	0.01
글리신	65.32 ^a	76.83 ^a	76.35 ^a	39.53 ^c	4.709	<0.01
알라닌	76.17 ^a	78.68 ^a	77.74 ^{ab}	65.96 ^c	1.385	<0.01

SEM, standard error of means.

¹⁾ DMLM, corn-vegetable by-product basal diet+10.0% defatted mealworm (*Tenebrio molitor*) larvae meal (MPC, MILAE Bioresources Co., Ltd, Korea); HML, corn-vegetable by-product basal diet+10% hydrolysate of mealworm (*Tenebrio molitor*) larvae; FPBM, corn-vegetable by-product basal diet+10% fermented poultry by-product (Neo-Pep, MOABIO Co., INC, Korea); and HFS, corn-vegetable by-product basal diet+10% hydrolyzed fish soluble (FS Peptide, Sopropeche, France).

^{ab} Means in a same row with different superscript significantly different ($p < 0.05$).

- ③ 갈색거저리 유충 분말, 가수분해물 및 가공 동물성 단백질 원료의 진정 회장소화율 (SID, %) : HML 사료를 공급받은 돼지는 다른 두개의 가공동물성 단백질인 FPBM 및 HFS 사료를 공급받은 돼지에 비해 건물 및 조단백질의 SID가 더 높았다 ($p = 0.02$ 및 $p = 0.04$). HML과 DMLM 사료에 비해, 통계적 차이는 없지만 HML 사료를 먹은 돼지는 더 높은 소화율을 보여 주었다. 총 아미노산의 SID의 경우, 처리간에 차이가 없었다 ($p = 0.06$). 그러나 HML 사료를 먹은 돼지는 소화율이 높았으며 다음으로 FPBM과 DMLM 사료를 급여한 돼지에서 높았다. Lys, Met 및 Thr의 SID에서, HML 및 DMLM 사료를 섭취 한 돼지는 FPBM 및 HFS 사료를 섭취 한 돼지에 비해 SID가 높았다 (각각 $p = 0.05$, $p = 0.02$ 및 $p = 0.02$). 다른 필수 아미노산의 SID에는 차이가 없었다. AID의 경향과 동일하게, 비 필수 아미노산 (Asp, Gly 및 Ala)의 SID는 HML, FPBM 및 DMLM 사료를 먹은 돼지에서보다 높은 경향 (각각 $p = 0.03$, $p < 0.01$ 및 $p < 0.01$)을 보였다. 기호성 증진 제로 알려진 Glu의 SID는 HML 및 FPBM 사료를 먹은 돼지에서 더 높았고, 다음으로 DMLM 사료를 먹은 돼지에서 높았다 ($p < 0.01$).

[표 36. 진정 회장 소화율(%)]

구분	처리구 ¹⁾				SEM	p-value
	DMLM	HML	FPBM	HFS		
건물	91.29 ^{ab}	93.31 ^a	90.89 ^{bc}	88.96 ^c	0.462	0.02
조단백질	90.21 ^{ab}	93.15 ^a	89.39 ^b	86.46 ^b	1.081	0.04
총아미노산	81.93	83.36	82.01	79.19	0.845	0.06
라이신	83.52 ^{ab}	83.76 ^a	82.71 ^{bc}	82.58 ^c	0.269	0.05
메치오닌	83.62 ^a	83.77 ^a	83.01 ^b	82.92 ^b	0.160	0.02
트레오닌	83.20 ^{ab}	83.76 ^a	82.78 ^{bc}	82.67 ^c	0.224	0.02
아스파탁산	78.67 ^a	82.20 ^a	81.58 ^a	71.90 ^b	1.895	0.03
글루타민	76.55 ^{bc}	82.82 ^a	80.91 ^{ab}	73.72 ^c	1.319	0.01
글리신	69.16 ^a	80.67 ^a	80.19 ^a	43.37 ^c	4.709	<0.01
알라닌	80.01 ^a	82.44 ^a	81.58 ^a	69.80 ^b	1.385	<0.01

SEM, standard error of means.

¹⁾ DMLM, corn-vegetable by-product basal diet+10.0% defatted mealworm (*Tenebrio molitor*) larvae meal (MPC, MILAE Bioresources Co., Ltd, Korea); HML, corn-vegetable by-product basal diet+10% hydrolysate of mealworm (*Tenebrio molitor*) larvae; FPBM, corn-vegetable by-product basal

diet+10% fermented poultry by-product (Neo-Pep, MOABIO Co., INC, Korea); and HFS, corn-vegetable by-product basal diet+10% hydrolyzed fish soluble (FS Peptide, Sopropeche, France).
^{ab} Means in a same row with different superscript significantly different (p<0.05).

(13) 갈색거저리 유충 가수분해물 급여가 이유자돈의 성장에 미치는 영향

○ 목적 : 갈색거저리 (*Tenebrio molitor*) 유충 가수분해물 급여가 이유자돈의 성장률에 미치는 영향을 조사하고 탈지 갈색거저리 유충분말 및 3개의 동물성 단백질 가수분해물인 가수분해 돼지장점막(Dried porcine intestine hydrolysate), 가수분해어분(Hydrolyzed fish soluble), 가수분해 계육분(Fermented poultry by-product) 과 비교 하였음

○ 방법 :

① 시험동물 및 실험설계 : 3원교잡종 [(Landrace × Yorkshire) × Duroc] 이유자돈 50두를 공시하였고, 시험 개시 체중은 7.95 ± 0.92 kg이었으며, 사양시험은 35일 동안 실시하였다. 시험설계는 1) TRT1, 갈색거저리유충; 2) TRT2, 가수분해 갈색거저리유충; 3) TRT3, 가수분해 돼지 장점막; 4) TRT4, 가수분해 어분; 5) TRT5, 가수분해 계육분. 으로 5처리, 처리당 2반복, 반복당 5두씩 완전임의 배치하였다.

② 시험사료와 사양관리 : 사양시험은 세종시 전의면에 위치한 단국대학교 시험농장에서 실시하였다. 시험사료는 ㈜대한사료에서 제공한 사료를 자유 채식토록 하였으며, 물은 자동급수기를 이용하여 자유로이 먹을 수 있도록 조절하였다.

③ 조사항목

(ㄱ) 생산성 : 일당증체량, 일당사료섭취량 및 사료요구율은 시험개시, 15일차 및 종료시(35일) 각 개체 별로 체중을 측정하였다. 일당사료섭취량은 체중측정시 사료급여량에서 잔량을 제하여 계산하였고, 사료요구율은 일당사료섭취량을 일당증체량으로 나누어 산출하였다.



(ㄴ) 분변지수는 시험 개시, 15일차 및 종료 시 (35일)에 측정하였으며, 다음과 같은 지수로 수치화 하여 일주일 단위로 평균을 내어 산출하였다. (Score = 1 = hard, dry pellets in a small, hard mass; 2 = hard, formed stool that remains firm and soft; 3 = soft, formed, and moist stool that retains its shape; 4 = soft, unformed stool that assumes the shape of the container; 5 = watery, liquid stool that can be poured.)

(ㄷ) 혈액특성 : 혈액 채취는 시험 종료 시 (35일)에 경정맥에서 Vacuum tube (Becton Dickinson Vacutainer Systems, Franklin Lakes, NJ)를 이용하여 혈액 5mL 채취 후 4℃에서 3,000 rpm으로 15분간 원심분리 하여 얻은 혈청을 자동 생화학 분석기 (HITACHI 747, Japan)를 이용하여 혈액 내 BUN, IGF-1, IgG 및 IgA를 측정하였다.

(ㄹ) 영양소 소화율 : 영양소 소화율은 시험 종료 시 (35일)에 산화크롬 (Cr₂O₃)을

표시물로서 0.5% 첨가하여 7일간 급여 후 항문 마사지법으로 분을 채취하였다. 채취한 분은 60°C의 건조기에서 72시간 건조시킨 후 Willey mill로 분쇄하여 분석에 이용하였다. 사료의 일반성분과 표시물로 혼합된 Cr은 AOAC (2000)의 방법에 준하여 분석하였다

- ④ 통계처리 : 모든 자료는 SAS (2013)의 General Linear Model procedure를 이용하여 Duncan's multiple range test (Duncan, 1955)로 처리하여 평균간의 유의성을 검정하였다.

○ 결과

- ① 생산성 : 자돈 사료 내 가수분해 동물성 단백질원이 생산성에 미치는 영향은 표에 나타내었다. 시험 15일차 체중에 있어 TRT4 처리구가 TRT1 처리구에 비해 유의적으로 높게 나타났고 (P < 0.05), 시험 종료 시 (35일) 체중 및 전체 시험기간 동안의 일당 증체량에 있어 TRT2 처리구가 TRT3 처리구에 비해 유의적으로 높게 나타났다 (P < 0.05).

[표 37. 이유자돈의 생산성에 미치는 영향¹]

Items	TRT1	TRT2	TRT3	TRT4	TRT5	SEM ²	P-value ³
Body weight, kg							
Initial	7.93	7.94	7.96	7.96	7.95	0.01	0.5000
D15	12.49 ^b	12.94 ^{ab}	12.66 ^{ab}	13.12 ^a	12.83 ^{ab}	0.15	0.1924
D35	24.65 ^{ab}	25.63 ^a	24.49 ^b	25.40 ^{ab}	24.78 ^{ab}	0.27	0.1319
D 15							
ADG, g	304	333	314	344	325	10	0.2129
ADFI, g	399	428	408	440	421	17	0.5421
FCR	1.312	1.284	1.302	1.279	1.295	0.015	0.5979
D 35							
ADG, g	608	634	592	614	598	14	0.3656
ADFI, g	924	946	904	922	904	20	0.6012
FCR	1.520	1.492	1.529	1.5	1.512	0.032	0.9783
Overall							
ADG, g	478 ^{ab}	505 ^a	472 ^b	499 ^{ab}	481 ^{ab}	8	0.1356
ADFI, g	699	724	691	715	697	15	0.5541
FCR	1.464	1.433	1.464	1.435	1.449	0.025	0.8222

¹TRT1, 갈색거저리유충; TRT2, 가수분해 갈색 거저리; TRT3, 가수분해 돼지 장점막; TRT4, 가수분해 어분; TRT5, 가수분해 계육분.

²Standard error of means.

^{a,b}Means in the same row with different superscripts differ (P < 0.05).

³Means in the same row with different superscript differ significantly (P<0.05).

- ② 분변지수 : 자돈 사료 내 가수분해 동물성 단백질원이 분변지수에 미치는 영향은 아래 표에 나타내었다. 시험 개시, 15일 및 종료 시 (35일) 분변 지수에 있어 처리구간의 유의적인 차이는 나타나지 않았다 (P > 0.05).

[표 38. 분변지수에 미치는 영향¹]

Items	TRT1	TRT2	TRT3	TRT4	TRT5	SEM ²	P-value ³
Fecal score ⁴							
Initial	3.50	3.52	3.52	3.54	3.51	0.02	0.7316
D15	3.44	3.46	3.47	3.44	3.44	0.03	0.8894
D35	3.21	3.22	3.19	3.16	3.22	0.04	0.6396

¹TRT1, 갈색거저리유충; TRT2, 가수분해 갈색 거저리; TRT3, 가수분해 돼지 장점막; TRT4, 가수분해 어분; TRT5, 가수분해 계육분.

²Standard error of means.

³Means in the same row with different superscript differ significantly (P<0.05).

⁴Score = 1 = hard, dry pellets in a small, hard mass; 2 = hard, formed stool that remains firm and soft; 3 = soft, formed, and moist stool that retains its shape; 4 = soft, unformed stool that assumes the shape of the container; 5 = watery, liquid stool that can be poured.

- ③ 혈액특성 : 자돈 사료 내 가수분해 동물성 단백질원이 혈액특성에 미치는 영향은 아래 표에 나타내었다. 시험 종료 시 (35일) 혈액 내 BUN, IGF-1, IgG 및 IgA 수치에 있어 처리구간의 유의적인 차이는 나타나지 않았다 (P > 0.05).

[표 39. 혈액특성에 미치는 영향¹]

Items	TRT1	TRT2	TRT3	TRT4	TRT5	SEM ²	P-value ³
Finish							
BUN, mg/dL	8.5	7.3	8.3	6.3	8.5	0.8	0.2461
IGF-1, ng/dL	136.0	139.5	112.1	122.2	147.3	13.1	0.3729
IgG, mg/dL	222.8	233.5	239.3	250.8	265.3	20.0	0.6254
IgA, mg/dL	191.5	188.0	185.8	193.0	192.8	12.7	0.9917

¹TRT1, 갈색거저리유충; TRT2, 가수분해 갈색 거저리; TRT3, 가수분해 돼지 장점막; TRT4, 가수분해 어분; TRT5, 가수분해 계육분.

²Standard error of means.

³Means in the same row with different superscript differ significantly (P<0.05).

- ④ 영양소 소화율 : 자돈 사료 내 가수분해 동물성 단백질원이 영양소 소화율에 미치는 영향은 아래 표에 나타내었다. 시험 종료 시 (35일) 건물, 질소 소화율 및 N-retention 에 있어 처리구간의 유의적인 차이는 나타나지 않았다 (P > 0.05).

[표 40. 영양소 소화율에 미치는 영향¹]

Items, %	TRT1	TRT2	TRT3	TRT4	TRT5	SEM ²	P-value ³
Finish							
Dry matter	79.04	80.28	78.96	79.81	78.77	1.38	0.9261
Nitrogen	77.29	78.35	77.12	77.82	76.67	1.26	0.8969
N-retention	3.19	3.22	3.14	3.12	3.05	0.10	0.7796

¹TRT1, 갈색거저리유충; TRT2, 가수분해 갈색 거저리; TRT3, 가수분해 돼지 장점막; TRT4, 가수분해 어분; TRT5, 가수분해 계육분.

²Standard error of means.

³Means in the same row with different superscript differ significantly (P<0.05).

2) 곤충자원 활용 반려동물 사료 생산시스템 구축 (곤충자원의 생산 경제성 확보)

가) 갈색거저리 유충 전용사료 개발과 수분사료 적정성 평가

(1) 갈색거저리 유충 전용사료 개발

- 목적 : 갈색거저리유충 사육시 소맥피로 사육할 경우, 단일 원료를 사용할 경우의 가격, 품질 안정성에 대하여 보장을 할 수 없으며, 여름철의 경우, 고온 다습한 국내 환경으로 인하여 소맥피 보관에 문제가 발생할 수 있고, 장기간 보관 시 곰팡이가 발생하여 유충 성장에 악영향을 미칠 수 있을 것으로 판단됨. 따라서 참여기관 1인 전라북도생물산업진흥원의 1차 년도 과제 연구실험 결과를 토대로 선택된 원료를 사용하여 실정에 맞는 갈색거저리 유충 전용사료를 개발하고자 함. 또한 갈색거저리 유충 사육 시 버섯 폐배지를 사용할 경우 성적이 개선되었다는 연구가 보고된 바 버섯 배

지의 원료인 라이신 부산물의 이용성에 대하여도 알아보고자 함.

○ 방법 :

- ① 시험동물 및 실험설계 : 갈색거저리 유충을 6 처리구, 5 반복으로 배치하여 시험 실시

[표 41. 시험사료 배합비 및 성분]

구분	소맥피	CP 14.5	CP 18	CP 20	CP 20 + LCM 5%	CP 20 + LCM 10%
원료구성 (%)						
소맥		20	20	5	18	22
쌀		20	15	15	15	13
타피오카		10	5	10	10	15
소맥피	100	20	10	5	5	10
주정박		30	50	65	47	30
LCM ¹⁾					5	10
계	100	100	100	100	100	100
원료비 ²⁾	251.0	234.5	242.7	245.5	264.3	283.0
Nutrient						
수분	14.1	12.48	11.84	11.52	11.55	11.64
조단백질	14.1	14.59	18.11	20.07	20.03	20.04
조지방	2.7	2.91	3.59	4.18	3.36	2.64
조섬유	8.8	6.06	5.83	6.69	5.835	5.9
조회분	4.2	4.58	5.275	6.065	5.705	5.661
대사에너지	1,250	2,565	2,659	2,675	2,699	2,611
CA	0.10	0.12	0.07	0.11	0.11	0.16
TP	0.80	0.52	0.59	0.63	0.56	0.52
LYS	0.56	0.49	0.58	0.64	1.06	1.49
MET	0.23	0.33	0.44	0.52	0.45	0.39
CYS	0.30	0.29	0.36	0.39	0.34	0.28
THR	0.47	0.52	0.66	0.75	0.73	0.71
TRP	0.20	0.15	0.18	0.19	0.19	0.18

¹⁾ LCM : Lysine cell mass

²⁾ 원료비는 2018년 7월 대한사료(주) 구매가격 기준임

- ② 시험사료와 사양관리 : 대한사료(주)에서 제공한 원료 및 시험배합비를 가지고 제조한 시험사료를 이용하여 시험에 사용하였으며, 시험 곤충의 사육상자 당 사육 마리수를 균일하기 위하여 0~2개월령 까지 갈색거저리 유충을 수거하여 동일한 양으로 시험 사육상자에 나누어 사육함 (급여초기 사료교체 스트레스를 최소화 하기 위하여 시작 시에는 기존 남아 있는 소맥피와 시험 사료를 균일하게 섞어주어 사양시험을 실시함)

- ③ 조사항목 : 사육 박스별 유충 생산량, 성충 도달 일령

- 결과 : 밀웬 유충의갈색거저리 유충 전용 사료 개발을 위하여 단백질 함량을 달리하여 급여한 시험에서 소맥피를 제외한 시험구에서 첫 번데기 발생시기가 조기에 발견되는 결과를 보여주었다(P<0.05). 갈색거저리 유충 무게에 있어서는 단백질 수준에 따라 숫자적으로 감소하는 경향을 보여주었으나, 처리구간의 유의적인 차이를 보이지

[표 42. 시험급여 결과]

Items	소맥피	CP 14.5	CP 18	CP 20	CP 20 + LCM 5%	CP 20 + LCM 10%	SEM
첫 번데기 발생시기	85 ^a	75 ^b	73 ^b	76 ^b	74 ^b	73 ^b	2
갈색거저리 유충 무게 (100마리 기준, 10주)	18.67	18.90	18.26	17.91	17.71	17.20	0.40
번데기 무게 (100마리 기준, 14주)	12.91	12.88	13.01	12.80	12.86	12.74	0.17

않았다($P>0.05$). 갈색거저리의 번데기 무게에 있어서는 처리구간에 유의적인 차이를 보이지 않았다. 소맥피 대비 CP 14.5%의 처리구 사료가 더 경제적으로 사육할 수 있는 결과를 보여주었다.

^{ab} Means in a same row with different superscript significantly different ($p<0.05$).

(2) 갈색거저리 유충 전용사료 제형에 따른 효과 평가

○ 목적 : 소맥피 사용 보관시 부피에 대한 문제점을 가지고 있어 가공사료 급여에 따른 생산성 변화를 알아보하고자 상기 실험결과 성적이 좋은 전용사료의 제형을 변화시켜 급여시험 실시

○ 방법 :

- ① 시험동물 및 시험방법 : 갈색거저리 유충을 대상으로 3처리구, 40반복
- ② 시험구 1 : 소맥피; 시험구 2 : 갈색거저리 사육 전용사료(가루); 시험구 3: 갈색거저리 사육 전용사료(크럼블); 시험구 4 : 갈색거저리 사육 전용사료(펠렛)

○ 조사항목 및 방법

- ① 조사항목 : 유충 생산량, 성충도달 일령
- ② 샘플링 및 통계처리 방법

- 각 처리당 40 반복(box)에서 5반복(box)이 되도록 랜덤하게 샘플링을 함
- 랜덤하게 선발된 샘플(1box)에서 각 100 마리씩 랜덤하게 다시 샘플링을 함
- 유충 무게 : 2차 선발된 100마리를 1반복으로 간주하여 무게 측정
- 처리구당 5반복으로 하여 유충의 무게를 측정함
- 유충 길이 : 유충의 길이는 전체 500마리씩하여 통계에 이용하였음
- 통계 방법 : 엑셀의 T-검정을 이용하여 검정하였음.

○ 결과 : 가공사료 급여구가 소맥피 처리구와 가루형태의 사료 처리구 보다 유충 무게 및 길이가 짧아진 결과를 보여주었다. 이러한 결과는 사료 급여시 소맥피 및 가루 사료대비 가공사료가 급여 사료간의 공극이 있어 먹이 섭취가 용이 하지 않기 때문이라 생각되어진다.

[표 43. 갈색거저리 유충 전용사료 제형에 따른 효과]

Items	소맥피	가루	크럼블	펠렛	SEM
갈색거저리 유충 무게, g (100마리 기준, 8주)	5.68 ^a	5.53 ^a	5.12 ^b	5.25 ^b	0.22
갈색거저리 유충 길이, cm (500마리 측정)	1.79 ^a	1.66 ^a	1.54 ^b	1.51 ^b	0.18

(3) 갈색거저리 유충 수분사료 적정성 평가

○ 목적 : 기존 수분 공급원인 배추의 경우, 계절에 따라 수급 문제가 있어 이를 대체하기위 한 수분 공급원으로써 (주)케일에서 개발한 수분 전용 켈리에 대하여 평가하여 사육농가 적용가능성을 평가함

○ 방법 :

- ① 시험동물 및 시험방법 : 갈색거저리 유충을 대상으로 2처리구, 40반복
- ② 시험구 1 : 소맥피 + 배추; 시험구 2 : 소맥피 + 갈색거저리 사육 전용 수분사료 (켈리)를 일상적인 대한사료(주) 갈색거저리 유충 사육방법에 준하여 급여시험 실시

○ 조사항목 및 방법

① 조사항목 : 유충 무게 (100마리 단위로 측정), 유충 길이 (각 처리구 당 500마리씩 측정), 성충 도달 일령 및 수분공급원 투여량

② 샘플링 및 통계처리 방법

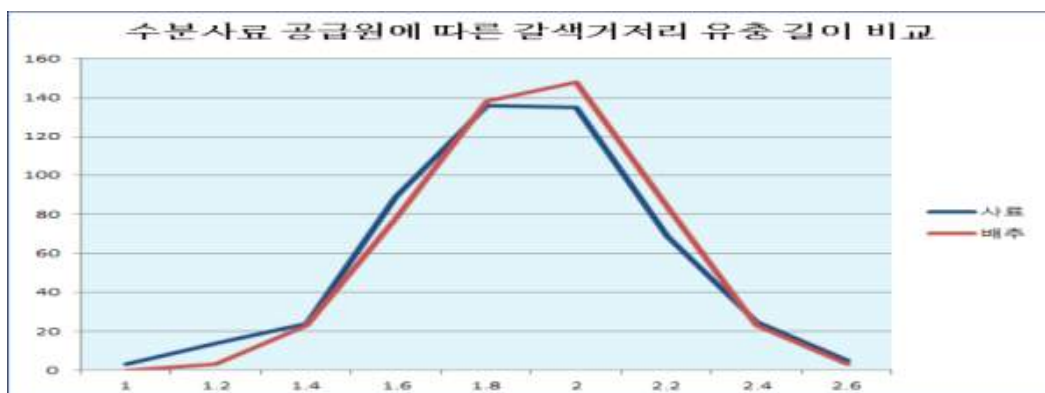
- 각 처리당 40 반복(box)에서 5반복(box)이 되도록 랜덤하게 샘플링을 함
- 랜덤하게 선발된 샘플(1box)에서 각 100 마리씩 랜덤하게 다시 샘플링을 함
- 유충 무게 : 2차 선발된 100마리를 1반복으로 간주하여 무게 측정
- 처리구당 5반복으로 하여 유충의 무게를 측정함
- 유충 길이 : 유충의 길이는 전체 500마리씩하여 통계에 이용함
- 통계 방법 : 엑셀의 T-검정을 이용하여 검정

○ 결과 : 갈색거저리 유충 길이에 대하여 수분 공급원으로써 배추를 급여한 처리구가 수분사료를 급여한 처리구와 비교하여 유의적으로 길게 나타났으나 ($P < 0.05$). 갈색거저리 유충의 무게는 수분 공급원에 따른 처리구간의 유의적인 차이를 보이지 않아 ($P > 0.05$) 사육농가에서 실제 적용가능할 것으로 판단

[표 44. 수분사료 급여 시험결과]

Items	수분사료급여군	배추 급여군	SEM	P-value
갈색거저리 유충 무게, g (100마리 기준, 8주)	5.637	5.629	0.22	0.976
갈색거저리 유충 길이, cm (500마리 측정)	1.819 ^b	1.860 ^a	0.268	0.014

^{ab} Means in a same row with different superscript significantly different ($p < 0.05$).



[그림 22. 수분사료 공급 시의 유충길이]

나) 갈색거저리 유충 사육 Pilot 구축

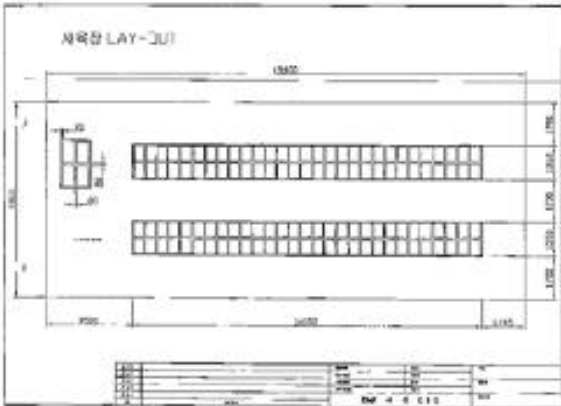
- 갈색거저리 사육사 구축 : 대한사료 주식회사는 2016년 12월 갈색거저리 사육사 시설 및 가공 공장을 구축을 완료 하였으며, 이를 통해 갈색 거저리 사료 연구개발 및 안전화된 갈색거저리 유충을 생산을 할 수 있는 시설을 갖추게 되었음



[곤충사육사]



곤충 사육 상자



사육 설계 도면

■ 곤충산업 육성 및 지원에 관한 법률 시행규칙 (별지 제7호서지) 시행 2011.10.20

신고확인증

제2018-1호	곤충의 (●)생산업 []가공업 []유통업
신청대상자 농림수산식품업 농림수산식품업	신청인명 59.04.01
신고인 이 상 민	법인번호 59412-00549143
주소 예산군 덕산면 문리525-50	전화번호 041-337-6170
주요업종 갈색거저리	주요 Tenebrio molitor 1,000,000마리
업종 곤충 신고사항	업종 곤충 신고사항

당 세

※곤충산업의 육성 및 지원에 관한 법률, 제12조제1항 및 제2항, 같은 법 시행규칙 제6조제3항에 따른 신고확인증을 발급합니다.

2018 년 1월 29일

예 산 군

[사육신고확인증]

갈색거저리 유충 활용 Pet food의 시제품화 및 기능성 (항산화 기능 보장) 사료 개발

(1) 갈색거저리 유충 및 가수분해물 함유 Pet food 배합비 개발 : Dog용

[표 45. 갈색거저리 유충 및 가수분해물 활용 반려동물 food 배합비 예시]

구분	자견		성견	
	갈색거저리 유충	갈색거저리유충 가수분해물	갈색거저리 유충	갈색거저리유충 가수분해물
쌀(정부양곡,Rice)	21.56	19.33	35.10	32.90
바나나분말(Banana Flour)	3.00	3.00	2.00	2.00
수입소맥피(Wheat bran,IMP)	5.00	5.00	3.00	3.00
비트펄프(Beet Pulp,Egypt)	5.22	6.19	2.00	2.00
소맥배아(Wheat germ)			3.00	3.00
동물성단백질	39.84	41.40	35.30	36.80
다이제스트	3.60	3.60	2.10	2.10
갈색거저리(Mealworm) 유충	5.00		5.00	
갈색거저리(Mealworm)유충가수분해물		5.00		5.00
국산우지(YG,양축)	9.20	9.20	1.80	1.80
계지(Poultry fat,DOM)	5.30	5.30	8.20	9.00
정제소금(Salt)	0.50	0.22	0.50	0.50
염화칼륨(KCl)			0.05	
메치오닌(Methionine,99%,DL-For	0.09	0.07	0.13	0.10
트립토판(Tryptophan,20%)			0.01	
비타민-D(Vitamin premix,Dog)	0.08	0.08	0.15	0.15
비타민E(Vitamin E,10%)	0.09	0.09	0.03	0.03
염화콜린(Choline,50%)			0.04	0.03
미네롬-D(Mineral premix,Dog)	0.10	0.10	0.12	0.12
기타 Premix	1.42	1.42	1.47	1.47
계	100.0	100.0	100.0	100.0
Nutrient (%)				
수분	9.24	9.04	9.02	8.78
조단백질	32.00	32.04	30.03	30.01
조지방	21.61	20.10	16.69	15.97
조섬유	2.20	2.20	1.79	1.55
조회분	8.59	9.10	8.50	8.95
칼슘	1.74	1.86	1.65	1.71
인	1.13	1.16	1.10	1.10

(2) 갈색거저리 유충 및 가수분해물 함유 Pet food 배합비 개발 : Cat용

[표 46. 갈색거저리 유충 및 가수분해물 함유 반려동물 food 배합비 예시]

구분	자묘		성묘	
	갈색거저리 유충	갈색거저리유충 가수분해물	갈색거저리 유충	갈색거저리유충 가수분해물
쌀(정부양곡,Rice)	33.82	32.51	35.99	34.81
아마종실(Linseed)	1.06	1.06	0.65	0.64
수입소맥피(Wheat bran,IMP)	5.00	5.00	3.00	3.00
비트펄프(Beet Pulp,Egypt)	2.00	2.00	5.00	5.00
소맥배아(Wheat germ)	5.00	5.00	2.00	2.00
동물성원료	33.00	34.30	35.30	36.50
C'SENS-9P(CatDigest,Cat)	1.10	1.10	0.50	0.50
D'TECH-12L(L-Digest,Dog)	2.80	2.80	3.00	3.00
갈색거저리(Mealworm) 유충	5.00		5.00	
갈색거저리(Mealworm)유충가수분해물		5.00		5.00
국산우지(YG,양축)	6.80	6.80	5.10	5.10
계지(Poultry fat,DOM)	1.00	1.00	1.20	1.20
대두유(Soy Oil,탈산탈취)	0.50	0.50		
석회석분(Limestone)	0.50	0.50	1.00	0.97
메치오닌(Methionine,99%,DL-For	0.28	0.33	0.31	0.36
트립토판(Tryptophan,20%)	0.07	0.04	0.07	0.04
타우린(Taurine,100%)	0.15	0.15	0.15	0.15
비타민-D(Vitamin premix,Dog)	0.15	0.15	0.15	0.15
비타민E(Vitamin E,10%)	0.03	0.03	0.03	0.03
염화콜린(Choline,50%)	0.01			
미네롬-D(Mineral premix,Dog)	0.10	0.10	0.10	0.10
기타 Premix	1.63	1.63	1.45	1.45
계	100.0	100.0	100.0	100.0
Nutrient (%)				
수분	10.22	10.10	10.37	10.26
조단백질	29.96	30.03	30.50	30.51
조지방	15.53	13.98	13.46	11.90
조섬유	2.00	1.75	2.28	2.02
조회분	8.05	8.51	8.59	9.00
칼슘	1.58	1.63	1.92	1.95
인	1.10	1.10	1.10	1.10

(3) 갈색거저리 유충 함유 Pet food 시제품 소비자 반응 설문조사

○ 조사대상 및 기간

- 2019년 11월 22일~2019년 11월 24일까지 반려동물 박람회(2019년 k-pet fair in kintex)을 방문한 참관객들을 대상으로 임의표본추출방식으로 곤충 반려동물사료에 관한 1차 인식조사 및 2차 소비자 만족도 조사를 실시하였다.
- 총 254명의 1차 인식조사 설문자를 대상으로 샘플사료를 무상 증정 하였고, 2주의 급이 기간 후 소비자 만족도에 대한 설문을 200부 회수했으며, 이 중 신뢰도가 높고 성실하게 답변한 146부에 대해서 2차 소비자 만족도 분석을 진행하였다.

○ 방법

- 1차 인식조사 설문지는 식용곤충을 함유한 반려동물 사료에 대한 인식 4문항(사료 원료로서 인지 여부, 필요성, 구매의사, 비구매원인)으로 구성하였다. 설문지는 아래와 같다.

1. 일부 곤충(갈색거저리, 메뚜기, 귀뚜라미 등)이 식품 및 사료 관리법에 의해 인정받는 원료라는 사실을 알고 계셨나요?

예 아니오

2. 개인적으로 곤충이 함유된 반려동물 사료가 필요한 이유는 무엇이라고 생각하시나요? (중복체크 가능)

미래식량확보 새로운 영양제공 알레르기가 없는 새로운 단백질 공급원
 미래환경을 고려한 소비 새로운 맛 제공 항균, 비만치료 등 기능성 제공

3. 곤충이 함유된 반려동물에 대한 구매의사가 있으신가요?

예 고민해보겠다 아니오

4. 구매의사가 없을 경우 이유는 무엇인가요? (3번 질문에서 "아니오"만 해당)

곤충에 대한 거부감 사육, 제조환경 등 위생문제 제품 품질을 신뢰할 수 없어서
 건강, 안전성 문제 기호성이 떨어져서 가격이 비싸서

- 2차 소비자 만족도조사 설문지는 11문항(가격, 기호성, 기능성, 변상태, 피모상태, 제품의 향, 신선도, 안전성, 영양성분, 원료구성, 제조회사)으로 구성하였고, 중요도, 만족도에 대한 평가는 5점 리커트 척도를 사용하였다. 설문지는 아래와 같다.

○ 자료분석 : 1차 곤충 반려동물 사료에 대한 인식조사는 빈도 분석을 실시하였고, 2차 소비자 만족도 분석은 중요도-만족도에 대한 paired t-test를 실시하였다.

○ 결과 및 고찰

- ① 곤충반려동물 사료에 대한 인식 : 임의표본추출방식으로 총 254명의 참관객들을 대상으로 곤충 반려동물 사료에 대한 인식 조사를 실시하였고 결과는 아래와 같다.

		중요도					만족도				
		중요하지않음	<-----	보통	----->	중요	불만족	<-----	보통	----->	만족
1	가격	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5
2	기호성	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5
3	기능성(항균,항비만 등)	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5
4	변상태	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5
5	피모상태	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5
6	제품의 향	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5
7	신선도	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5
8	안전성	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5
9	영양성분	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5
10	원료구성	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5
11	제조회사	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5

[표 47. 곤충 반려동물 사료에 대한 인식]

질문	답변	답변수(비율)
1. 곤충의 사료원료로서 인지여부	예	119(47%)
	아니오	135(53%)
2. 곤충 반려동물사료의 필요성 (중복답변)	미래식량확보	97(38%)
	새로운 영양제공	120(47%)
	알레르기가 없는 새로운 단백질 공급원	94(37%)
	미래환경을 고려한 소비	41(16%)
	새로운 맛 제공	17(7%)
	항균, 비만치료 등 기능성 제공	12(5%)
3. 곤충 반려동물사료 구매의사	예	106(42%)
	고민해보겠다	142(56%)
	아니오	6(2%)
4. 비구매원인 (3번질문에서 “아니오”만 답변, 중복답변)	곤충에 대한 거부감	5(71%)
	사육, 제조환경 등 위생문제	1(14%)
	건강, 안전성 문제	1(14%)

- 곤충의 사료원료로서 인지 여부에 대해서는 총 254명중 135명(53%)가 아직 모르고 있었으며, 아직은 인지도 강화가 더 필요한 시기라고 생각된다. 후술할 예정이지만, 인지도뿐만 아니라 아직은 소비자들의 곤충에 대한 거부감과 안전성에 대한 우려가 크므로 다양한 매체를 통한 지속적이고 신뢰감 있는 정보제공 및 적극적인 홍보가 필요할 것으로 생각한다.
- 곤충을 함유한 반려동물 사료가 필요한 이유로는 새로운 영양제공(47%), 미래식량확보(38%), 알레르기가 없는 새로운 단백질공급원(37%), 미래환경을 고려한 소비(16%), 새로운 맛 제공(7%), 항균, 비만 등 기능성 제공(5%) 순으로 나타났으며, 특히 새로운 영양 제공, 미래식량확보가 순서대로 높은 순위를 차지하며

곤충 원료에 대한 새로운 기대감을 보여주었다.

- 곤충반려동물 사료 구매 의사에 대해서는 총 254명중 106명(42%)가 적극적인 구매 의사를 보여주었고, 단지 6명(2%)만이 구매 의사가 없음을 보여주었으며, 비구매 원인으로는 곤충에 대한 거부감과 안전, 위생문제를 순서대로 꼽았다. 가장 많은 142명(56%)이 구매를 고려하겠다는 잠재적이고 소극적인 구매 의사만을 보여주었는데, 이 부동층 소비자를 대상으로 하는 적극적인 홍보, 마케팅이 필요할 것으로 생각한다.
- ② 곤충 반려동물 사료에 대한 중요도, 만족도 분석 : 총 254명의 1차 인식조사 설문자를 대상으로 무상증정한 샘플사료에 대한 설문을 200부 회수했으며, 이 중 신뢰도가 높고 성실하게 답변한 146부에 대해서 2차 소비자 중요도, 만족도 분석을 진행하였고 결과는 아래와 같다.

[표 48. 곤충 반려동물 사료에 대한 중요도 및 만족도 분석]

속성	중요도 ²⁾	만족도 ³⁾	차이 ⁴⁾	t-value
가격 ¹⁾	3.60±1.17 ⁵⁾	4.12±1.01	-0.52	-4.811***
기호성	4.31±0.86	3.84±1.07	0.47	4.812***
기능성(향균, 항비만 등)	4.36±0.85	3.70±1.01	0.66	7.075***
변상태	4.34±0.86	3.92±0.85	0.42	5.568***
피모상태	4.27±0.90	3.75±0.91	0.52	5.980***
제품의향	3.60±1.16	3.67±0.88	-0.07	-0.634
신선도	4.55±0.76	3.99±0.95	0.56	6.995***
안전성	4.66±0.78	3.66±1.01	1.00	11.094***
영양성분	4.62±0.71	3.77±0.87	0.85	10.237***
원료구성	4.53±0.81	3.71±0.92	0.82	8.880***
제조회사	3.84±1.05	3.88±0.91	-0.04	-0.343
전체	4.24±0.37	3.82±0.14	0.42	

1) 가격은 1kg당 5,000원 판매기준

2) 중요도는 5점 리커트척도 이용, 1-매우중요하지않음~5-매우중요.

3) 만족도는 5점 리커트척도 이용, 1-매우불만족~5-매우만족.

4) 차이=중요도-만족도

5) 평균±표준편차

6) * : P<0.05, ** : P<0.01, *** : P<0.001

- 곤충 반려동물 사료를 구매할 경우 중요하게 고려하는 요소(중요도)는 안전성(4.66±0.78), 영양성분(4.62±0.71), 신선도(4.55±0.76), 원료구성(4.53±0.81), 기능성(4.36±0.85), 변상태(4.34±0.86), 기호성(4.31±0.86), 피모상태(4.27±0.90), 제조회사(3.84±1.05), 제품의향(3.60±1.16), 가격(3.60±1.17) 순으로 나타났으며, 안전성이 가장 높은 순위를 차지하였다. 이는 기호성이나 원료구성을 구매시 가장 중요시 여기는 일반사료와 다른 양상을 보여주며 일반사료에 비해 곤충 반려동물사료의 경우 안전성을 가장 우선시 하고 있음을 보여주고 있다.
- 당사의 곤충 반려동물 샘플 사료를 2주간 급여 후 조사한 만족도는 가격

(4.12±1.01), 신선도(3.99±0.95), 변상태(3.92±0.85), 제조회사(3.88±0.91), 기호성(3.84±1.07), 영양성분(3.77±0.87), 피모상태(3.75±0.91) 순으로 나타났으며, 1kg당 5,000원이라는 임의로 책정한 판매가격에 크게 만족하고 있음을 알 수 있었다.

③ 곤충 반려동물 사료에 대한 중요도-만족도 차이분석

- 곤충 반려동물 사료를 구매할 경우 중요하게 고려하는 요소(중요도)와 실제 구입 후 만족도간의 차이를 분석하였고, 제품의 향과 제조회사를 제외하고는 모두 유의한 차이(p<0.001)를 보였다.
- 가격(-0.52), 제품의 향(-0.07), 제조회사(-0.04)의 경우 만족도가 중요도보다 더 높게 나타났으며, 특히 유의적인 차이를 보이는 가격의 경우 1kg당 5,000원이라는 가격에 대한 높은 가격 만족도와 소비자가 어는 정도의 가격 인상은 수용할 수 있을 것이라는 가능성을 보여준다.
- 가격, 제품의 향, 제조회사를 제외한 나머지 8개의 속성에서는 모두 유의적으로(p<0.001) 만족도가 중요도에 미치지 못함을 보여주었으며, 이는 만족도 향상을 위한 제품 개선의 방향을 제시한다.
- 안전성(1.00), 영양성분(0.85), 원료구성(0.82), 기능성(0.66), 신선도(0.56), 피모상태(0.52), 기호성(0.47), 변상태(0.42) 순으로 차이가 컸으며, 안전성에 대한 차이가 가장 높은 순위를 차지하였다. 이는 소비자가 일반사료에 비해 곤충 반려동물사료의 경우 안전성을 가장 우선시 하고 있으나, 그에 비해 제품 품질과 안전성에 대한 만족도와는 갭은 크다는 것을 보여준다. 곤충 반려동물사료에 관한 인증제와 같은 제도적인 장치뿐만 아니라 곤충원료 생산과정 및 사료 제조과정에 대한 투명한 공개와 적극적인 홍보를 통해 안전성에 대한 소비자의 우려를 불식시키고 만족도를 더 높일 필요성이 있다.
- 그 밖에도 영양성분, 원료구성, 기능성, 신선도, 피모 상태, 기호성, 변상태 순으로 개선이 필요하다는 것을 보여준다.

○ 요약 결론

- ① 결과와 같이 곤충 반려동물사료 인지여부에 대해서는 총 254명중 135명(53%)가 모르고 있었으며, 아직은 인지도 강화가 더 필요한 시기라고 생각한다.
- ② 소비자들은 새로운 영양제공(47%), 미래식량확보(38%), 알레르기가 없는 새로운 단백질공급원(37%) 등의 측면에서 곤충을 함유한 반려동물 사료가 필요하다고 생각하고 있다.
- ③ 곤충반려동물 사료 구매의사에 대해서는 총 254명중 106명(42%)가 적극적인 구매의사를 보여주었고, 단지 6명(2%)만이 구매의사가 없음을 보여주었으며, 가장 많은 142명(56%)이 구매를 고려하겠다는 잠재적이고 소극적인 구매의사만을 보여주었는데, 이 부동층 소비자를 대상으로 하는 적극적인 홍보, 마케팅이 필요할 것으로 생각된다.
- ④ 곤충 반려동물사료의 중요도, 만족도 분석에서 안전성을 가장 중요시 하고 있고, 가격(1kg당 5000원)에 대한 만족도가 가장 높다는 것을 보여주었다.
- ⑤ 곤충 반려동물사료의 중요도-만족도 차이분석에서 가격(-0.52), 제품의 향(-0.07), 제조회사(-0.04)의 경우 만족도가 중요도보다 더 높게 나타났으며, 나

머지 8개의 속성(안전성(1.00), 영양성분(0.85), 원료구성(0.82), 기능성(0.66), 신선도(0.56), 피모상태(0.52), 기호성(0.47), 변상태(0.42)에서는 모두 유의적으로($p < 0.001$) 만족도가 중요도에 미치지 못함을 보여주었으며, 이는 만족도 향상을 위한 제품 개선의 방향을 제시한다.

- ⑥ 안전성, 영양성분, 원료구성, 기능성, 신선도, 피모상태, 기호성, 변상태 순으로 개선이 필요하다는 것을 보여주는데, 특히 일반사료에 비해 곤충 반려동물사료의 경우 안전성을 가장 우선시 하고 있으나, 그에 비해 제품 품질과 안전성에 대한 만족도와는 갭은 크다는 것을 보여준다. 곤충 반려동물사료에 관한 인증제와 같은 제도적인 장치뿐만 아니라 곤충원료 생산과정 및 사료 제조과정에 대한 투명한 공개와 적극적인 홍보를 통해 안전성에 대한 소비자의 우려를 불식시키고 만족도를 더 높일 필요성이 있다.
- ⑦ 본 조사는 조사대상 소비자가 한정적이고, 특히 당사에서 제조한 샘플사료에 대한 만족도 조사만을 포함하고 있다는 한계를 지니나, 식용곤충을 함유한 반려동물 사료에 대한 전반적인 소비자 인식 및 만족도, 제품 개선 방향에 대한 기초자료를 제공했다는 점에서 그 의의를 가진다.

3) 곤충산업 비즈니스 모델

가) 우리나라 곤충산업화 현황

- (1) 흰점박이 꽃무지 유충, 누에 등 과거부터 효능이 회자되어온 일부 곤충자원은 건조 분말 판매, 액기스 제조 및 판매 등으로 부가가치를 창출하며 일부이기는 하지만 기반을 구축하여 사업을 영위하고 있으나, 지속가능한 사업으로 확대 되지 못하고 있는데 흰점박이 꽃무지 유충의 경우 2017년 판매액 166억원 대비 2018년 153억원으로 13억원 (7.8%) 감소하였음
- (2) 갈색거저리 유충의 경우에도 아직은 대량생산을 견인 할 수 있을 규모로 산업이 확대되지 못하고 있는데 (2018년 판매액 27억원), 이는 아직까지 생산되는 갈색거저리 유충의 소비모델이 충분하지 않아 자동화에 기반한 대량생산이 어렵고 그에 따라 생산단가가 높아 산업화 소재의 장벽으로 작용하고 있기 때문임. 비록 본 연구결과와 선행된 다른 연구결과, 갈색거저리 유충의 영양적인 가치가 충분하다고 하더라도 산업적으로 활용될 수 있을 만큼 생산비가 낮아지지 않는다면 산업적인 활용성은 대단히 낮을 수밖에 없는 실정임
- (3) 소비모델 Value-chain으로 식용소재 개발이 있을 수 있으나, 우리나라는 아직까지 식용곤충에 대한 인식과 식량 대체 개발에 대한 당위성이 높지 않아 소비모델의 주력으로 자리잡기에는 시간이 소요될 수밖에 없으며, 식용곤충으로 소비모델의 주력이 될 가능성도 크지 않음
- (4) 결국, 곤충산업의 주된 Value-chain에는 동물성 원료로 사용될 모델이 포함되어야 함

나) 우리나라 곤충산업화 장벽

- (1) 우리나라 곤충의 산업화 장벽은 높은 생산비 때문임. 현재 시장에서 매매되는 갈색거저리 유충은 건물 kg 당 10,000원 ~15,000원 범위에서 형성되어 있는데 이 가

격으로는 산업화가 진행될 수 없음

- (2) 물론, 소비모델이 형성되면 대량생산 기반으로 생산비가 감소할 수 있으나 이미 언급한 대로 소비모델을 다양화하기가 아직은 쉬운 환경이 아니며, 결국 고급 동물성 원료인 어분을 대체하거나 본 연구 주제인 반려동물용 기능성 원료개발이 가능성을 제시할 수 있음
- (3) 그러나, 이를 위해서도 기본적으로 유통가격이 이런 모델을 개발할 수 있을 정도로 낮아져야 함

다) 곤충산업화

- (1) 우리나라 갈색거저리 유충의 산업화를 위한 Value-chain



- (2) 우리나라 관련업체간의 연계구축이 필요함



제2절. 곤충자원 소재화 및 고도화 기술개발

[참여연구기관 1 : (재)전북생물산업진흥원]

1) 갈색거저리 유충전용 사료개발

가) 갈색거저리 유충 대량사육을 위한 대체 원료의 탐색

(1) 갈색거저리 유충 전용 사료 개발을 위한 소맥피 대체 가능자원 선정

○ 수행결과

- ① 주요 원료사료 및 주요 농업부산물의 일반성분 함량 등을 국립축산과학원, 대한사료, 정 피엔씨로부터 제공받아 분석한 결과, 총 5종의 대체사료 후보군을 선정하였다.
- ② 선정된 대체사료 후보군으로는 쌀가루, 주정박, 타피오카전분, 팥박, 야자박이며 선정된 대체사료 후보군의 원료가격, 일반성분 함량은 [표 49와 50]에 나타내었다.
- ③ 또한, 곤충의 기호도를 높이기 위하여 섭취자극물질이 풍부한 농업부산물인 복분자박과 커피박을 부원료 후보로 선정하고 이들의 섭취자극물질 함량을 [표 51]에 나타내었다.
- ④ 섭취자극물질 : 곤충이 먹이를 섭식하기 위해서는 필요한 물질로 영양물질로는 아미노산, 탄수화물, 스테롤, 비타민 등이 있으며 비영양물질로는 클로로겐산, 시니그린, 플라보노이드 등 40여 종이 있다. 부원료로 선정한 복분자와 커피의 경우 비영양물질인 클로로겐산과 플라보노이드가 풍부하게 포함되어 있다.

[표 49. 대체사료원료 후보군의 원료가격 및 일반성분 함량 (원/kg, %)]

구분	원료 가격	일반성분 함량					
		수분	조단백질	조지방	조섬유	조회분	가용무질소물
소맥피	263	14.20	13.70	2.90	8.20	4.30	56.70
쌀가루	211	13.82	6.94	1.08	0.23	1.28	76.65
타피오카전분박	215	12.62	2.52	0.57	5.51	6.09	69.41
팥박	183	10.00	16.50	4.90	14.00	4.50	50.10
야자박	258	11.70	21.00	3.00	10.50	6.80	47.00
주정박(Corn DDGS)	294	10.50	26.00	6.50	5.10	6.00	45.90

[표 50. 대체사료원료 후보군의 아미노산 및 무기질 함량(%)]

구분	아미노산				무기질	
	라이신	트레오닌	메치오닌	시스틴	Ca	P
소맥피	0.560	0.462	0.224	0.294	0.10	0.74
쌀가루	0.302	0.266	0.151	0.158	0.03	0.30
타피오카전분박	0.088	0.079	0.031	0.028	0.75	0.10
팥박	0.465	0.480	0.294	0.232	0.47	0.58
야자박	0.577	0.693	0.346	0.346	0.10	0.58
주정박(Corn DDGS)	0.806	0.988	0.702	0.494	0.05	0.85

[출처 : 대한사료 2017]

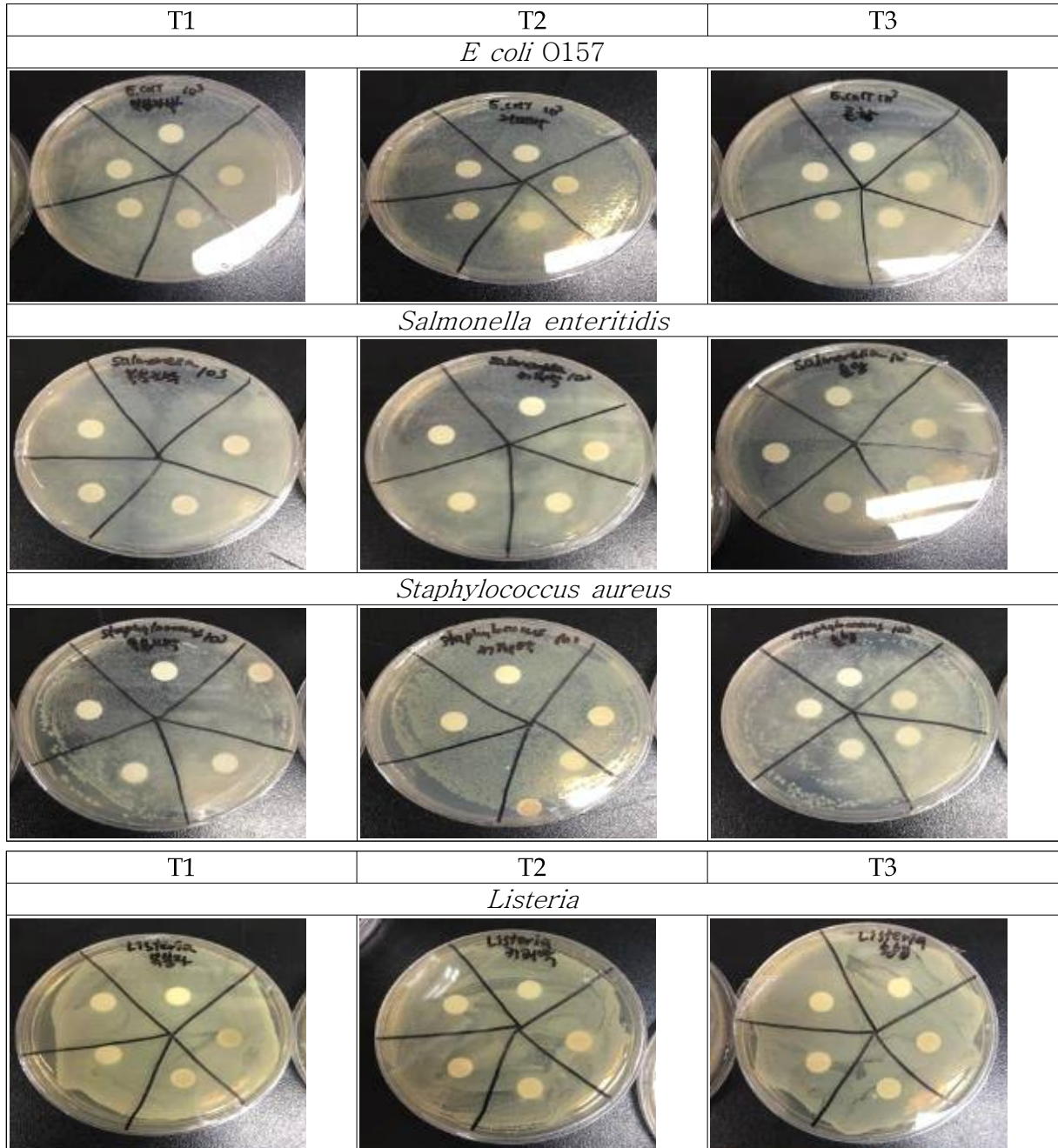
[표 51. 부원료 후보군의 섭취자극물질 함량(mg/g)]

구분	비영양 섭취자극물질 함량
----	---------------

	클로로젠산	총 플라보노이드
복분자박(분말)	-	17.57±0.20
커피박(분말)	5.33±0.42	-

(2) 부원료 후보군(복분자박, 커피박) 처리농도에 따른 유해균 억제 효과 조사

○ 수행결과 : 각각 0%, 1%, 3%, 5%, 10%의 농도로 부원료 후보군(복분자박, 커피박)을 추출하여 처리한 결과 처리군 모두 분해능이 나타나지 않아 저농도에서는 유해균저해효과가 없는 것으로 나타났다.



T1 : 복분자박, T2 : 커피박, T3 : 복분자박 50% + 커피박 50%

[그림 23. 부산물사료 첨가제의 항균실험]

나) 갈색거저리 유충 사육을 위한 사료 개발 (Pilot 수준)

(1) 갈색거저리유충 부원료 후보군(복분자박, 커피박) 조성물 영양성분 조사

○ 분석결과

- 부원료 후보군(복분자박, 커피박)의 총에너지, 일반성분 함량 및 영양성분 함량은 아래 표에 각각 나타내었다.

[표 52. 부원료 후보군(복분자박, 커피박)의 총에너지 및 일반성분 함량]

(단위 : kcal/100g, %)

구분	총에너지 ¹⁾	일반성분 함량*				
		수분	조단백질	조지방	조회분	가용무질소물 ²⁾
복분자박	370.60	6.1±0.10	11.2±0.40	0.6±0.00	2.0±0.00	80.10
커피박	190.00	52.3±0.20	7.1±0.00	0.4±0.00	0.7±0.00	39.50

¹⁾ 총에너지 = (탄수화물 함량 × 4) + (조단백질 함량 × 4) + (조지방 함량 × 9)

²⁾ 가용무질소물 = 100 - (수분 + 회분 + 조단백질 + 조지방)

* Mean±SE

[표 53. 부원료 후보군(복분자박, 커피박)의 영양성분 함량 ¹⁾]

(단위 : pH, g/100g, mg/100g)

구분	pH	당류	포화지방	트랜스지방	콜레스테롤	나트륨
복분자박	3.95±0.04	5.30±0.20	0.50±0.00	N.D	13.90±3.40	1.00±0.10
커피박	5.00±0.03	N.D	0.30±0.00	N.D	N.D	3.00±0.10

N.D : not detect, Mean±SE

¹⁾ 콜레스테롤과 나트륨의 단위는 mg/100g로 표시하였고 당류, 포화지방, 트랜스지방은 g/100g으로 표시하였다.

(2) 갈색거저리유충부원료 후보군의 보조사료 가능성 실험

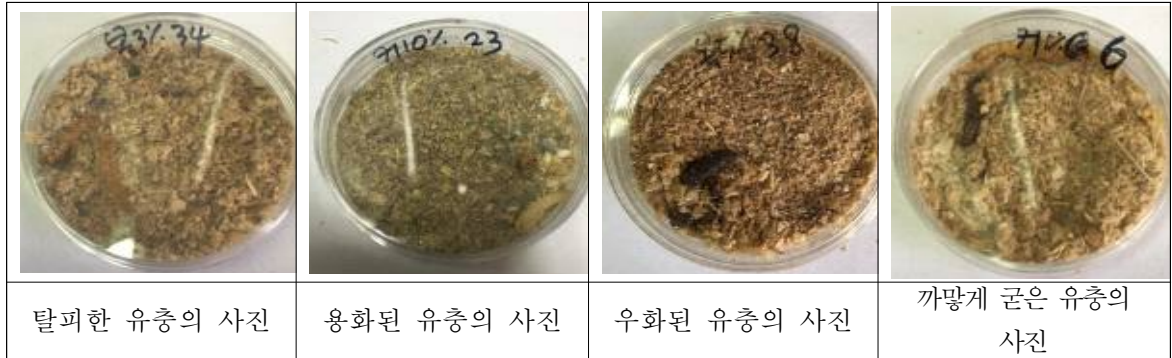
[표 54. 복분자박 및 커피박 첨가비율별 사료조성표]

소맥피	커피박	복분자박	복분자박+커피박(5:5)
100%	0%	0%	0%
99%	1%	1%	1%
93%	3%	3%	3%
95%	5%	5%	5%
90%	10%	10%	10%

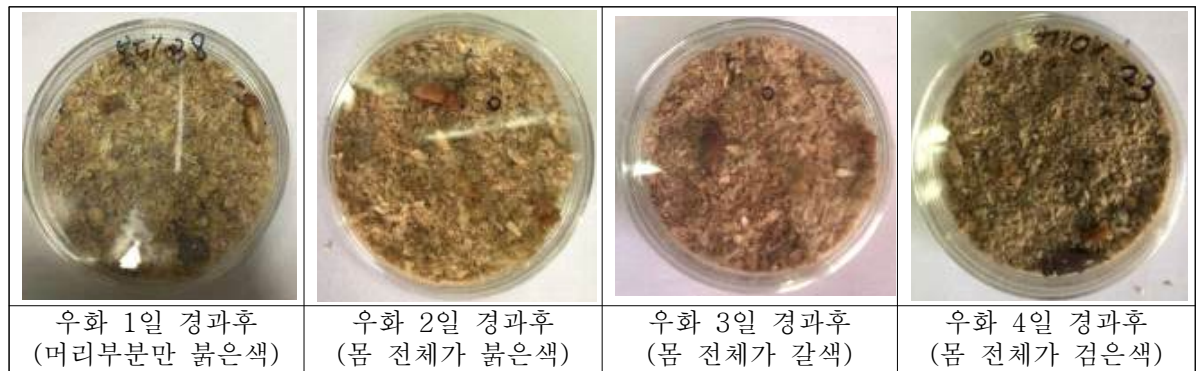
○ 사육결과

- 부원료 후보군의 보조사료 가능성을 확인하기 위해서 농가로부터 공급받은 유충을 처리군별로 13개로 나누어, 총 20일 동안 갈색거저리 유충의 생존여부와 생육특성을 관찰하였다.

- 유충의 생존여부를 관찰한 결과 저농도에서 커피박과 복분자박의 처리가 갈색거저리 유충의 생존에 영향을 미치지 않음을 알 수 있었다. 일부 처리구에서 유충이 검게 굳어 사체가 발생하였으나, 이는 사료원에 의한 원인보다는 충분한 수분공급이 이루어지지 않아 시들고 마른 것으로 판단된다.



[그림 24. 유충의 생태적 변화]



[그림 25. 우화된 성충의 성장단계별 특징]

[표 55. 복분자박 및 커피박 첨가비율별 갈색거저리 유충의 생존율]

(단위 : %)

구분	유충 생존율	구분	유충 생존율	구분	유충 생존율
C	100%	C	100%	C	100%
T 1	80%	T 5	80%	T 9	80%
T 2	60%	T 6	60%	T 10	80%
T 3	80%	T 7	80%	T 11	80%
T 4	100%	T 8	80%	T 12	100%

C : 소맥피 100%, T1 : 소맥피 99% + 커피박 1%, T2 : 소맥피 97% + 커피박 3%, T3 : 소맥피 95% + 커피박 5%, T4 : 소맥피 90% + 커피박 10%, T5 : 소맥피 99% + 복분자박 1%, T6 : 소맥피 97% + 복분자박 3%, T7 : 소맥피 95% + 복분자박 5%, T8 : 소맥피 90% + 복분자박 10%, T9 : 소맥피 99% + (커피박 : 복분자박 = 5:5) 1%, T10 : 소맥피 97% + (커피박 : 복분자박 = 5:5) 3%, T11 : 소맥피 95% + (커피박 : 복분자박 = 5:5) 5%, T12 : 소맥피 90% + (커피박 : 복분자박 = 5:5) 10%

(3) 대체사료 5종 농가현장 실증실험

○ 사육결과

- 쌀가루로 사육한 실험군에서 69.1%로 높은 성충생존율을 보였으며, 팥박은 35.0%

로 낮은 생존율을 보였다.

- 반면, 사료섭취율은 대조군인 밀기울 15.1%, 팥박 13.5%, 주정박 10.2%의 순으로 나타났다. 생존율이 가장 좋았던 쌀가루는 1.2%의 낮은 섭취율을 보였으나, 유충의 성장길이를 측정 한 결과 174.4%로 가장 높은 성장률을 나타내었다.
- 특히, 팥박의 경우 성충의 사료 소비량은 많았으나, 생존율이 35%로 제일 낮았으며, 유충의 사육시에도 폐사되는 경우가 많아 대체사료원으로는 적절하지 않음을 알 수 있었다.
- 주정박(Corn DDSG)의 경우 성충의 증체율과 유충의 성장률에서 다른 처리구에 비해 높게 측정되어 대체사료원으로 가장 적합한 성향을 보였다.
- 반면, 갈색거저리 성충 및 유충의 먹이 선호성 측면에서는 쌀가루 처리구가 가장 좋음을 알 수 있었다.

[표 56. 대체사료별 성충의 생존율]

(단위 : 마릿수)

구분	C	T1	T2	T3	T4	T5
입식수(A)	2,000	2,000	2,000	2,000	2,000	2,000
생존수(B)	1,080	1,382	903	1,108	1,035	700
생존율(C=B/A*100,%)	54.0	69.1	45.2	55.4	51.8	35.0

C : 소맥피, T1 : 쌀가루, T2 : 야자박, T3 : Corn DDSG(주정박), T4 : 타피오카+전분박, T5 : 팥박

[표 57. 대체사료별 성충의 사료 섭취율(단위 : g)]

구분	C	T1	T2	T3	T4	T5
입식시 사료량(A)	7,450	7,450	4,600	7,450	4,600	7,450
30일 경과후 사료량(B)	660	180	485	390	130	520
사료섭취율(C=B/A*100,%)	8.86	2.42	10.54	5.23	2.83	6.98

C : 소맥피, T1 : 쌀가루, T2 : 야자박, T3 : Corn DDSG(주정박), T4 : 타피오카+전분박, T5 : 팥박

[표 58. 대체사료별 성충의 증체율*]

(단위 : g)

구분 ¹⁾	C	T1	T2	T3	T4	T5
입식시 성충무게(A)	0.08 ±0.03	0.11 ±0.03	0.12 ±0.04	0.10 ±0.03	0.11 ±0.04	0.11± 0.03
30일 경과후 성충무게(B)	0.09 ±0.03	0.21 ±0.07	0.23 ±0.08	0.28 ±0.09	0.33 ±0.12	0.23 ±0.09
성충증체율 (C=[(B-A)/A]*100,%)	12.5	90.9	91.6	180.0	200.0	109.1

¹⁾ C : 소맥피, T1 : 쌀가루, T2 : 야자박, T3 : Corn DDSG(주정박), T4 : 타피오카+전분박, T5 : 팥박

* Mean±SE

[표 59. 대체사료별 유충의 성장률]

(단위 : mm)

구분	C	T1	T2	T3	T4	T5
입식시 유충길이(A)	3.11±0.03	3.09±0.03	3.04±0.04	3.06±0.02	3.07±0.02	3.08±0.03
30일 경과후 유충길이(B)	7.21±0.06	7.56±0.07	4.75±0.06	7.75±0.03	4.74±0.07	4.08±0.59
유충성장율(C=[(B-A)/A]*100,%)	131.83	144.66	56.25	153.27	54.40	32.47

¹⁾ C : 소맥피, T1 : 쌀가루, T2 : 아자박, T3 : Corn DDSG(주정박), T4 : 타피오카+전분박, T5 : 팥박

* Mean±SE



[그림 26. 대체사료별 성충 및 유충의 먹이 선호성]

(4) 결론

- 대체사료 원료 5종과 부원료 2종으로 사육한 갈색거저리 유충의 생육특성을 분석한 결과
 - 사료에 대한 먹이 선호성은 쌀가루가 제일 좋았으나, 섭취율은 주정박이 제일 높았다. 유충의 성장률 측면에서도 주정박과 쌀가루가 각각 144.46%, 153.27%로 나타나 다른 처리군에 비해 높음을 알 수 있었다.

- 또한 부원료인 커피박과 복분자박 모두 저농도 첨가수준에서는 생육저해가 일어나지 않음을 알 수 있었다.
- 따라서 대체사료 원료 및 부원료로서는 쌀가루, 주정박, 복분자박 및 커피박이 적합하며, 이들을 혼합하여 사육할 경우 생육저해가 일어나지 않고, 유충의 성장을 빠르게 할 수 있다고 생각된다.
- 분석결과에 따라 대체사료의 원료 및 부원료를 첨가하여 단백질 함량이 20% 이상인 사료를 개발하기 위해서는 아래와 같은 비율로 첨가되어야 한다.

[표 60. 대체사료 배합비율]

구분	최종 대체사료 혼합 비율
쌀가루	6.25% ~ 8.50%
주정박	70.00% ~ 75.00%
커피박	6.25% ~ 12.50%
복분자박	6.25% ~ 12.50%

2) 갈색거저리 유충 기능성 소재화 공정기술 개발

가) 갈색거저리 유충 전용사료를 이용한 농가 적용 현장 실증

(1) 갈색거저리 유충 전용 인공사료 현장실증

○ 수행방법 : 알에서 부화된 1일 이내 유충을 대조구(소맥피), 제형별(분말, 크럼블, 펠렛) 총 4종류를 온도 27℃, 습도 65% RH, 광주기 9L/15D, 조도 1800lux 조건에서 20마리는 수분공급(냅킨에 수분흡수), 10마리는 수분 미공급하여 유충의 생육특성(령별 주기 및 무게 등)을 확인하였다.

○ 수행결과 :

- 사료의 제형(크기 : 대조구(소맥피)=분말 < 크럼블 < 펠렛)이 커질수록 무게는 높았으며 령별 주기는 개체간의 차이가 크지만 평균적으로는 유의적임을 확인하였다. 그러나 이 결과는 사육규모를 소규모로 진행했을 경우의 결과로 대량 사육시에는 가루형태의 제형이 더 효과적인 것으로 나타났다(대한사료(주)의 실험결과 참고).
- 인공사료 사용시 대조구(소맥피)보다 유충 ~ 성충도달시기가 평균적으로 약 6일 빠르며 무게 또한 0.0629g 많은 것을 확인 하였다. 곤충 사육시 평균 90,000원/day 소요되며 이로 인해 500,000원 이상의 절감효과를 확인 하였으며, 규모에 따라 더욱더 높은 절감효과를 보일 것으로 예상된다.
- 수분 미공급의 경우 유충의 무게는 수분 공급에 비하여 현저하게 낮음을 확인 하였고

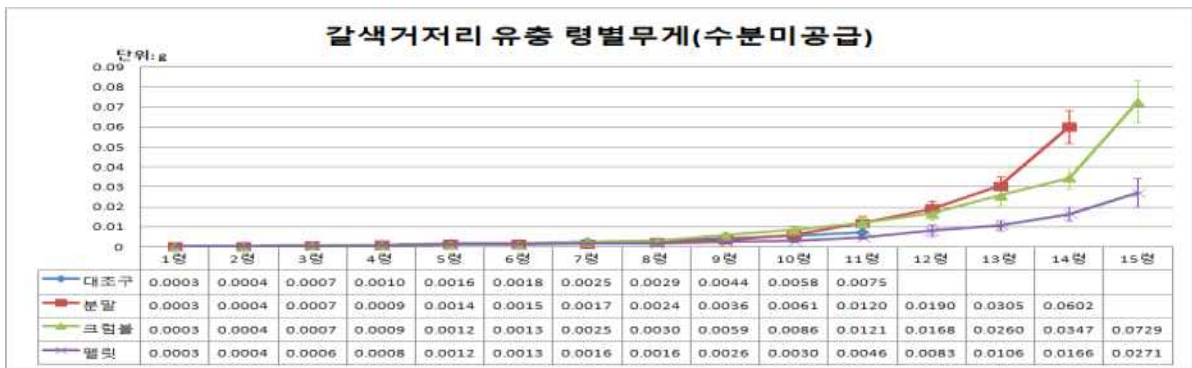
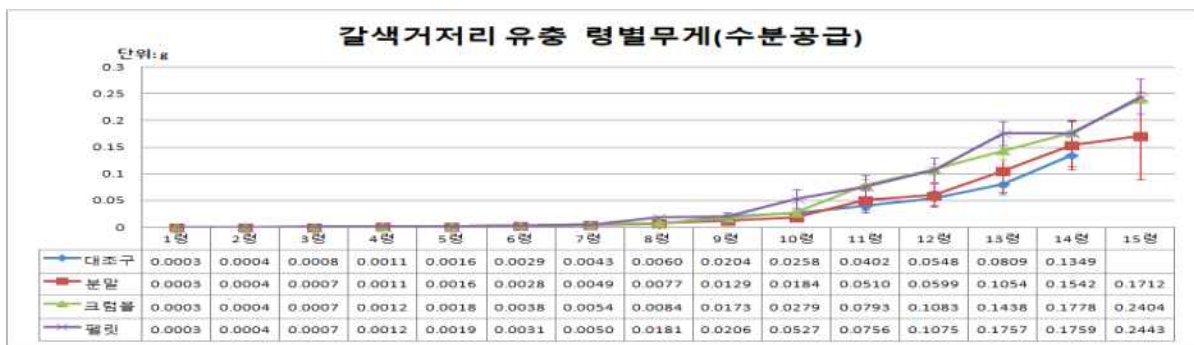
유충의 령별 주기 또한 불규칙적이며 수분 공급한 경우보다 오랜 시간이 소요됨을 확인하였다.

- 대조구에 비하여 인공사료의 경우 유충의 무게가 높아 갈색거저리 유충 사육에 효과적임을 확인 하였다.
- 최종결과 펠릿제형으로 사료를 공급하는 것이 갈색거저리 유충 사육의 최적조건임을 확인 하였다.

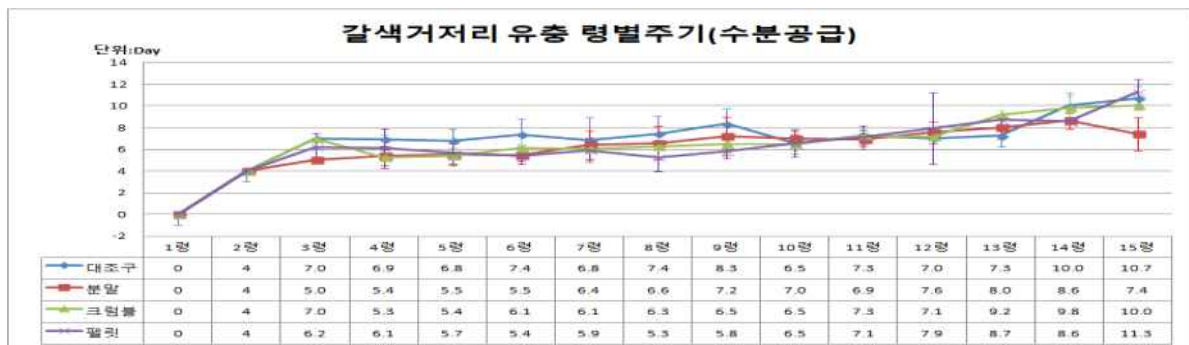
[표 61. 갈색거저리 유충 전용 인공사료 조성비]

재료	소맥	쌀	타피오카	소맥피	주정박
비율(%)	20	20	10	20	30

[표 59. 갈색거저리 유충 령별 무게(수분공급 및 미공급 시)]



[표 60. 갈색거저리 유충 령별 주기(수분공급 및 미공급 시)]





나) 갈색거저리 유충 가수분해(효소) 및 기능물질 공정개발

(1) 갈색거저리 유충 가수분해(효소) 공정개발

- 수행결과 : 갈색거저리 유충 분말과 물(1:9) 비율로 혼합하여 효소의 최적 활성조건을 위해 98% NaOH 분말을 사용하여 pH 6.5조정 후 효소(Alcalase + Flavourzyme) 0.01% 첨가한다. 이후 50℃, 3hr, 50rpm 가수분해, 80℃, 30min, 효소 불활성화 후 압착기를 사용하여 큰 부산물 여과 후 분리된 액상을 원심분리하여 작은 부산물 분리하여 액상 취득하고 진동막분리기를 이용하여 액상에 존재하는 미생물 제거한다. 동결건조시 가수분해된 액상의 질은 농도에 의해 뭉침현상을 방지하기 위해 가수분해물 액상의 Brix 대비 말토덱스트린 1:1 비율로 혼합한다. 이 후 5day 동결건조하여 분말 획득한다.

[표 62. 가수분해 시 효소 및 시간에 따른 단백질 정량]

시간 (hr)	Protein (ug/mL)			
	Alcalase 2.4L	Neutrased 0.8L	Flavourzyme 500MG	Protamex
1	5,006.3	4,112.6	3,889.1	4,715.4
2	5,392.0	4,423.4	4,072.6	4,512.6
3	6,197.1	5,097.1	4,093.1	5,372.6
4	6,185.1	5,475.4	4,571.4	5,405.1
5	6,638.3	5,714.9	4,449.7	5,650.3
15	2,934.3	1,601.1	1,457.1	1,482.3
24	1,934.3	1,722.9	1,077.7	1,515.4

- 5hr 가수분해 경우 높은 단백질값을 확인 하였으며, 3~5hr 단백질량이 비슷하였고, Alcalase 2.4L 효소에서 가장 높은 단백질량을 확인하였다.

[표 63. 가수분해 시 전처리 및 효소에 따른 단백질 정량]

시간 (hr)	Protein (ug/mL)			
	Alcalase 2.4L	Neutrased 0.8L	Flavourzyme 500MG	Protamex
1	5,006.3	4,112.6	3,889.1	4,715.4
2	5,392.0	4,423.4	4,072.6	4,512.6
3	6,197.1	5,097.1	4,093.1	5,372.6
4	6,185.1	5,475.4	4,571.4	5,405.1

○ 5hr 가수분해 경우 높은 단백질값을 확인 하였으며, 3~5hr 단백질량이 비슷하였고, Alcalase 2.4L 효소에서 가장 높은 단백질량을 확인하였다.

[표 64. 가수분해 시 전처리 및 효소에 따른 단백질 정량]

전처리	Protein (ug/mL)			
	Alcalase 2.4L	Neutrased 0.8L	Flavourzyme 500MG	Protamex
가수분해	7,988.6	7,528.9	6,982.9	7,465.7
균질화	3,837.1	3,828.6	3,605.7	3,585.7
키틴분해	7,171.4	6,697.1	6,470.9	6920
완충액	6,082.9	5,777.1	5,731.4	5,925.7

[표 65. 혼합효소 처리에 따른 단백질 정량값]

효소혼합	Flavourzyme 500MG + Alcalase 2.4L	Flavourzyme 500MG + Neutrased 0.8L	Flavourzyme 500MG + Protamex
Protein (ug/mL)	9132.5	7457.5	7937.5
효소혼합	Alcalase 2.4L + Neutrased 0.8L	Alcalase 2.4L + Protamex	Neutrased 0.8L + Protamex
Protein (ug/mL)	8287.5	8462.5	7750.0

○ 갈색거저리유충 가수분해에서 효소 Alcalase 2.4L와 Flavourzyme 500MG을 사용

하였을때 가장 높은 단백질량이 검출됨을 확인하였다.

[표 66. 단일효소와 혼합 효소 농도 차이에 따른 단백질 측정값]

효소농도	Protein (ug/mL)	
	Alcalase 2.4L	Flavourzyme 500MG + Alcalase 2.4L
0.01%	7,484.5	9,038.2
0.1%	9,704.0	10,135.4
0.5%	10,581.1	11,564.0

- 효소의 농도가 높을수록 단백질 정량값이 높게 나타났지만, 효소의 양과 가격을 비교하여 단백질 획득량에서 Flavourzyme + Alcalase 0.01% 가 가장 효율이 좋음을 확인함.

갈색거저리유충 대량 가수분해	
	
갈색거저리유충	가수분해 탱크
	
pH 보정	가수분해 탱크 내부



가수분해 온도



효소불활성화 온도



압착기



원심분리



한외 여과장치



30 kDa 필터



100 kDa 필터

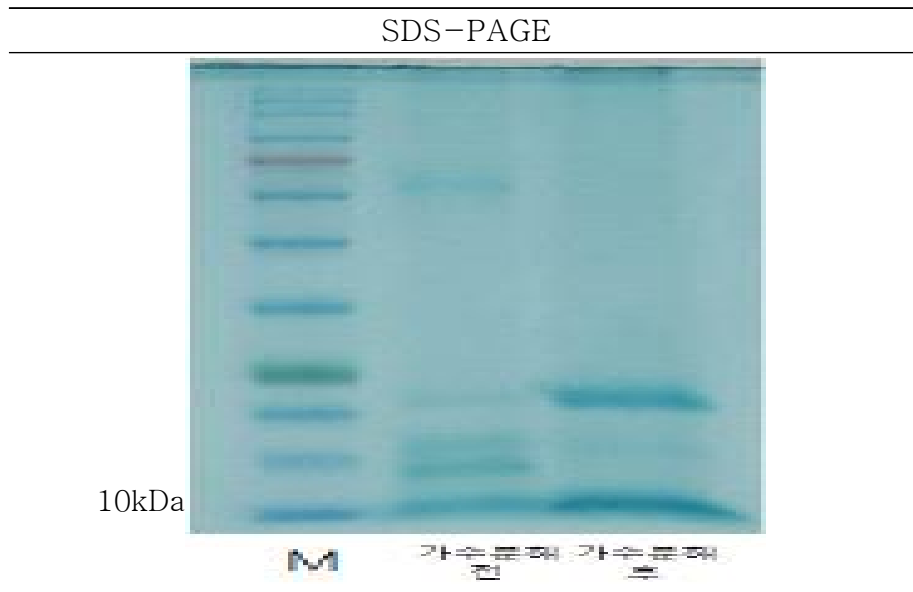


진동막 여과장치

(2) 갈색거저리유충 가수분해물 및 기능물질의 영양기능 성분 분석

① SDS-PAGE(sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis)

○ 수행결과 : 가수분해 전보다 가수분해 후 10kDa 밴드가 선명해짐을 확인하였다.



② 가수분해물의 아미노산 및 유리 아미노산 분석

[표 67. 아미노산함량]

단위 (ug/g)

분석항목	갈색거저리 유충	100 kDa	30 kDa
L(-)-Cystine	150.3	195.0	204.0
L-Methionine	104.8	627.0	616.0
L-Aspartic acid	461.3	137.3	143.8
L-Threonine	256.2	690.0	729.0
L-Serine	397.6	947.0	102.5
L-Glutamic acid	927.2	298.8	318.5
Glycine	353.0	129.5	134.8
L-Alanine	328.3	113.6	117.8
L-Valine	305.5	796.0	835.0
L-isoleucine	218.9	543.0	573.0
L-Leucine	543.6	123.6	129.0
L-Tyrosine	239.8	600.0	625.0
L-Phenylalanine	243.8	658.0	698.0
L-Lysine	407.7	292.9	290.7
L-Histidine	93.4	262.0	264.0
L-Arginine	467.7	926.0	966.0
L(-)-Proline	342.2	103.0	109.8

○ 아미노산 조성을 분석한 결과 원물에서는 Histidine, Glutamic acid, Leucine의 순으로

가장 많이 나타났으며, 저분자 그룹(100kDa, 30kDa) 그룹에서는 Serine, Arginine, valine의 순으로 가장 많이 나타났다.

- 분석결과와 같이 갈색거저리는 아미노산이 고르게 함유된 것으로 확인되었으며, 특히 저분자화 될수록 반려동물(개, 고양이)에게 필요한 필수아미노산 함량이 대체로 증가하여 반려동물 단백질 사료로 적합함을 확인할 수 있었다.
- 저분자 그룹에서는 반려견의 필수아미노산인 7종(Threonine, Valine, Isoleucine, Histidine, Arginine, Cystine, Methionine과 반려묘의 9종 아미노산(반려견 7종 아미노산 + Tyrosine, Phenylalanine 추가)이 원물 대비 22%~83%까지 증가함을 알 수 있었다.

[표 68. 유리아미노산 함량]

(단위 : ug/g)

분석항목	갈색거저리 유충	100 kDa	30 kDa
O-phosphoserine	12.0	228.3	1104.6
Taurine	4.0	49.9	191.7
O-phosphoethanolamine	5.1	67.0	186.9
L-Aspartic acid	7.1	60.9	45.3
L-Hydroxyproline	1.2	4.2	2.5
L-Threonine	7.5	117.6	100.5
L-Serine	8.5	46.3	32.4
L-Glutamic acid	24.5	236.5	180.6
Sarcosine	0.3	0.8	0.4
L-2-Aminoadipic acid	1.3	15.2	9.7
L(-)-Proline	11.8	44.8	36.9
Glycine	9.5	57.7	41.9
L-Alanine	48.6	300.2	228.0
L-Citrulline	1.7	23.6	19.4
DL-2-Aminobutyric acid	3.8	97.8	105.9
L-Valine	8.4	176.3	116.8
L-Methionine	434.1	706.0	517.4
L(-)-Cystine	1.4	4.8	0.0
L-Cystathionine	1.2	14.2	6.9
L-isoleucine	5.1	106.0	121.2
L-Leucine	10.3	309.0	221.1
L-Tyrosine	3.3	46.3	34.4
L-Phenylalanine	5.5	149.2	132.2
B-Alanine	3.1	42.1	75.3
DL-3-Aminoisobutyric acid	0.7	12.3	46.9
4-Aminobutyric acid	100.5	359.2	231.8
2-Aminoethanol	1.0	83.4	51.3
DL-plus allo-δ-Hydroxylysine	0.8	2.9	1.9
L-Ornithine	2.0	133.9	85.2
L-Lysine	1289.9	1965.7	1257.0
L-1-Methylhistidine	0.0	0.0	0.0
L-Histidine	2.1	35.9	23.3
L-3-Methylhistidine	0.5	2.0	1.3
L-Anserine	0.0	0.0	0.0
L-Carnosine	0.0	0.0	0.0
L-Arginine	15.6	2.8	1.3

- 체내에 존재하는 유리 아미노산의 경우 원물과 비교하여 저분자 그룹에서 63% 증가함을 알 수 있었으며, 반려동물의 필수 아미노산 역시 저분자 그룹에서 증가하였다. 특히 Lysine과 Leucine의 경우 34%~96%까지 증가함을 알 수 있었다.

(3) 갈색거저리 유충 가수분해를 위한 발효공정 개발

① 프로테아제 활성이 우수한 균주 선발 및 확보

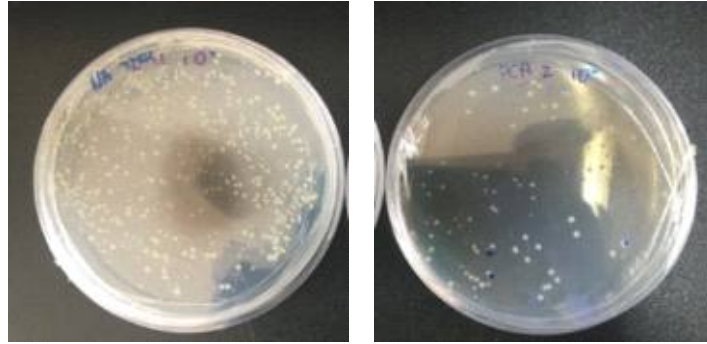
(ㄱ) 갈색거저리 유충으로부터 분리한 균주 성장특성

- 갈색거저리 유충의 장 적출 및 장내 미생물 분리 : 곤충에서 미생물을 분리하기 위한 해부는 Heo 등(2006)이 사용한 방법으로 실시하고, 갈색거저리를 멸균된 petri-dish에 놓고 70%(w/w) 에탄올에 1-2분 정도 침지하여 충체 표면의 오염원을 제거한 후 충체에 묻어 있는 에탄올을 제거하기 위하여 멸균된 증류수로 2번 세척하고, 증류수로 세척한 후 핀셋과 해부 셋트를 이용하여 곤충의 내장을 꺼내 0.85% NaCl용액에 넣고 homogenization 후 원심분리 한 상등액을 멸균수에 희석하여 적합배지(일반세균 : NA(Nutrient agar, BD Difco), PCA(Plate count agar, OXOID); 유산균 : Lactobacillus MRS agar(BD Difco) 등)에 도말하여 30℃, 48 시간 배양함
- 장내 미생물의 형태 관찰 : 미생물을 순수 분리하기 위해 colony 형태 관찰은 색깔, 크기, 모양 등을 구분함
- 장내 미생물 동정 : 장내미생물의 형태와 효소활성 결과를 바탕으로 분류한 후 colony 형태의 샘플을 제작함에 따라 분미생물 동정을 위해서는 16S rRNA 증폭을 위한 PCR amplification은 균주로부터 분리한 총 DNA를 template로 하여 universal primer를 사용하여 sequencing primer(785F/907R), PCR primer(27F/1492R) Taq polymerase를 이용하여 적정 조건에서 PCR을 수행함.
- 이렇게 확보된 PCR 산물의 염기서열을 결정하여 GenBank data base 검색을 통하여 염기서열의 상동성을 조사함
- 미생물의 효소활성 측정 : Protease 활성 : NA배지에 1%의 Skim milk를 혼합하여 배지를 제작한 후 8 mm의 paper disc를 올리고 20 ul의 배양된 미생물을 분주함. 30℃에서 24시간을 배양한 후 paper disc 주변 clear zone의 직경의 길이를 측정함
- 곤충의 상태 및 장 적출 : 갈색거저리 유충은 새끼손가락 반절만한 크기를 가지고 있으며 평균 무게 0.06g, 길이는 2.3 cm이며 장의 평균 무게는 0.01g으로 전체 무게의 16.7%를 장이 차지하고 있음



[그림 29. 갈색거저리 유충 및 장 적출]


- 곤충 장내 일반세균 분리 : 도말한 배지에서 특이성을 가지는 colony를 선별하여 single colony를 얻기 위해 반복적으로 시도하였으며 반복적인 시도 끝에 갈색거저리 유충 장내에서 22종을 분리함



NA 배지

PCA배지

[그림 30. 단일콜로니 분리 전 복합 미생물 배지사진]

모양	샘플번호	사진
아이보리 동그란모양	3, 3-1, 3-2, 14, 11, 5, 18	
파란빛이 감도는 아이보리 동그란 모양	4, 8, 15, 9	
흰색 동그란 모양	6, 7, 10, 19	
흰색 곰팡이 같이 퍼지는 모양	1, 11, 12, 16, 20, 21, 22, 23	

[그림 31. 갈색거저리 유충 장에서 분리한 균의 모양에 따른 분류]

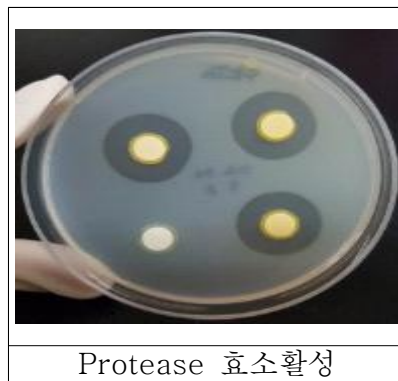
○ 분리된 일반세균류의 균학적 특성분석

- 곤충 장에서 분리한 미생물을 대상으로 protease, amylase, cellulase 효소활성을 먼저 측정

- 분석결과와 morphology에 따라 분류하여 16S rRNA sequencing을 진행함
- GS 3군주에서 protease 활성이 높은 값을 보임

[표69. 갈색거저리 유충 장에서 분리한 균의 효소활성 분석]

NO.	균주명 (GS = 갈색거저리유충)	protease (mm)			비고 (Morphology)
		1	2	3	
1	GS 1	2.5	2	2	D
2	GS 3	6.5	6.5	6.5	A
3	GS 3-1	6.5	6.5	5	A
4	GS 3-2	6.5	6.5	6	A
5	GS 4	ND	ND	ND	B
6	GS 5	2	1.5	1.5	A
7	GS 6	ND	ND	ND	C
8	GS 7	ND	ND	ND	C
9	GS 8	ND	ND	ND	B
10	GS 9	ND	ND	ND	B
11	GS 10	4	3	3.5	C
12	GS 11	0.2	0.2	0.2	D
13	GS 12	0.3	0.25	0.25	D
14	GS 14	ND	ND	ND	A
15	GS 15	1	1.5	1	B
16	GS 16	1.5	1.5	3	D
17	GS 18	2	2	2	A
18	GS 19	2	2.5	3.5	C
19	GS 20	2	3	3	D
20	GS 21	2	1.5	2.5	D
21	GS 22	1.5	2	3	D
22	GS 23	2	2	2.5	D



[그림 32. 효소활성 사진]

○ 선별된 미생물의 동정 결과

[표 70. 선별된 미생물의 16S rRNA sequencing 결과]

Sample Name	length	Blast match				
		Species	Accession ^a	Identity (%)	E-value	Score
GS3	1,460	<i>Chryseobacterium ureilyticum</i>	NR_042503.1	99	0.0	2580

(ㄴ) 균주선발 및 확보

- 전북생물산업진흥원의 갈색거저리 유충으로부터 분리한 보유균(GS3)과 프로티젠으로부터 LSS, V35, GAL, DIDIB 4종의 균을 제공 받음
- 갈색거저리 유충에서 분리된 균인 자가균을 활용한 발효
- 균의 성장적합 배지(nutrient borth, Luria Broth) 확인을 위한 pH, 탁도와 일별 protease활성 확인

○ protease활성 시험방법

- protease 활성도는 프로테아제 시험방법(KFDA, 2016)을 이용하여 측정하였으며, 시료 1 mL를 3차 증류수로 10배 희석한 것을 시험용액으로 하였다. 0.6% 카제인 용액 1 mL를 시험관에 넣고 37°C의 항온수조에 가온한 다음 시험용액 1 mL를 넣어 항온수조에서 정확히 10분 간 방치하였다. 이에 0.4 M TCA 2 mL를 넣고 다시 37°C에서 25분 간 방치한 후 여과하였다. 여과액 1 mL를 시험관에 정확히 취하여 0.4 MNa2CO3 5 mL와 3배 희석한 Folin-Ciocalteuphenol reagent 1 mL를 넣어 37°C에서 20분 간 방치한 후 660 nm에서 흡광도를 측정하였다. 공시험용액은 시험용액 1 mL를 시험관에 넣고 37°C의 항온수조에서 가온한 다음 0.4 M TCA 2 mL를 섞은 후 0.6% 카제인용액 1 mL를 넣어 37°C에서 25분 간 방치한 후 이를 여과하여 위와 동일한 조작으로 흡광도를 측정하였다. 표준물질은 L-tyrosine을 사용하였고, 프로테아제의 역가(Unit/mL)는 검체 1 mL가 함유하는 역가로 1분 간 효소가 반응하여 생성되는 L-tyrosine의 양을 μg 수로 환산하여 계산하였다.
- 균 배양의 다양한 조건을 위해 배지조성(Skim milk첨가) 등 조건으로 배양
 - NB 15.5g + DW 1L, Autoclave(121°C, 15minute)
 - NB 15.5g + DW 1L +Skim milk 5g, Autoclave (121°C, 15minute)
 - LB 8g + DW 1L, Autoclave (121°C, 15minute)
 - LB 8g + DW 1L + Skim milk 5g, Autoclave (121°C, 15minute)

[표 71. 균 시간별 배양 특성(NB, LB배지)]

Oday	NB		NB+Skim		LB		LB+Skim	
	pH	탁도	pH	탁도	pH	탁도	pH	탁도
LSS	7.09	0.12	7.03	0.23	7.09	0.12	7.03	0.23
V35	7.01	0.06	6.99	0.21	7.01	0.06	6.99	0.21
GAL	7.05	0.11	7.02	0.27	7.05	0.11	7.02	0.27
DIDIB	6.97	0.06	6.98	0.3	6.97	0.06	6.98	0.3
GS3	6.96	0.5	6.97	0.3	6.96	0.5	6.97	0.3

1day	30°C						30°C					
	NB		NB+Skim			LB			LB+Skim			
	pH	탁도	효소활성	pH	탁도	효소활성	pH	탁도	효소활성	pH	탁도	효소활성
LSS	7.2	0.57	0	6.88	0.63	6.99	7.1	1.03	6.99	6.9	1.477	8.01
V35	6.52	0.21	3.84	6.4	0.31	1.30	8.2	0.65	1.99	8.45	0.59	1.63
GAL	6.52	0.22	0	6.16	0.2	0	7.8	0.77	1.0	8.39	0.981	0.21
DIDIB	5.25	2	0.1	5.06	3.67	0	8.2	0.2	0	8.6	3.67	0.04
GS3	7.02	0.31	0	7.45	0.6	0.55	7.9	0.5	0	8.12	0.6	0.55

2day	30°C						30°C					
	NB		NB+Skim			LB			LB+Skim			

	pH	탁도	효소활성	pH	탁도	효소활성	pH	탁도	효소활성	pH	탁도	효소활성
LSS	8.08	0.63	0	7.92	0.59	0	7.29	1.392	7.32	8.53	1.468	8.85
V35	6.63	0.25	0	6.17	0.21	0	8.55	0.886	0.95	8.33	0.5	1.66
GAL	6.25	0.27	2.35	5.75	0.21	0	8.57	0.75	0.24	8.45	0.976	0.61
DIDIB	5.33	2.3	0.1	4.62	3.37	0.70	8.54	0.521	0	8.47	0.519	0
GS3	7.12	0.21	0	7.81	0.62	0	8.6	0.782	0.89	8.5	0.642	1.31
3day	30℃						30℃					
	NB			NB+Skim			LB			LB+Skim		
	pH	탁도	효소활성	pH	탁도	효소활성	pH	탁도	효소활성	pH	탁도	효소활성
	LSS	8.2	0.55	0	8.06	0.68	4.59	7.52	1.224	7.60	8.98	1.488
V35	6.82	0.39	0	6.4	0.3	1.15	8.78	0.722	1.18	8.63	0.49	2.21
GAL	5.74	0.17	0	5.63	0.43	0	8.79	0.571	1.03	8.69	0.818	0.61
DIDIB	4.91	1.9	0	4.46	3.36	0	8.77	0.387	0	8.75	0.525	0
GS3	7.53	0.29	0	8.19	0.66	0	8.82	0.541	1.18	8.74	0.567	1.31

- 다른 균주들에 비하여 LSS균주의 protease 활성도가 높음을 확인
- LB + Skim milk, 3day 배양시 효소 활성도가 높음을 확인

(ㄷ) 발효조건 설정실험

○ 균주 선별 후 발효조건별 실험

- 배양조건 성립 후 발효 조건별 실험
- 고상발효시 수분조건은 손에 짊 쥐었을 경우 수분이 1~2 방울정도 떨어질 때 발효가 잘되는 것으로 전문가에게 자문을 구함
- 발효가 잘 될수 있도록 Mineral, Glucose를 첨가하여 발효실험 진행
- 수분함량 33%, 40%, 45%
- DW, DW + Mineral, DW + Mineral + Glucose
- 조건별 배양균 1ml 접종

			Mineral			Mineral + Glucose		
D.W (33%)	D.W (40%)	D.W (45%)	D.W (33%)	D.W (40%)	D.W (45%)	D.W (33%)	D.W (40%)	D.W (45%)

[그림 33. LSS균 사용 발효]

[표 72. LSS균 사용 발효물 시간별 protease 활성]

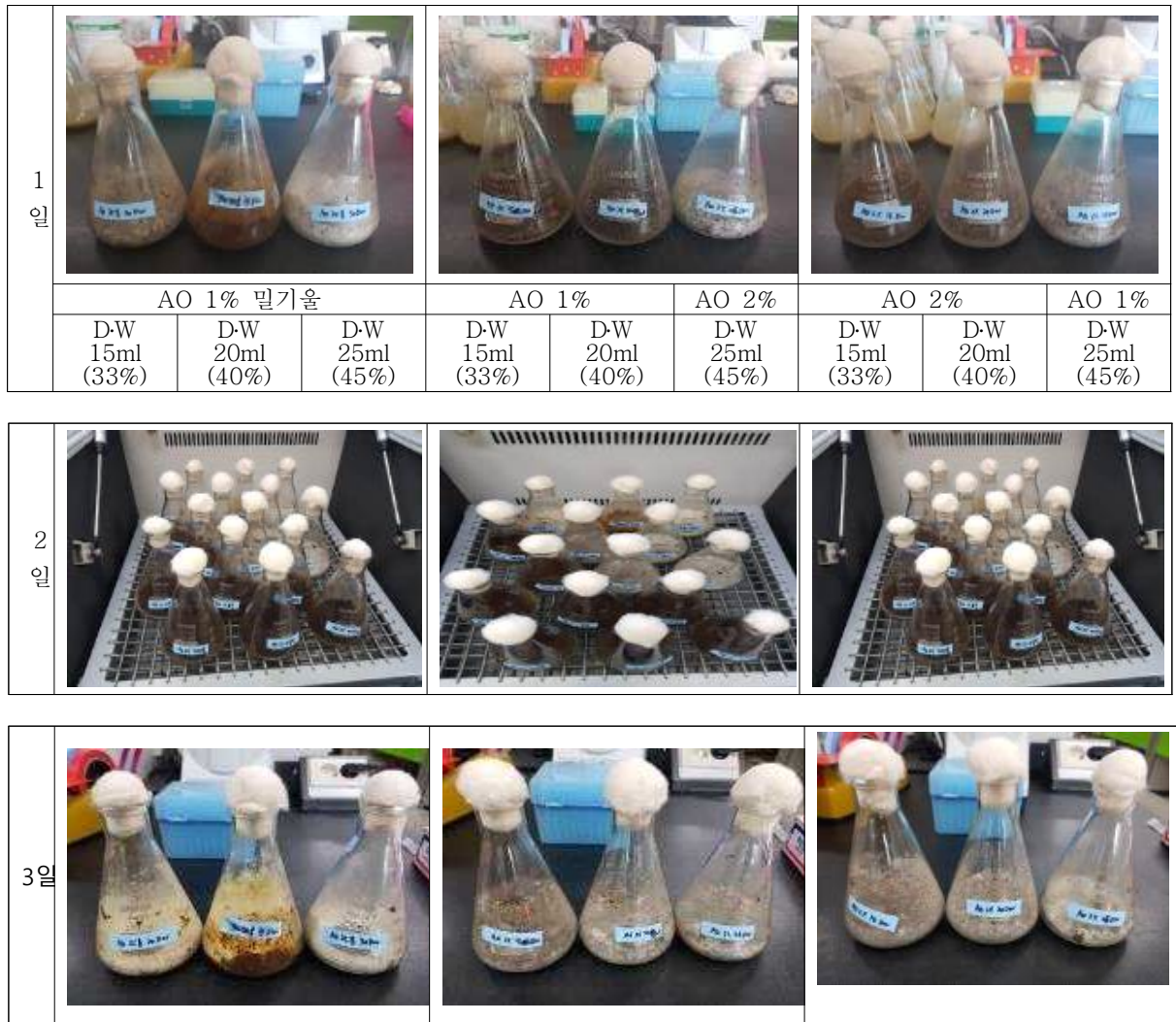
발효조건	protease 활성 (u/g)		
	수분(33%)	수분(40%)	수분(45%)

	1day	2day	3day	1day	2day	3day	1day	2day	3day
DW	4.43	0	0	2.39	2.21	0	1.31	3.78	0.35
M	1.573	0	0	1.60	1.45	0	1.188	3.14	1.13
M+G	2.09	0.22	0	0.85	2.24	0.65	2.06	4.37	2.08

- 효소활성이 좋지 않아 발효조건 및 균주변경
- 수분 25ml, 1~2day 경우를 제외하고는 protease활성이 없거나 감소함을 확인

○ 황국균 활용한 발효조건별 실험

- 전북생물산업진흥원에서 보유중인 *Aspergillus oryzae* (황국균)을 활용하여 발효
- 밀기울 8g, 거저리 22g 비율 혼합 후 발효실험, 수분함량 및 균 접종량 조건 발효실험
- *Aspergillus oryzae* (황국균)이 갈색거저리 유충 분말 사이로 침투될 수 있도록 밀기울을 섞어 발효실험 진행
- 30°C, Incubator에서 발효

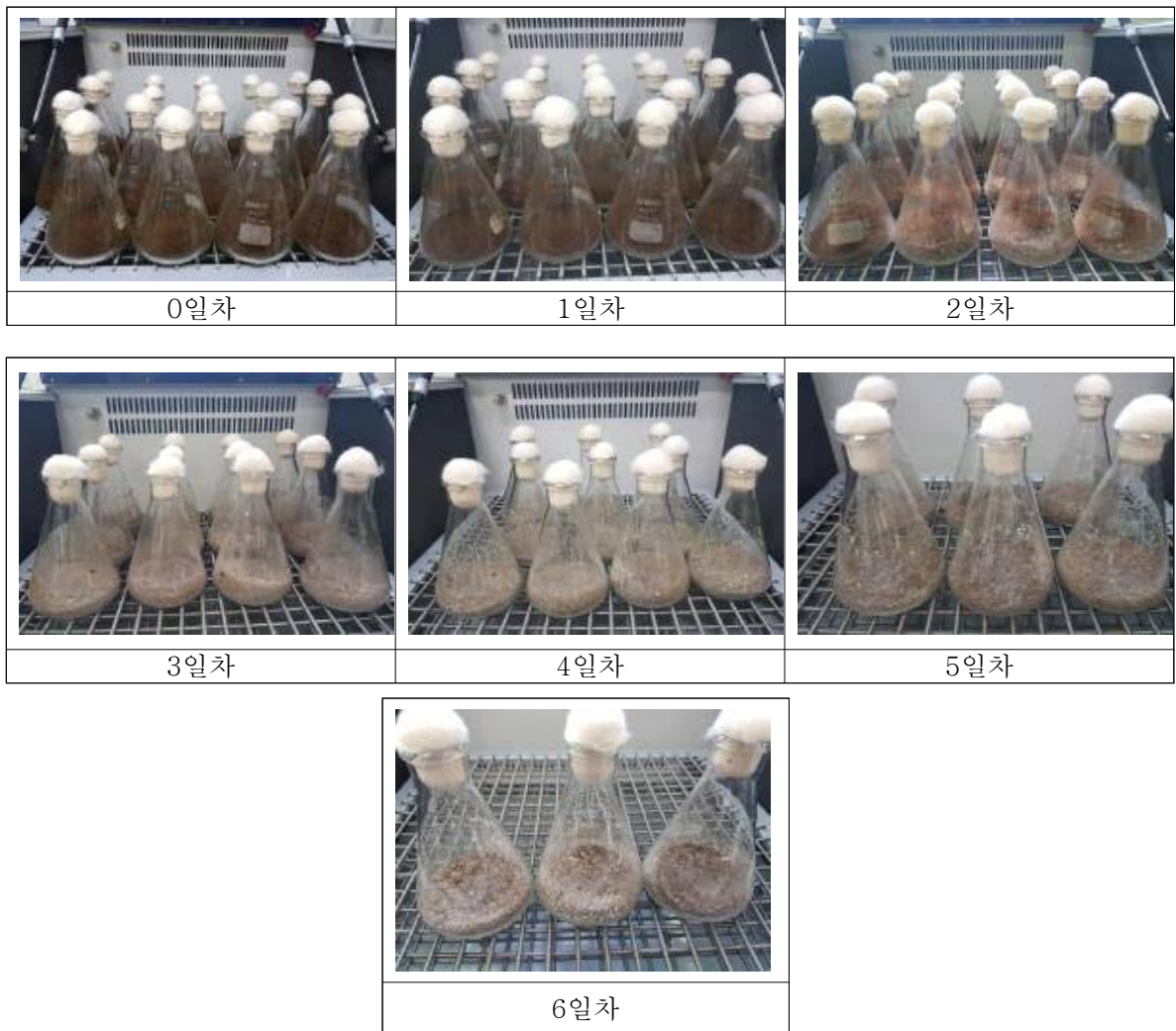


[그림 34. A-O 균 사용 조건별 발효]

[표 73. A·O 균 사용 조건별 발효물 protease 활성]

발효조건	protease 활성 (u/g)								
	수분(33%)			수분(40%)			수분(45%)		
	1day	2day	3day	1day	2day	3day	1day	2day	3day
A·O 1% (밀기울)	5.22	5.18	5.66	5.91	5.88	5.93	5.69	5.64	6.56
A·O 1%	6.53	6.52	8.09	4.78	4.97	5.76	5.91	6.06	5.62
A·O 2%	5.98	6.17	8.11	5.64	5.58	5.74	5.38	5.38	7.27

- 밀기울을 섞어 발효시 육안으로는 하얀색으로 발효되는 과정이 뚜렷이 확인되었지만 protease 활성도에서는 높은 값을 보이지 못함.
- A·O 1% 3일, protease 활성과 A·O 2% 3일, protease 활성이 좋으며 큰 차이가 없음
- protease 활성이 균 접종량에 비해 비슷하여 A·O 1% 조건으로 발효 재실험
- 30℃, Incubator에서 1~6일까지 발효, 일별 protease 활성도 확인

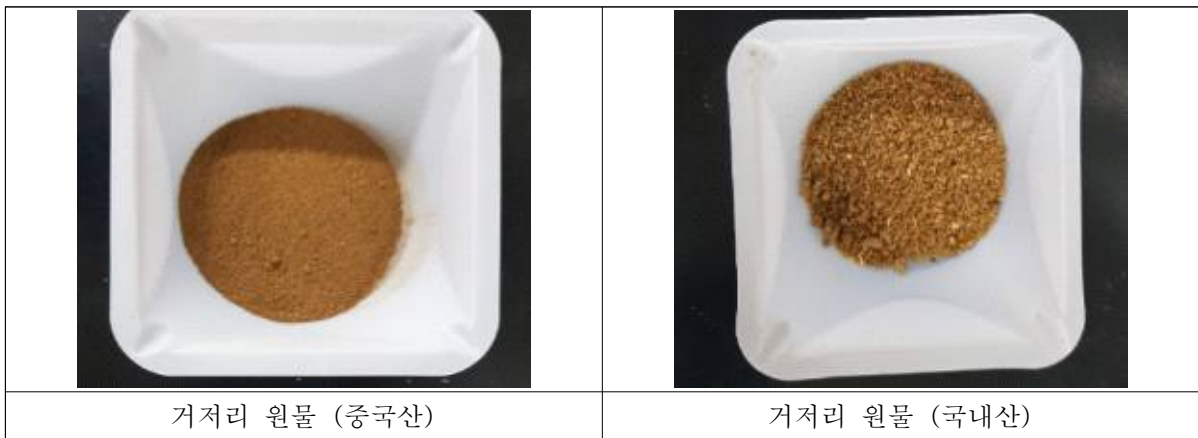


[그림 35. A·O 1% 접종 1~6일 발효사진]

[표 74. A:O 1%, 발효 1~6일 protease 활성]

Sample NO.	protease 활성 (u/g)					
	A:O 1%, 수분 (33%)					
	1day	2day	3day	4day	5day	6day
Sample 1	4.37	4.01	5.48	8.14	7.70	6.93
Sample 2	4.12	4.74	4.99	8.28	6.64	6.68
Sample 3	4.22	4.42	5.71	8.01	6.55	7.37
Aver	4.24	4.39	5.39	8.14	6.96	6.99

- 1~4일차까지 protease활성이 지속적으로 증가 하였으며, 4일차 protease활성 수치가 최대값을 보이고, 5일차부터 감소하였음
 - 최종적으로 protease활성이 최대값을 보인 *Aspergillus oryzae*균을 사용하여 수분 33%, 30°C, 4day 배양하는 것이 최적화된 발효조건임을 확인
- 거저리 원물의 입자사이즈 변화에 의한 발효
- 거저리 원물의 입자의 사이즈 변화로 *Aspergillus oryzae*균이 활동할 수 있는 공간을 확보함으로써 효율적인 발효개선

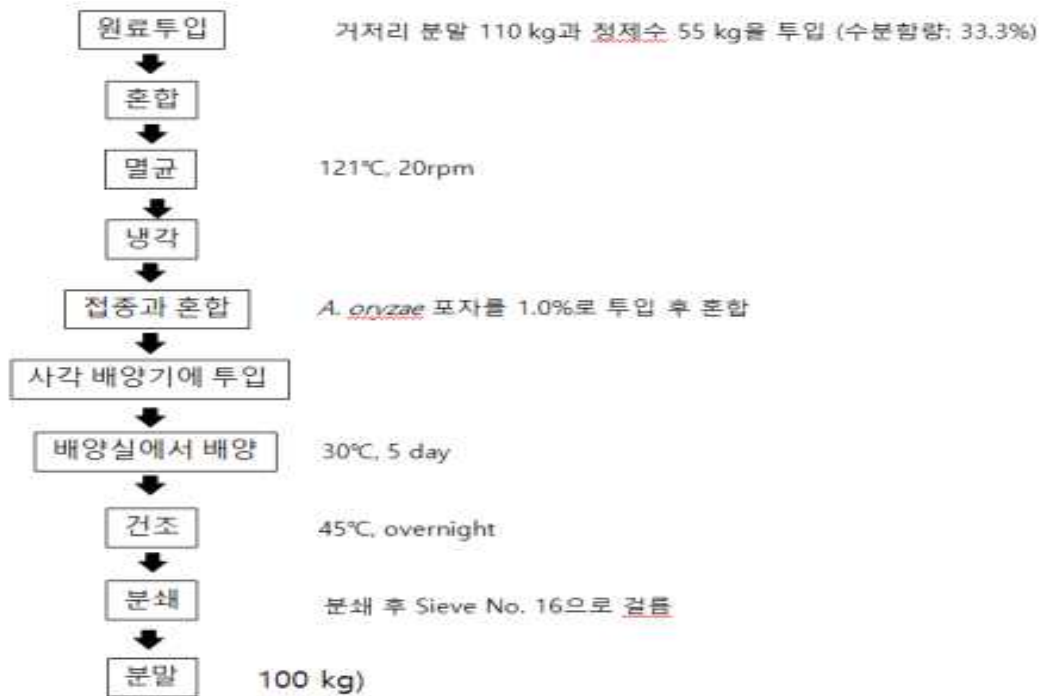


[표 75. A:O 1%, 거저리 원물 변경 발효 1~5일 protease 활성]

Sample NO.	protease 활성 (u/g)				
	A:O 1%,				
	1day	2day	3day	4day	5day
Sample 1 (수분 25%)	1.96	1.99	2.56	2.39	2.30
Sample 2 (수분 33%)	3.14	5.80	6.66	<u>9.25</u>	5.30
Sample 3 (수분 40%)	2.82	6.41	5.93	4.97	4.17

- 거저리 원물 변경 전보다 변경 후, protease 활성이 높음을 확인

(ㄷ) 대량고상발효



[그림 36. 대량 고상발효 공정도]

- 예비실험결과 A·O 1%, 수분(33%), 30°C, 4일, 효소활성도가 높았던 조건으로 대량 발효
- 원료투입시 갈색거저리 유충 분말에 수분이 일정하게 흡수되도록 혼합
- 멸균된 갈색거저리 유충 분말에 균 접종시 균일하게 분포되도록 혼합 (분말이 뭉쳐있는 경우 균의 침투가 다소 원활하지 않을 수도 있으니 고르게 혼합)
- 갈색거저리 유충 분말에 균을 혼합 후 균의 침투가 원활할 수 있도록 다수로 소분하여 (높이 는 낮고 면적은 넓게) 발효를 진행, 대량으로 한번에 진행시 균의 효율이 떨어질 수 있음
- 대량 발효 시 육안으로 확인 결과 소량으로 진행했을 경우보다 색의 변화가 느려 1일 더 발 효하여 총 5일 발효
- 또한 소분하였지만 발효물의 하층부보다 상층부가 발효가 원활히 잘되어 중간에 발효물 자체를 회전하여 발효(하층부의 경우 밀착되어있어 상층부에 비해 발효가 원활하지 않을수도 있음)
- 사료제조법 기준에 의거하여 수분함량이 15%이하가 되도록 건조 후 수분측정기 활용 결과 수 분함량이 약 5%임을 확인
- 발효물이 동일한 입자가 될 수 있도록 분말화 함

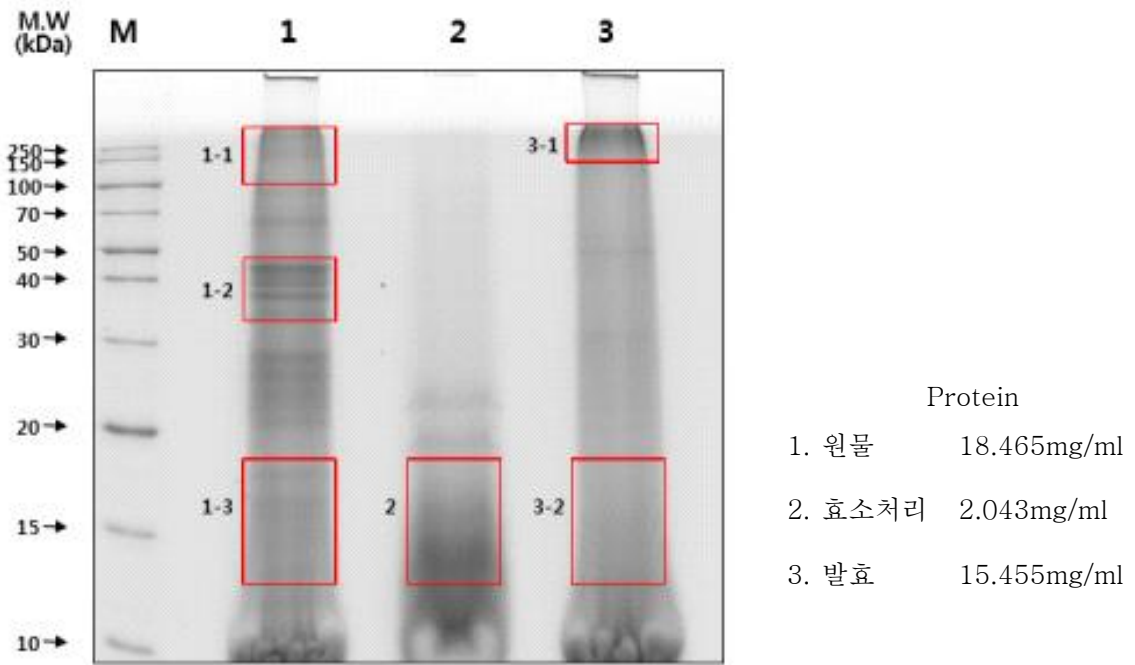


[그림 37. 갈색거저리 유충 대량발효 공정 사진]

(4) 갈색거저리 유충 가수분해물 (발효물) 품질특성 분석

① 갈색거저리 유충 가수분해 조성물의 품질특성 분석

- 단백질 함량 및 단백질 분자량 측정



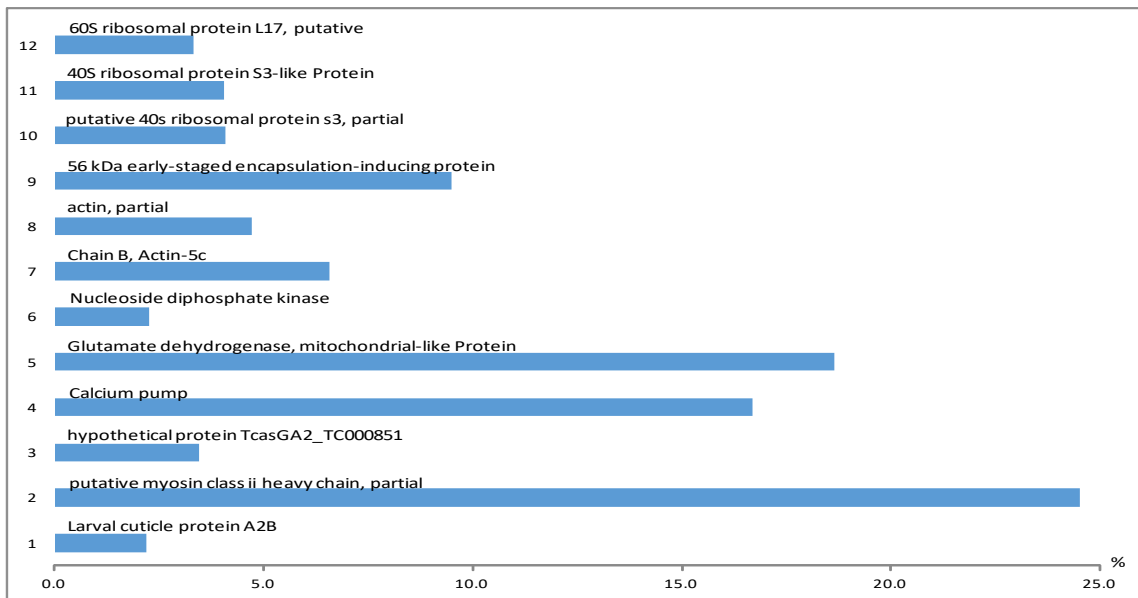
[그림 38. 갈색거저리 유충 가수분해물 SDS-PAGE]

[표 76. 갈색거저리 원물 및 발효물 단백질 동정]

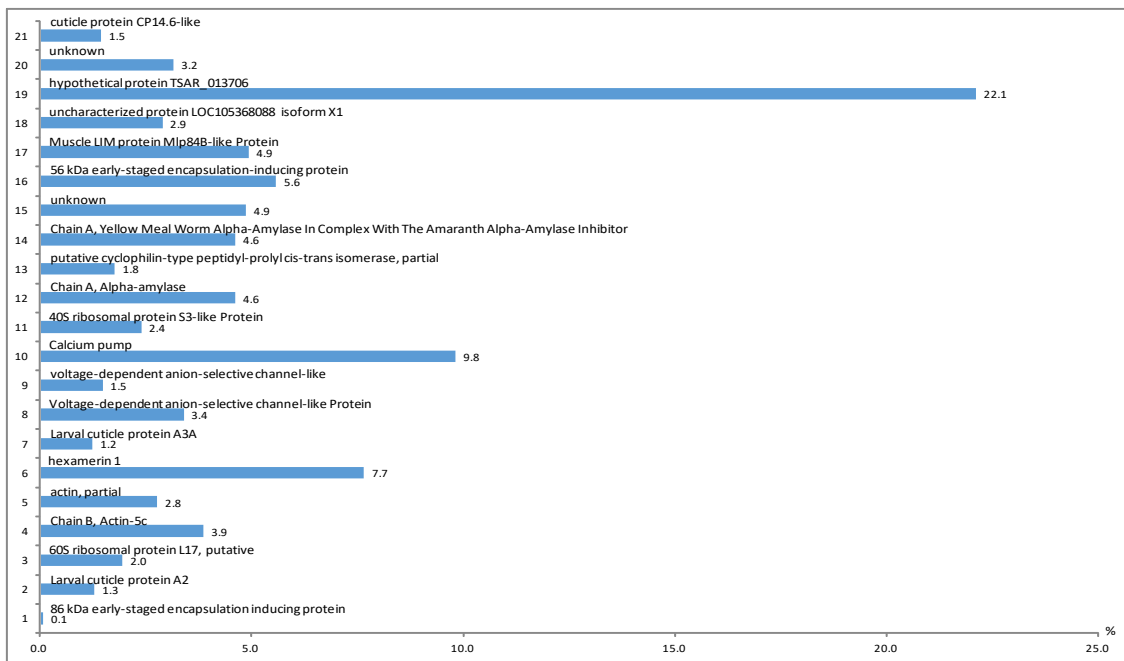
band label	Protein name
1_1	Myosin heavy chain, muscle-like Protein [Tribolium castaneum]
	hypothetical protein YQE_12088, partial [Dendroctonus ponderosae]
	myosin heavy chain, muscle isoform X1 [Cephus cinctus]
	myosin heavy chain, muscle isoform X1 [Onthophagus taurus]
	Larval cuticle protein A2B [Papilio machaon]
	PREDICTED: myosin heavy chain, muscle-like, partial [Rhagoletis zephyria]
	RecName: Full=Larval cuticle protein A3A; AltName: Full=TM-LCP A3A; Short=TM-A3A
	RecName: Full=Calcium-transporting ATPase sarcoplasmic/endoplasmic reticulum type; AltName: Full=Calcium pump
	uncharacterized protein LOC111029480 isoform X1 [Myzus persicae]
	GH20891 [Drosophila grimshawi]
	PREDICTED: uncharacterized protein LOC105196174 [Solenopsis invicta]
	PREDICTED: rho GTPase-activating protein gacO-like [Diachasma alloeum]
	Twitchin-like Protein [Tribolium castaneum]
hypothetical protein TcasGA2_TC032094 [Tribolium castaneum]	
1_2	Actin-87E-like Protein [Tribolium castaneum]
	putative actin muscle [Culex tarsalis]
	actin, partial [Thitarodes armoricanus]
	hypothetical protein [Photinus pyralis]
	56 kDa early-staged encapsulation-inducing protein [Tenebrio molitor]

	Myosin heavy chain, muscle-like Protein [Tribolium castaneum]
	putative myosin class i heavy chain [Culex tarsalis]
	actin-1, partial [Anopheles dirus]
	H+ transporting ATP synthase beta subunit, partial [Heliconius numata arcuella]
	actin, partial [Timema genevievae]
	CLUMA_CG005729, isoform A [Clunio marinus]
	hypothetical protein AMK59_4595, partial [Oryctes borbonicus]
	hypothetical protein TSAR_003281 [Trichomalopsis sarcophagae]
	PREDICTED: tropomyosin-1 [Bemisia tabaci]
	Larval cuticle protein A2B [Papilio machaon]
	tropomyosin-1, partial [Monochamus alternatus]
	hypothetical protein YQE_05478, partial [Dendroctonus ponderosae]
	actin, partial [Anopheles stephensi]
	PREDICTED: tropomyosin, partial [Rhagoletis zephyria]
	86 kDa early-staged encapsulation inducing protein [Tenebrio molitor]
	Filamin-A-like Protein [Tribolium castaneum]
	hypothetical protein [Photinus pyralis]
	Chain A, Alpha-amylase
	Chain A, Yellow Meal Worm Alpha-Amylase In Complex With The Amaranth Alpha-Amylase Inhibitor
	PREDICTED: tropomyosin-2 isoform X1 [Musca domestica]
	hexamerin 2 [Tenebrio molitor]
	uncharacterized protein Dana_GF13700 [Drosophila ananassae]
	hypothetical protein B7P43_G17714 [Cryptotermes secundus]
	arginine kinase, partial [Dendarus elongatus]
	RecName: Full=Alpha-actinin, sarcomeric; AltName: Full=F-actin cross-linking protein
	86 kDa early-staged encapsulation inducing protein [Tenebrio molitor]
	Larval cuticle protein A2B [Papilio machaon]
	60S ribosomal protein L17, putative [Pediculus humanus corporis]
1-3	Chain B, Actin-5c
	actin, partial [Timema genevievae]
	hexamerin 1 [Tenebrio molitor]
	RecName: Full=Larval cuticle protein A3A; AltName: Full=TM-LCP A3A; Short=TM-A3A
	Voltage-dependent anion-selective channel-like Protein [Tribolium castaneum]
	voltage-dependent anion-selective channel-like [Leptinotarsa decemlineata]
	RecName: Full=Calcium-transporting ATPase sarcoplasmic/endoplasmic reticulum type; AltName: Full=Calcium pump
	40S ribosomal protein S3-like Protein [Tribolium castaneum]
	Chain A, Alpha-amylase
	putative cyclophilin-type peptidyl-prolyl cis-trans isomerase, partial [Tabanus bromius]
	Chain A, Yellow Meal Worm Alpha-Amylase In Complex With The Amaranth Alpha-Amylase Inhibitor
	unknown [Dendroctonus ponderosae]

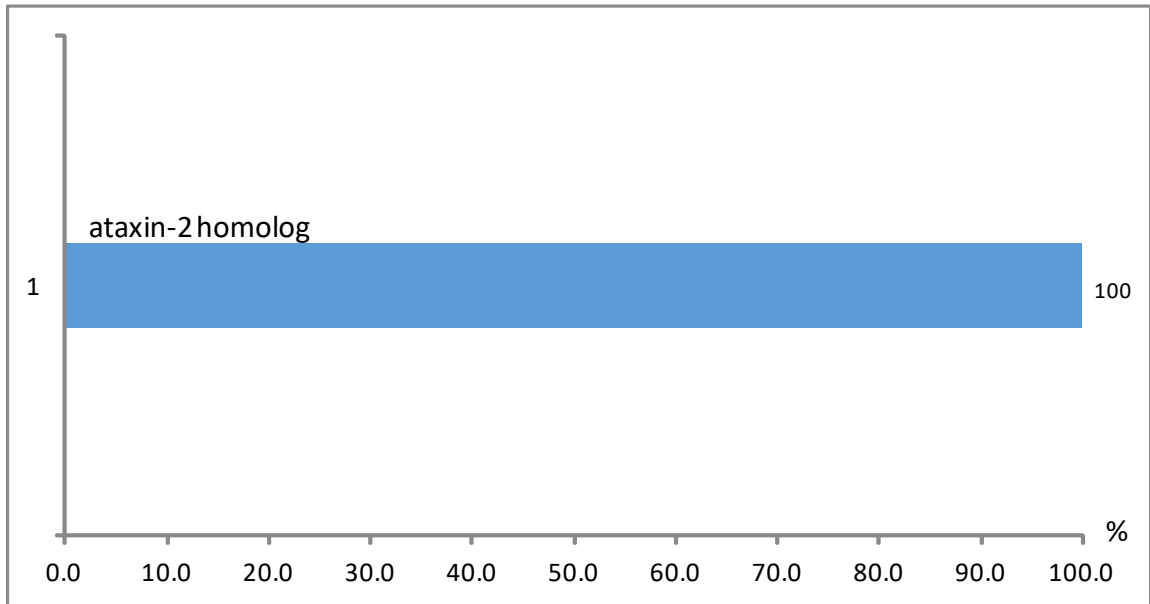
	56 kDa early-staged encapsulation-inducing protein [Tenebrio molitor]
	Muscle LIM protein Mlp84B-like Protein [Tribolium castaneum]
	PREDICTED: uncharacterized protein LOC105368088 isoform X1 [Ceratosolen solmsi marchali]
	hypothetical protein TSAR_013706 [Trichomalopsis sarcophagae]
	unknown [Dendroctonus ponderosae]
	cuticle protein CP14.6-like [Leptinotarsa decemlineata]
2	PREDICTED: ataxin-2 homolog [Drosophila suzukii]
	RecName: Full=Larval cuticle protein A1A; AltName: Full=TM-LCP A1A; Short=TM-A1A
	RecName: Full=Larval cuticle protein A3A; AltName: Full=TM-LCP A3A; Short=TM-A3A
	56 kDa early-staged encapsulation-inducing protein [Tenebrio molitor]
	putative myosin class ii heavy chain, partial [Triatoma dimidiata]
	putative creatine kinase, partial [Anopheles aquasalis]
	arginine kinase, partial [Arthropterus sp. Wendy Moore DNA2212]
	arginine kinase, partial [Paussus vadoni]
	Larval cuticle protein A3A, partial [Lygus hesperus]
3_1	PREDICTED: larval cuticle protein A2B-like [Stomoxys calcitrans]
	Chain B, Actin-5c
	actin, partial [Timema genevievae]
	Argk [Bombus hypocrita]
	hypothetical protein COJ52_10494, partial [Blattella germanica]
	Chain A, Yellow Meal Worm Alpha-Amylase In Complex With The Amaranth Alpha-Amylase Inhibitor
	Chain A, Alpha-amylase
	paramyosin [Epicauta chinensis]
	PREDICTED: cuticle protein-like [Nicrophorus vespilloides]
	reverse transcriptase [Lasius niger]
	uncharacterized protein Dyak_GE23445 [Drosophila yakuba]
	uncharacterized protein LOC109852859 isoform X1 [Pseudomyrmex gracilis]
	Larval cuticle protein A2B [Papilio machaon]
	putative myosin class ii heavy chain, partial [Triatoma dimidiata]
	hypothetical protein TcasGA2_TC000851 [Tribolium castaneum]
	RecName: Full=Calcium-transporting ATPase sarcoplasmic/endoplasmic reticulum type; AltName: Full=Calcium pump
	Glutamate dehydrogenase, mitochondrial-like Protein [Tribolium castaneum]
3_2	Nucleoside diphosphate kinase [Lygus hesperus]
	Chain B, Actin-5c
	actin, partial [Timema genevievae]
	56 kDa early-staged encapsulation-inducing protein [Tenebrio molitor]
	putative 40s ribosomal protein s3, partial [Triatoma dimidiata]
	40S ribosomal protein S3-like Protein [Tribolium castaneum]
	60S ribosomal protein L17, putative [Pediculus humanus corporis]



[그림 39. 1-3 Fraction 동정결과]



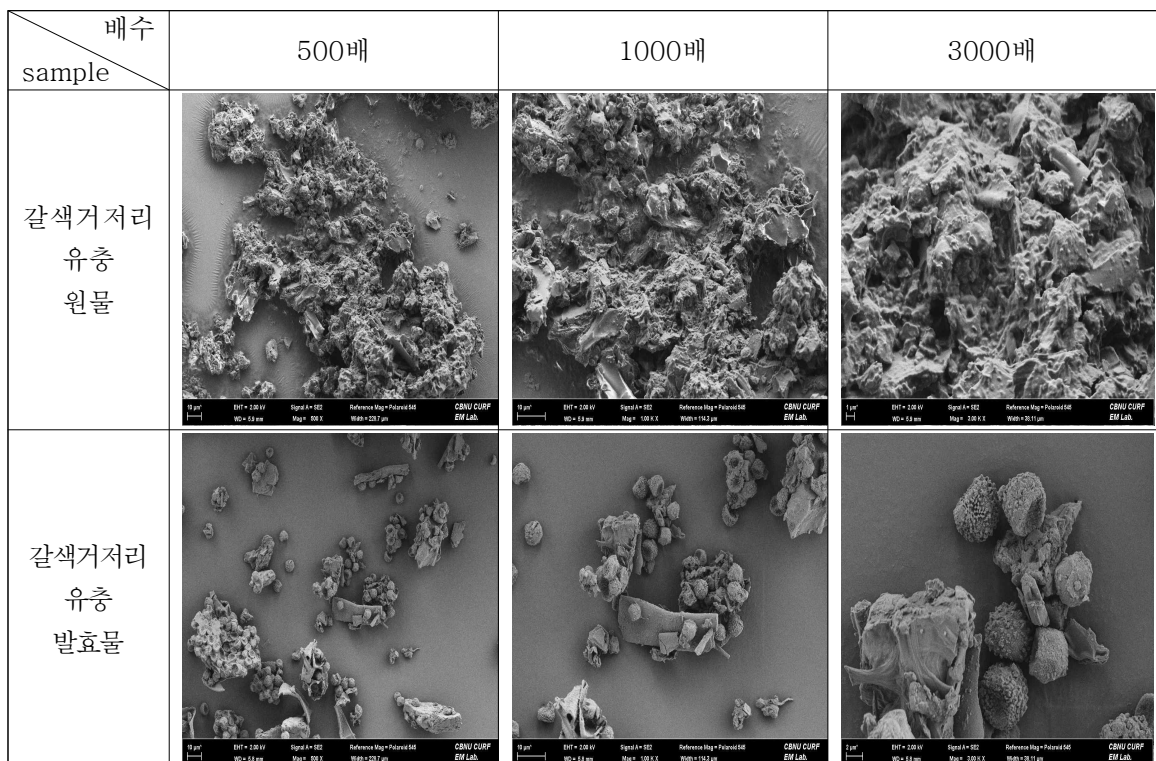
[그림 40. 3-2 Fraction 동정결과]



[그림 41. 2 Fraction 동정결과]

- 효소가수분해와 고상발효를 처리한 갈색거저리의 단백질 구성을 분석하기 위하여 1차적으로 전기영동을 실시하고, 15kDa 사이를 Fraction하여 LC-MS를 통해 동정한 결과 효소처리한 갈색거저리 (2 Fraction) 경우 액틴의 함량(근육형성 도움)이 많은 ataxin-2homolog 단일 단백질로 분포하였고, 원물의 경우 21가지 단백질, 고상발효한 시료는 12가지 단백질로 구성되어 있음을 확인하였다.

○ 발효조성물 미세구조(SEM)



[그림 42. 갈색거저리유충 원물 및 발효물 SEM 사진]

- 미세구조 분석결과 원물대비 발효물의 구조가 분해됨을 확인

○ 가수분해물 아미노산

[표 77. 갈색거저리유충 원물 및 발효물 아미노산 함량 (ug/g)]

분석항목	갈색거저리유충 원물 (중국산)	발효물	갈색거저리유충 원물 (국내산)	발효물
Glycine	307.5	292.5	290	3390
Alanine	1343.9	320.4	1284.6	6698.7
Serine	273	94.5	346.5	4476.5
Proline	609.5	126.5	4293.3	2717.8
Valine	468	117	1361.1	4446
Threonine	1059.1	107.1	166.6	2622
Leucine	733.6	235.8	388.6	5117.7
isoleucine	235.8	52.4	611.3	3096
Asparagine	158.4	39.6	92.4	198
Aspartic acid	159.6	172.9	106.4	3626.5
Lysine	10234.6	788.4	515.9	2209.5
Glutamine	58.4	175.2	1109.6	233.6
Glutamic acid	3028.2	837.9	1945.3	9594.2
Methionine	5930.2	670.5	79.5	392.4
Histidine	0	0	723.3	676.8
Phenylalanine	396	264	258.5	2249.5
Arginine	208.8	121.8	2479.5	1983.6
Tyrosine	181	253.4	1442	3782.9
Trp	40.8	61.2	1040.4	918
Cystine	0	0	0	192

- 중국산과 국내산 갈색거저리의 고상발효물의 아미노산조성을 분석한 결과 중국산은 발효 후 반려동물 필수아미노산이 크게 감소하였고, 국내산은 필수아미노산 함

량이 급격하게 증가하는 경향을 보였다.

- 국내산 갈색거저리를 A.O.로 발효처리를 한 결과 아미노산 함량은 원물대비 230% 증가하였으며, 특히 반려동물에서 필수아미노산인 Leucine, Threonine이 급격히 증가하였으며, 고양이에게서 중요한 Phenylalanine도 크게 증가하였다.
- 따라서, 반려동물 단백질원으로 갈색거저리를 사용할 경우 원물로 사용하기보다는 고상발효를 통해 반려동물 필수아미노산 함량을 증가시켜 사용하는 것이 타당할 것으로 사료된다.

② 갈색거저리 유충 발효조성물의 황산화 활성 측정

○ DPPH(황산화 활성 측정)

[표 78. 갈색거저리유충 발효물 DPPH]

Concentration (ug/mL)	Ascrovic acid	30kDa	100kDa	발효물
10	84.63±0.79	18.91±2.94	21.76±2.38	23.15±2.21
5	83.97±1.49	16.01±2.10	20.06±2.28	21.86±2.26
2.5	84.42±0.79	16.75±2.24	19.27±2.86	24.61±2.51
1.25	85.48±0.88	14.45±6.25	17.83±1.83	31.01±2.12
0.625	83.02±1.05	15.78±2.34	17.49±2.20	30.91±2.05
0.3125	75.14±1.04	14.26±2.23	16.51±2.56	29.09±2.56
0.15625	42.31±2.65	11.59±1.91	15.13±2.86	34.64±2.20

③ 갈색거저리 유충 가수분해 조성물의 기준규격 설정

○ 수분측정

[표 79. 갈색거저리유충발효물 수분함량]

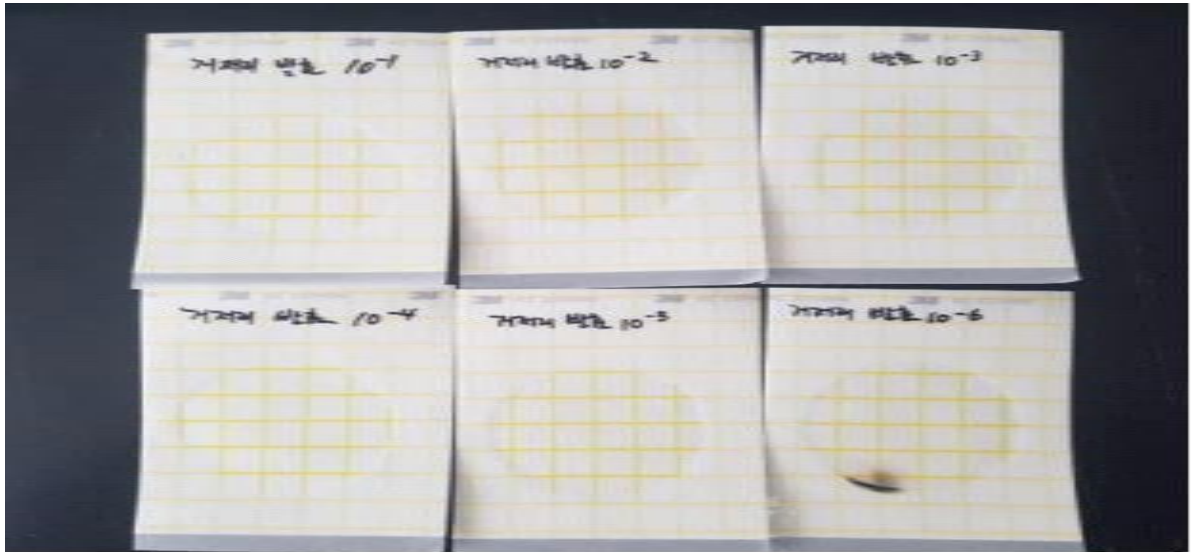
갈색거저리유충 발효물 수분측정			
무게(g)	1.32	1.45	1.37
수분량(%)	4.82	4.90	4.82

○ pH측정

[표 80. 갈색거저리유충 발효물 pH]

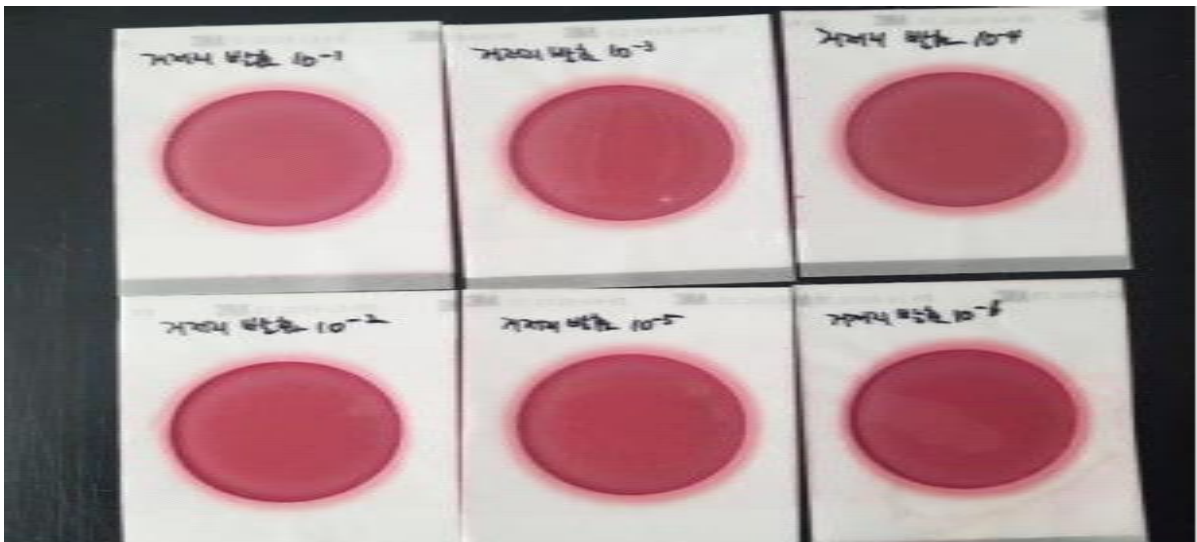
갈색거저리유충 발효물 pH			
pH	6.28	6.28	6.29

○ 일반세균



[그림 43. 일반세균 사진]

○ 대장균군



[그림 44. 대장균군 사진]

[표 81. 갈색거저리유충 원물 및 발효물 일반세균·대장균군]

거저리 발효물	희석배수					
	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁻⁶
일반세균	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
대장균군	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D

- 일반세균과 대장균군 확인결과 검출되지 않음

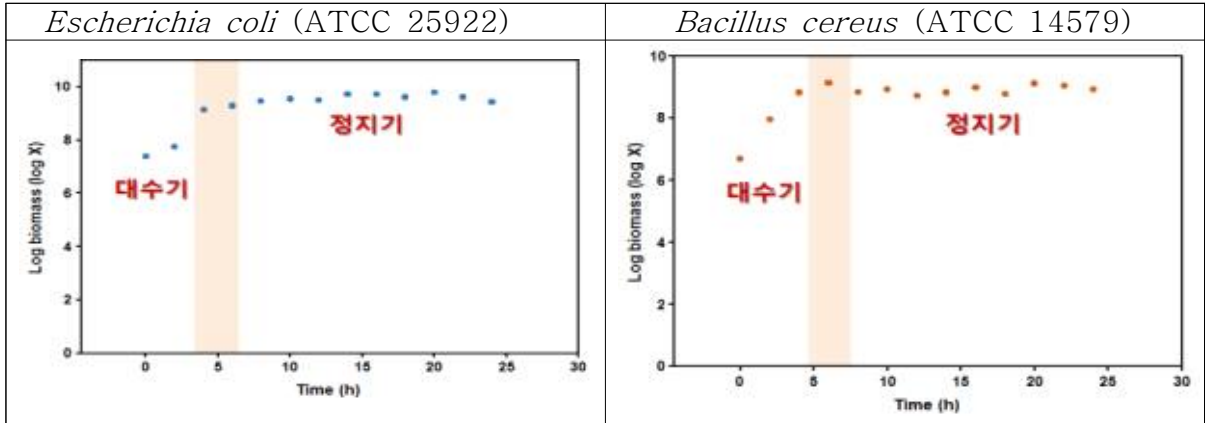
제3절. 곤충자원의 prebiotic 및 알러지 관련 기능성 검증

[참여연구기관 2 : (재)베리&바이오식품연구원]

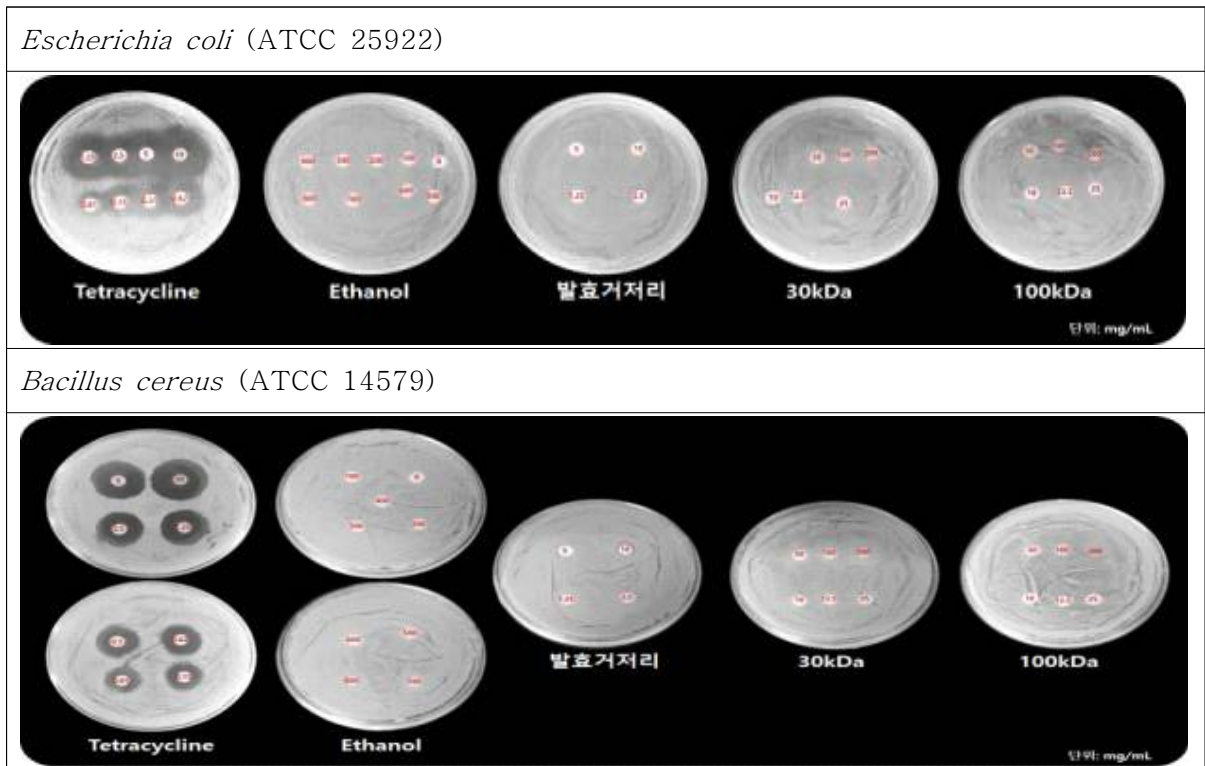
1) 갈색거저리 유충 전처리 가공기술에 따른 prebiotic 효능

가) 갈색거저리 유충 최적 건조 분쇄 추출에 따른 항균효과 탐색

(1) 항균 효과를 위한 미생물 생육 곡선 확인



(2) 거저리 가수분해물 및 발효물의 항균 효과 탐색



- 해당 실험은 식품 위해 미생물 중 가장 대표적인 그람 음성균 (*E. coli*) 와 그람 양성균 (*B. cereus*) 을 선택하여 각 균주에 대한 항균 능력을 확인하였음. 결과를 종합하여 보았을 때, sample들의 항균 능력이 항생제인 tetracycline에 비하여 현저히 낮다고 판단됨

나) 갈색거저리 유충의 동물실험용 사료 조성

(1) 갈색거저리 유충 허물의 식이 제조

[표 82. 갈색거저리 유충 허물 식이조성표]

AIN-76A	g	Kcal	positive	g	Kcal	거저리허물	g	Kcal
casein	200	800	casein	200	800	casein	200	800
methionine	3	12	methionine	3	12	methionine	3	12
con starch	150	600	con starch	90	360	con starch	90	360
sucrose	500	2000	sucrose	290	1160	sucrose	290	1160
cellulose	50	0	cellulose	200	0	거저리허물	200	0
con oil	50	450	con oil	170	1530	con oil	170	1530
mineral	35	0	mineral	35	0	mineral	35	0
vitamin	10	40	vitamin	10	40	vitamin	10	40
choline bitrtrate	2	0	choline bitrtrate	2	0	choline bitrtrate	2	0
Total	1000	3902	Total	1000	3902	Total	1000	3902

(2) 갈색거저리 유충 가수분해물의 식이 제조

[표 83. 갈색거저리 유충 가수분해물 식이조성표]

AIN-76A			Positive		100kDa HM		30kDa HM	
	g	Kcal	g	Kcal	g	Kcal	g	Kcal
Casein	1,000	4,000	750	3,000	750	3,000	750	3,000
Methionine	15	60	15	60	15	60	15	60
Con starch	750	3,000	500	2,000	500	2,000	500	2,000
Sucrose	2,500	10,000	1,000	4,000	1,000	4,000	1,000	4,000
Cellulose	250	0	250	0	250	0	250	0
Con oil	250	2,250	250	2,250	250	2,250	250	2,250
Maltodextrin			2,000	8,000				
100kD 20%					2,000	8,000		
30kD 20%							2,000	8,000
Mineral	175	0	175	0	175	0	175	0
Vitamin	50	200	50	200	50	200	50	200
Choline bitrtrate	10	0	10	0	10	0	10	0
Total	5,000	19,510	5,000	19,510	5,000	19,510	5,000	19,510

(3) 갈색거저리 유충 발효물의 식이 제조

[표 84. 갈색거저리 유충 발효물 식이조성표]

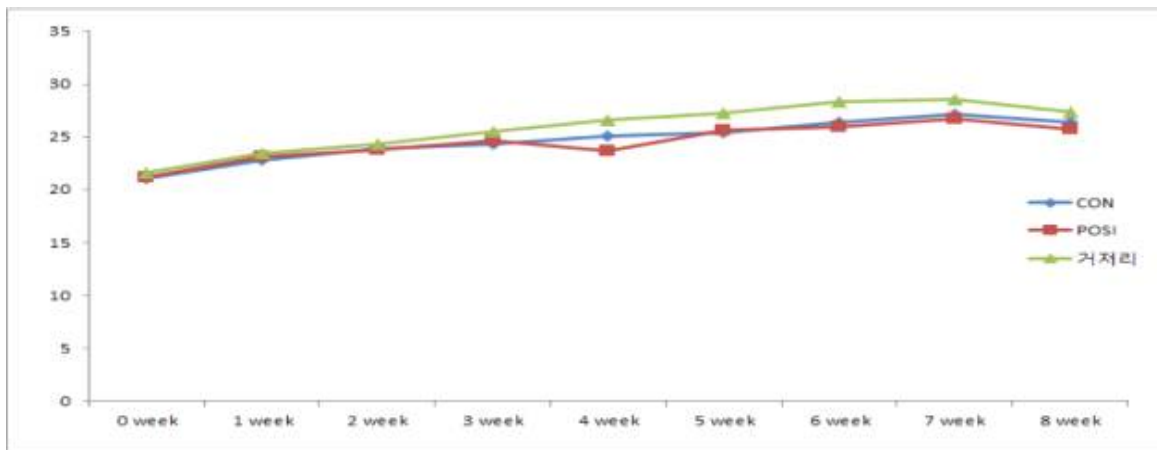
AIN-76A	g	Kcal	positive	g	Kcal	거저리발효물	g	Kcal
casein	200	800	casein	200	800	casein	200	800
methionine	3	12	methionine	3	12	methionine	3	12
con starch	150	600	con starch	90	360	con starch	90	360
sucrose	500	2000	sucrose	290	1160	sucrose	290	1160

cellulose	50	0	cellulose	200	0	거저리발효물	200	0
con oil	50	450	con oil	170	1530	con oil	170	1530
mineral	35	0	mineral	35	0	mineral	35	0
vitamin	10	40	vitamin	10	40	vitamin	10	40
choline bitratrate	2	0	choline bitratrate	2	0	choline bitratrate	2	0
Total	1000	3902	Total	1000	3902	Total	1000	3902

다) 체중 변화 등을 포함한 동물사양실험

(1) 갈색거저리 유충 허물 섭취에 의한 체중변화

○ 수행결과 : <8주>

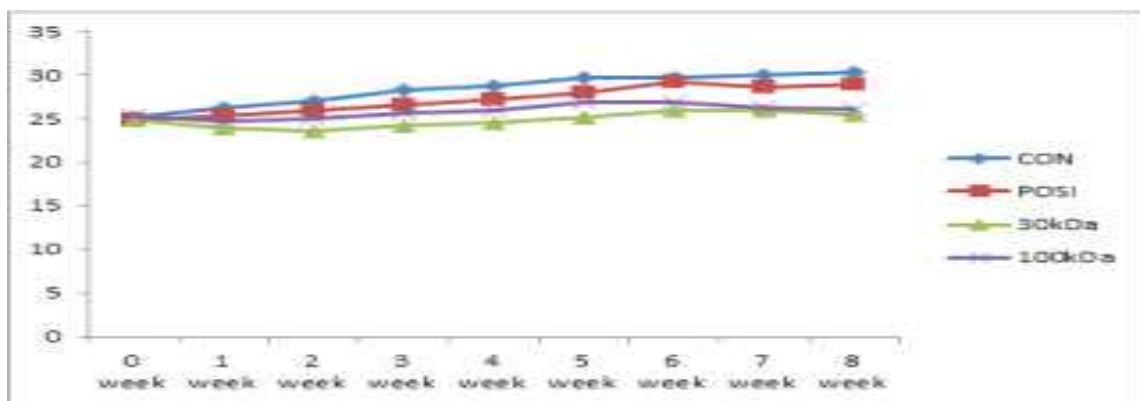


CON : AIN-76A diet; POSI : Positive diet; 거저리 : 거저리유충 허물 diet

- 갈색거저리 유충 허물 섭취에 의한 체중 변화는 섭취그룹 모두 그룹간의 차이가 없는 것으로 확인됨

(2) 갈색거저리 유충 가수분해물 섭취에 의한 체중변화

○ 수행결과 : 갈색거저리 유충 가수분해물 섭취에 의한 체중변화

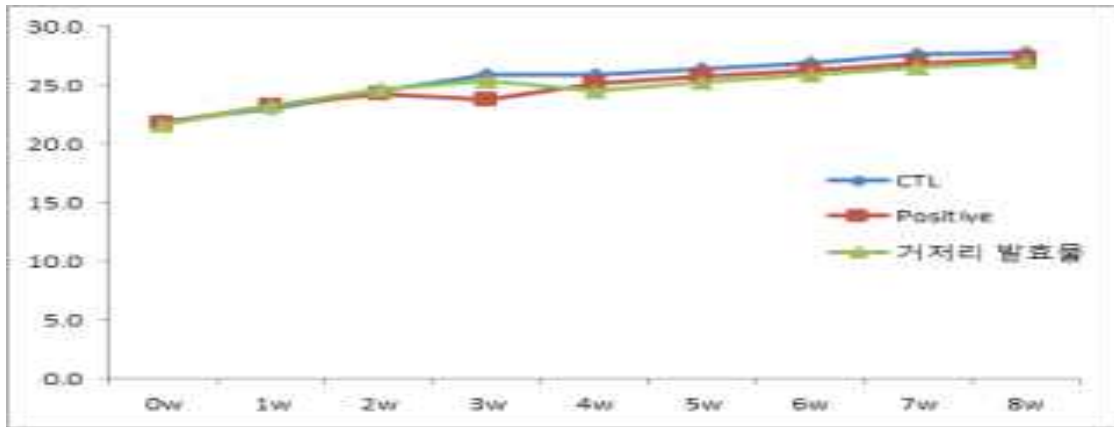


* CON : AIN-76A diet; POSI : Positive diet; 30kDa, 100kDa : 갈색거저리 유충 가수분해물

- 8주 동안 거저리 유충 가수분해물 섭취에 의한 체중변화는 30kDa, 100kDa 두 그룹 모두에서 con 및 posi 식이에 비해 감소하는 것을 확인했으며, 비만 억제에 효과가 있을 것으로 판단됨

(3) 갈색거저리 유충 발효물 섭취 결과

○ 수행결과 : 갈색거저리 유충 발효물에 섭취에 의한 체중변화



* CON : AIN-76A diet; POSI : Positive diet; 거저리 발효물 : 갈색거저리 유충 발효물

- 갈색거저리 유충 발효물 섭취에 의한 체중변화는 그룹간에 없는 것으로 확인됨.

라) BALB/c 마우스를 활용한 갈색거저리 유충 가공기술에 따른 prebiotic 효능확인

(1) 갈색거저리 유충 허물에 의한 prebiotic 효과

○ 수행결과 : 4주 갈색거저리 유충 허물섭취

[표 85. 4주 갈색거저리 유충 허물섭취 후 장내 균총 수]

시료	총균수 (Log CFU/mL)	대장균군 (Log CFU/mL)	대장균 (Log CFU/mL)	유산균 (Log CFU/mL)
CON	3.3±0.8 ^{ab}	1.9±1.2 ^{ab}	1.9±1.2 ^{ab}	2.9±0.9 ^a
Positive	3.5±0.5 ^a	2.2±0.6 ^a	2.2±0.6 ^a	2.9±0.5 ^a
거저리허물	3.0±0.5 ^b	1.3±1.3 ^b	1.3±1.3 ^b	3.1±0.7 ^a

- 8주 동control과 positive가 거저리허물 보다 유의적으로 높은 대장균군과 대장균 수를 보였음. 유산균수의 경우, 세 시료 모두 유의적인 차이를 보이지 않아, 통계적으로 세 시료간의 유산균수는 같다고 볼 수 있음.

○ 수행결과 : 8주 갈색거저리 유충 허물섭취

[표 86. 8주 갈색거저리 유충 허물섭취 후 장내 균총 수]

시료	총균수 (Log CFU/mL)	대장균군 (Log CFU/mL)	대장균 (Log CFU/mL)	유산균 (Log CFU/mL)
CON	4.1±0.9 ^a	2.0±1.2 ^a	2.0±1.2 ^a	4.7±0.8 ^a
Positive	3.5±0.9 ^{ab}	1.5±0.7 ^a	1.4±0.8 ^a	3.4±0.9 ^b
거저리허물	3.1±0.7 ^b	1.9±0.6 ^a	1.9±0.6 ^a	4.5±0.8 ^a

- 통계적으로 세 시료간의 대장균군과 대장균수는 같다고 볼 수 있음. control과 갈색거저리 유충허물간의 유산균 수에 있어서 유의적인 차이가 없었으며, control과 거

저리 허물사료 섭취군이 positive보다는 유의적으로 높은 유산균 수를 나타내었음.

○ 수행결과 : 갈색거저리 유충허물 농도별 섭취에 의한 효과

[표 87. 갈색거저리 유충 허물 농도별 섭취 후 장내 균총 수]

시료	유산균 (Log CFU/mL)	총균수 (Log CFU/mL)	대장균 (Log CFU/mL)	대장균군 (Log CFU/mL)
5%	5.7±0.9A	3.7±0.5A	2.0±1.3A	2.5±0.8A
10%	5.3±0.6AB	3.5±0.6A	2.1±1.0A	2.2±0.9A
20%	6.0±0.8A	3.6±0.7A	2.1±1.3A	2.0±1.4A
C	4.5±0.7BC	3.6±1.1A	1.5±1.0A	2.0±0.9A
P	4.2±0.8C	3.7±0.7A	2.2±1.2A	2.4±0.8A

- 유산균수에서 5, 10, 20 시료는 유의적 차이가 나타나지 않았고, C, P 시료도 유의적인 차이가 나타나지 않았으며, 5, 10, 20시료는 P시료에 비해 유의적으로 유산균 수가 더 높았음.
- 총균수에서 전체 시료는 유의적 차이가 없었음.
- 대장균수에서 전체 시료는 유의적 차이가 없었음.
- 대장균군수에서 전체 시료는 유의적 차이가 없었음.

(2) 갈색거저리 유충 가수분해물에 의한 prebiotic 효과

○ 수행결과 : 갈색거저리 유충 가수분해물 섭취에 의한 효과

[표 88. 갈색거저리 유충 가수분해물 섭취 후 장내 균총 수]

시료	유산균 (Log CFU/mL)	총균수 (Log CFU/mL)	대장균 (Log CFU/mL)	대장균군 (Log CFU/mL)
C	4.7±0.8aB	3.8±0.6bA	2.0±0.5cA	2.1±0.4cA
P	5.4±0.4aAB	4.1±0.3bA	1.5±1.1cA	1.8±1.3cA
30	5.9±0.8aA	3.9±0.5bA	1.7±0.6cA	2.1±0.4cA
100	5.8±0.9aA	3.9±0.5bA	1.4±0.9cA	1.8±0.7cA

- 유산균수에 유산균수에서 P, 30, 100 시료는 유의적 차이가 나타나지 않았고, C, P 시료도 유의적인 차이가 나타나지 않았으며, C, 100kD, 30kD 시료는 유의적 차이가 나타났음. 100kD, 30kD 시료는 C시료에 비해 유의적으로 높았음.
- 총균수에서 전체 시료는 유의적 차이가 없었음.
- 대장균수에서 전체 시료는 유의적 차이가 없었음
- 대장균군수에서 전체 시료는 유의적 차이가 없었음

(3) 갈색거저리 유충 발효물에 의한 prebiotic 효과

[표 89. 갈색거저리 유충 발효물 섭취 후 장내 균총 수]

시료	유산균 (Log CFU/mL)	총균수 (Log CFU/mL)	대장균 (Log CFU/mL)	대장균군 (Log CFU/mL)
C(장)	3.4±1.2 ^{Bab}	4.5±1.3 ^{BCa}	2.1±1.6 ^{BCDb}	2.1±1.6 ^{BCb}
P(장)	2.2±0.9 ^{Ba}	3.0±1.0 ^{Ca}	0.4±0.5 ^{Db}	0.4±0.5 ^{Cb}
거(장)	3.1±0.5 ^{Bb}	4.4±0.5 ^{BCa}	1.2±0.6 ^{CDc}	1.3±0.4 ^{BCc}
C(분변)	6.4±0.4 ^{Aa}	6.7±0.2 ^{Aa}	4.9±1.2 ^{Aa}	4.9±1.2 ^{Aa}
P(분변)	5.8±0.5 ^{Aa}	5.7±0.5 ^{ABa}	3.1±0.8 ^{ABb}	3.1±0.8 ^{ABb}
거(분변)	5.5±0.3 ^{Aa}	6.1±0.2 ^{Aa}	2.9±0.8 ^{BCb}	2.8±0.5 ^{ABb}

- 시료의 검출한계는 1 CFU/mL 였으며 데이터는 평균±표준편차로 나타내었음.
- 각 데이터 간의 유의성 검증을 위하여 ANOVA 테스트(Tukey HSD)를 실시했으며, 유의수준은 0.05이하이고(P<0.05), 같은 알파벳으로 표기된 데이터는 유의적인 차이가 나타나지 않음.
- 알파벳 소문자는 같은 시료에서의 비교(가로)를, 알파벳 대문자는 군에 따른 시료의 비교(세로)를 나타냄.
- 총균수에서 C(분변),P(분변), 거(분변) 시료 사이에서는 유의적인 차이가 없었지만 C(장), P(장), 거(장) 시료보다 유의적으로 높았음.
- 유산균수에서 C(분변)와 거(분변)시료는 P(분변) 시료와 유의적인 차이는 없었지만 C(장), P(장), 거(장) 시료보다 유의적으로 높았고, 거(분변) 시료는 P(장) 시료보다 유의적으로 높았음.
- 대장균군수에서 C(분변)시료는 P(분변)시료와 유의적인 차이는 없었고 다른 모든 시료들 보다 유의적으로 높았다. P(분변)시료는 거(분변)시료, C(장)시료와 유의적인 차이가 없었고 P(장), 거(장)시료보다 유의적으로 높았다. 거(분변)시료는 C(장), 거(장)시료와 유의적인 차이가 없었고 P(장)시료보다 유의적으로 높았음.
- 대장균수에서 C(분변) 시료는 P(분변), 거(분변)시료와 유의적인 차이가 없었고 C(장), P(장), 거(장) 시료보다 유의적으로 높았다. C(장), 거(장), P(분변), 거(분변) 시료간의 유의적인 차이는 없었고, 거(장) 시료는 P(분변), 거(분변)시료보다 유의적으로 낮았음.
- C(장) 시료에서 총균수는 다른 군들과 유의적인 차이가 없었고, 유산균 수는 대장균군수와 대장균수 보다 유의적으로 높았다. 대장균군수는 대장균수와 유의적인 차이가 없었음.
- P(장) 시료에서 총균수는 유산균수와 유의적인 차이가 없었고, 대장균군수와 대장균수는 유산균과 총균수보다 유의적으로 낮았다. 대장균군수는 대장균수와 유의적인 차이가 없었음.
- 거(장) 시료에서 총균수는 유산균수 보다 유의적으로 낮았고, 대장균군수와 대장균수 보다 유의적으로 높았다. 대장균군수는 대장균수와 유의적인 차이가 없었다.
- C(분변) 시료에서는 모든 군 사이의 유의적인 차이가 없었음.
- P(분변) 시료에서 총균수는 유산균수와 유의적인 차이가 없었고, 대장균군수와 대장균수는 유산균과 총균수보다 유의적으로 낮았다. 대장균군수는 대장균수와 유의적

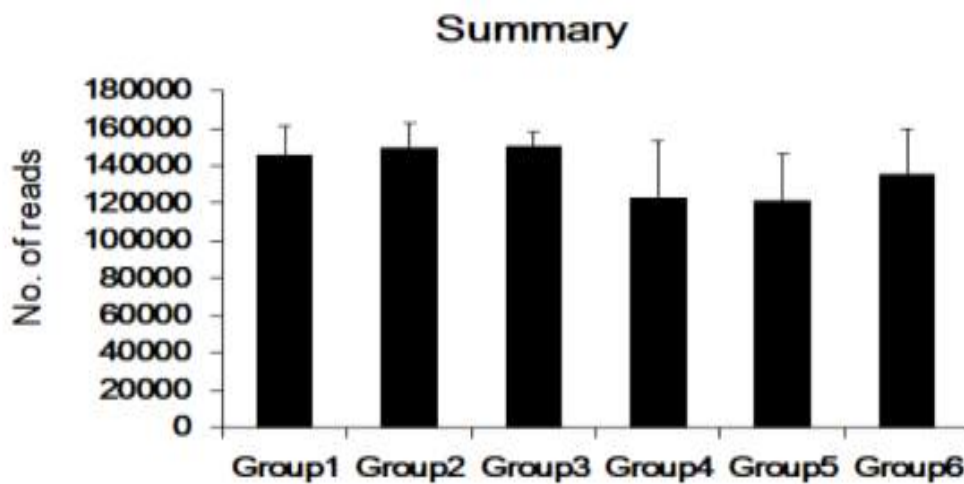
인 차이가 없었음.

- 거(분변) 시료에서 총균수는 유산균수와 유의적인 차이가 없었고, 대장균균수와 대장균수는 유산균과 총균수보다 유의적으로 낮았다. 대장균균수는 대장균수와 유의적인 차이가 없었음.

마) 맹장에서의 차세대염기서열분석(NGS)

(1) 거저리 허물 섭취에 의한 맹장에서의 NGS 분석

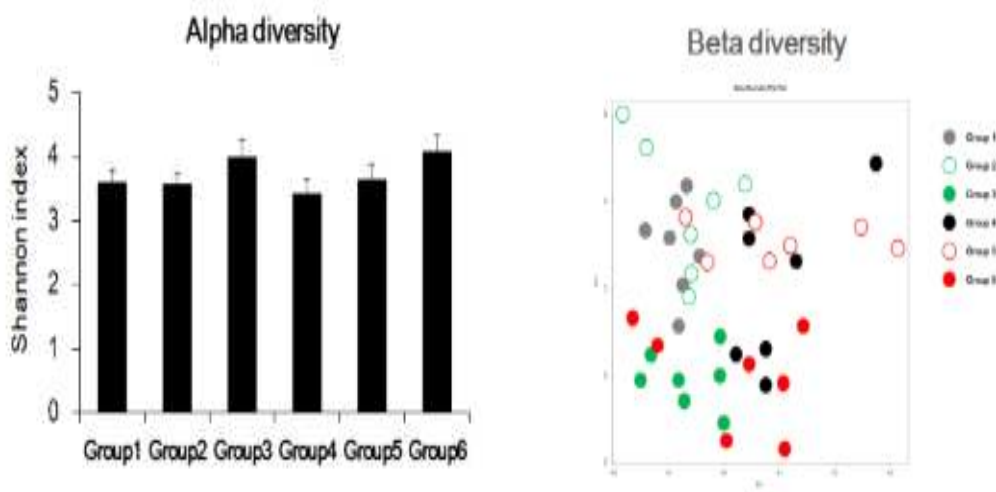
- 수행결과 : NGS 결과 그룹당 평균 137,898 (\pm 22,591) reads를 확보하였으며 그룹당 큰 차이가 없었음.



* Group1~3 : 4주 섭취, Group4~6: 8주 섭취

* Group1,4:AIN-76A diet, Group2,5: positive control diet, Group3,6: 거저리 유충 허물 diet

- 수행결과 : Taxonomy 분석

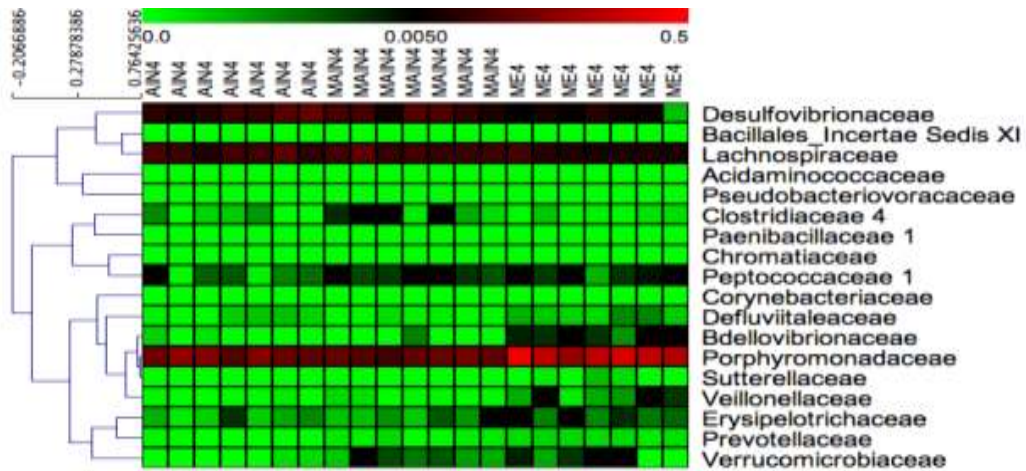


- Taxonomy 분석을 통해 얻은 OUT (operational taxonomic unit) 를 바탕으로 다양성 분석을 실시하였음. Alpha diversity 를 통해 그룹별로 그 박테리아 다양성이

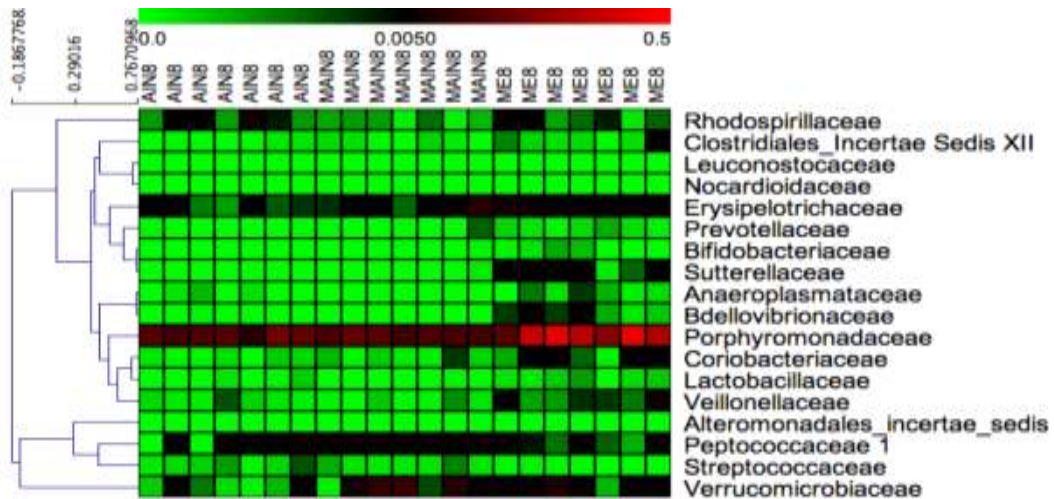
큰 차이가 없음을 확인하였으나, beta diversity를 통해 그 다양성의 구성이 차이가 있음을 확인하였음.

○ 수행결과 : Family bacteria relative abundances 비교

[Family bacteria relative abundances (4 weeks)]



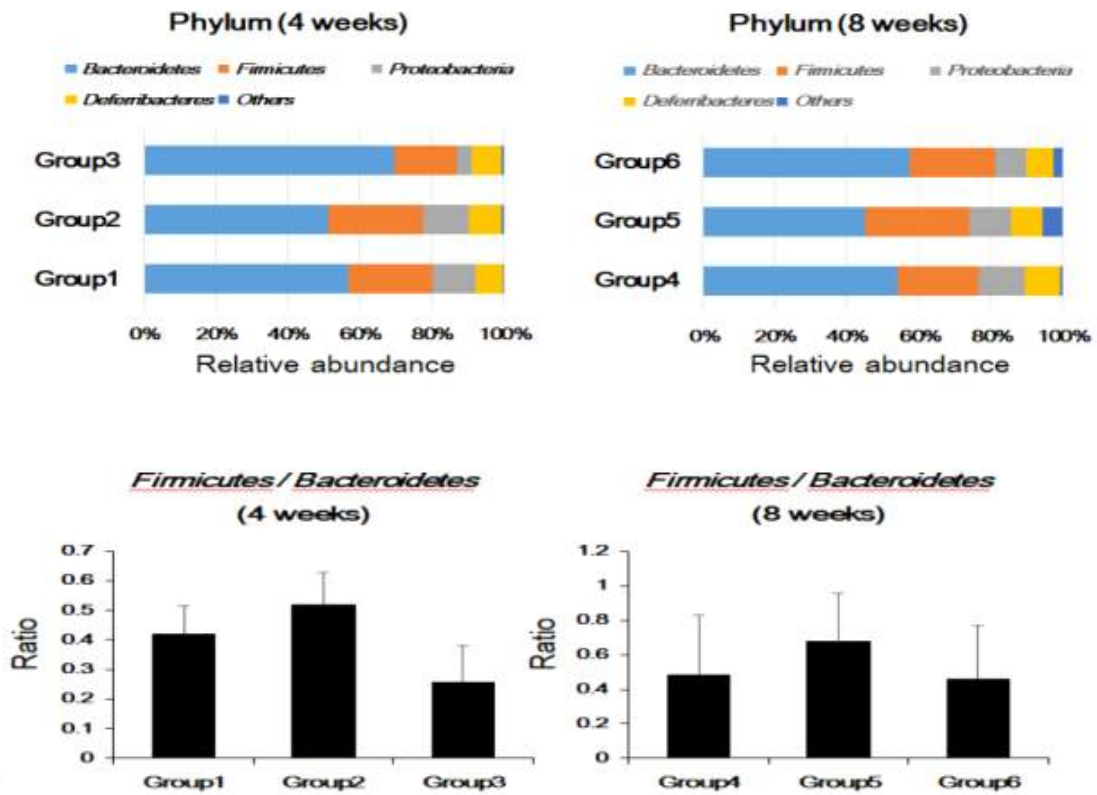
[Family bacteria relative abundances (8 weeks)]



AIN4: Group1, MAIN4: Group2, ME4: Group3
 AIN8: Group4, MAIN8: Group5, ME8: Group6

- 갈색거저리 유충 허물을 먹인 군에서 증가 또는 감소한 균을 4주, 8주로 나누어 각각 통계 분석한 결과 family 수준에서는 모두 18개 씩 유의한 변화를 보였음(이해 안감). 이 중, Porphyromonadaceae, Erysipelotrichaceae, Veillonellaceae, Sutterellaceae, Bdellovibrionaceae 등이 많은 비율을 차지하였고, 특히 4주 식이 급여 그룹에 존재하였던 Verrucomicrobiaceae, Desulfovibrionaceae 는 감소하였고 Sutterellaceae는 증가 하였음.

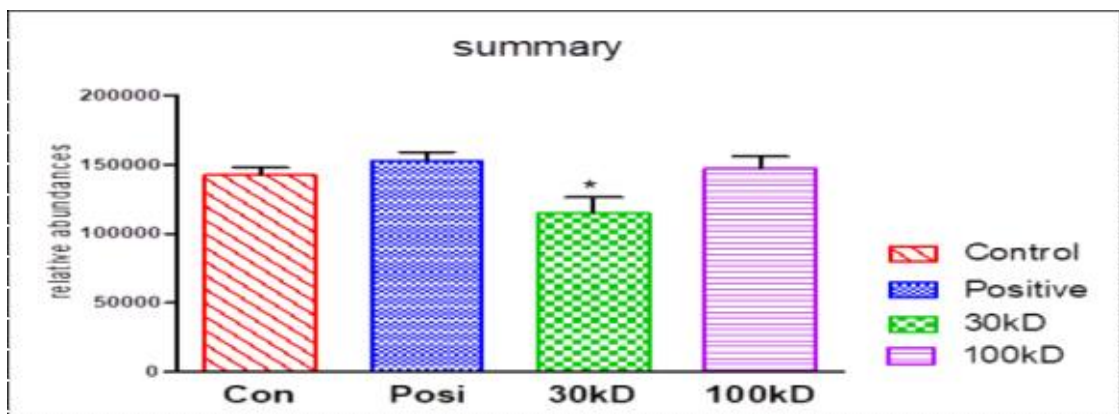
[Phylum Bacteroidetes균과 Firmicutes균 상관관계 비교]



- 갈색거저리 유충 허물을 먹인 군에서 다른 군에 비해 Phylum Bacteroidetes가 증가되었고, Firmicutes가 감소하는 경향을 보임. 이는 일반적으로 비만에서 나타나는 현상과 반대되는 결과를 보임.

2) 거저리 가수분해물 섭취에 의한 맹장에서의 NGS 분석

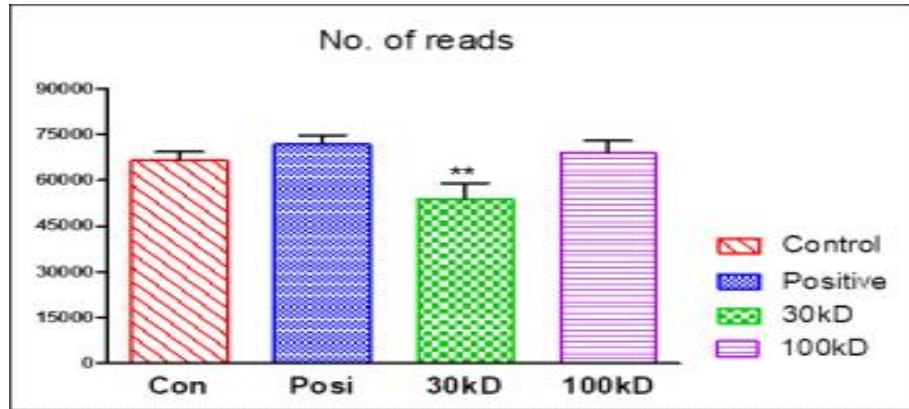
○ 수행결과: NGS groups reads



- NGS groups reads 그룹 당 평균 139,432 ($\pm 28,940$) reads를 확보함.
- #p<0.05, ##p<0.01, ###p<0.001 compared with control

*p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001 compared with Positive

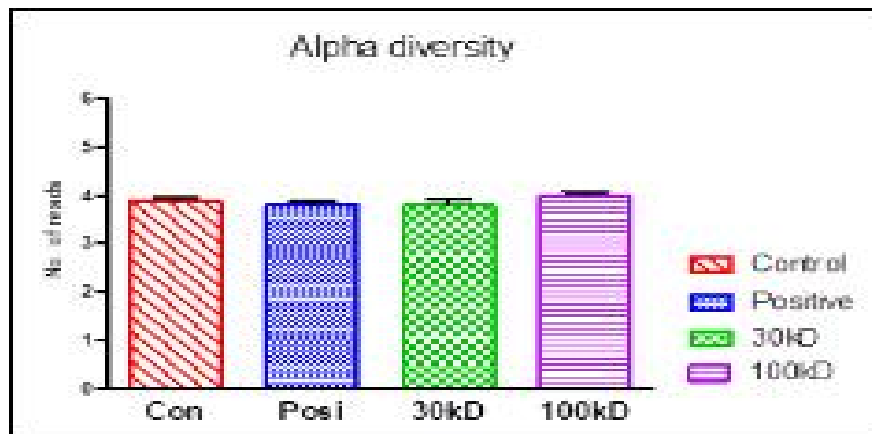
○ 수행결과: NGS Pre-pressecing result



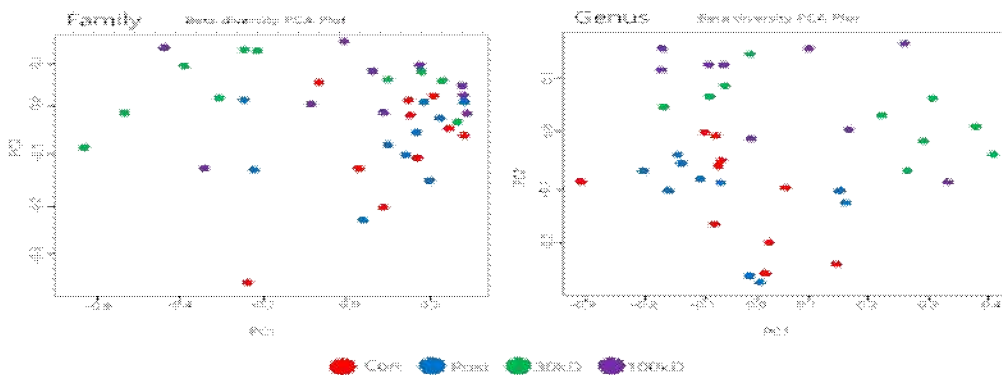
- 그룹 당 평균 65,312 ($\pm 13,631$) reads를 확보하여 신뢰성을 확보함.

○ 수행결과: Taxonomy 분석

- Taxonomy 분석을 통해 얻은 OTU(operational taxonomic unit)를 바탕으로 다양성 분석을 실시 Alpha diversity를 통해 그룹별로 그 박테리아 다양성 확인

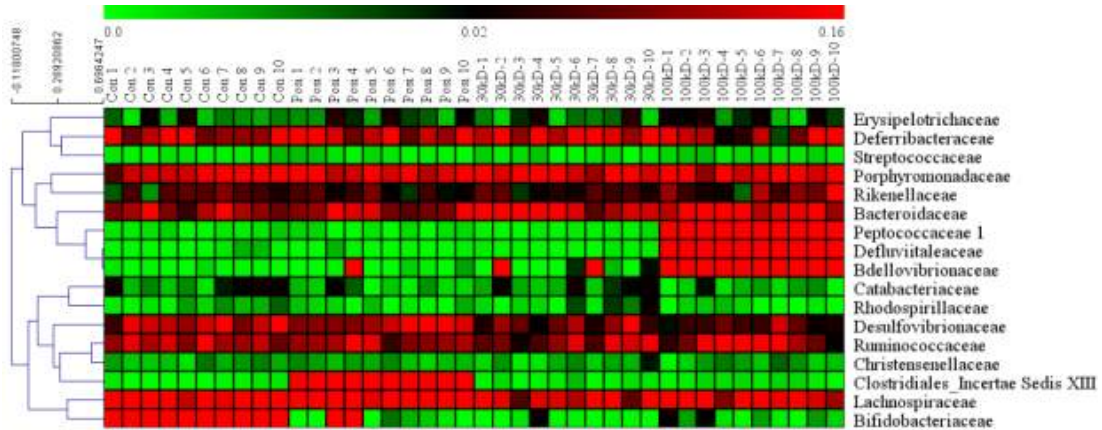


- beta diversity를 통해 그 다양성의 구성이 차이를 확인

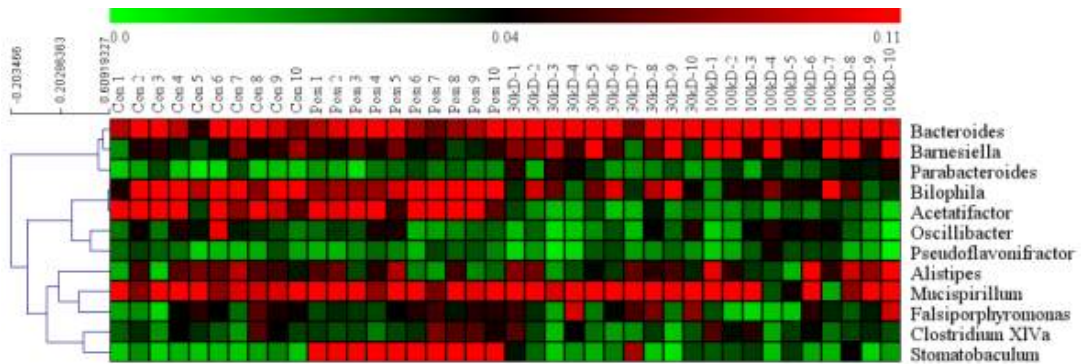


- Taxonomy 분석을 통해 얻은 OTU(operational taxonomic unit)를 바탕으로 다양성 분석을 실시하였다. Alpha diversity를 통해 그룹별로 그 박테리아 다양성이 큰 차이가 없음을 확인하였지만, beta diversity를 통해 Genus 단계에서는 그 다양성의 구성이 차이가 있음을 확인하였음

○ 수행결과: Family bacteria relative abundances 비교

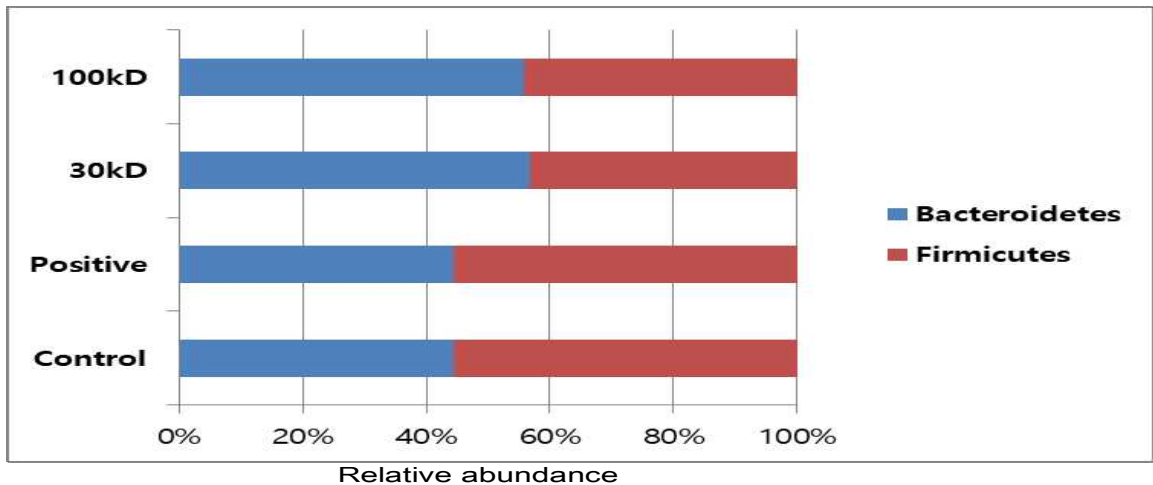


○ 수행결과: Genus bacteria relative abundances 비교



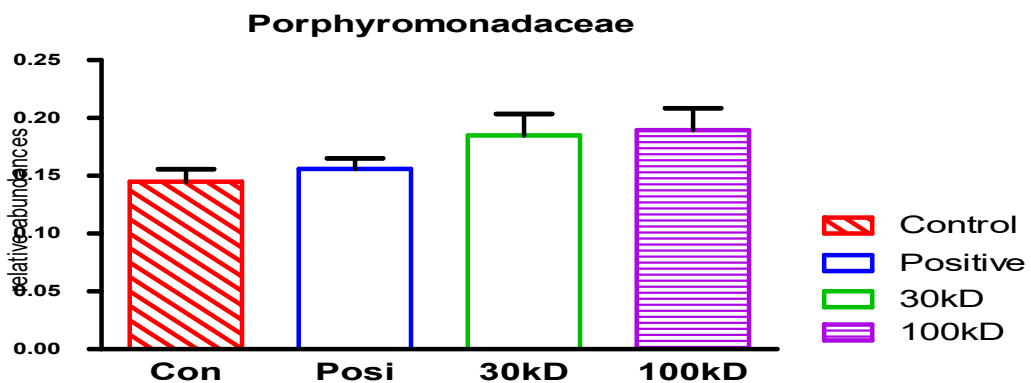
- Heat map 분석 결과 Family 단계에서 Porphyromonadaceae, Lachnospiraceae 등이 많은 비율을 차지하였고, Bifidobacteriaceae는 Control 그룹에서 많은 비율을 보였다. Genus 수준에서 Bacteroides, Mucispirillum이 많은 비율을 보였으며, Positive 그룹에서 Stomatobaculum이 많은 비율을 보였다.

○ 수행결과: 통계 자료 분석



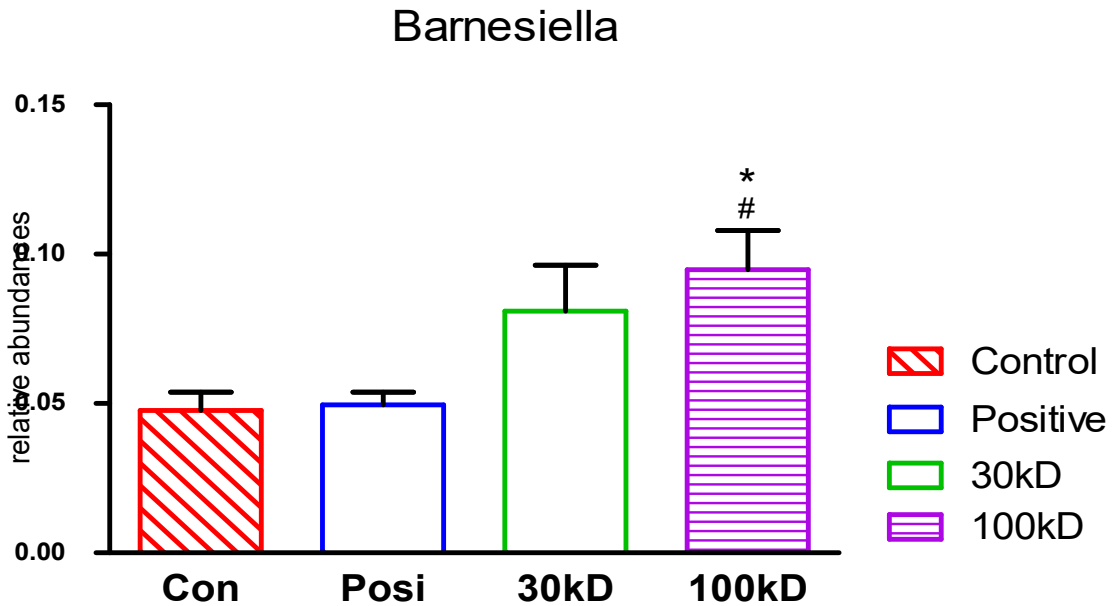
[Phylum-Bacteroidetes 균과 Firmicutes 균 상관관계 비교]

- 수행결과 : 장내 미생물 불균형은 병원균이 대장 벽에 침투 하는 것을 막지 못하는 데, 정상인과 비교했을 때 과민성 대장 증후군 환자의 마이크로바이오타는 Ruminococcus, Clostridium, Dorea를 포함해 Firmicutes가 증가한 반면 Bifidobacterium과 Gaecalibacterium은 현저하게 감소하였으며, 일반적으로 의간 균인 Bacteroidetes에 대한 장내 후벽균인 Firmicutes 비율이 높은 것이 큰 특징이다. Firmicutes/Bacteroidetes 비율은 장내 세균총의 다양성이 감소 및 증가 되었다는 지표로 사용되고 있으며 2006년 nature journal을 보면 고도비만 환자가 체중을 감량함에 따라 Phylum의 Firmicutes과 Bacteroidetes 분포에 대해 발표한 연구결과가 있다. 이 연구에서 고도비만 환자는 당초 Firmicutes가 전체의 90%를 차지했지만 체중 감량 12주 후에는 Firmicutes가 소폭 감소하고 거의 없던 Bacteroidetes는 10%로 증가했다.



- 본 연구에서는 갈색겨저리 유충 가수분해물 30kD 군에서 Control (0.311 ± 0.063) 군에 비해 Bacteroidetes (0.412 ± 0.115)가 약 12.4% 증가하였고, Firmicutes (0.313 ± 0.062)는 약 12.4% 감소하는 경향을 보였다. 갈색겨저리 유충 가수분해물 100kD 군에서도 마찬가지로 Control (0.39 ± 0.07) 군에 비해 Bacteroidetes (0.449 ± 0.073)가 약 11.4% 증가 Firmicutes (0.356 ± 0.069)가 약 11.4% 감소하는 경향을 보였다. 장내에서 또는 장 조직에 붙어서 공생하는 마이크로바이옴은 음식

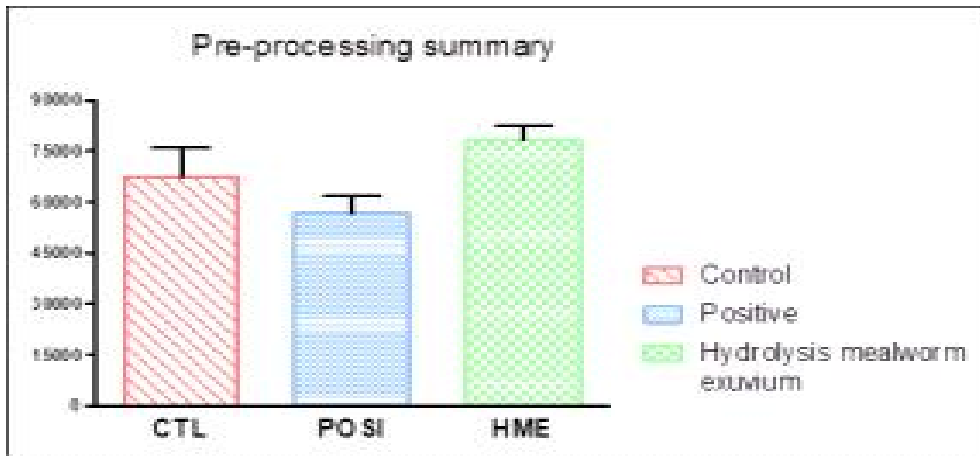
과 인체에서 소화하는 과정에서 대사물질을 생성하며, 이것은 다른 미생물들과의 상호작용을 통해 인체의 면역체계, 대사, 신경계, 뇌 행동 발달 조절 등 다양한 부분에 작용하여 인체 건강에 영향을 끼치는 것으로 알려져 있다. 장내 마이크로바이옴은 질병과도 깊은 관련성이 있는 것으로 밝혀져 최근 많은 마이크로바이옴 연구가 진행되고 있고 그 중 식용 곤충의 한 종류인 갈색 거저리의 유충인 밀웜은 최근 기능성 소재로 질병과 연구하여 많은 연구를 하고 있고 이 중 마이크로바이옴 상관관계 기초 연구에 대한 필요성이 제시되고 있다.



- 수행결과 : 갈색거저리 유충 가수분해물 8주 섭취 후 맹장에서의 NGS 분석결과 family 그룹에서는 Porphyromonadaceae, Bacteroidetes Lachnospiraceae 군주가 증가하였다. 증가 군주 중 가수분해 거저리 섭취 동물 그룹에서 가장 많은 비율을 차지하는 family 미생물 군주인 Porphyromonadaceae는 건강한 성인에서 많이 발견되는 군으로 분석결과 통계적으로 유의성은 보이지 않으나 30kD(0.185±0.058), 100kD(0.189±0.06) 두 군에서 Control(0.145±0.031) 군보다 약 22%정도 늘어나는 경향을 보이고 있으며 특히, Porphyromonadaceae의 genus에 속한 군주인 Barnesiella는 항염증 작용을 보이며 항생제 내성 균을 저해하는 효과가 있다고 알려져 있는 것으로 가수분해 거저리 군인 30kD(0.081±0.048)와 100kD(0.095±0.041) 에서 Control(0.048±0.019) 군보다 약 40% 늘어나는 경향을 알 수 있으며, 100kD 군에서는 약 48% 증가하여 유의성 있는 결과가 확인되었다.

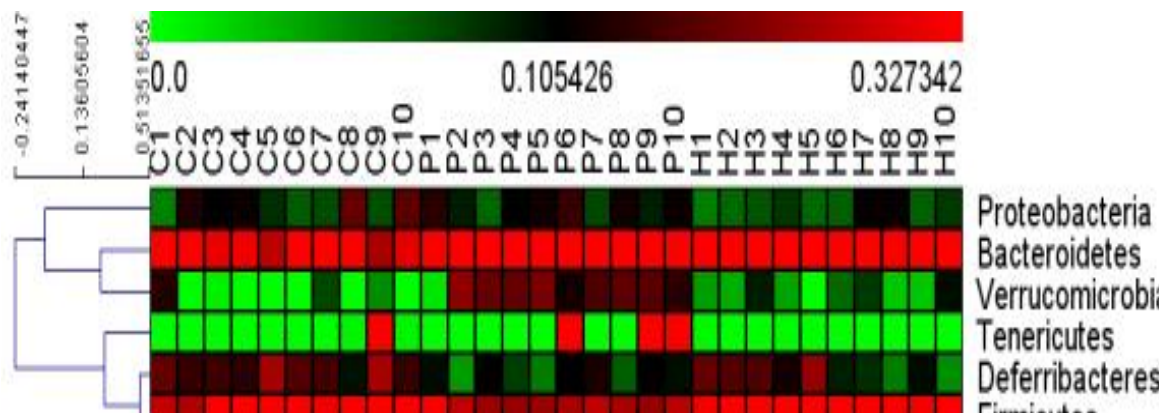
(3) 갈색거저리 유충 발효물 섭취에 의한 맹장에서의 NGS 분석

- 수행결과: NGS groups reads



- 그룹 당 Control 67583.8 ± 26487, Positive 56627.6 ± 16525.7, HME 78373.3 ± 13042.5 reads를 확보하여 신뢰성을 얻음.

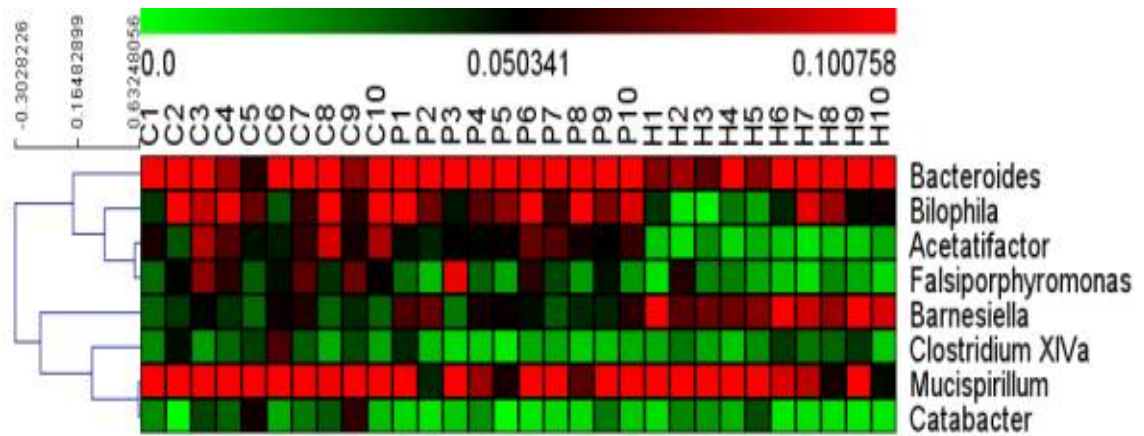
○ Phylum bacteria relative abundances



○ Family bacteria relative abundances



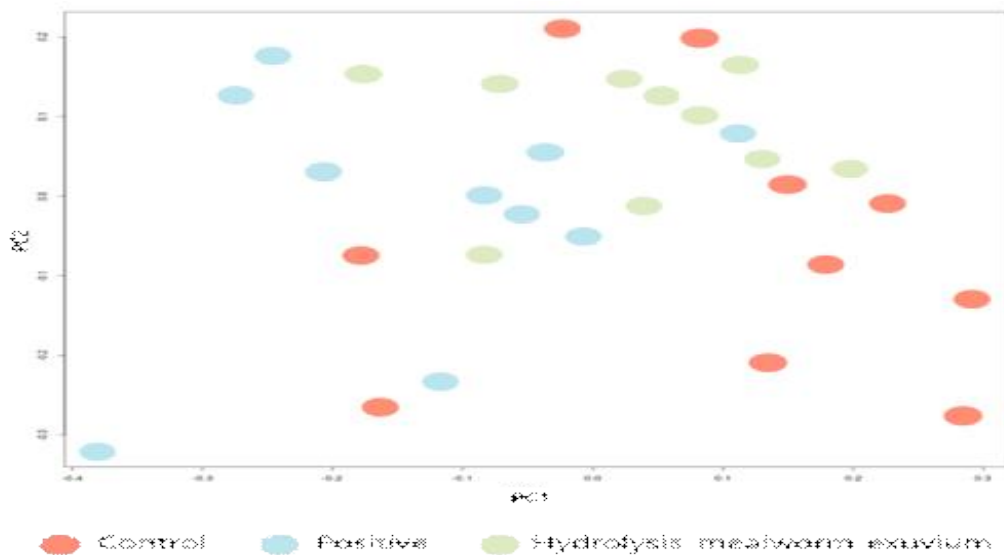
○ Genus bacteria relative abundances



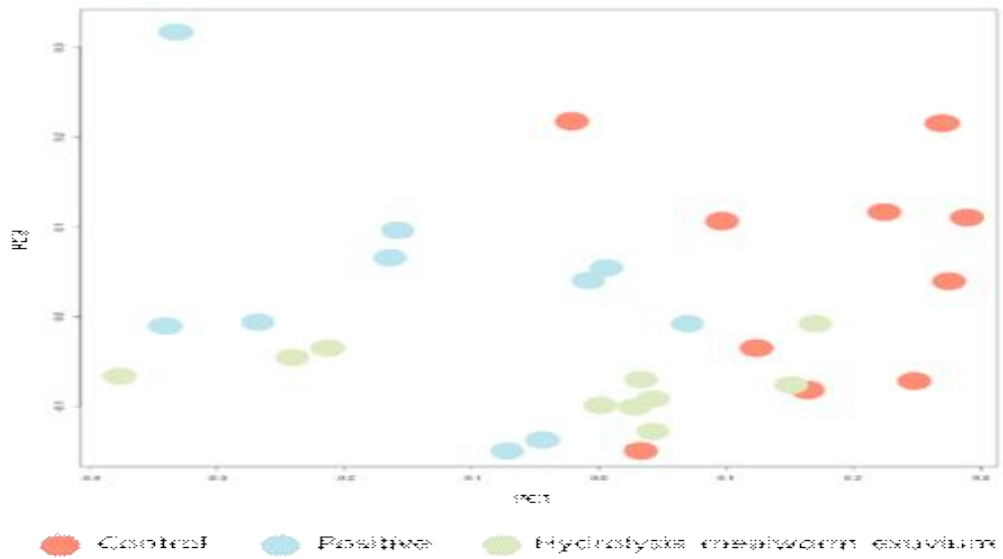
- Heat map 분석 결과 Genus 단계의 모든 군에서 Bacteroidetes, Firmicutes 군들이 많은 비율을 차지하는 것을 확인하였다. Family 단계에 HME 군에서 Porphyromonadaceae, Lachnospiraceae 등이 많은 비율을 차지하였고, Positive 군에서는 Bacteroidaceae와 Verrucomicrobiaceae 군이 Control 군에서는 Lachnospiraceae 군주가 많은 비율을 보였다. Genus 단계에서는 특히 Positive 군에서 Bacteroides 군이 많은 비율을 차지하였다.

○ Beta-diversity

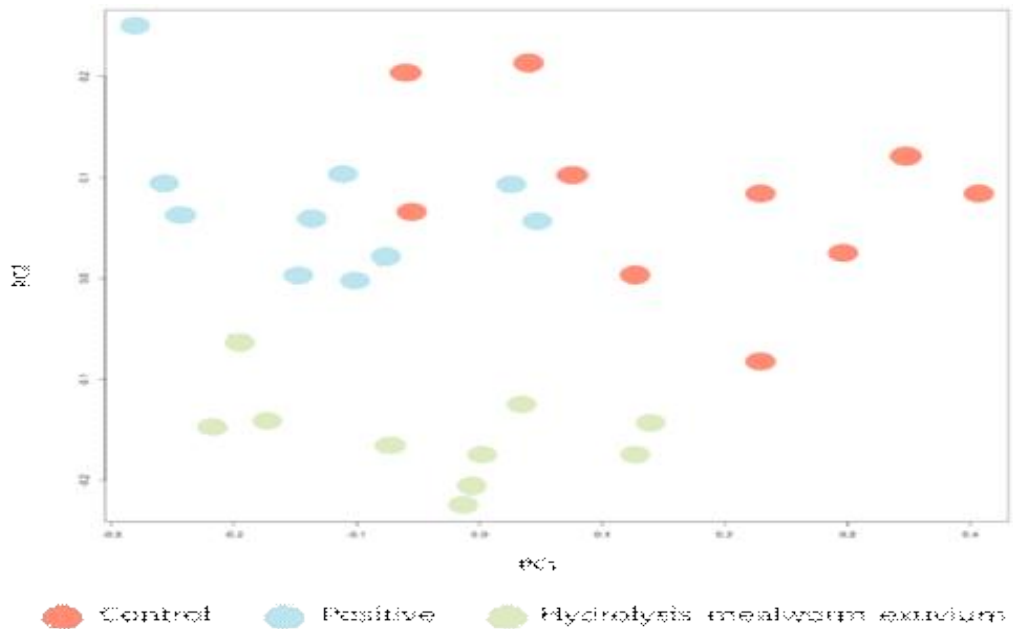
- Phylum Beta-diversity PCA Plot



- Family Beta-diversity PCA Plot

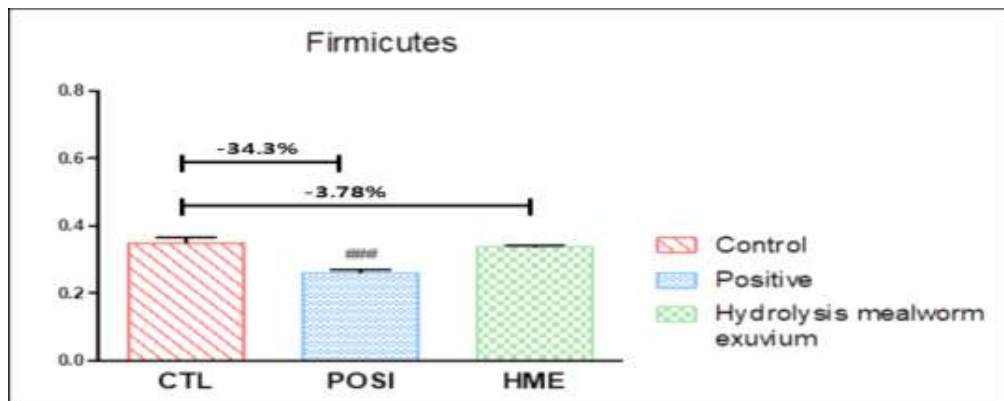
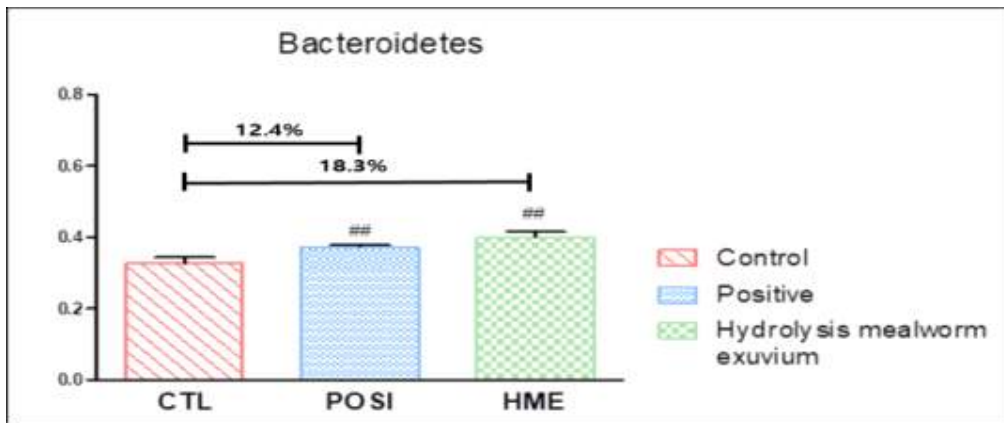
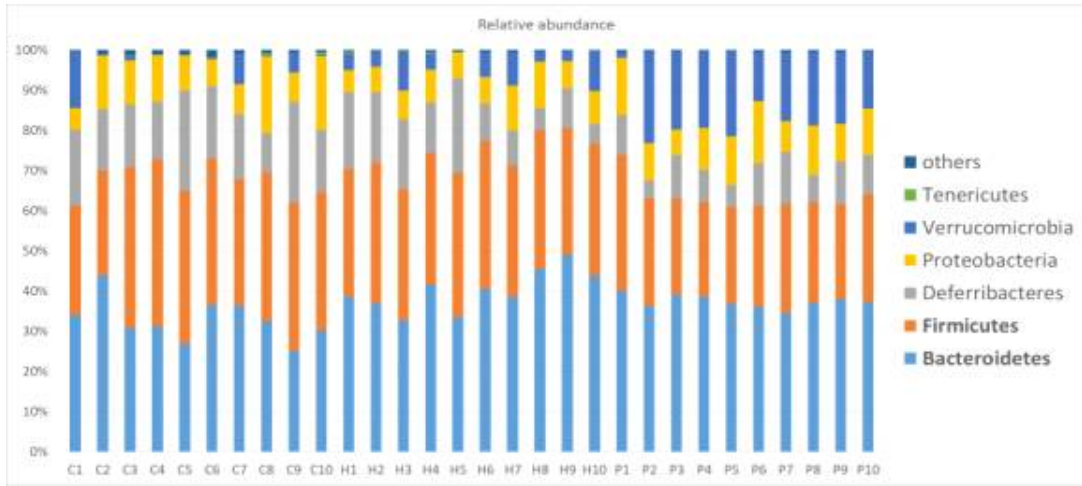


- Genus Beta-diversity PCA Plot



- Taxonomy 분석을 통해 얻은 OTU(operational taxonomic unit)를 바탕으로 다양성 분석을 실시하였다. Alpha diversity를 통해 그룹별로 그 박테리아 다양성이 큰 차이가 없음을 확인하였지만, beta diversity를 통해 Genus 단계에서는 그 다양성의 구성이 차이가 있음을 확인하였음.

[Phylum- Bacteroidetes 균과 Firmicutes 균 상관관계 비교]



Statistical analyses were done by t-Test and Manna-Whitney test.

##p<0.01 and ###p<0.001 compared with Control vs Positive vs HME

- 수행결과 : Firmicutes/Bacteroidetes 비율은 장내 세균총의 다양성이 감소 및 증가 되었다는 지표로 사용되고 있으며 2006년 nature journal을 보면 고도비만 환

자가 체중을 감량함에 따라 Phylum의 Firmicutes과 Bacteroidetes 분포에 대해 발표한 연구결과가 있다. 이 연구에서 고도비만 환자는 당초 Firmicutes가 전체의 90%를 차지했지만 체중 감량 12주 후에는 Firmicutes가 소폭 감소하고 거의 없던 Bacteroidetes는 10%로 증가했음.

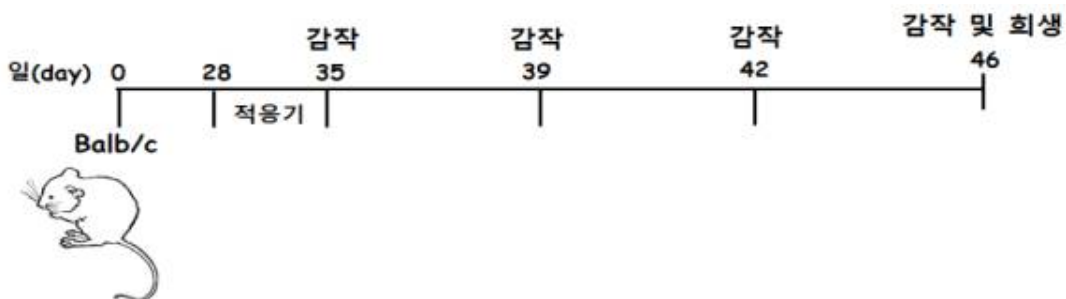
- 본 연구에서는 HME군에서 Control군 (0.327 ± 0.05)에 비해 Bacteroidetes (0.4 ± 0.05)가 약 18.3% 증가하여 통계학적으로 유의성 있는 결과를 확인하였고, Positive군(0.373 ± 0.05)에서도 마찬가지로 Control군과 비교하여 약 12.4% 증가함을 확인 할 수 있었다. Firmicutes 군주는 Control군(0.349 ± 0.05)에 비해 HME군($0.336 \pm$)에서 약 3.78% 감소하는 경향을 보였고, Positive군 (0.260 ± 0.03)에서는 Control군과 비교하여 약 34.3% 감소하여 유의성 있는 결과를 확인 할 수 있었음.

2) 갈색거저리 유충 전처리 가공기술에 따른 항알러지 영향 평가

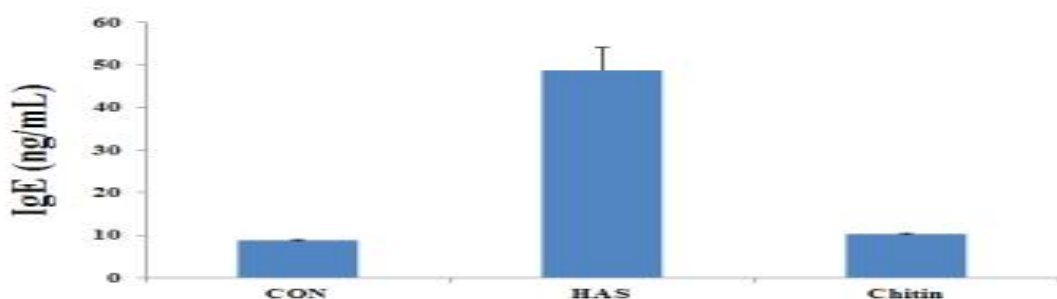
가) BALB/c 마우스를 활용한 갈색거저리 유충 가공기술에 따른 항알러지 효능 확인

(1) 알러지 동물모델 개발

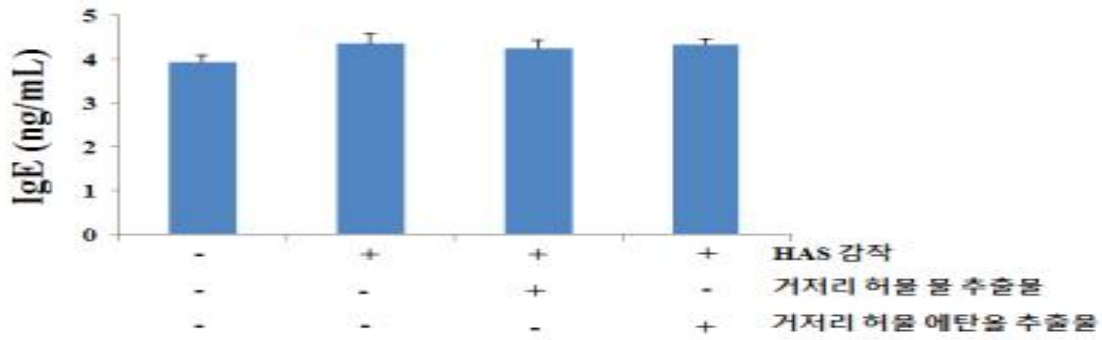
- 수행목적 : 동물을 활용한 식품활용 알러지 감작 모델은 아직까지 개발되어 있지 않음. 따라서 본 실험에서 HSA 및 chitin을 활용하여 식품의 알러지 검증을 위한 알러지 동물모델을 개발하려 함.



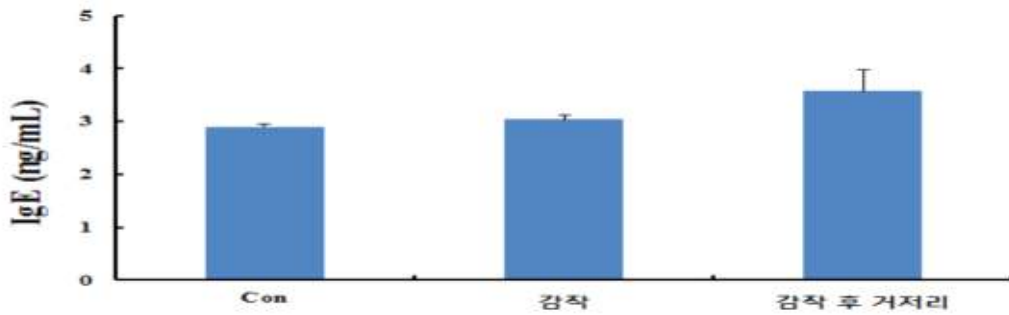
- 수행결과 : 마우스에서의 알러지 반응을 확인하기 위해 위의 그림과 같은 방법으로 human serum albumin (HSA) 및 Chitin을 이용하여 마우스에 4회 감작 후 희생하여 얻은 혈액으로 IgE의 농도를 확인하였음.



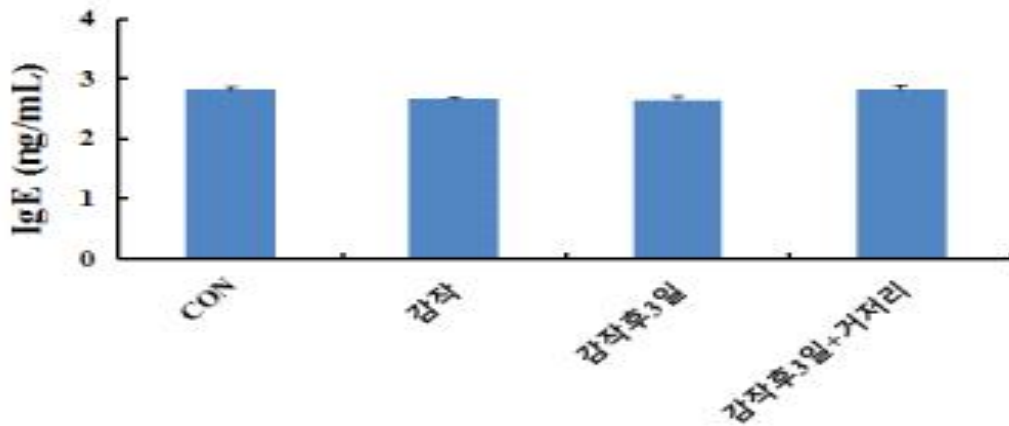
- Mealworm위의 그래프와 같이 control에 비해 HSA 감작에 의해 IgE가 증가되는 것으로 보아 HSA감작에 의해 알러지 반응이 일어남을 확인하였음.



- HSA 감작에 의해 IgE 가 증가된 결과를 토대로 거저리허물 추출물을 경구 투여하기 위해 추출물 투여군은 하루전날 HSA 감작을 진행하였고, 해부 당일에 거저리 허물 물 및 에탄올 추출물을 경구 투여하여 실험동물을 희생함. 위의 그래프와 같이 HSA 감작에 의해 IgE 가 증가 되는 것을 확인하였으나 추출물 처리에 의한 변화를 보이지 않아 실험디자인을 변경하기로 함.

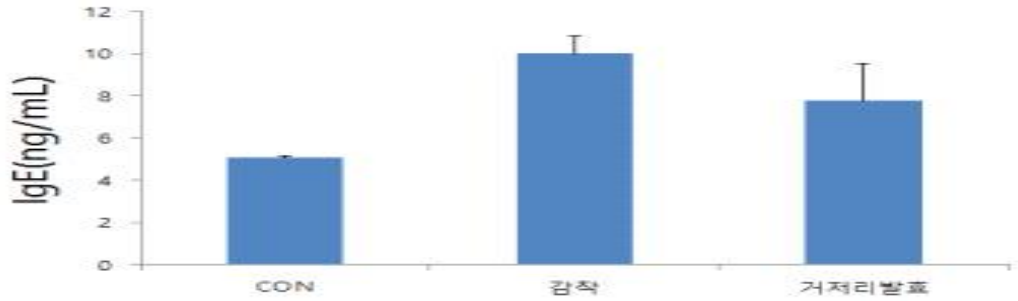


- 감작 후 3일 뒤에 control 수준으로 IgE 농도가 떨어지는 것을 확인하였고 경구 투여한 거저리 물 추출물에서 IgE의 농도가 다시 증가하는 것을 확인하였음. 물질의 알러지 반응을 테스트하기 위해서는 감작 후 3일 뒤 control 수준으로 IgE 가 내려왔을 때 경구투여로 실험해야 될 것으로 판단됨



- 앞선 실험에서 감작에 의한 영향을 확인할 수가 없어 재 실험을 수행한 결과 감작에 의한 증가는 나타나지 않았으며 감작 후 3일과 거저리 경구투여에 의한 결과는 앞선 결과와 같은 것으로 판단되나 감작의 농도를 다시 수행하여야 될 것으로 판단됨
- 5주령 Balb/c를 1주일간 환경에 적응시킨 후 3일 간격으로 HSA로 피하에 감작

시킴. 최종일에는 감작 군만 감작시키고 거저리유충 발효물을 경구투여 후 1시간 뒤에 혈액을 채취하여 IgE를 확인함



- 거저리유충 발효물 경구투여시 IgE 수준이 감소하는 경향을 보이나, 유의적 차이를 보이지 않아 알러지를 억제 하지는 않는 것으로 판단됨
- (2) 알러지 인덱스 개발을 위한 일반사료 및 알러지 저감사료의 알러지 반응 확인
- 실험 방법 : 5주령 Balb/c를 1주일간 환경에 적응시킨 후 3일 간격으로 HSA로 피하에 감작시킴. 최종일에는 감작 군만 감작시키고 일반 및 저감사료 물 추출물을 경구투여 후 1시간 뒤에 혈액을 채취함. 그리고 HSA는 PBS에 녹인 후 Alum 과 1:1로 희석하여 사용함

[표 90. HSA 감작 : -, + 로 표시, HSA 농도: 200 ug/ml]

Days	0 day	3 day	6 day	9 day (해부)
Control	-	-	-	-
감작그룹	+	+	+	+
경구 투여 그룹 (사료추출물)	+	+	+	-

○ 수행 결과 : 1차 실험 결과

[표 91. 혈중 IgE 함량]

	CON	감작	저감사료	일반사료
1	5.907181	15.12094	7.119685	7.483915
2	5.907181	12.07044	5.398063	9.375289
3	5.888197	6.579778	5.201896	7.943113
4	5.945332	16.89693	6.916388	10.87151
평균	5.911973	12.66702	6.159008	8.918457
표준오차	0.011986	2.260609	0.499302	0.765524
감작군 대비 유의성	O		O	X

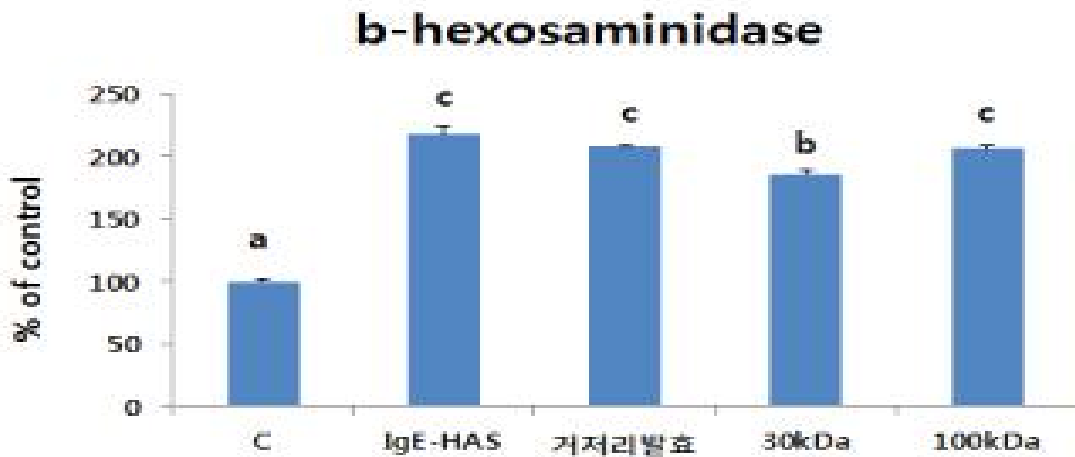
○ 수행 결과 : 2차 실험 결과

[표 92. 혈중 IgE 함량]

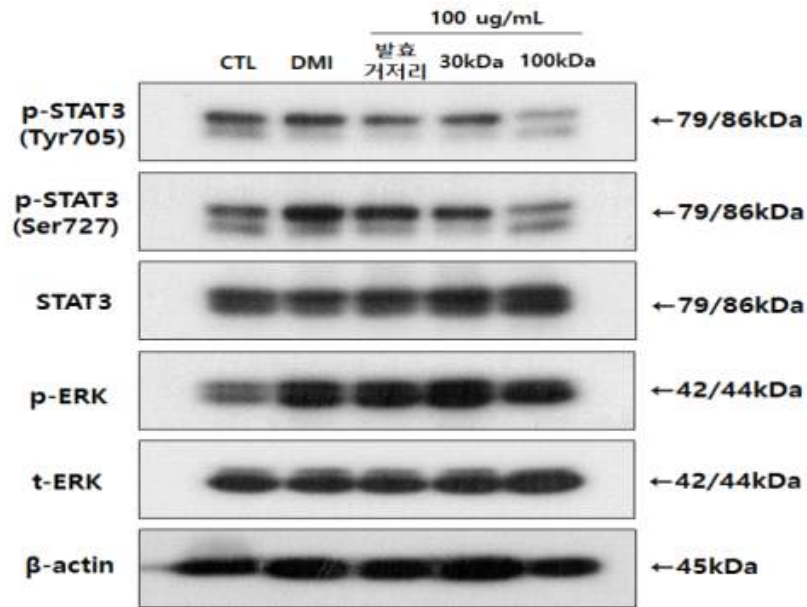
	CON	감작	저감사료	일반사료
1	4.8888	10.0057	7.9104	8.6983
2	5.3241	6.6697	5.8545	9.4121
3	4.9442	8.7264	7.1018	11.1091
4	5.1307	8.8822	8.4909	9.8301
5	5.2476	11.8097	7.9359	13.9391
6	5.0650	10.5345	8.1037	6.2942
7	4.8496	13.2181	5.7333	9.7043
평균	5.0643	9.9780	7.3043	9.8553
표준오차	0.0685	0.8147	0.4204	0.8795
감작군 대비 유의성	O		O	X

- 거저감작 그룹에 비해 저감사료 군에서는 알러지의 지표인 IgE 농도가 유의적으로 감소하였으며, 일반사료 군에서는 감작그룹과 비교하여 유의적 차이가 없는 것을 확인함.
- 1, 2차 실험 결과는 알러지 관련 동물 모델이 확립된 것으로 판단됨.

나) RBL-2H3 세포를 활용한 갈색거저리 유충 가공기술에 따른 항알러지 효능 확인



- 수행 결과 : RBL-2H3세포에 갈색거저리 유충 발효물 및 갈색거저리 유충 가수분해물을 처리하여 알러지 지표로 사용되는 β -hexosaminidase를 확인한 결과 갈색거저리 유충 가수분해물(30kDa)에서 β -hexosaminidase의 감소를 확인하여 알러지 억제에 도움을 줄 수 있는 것을 확인함



○ 수행 결과 : RBL-2H3세포에 갈색거저리 유충 발효물 및 갈색거저리 유충 가수분해물을 처리하여 알러지 반응의 기전을 확인하기 위하여 pERK 및 pSTAT(Tyr705, Ser727)의 변화를 확인하였음. pERK의 경우 하위 기전인 NF/kB의 전사인자에 영향을 주어 알러지 관련 단백질들의 분비를 감소 시킬 수 있으며, pSTAT의 경우 직접적으로 전사인자로 작용하여 알러지 관련 단백질의 분비를 감소 시킬수 있음. 위의 결과를 보면 거저리 유충 발효물의 경우는 pERK 및 pSTAT3의 단백질 변화에 아무런 영향을 미치지 않았음. 거저리 유충 가수분해물의 경우는 pERK 및 pSTAT3의 단백질 발현을 감소시킴으로 알러지 관련 단백질 분비를 감소 시킬것으로 예상됨.

다) BALB/c 마우스 혈액 내 chemokine과 cytokine 그리고 interleukin 분비 확인

[표 93. 거저리 허물 섭취에 의한 혈액내 알러지 지표 변화]

	IL13	IL17A	IL23	IFN γ	TNF α	TGF β 1
CON	1 \pm 0.02	1 \pm 0	1 \pm 0.05	1 \pm 0.01	1 \pm 0.03	1 \pm 0.01
POSI	3.1 \pm 0.05	1.03 \pm 0	0.99 \pm 0.01	0.89 \pm 0.01	0.94 \pm 0.01	1.07 \pm 0.01
5%	0.9 \pm 0	1.03 \pm 0.01	0.72 \pm 0.01	0.98 \pm 0	1.11 \pm 0.03	0.95 \pm 0.01
10%	0.94 \pm 0	1.01 \pm 0.01	0.69 \pm 0.01	0.94 \pm 0.01	0.9 \pm 0.02	1.01 \pm 0.01
20%	0.97 \pm 0.01	0.73 \pm 0	0.7 \pm 0.01	0.91 \pm 0.01	0.88 \pm 0.02	0.96 \pm 0.01

[표 94. 갈색거저리 유충 발효물 섭취에 의한 혈액내 알러지 지표 변화]

	IL2	IL4	IL5	IL6	IL10	IL12
CON	1 \pm 0.03	1 \pm 0.02	1 \pm 0	1 \pm 0.06	1 \pm 0.01	1 \pm 0.02
POSI	0.97 \pm 0.01	0.95 \pm 0.01	0.88 \pm 0.01	0.77 \pm 0.01	0.91 \pm 0.01	0.84 \pm 0

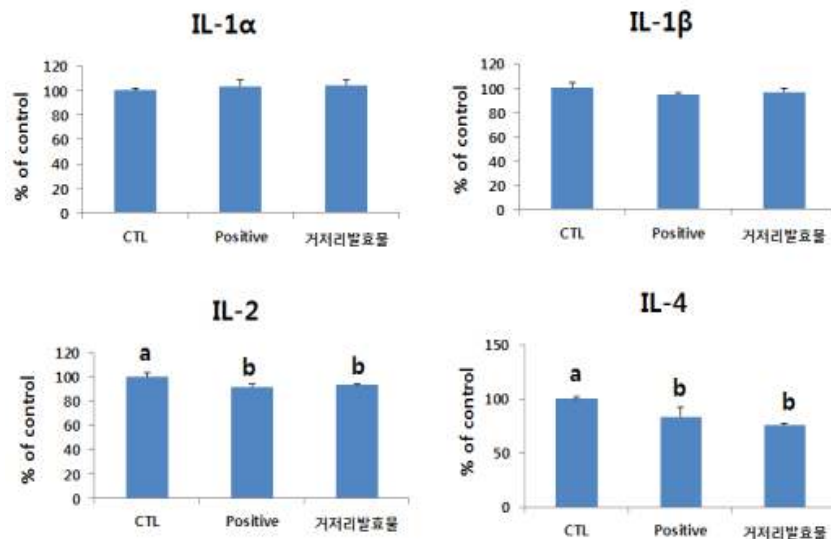
5%	0.92±0.01	0.81±0.01	0.98±0.01	1.22±0.01	1.02±0	0.89±0.01
10%	0.94±0.01	0.93±0.01	0.92±0	0.95±0	0.97±0.01	1.07±0
20%	0.93±0	0.86±0.01	0.85±0.01	0.68±0.01	0.95±0	0.89±0.01

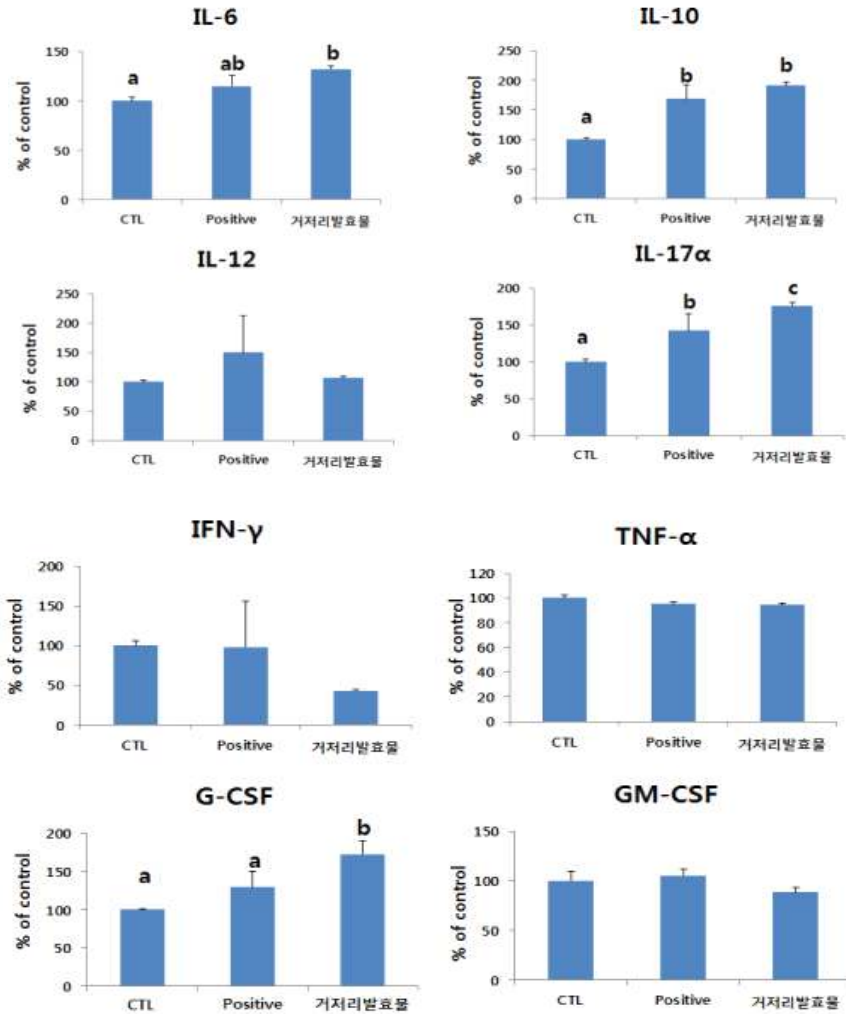
○ 수행 결과 : 알리지 반응에 의해 증가될 수 있는 사이토카인들을 확인한 결과 8주간의 거저리허물의 농도별 섭취에 의해서는 조사한 12종의 사이토카인들의 변화가 없는 것을 관찰하였다. IL-6, IL17A, IL-23, TNF α 의 경우에는 Control그룹에 비해 유의적으로 사이토카인 수준이 감소하는 것으로 보아 알리지 반응이 일어나지 않은 것으로 판단됨.

[표 95. 갈색거저리 유충가수분해물 섭취에 의한 혈액내 알리지 지표 변화]

	IL2	IL4	IL5	IL6	IL10	IL12	IL13	IL17A	IL23	IFN γ	TNF α	TGF β 1
Con	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
Posi	109.8	111.8	113.5	93.7	89.4	103.9	90.2	103.8	83.3	102.0	100.0	96.8
30	103.9	103.9	101.9	94.9	78.8	105.9	54.9	103.8	67.9	98.0	100.0	103.2
100	103.9	103.9	105.8	97.5	102.4	105.9	53.3	101.9	73.1	116.0	107.7	101.6

○ 수행 결과 : 알리지 반응에 의해 증가될 수 있는 사이토카인들을 확인한 결과 8주간의 가수분해 거저리 섭취에 의해서는 IL-10, IL-13, IL-23의 경우에는 Control그룹에 비해 유의적으로 사이토카인 수준이 감소하는 것으로 보아 알리지 반응이 일어나지 않은 것으로 판단됨.

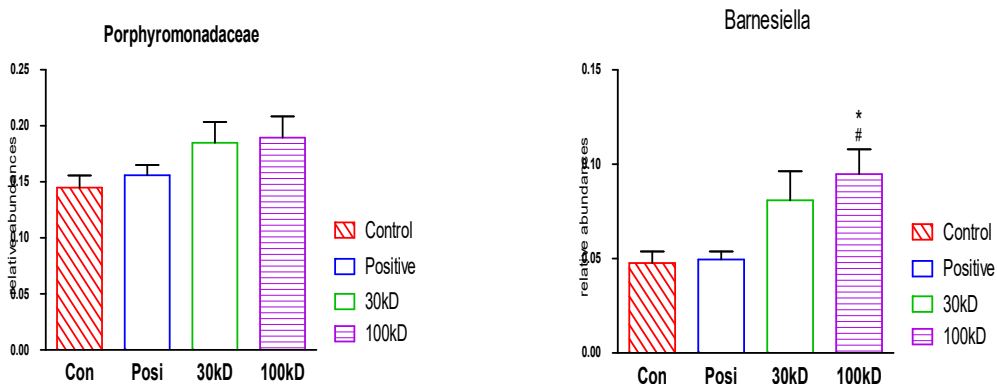




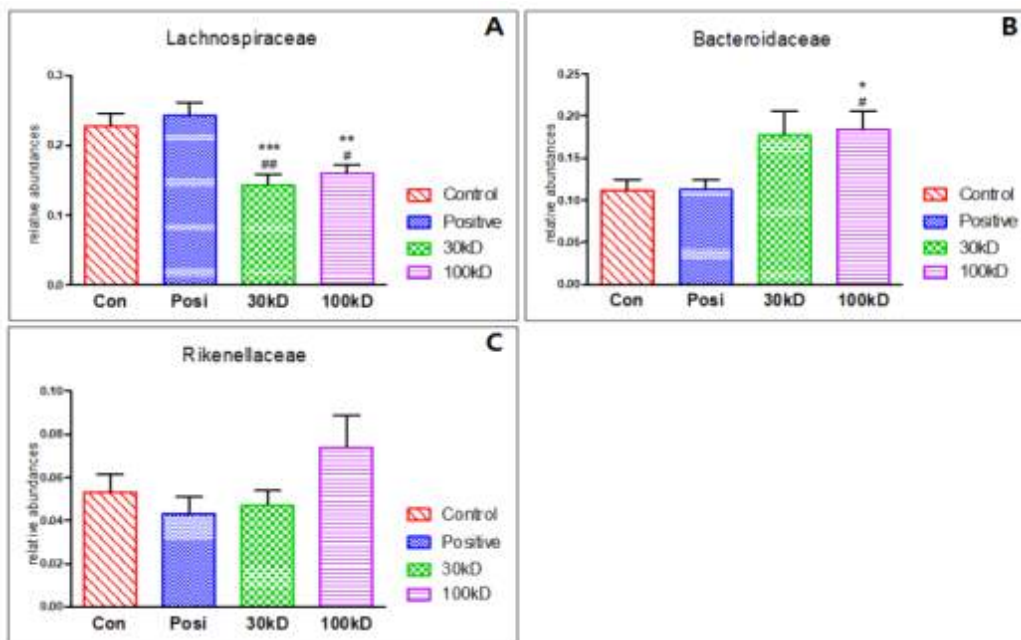
○ 수행 결과 : 거저리 발효물 섭취에 의한 마우스 혈액에서의 cytokine 변화를 확인한 결과 IL-2, IL-4의 경우 감소 하는 경향을 보였고 IL-10, IL-6, G-CSF, IL17a 의 경우 증가하는 경향을 보였다. cytokine의 경우 알리지 반응을 일으킬수도 있지만, 면역력 증진과도 연계되어 있어 이 지표의 추가 연구가 필요할 것으로 사료됨.

라) BALB/c 마우스 장 내 미생물과 연계한 항알리지 영향 확인

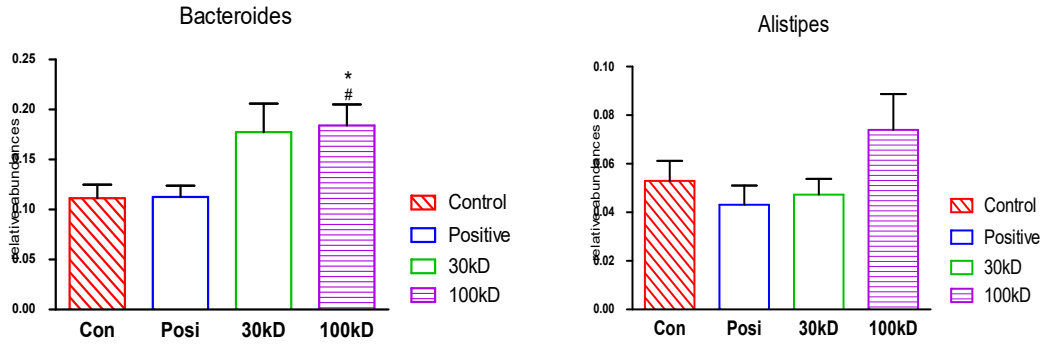
[거저리 가수분해물 섭취에 의한 알리지 및 염증 관련 미생물 변화]



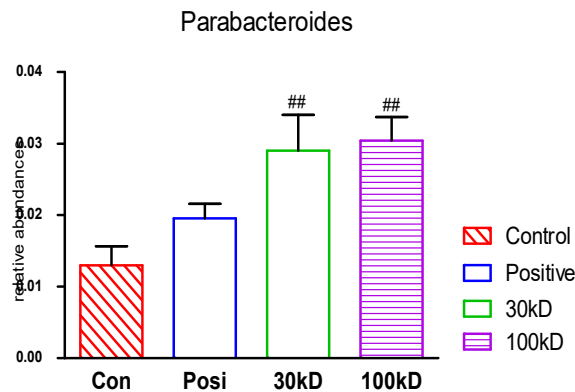
- 수행 결과 : 동물시험에서 갈색거저리 유충 가수분해물을 먹인 후 NGS 분석결과 family 그룹에서는 Porphyromonadaceae, Bacteroidetes Lachnospiraceae 균주가 증가하였고 이에 속하는 genus 균들이 역시 증가하였다.
- 증가 균주 중 가수분해 거저리 동물 그룹에서 가장 많은 비율을 차지하는 family 미생물 균주인 Porphyromonadaceae는 건강한 성인에서 많이 발견되는 균으로 분석결과 통계적으로 유의성은 보이지 않으나 30KD(0.185 ± 0.058), 100KD(0.189 ± 0.06) 두 군에서 Control(0.145 ± 0.031) 군보다 약 22% 정도 늘어나는 경향을 보이고 있으며 특히, Porphyromonadaceae의 genus에 속한 균주인 Barnesiella는 항염증 작용을 보이며 항생제 내성 균을 저해하는 효과가 있다고 알려져 있는 것으로 가수분해 거저리 군인 30KD (0.081 ± 0.048)와 100KD (0.095 ± 0.041) 에서 Control (0.048 ± 0.019) 군보다 약 40% 늘어나는 경향을 알 수 있으며, 100KD 군에서는 약 48% 증가하여 유의성 있는 결과가 확인되었다.



- 수행 결과(A) : 면역반응에 영향을 미치는 균으로 인간 질병과 관련된 스트레스 후 명백한 증가를 보이는 균인 Lachnospiraceae균은 control(0.227 ± 0.059)과 비교하였을 때 30kD(0.143 ± 0.049), 100kD(0.159 ± 0.04)군에서 약 58% 정도 유의하게 감소하였다. 스트레스가 감소하는 경향을 보이기는 하나 추 후 더 자세한 연구가 필요할 것으로 보인다.
- 수행 결과(B) : Bacteroidaceae균은 당뇨, 비만 그리고 알코올 중독자에서 적게 발견된다는 연구 결과가 있으며 본 실험에서는 30kD(0.177 ± 0.09)에서 증가하는 경향을 보였고, 100kD(0.184 ± 0.066) 에서는 약 39.6% 증가로 유의한 차이를 확인하였다.

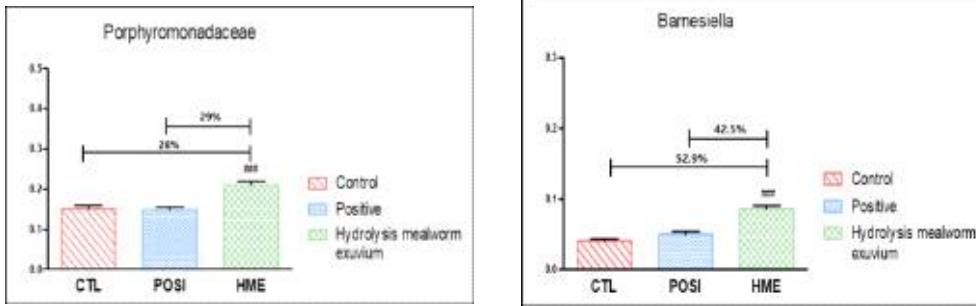


- 수행 결과(C) : 고지방 식이를 먹인 쥐에서 증가한다는 보고가 있는 Rikenellaceae 균은 30kD(0.047 ± 0.021)에서 control(0.053 ± 0.026) 그룹과 비슷한 양상을 보였으나 100kD(0.074 ± 0.047)에서는 약 28.3% 증가함을 확인할 수 있었다.



- 수행 결과 : 최근 알츠하이머병 환자와 정상인의 마이크로바이옴 비교분석 결과가 2017년 10월, Scientific Reports 를 통해 나왔는데, 알츠하이머병 환자 25명과 정상인 94명의 대변에서 bacterial 16s rRNA 시퀀싱한 결과, 속(Genus) 수준에서는 Bacteroides, Alistipes 균주가 풍부할수록 아밀로이드 부하(burden)이 심한 것으로 결과가 확인되어 향후 알츠하이머의 상관관계 연구가 필요 할 것으로 판단되어진다. 그리고 Rikenellaceae에 Genus 균에 속하는 Alistipes는 염증성 장 질환, 궤양 성 대장염 및 크론병 환자에게서 감소하는 양상을 보인다. 본 연구에서 Control(0.053 ± 0.026) 군과 비교하여 100kD(0.074 ± 0.047)는 약 28.3% 증가하는 경향을 확인할 수 있었다. 또한 Parabacteroides 균주는 hetero- 및 iso-antagonic 효과를 갖는 박테리오신의 생산을 하고 이것은 장내 미생물에서의 외인성 미생물의 침입에 대한 방어를 제시하는 효과로 알려져 있는데 본 연구에서 Control(0.013 ± 0.009) 군과 비교하여 30kD(0.029 ± 0.016), 100kD(0.03 ± 0.01) 약 56% 증가로 유의성 있는 결과가 확인되어 면역관련에 효과가 있는 것으로 판단되어진다.

[갈색거저리 유충 발효물 섭취에 의한 알리지 및 염증 관련 미생물 변화]

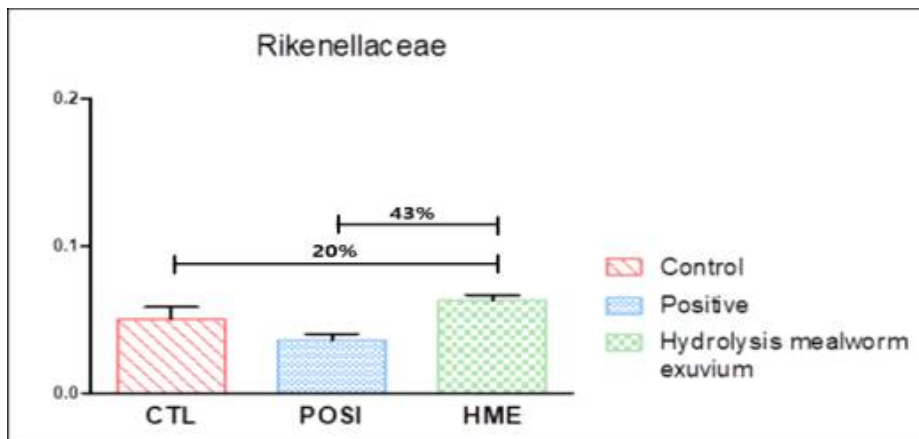


Statistical analyses were done by t-Test and Manna-Whitney test.

###p<0.001 compared with Control vs HME

*HME: 갈색거저리 유충 발효물 식이

- 수행 결과 : 본 연구에서는 갈색거저리 유충발효물 (HME) 섭취 후 NGS 분석결과, family 그룹에서는Porphyromonadaceae 균주가 증가하였고 이에 속하는 Barnesiella 균 역시 증가함을 확인하였다. Porphyromonadaceae는 HME 군에서 많은 비율을 차지하는 family 미생물 균주로 건강한 성인에서 많이 발견되는 균이다. 분석결과 Control (0.150 ± 0.028) 군, Positive (0.148 ± 0.017) 군과 비교하여 HME (0.210 ± 0.024) 군에서 약 28-29% 정도 통계적으로 유의한 증가를 확인 할 수 있었다. 특히, Barnesiella는 항염증 작용을 보이며 항생제 내성 균을 저해하는 효과가 있다고 알려져 있는 것으로 HME (0.086 ± 0.015) 군에서 Control (0.040 ± 0.010) 군보다 약 52.9% 늘어나는 경향을 알 수 있으며, Positive(0.049 ± 0.014) 군보다는 약 42.5% 증가하여 유의성 있는 결과가 확인되었다.



- 수행 결과 : Rikenellaceae는 gut에 있는 박테리아이며 소화기관의 건강을 나타내며 연구 결과 고지방 식이를 먹인 쥐에서 증가한다고 보고되었다. Control 군과 비교하여 Positive 군에서는 감소하였지만, HME 군에서는 증가하는 경향을 보였지만 유의적인 차이는 두 군 모두 없었다. 그리고 Rikenellaceae에 Genus 군에 속하는 Alistipes는 염증성 장 질환, 궤양 성 대장염 및 크론병 환자에서 감소하는 양상을 보인다. 분석 결과 Control 군에서는 발견되었지만 Positive 군과 HME 군 모두에서 발견할 수 없었다.

제4절. 국내외 전시회, 박람회 및 학술대회 참가 등을 활용한 홍보 및 연구실적 발표

1) 홍보실적

- 가) 일시 : 2017년 6월 9일(금), 10월 27일(금)
- 나) 홍보처 : 전라일보, 전북도민일보 및 국제곤충산업 심포지움
- 다) 주요내용 : 곤충단백질 연구현황 홍보

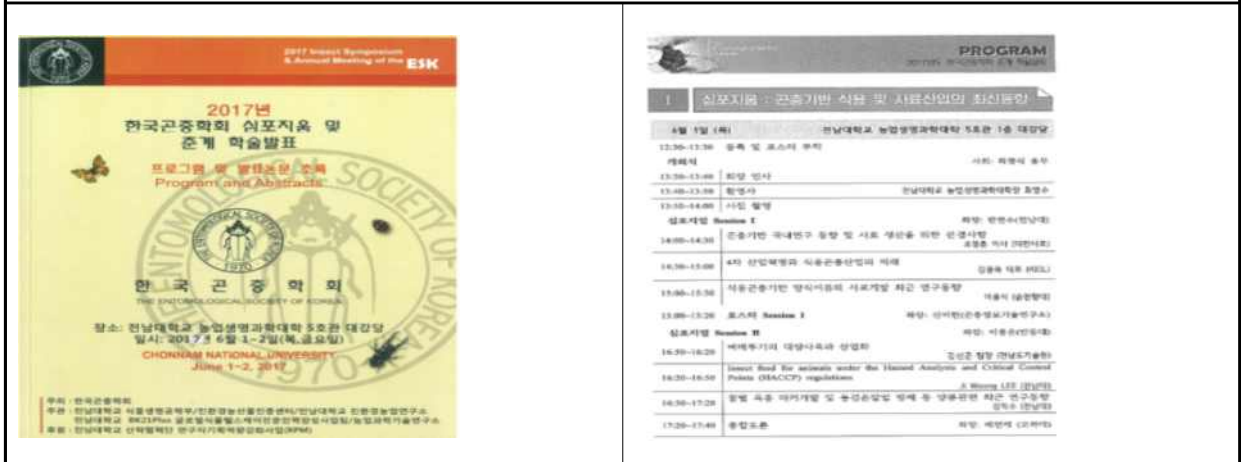
- 대한사료(주) 곤충관련 연구현황 홍보
- 곤충 단백질에 우수성 홍보
- 곤충 단백질 연구 및 추후 발전방향 홍보



2) 2017년 한국곤충학회 심포지움 및 춘계 학술발표

- 가) 일시 : 2017년 6월 1일(목)~2일(금)
- 나) 장소 : 전남대학교 농업생명과학대학
- 다) 주최 : 한국곤충학회
- 라) 참가자 : 대한사료(주) 조경훈
- 마) 발표내용 : 곤충기반 국내연구 동향 및 사료 생산을 위한 선결사항

- 국내 곤충연구동향
- 곤충자원 기반 사료생산을 위한 선결조건
- 곤충자원과 가축생산성 및 곤충사육농가의 관심사항 확인



- (1) 곤충학계에 곤충자원과 경제동물 사료와의 관계에 대한 이해 확대
- (2) 곤충 사양가 및 학생들에게 곤충 단백질의 산업적인 이용성에 대하여 설명하고 관심 확대에 기여
- (3) 산업적인 이용 잠재력이 크에도 불구하고 아직 생산비가 높아 산업적인 활용성에는 장벽이 있음에 따라, 곤충 사육농가로부터 가능한 원가, 자동화 가능성 등에 대해 논의
- (4) 곤충연구에 관심을 가지고 있는 여러 연구자들과 연구 인프라 구축 기초 마련

3) 제 17회 영양사료 단기과정 발표

가) 일시 : 2018년 4월 26일(목)

나) 장소 : 천안 상록리조트

다) 주최 : 한국축산학회

라) 발표자 : 대한사료(주) 조경훈

마) 발표내용 : 곤충단백질의 산업적 이용에 대한 고찰

- 국내 곤충산업 현황
- 곤충자원의 연구 동향
- 식용 및 사료용 곤충
- 곤충자원과 가축생산성



- (1) 축산관련 학계, 사료회사, 사양가 및 학생들에게 곤충 단백질의 산업적인 이용성에 대하여 설명하고 관심확대에 기여
- (2) 산업적인 이용 잠재력이 크에도 불구하고 아직 생산비가 높아 산업적인 활용성에는 장벽이 있음에 따라, 곤충 사육농가로부터 가능한 원가, 자동화 가능성 등에 대해 논의
- (3) 곤충연구에 관심을 가지고 있는 여러 연구자들과 연구 인프라 구축 기초 마련

4) Smartheart presents Thailand International Dog Show 2018 (Bangkok) 참가 및 홍보

가) 일시 : 2018년 07월 5일(목) - 9일(월)

나) 장소 : IMPACT Exhibition & Convention center, Bangkok

다) 주최 : Thai Pet Product Industries Association

라) 참가자 : 권규택(베리&바이오식품 연구소)

마) 장소 : 태국, 방콕

바) 주요내용

(1) 갈색거저리 유충 함유 소시지 제품 홍보 및 반응 수집

- 대한사료(주) 홍보 부스에서의 거저리 함유 소시지 제품 홍보
- 곤충 단백질에 대한 설명
- 바이어를 상대로 거저리 함유 소세지에 대한 반응 확인



- 박람회 참석 인원들에 대한 거저리 소세지에 대한 인식 파악 결과 현지인들의 경우 긍정적인 반응을 보임
- 바이어들 대상 거저리 소세지에 대한 인식 파악 결과 아직까지는 곤충에 대한 거부감을 보이는 것으로 판단됨에 따라 공충자원에 대한 홍보에 더 많은 시간과 노력이 필요함을 실감함










(2) 전 세계 반려동물 제품 동향 파악
가. 다양한 반려동물 사료



Royal Canin

PRAMA

Purina

		
Buzz	LuvCare	Smart Heart
		
Smart Heart gold	다양한 식품 용기	Per Soft, Dono
		
OHLA	대한사료, 이즈칸	Smart Heart

나. 반려동물 간식

		
소세지	스티크	음료 및 스틱

		
건조물	스넥	스넥
		
간식	간식	키구간식

다. 반려동물 용품

		
애완견 목욕용품	애완견 목욕용품	애완견 옷
		
애완견 목욕용품	애완견 기타용품	애완견 기타용품

		
애완견 놀이기구	애완견 목욕용품	애완용 건식식
		
애완견 목욕용품	기타용품	애완견 목욕용품
		
애완견 목욕용품	애완견 옷	애완견 옷
		
애완견 확인 카메라	12주 케어 프로그램	애완견 용품
		
애완견 호텔	애완견 캠핑	애완견 침대

■ 애견 관련 용품 동향 파악 결과

- 사료부문 : 일반적 사료보다는 프리미엄급 사료를 찾는 경우가 많았음
- 간식부문 : 애완견 위주의 소량의 간식 포장을 찾으며, 반려 동물의 생활 개선을 위한 건강위주의 간식을 찾는 경우가 많았음
- 관련용품 : 소비 취향의 고급화로 매년 1.5배 이상의 성장을 보이며 제품의 다양화가 눈에 띈. 또한 IOT기반 반려동물용 기계 및 반려 동물 호텔과 반려동물 캠핑까지 다양한 분야에서 새로운 아이템이 나오고 있음

(3) 기대 효과

- (가) 대한사료와 공동 개발한 반려동물용 곤충첨가 반려견 간식 홍보를 통한 해외시장 진출 타진
- (나) 세계 각 국의 다양한 반려동물관련 용품 관람을 통해 해외 시장 진출에 대한 안목을 넓히는 계기가 됨
- (다) 해외시장 진출 반려동물 간식 제품 개발 연구가 활발히 진행되어야 할 것으로 생각됨

5) NONG LAM UNIVERSITY (RIBE) 방문 및 협의

가) 일시 : 2018년 9월 5일(수)

나) 장소 : Research Institute for Biotechnology and Environment

다) 협의자 : Dr. Lữ Thị Diệu Trang

라) 참가자 : 대한사료(주) 조경훈

마) 주요내용 : 호치민 농남대의 곤충연구 현황 조사

- 현재 동애등에 사육하며 환경문제 개선을 위한 아이디어 발굴 중
- 갈색거저리는 베트남에서 유해외래종으로 구분되어 대량사육, 연구 불가
- 호치민 근교 귀뚜라미 사육농가 분포되어 있음



- (1) 과거 한국의 CJ 및 영국의 곤충사육 벤처회사와 함께 동애등에를 연구하였으나 현재는 독자적으로 연구하고 있음
- (2) 갈색거저리유충은 연구목적이라도 대량생산하기 위해서는 정부의 허가가 필요한 상황이라 주된 연구 대상에서는 제외되어 있음

- (3) 현재 연구자금 문제로 식용곤충에 대한 연구가 활발하게 진행되고 있지는 않으나 천적곤충분야에 대한 연구는 진행하고 있음
- (4) 추후 각자의 연구결과 대한 정보를 서로 공유하기로 함

6) 전주 국제발효 컨퍼런스 포스터 발표 (I/II)


가) 일시 : 2018년 10월 26일(금)

나) 장소 : 전북생물산업진흥원

다) 발표자 및 발표제목

- 송대길((재)전라북도생물산업진흥원) : 농업 부산물을 활용한 갈색거저리 유충 전용사료 개발
- 유종상(대한사료(주)) : Effect of Dried mealworm (*Tenebrio molitor*) larvae supplementation on ileal digestibility in weaning pigs

○ 농업부산물 활용한 갈색거저리 전용사료 연구에 관한 포스터 전시 발표
 ○ 갈색거저리유충 건조물이 돼지 소화율에 미치는 영향 연구에 관한 포스터 전시 발표
 ○ 최근 연구 동향에 대해 파악



- 1) 농업부산물 활용한 갈색거저리유충 전용사료 연구결과 포스터 전시 발표 농
- 2) 업부산물의 다양한 활용 가능성 확인
- 3) 갈색거저리유충 건조물이 돼지 소화율에 미치는 영향 연구에 관한 포스터 전시 발표
- 4) 갈색거저리유충 활용 사료로서의 가능성 확인

7) 한국식품과학회 포스터 발표 : 자료 별첨

라) 일시 : 2018년 10월 31일(수)~11월 2일(금)

마) 장소 : 부산 킨텍스

바) 발표자 및 발표제목

- 권규택(베리&바이오식품연구소) : 밀웜(거저리) 허물의 알러지 반응 및 prebiotic 효과

- 식용곤충을 이용한 연구 결과 발표
- 최근 연구 동향에 대해 파악
- 항 알러지, 프리바이오틱 및 마이크로비옴 대한 소재 연구 결과 파악



- 1) 곤충을 소재의 연구는 미미한 것으로 파악됨
- 2) 곤충을 이용한 프리 바이오 틱 및 마이크로비옴 연구도 미미한 것으로 파악됨
- 3) 곤충 소재를 발전시켜 사료 및 기능성 식품으로의 발전 방향이 필요할 것으로 판단됨

8) iFIC2019 (International Feed Ingredients Course) 교육 참석 : 자료(출장보고서)별첨

가) 일시 : 2019년 10월 7일(월) ~ 2019년 10월 11일(금)

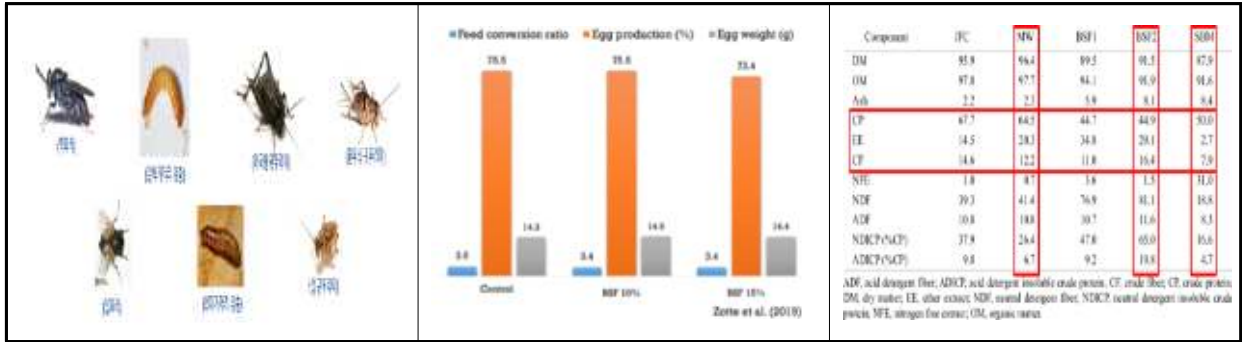
나) 장소 : 방콕 (태국)

다) 참가자 : 대한사료(주) 신지윤 과장, 김알지 사원

라) 주요내용 : 사료 내 단백질 원료로써 곤충단백질의 현황 및 최신 연구결과 소개일시

마) 내용

- 곤충 단백질은 새로운 단백질 원료로써 세계적으로 주목 받고 있음.
- 산란계 사료 내 일정 수준의 곤충 사용은 생산성에 영향을 미치지 않으며, 부정적 영향 없음
- 떡파리와 밀웜은 대두박과 비교하여 조단백질 함량이 유사하거나 높고, Ether Extract 함량이 높아 총 에너지값(GE)은 높을 것으로 예상되지만, 상대적으로 소화율이 낮은 조섬유질 함량이 높아 가소화에너지값(DE)은 낮을 것으로 생각됨.
- 당사 동물성원료 에너지공식에 적용시킬 경우, GE 값은 강의에서 제시한 수치와 유사함을 보이나, DE 값은 상대적으로 600 kcal 정도 낮게 평가됨. 이는 소화율이 낮은 조섬유질의 함량이 높아 발생한 것으로 생각됨.



- 1) 사료 원료로써 곤충은 대두박과 유사한 단백질 함량을 보이나, AA 조성은 다소 불량함.
- 2) 다만, 곤충은 대두박과 비교하여 에너지 함량이 높기에, 단백질 및 에너지 공급원으로 가치가 있으며, 나아가 탈지기술 및 조섬유 분리기술을 지속적으로 개발한다면 현재보다 단백질 공급원으로 더 가치가 있을 것으로 생각됨

9) 한국식품과학회 포스터 발표 : 자료 별첨

가) 일시 : 2019년 10월 23일(수)~10월 25일(금)

나) 장소 : 제주 ICC 컨벤션 센터

다) 발표자 및 발표제목

- 권규택(베리&바이오식품연구소): 거저리 유충(밀웜) 가수분해물의 장내 미생물 연구



- 1) 밀웜의 가수분해에 의한 장내 미생물 변화에 대한 결과 발표 및 홍보
- 2) 밀웜의 프리바이오틱 효과에 대한 홍보
- 3) 식품 및 사료로서의 기능성 첨가제로의 가능성 확인

제3장. 목표달성도 및 관련 분야 기여도

제1절. 연구개발 목표

1) 연구개발의 최종 목표

- 가) 곤충자원 소재의 효능 평가 : 곤충자원 선정 및 선정된 자원의 가치, 품질 및 효능 평가
- 나) 곤충자원의 소재화 및 고도화 기술개발 : 곤충자원의 부가가치를 높이기 위한 공정 개발
- 다) 곤충산업 비즈니스 모델 및 기술사업화 모델 제안

2) 연구개발의 세부 목표

- 가) 곤충자원 소재의 효능 평가 : 곤충자원 선정 및 선정된 자원의 가치, 품질 및 효능 평가

- (1) 갈색거저리 유충 대량사육을 위한 대체원료의 탐색
- (2) 갈색거저리 유충 사육을 위한 사료 개발(Pilot 수준)
- (3) 갈색거저리 유충 원료사료 가치(영양소 함량) 및 품질 평가
- (4) 갈색거저리 유충 분말 및 가수분해물 회장 및 In vitro 소화율
- (5) 갈색거저리 유충 분말 및 가수분해물, 발효물 알러지 반응 연구
- (6) 갈색거저리 유충 가수분해물과 이유자돈의 성장률 관계
- (7) 갈색거저리 유충油에 대한 비글견의 기호성 연구
- (8) 갈색거저리 유충 분말의 어분 대체효과 측정
- (9) 갈색거저리 유충 분말, 가수분해물 및 발효물에 대한 전분소화율
- (10) 갈색거저리 유충 전용사료 및 수분사료 적정성 평가

- 나) 곤충자원의 소재화 및 고도화 기술개발 : 곤충자원의 부가가치를 높이기 위한 공정 개발

- (1) 갈색거저리유충 가수분해(효소처리 및 발효) 공정개발
- (2) 갈색거저리유충 가수분해물 품질특성 분석
- (3) 갈색거저리 유충과 허물을 활용한 항균효과 탐색
- (4) BALB/c 마우스를 활용한 갈색거저리 유충 및 허물의 prebiotic 효능확인
- (5) 마우스 장내 미생물 확인-총균 및 유산균 증감
- (6) 맹장에서서 차세대염기서열분석(NGS)
- (7) 가공 분해물에 대한 prebiotic 효능 평가
- (8) BALB/c 마우스를 활용한 갈색거저리 유충 가공기술에 따른 분해산물의 항알러지 효능 확인
- (9) BALB/c 마우스 혈액 내 chemokine과 cytokine 그리고 interleukin 분비 확인
- (10) BALB/c 마우스 장 내 미생물과 연계한 항알러지 영향 확인
- (11) 체중변화 등을 포함한 동물(쥐) 사양실

- 다) 곤충산업 비즈니스 모델 개발 및 기술사업화 모델 제안

- (1) 갈색거저리 유충 전용사료 개발 및 수분사료 적정성 평가
- (2) 갈색거저리유충 전용사료를 이용한 농가 적용 현장 실증
- (4) 갈색거저리 유충 사육 Pilot 건설 및 사육체계 확립
- (5) 갈색거저리 유충 사육자동화 설비 구축을 위한 기반 확보

- (6) 갈색거저리 유충 활용 반려동물 food 배합비 개발
- (7) 갈색거저리 유충 유래 기능성물질(원료) 함유 배합비 개발
- (8) 갈색거저리 유충 함유 반려동물 Food 시제품 소비자 반응조사
- (9) 기술사업화 장애요인 분석 및 해결방안 연구
- (10) Value Chain 구축안

3) 정량성과 목표

- 가) 사업화 지표 : 사업기간 내, 특허 출원·등록 각 3건과 1건이며 사업종료 후, 특허등록 1건과 매출액 3,500백만원 및 수출 805백만원 그리고 제품화 3건
- 나) 연구기반 지표 : 사업기간 내, SCI 논문 2건, 비SCI 논문3건, 학술발표 4건, 홍보전시 3건이며, 사업종료 후 비SCI 논문 1건

성과 목표	사업화지표										연구기반지표								
	지식 재산권			기술 실시 (이전)		사업화				기술인증	학술성과				교육지도	인력양성	정책 활용·홍보		기타 (타 연구 활용 등)
	특허출원	특허등록	품종등록	건수	기술료	제품화	매출액	수출액	투자유치		논문		논문평균 IF	학술발표			정책활용	홍보전시	
											SCI	비SCI							
단위	건	건	건	건	백만원	건	백만원	백만원	백만원	건	건	건		건	명	건	건	건	
가중치																			
최종목표	3	2				3	3,500	805			2	4		4				3	
1차연도	1											1						1	
2차연도	1										1	2		2				1	
3차연도	1	1									1			2				1	
소 계	3	1									2	3		4				3	
종료 1차연도		1				1	500					1							
종료 2차연도						2	1,000	230											
종료 3차연도							2,000	575											
소 계		1				3	3,500	805				1							
합 계	3	2				3	3,500	805			2	4		4				3	

제2절. 목표 달성 여부

1) 기관별 정성목표 달성도

가) 주관기관 : 대한사료(주)

세부목표	달성도	주요 연구 내용
갈색거저리 유충 일반 영양성분 및 아미노산과 지방산 함량 분석	100%	<ul style="list-style-type: none"> 갈색거저리 유충의 주령이 증가할수록 단백질 함량은 증가하며 지방함량은 감소하는 경향을 보임 칼슘과 인의 비율 상대적으로 다른 동물성 단백질 원료에 비해 낮아 칼슘의 추가 공급이 필요함 조섬유 함량은 건물기준 약 13~19% 범위로 분석되는데, 유충의 외피에 포함 되어 있는 키틴함량이 포함되어 있을 것으로 판단됨 갈색거저리 유충의 탈지 전 단백질과 지방함량은 각각 47.8%, 34.6% 이며, 탈지 후에는 각각 64.3%와 13.0%로 분석되어 일반 식물성 단백질 공급원인 대두박, 전지대두 그리고 동물성 단백질인 계육분에 필적할 만한 영양성분 함유. 그리고 아미노산 함량에서도 필수 아미노산인 라이신과 메티오닌의 경우 단백질 100g 당 각각 5.4g과 1.4g 함유하고 있음 지방산 분석결과, 필수 지방산인 올레익산의 함량이 총 지방산 함량 기준 44.83% 함유
Pet food 관련 갈색거저리 유충 대사에너지 함량 평가 및 비교	100%	<ul style="list-style-type: none"> 탈지한 갈색거저리 유충의 Pet food 에서의 대사에너지 (ME, metabolizable energy)는 약 4,620kcal/kg로 전지대두의 3,611보다 959kcal/kg, (+)26.2% 높으며, 탈지를 한 분말박의 경우 3,352kcal/kg 으로 계육분 3,562kcal/kg 보다는 (-)210kcal/kg, 육분 3,171kcal/kg 보다는 (+)181kcal/kg 로 양질의 에너지 공급원이 될 수 있음
<ul style="list-style-type: none"> 갈색거저리 유충분말 및 주요 단백질 사료의 <i>In vitro</i> 소화율 갈색거저리 유충분말 및 주요 동물성 단백질사료의 펩신소화율 	100%	<ul style="list-style-type: none"> 갈색거저리(밀웬) 유충의 Book value는 제시된 것이 없으며, 어분 및 계육분과 비교시 소화율이 높아 82~84% 범위임 주요 동물성단백질의 펩신소화율과 비교하여 갈색거저리(밀웬) 유충 단백질의 품질이 상대적으로 양호함을 알 수 있음 일반적인 분석법에는 0.2%의 펩신용액을 사용하도록 되어 있으므로 상기 분석결과는 1,000배 희석된 펩신소화율 결과임에도 갈색거저리 유충은 높은 소화율을 보임
갈색거저리 유충박(밀웬박), 갈색거저리 유충가수분해물 및 동물성 가공단백질사료의 질소 용해도(%)와 <i>In vitro</i> 소화율(%)	100%	<ul style="list-style-type: none"> 갈색거저리 유충박의 2N HCl용해도는 상당히 낮게 측정되었는데 40° C 온수에서의 용해도가 13.03%(대한사료(주) 분석결과)인 것을 고려하면 염산에서의 질소 용해도는 상당히 낮음을 알 수있음. 그러나 <i>In vitro</i> 소화율이 82.80%로 분석되어 체내에서의 이용성에는 문제 없음 갈색거저리 유충가수분해물의 질소 용해도는 상당히 높

세부목표	달성도	주요 연구 내용
		아 분자량이 작은 펩타이드로 가수분해가 잘 일어났음을 알 수있으며 다른 두 종류의 가공동물성 단백질보다도 용해도가 우수함을 알수있음
갈색거저리유충 가수분해물에 대한 알리지 반응 연구	100%	가수분해갈색거저리 유충을 급이할 경우, 알리지에 과민화된 상태, 즉 광의의 감각(sensitization)이 효과적으로 줄어드는 것을 확인함.
갈색거저리 유충 분말의 자돈에서의 어분 대체효과 연구	100%	동애등에 유충과 비교하여 갈색거저리유충 분말이 영양소 소화율 측면에서 보다 높은 것으로 보아 갈색거저리유충이 어분을 대체할 수 있을 것이라 생각 되며, 본 연구에서 자돈 2호 구간에 있어서 곤충 단백질 어분을 대체에는 무리가 있으며, 자돈 3호 구간에서 어분을 대체하여 사용할 수 있을 것이라 사료됨
비글견을 대상으로 한 갈색거저리 유충분말, 가수분해(효소) 및 발효물에 대한 전분채취 소화율 측정	100%	<ul style="list-style-type: none"> • 효소분해 : 건물소화율에 있어서는 가수분해 갈색거저리유충과 가수분해 어분을 급여한 처리구는 갈색거저리유충과 가수분해 돼지장점막을 급여한 처리구와 비교하여 유의적으로 높게 나타났다(P<0.05). 단백질 소화율에 있어서 가수분해 갈색거저리유충, 가수분해 계육분 및 가수분해 어분을 급여한 처리구가 갈색거저리유충과 가수분해 돼지장점막을 급여한 처리구와 비교하여 유의적으로 높게 나타났다(P<0.05). 지방 및 인 소화율에 있어서는 처리구간에 유의적인 차이를 나타내지 않았다(P>0.05). 조섬유 및 회분 소화율은 가수분해 갈색거저리유충 및 가수분해 어분을 급여한 처리구가 갈색거저리유충을 급여한 처리구와 비교하여 유의적으로 높게 나타났다(P<0.05). 칼슘 소화율에 있어서는 가수분해 어분 처리구 가장 높은 소화율(73.17%)을 보여 주었으며, 갈색거저리유충을 급여한 처리구가 가장 낮은 소화율(32.99%)을 보여 주었다(P<0.05). 갈색거저리 유충 및 가수분해 동물성 원료 급여에 따른 분변 지수는 유의적인 차이를 나타내지 않았다(P>0.05). 따라서, 본 시험 결과를 토대로 가수분해 갈색거저리유충은 반려견 사료에서 가수분해 계육분, 가수분해 어분 등을 대체 할 수 있을 것이라 사료됨 • 발효물 :
갈색거저리 유충 분말 및 가수분해물 회장소화율 측정	100%	<ul style="list-style-type: none"> • 돼지에게 갈색거저리 유충 분말을 함유 한 사료를 급여하면 영양소의 AID 및 SID 가 향상되었다. 건조된 밀웜 유충 단백질의 소화율과 생체 내에서의 활용도 또한 우수하다. 따라서, 건조된 밀웜 유충 단백질은 성장하는 돼지에서 10 % 수준으로 단백질 공급원으로서 사용될 수있다. • 밀웜 유충의 가수 분해물은 상업적으로 사용되는 가공 동물성 단백질 공급원을 대체 할 수있어 사료 산업에서 어린 동물에게 매력적인 대체 단백질 사료공급원이 될 수 있다. 거저리 유충 가수 분해물은 발효가금 부산물 및 가수분해 fish soluble과 비교하여 DM, CP,

세부목표	달성도	주요 연구 내용
		Lys, Met 및 Thr에서 더 높은 소화율을 보였다. 따라서, 밀웬 유충의 가수 분해물은 성장하는 돼지에서 10% 수준의 단백질 공급원으로서 사용될 수 있다.
갈색거저리유충 가수분해물 급여시 이유자돈의 성장률에 미치는 영향	100%	<ul style="list-style-type: none"> 시험 15일차 체중에 있어 가수분해어분 처리구가 갈색거저리유충 처리구에 비해 유의적으로 높게 나타났고 ($P < 0.05$), 시험 종료 시 (35일) 체중 및 전체 시험 기간 동안의 일당 증체량에 있어 가수분해 갈색거저리유충 처리구가 높게 나타났다 ($P < 0.05$).
갈색거저리 유충 전용사료 개발	100%	<ul style="list-style-type: none"> 밀웬 유충의갈색거저리 유충 전용 사료 개발을 위하여 단백질 함량을 달리하여 급여한 시험에서 소맥피를 제외한 시험구에서 첫 번데기 발생시기가 조기에 발견되는 결과를 보여주었다($P < 0.05$). 갈색거저리 유충 무계에 있어서는 단백질 수준에 따라 숫사적으로 감소하는 경향을 보여주었으나, 처리구간의 유의적인 차이를 보이지 않았다($P > 0.05$). 갈색거저리유충의 번데기 무계에 있어서는 처리구간에 유의적인 차이를 보이지 않았다. 소맥피 대비 CP 14.5%의 처리구 사료가 더 경제적으로 사육할 수 있는 결과를 보여주었음
갈색거저리 유충 함유 반려동물 food 배합비 개발		<ul style="list-style-type: none"> 개(Dog), 고양이(Cat)용 배합비 각 4종, 총 8종 작성
갈색거저리 유충 함유 Pet food 시제품 소비자 반응 설문조사		<ul style="list-style-type: none"> 2019년 11월 22일~2019년 11월 24일까지 반려동물 박람회(2019년 k-pet fair in kintex)을 방문한 관람객들을 대상으로 임의표본추출방식으로 곤충 반려동물 사료에 관한 1차 인식조사 및 2차 소비자 만족도조사를 실시하였음 총 254명의 1차 인식조사 설문자를 대상으로 샘플사료를 무상증정하였고, 2주의 급여 기간 후 소비자 만족도에 대한 설문을 200부 회수했으며, 이 중 신뢰도가 높고 성실하게 답변한 146부에 대해서 2차 소비자 만족도 분석을 진행하였음
갈색거저리 유충 사육 Pilot 설비 구축	100%	대한사료 주식회사는 2016년 12월 갈색거저리유충 사육사 시설 및 가공 공장을 구축을 완료 하였으며, 이를 통해 갈색 거저리 사료 연구개발 및 안전화된 갈색거저리 유충을 생산을 할 수 있는 시설을 갖추게 되었음.

나) 참여기관 1 : (재)전라북도생물산업진흥원

세부목표	달성도	주요 연구 내용
갈색거저리 유충 대량사육을 위한 대체원료의 탐색	100%	<ul style="list-style-type: none"> 대체사료 원료 5종과 부원료 2종으로 사육한 갈색거저리 유충의 생육특성 분석결과 선호성은 쌀가루가 좋으나 섭취율은 주정박이 높으며 다른 처리군에 비해 성장률또한 높음 부원료 커피박과 복분자박 모두 저농도 첨가수준에서는 생육저해가 일어나지 않음 대체사료 원료 및 부원료로 쌀가루, 주정박 복분자 박, 커피박이 적합하며, 분석결과에 따라 단백질 함량 20%

세부목표	달성도	주요 연구 내용
		이상 사료개발 위한 혼합비율 확인
갈색거저리유충 가수분해 (효소처리 및 발효) 공정개발	100%	<ul style="list-style-type: none"> 효소처리 가수분해 공정개발 결과 물 : 거저리유충 분말(9:1) 혼합 후 약 30 min. 교반함. 가수분해 양 대비 효소 (Flavourzyme 500MG + Alcalase 2.4L) 0.01% 첨가 후 효소활성을 위하여 pH 약 6.5로 보정 (NaOH 98%분말 및 1N NaOH)함. 50℃ (50℃ 초과에서는 단백질 변성우려로) 40 rpm, 3 hr. (가수분해 반응시간별 단백질정량 분석결과 반응시간이 3hr 에서 가장 효율적) 가수분해 후 효소의 불활성화를 위하여 80℃, 40 rpm, 30 min. 교반 함. 원심분리를 위해 추출보와 압착기를 사용하여 펠릿 (거저리유충 분말) 여과함. 원심분리 (유량 130 L/hr., 9,000 rpm) 액상에 남아있는 고체입자를 분리 후 액상에 존재하는 미생물 제거위해 진동막 여과함. 필터 (30 kDa, 100 kDa)를 사용하여 한외여과 후 Brix 대비 1:1 비율로 말토덱스트린 혼합. 약 4~5일 동결건조 후 분획 발효 가수분해 공정개발 결과 물 : 거저리 유충 분말 (2:1)이 수분함량 33% 되도록 혼합하여 121℃, 20min 멸균 후 Aspergillus oryzae 1.0% 고르게 접종하여 30℃, 5day 배양 후 수분함량 15%미만을 위해 45℃ 1day 건조 후 발효물 분획
갈색거저리유충 가수분해물 품질특성 분석	100%	<ul style="list-style-type: none"> 아미노산의 함량분석 결과 발효물 대비 효소처리물이 높은 함량을 확인 항산화 활성 측정 결과 효소처리물이 높은 항산화 활성을 확인 가수분해물의 단백질 사이즈 및 분자량과 수분, pH 등 확인
갈색거저리유충 전용사료를 이용한 농가 적용 현장 실증	100%	<ul style="list-style-type: none"> 갈색거저리유충 전용사료 현장실증 결과 사료의 제형이 (크기 : 대조구(소맥피)=분말 < 크럼블 < 펠릿) 커질수록 무게는 높고, 유충~성충 도달시기가 빠름 대한사료(주)의 실험과는 다른 결과인데 이는 소규모로 실험을 진행했기 때문으로 사료되며 농장수준의 대규모 사육시에는 가루형태가 바람직한 것으로 판단됨

다) 참여기관 2 : (재)베리&바이오식품연구소

세부목표	달성도	주요 연구 내용
갈색거저리 유충 최적 건조 분쇄 추출에 따른 항균효과 탐색	100%	거저리 유충 가수분해물 및 발효물을 이용하여 항균효과를 탐색한 결과 가수분해물 및 발효물은 Escherichia coli (ATCC 25922) 와 Bacillus cereus (ATCC 14579)에서 항균효과를 나타내지 않음
체중 변화 등을 포함한 동물사양실험	100%	거저리 유충 허물을 활용한 동물 실험결과 동물의 무게는 변화가 없는 것을 확인함, 거저리 허물 농도별 처리에 의해

세부목표	달성도	주요 연구 내용
		서도 동물의 무게에는 영향이 없었음. 거저리 유충 가수분해 물의 경우에는 100kDa 및 30kD에서 체중이 감소하는 것을 확인함. 거저리 유충 발효물의 경우 실험동물의 체중에 영향이 없는 것을 확인함
BALB/c 마우스를 활용한 갈색거저리 유충 가공기술에 따른 prebiotic 효능확인	100%	거저리 유충 허물의 4주 섭취는 장내 유산균 증식에는 영향을 미치지 않았으며 8주 섭취에 의해서는 유산균이 증가됨을 확인함 거저리 유충 가수분해물 및 발효물 에서도 장내 유산균의 수가 증가함을 확인 함 이 결과를 토대로 거저리 유충의 가공 기술에 따른 prebiotic 효과가 있는 것으로 판단됨
맹장에서의 차세대염기서열분석(NGS)	100%	거저리 유충 허물을 활용한 동물의 맹장을 활용하여 NGS를 분석한 결과 bacteroidetes균이 4주 8주 모두 증가한 것을 확인한. 거저리 유충 가수분해물을 공급한 실험동물의 맹장에서도 bacteroidetes균이 증가 하는 것을 관찰하였음. 거저리 유충 발효물을 공급한 동물의 맹장에서도 bacteroidetes균이 증가하는 것이 관찰되었음. 거저리의 허물, 가수분해물, 발효물 모두 bacteroidetes균이 증가한 것으로 보아 장내 미생물 군총이 유의하게 변화 된 것으로 판단됨
BALB/c 마우스를 활용한 갈색거저리 유충 가공기술에 따른 항알러지 효능 확인	100%	식이성 알러지의 판정을 위하여 HSA를 이용한 알러지 감각 동물모델을 구축하였으며, 거저리 발효물 처리에 의해 IgE 수준이 감소 하는 것을 관찰 하였음. 이를 통해 일반 사료 및 알러지 저감사료로 감각동물모델을 이용하여 IGE 수준을 측정한 결과 알러지 저감사료에서 IgE 수준이 감소하는 것을 관찰 하였음. 이 결과를 통해 알러지 감각 동물 모델의 구축이 완료 되었으며 거저리 발효물 및 알러지 저감 사료는 알러지 반응이 적게 일어날 것으로 판단됨
RBL-2H3 세포를 활용한 갈색거저리 유충 가공기술에 따른 항알러지 효능 확인	100%	RBL-2H3 세포에 거저리 유충 가수분해물 및 발효물을 처리하여 β -hexosaminidase를 확인한 결과 발효물 및 100kDa 가수분해 물의 경우 감소하는 경향을 보였고 30kDa의 가수분해물에서는 유의적 차이를 보였음. 알러지 유발 인자를 조절할수 있는 ERK 및 STAT3의 단백질 발현을 조사한 결과 가수분해 물에서 ERK 및 STAT3의 인산화 품이 감소 하는 것을 확인하였음
BALB/c 마우스 혈액 내 chemokine과 cytokine 그리고 interleukin 분비 확인	100%	거저리 유충 허물을 섭취한 동물의 혈액에서는 IL-6, IL17A, IL-23, TNF α 의 경우에는 Control그룹에 비해 유의적으로 사이토카인 수준이 감소하였고, 거저리 유충 가수분해물 섭취에 의해서는 IL-10, IL-13, IL-23이 감소하였음. 또한 거저리 유충 발효물에서는 IL-2, IL-4등이 감소하는 것으로 보아 알러지를 일으킬 수 있는 chemokine류가 감소 한 것으로 판단됨
BALB/c 마우스 장 내	100%	미생물과 연계한 항알러지의 경우 가수분해물 섭취의 경우

세부목표	달성도	주요 연구 내용
미생물과 연계한 항알러지 영향 확인		Barnesiella균이 증가 하였고 거저리 유충 발효물의 경우에도 Barnesiella균이 증가하였음. Barnesiella균의 경우 항염증에 도움을 준다고 알려져 있음. Barnesiella균의 증가에 의해 항알러지 효과가 있을수 있다고 판단됨

2) 연구성과 정량목표 대비 실적

성과 목표	사업화지표										연구기반지표								
	지식 재산권			기술 실시 (이전)		사업화				기술인증	학술성과				교육지도	인력양성	정책 활용·홍보		기타 (타 연구 활용 등)
	특허출원	특허등록	품종등록	건수	기술료	제품화	매출액	수출액	투자유치		논문		학술발표	정책활용			홍보전시		
											SCI	비SCI						논문평균 IF	
단위	건	건	건	건	백만원	건	백만원	백만원	백만원	건	건	건	건	건	명	건	건	건	
가중치																			
최종목표	3	2				3	3,500	805			2	4		4				3	
1차연도	목표	1										1						1	
	실적	1											1					3	
2차연도	목표	1									1	2		2				1	
	실적	1											4					1	2
3차연도	목표	1	1								1			2				1	
	실적	1	1								3	1		1					1
소계	목표	3	1								2	3		4				3	
	실적	3	1								3	1		6				5	3
	%	100	100								150	33		150				167	300
종료 1차연도		1				1	500					1							
종료 2차연도						2	1,000	230											
종료 3차연도							2,000	575											
소계		1				3	3,500	805				1							
합계	목표	3	2			3	3,500	805			2	4		4				3	
	실적	3	1								3	1		6				5	3

가) 사업화 지표

(1) 지식재산권 특허출원/등록 : 3건 특허출원완료, 1건 등록완료 및 1건 등록 진행 중

No	지식재산권 등 명칭 (건별 각각 기재)	국 명	출원			등록			기여율
			출원인	출원일	출원번호	등록인	등록일	등록번호	
1	농업부산물을 활용한 갈색거저리 전용 사료 조성물 및 이를 이용한 갈색거저리의 사육방법	대한민국	(재)전라북도 생물산업진흥원, (재)베리앤바이오식품연구소, 대한사료(주)	2017.12.14	10-2017-0172030	(재)전북생물산업진흥원	2019.7.01	제10-1997365호	
2	갈색거저리 유충을 가수분해하여 제조되는 반려동물 사료조성물 및 이의 제조방법	대한민국	(재)전라북도 생물산업진흥원, (재)베리앤바이오식품연구소, 대한사료(주)	2018.11.06	10-2018-0134913				
3	갈색거저리 유충 고상발효물을 함유하는 기능성 사료 조성물	대한민국	(재)전라북도 생물산업진흥원, (재)베리앤바이오식품연구소, 대한사료(주)	2020.1.29	10-2020-0010682				

나) 연구기반 지표 지표

(1) 논문

No	논문명	학술지명	주저자명	호	국명	발행기관	SCI여부 (SCI/비SCI)	게재일	등록번호
1	Nutrient ileal digestibility evaluation of dried mealworm (<i>Tenebrio molitor</i>) larvae compared to three animal protein by-products in growing pigs	Asian-Australian Journal of Animal Science	유종상 조경훈 홍진수 장한수 정이형 권규택 신대근 김유용	32(3)	대한민국	AJAS	SCI	2019.03	pISSN :1011-2367 eISSN :1976-5517
2	Mealworm larvae (<i>Tenebrio molitor</i> L.) exuviae as a novel prebiotic material for BALB/c mouse gut microbiota	Food science biotechnology	권규택 육현균 이수정 정이형 장한수 유종상 조경훈 공현석 신대근	29(4)	대한민국	한국식품과학회	SCI	2020.04	https://doi.org/10.1007/s10068-019-00699-1
3	거저리 유충(밀웍) 가수분해물의 장내 미생물 연구	한국식품영양과학회지	신대근 이수정 최혜란 정이형 장한수 유종상 조경훈 권규택	49(3)	대한민국	한국식품영양과학회	비SCI	2020.03	https://doi.org/10.3746/jkfn.2020.49.3.304
4	Effect of mealworm (<i>Tenebrio molitor</i>) larvae hydrolysate on nutrient ileal digestibility in growing pigs, compared to defatted mealworm larvae	Asian-Australian Journal of Animal Science	조경훈 강선우 유종상 송대길 정이형 권규택 김유용	33(3)	대한민국	AJAS	SCI	2020.03	pISSN :1011-2367 eISSN :1976-5517 (https://doi.org/10.5713/ajas)

	meal, fermented poultry by-product and hydrolyzed fish soluble								.19.0793)
5	Comparative study of dried mealworm and hydrolyzed defatted dried mealworm in diets for weaning pigs	Canadian Journal of Animal Science	김인호 Ao Xiang 유종상 조경훈	Submitted (진행 중)	Canada	CJAS	비SCI		

<p>Canadian Journal of Animal Science - Manuscript ID CJAS-2020-0047</p> <p>보낸 사람: Canadian Journal of Animal Science (anbehaf@manuscriptcentral.com) [04.09.11.51] 받는 사람: 6027727@ags.com, jyou@daehanfeed.co.kr, khcho@daehanfeed.co.kr, mhukin@daehanfeed.co.kr</p> <p>--- COVID-19 is affecting everybody's personal and professional lives. You may find our turnaround times are slower than usual. Similarly, if you need more time on your manuscript, just let us know. We hope you are staying healthy and safe. Best wishes on behalf of the Journal team. ---</p> <p>08-Apr-2020</p> <p>Dear Dr. Ao: (cc: all authors)</p> <p>Your manuscript entitled "Comparative study of dried mealworm and hydrolyzed defatted dried mealworm in diets for weaning pigs" has been successfully submitted online and will be sent to an Associate Editor, who will have it reviewed for suitability to be published in Canadian Journal of Animal Science.</p> <p>Your manuscript ID is CJAS-2020-0047.</p> <p>Please mention the above manuscript ID in all future correspondence or when calling the office for questions. If there are any changes in your street address or e-mail address, please log in to ScholarOne Manuscripts at https://mc.manuscriptcentral.com/cjas-pubs and edit your user information as appropriate.</p> <p>You can also view the status of your manuscript at any time by checking your Author Center after logging in to https://mc.manuscriptcentral.com/cjas-pubs.</p>	<p>Statements endorsed on submission are listed below. Please contact the editorial office if you believe any of them to be inaccurate or untrue.</p> <p>Thank you for submitting your manuscript to the Canadian Journal of Animal Science.</p> <p>Sincerely,</p> <p>Editorial Office Canadian Journal of Animal Science cjas@cdnsiencepub.com</p> <p>NOTE - The corresponding author selected in the system must match the corresponding author indicated on the manuscript. If it does not match, the Editorial Office will change. While the system can only accommodate one corresponding author, all authors will receive copies of decision letters.</p>
5. CJAS 심사 중	

(2) 학술발표

No	회의명칭	발표자	발표일시	장소	국명
1	2017 한국곤충학회 심포지움 및 춘계학술발표 [곤충기반 국내연구동향 및 사료생산을 위한 선결조건]	조경훈	'17년 6월 1일	전주	대한민국
2	제 17회 영양사료 단기과정 [곤충단백질의 산업적 이용에 대한 고찰]	조경훈	'18년 4월 26일	천안	대한민국

3	2018 국제발효컨퍼런스 [농업부산물을 활용한 갈색 거저리 유충 전용사료 개 발]	송대길	'18년 10월 26일	전주	대한민국
4	2018 국제발효컨퍼런스 [Effect of Dried mealworm (<i>Tenebrio molitor</i>) larvae supplementation on ileal digestibility in weaning pigs]	유종상	'18년 10월 26일	전주	대한민국
5	2018년 한국식품영양과학 회 국제심포지엄 및 정기학 술대회 [밀웜 (거저리) 허 물의 알러지반응 및 prebiotic 효과]	권규택	'18년 11월 2일	부산	대한민국
6	2019년 한국식품영양과학 회 국제심포지엄 및 정기학 술대회 [거저리 유충(밀웜) 가수분해물의 장내 미생물 연구]	권규택	'19년 10월 23일	제주	대한민국

(3) 홍보전시

No	일시	실적내용	성과	비고
1	전라일보 2017년 6월 8일	• 곤충활용 반려동물 사료 연구 생진원 공모선정 사 업비 확보 언론홍보	• 기존 반려동물 사료와는 차별화된 소재 및 기능성 으로 사료제품 개발	대한 민국
2	전북도민일보 2017년 6월 9일	• 곤충산업으로 새로운 미래 성장동력 창출 언론홍보	• 도내 곤충산업의 관심 증가로 시장의 다양성 등 산업발전의 영향	대한 민국
3	국제곤충심포지움 2017년 10월 27일	• 국제곤충심포지움을 후원 하며 곤충자원(갈색거저리 유충)을 활용하는 연구성 과를 홍보	• 국제적인 곤충자원 활용 업체의 인맥형성 및 추후 연구성과 실용화를 위한 협력체계 확보	대한 민국
4	2018년 7월 5일	• “Smartheart presents	• Pet 박람회 참석자를 대	태국

	~9일	Thailand International Dog Show 2018” 에서 갈색 거저리를 함유하는 Pet 간식(소시지) 제품 홍보	<p>상으로 갈색거저리 유충(곤충)를 함유하는 간식에 대한 홍보 및 반응 확인</p> <ul style="list-style-type: none"> 태국 현지인들은 식용곤충에 대한 경험으로 긍정적인 반응을 보인 반면, 식용곤충에 대하여 아직 생소한 바이어들은 다소 거부감을 보임에 따라 홍보 및 교육에 더 많은 역량을 투입해야 함을 느낌 	
5	새전북신문 2019년 11월 4일	<ul style="list-style-type: none"> 곤충산업화 촉진을 위한 연구사업 기술중개 등 수행제안으로 곤충산업클러스터 최적지로 홍보 	<ul style="list-style-type: none"> 농생명 인프라와 연계된 곤충혁신산업생태계 형성 미래 생물자원으로 자리매김 기대 	대한민국

(4) 국제화/협력성과

No	일시	실적내용	성과	비고
1	2018년 9월 5일	<ul style="list-style-type: none"> Dr. Lữ Thị Diệu Trang 과 베트남 호치민농남대학의 곤충연구 현황 대담 	<ul style="list-style-type: none"> 동남아 기후라 곤충에 대한 연구가 활발할 것으로 기대했으나 의외로 곤충자원에 대한 연구는 활발하지 않았으며, 특히 갈색거저리는 유해종으로 분류되어 자유스러운 연구가 어려운 실정이었음 추후 우리나라의 연구 결과를 바탕으로 베트남과 곤충자원에 대한 연구 및 교류 시 서로 연구결과를 공유하기로 함 	대한민국

(5) 시장조사 보고서

No	연도	보고서 구분	발간일	등록번호
1	2018	해외시장조사(중국)	2018.10.26	전북생물산업진흥원 연구기획팀-693(2018.10.10)

2	2019	해외시장조사(일본)	2019.04.03	전북생물산업진흥원 연구기획팀 -92(2019.03.12)
---	------	------------	------------	------------------------------------

(6) 기타 연구성과

No	시제품명	출시/제작일	제작업체명	설치장소	이용분야
1	곤충사육사 모델 (Pilot plant)	2017.12.22	대한사료(주)	대한FS	곤충사육 연구 및 모니터링
2	고소애 라바독	2019.11	대한사료(주)	케이펫페이	반려견 사료

제3절. 목표 미달성 시 원인(사유) 및 차후 대책

- 본 연구를 통해 당초 계획했던 갈색거저리 유충 및 유충기반 가수분해물의 영양학적 특성을 파악하고 기능성을 높이기 위한 공정(효소가수분해 및 발효공정)을 개발하였으며, 이를 활용하여 시제품을 제조하여 소비자 설문조사를 실시 하였음. 이를 통해 특허출원과 등록 각각 2건과 1건, 논문 4편, 학술발표 6건, 홍보전시 5건, 기타 연구활동 3건 등의 실적을 달성하였음
- 사업화 지표 목표 중 특허출원 1건에 대하여 현재 출원이 진행 중에 있으며, 논문 1편이 투고 완료되어 심사 중에 있음에 따라 계획한 목표를 달성할 수 있을 것으로 사료됨. 특히 논문의 경우, 총 5편 중 3편이 SCI급 논문으로 게재되었거나 게재될 예정인 바, 논문의 학술적인 완성도가 목표대비 높음

제4절. 관련분야 기여도

1) 곤충자원을 동물성 단백질 대체제로 활용하여 산업적 적용성 확대에 기여

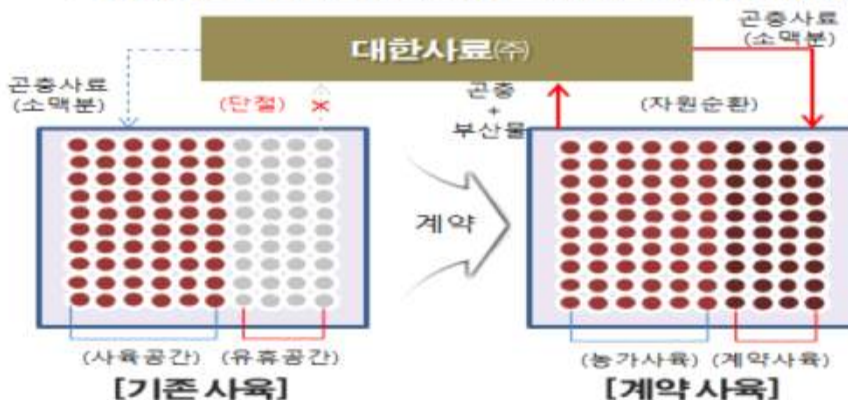
- 곤충자원은 단백질 함량이 높고 아미노산 조성이 우수하여 어분 및 육분 등의 동물성 단백질 원료 대체제로 이용되기 위한 충분한 요건을 갖추고 있는 것으로 확인되었으나, 산업적으로 활성화가 되어 있지 않음
- 곤충자원의 단백질원으로서의 높은 영양학적 가치는 단순히 기존 애완용 동물 사료뿐만 아니라 관상어, 양식어류 등 다양한 범위의 사료로 그 시장을 확대할 수 있을 것으로 판단됨
- 단백질 분해효소, 단백질 분해효소를 분비하는 미생물 또는 특정 공법을 이용하여 곤충자원을 가수분해할 경우, 소화가 용이한 형태인 저분자형태의 수용성 단백질 함량이 증가하여 이용성이 높은 원료로 가치를 높일 수 있어, 알러지 저감 혹은 분변량 감소 등의 효과를 기대할 수 있음



(2016. 08. 대한사료(주) 중앙연구소)

2) 계약 사육을 통한 생산 안정화 시스템 구축 (곤충 대량생산 체계 구축)에 기여

- 생산된 곤충자원의 비즈니스 모델이 확립되지 않아 판매경로 및 재고문제 발생으로 사육규모의 60~70%만이 사육되고 있음
- 단위면적당 생산성 저하로 곤충자원의 가격 상승과 같은 악순환이 거듭됨
- 계약 사육으로 사육곤충의 전량수거와 곤충사료 공급을 통한 사육비 절감이 가능함



3) 곤충자원을 활용하여 개발 완료된 기존 기술과 본 기획과제를 통하여 개발된 기술을 결합하여 기능성 Pet사료 개발 및 생산에 접목함으로써 산업화 추진에 기여

- 고부가 기능성 프리미엄 국산사료 개발로 내수시장 점유율 확대를 통한 수입사료 대체 효과 기대
- 과학적 기술정보에 근거한 Pet 생애주기별 기능성사료 개발로 소비자 Need 충족
- 임상적 실험을 통하여 효과 및 효능이 검증된 기능성 사료개발로 소비자 신뢰구축
- Pet food 수출로 무역수지 개선

4) 용도별 소재화를 통한 곤충자원의 고부가가치 및 생산단가 최적화

- 활용 용도에 최적화된 최종 공정물의 pilot scale 공정개발로 곤충자원의 활용도 증가 및 산업화 기반확충 (곤충자원의 사료 가치 현실화 및 기능성 물질의 고부가가치화)

구분	사료 산업용 단백질	식용소재	기능성 소재
정의	Pet food 및 Aqua feed 원료	식용	건강증진 기능성 소재
내용	<ul style="list-style-type: none"> • 동물성 단백질인 어분 및 육분 등을 대체하여 단백질 공급원으로 사용 	<ul style="list-style-type: none"> • 식용쿠키 및 건빵 등 제조 시 원료 또는 첨가제로 배합 • 헬스 건강식품(단백질 농축 제품) 첨가제 또는 원료로 배합 	<ul style="list-style-type: none"> • Pet food 용 건강 Care 제품 개발 시 마케팅 포인트 활용 • 동물병원 치료 시 치료 보조제로 간식형태의 제품으로 개발
제품예시			
Value-chain에서의 역할	<ul style="list-style-type: none"> • 생산되는 갈색거저리 유충을 가장 많이 소비할 수 있는 분야이지만 기존 동물성 단백질 원료 대비 가격경쟁력이 떨어져 수익성 부분에서 기여도 낮음 	<ul style="list-style-type: none"> • 식용소재 및 기능성 소재로 활용 시 단순 단백질 원료로 활용하는 것에 비해서는 부가가치가 높아 수익성 확보가 가능함 • 기능성 소재를 추출하고 남은 추출 잔여물의 단백질 함량도 높아 단백질 원료로 Pet food 및 Aqua feed에 배합하여 사용가능 • 다양한 분야에 응용 가능하지만 소비량은 원료 사용 시보다는 적음 	

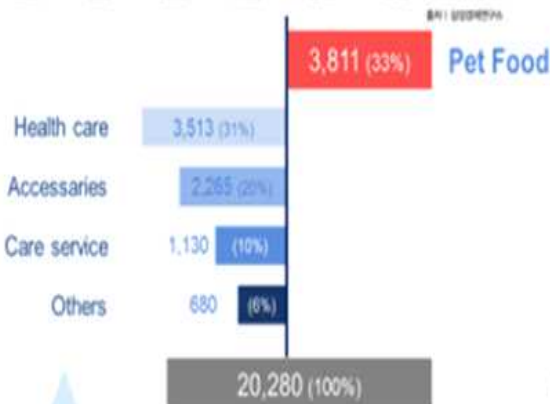
제2절. 소비트렌드에 최적화된 맞춤형 Pet food의 생산으로 시장점유확대

- 1인 가구 비중, 노령화 지수가 높아짐에 따라 Pet을 키우는 가구 비중이 증가하고 있으며, 이와 함께 Pet의 수명 또한 증가하고 있는 추세임
- Pet 산업 성장 단계별 처방·예방사료 포트폴리오 구축으로 기술사업화 촉진
 - 1단계 : 고급 단백질(육분 등 대체) Pet food → 연구사업 목표
 - 2단계 : 알러지 저감(피부, 천식 등) 기능성 사료 → 사업종료 3년 이내
 - 3단계 : 노령반려동물 질환 (비만, 관절염 등) 처방식 사료 → 사업종료 5년 이내



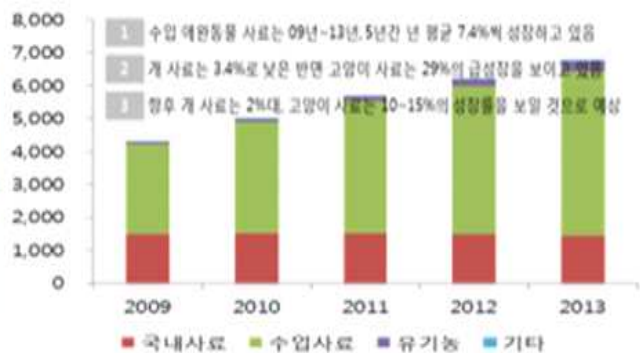
1 Pet Market

- 1인 가구 증가 추세와 반려동물 인구 천만 시대로 관련 산업 급성장 예상
- 고급 원료를 첨가한 사료 선호와 소비자의 Needs 다양화
- Pet Care Service, 최고급, 친환경에 관한 선호도 증가



2016 한국 애완동물 부문별 시장 규모를 보면, Pet food가 차지하는 비율이 33%로 가장 높으며, 그 다음으로 Pet care 분야가 31%를 차지함 [금액단위: 억 원] **

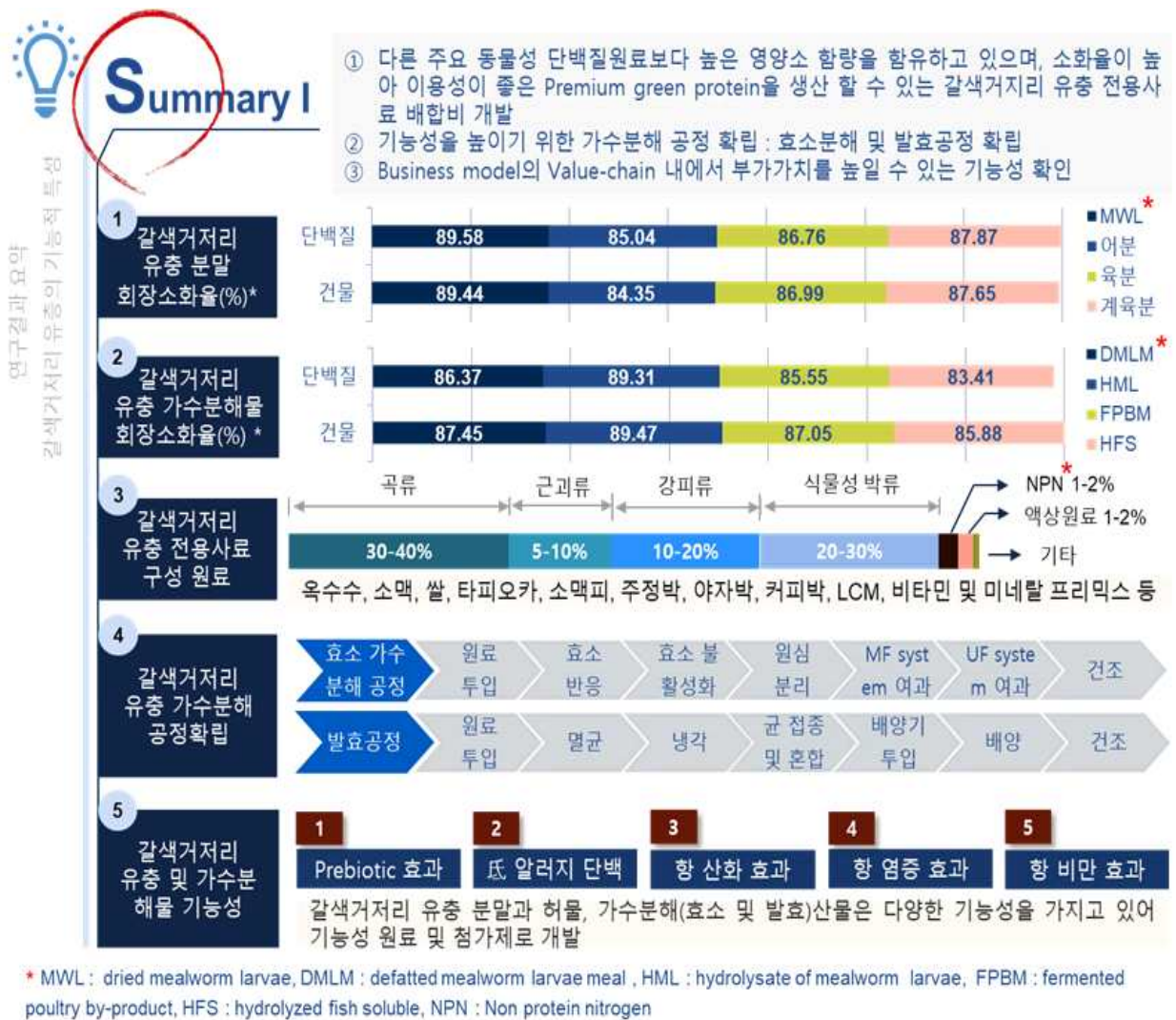
브랜드 파워와 기능성 concept 으로 수입사료 점유율이 가파르게 상승하였으며, 상대적으로 국내 pet food는 성장잠재 현상을 보이고 있음 [금액단위: 억 원]



Source: 2013년 농림경제연구소 제215호*, 국립수의과학검역원, 한국펫산업협회, 통계청 외**

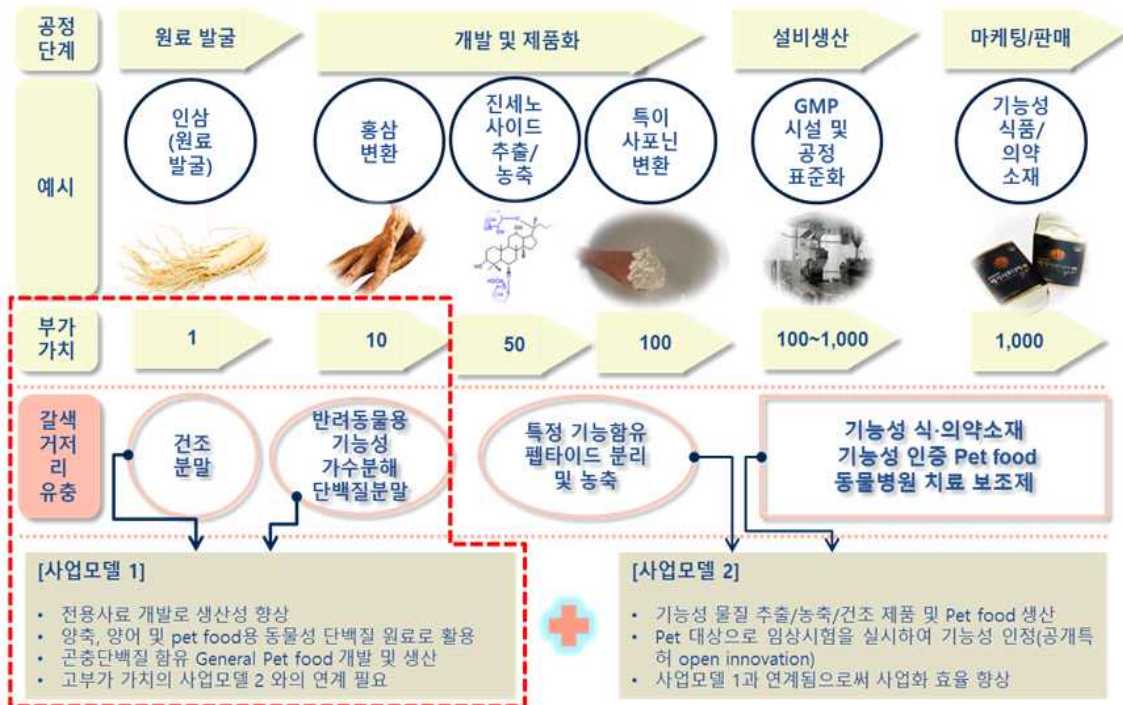
- 갈색거저리 유충을 활용한 pet 관련 제품은 간식류의 제품이 주류를 이루며, 현재까지 food 카테고리 범주에 포함될 수 있는 제품은 시중에 시판되고 있는 제품은 없음 (과거 천하제일에서 개발하여 시판하였으나 곤충자원에 대한 인식과 기존제품과의 차별성 부족 등의 이유로 판매가 활성화 되지 않음). 홍보와 인식 부족으로 인한 곤충자원이 가지고 있는 한계는 이번 연구를 통하여 밝혀진 5가지 주요 기능성으로 기존 동물성단백질과의 차별성을 부각시키고, 지구 온난화를 예방할 수 있는 “녹색단백질 (Green protein)” 개념을 마케팅 포인트로 활용하여 소비자들의 관심을 유도함으로 극복

- 갈색거저리 유충의 생산비가 높아 pet food에 대량 사용하기에는 어려움이 있으나, 연구 결과에 의하면 갈색거저리 유충의 영양소 함량과 소화율이 기존에 사용중인 여러 동물성 단백질보다 높아 사용량 5% 이하에서는 배합비 조정을 통하여 경제성 있는 제품을 생산할 수 있음을 시제품을 개발하고 생산하며 확인하였으며, pet 박람회에도 참석한 소비자를 대상으로 시제품을 배포하며 홍보한 결과 기호성, 알러지 발생 등 기존 제품과 차이가 없음을 확인.



- 갈색거저리 유충 및 가수분해물 함유 pet food 제품의 차별성은, 갈색거저리 유충 및 가수분해물의 영양학적인 우수성 뿐만 아니라 갈색거저리 유충 및 가수분해물의 기능성에서 찾을 수 있음. 과제 수행 중 실시한 사양시험 및 장내 미생물 분석을 통하여 검증된 이들 기능성을 타 제품과의 차별화전략에 활용하며 pet 산업 성장 단계별 (1단계 : 동물성단백질 (육분, 계육분 등) 대체 pet food 개발, 2단계 : 알러지 저감 (피부, 천식 등) 기능성 pet food 개발, 3단계 : 노령반려동물 질환 (비만, 관절염 등) 처방식 pet food 개발)로 타겟시장을 구분하여 제품을 개발함으로써 시장 확대
- 『필수 아미노산 및 필수지방산 함량이 높고, 알러지를 유발하지 않으며 항염증 펩타이드를 함유하고 있는』 등의 문구를 활용하여 제품의 차별성을 홍보하며, 개발제품의 카테고리

리는 우선 popular급 pet food에서 시작하여 점차 프리미엄, 슈퍼프리미엄 및 홀리스틱 급으로 제품을 확대 (프리미엄급 이상의 제품을 구매하는 고객들의 경우 제품 내에 함유



Source: 농림축산식품부(2016), 농생명 기능성 소재산업 육성방안 마련 연구, 판철호 편집)

되어 있는 원료 및 제품의 성분 등에 대한 관심도가 높은 경우가 많아 아직 곤충단백질의 우수성에 대한 홍보가 미흡한 상황에서 제품에 대한 선입견을 줄 수 가 있음)

제3절. 국가 정책에 부합하는 사업화 지속적 추진

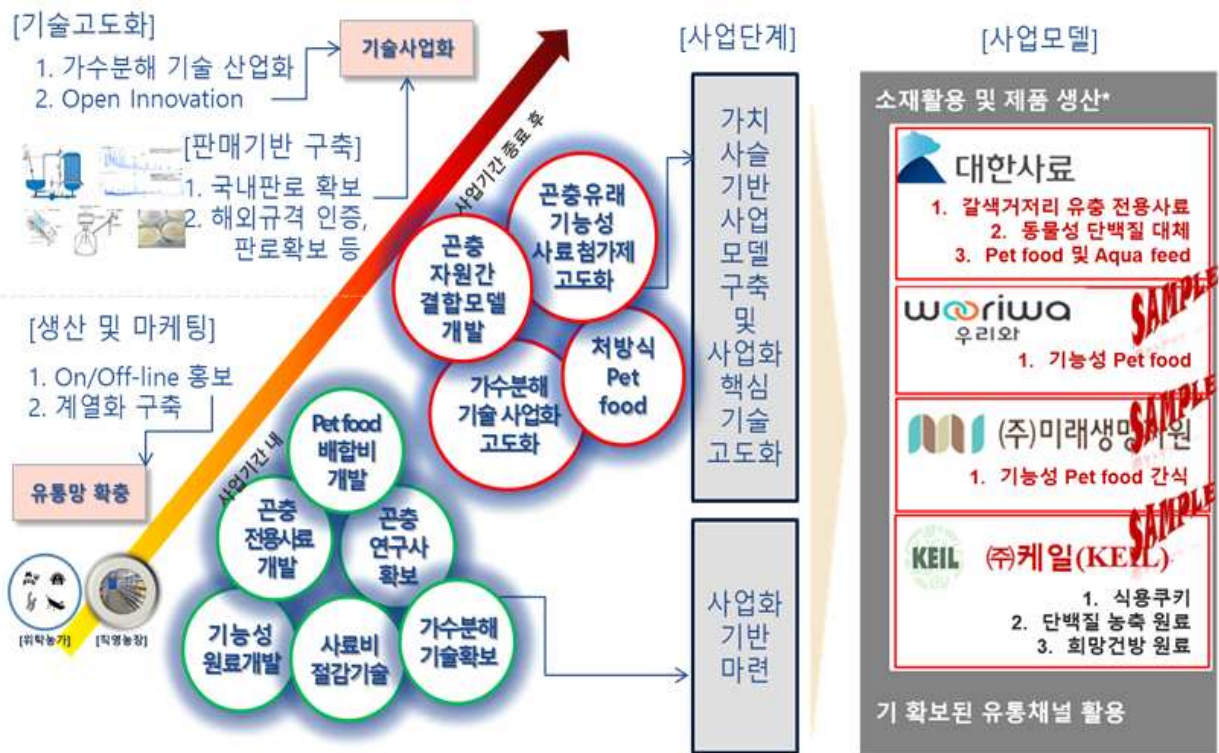
- 농식품부는 곤충산업이 농업인에게는 새로운 소득원으로, 소비자에게는 가치소비의 기회로, 국가적으로는 창조경제의 모델로 자리 잡도록 「제2차 곤충산업 육성 5개년 계획 (‘16~’ 20)」을 확정하여, 2020년 곤충산업을 5,000억원 규모로 확대하고, 사육농가는 1,200호로 확대하는 것을 목표로 마련함
 - 곤충산업규모 : (‘11) 1,680억원 → (‘15) 3,039 → (‘17) 4,000 → (‘20) 5,000
 - 곤충사육농가 : (‘11) 265호 → (‘15) 724 → (‘17) 1,000 → (‘20) 1,200
- 이를 위한 대책으로 소비·유통체계 고도화, 신시장 개척, 생산기반 조성, 산업 인프라 확충 등을 추진과제로 선정하였음
- 신시장 개척분야에 대한 세부추진 방향으로, 사료, 식용 등 대량소비가 가능함으로 농가 소득창출 기여도가 큰 분야를 개별 핵심 과제로 발굴하고 중점 지원해 나갈 계획임
 - 사료용은 곤충자원의 고단백질성과 기능성 발굴의 성과를 기반으로 단기적으로는 애완동물용 프리미엄 사료의 원료로 사용될 수 있도록 지원함
 - 식용은 일반식품원료 전환에 발맞추어 다양한 제품개발 및 지속적인 홍보를 기반으로 자생적 생태계 기반을 조성함
- Pet사료의 경우, 동물성 원료의 수급이 불안정하고 유기농 펫사료 인증제 등의 미비로 우

수한 품질의 Pet사료 개발 유인이 부족한데, 이를 위해 정부는 고품질 펫사료를 중심으로 생산 및 유통기반을 확충하고 Pet 산업기반을 강화하고자 Pet사료 분야에서는 곤충을 이용한 고품질 사료개발을 통해 곤충류 원료 범위를 확대하여 연관분야 고부가가치 창출에 기여할 수 있는 정책을 마련하고자 함

- 이를 위해 사업모델을 [1]과 [2]로 구분하여 진행하였으며, 본 과제로 [사업모델 1] 단계 완료되었고, 이를 기반으로 가치사슬을 완성할 수 있는 [사업모델 2]를 위한 추가연구를 지속적으로 진행 할 것임

제4절. 연구결과의 의의

- 갈색거저리 유충의 영양적인 특징점을 광범위한 실험을 통하여 검증하였으며, 잠재력 이면의 허들을 명확히 규정하고 이를 극복하여 사업화 기반을 확보할 수 있는 방안을 마련하였을 뿐만 아니라, 이를 고도화 시켜 경쟁력 있는 사업모델로 구체화시킬 수 있는 동력을 확보함



붙임 : 참고문헌

1. 곤충 주요기술의 나라별 기술수준, 농촌진흥사업 기본 계획, 농촌진흥청, 2014 년.
2. 곤충으로 양식어류 사료개발, 수산양식, 2016 년 11 월.
3. 관세청 수출입 무역통계자료, 2018 년.
4. 국내 곤충산업현황, 한국농촌경제연구원 보고서, 2013 년.
5. 국내 연구기관 사육곤충 현황, 한국과학기술 연구원 생명공학 연구소, 2010 년.
6. 농림식품기술기획평가원, 창 Vol.(76) 2019 가을호. 30-32.
7. 농수축산신문, 2014 년 6 월 30 일.
8. 농수축산신문, 2016 년, 2 월 10 일.
9. 농식품 분야 및 농촌진흥청 개발 국유특허권 기술목록집, 농업기술 실용화재단, 2016 년.
10. 농촌경제연구원, 곤충관련 전문가 조사결과, 2016 년.
11. 농촌진흥청, 2018 곤충산업 실태조사.
12. 미래농업으로 곤충산업 활성화 방안, 한국농촌경제연구원, 2015 년.
13. 식용곤충 표준사육지침서, 농촌진흥청 국립농업과학원, 2014 년.
14. 에히메 대학 수산연구센터 생명과학부 연구자료, 2013 년.
15. 일본 국립연구개발법인 과학기술진흥기구 연구자료, 2012 년.
16. 일본 농림수산성 농림수산기술회의 곤충테크놀로지 연구보고서, 2003 년.
17. 전 세계 육류소비증가 추세 및 2030 년 필요량 추정, Rabobank, 2011 년 보고서.
18. Aguilar-Miranda ED, Lopez MG, Escamilla-Santana C, *et al.* Characteristics of maize flour tortilla supplemented with ground *Tenebrio molitor* larvae. J Agric Food Chem 2002;50:192-5.
19. Bethlehem S, Bexley J, Mueller RS. Patch testing and allergen-specific serum IgE and IgG antibodies in the diagnosis of canine adverse food reactions. Vet Immunol Immunopathol. 2012;145:582-9.
20. Cho JH, Kim IH. Evaluation of the apparent ileal digestibility (AID) of protein and amino acids in nursery diets by *In vitro* and *In vivo* methods. Asian-Aust J Anim Sci 2019;32:387-94.
21. Chobert JM, Sitohy MZ, Whitaker JR. Solubility and emulsifying properties of caseins modified enzymatically by *Staphylococcus aureus* V8 Protease. J Agri Food Chem 1988;36:220-4.
22. Edible insect, Future prospects for food and feed security, FAO, 2013 년
23. FAO. World Livestock 2011 - Livestock in food security. Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO), Rome, Italy; 2011.
24. Finke MD. Complete nutrient content of four species of feeder insects. Zoo Bio 2013;32:27-36.
25. Insect, Pigprogress, Vol. 32, No. 3, 2016.
26. Ishida R, Masuda K, Kurata K, Ohno K, Tsujimoto H. Lymphocyte blastogenic responses to inciting food allergens in dogs with food hypersensitivity. J Vet Int

Med. 2004;18:25-30.

27. Jeffers JG, Shanley KJ, Meyer EK. Diagnostic testing of dogs for food hypersensitivity. *J Am Vet Med Assoc.* 1991;198:245-50.
28. Johansen C, Mariani C, Mueller RS. Evaluation of canine adverse food reactions by patch testing with single proteins, single carbohydrates and commercial foods. *Dig Vet Dermatol.* 2017.
29. Laura G, Ilaria B, Sihem D, Achille S, Francesco G. Animals fed insect-based diets: State-of-the-Art on digestibility, performance and product quality. *Animals* 2019;9:170. <https://doi.org/10.3390/ani9040170>.
30. Life Diagnostics, Inc. technical support date on Dog Immunoglobulin-E (IgE) ELISA kit. 2015
31. Makkar HPS, Tran G, Heuze V, Ankers P. State-of-the-art on use of insects as animal feed. *Anim Feed Sci Technol* 2014;197:1-33.
32. Nimmo Wilkie JS, Yager JA, Eyre P and Parker WM. Morphometric analyses of the skin of dogs with atopic dermatitis and correlations with cutaneous and plasma histamine and total serum IgE. *Vet Pathol.* 1990;27:179-86
33. PROteiNINSECT White Paper, 2016.
34. Stamer A. Insect proteins—a new source for animal feed. *EMBO Rep* 2015;16:676-80.
35. Veldkamp T, Bosch G. Insects: a protein-rich feed ingredient in pig and poultry diets. *Anim Front* 2015;5:45-50.
36. Yoo JS, Cho KH, Hong JS, *et al.* Nutrient ileal digestibility evaluation of dried mealworm (*Tenebrio molitor*) larvae compared to three animal protein by-products in growing pigs. *Asian-Aust J Anim Sci* 2019;32:387-94.
37. de Oliveira FP, Mendes RH, Dobbler PT, Mai V, Pylro VS, Waugh SG, *et al.* Phenylketonuria and gut microbiota: A controlled study based on next-generation sequencing. *PLoS One.* 2016. 11:e0157513.
38. Hamed I, Ozogul F, Regenstein JM. Industrial applications of crustacean by-products (chitin, chitosan and chitooligosaccharides): A review. *Trends Food Sci. Technol.* 2016. 48:40-50.
39. Jung CE. Prospects of insect food commercialization: A mini review. *Korean J Soil Zool.* 2013. 17(1):5-8.
40. Kim SG, Kim JE, Oh HK, Kang SJ, Koo HY, Kim HJ, *et al.* Feed supplementation of yellow mealworms (*Tenebrio molitor* L.) improves blood characteristics and meat quality in broiler. *J Agric Sci Technol.* 2014. 49:9-18.
41. Kim SA, Park SH, Lee SI, Owens CM, Ricke SC. Assessment of chicken carcass microbiome responses during processing in the presence of commercial antimicrobials using a next generation sequencing approach. 2017. *Sci Rep-UK.* 7:43354.
42. Ley RE, Turnbaugh PJ, Klein S, Gordon JI. Microbial ecology: human gut

microbes associated with obesity. *Nature*. 2006. 444(7122):1022–1023

43. Mariat D, Firmesse O, Levenez F, Guimarães V, Sokol H, Doré J, et al. The Firmicutes/Bacteroidetes ratio of the human microbiota changes with age. *BMC Microbiol*. 2009. 9:123.
44. Min KT, Kang MS, Lee SH, Han JS, Kim AJ. Manufacture and quality evaluation of cookies prepared with mealworm (*Tenebrio molitor*) powder. *Korean J Food Nutr*. 2016. 29(1):12–18.
45. Nakano V, Ignacio A, Fernandes MR, Fukugaiti MH, Avila-Campos MJ. Intestinal *Bacteroides* and *Parabacteroides* species producing antagonistic substances. *Curr Trends Microbiol*. 2006. 1:61–64.
46. Park J, Jung C. Current status and prospects of animal feed insect industry. *Korean J Soil Zool*. 2013. 17(1–2):9–13.
47. Ringø E, Zhou Z, Olsen RE, Song SK. Use of chitin and krill in aquaculture – the effect on gut microbiota and the immune system : a review. *Aquac Nutr*. 2012. 18:117–131.
48. Rumpold BA, Schluter OK. Nutritional composition and safety aspects of edible insects. *Mol Nutr Food Res*. 2013. 57:802–823.
49. Rumpold BA, Schluter OK. Potential and challenges of insects as an innovative source for food and feed production. *Innov Food Sci Emerg Technol*. 2013. 17:1–11.
50. Scott KP, Gratz SW, Sheridan PO, Flint HJ, Duncan SH. The influence of diet on the gut microbiota. *Pharmacol Res*. 2013. 69:52–60.
51. Segata N, Haake SK, Mannon P, Lemon KP, Waldron L, Gevers D, Huttenhower C, Izard J. Composition of the adult digestive tract bacterial microbiome based on seven mouth surfaces, tonsils, throat and stool samples. *Genome Biol*. 2012. 14;13(6):R42.
52. Shockley, M., Dossey, A. T. *Insects for human consumption. mass production of beneficial organisms*. London : Elsevier. 2014. 617–652.
53. Siemianowska E, Kosewska A, Aljewicz M, Skibniewska KA, Polak-Juszczak L, Jarocki A, Jedras M. Larvae of mealworm (*Tenebrio molitor* L.) as European novel food. *Agric. Sci*. 2013. 4:287–291.
54. Song Y-S, Kim M-W, Moon C, Seo D-J, Han YS, Jo YH, et al. Extraction of chitin and chitosan from larval exuvium and whole body of edible mealworm, *Tenebrio molitor*. *Entomol Res*. 2018. 48: 227–233.
55. Yi L, Lakemond CMM, Sagis LMC, Eisner-Schadler V, van Huis A, van Boekel MAJS. Extraction and characterization of protein fractions from five insect species. *Food Chem*. 2013. 141:3341–3348.

주 의

1. 이 보고서는 농림축산식품부에서 시행한 기술사업화지원사업의 연구보고서입니다.
2. 이 보고서 내용을 발표하는 때에는 반드시 농림축산식품부에서 시행한 기술사업화지원사업의 연구 결과임을 밝혀야 합니다.
3. 국가과학기술 기밀유지에 필요한 내용은 대외적으로 발표 또는 공개하여서는 아니됩니다.