

발간등록번호

11-1543000-004017-01

쌍별귀뚜라미 가수분해물을 이용한 고부가가치 소재 및 제품개발

2022.4.20.

주관연구기관 / (주)한미양행
공동연구기관 / 단국대학교 천안캠퍼스 산학협력단
경민대학교 산학협력단

2021

농림축산식품부
농림식품기술기획평가원

농림축산식품부
(전문기관)농림식품기술기획평가원

제출문

제 출 문

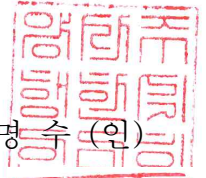
농림축산식품부 장관 귀하

본 보고서를 “쌍별귀뚜라미 가수분해물을 이용한 고부가가치 소재 및 제품개발”(개발기간 : 2020. 04. 29. ~ 2021. 12. 31.)과제의 최종보고서로 제출합니다.

2022. 4. 20.

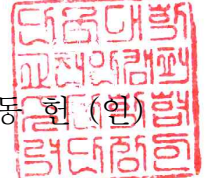
주관연구기관명 : (주)한미양행

(대표자) 정 명 수 (인)



공동연구기관명 : 단국대학교 천안캠퍼스 산학협력단

(대표자) 백 동 현 (인)



공동연구기관명 : 경민대학교 산학협력단

(대표자) 김 환 철 (인)



주관연구책임자 : 정 명 수

공동연구책임자 : 정 윤 화

공동연구책임자 : 김 수 희

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

최종보고서							보안등급						
							일반[○], 보안[]						
중앙행정기관명		농림축산식품부			사업명		사업명						
전문기관명 (해당 시 작성)		농림식품기술기획평가원			내역사업명 (해당 시 작성)		유용 농생명자원 산업화 기술개발						
공고번호		농축2020-64호			총괄연구개발 식별번호 (해당 시 작성)								
					연구개발과제번호		120041-2						
기술 분류	국가과학기술 표준분류	LB1801	40%	LB1805	40%	LA0906	20%						
	농림식품과학기술 분류	PA0201	35%	PA0204	35%	RA0306	30%						
총괄연구개발명 (해당 시 작성)		국문											
		영문											
연구개발과제명		국문		쌍별귀뚜라미 가수분해물을 이용한 고부가가치 소재 및 제품개발									
		영문		Development of value-added food products using hydrolyzates of two-spotted cricket (<i>Gryllus bimaculatus</i>)									
주관연구개발기관		기관명		(주)한미양행		사업자등록번호		128-81-06465					
		주소		(10808)경기도 파주시 문산읍 통일로 1888번길 44-20		법인등록번호		110111-0503593					
연구책임자		성명		정명수		직위		대표이사					
		연락처		직장전화		휴대전화							
				전자우편		국가연구자번호		10812407					
연구개발기간		전체		2020. 04. 29 - 2021. 12. 31(1년 9개월)									
연구개발비 (단위: 천원)		정부지원 연구개발비		기관부담 연구개발비		그 외 기관 등의 지원금		합계			연구개발비 외 지원금		
		현금		현금		현금		현금		합계			
총계		528,000		7,540		169,260		535,540		169,260	704,800		
1단계		1년차		226,000		7,540		67,860		233,540		67,860	
		2년차		302,000		-		101,400		302,000		101,400	
공동연구개발기관 등 (해당 시 작성)		기관명		책임자		직위		휴대전화		전자우편		비고	
		단국대학교 천안캠퍼스 산학협력단		정윤화		교수						역할	
		경민대학교		김수희		교수						기관유형	
연구개발담당자 실무담당자		성명		김안나		직위		과장					
		연락처		직장전화		휴대전화							
				전자우편		국가연구자번호		11083627					

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

2021년 12월 31일

연구책임자: 정명수 (인)

주관연구개발기관의 장: 정명수 (직인)

공동연구개발기관의 장: 백동현 (직인)

공동연구개발기관의 장: 김환철 (직인)

농림축산식품부장관·농림식품기술기획평가원장 귀하

< 요약 문 >

※ 요약문은 5쪽 이내로 작성합니다.

사업명	유용 농생명자원 산업화 기술개발			총괄연구개발 식별번호 (해당 시 작성)			
내역사업명 (해당 시 작성)				연구개발과제번호		120041-2	
기술분류	국가과학기술 표준분류	LB1801	40%	LB1805	40%	LA0906	20%
	농림식품 과학기술분류	PA0201	35%	PA0204	35%	RA0306	30%
총괄연구개발명 (해당 시 작성)							
연구개발과제명	쌍별귀뚜라미 가수분해물을 이용한 고부가가치 소재 및 제품개발						
전체 연구개발기간	2020. 04. 29 - 2021. 12. 31(1년 9개월)						
총 연구개발비	총 704,800천원 (정부지원연구개발비: 528,000천원, 기관부담연구개발비 : 176,800천원, 지방자치단체: 천원, 그 외 지원금: 천원)						
연구개발단계	기초[] 응용[] 개발[○] 기타(위 3가지에 해당되지 않는 경우)[]			기술성숙도 (해당 시 기재)		착수시점 기준(3) 종료시점 목표(9)	
연구개발과제 유형 (해당 시 작성)							
연구개발과제 특성 (해당 시 작성)							

연구개발 목표 및 내용	최종 목표	쌍별귀뚜라미 가수분해물을 이용한 간 건강 및 면역기능 개선 소재 및 제품 개발
	전체 내용	<ul style="list-style-type: none"> ○ 쌍별귀뚜라미 가수분해물 소재의 개발 및 공정 표준화 <ul style="list-style-type: none"> - 쌍별귀뚜라미 가수분해물의 제조법 확립 - 쌍별귀뚜라미 가수분해물 제조공정의 개발 및 표준화 ○ 쌍별귀뚜라미 가수분해물의 간 건강 및 면역기능 개선 효과 평가 <ul style="list-style-type: none"> - 세포 및 동물모델에서 쌍별귀뚜라미 가수분해물의 간 건강 개선 효과 평가 - 세포 및 동물모델에서 쌍별귀뚜라미 가수분해물의 면역기능 개선 효과 평가 ○ 쌍별귀뚜라미 가수분해물을 이용한 가정간편식(HMR) 제품 개발 <ul style="list-style-type: none"> - 쌍별귀뚜라미 가수분해물의 가정간편식(HMR)적용 소재 특성 평가 - 가정간편식(HMR) 제품 개발 ○ 최종 개발제품의 제조 공정 최적화 및 산업화 <ul style="list-style-type: none"> - 쌍별귀뚜라미 가수분해물을 이용한 다양한 제품 개발 및 제조 - 대량생산제조 공정확립

연구개발성과	<p>1. 쌍별귀뚜라미 가수분해물 소재의 개발 및 공정표준화</p> <p>1) 쌍별귀뚜라미 가수분해물의 제조법 확립</p> <ul style="list-style-type: none"> ○ 쌍별귀뚜라미 탈지조건 확립 <ul style="list-style-type: none"> - 물리적 압착 방법을 사용하여 투입량, 조건, 시간 등 설정 ○ 쌍별귀뚜라미 가수분해 전처리방법 확립 <ul style="list-style-type: none"> - 가수분해 사용 효소 선정(Flavourzyme, Neutras) 및 가수분해도를 높이기 위해 고압증기멸균를 이용한 전처리방법 설정 <p>2) 쌍별귀뚜라미 가수분해물 제조공정의 개발 및 표준화</p> <ul style="list-style-type: none"> ○ 쌍별귀뚜라미 및 쌍별귀뚜라미 가수분해물의 기준 규격 설정 ○ 쌍별귀뚜라미 및 쌍별귀뚜라미 가수분해물 공정 표준화 <ul style="list-style-type: none"> - 소재 생산 완료(품목보고 1건) ○ 쌍별귀뚜라미 가수분해물의 유통기한 설정 ○ 쌍별귀뚜라미 가수분해물 활용 조성물 개발(2종) <ul style="list-style-type: none"> - 소재 2종 생산 완료(품목보고 2건) ○ 쌍별귀뚜라미 가수분해물 소재 활용 시제품 제조(2종)
--------	-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

	<ul style="list-style-type: none"> - 시제품 2종 생산 완료(품목보고 2건) ○ 쌍별귀뚜라미 가수분해물 제조를 위한 대량생산 설비 및 대량생산 공정 확립 <p>2 쌍별귀뚜라미 가수분해물의 간 건강 및 면역기능 개선 효과 평가</p> <p>1) 세포 및 동물모델에서 쌍별귀뚜라미 가수분해물의 간 건강 개선 효과 평가</p> <ul style="list-style-type: none"> ○ 간세포 모델(HepG2)에서 쌍별귀뚜라미 가수분해물의 간 건강 개선 효과 평가 <ul style="list-style-type: none"> - Tunicamycin 처리모델에서 세포 내 지질축적 억제 효과, AST, ALT 분비 조절 효과 및 소포체 스트레스 관련 유전자발현 억제 효과 확인 - Palmitic acid 처리모델에서 세포 내 지질축적 억제 효과, ALT 분비 조절 효과 및 소포체 스트레스 관련 유전자발현 억제 효과 확인 ○ 동물모델에서 쌍별귀뚜라미 가수분해물의 간 건강 개선 효과 평가 <ul style="list-style-type: none"> - ER 스트레스로 인한 지방간의 완화에 관여하는 ApoB의 발현 증진 효과 확인 <p>2) 세포 및 동물모델에서 쌍별귀뚜라미 가수분해물의 면역기능 개선 효과 평가</p> <ul style="list-style-type: none"> ○ 세포 모델에서 쌍별귀뚜라미 가수분해물의 면역 기능개선 효과 평가 <ul style="list-style-type: none"> - 비장세포 내 자연살해세포 활성 조절 효과 확인 - RAW 264.7 대식세포의 증식능 조절 효과 확인 - 복강대식세포의 탐식 활성과 면역 매개체 분비증진 효과 확인 ○ 동물모델에서 쌍별귀뚜라미 가수분해물의 면역 기능개선 효과 평가 <ul style="list-style-type: none"> - 혈구 세포에 나타내는 영향 확인(빈혈 및 염증 완화) - 혈장 사이토카인 농도 변화 확인(염증반응 완화) - 비장세포 증식과 자연살해세포 활성 증가 억제 확인 - Cyclophosphamide에 의한 간 손상 완화 및 산화스트레스 억제 효과 확인 <p>3. 쌍별귀뚜라미 가수분해물을 이용한 가정간편식(HMR) 제품 개발</p> <p>1) 쌍별귀뚜라미 가수분해물의 가정간편식(HMR)적용 소재 특성 평가</p> <ul style="list-style-type: none"> ○ 쌍별귀뚜라미 가수분해물의 물리적, 조리가공 특성 평가 <ul style="list-style-type: none"> - 수분, 가용성고형분, 염도, pH, 수분결합능력, 조단백, 단백질 용해도 등 평가 - 식품 유형별 쌍별귀뚜라미 가수분해물 첨가 범위 확인(떡, 제면, 제과, 제빵 등) ○ 쌍별귀뚜라미 가수분해물 관능평가 <ul style="list-style-type: none"> - 쌍별귀뚜라미 가수분해물의 묘사분석 - 쌍별귀뚜라미 가수분해물 응용 셰이크 제품(1세부제공) 소비자기도 확인 <p>2) 가정간편식(HMR) 제품 개발</p> <ul style="list-style-type: none"> ○ 쌍별귀뚜라미 가수분해물을 이용한 HMR제품 조성 및 시제품 개발 <ul style="list-style-type: none"> - 스프, 볶음김밥, 치아바타샌드위치, 프로틴 영양떡 등 개발(5종) ○ HMR제품 관능평가 <ul style="list-style-type: none"> - 귀뚜라미감자스프, 치아바타샌드위치 2종에 대한 관능평가 실시 - 냉동김밥, 프로틴영양떡 2종에 대한 소비자기도 확인 <p>4. 최종 개발제품의 제조 공정 최적화 및 산업화</p> <p>1) 쌍별귀뚜라미 가수분해물을 이용한 다양한 제품 개발 및 제조</p> <ul style="list-style-type: none"> ○ 간보호 및 면역증진 기능을 갖는 제품 개발 <ul style="list-style-type: none"> - 간 건강 및 면역증진 원료 소재 개발 및 제조 - 간 건강 및 면역증진 원료 활용 제품 개발 및 제조(품목보고 5건) <p>2) 대량생산제조 공정확립</p> <ul style="list-style-type: none"> ○ 쌍별귀뚜라미 가수분해물 대량생산 공정 확립 ○ 쌍별귀뚜라미 가수분해물 활용 간 건강 및 면역증진 소재 대량생산 공정 확립 ○ 간 건강 및 면역증진 소재 활용 제품 대량생산 공정 확립 <p>3) 개발제품의 산업화</p> <ul style="list-style-type: none"> ○ 개발 제품 5종 사업화
<p>연구개발성과 활용계획 및 기대 효과</p>	<ul style="list-style-type: none"> ○ 간은 인체로 유입된 각종 독성물질을 대사하고, 대장 점막을 통해 흡수된 세균에 대하여 방어작용을 수행하는 중요한 기관임. 최근 신·변종 감염질환의 발생 빈도가 증가하면서 면역기능을 개선하기 위한 건강식품에 대한 요구가 증가하고 있음. 그러므로 간 건강과 면역기능 개선 효과가 있는 쌍별귀뚜라미 가수분해물 소재 및 제품 개발은 국민 건강에 기여할 수 있음 ○ 연구수행을 통해 양성된 전문인력은 학계 과학자, 정부출연연구기관 및 기업부설 연구소 등의 인적자원으로 활용할 수 있으며, 이에 따른 고용 창출 효과가 발생

	<ul style="list-style-type: none"> ○ 식용곤충의 효능을 과학적으로 입증함으로써 식용곤충 산업이 미래의 고부가가치 블루오션 산업으로서 가치를 인정받을 수 있음 ○ 본 과제에서 개발한 쌍별귀뚜라미 가수분해물 소재와 간편대용식 제품은 주관기관의 유통경로를 통하여 산업화 ○ 쌍별귀뚜라미 가수분해물 소재는 간편대용식 제품뿐만 아니라 건강기능식품 등 광범위하게 적용될 수 있어 곤충 기반 신산업의 창출과 사업영역의 확대 가능 ○ 쌍별귀뚜라미 가수분해물 소재를 활용한 고부가가치 제품은 관련 기업의 성장, 사육 농가의 소득증대, 국내 농식품의 경쟁력 강화에 기여 ○ 간, 면역기능개선 효과 검증을 통해 향후 건강기능식품 개별인정형으로 확대 가능. 											
연구개발성과의 비공개여부 및 사유												
연구개발성과의 등록·기탁 건수	논문	특허	보고서 원문	연구 시설·장비	기술 요약 정보	소프트웨어	표준	생명자원		화합물	신품종	
								생명 정보	생물 자원		정보	실물
	3	5	1									
연구시설·장비 종합정보시스템 등록 현황	구입 기관	연구시설·장비명	규격 (모델명)	수량	구입 연월일	구입가격 (천원)	구입처 (전화)	비고 (설치장소)	ZEUS 등록번호			
국문핵심어 (5개 이내)	쌍별귀뚜라미		가수분해물		간 건강		면역기능		가정간편식			
영문핵심어 (5개 이내)	Two-spotted cricket		Hydrolyzates		Liver health		Immune function		Home meal replacement			

< 목 차 >

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

별첨 자료 (참고 문헌 등)

1. 연구개발과제의 개요

1-1. 연구개발 목적

가. 연구개발의 최종목표 및 주요내용

○ 본 연구개발의 최종목표

식품 원료로 등록 된 식용곤충 중 단백질 함량이 높으면서 대량생산이 가능하고 글루탐산이 많이 함유되어 있어 식품 원료로 사용이 기대되는 **쌍별귀뚜라미를 이용하여 가수분해물 제조법을 확립하고, 간 건강 및 면역기능에 대한 효능을 검증하여 제품화할 수 있도록 원료 및 제품의 표준화를 실시하는 것이 최종목표**

○ 본 연구개발의 주요내용

- 쌍별귀뚜라미 가수분해물 소재 개발 및 공정 표준화
- 쌍별귀뚜라미 가수분해물의 간 건강 및 면역기능 개선 효과 평가
- 쌍별귀뚜라미 가수분해물을 이용한 가정간편식(HMR)제품 개발
- 쌍별귀뚜라미 가수분해물을 이용한 최종 개발 제품의 제조공정 최적화 및 사업화

나. 과제별 연구개발의 목표 및 내용

1. 제1세부과제((주)한미양행) : 쌍별귀뚜라미 가수분해물 소재의 개발 및 사업화

- 쌍별귀뚜라미 가수분해물의 제조법 확립 및 공정 표준화
- 쌍별귀뚜라미 가수분해물 소재 이용한 시제품 제조 및 제조공정 확립
- 쌍별귀뚜라미 가수분해물 소재 이용한 제품 대량생산 공정 확립 및 생산
- 최종 개발제품의 사업화

2. 제1협동과제(단국대학교) : 쌍별귀뚜라미 가수분해물의 간 건강 및 면역기능 개선 효과 평가

- (간 건강)세포 모델에서 쌍별귀뚜라미 가수분해물의 ER스트레스억제, 지방축적 억제 효과평가
- (간 건강)동물 모델에서 쌍별귀뚜라미 가수분해물의 간 건강 개선 효과 평가
- (면역기능)쌍별귀뚜라미 가수분해물의 비장세포 증식능 조절, 복강대식세포 활성화 효과 평가
- (면역기능)동물 모델에서 쌍별귀뚜라미 가수분해물의 면역기능 개선 효과 평가

3. 제2협동과제(경민대학교) : 쌍별귀뚜라미 가수분해물을 이용한 간편식(HMR)제품 개발

- 쌍별귀뚜라미 가수분해물 조리가공특성 및 관능평가
- 쌍별귀뚜라미 가수분해물을 이용한 HMR 개발 및 시제품의 관능평가

다. 연차별 연구개발의 목표 및 내용

1) 1년차(2020년)

구분	연구개발 목표	연구개발 내용 및 범위
1세부 (주)한미양행	쌍별귀뚜라미 가수분해물의 제조 및 공정 표준화	1) 쌍별귀뚜라미 가수분해물의 제조법 확립 • 탈지, 고압처리 등 전처리 후 가수분해물 제조 • 가수분해물의 항산화 활성 분석 2) 쌍별귀뚜라미 가수분해물 공정 표준화 • 가수분해물의 기준 규격설정 • 가수분해물의 유통기한 설정 3) 쌍별귀뚜라미 가수분해물 소재 시제품 제조 • 가수분해물 formulation 개발 • 가수분해물 제조 시 첨가되는 부형제와의 적합성 평가 • 최종 제형의 안정성평가 및 제조공정 확립
1협동 단국대학교	쌍별귀뚜라미 가수분해물의 간 건강 개선 효과 평가	1) 세포모델에서 쌍별귀뚜라미 가수분해물의 ER 스트레스 억제, 지방축적 억제 효과 평가 • HepG2 간세포에서 쌍별귀뚜라미 가수분해물의 세포독성 측정 • HepG2 간세포에 쌍별귀뚜라미 가수분해물을 처리하여 배양한 후, tunicamycin을 분주하여 ER 스트레스와 지방축적을 유도 • 세포 내 지질(중성지방 등) 농도 등을 측정 • 지방축적 관련 유전자(SREBP 등)의 발현 분석 • ER 스트레스 관련 유전자(GRP78, CHOP 등)의 발현 분석 2) 동물모델에서 쌍별귀뚜라미 가수분해물의 간 건강 개선 효과 평가 • C57BL/6J 마우스에 쌍별귀뚜라미 가수분해물을 급여하고, tunicamycin을 복강에 주사하여 ER stress와 지방간 유발 • 심장 채혈을 하여 실험동물을 희생 후, 간 등의 조직 무게 측정 • 혈청에서 간 기능 관련 효소(AST, ALT 등)의 농도 측정 • 혈청에서 지질(TG, TC 등) 농도 측정 • 간 조직에서 H&E 염색을 통하여 지질축적 양상을 분석하고, 지질 농도(총 지질, TG 등) 등을 측정 • 간 조직에서 지방축적 관련 유전자(SREBP 등)의 발현 분석 • 간 조직에서 ER 스트레스 관련 유전자(GRP78, CHOP 등)의 발현 분석
2협동 경민대학교	쌍별귀뚜라미 가수분해물의 HMR적용 소재 특성평가	1) 쌍별귀뚜라미 가수분해물 조리가공 특성 평가 • 가수분해물의 물리적 특성 평가 • 가수분해물의 조리가공 특성 평가 2) 쌍별귀뚜라미 가수분해물의 관능평가 • 가수분해물의 분석적 관능평가 • 가수분해물의 소비자기도도 평가

2) 2년차(2021년)

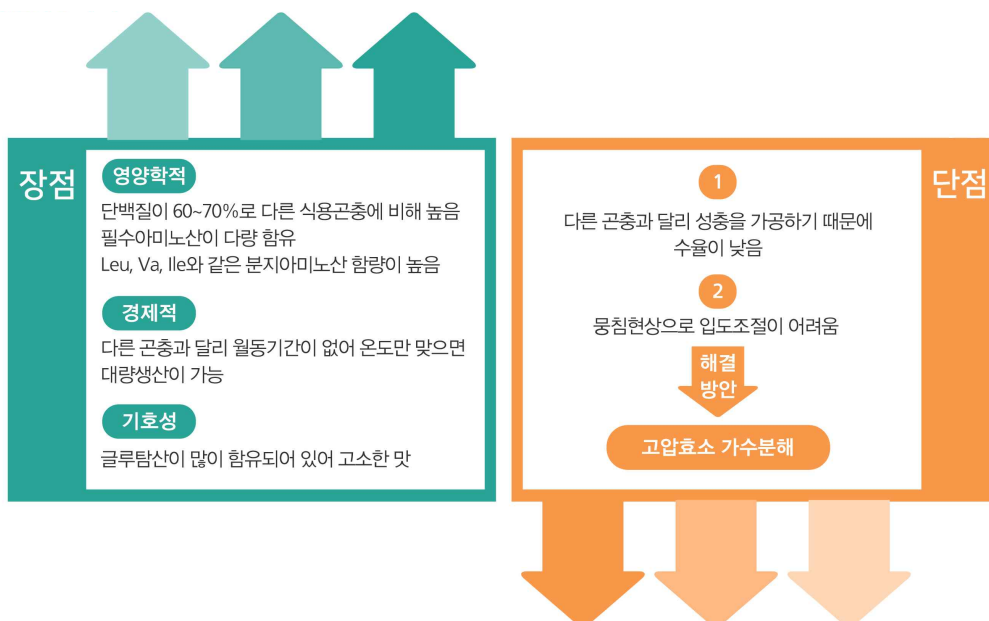
구분	연차별목표	개발 내용 및 범위
1세부 (주)한미양행	개발제품의 제조공정 최적화 및 사업화	1) 시제품 제조공정 확립 <ul style="list-style-type: none"> • 규격 및 용량설정 • 균질성 확보를 위한 기준 및 시험 방법 확립 • 제품의 안정성 평가 • 유통기한 설정 2) 제품 대량생산 공정 확립 및 생산 <ul style="list-style-type: none"> • 대량 생산조건 최종 확립 • 품목신고용 영양성분 분석 3) 최종 개발제품의 사업화 <ul style="list-style-type: none"> • 간보호 및 면역증진 기능을 갖는 제품 4종 개발(원료, 제품) • 마케팅 분석을 통한 사업화
1협동 단국대학교	쌍별귀뚜라미 가수분해물의 면역기능 개선 효과 평가	1) 쌍별귀뚜라미 가수분해물의 비장세포 증식능 조절 효과 평가 <ul style="list-style-type: none"> • Balb/c 마우스의 비장을 무균적으로 적출하여 단일세포 부유액 제조 • 비장 세포에 LPS, ConA와 다양한 농도로 희석한 쌍별귀뚜라미 가수분해물을 분주하여 세포증식을 측정 • 비장 세포에 쌍별귀뚜라미 가수분해물을 처리하여 배양한 후 배양액의 사이토카인(IFN-γ 등)의 농도 등을 측정 2) 쌍별귀뚜라미 가수분해물의 복강 대식세포 활성화 효과 평가 <ul style="list-style-type: none"> • 마우스의 복강에 3% thioglycollate 배지를 주입하여 복강으로 대식세포를 유도한 후, 복강 대식세포를 RPMI 1640 배지를 이용하여 회수 • 쌍별귀뚜라미 가수분해물을 복강 대식세포와 함께 배양 • 대식세포 활성화 측정 • 대식세포 배양액의 NO 농도 등을 측정 3) 동물모델에서 쌍별귀뚜라미 가수분해물의 면역기능 개선 효과 평가 <ul style="list-style-type: none"> • Balb/c 마우스에 쌍별귀뚜라미 가수분해물을 섭취시킨 후, cyclophosphamide를 복강에 주사하여 면역저하 유도 • 심장 채혈을 하여 실험동물을 희생 후, 체중 및 흉선, 비장 등의 무게를 측정 • 혈청에서 사이토카인(IFN-γ 등)과 면역글로불린(IgM 등)의 농도 측정 • 비장 세포를 분리하여 비장 세포증식을 측정 • 비장에서 YAC-1 세포를 타겟으로 자연살해세포(NK cell) 활성화 등을 측정
2협동 경민대학교	쌍별귀뚜라미 가수분해물을 이용한 HMR 제품 개발	1) 쌍별귀뚜라미 가수분해물을 이용한 HMR 개발 <ul style="list-style-type: none"> • HMR제품에 적합한 부재료의 선정 • 개발 HMR제품의 조성 개발 • 시제품 4종 개발 2) 개발 시제품의 관능평가 <ul style="list-style-type: none"> • 개발 시제품의 분석적 관능평가 • 개발 시제품의 소비자 기호도 조사

1-2. 연구개발의 필요성

가. 연구개발의 배경 및 필요성

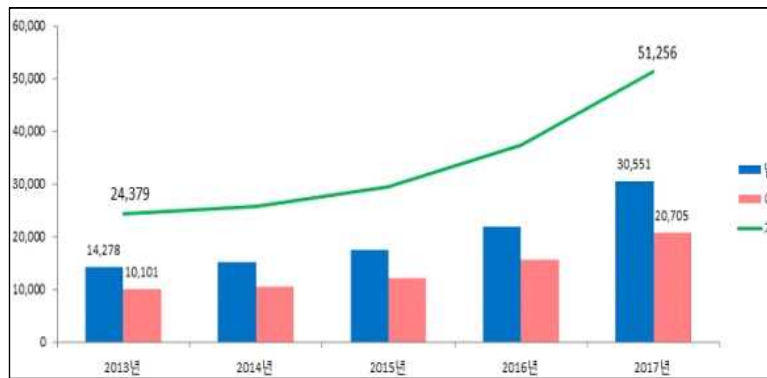
1) 쌍별귀뚜라미를 이용한 소재 및 제품 개발의 필요성

- 곤충은 단백질 함량이 높고 필수아미노산이 풍부한 영양공급원으로 영양학적, 경제적, 환경친화적으로 이로운 지속 가능한 소재임
- 쌍별귀뚜라미의 단백질 함량은 60~70%로 다른 식용곤충에 비해 많은 편이며, 특히 필수아미노산인 Lys과 감칠맛의 대표성분인 Glu 함량이 높으며, Leu, Va, Ile과 같은 분지아미노산의 수준이 높아 **단백질의 급원으로도 이용가치가 높음**
- 쌍별귀뚜라미는 월동기간을 거치지 않고 온도만 맞으면 사계절 번식이 가능하여 **대량 생산이 가능**
- 쌍별귀뚜라미는 다른 식용곤충과 달리 유충이 아닌 성충을 사용하기 때문에 가공 시 수율이 낮거나 입도 조절에 어려움이 있음
- 쌍별귀뚜라미를 분말 소재로 사용 시에는 뭉침 현상이 발생하여 식품에 고농도로 첨가 시 외관과 맛에 부정적인 영향을 미쳐 이를 개선하기 위하여 쌍별귀뚜라미를 **가수분해하면 물에 쉽게 녹아 관능적 특성을 높일 수 있음**
- 효소를 이용하여 쌍별귀뚜라미 분말을 가수분해할 경우 유해물질을 생성하지 않으면서, 영양적 가치와 기능성(생리활성)을 높일 수 있음
- 가수분해물 제조 시 원료를 **고압처리 후 효소를 사용**하면 고압처리 하지 않은 원료 가수분해보다 더 **효율적으로 가수분해물을 제조할 수 있음**
- 식품의 가수분해로부터 생성된 생리활성 펩타이드는 생물학적 조절자나 신경전달자로 작용하여 체내에서 **기능성 소재로서 활용할 수 있음**
- 쌍별귀뚜라미의 외골격을 이루는 키틴은 장내 유익균의 증식에 긍정적인 영향을 주어 장 질환은 물론 각종 대사질환과 천식, 알레르기과 같은 면역기능 장애를 개선할 수 있음
- 따라서, 영양적 가치와 기능성이 우수한 식품소재로 활용할 수 있는 **쌍별귀뚜라미 가수분해물 소재의 생산 기술을 확립하고, 이를 활용한 고부가가치 제품 개발이 필요함**



2) 간 건강 및 면역기능 개선용 식품소재 개발의 필요성

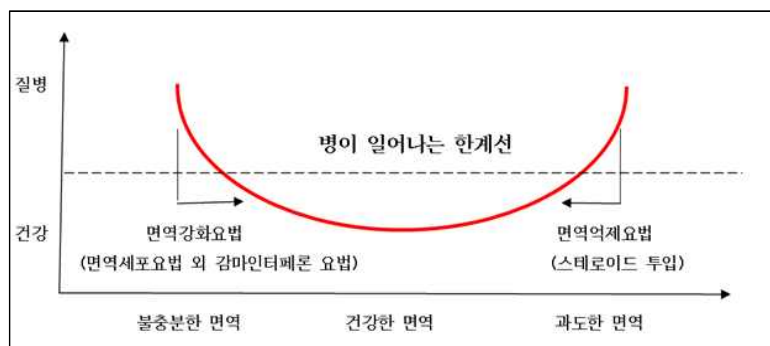
- **간**은 인체로 유입된 영양소의 소화·저장·이용 등에 관여하며 각종 독성물질을 대사하고, 대장 점막을 통하여 흡수된 세균에 대하여 방어작용을 수행하는 중요한 기관임
- 국민건강보험공단 통계에 의하면 우리나라는 비알코올성 지방간으로 요양기관을 방문한 환자가 2013년 24,379명에서 2017년 51,256명으로 2배 이상 증가하였으며, 통계청이 발표한 ‘사망원인통계’에 의하면 2018년 간암 사망률은 폐암 다음으로 가장 높아 **간 건강에 도움을 줄 수 있는 제품의 수요는 앞으로도 꾸준할 것으로 예상함**
- 지금까지 쌍별귀뚜라미의 간 보호 효과가 일부 보고되었지만, 대부분 식이 또는 알코올 유도 간 손상에 대한 효과이며, 간 지방증의 원인인 ER 스트레스와 ER 스트레스에 의한 비알코올성 지방간에 대한 효과에 대한 연구는 미비함



[출처: 국민건강보험공단 / 단위: 명]

그림. 연도별 건강보험 비알코올성 지방간 진료실 인원

- **면역**은 체내에 존재하는 자기방어체계로서 외부로부터 침입해오는 각종 물질이나 생명체를 자기 자신에 대한 이물질로 인식하여 제거하고 대사시키는 과정임. 면역계의 기능이 저하되면 감염에 취약하므로 대수롭지 않은 병원체의 감염도 치명적인 결과를 가져올 수 있음
- 최근 SARS, 신종플루, MERS, 신종 Corona virus 등 신·변종 감염질환의 발생 빈도가 증가하면서 **면역기능을 개선하기 위한 건강식품 시장은 해마다 증가하고 있음**
- 동의보감에서는 귀뚜라미가 정력보강, 자양, 진해, 백일해, 파상풍, 신체허약 등에 효능이 있다고 하였으며, 현대 과학에서는 **항산화, 항염증** 등의 효과가 있는 것으로 밝혀짐
- 쌍별귀뚜라미 가수분해물에 의한 **면역기능 개선 식품소재 개발이 적합할 것으로 생각되며**, 이에 대한 세부적인 **과학적 근거 마련이 필요함**



[출처: Casadevall과 Pirofski 2003]

그림. 손상-면역반응 프레임

- 따라서, 본 과제에서는 쌍별귀뚜라미 가수분해물이 세포 및 동물모델에서 ER 스트레스에 의한 간 손상 억제 효능을 평가하고, 면역세포의 증식 및 활성화에 나타내는 효과를 평가하여, **쌍별귀뚜라미 가수분해물의 간 건강 및 면역기능 개선 소재 및 제품 개발을 위한 자료로 활용**

3) 가정간편식 제품 개발의 필요성

- 국내 소비자는 최근 1인 가구 증가, 노령인구의 증가, 여성의 경제활동 참여 증가, 소득수준의 향상, 주 5일제로 인한 여가생활 증가 등으로 식품 구입 및 소비단계에서 편의성을 추구하게 되었음
- 편의성을 추구하는 소비자의 증가로 조리를 간소화하여 가정식을 대신할 수 있는 가정간편식 (Home Meal Replacement, HMR)에 수요가 증가함
- 최근에는 가정간편식 시장에서 좀 더 편리함을 추구하는 간편대용식(Convenient Meal Replacement, CMR)의 제품 시장이 급격하게 성장하고 있음
- CMR은 별도의 조리 과정 없이 먹을 수 있는 식사 대체 제품을 의미하며, 대표적인 제품으로는 ‘켈로그’의 ‘콘푸로스트’(시리얼형), ‘웨이커’의 ‘오트밀컵’(시리얼형), ‘닥터유’의 ‘에너지바’(바형), ‘인테이크’의 ‘모닝죽’(액상형), ‘랩노쉬’의 ‘푸드셰이크’(분말형) 등이 있음



그림 . 간편대용식 제품 예

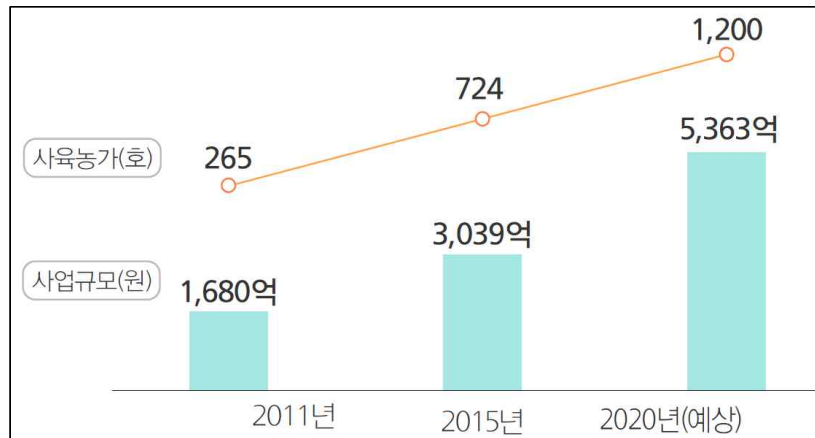
- 쌍별귀뚜라미는 단백질뿐만 아니라 마그네슘과 칼슘, 비타민 D2가 풍부하여 영양적으로 우수하며, 고소한 맛으로 인하여 제품화하기에 적합함
- 따라서 생리활성이 우수한 쌍별귀뚜라미를 가수분해물 소재를 사용하여 영양적 특성과 기능성 및 기호도가 향상된 HMR 제품의 개발이 가능하며, 이는 갈수록 더 건강 지향적이고자 하는 HMR 시장에서 경쟁력을 갖춘 제품이 될 것임

1-3. 국내 기술 수준 및 시장현황

가. 국내 기술 수준 및 시장현황

1) 식용곤충의 기술 수준 및 시장현황

- **곤충자원의 식품원료 등록** : 오래전부터 식품원료로 이용되어 온 메뚜기, 누에번데기, 백강잠과 농촌진흥청 연구성과로 새로운 식품원료로 인정받은 갈색거저리 유충, 장수풍뎅이 유충, 흰점박이꽃무지 유충, 쌍별귀뚜라미 등 7종이 일반 식품으로, '20년 아메리카왕거저리 유충, 수벌번데기, '21년 풀무치가 한시적 식품 원료로 인정받아 **총 10종이 식용으로 사용 가능**
- 갈색거저리 유충, 쌍별귀뚜라미, 장수풍뎅이, 흰점박이꽃무지 등의 식용곤충이 **식품공전에 등록('16, 농과원)**된 이후 생산농가 및 소비자의 관심이 급증하여 국민들이 안심하고 먹을 수 있는 기반이 마련되었음에도 불구하고 실제 **소비자들의 식용곤충의 구매의욕을 유도할 제품은 미흡한 실정임**



[출처: 농림축산식품부]

그림. 우리나라 곤충 사육농가와 곤충산업 규모

- 쌍별귀뚜라미는 마우스에서 **알코올로 인한 간 손상을 완화**하고(Hwang 등, 2019), **고지방식이로 인한 지방간을 억제**하는 것으로 보고됨(Im 등, 2018)
- 최근 식용곤충의 면역기능 개선 효과가 보고되고 있으며, 임상연구로는 수술 후 암 환자를 대상으로 갈색거저리유충 분말을 섭취하게 하였을 때, **NK세포와 Cytotoxic T세포가 증가**한다고 하였으며('17~'19, 연세의료원), 장수풍뎅이유충 렉틴의 면역증강 효과(전경희 등, 2001), 흰점박이꽃무지 유충 및 홍삼추출물을 유효성분으로 하는 면역강화 조성물 등 또한 보고되었음(특허출원 제10-2016-0104039, 2016).
- 식사 섭취가 힘든 환자들에게 영양적 균형을 유지할 수 있도록 영양밀도가 높은 암환자 고단백식, 위장관질환식, 연하곤란식 등 개발('14~, 농과원, 강남세브란스병원) → 2017년부터 본격적인 식용곤충을 활용한 **환자식 개발 연구수행**
 - 소화 흡수율이 낮은 유아, 환자와 노인 등 **취약집단을 위한 특수의료용식품 개발 연구수행** 중('15~, 농과원, (주)한국메디칼푸드)
 - 암환자의 **재가식 메디푸드 식단 제품 개발 연구 수행** 중('20~, (주)한미양행, 농과원, 강남세브란스병원, 경민대학교)

2) 간 건강, 면역기능 개선 기능성 식품산업의 기술 수준 및 시장현황

- 국내의 경우 생활 수준의 향상으로 삶의 질에 대한 의식이 높아지면서 건강기능식품에 관한 관심과 그 수요가 꾸준히 증가하고 있음. 국내 건강기능식품 시장 규모는 '18년 4조 3,000억 원에서 '19년 4조 6,000억 원으로 증가하였으며, '20년에는 5~9% 성장한 5조 원으로 예상
- '17년 국내 건강기능식품 품목별 매출 현황' 자료에 의하면 홍삼 제품이 전체 시장의 46%를 차지하여 가장 높은 점유율을 보였으며, 개별인정제품이 그 뒤를 이었음. 개별인정제품 중에는 당귀혼합추출물(면역기능 개선)과 헛개나무과병추출분말(간 건강)이 가장 높은 매출액을 보임

순위	품목	총 매출액 (억원)					YoY (%)	CAGR (3Y, %)	
		2012	2013	2014	2015	2016			2017
1	홍삼	6,484	5,869	6,330	6,943	9,900	10,358	4.6	17.8
2	개별인정제품	1,807	2,324	3,177	3,195	2,357	2,450	3.9	-8.3
	당귀혼합추출물	245	314	396	714	533	582	9.1	13.7
	헛개나무과병추출분말	502	541	379	255	249	226	-9.1	-15.8
	초록입홍합추출오일복합물	28	36	70	103	145	194	33.4	40.3
	보이차추출물	-	-	-	-	-	185	-	-
	폴리코사놀-사탕수수 왁스알코올	19	23	32	50	93	115	23.1	53.0
	팻사과추출폴리페놀	-	-	-	1	86	114	32.9	-
	과채유래유산균	-	-	57	112	126	77	-38.9	10.5
	미역 등 복합추출물(잔티젠)	-	-	63	183	93	70	-24.3	3.8
	황기추출물등복합물(HT042)	-	-	-	266	98	67	-31.9	-
	저분자콜라겐펩타이드	-	-	-	0	5	60	1002	-
	백수오등복합추출물	100	704	1,193	380	47	40	-14.8	-67.8
	대두배아열수추출물 등 복합물	61	27	36	44	30	39	29.7	2.9
	핑거루트추출분말	-	-	81	56	22	38	76.4	-22.2
	루테인지아잔틴복합추출물	-	-	-	-	30	34	12.3	-
	돌외잎주정추출분말	-	63	51	40	47	32	-31.6	-14.8
	기타 개별인정제품	852	616	906	991	754	579	-23.2	-10.9
3	비타민 및 무기질	1,646	1,747	1,415	2,079	1,843	2,259	22.6	16.9
4	프로바이오틱스	519	804	1,388	1,579	1,903	2,174	14.2	16.1
5	밀크씨슬추출물	135	308	676	705	1,091	1,042	-4.5	15.5

표. 건강기능식품 품목별 매출액 현황

- 비타민C, 프로바이오틱스 등 면역체계 카테고리 제품의 매출이 52% 증가
- '17년 수출용 건강기능식품 매출액은 고시형이 985억 원, 개별인정형 91.6억 원이었고, 고시형 중에는 프로바이오틱스(361.4억 원)와 홍삼(304.5억 원)이 가장 높은 비율을 차지하였고, 개별인정형 중에는 당귀등혼합추출물(75.7억 원)이 대부분을 차지함
- 최근 사스(SARS), 메르스(MERS), 코로나19(COVID-19)의 유행을 계기로 면역에 관한 관심이 더욱 높아지고 있으며, 면역조절 기능성 식품에 대한 수요가 더욱 증가하고 있음
- 현재 국내 간 건강과 관련한 건강기능식품의 고시형 원료는 1종, 개별인정형 원료는 11종이며, 면역기능 개선과 관련한 건강기능식품의 고시형 원료는 7종, 개별인정형 원료는 17종임

고시형 원료

원료명	기능(지표)성분	기준	일일섭취량
밀크씨슬추출물	실리마린	320~660 mg/g	130 mg

개별인정형 원료

표고버섯균사체추출물, 표고버섯균사체, 복분자추출분말, 유산균발효 다시마추출물, 도라지추출물, 유산균발효마늘추출물, 발효울금, 브로콜리스프라우트분말, 곰피추출물, 헛개나무과병추출분말, 땃덩이나무열매추출분말

[자료 : 식품안전나라]

표. 간 건강 건강기능식품 원료 현황 및 기준

고시형 원료

원료명	기능(지표)성분	기준	일일섭취량
인삼	Ginsenoside Rg1, Rb1	Rg1+Rb1 = 0.8~34 mg/g	3~80 mg
홍삼	Ginsenoside Rg1, Rb1, Rg3	Rg1+Rb1+Rg3 = 2.5~34 mg/g	3~80 mg
스피루리나	총 엽록소	5 mg/g	62~72 mg
클로렐라	총 엽록소	10 mg/g	125~150 mg
알코시글리세롤 함유 상어간유	Alkoxyglycerol	180 mg/g	06.~2.7 g
알로에 겔	총 다당체	30 mg/g	100~420 mg
상항버섯 추출물	베타글루칸	87~162 mg/g	3.3g

개별인정형 원료

구아바잎추출물 등 복합물, 다래 추출물, 피카오프레토분말 등 복합물, 소엽추출물, 표고버섯균사체, 헤모힘 당귀혼합추출물, L-글루타민, 청국장균배양정제물(폴리감마글루탐산칼륨), 동충하초주정추출물, 효모베타글루칸, 인삼다당체추출물, 바이오게르마늄효모, Enterococcus faecalis 가열처리건조분말, 표고버섯균사체, 피엘에이지(PLAG, 1-palmitoyl-2-linoleoyl-3-acetyl-rac-glycerol), 썩부쟁이추출분말, L. plantarum IM76과 B. longum IM55 복합물(NVP1703)

[자료 : 식품안전나라]

표. 면역기능 개선 건강기능식품 원료 현황 및 기준

3) 가정 간편식(HMR) 기술 수준 및 시장현황

- 가정간편식 시장은 ‘더 편리한 형태의 간편대용식(CMR)’과 ‘건강지향적인 HMR’, ‘개인 맞춤형 또는 질환 개선용과 같은 프리미엄 제품’들로 시장이 확대될 것으로 전망(2019년 식품외식산업전망대회)
- 간편대용식(CMR)형 식사는 주로 분말형으로 플라스틱 통에 분말이 들어있어 물이나 우유, 두유 등을 넣고 흔들어서 주면 한 끼 식사가 완성되는 형태임
- 셰이크는 한 병에 식사에서 섭취할 수 있을 정도의 300~400 kcal를 공급하고 필수영양소와 에너지가 공급되도록 설계되고 있으나 아직은 한 끼의 영양을 충분하게 공급하고 있지는 못함 (자료: 김하루, 2020.1.20., 식품외식경영)

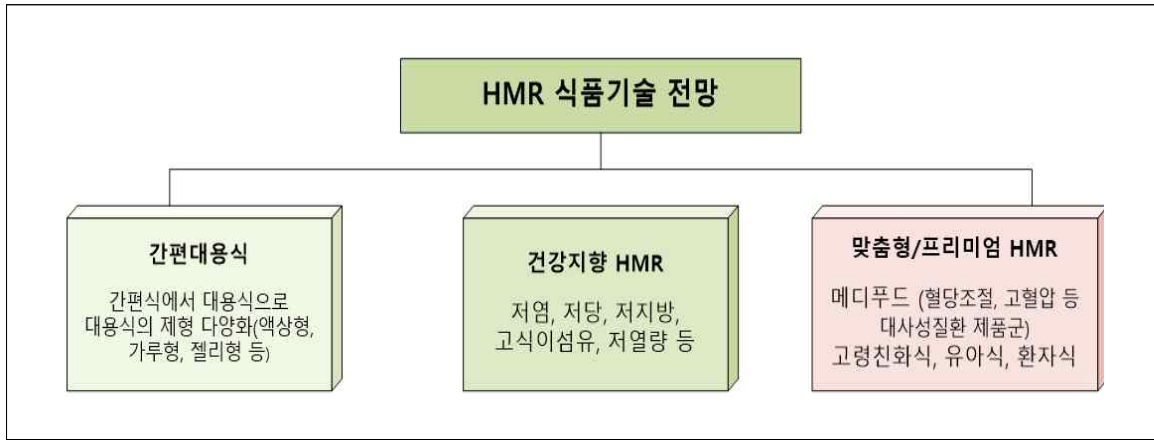


그림. HMR 식품기술의 전망

- 2010년~2017년 HMR 시장 규모는 연평균 17.3% 증가하였으며(2019년 식품산업 전망, 한국경제원), 2018년 국내 HMR 시장 판매액은 2조6000억임
- 가정간편식(HMR) 제품을 찾는 소비자가 증가하면서 2015년만 해도 2,084억 원이었던 **시리얼 시장 규모**는 지난해 2,291억 원으로 **10%가량 증가**했으며 **분말형 셰이크 매출액** 역시 2014년 15억 원에서 지난해 60억 원으로 **300% 성장**
- 업계는 2025년이면 2조 원 규모를 형성할 것으로 예상함

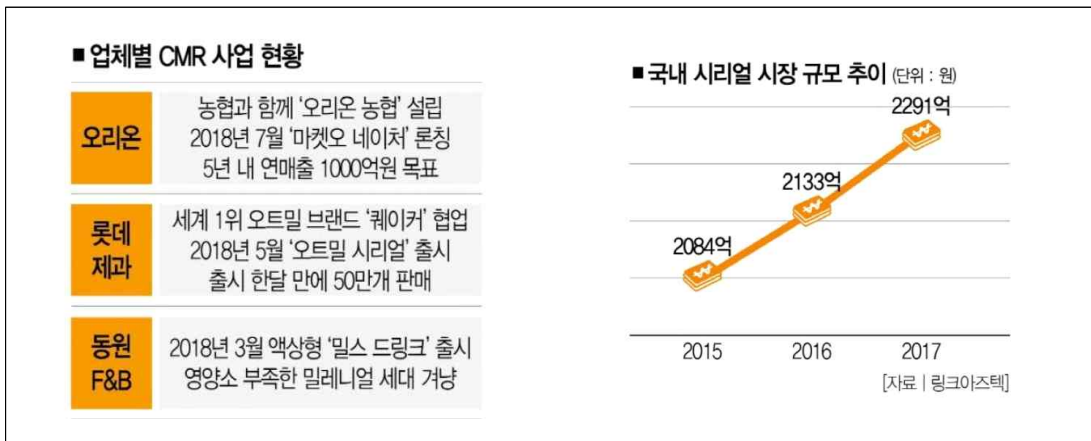


그림. 국내 CMR 사업 현황 및 시리얼 시장 규모 추이

나. 제품 및 연구 현황

1) 식용곤충 관련 제품 및 연구 현황

- 국내 식용곤충 제품은 대부분 원재료 건조 상품 형태로 판매되고 있으며, 곤충 농가에서 사육하여 건조 후 판매하고 있음
- 퓨처푸드랩에서 식용곤충 분말을 첨가한 시리얼 ‘퓨처리얼’을 생산하고, 2018년 이마트에서 국내 최초로 판매
- 주식회사 케일에서 귀뚜라미 특허물질을 첨가한 ‘숙취 해소용 음료’를 개발하여 판매
- 최근 식품 분야 대기업에서 연구개발에 참여하고 있으나, 상품화는 미비함

			
시리얼	에너지바	환	음료(숙취해소)

그림. 식용곤충을 이용하여 개발한 제품

- 국내 특허 현황은 대부분 대량사육을 위한 방법에 치중되어 있으며, 기능성 개념으로는 염증, 치매, 관절염, 비만 예방을 위한 치료제 개발로 출원 및 등록되어있음
- 쌍별귀뚜라미를 활용하여 등록된 특허는 ‘쌍별귀뚜라미를 이용한 동물 사료용 조성물’, ‘쌍별귀뚜라미 추출물 함유 조성물의 제조방법 및 이를 포함하는 식품’, ‘피부 주름 개선 또는 피부 보습용 조성물’, ‘전립선 질환 개선제’ 등이 있음

발명자(등록연도)	특허명	등록번호
채성욱 등(2020)	쌍별귀뚜라미 추출물을 유효성분으로 포함하는 지방간 질환의 예방, 개선 또는 치료용 조성물	10-2085577
채성욱 등(2020)	쌍별귀뚜라미 추출물을 유효성분으로 함유하는 피부 주름 개선 또는 피부 보습용 조성물	10-2070802
손호용 등(2019)	왕귀뚜라미 추출물을 유효성분으로 함유하는 당뇨병의 예방 또는 치료용 약학적 조성물 및 건강기능식품	10-2037531
정명수 등(2018)	귀뚜라미 효소처리물을 함유하는 간보호 또는 숙취해소용 조성물	10-1919839
손호용 등(2018)	왕귀뚜라미 추출물을 유효성분으로 함유하는 항산화 조성물	10-1856602
손호용 등(2018)	왕귀뚜라미 추출물을 유효성분으로 함유하는 혈전증의 예방 또는 치료용 약학적 조성물 및 건강기능식품	10-1854658
안미영 등(2017)	귀뚜라미 분획물을 유효성분으로 포함하는 트롬빈 활성 저해 항응고 조성물 및 식품조성물	10-1747245
안미영 등(2017)	귀뚜라미 분획물을 유효성분으로 포함하는 간염 예방 및 치료용 조성물 및 간보호를 위한 식품조성물	10-1708251
이삼구 (2017)	발모촉진, 탈모예방과 모낭개선용 식용귀뚜라미 조성물	10-1702851
오선균(2017)	피부재생용 화장료 조성물	10-1720293
윤은영 등(2016)	왕귀뚜라미 추출물을 함유하는 염증성 장질환의 예방 또는 치료용 조성물	10-1790018
강남주 등(2014)	귀뚜라미 추출물을 함유하는 피부미백용 화장품 조성물	10-1429679
안미영 등(2005)	귀뚜라미 추출물을 함유하는 간보호 효과, 강장효과, 알코올 해독, 과산화지질 생성 억제용 약학적 조성물	10-0498809
안미영 등(2004)	귀뚜라미 자체 또는 이의 추출물을 함유하는 간보호, 강장 피로회복, 알코올대사촉진, 과산화지질 생성 억제를 위한 식품조성물	10-0453575

표. 쌍별귀뚜라미 특허 현황

2) 간 건강, 면역기능 개선 제품 및 연구 현황

- '17년 건강기능식품 제조 업체별 매출액 현황'에 의하면 (주)한국인삼공사부여공장과 (주)한국인삼공사부여공장의 매출액이 각각 4,947억과 3,229억으로 가장 높았으며, (주)한국야쿠르트와, (주)서흥, 콜마비앤에이치(주)푸디팜사업부가 그 뒤를 이었음
- 이들 업체의 주요 품목 유형은 홍삼(한국인삼공사), 헛개나무과병추출물말(한국야쿠르트), 밀크씨슬 추출물(한국야쿠르트, 콜마비앤에이치), EPA 및 DHA 함유유지(서흥), 감마리놀렌산 함유 유지(서흥), 단백질(서흥), 비타민 및 무기질(서흥, 콜마비앤에이치), 당귀등혼합추출물(콜마비앤에이치) 프로바이오틱스(콜마비앤에이치), 대두이소플라본(콜마비앤에이치) 등으로, 간 건강과 면역기능 개선 제품이 높은 비율을 차지하였음
- 최근 면역력 강화를 내세운 건강기능식품의 수요가 높아짐에 따라 건강기능식품 시장의 규모가 성장하고 있으며, **홍삼, 비타민, 유산균 등 기초 면역력을 올려주는 원료**에 관한 관심이 급증함
- 콜마비앤에이치에서 생산된 'HemoHIM 당귀등혼합추출물(면역기능 개선)'의 '17년 매출액은 587.7억 원으로 개별인정형 품목 중 가장 높았음
- 정관장에서 생산된 '**홍삼정 에브리타임**'은 누적 판매량 2억 포를 넘어섰으며, 20·30세대까지 시장 확대
- '**종근당건강**'에서 생산된 **유산균 제품**은 '17~'18년 건강기능식품 시장 현황과 소비자 실태조사에서 구매율·섭취율 1위를 차지

3) 가정 간편식(HMR) 제품 및 연구 현황

- **식용곤충 분말**에 곡류와 견과류를 섞어 만들어 **다이어트용 에너지 바**를 등록 (2016.5)한 바 있으며, 2020년 2월에는 '곡류와 두류를 타정하여 정제(tablet)로 만들고 과일과 채소류 등을 추출하여 **액상 제품**'으로 특허를 등록함
- 신세계 푸드에서 '즉석 가열하여 먹을 수 있는 **갈비찜 상품**'에 대한 기술을 특허 등록 (2018.4)하였고, '곡류에 **고추추출물을 섞어 매운맛을 내는 씨리얼**' (2009.9), '혼합 곡물과 견과류에 **흑삼과 흑마늘을 넣은 에너지바**' (2019.10) 등의 등록건 이 있음
- '**양념육을 포장하여 증숙하는 제품**' (2015.11), '**천연추출물을 이용해 신선 야채의 유통기한을 연장하는 기술**' (2017.3), '**마이크로웨이브와 수비드 공법을 이용한 간편편이식의 제조**' (2015.1), '**과열 수증기 조리법과 초고압 비가열 살균법을 통한 간편편이식 제조**' (2011.9), '**야채와 통곡물을 과립화 하는 기술**' (2017.4) 등 간편식을 제조하는 조리과 살균 등에 대한 특허등록이 있음

라. 연구팀 선행 연구

1) 기술현황

- 갈색거저리 분말제조공정 표준화 및 다양한 식품개발(315060-3, 2015~2018) : 갈색거저리 유충의 유동성이 개선된 분말제조공정 표준화에 대한 연구를 진행하였음. 압착물의 양, 탈지 시간, 탈지 온도의 조건을 설정하여 저온 압착탈지방법을 표준화하였으며, 이를 이용해 단백질의 양을 조절한(단백질 50, 60, 65%) 제품을 제작하였음. 또한 탈지 후 부산물로 여겨지는 갈색거저리 유충 오일의 기능성을 검증하여 갈색거저리유충 오일 제품을 제품화 - (주)한미양행



그림 . 저온 압착탈지 방법을 활용한 갈색거저리 유충 분말 3종

- 식용곤충 가수분해물을 주 원료로하는 간보호·숙취해소 제품 개발 및 사업화(818053-1, 2018~2019) : 흰점박이꽃무지 유충을 가수분해하여 간보호 및 숙취해소 효능을 in-vitro 실험을 통해 검증하였음. 그 결과 ADH, ALDH 활성이 증가되고, 알코올 분해능 및 acetaldehyde 함량이 증가되어 숙취해소에 효과가 있는 것으로 확인되어 제품을 생산 판매 - (주)한미양행

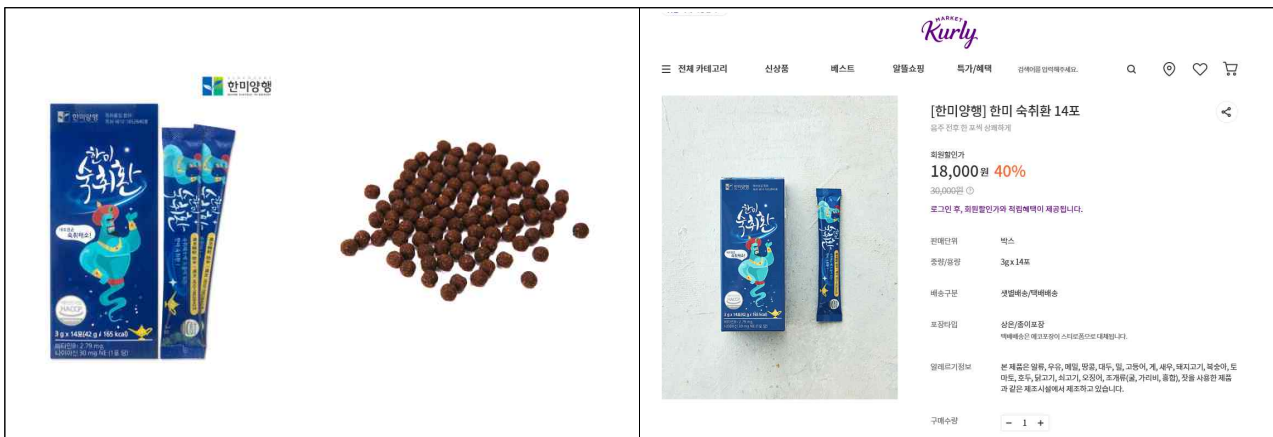


그림. 한미양행 숙취환 제품 이미지

- 흰점박이꽃무지 유충 가수분해물의 항산화 및 ACE 저해 활성 연구 : 흰점박이꽃무지의 가수분해 과정 중 전처리 방법을 달리하여 얻은 가수분해물의 항산화 활성화 및 ACE converting enzyme(ACE)의 저해 활성을 조사하였음. 삶기 과정 및 탈지 과정을 달리하여 흰점박이꽃무지 유충을 전처리한 Alcase를 이용하여 가수분해하였으며, DPPH 라디칼 소거 활성, FRAP, ORAC을 측정하여 항산화 활성을 조사하고, ACE 저해활성을 측정하여 최적 전처리 조건을 설정하였음 (조성민 석사학위논문 2019) - 단국대학교

Sample	Concentration (µg/mL)	Hydrolysis Time (h)			
		0.5	1	2	3
		(Units: µmol TE/g)			
Non-defatted after washed	250	17.11 ± 5.38 ^{Ab}	25.41 ± 4.86 ^{Ad}	23.09 ± 4.19 ^{Acd}	21.50 ± 5.16 ^{Ac}
	500	35.28 ± 4.73 ^{ABa}	40.44 ± 4.99 ^{ABb}	29.27 ± 5.52 ^{Bbc}	33.18 ± 1.34 ^{ABb}
Non-defatted after cooked	250	14.75 ± 5.53 ^{Bbc}	25.83 ± 0.48 ^{Ad}	19.12 ± 4.82 ^{ABab}	20.02 ± 1.41 ^{ABC}
	500	31.54 ± 1.99 ^{Ba}	46.55 ± 4.72 ^{Aa}	39.56 ± 5.23 ^{Aa}	41.26 ± 4.26 ^{Aa}
Defatted after washed	250	11.97 ± 3.07 ^{Bbc}	14.34 ± 3.88 ^{ABbc}	20.70 ± 4.50 ^{Abde}	11.35 ± 2.59 ^{Bd}
	500	28.33 ± 6.02 ^{Aa}	29.47 ± 2.78 ^{Acd}	34.48 ± 5.59 ^{Ab}	29.91 ± 5.34 ^{Ab}
Defatted after cooked	250	7.35 ± 1.11 ^{Bc}	13.77 ± 5.04 ^{Ad}	14.15 ± 3.55 ^{Ad}	13.04 ± 2.09 ^{ABd}
	500	28.47 ± 5.57 ^{Aa}	34.70 ± 4.79 ^{Abc}	34.92 ± 3.80 ^{Ab}	30.80 ± 3.68 ^{Ab}

그림. 전처리 조건을 달리한 흰점박이꽃무지 유충 가수분해물의 ACE 저해 활성

○ 갈색거저리 유충 분말을 첨가한 식빵의 품질 특성 연구 : 식빵 제조 시 갈색거저리 유충 분말 첨가가 품질 특성에 나타내는 영향을 조사하였음. 식빵 자체의 이화학적 특성에 변화를 주지 않으면서 기호도를 향상할 수 있는 갈색거저리 유충 분말의 첨가 농도를 조사하였으며, 2%로 첨가하였을 때 외관, 맛, 전반적인 기호도에서 대조군과 비교하여 높아지는 경향이 나타남. 따라서 갈색거저리 유충 분말의 첨가가 식빵의 기능성을 부여하는 방법으로 사용될 수 있음을 보고함 (J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 2019;48(2):253) - 단국대학교

Classification	Control	T2 ¹⁾	T4 ²⁾	T6 ³⁾
		Appearance	6.59±1.55 ^{ab(6)}	6.80±1.44 ^a
Moistness quality	6.58±1.75 ^a	6.68±1.66 ^a	6.80±1.46 ^a	6.22±1.43 ^a
Taste	6.14±1.88 ^{ab}	6.34±1.50 ^a	6.07±1.57 ^{ab}	5.49±1.81 ^b
Flavor	6.34±1.72 ^a	6.36±1.46 ^a	6.32±1.68 ^a	6.08±1.90 ^a
Mouthfeel	6.46±1.59 ^a	6.47±1.51 ^a	6.36±1.52 ^a	5.80±1.61 ^a
Texture	6.66±1.63 ^a	6.71±1.35 ^a	6.64±1.34 ^a	6.29±1.64 ^a
Overall acceptability	6.41±1.78 ^a	6.58±1.71 ^a	6.08±1.64 ^{ab}	5.54±1.87 ^b

그림 . 갈색거저리 유충 분말을 첨가한 식빵의 관능 평가

○ 식용곤충을 이용한 메뉴 개발 : 갈색거저리 유충의 조리적용 연구(PJ01002204)'와 '식용곤충 저변확대를 위한 조리법 연구 및 가공기술 개발(315060-3)' 연구를 수행하며 식용곤충의 기초조리 연구 및 다양한 메뉴개발 결과를 6권의 식용곤충조리 저서로 발간하였고 고소애쌀빵프리믹스, 고소애조미료 등의 시작품을 개발함 - 경민대학교

○ 갈색거저리 조리법 및 제품 개발(PJ01002204, 2014~2016) : 갈색거저리와 흰점박이꽃무지의 식품으로서의 이용 확대를 위해 한식양념장 3종, 양식소스 8종, 시즈닝 3종의 소스를 개발하였고, 한식 및 음료 메뉴 40종, 양식메뉴 21종, 중식메뉴 8종, 일식메뉴 7종, 기타메뉴 8종을 개발하였으며, 갈색거저리 젓갈, 갈색거저리 육수 등 기타 8가지 메뉴를 개발하였음. 제과류는 10종, 제빵류 5종을 개발하였으며, 제과류의 경우 곤충분말은 2~5%, 곤충다짐은 0.5~1% 내외, 제빵류의 경우 곤충분말 4~10% 내외로 첨가하는 것이 가공적성에 긍정적 범위임을 확인함. 식용곤충을 주제로한 푸드스토리 개발, 식용곤충 오찬세미나, 갈색거저리캐릭터개발 및 고소애쌀전병 개발을 하였고 연구개발과제 동안에 식용곤충과 조리('14)외 3권의 식용곤충요리책을 발간하였음. 또한 과제 결과를 활용한 후속 사업으로 신기술보급사업을 제안하여 2018~2020년까지 식용곤충조리·외식창업아카데미 시범사업이 진행되고 있음 - 경민대학교

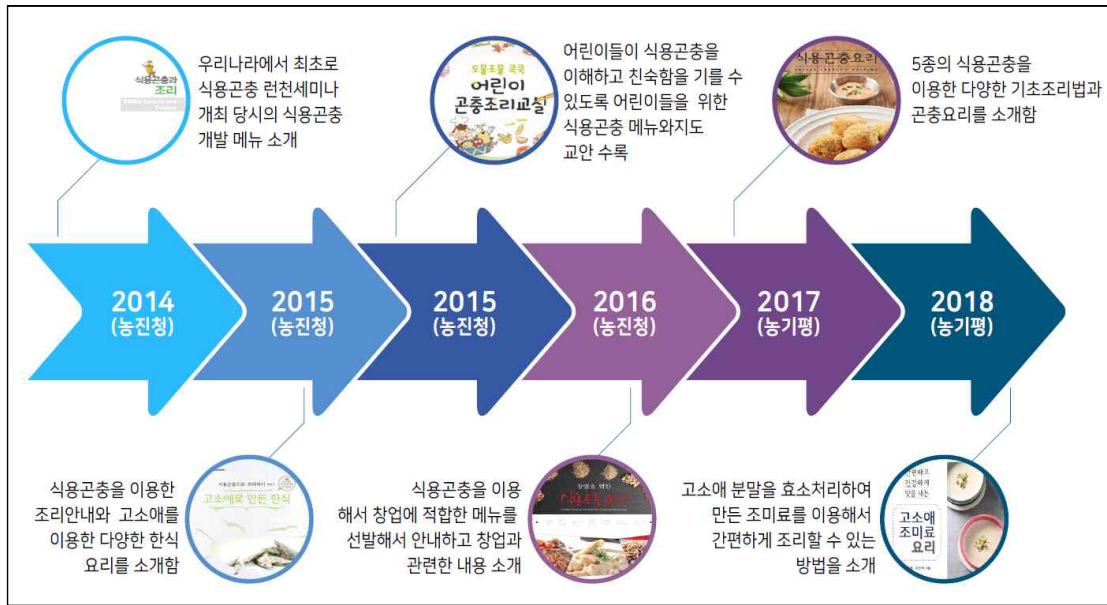






그림. 식용곤충 적용 메뉴개발

- 식용곤충 조리 및 고품질 중간 가공식품 조성 개발(315060-3, 2015~2018) : 메뚜기, 갈색거저리유충, 흰점박이꽃무지, 쌍별귀뚜라미, 번데기 곤충에 대한 기본 조리법과 식품군 및 유형별 적용 메뉴 및 레시피 개발을 하였으며, 원료곤충(벼메뚜기, 귀뚜라미, 장수풍뎅이, 흰점박이 꽃무지)의 저장중 위생안정성 연구와 갈색거저리 유충 분말을 이용한 영양 균형용 선식류 제품 조성 개발, 5종의 식용곤충 메뉴개발 내용을 ‘식용곤충 조리’ 책자로 제작하고 홍보를 하였음. 또한 프리믹스류 형태의 고소애쌀빵 시작품을 제작하였으며 고소애 탈지분을 단백질 가수분해하여 얻은 분말을 이용하여 가정이나 외식업체에서 활용 가능한 육수용조미료 등 3종을 개발하였으며, 이를 활용 할 수 있는 ‘고소애조미료요리’ 레시피 북을 제작하여 홍보하였음. 또한 황국균(1%, 48hr.)을 이용한 발효 및 효소(alcalase, flavouzyme: 2%, 55℃)처리한 갈색거저리 탈지분말로 맛과 기능성이 향상되고 10% 이상 소화율이 개선된 고소애분말을 활용한 조미료를 개발하였음 - 경민대학교

2) 시장현황

- 식용곤충을 소재로한 제품 : ‘식용곤충 저변 확대를 위한 조리법 연구 및 가공기술 개발 (315060-3)’연구를 수행하며 갈색거저리유충, 흰점박이꽃무지 유충 등을 이용한 곤충가공식품 20여종을 개발하였음 - (주)한미양행

1		에프엠더블유프로틴	2		이라바 고소애분말 회복솔루션
3		빙주야	4		보간해소

5		금화홍삼 단	6		예굼분말스틱
7		더고소애분말스틱	8		예굼종시
9		더고소애타정	10		로보란트
11		이라바 고소애효소	12		이라바 고소애과립
13		이라바 고소애오일	14		이라바 고소애오일 90C
15		바이오닥터 단백질	16		꽃벙이과립
17		흥굼보	18		나을위한꽃벙이 젤리스틱
19		이라바 밀웜분말 하이프로틴	20		이라바 밀웜분말 밸런스
21		이라바 밀웜분말 오리진	22		라바프렌즈밀웜분말 RF1

그림. (주)한미양행의 식용곤충 제품

3) 지식재산권 현황

○ 식용곤충을 활용한 소재의 제조 및 용도 관련 특허 10건 등록 - (주)한미양행

등록일	등록번호	특 허 명
'17/12/06	10-1808028	습식분쇄법 및 분무건조법을 이용한 갈색거저리 유충의 분말제조방법
'17/12/06	10-1808024	갈색거저리 유충분말을 함유하는 정제 및 이의 정제방법
'18/05/23	10-1862270	기호성 및 유동성이 증가된 갈색거저리 과립의 제조방법
'18/05/11	10-1859174	갈색거저리 식용기름의 제조방법
'18/04/23	10-1852840	곰팡이 효소처리물을 함유하는 간 보호용 조성물
'18/11/13	10-1919839	귀뚜라미 효소처리물을 함유하는 간 보호 또는 숙취 해소용 조성물
'19/05/13	10-1988959	곰팡이 효소처리물을 함유하는 스트레스완화용 또는 항산화조성물
'19/09/06	10-2060283	기호성이 증가된 갈색거저리 유충 분말을 함유하는 선식의 제조방법
'19/10/29	10-2076459	갈색거저리 효소처리물을 함유하는 회복기 환자 또는 노약자의 근육량 증가 및 원기회복용 조성물
'20/06/02	10-2120323	식용곤충 효소처리물 및 생약 추출물을 함유하는 숙취해소 또는 간 보호용 조성물

표. 연구팀의 식용곤충 관련 특허 등록 현황

- 갈색거저리 유충 100%를 습식분쇄하여 분무 건조법으로 분말을 제조하는 제조공정을 확립하였음(제10-1808028호) - (주)한미양행
- 갈색거저리 유충 분말(무탈지)을 100%로 하여 정제수만을 투입(결합제 무첨가)하여 역회전 과립기를 이용하여 분말과립 제조공정을 확립하였음(제10-1862270호) - (주)한미양행

2. 연구개발과제의 수행 과정 및 수행 내용

제1세부((주)한미양행) : 쌍별귀뚜라미 가수분해물 소재의 개발 및 사업화

구분	연구개발 목표	연구개발 내용 및 범위
1년차	쌍별귀뚜라미 가수분해물의 제조 및 공정 표준화	1) 쌍별귀뚜라미 가수분해물의 제조법 확립 • 탈지, 고압처리 등 전처리 후 가수분해물 제조 • 가수분해물의 향산화 활성 분석 2) 쌍별귀뚜라미 가수분해물 공정 표준화 • 가수분해물의 기준 규격설정 • 가수분해물의 유통기한 설정 3) 쌍별귀뚜라미 가수분해물 소재 시제품 제조 • 가수분해물 formulation 개발 • 가수분해물 제조 시 첨가되는 부형제와의 적합성 평가 • 최종 제형의 안정성평가 및 제조공정 확립
2년차	개발제품의 제조공정 최적화 및 사업화	4) 시제품 제조공정 확립 • 규격 및 용량설정 • 균질성 확보를 위한 기준 및 시험 방법 확립 • 제품의 안정성 평가 • 유통기한 설정 5) 제품 대량생산 공정 확립 및 생산 • 대량 생산조건 최종 확립 • 품목신고용 영양성분 분석 6) 최종 개발제품의 사업화 • 간보호 및 면역증진 기능을 갖는 제품 4종 개발(원료, 제품) • 마케팅 분석을 통한 사업화


1) 쌍별귀뚜라미 가수분해물의 제조법 확립

1-1) 쌍별귀뚜라미 전처리 방법 및 가수분해물 제조방법 확립

(1) 실험재료

(가) 쌍별귀뚜라미

본 연구에 사용한 쌍별귀뚜라미(국내산)는 충남 홍성군 소재 곤충사육 농가에서 열풍 건조한 것을 구입하여 사용

원료	원산지	수분함량	원료
쌍별귀뚜라미 (건조)	충남 홍성군	2.52%	

(나) 효소

상업용 효소제로서 식품용으로 시판되고 있는 효소제 중 원물의 특성에 적합한 Alcalase, Protamex, Neutrase, Flavourzyme를 Novozymes(Bagsvaerd, Danmark)에서 구입하여 실험에 사용

(2) 전처리 방법 확립

(가) 탈지 조건 설정

건조 쌍별귀뚜라미 2.7 kg을 롤밀 분쇄기를 이용하여 1회 분쇄 한 후, 착유기 (DB-600, 동방기계, 한국)를 사용하여 45℃에서 600 kgf/cm² 압력으로 5분~15분 착유 실시하여 수율을 고려한 탈지 조건을 설정

구분	투입량	탈지조건	탈지시간
대조군	2.7 kg	45℃, 600 kgf/cm ²	0분
5분 탈지			5분
10분 탈지			10분
15분 탈지			15분

(나) 고압증기멸균 조건 설정

상기 탈지 조건으로 설정된 쌍별귀뚜라미 탈지분말을 비커에 담아 밀봉한 후 고압증기멸균기를 이용하여 121℃에서 0, 15, 30, 60분 처리한 후 가수분해도를 분석하여 고압증기멸균 조건을 설정

구분	투입량	고압증기멸균 조건	고압증기멸균 시간
대조군	500 g	121℃, 1기압	0분
고압증기멸균 15분			15분
고압증기멸균 30분			30분
고압증기멸균 60분			60분

(다) 초고압처리 조건 설정

상기 탈지 조건으로 설정된 쌍별귀뚜라미 탈지분말을 비닐백에 담아 진공포장한 후 High pressure processing machine(055-60, Uhde, 독일)을 이용하여 1,500bar~5,500 bar의 압력으로 5분간 처리한 후 가수분해도를 분석하여 초고압처리 조건을 설정

구분	투입량	초고압처리 조건	초고압처리 압력
대조군	600 g (200 g× 3)	5분	-
초고압 1,500bar			1,500bar
초고압 2,500bar			2,500bar
초고압 3,500bar			3,500bar
초고압 4,500bar			4,500bar
초고압 5,500bar			5,500bar



그림. 초고압처리를 위한 포장 및 기기

(3) 가수분해물 제조방법 확립

(가) 고압증기멸균 후 가수분해

고압증기멸균기에서 다양한 시간(0, 15, 30, 60분)으로 처리한 후, Alcalase, Protamex, Neutrase와 Flavourzyme을 이용하여 가수분해 실시. 시료에 증류수를 첨가하여 10%(w/v) 현탁액을 제조한 후 분말 대비 1% 효소를 첨가하여 효소 별 최적 온도에서 3시간 동안 반응 후 90℃에서 15분간 실활 한 후 건조하여 분말로 사용

효소	pH	온도(℃)	효소처리 시간	실활 조건
Alcalase	7.0	60	3시간	90℃, 15분
Protamex	6.0	50		
Neutrase	6.5	50		
Flavourzyme	7.0	50		

(나) 초고압 처리 후 가수분해

초고압 처리기에서 다양한 압력(1,500, 2,500, 3,500, 4,500, 5,500 bar)으로 처리한 후, Alcalase, Protamex, Neutrase와 Flavourzyme을 이용하여 가수분해 실시. 쌍별귀뚜라미 탈지분말에 10배수의 증류수를 넣어 1 N NaOH를 이용하여 현탁액의 pH를 6.5 또는 7.0으로 맞춘 후 분말 대비 1%의 효소를 첨가 하여 50℃에서 15시간 동안 반응 후 90℃에서 15분간 실활한 후 건조하여 분말로 사용

(4) 가수분해도 측정

쌍별귀뚜라미 효소처리물을 원심분리(4,000 rpm, 20분)하여 상층액을 수거한 다음 동일한 부피의 20% trichloroacetic acid(TCA) 용액을 첨가 하여 4℃에서 5분간, 5,000rpm으로 반응 시킨 후 원심분리(12,000 rpm/15분간/4℃)하여 시료 준비. TCA 가용성 단백질 및 총 단백질 분석은 Bradford 방법을 사용하여 측정하였으며 가수분해도는 아래 식과 같이 산출

$$\text{Degree of hydrolysis (\%)} = \text{TCA soluble protein (mg/mL)} / \text{Total protein (mg/mL)} \times 100$$

(5) 가수분해물 아미노산 분석

(가) 시료 준비

가수분해도와 *In vitro* 효능평가 스크리닝 결과를 토대로, 쌍별귀뚜라미 탈지 분말을 1,500 bar로 초고압 처리하여 Neutrase와 Flavourzyme 효소로 각각 가수분해한 후 여과하여 여과액과 잔사로 구분하고 각각 분무건조 또는 열풍건조 하여 분말로 사용

시료	수율(%) ¹⁾
초고압 Neutrase 가수분해물 여과액	27.4
초고압 Flavourzyme 가수분해물 여과액	25.0
초고압 Neutrase 가수분해물 잔사	58.4
초고압 Flavourzyme 가수분해물 잔사	62.3

¹⁾수율: 소요된 시료량(g) / 획득된 시료량(g) × 100

(나) 유리아미노산 분석

시료를 각각 0.20 g씩에 증류수 5 mL씩을 가하고 상온에서 20분간 초음파 처리한 다음 여과 후 여과액 1 mL에 7% 5-sulfosalicylic acid 수용액 1 mL를 가하고 2시간 동안 유지하여 단백질을 침전시킨 다음 원심분리 (4,500 rpm. 10분). 얻어진 상등액은 sample dilution buffer (pH 2.2)로 희석한 다음 membrane filter (0.45 μm)로 여과한 후 아미노산 자동분석기로 분석

Parameters	Condition used		
Instrument	Agilent LC system		
Column	Capcellpak UG120 C18 (250 mm × 4.6 mm, 5 μm)		
Detector	PDA (338 nm, 262 nm)		
Mobile phase	A : 40 mM NaH ₂ PO ₄ (pH 7.8) B : ACN : MeOH : DW (45 : 45 : 10)		
	Time(min)	A(%)	B(%)
	Initial	95	5
	31.0	44	56
	33.0	44	56
	34.0	0	100
	38.0	0	100
Flow rate	1.5 mL/min		
Injection volume	Program		
Oven temperature	40 °C		
Run time	38 min		

(다) 구성아미노산 분석

검체 일정량에 0.05%(w/v)2-말캡토에탄올(C₂H₆SO)을 함유한 6 N 염산을 단백질 양에 대하여 약 1,000배량 즉, 10 mL를 가함. 드라이아이스-에탄올로 동결한 후 탈기장치에 장착하여 용해, 동결을 반복하여 충분히 탈기. 봉관하여 정온가열로 110°C±1°C, 22~24시간 가수분해 한 후 봉관을 절단함. 즉시 감압하여 40°C에서 농축건조를 반복하여 염산을 최대한 제거. 0.2 N 구연산나트륨 완충액(pH 2.2) 또는 0.02 N 염산용액을 가하여 시험용액으로 함. 침전이 있는 경우에는 멤브레인 필터를 사용하여 여과. 아미노산 함량은 Amino acid analyzer L-8900을 이용하여 분석하며, 표준원액 및 표준용액은 Wako에서 판매하고 있는 Amino Acid Standard Mix 앰플을 희석하여 사용.

Parameters	Condition used
Instrument	Amino acid analyzer L-8900
Column	Ion exchange resin (60 mm × 4.6 mm Na type)
Detector	570 nm
Mobile phase	완충액: 구연산리튬완충액 반응액: 닌히드린 시액
Flow rate	0.4 mL/min
Injection volume	10 μL
Oven temperature	57 °C (135 °C)
Run time	33 min

1-2) 가수분해물 항산화 활성 분석

(1) DPPH(1,1-Diphenyl-2-Picrylhydrazyl) 라디칼 소거능

MeOH(DAEJUNG, Korea)로 희석한 4.5×10^{-4} M DPPH 용액(Sigma-Aldrich Co., USA) 160 μ L와 시료 40 μ L를 잘 혼합하여 실온에서 30분 동안 반응시킨 후 microplate reader(Molecular devices, USA)를 이용하여 517 nm에서 흡광도를 측정. Positive control로 ascorbic acid(Sigma-Aldrich Co.)를 사용하여 표준검량곡선을 작성한 후, 결과값을 비교

(2) TEAC(Trolox equivalent antioxidant capacity)

ABTS[2,2'-Azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)]를 증류수에 용해시켜 7mM의 농도로 제조. 2.45 mM potassium persulfate를 넣고 실온의 암소에서 16시간 동안 방치하여 ABTS radical을 생성. Radical이 형성된 ABTS 용액을 증류수로 희석하여 734 nm에서 흡광도가 0.70 ± 0.02 가 되도록 조절하여 실험에 사용. ABTS 용액 150 μ L와 시료 5 μ L를 혼합하여 분광광도계를 이용해 734nm에서 흡광도 값을 측정하고 표준물질로 Trolox (Sigma Chemical Co., USA)를 농도별로 희석하여 사용. 결과값은 Trolox로 표준곡선을 작성하여 TEAC (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity, mM Trolox equivalent/g)로 나타냄

(3) ORAC(oxygen radical absorption capacity)

ORAC은 과산화기(peroxyl radical)의 소거 활성에 의한 형광(fluorescent)의 감소를 측정하는 방법으로 과산화물 생성을 위해 AAPH(2,2'-azobis (2-amidino-propane) dihydrochloride)을 사용. 시약의 제조와 시료의 희석은 10 mM phosphate buffer (pH7.4)를 사용. 96 well black microplate에 100 nM의 fluorescein solution (Sigma-Aldrich Co., USA) 150 μ L와 시료 50 μ L을 넣고 37°C에서 10분간 incubation 후, 25 μ L의 120 mM AAPH (Sigma-Aldrich Co., USA)를 첨가하여 잘 혼합한 다음 fluorescence spectrophotometer(Molecular devices, USA)를 이용해 37°C에서 5분 간격으로 100분 동안 형광(excitation wavelength 485 nm, emission wavelength 535 nm)의 강도를 측정. 결과 값을 시료와 대조군의 형광도 간의 면적(AUC; Area Under Curve) 차이로 계산

2) 쌍별귀뚜라미 가수분해물 공정 표준화

2-1) 가수분해물의 기준 규격설정

(1) 기준 규격 설정

식품공전에 고시된 식용곤충 규격 내용을 토대로 기준 규격을 설정하였음

시험항목		시험기준	기준	비고
중금속 (mg/kg)	납	0.3이하	식품공전 공통기준규격	건조물
	카드뮴	0.3 이하	식품공전 공통기준규격	건조물
대장균		n=5, c=1. m=0, M=10	곤충가공식품	가공품
성상		적합	기타가공품	가공품
이물		불검출	기타가공품	가공품
대장균군		음성	자체규격	가공품
수분(%)		5 이하	자체규격	건조물

2-2) 가수분해물의 유통기한 설정

안정성검사를 위해 25℃, 35℃, 40℃ 항온기에서 약 6개월간 저장시키면서 실험주기는 저장기간 중 6회 이상이 되도록 30일 간격으로 실험을 수행

- ▶ 식품, 식품첨가물, 축산물 및 건강기능식품의 유통기한 설정기준(제2019-56호, 20190702)
- ▶ 식품, 축산물 및 건강기능식품의 유통기간 설정실험 가이드라인 (2019년 4월 제5판)

(1) 품질지표, 품질한계 및 실험방법

품질지표		품질한계	실험방법
이화학	pH	pH 5~6	식품의 기준 및 규격 > 제 1총칙 > 1. 일반원칙 > 13) (7)
	지방산(오메가9)	25 g/100 g	식품의 기준 및 규격 > 제 8일반시험법 > 2.1.5.4 지방산
관능	성상	5점이상 (9점척도법)	식품의 기준 및 규격 > 3. 식품일반의 기준 및 규격 > 1) 성상 (식품공전 성상시험법 5점 척도 중 3점이상이 적합이므로 9점 척도법에서는 5점 이상을 적합인 것으로 설정)

(2) 실험조건

구분	실험방법
저장온도	25℃, 35℃, 40℃
저장기간	약 6개월
실험주기	30일 간격으로 6회
실험반복수	3 반복

제1협동(단국대학교) : 쌍별귀뚜라미 가수분해물의 간 건강 및 면역기능 개선 효과 평가

구분	연구개발 목표	연구개발 내용 및 범위
1년차	쌍별귀뚜라미 가수분해물의 간 건강 개선 효과 평가	1) 세포모델에서 쌍별귀뚜라미 가수분해물의 ER 스트레스 억제, 지방축적 억제 효과 평가 <ul style="list-style-type: none"> • HepG2 간세포에서 쌍별귀뚜라미 가수분해물의 세포독성 측정 • HepG2 간세포에 쌍별귀뚜라미 가수분해물을 처리하여 배양한 후, tunicamycin을 분주하여 ER 스트레스와 지방축적을 유도 • 세포 내 지질(중성지방 등) 농도 등을 측정 • 지방축적 관련 유전자(SREBP 등)의 발현 분석 • ER 스트레스 관련 유전자(GRP78, CHOP 등)의 발현 분석 2) 동물모델에서 쌍별귀뚜라미 가수분해물의 간 건강 개선 효과 평가 <ul style="list-style-type: none"> • C57BL/6J 마우스에 쌍별귀뚜라미 가수분해물을 급여하고, tunicamycin을 복강에 주사하여 ER stress와 지방간 유발 • 심장 채혈을 하여 실험동물을 희생 후, 간 등의 조직 무게 측정 • 혈청에서 간 기능 관련 효소(AST, ALT 등)의 농도 측정 • 혈청에서 지질(TG, TC 등) 농도 측정 • 간 조직에서 H&E 염색을 통하여 지질축적 양상을 분석하고, 지질 농도(총 지질, TG 등) 등을 측정 • 간 조직에서 지방축적 관련 유전자(SREBP 등)의 발현 분석 • 간 조직에서 ER 스트레스 관련 유전자(GRP78, CHOP 등)의 발현 분석
2년차	쌍별귀뚜라미 가수분해물의 면역기능 개선 효과 평가	3) 쌍별귀뚜라미 가수분해물의 비장세포 증식능 조절 효과 평가 <ul style="list-style-type: none"> • Balb/c 마우스의 비장을 무균적으로 적출하여 단일세포 부유액 제조 • 비장 세포에 LPS, ConA와 다양한 농도로 희석한 쌍별귀뚜라미 가수분해물을 분주하여 세포증식률 측정 • 비장 세포에 쌍별귀뚜라미 가수분해물을 처리하여 배양한 후 배양액의 사이토카인(IFN-γ 등)의 농도 등을 측정 4) 쌍별귀뚜라미 가수분해물의 복강 대식세포 활성화 효과 평가 <ul style="list-style-type: none"> • 마우스의 복강에 3% thioglycollate 배지를 주입하여 복강으로 대식세포를 유도한 후, 복강 대식세포를 RPMI 1640 배지를 이용하여 회수 • 쌍별귀뚜라미 가수분해물을 복강 대식세포와 함께 배양 • 대식세포 활성화 측정 • 대식세포 배양액의 NO 농도 등을 측정 5) 동물모델에서 쌍별귀뚜라미 가수분해물의 면역기능 개선 효과 평가 <ul style="list-style-type: none"> • Balb/c 마우스에 쌍별귀뚜라미 가수분해물을 섭취시킨 후, cyclophosphamide를 복강에 주사하여 면역저하 유도 • 심장 채혈을 하여 실험동물을 희생 후, 체중 및 흉선, 비장 등의 무게를 측정 • 혈청에서 사이토카인(IFN-γ 등)과 면역글로블린(IgM 등)의 농도 측정 • 비장 세포를 분리하여 비장 세포증식률 측정 • 비장에서 YAC-1 세포를 타겟으로 자연살해세포(NK cell) 활성화 등을 측정

1) 세포 모델에서 쌍별귀뚜라미 가수분해물의 ER 스트레스 억제, 지방축적 억제 효과 평가

1-1) 다양한 효소를 사용하여 제조한 쌍별귀뚜라미 가수분해물의 지질축적 억제 효과 평가 스크리닝

(1) 세포 배양

HepG2 세포는 한국세포주은행(Korean Cell Line Bank, Seoul, Korea)으로부터 분양받아 사용. 10% fetal bovine serum (FBS, Daegu Welgene)과 1% antimycotic/antibiotics (Gibco, Grand Island, NY, USA)을 첨가한 Dulbecco's modified eagle medium (DMEM: Welgene, Korea)에서, 37°C, 5% CO₂ 조건으로 배양.

(2) 세포독성 측정

HepG2 간세포를 5×10^4 cells/cm²의 농도로 96 well cell culture plate에 분주하여 24시간 동안 배양. 쌍별귀뚜라미 가수분해물을 다양한 농도[0, 0.5, 1, 2, 4와 8%(v/v)]로 처리하여 24시간 또는 48시간 동안 배양. EZ-Cytox reagent (Dogenbio Co., Ltd., Seoul, Korea)를 첨가한 후, 37°C의 incubator에서 3시간 동안 배양. Microplate reader (Molecular Device, San Jose, CA, USA)를 이용하여 450 nm 파장에서 흡광도 측정. 세포 생존율을 대조군(control)의 세포 생존율 대비 백분율(%)로 나타냄.

(3) 세포 내 지질농도 측정

HepG2 세포를 5×10^4 cells/cm²의 농도로 6 well culture plate에 분주하여 24시간 동안 배양. 쌍별귀뚜라미 가수분해물을 배양액의 1% 또는 2%(v/v)로 처리하여 24시간 또는 48시간 동안 배양. 5 ug/mL의 tunicamycin을 처리하여 24시간 동안 추가로 배양. 10% 포르말린 용액을 이용하여 세포를 고정한 후, Oil-Red O 염색 용액(#O1391, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA)을 가해 실온에서 30분 동안 염색. 염색한 세포를 증류수로 세척한 다음 1 mL Isopropanol을 가하여 세포 내 염색 용액을 용출. Microplate reader (Molecular Device, San Jose, CA, USA)를 이용하여 492 nm에서 흡광도 측정.

(4) 통계 분석

실험 결과의 통계처리는 SPSS program (statistical package for social sciences; ver. 25, IBM Corporation, New York, NY, USA)을 이용하여 분석. 모든 실험은 3회 반복수행하여 평균과 표준편차로 나타냄. 각 군의 평균값에 대한 차이는 one-way ANOVA와 Duncan's multiple range test를 사용하여 검증 ($p < 0.05$).

1-2) Tunicamycin을 처리한 간세포에서 쌍별귀뚜라미 가수분해물의 ER 스트레스 억제, 지방축적 억제 효과 평가

(1) 세포 배양

HepG2 세포는 한국세포주은행(Korean Cell Line Bank, Seoul, Korea)으로부터 분양받아 사용. 10% fetal bovine serum (FBS: Welgene, Daegu, Korea)과 1% antimycotic/antibiotics (Gibco, Grand Island, NY, USA)을 첨가한 Dulbecco's modified eagle medium (DMEM: Welgene, Korea)에서, 37°C, 5% CO₂ 조건으로 배양.

(2) 세포독성 측정

HepG2 세포를 5×10^4 cells/cm²의 농도로 96 well plate에 분주하여 24시간 동안 배양. 쌍별귀뚜라미 가수분해물의 세포독성을 측정하기 위하여 쌍별귀뚜라미 가수분해물을 다양한 농도(0.05, 0.1, 0.5, 1, 5 mg/mL)로 처리하여 24시간 또는 48시간 동안 배양. 쌍별귀뚜라미 가수분해물이 tunicamycin에 의한 세포독성을 억제하는지 평가하기 위하여 쌍별귀뚜라미 가수분해물을 다양한 농도(0.05, 0.1, 0.5, 1, 5 mg/mL)로 처리하여 24시간 또는 48시간 동안 배양한 후, 5 ug/mL의 tunicamycin를 처리하여 24시간 추가로 배양. EZ-Cytox reagent (Dogenbio Co., Ltd., Seoul, Korea)를 배양액의 10%(v/v)로 첨가한 후, 37°C의 incubator에서 3시간 동안 배양. Microplate reader (Molecular Device, San Jose, CA, USA)를 이용하여 450 nm 파장에서 흡광도 측정. 세포 생존율을 대조군(control)의 세포 생존율 대비 백분율(%)로 나타냄.

(3) 세포 내 지질농도 측정

HepG2 세포를 5×10^4 cells/cm²의 농도로 6 well culture plate에 분주하여 24시간 동안 배양. 쌍별귀뚜라미 가수분해물을 0.5 또는 1 mg/mL의 농도로 처리하여 24시간과 48시간 동안 배양하고, 5 ug/mL의 tunicamycin를 처리하여 24시간 동안 추가로 배양. 10% 포르말린 용액을 이용하여 세포를 고정한 후, Oil-Red O (ORO) working solution을 가해 실온에서 30분 동안 염색. ORO working solution은 ORO stock solution (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA)과 증류수를 3:2의 비율로 혼합하여 0.2 um의 syringe 필터를 이용하여 여과하여 제조. 염색한 세포를 증류수로 세척한 다음 1 mL Isopropanol을 가하여 세포 내 염색 용액을 용출. Microplate reader (Molecular Device, San Jose, CA, USA)를 이용하여 492 nm에서 흡광도 측정.

(4) 세포 내 중성지방과 총콜레스테롤 농도 측정

HepG2 세포를 5×10^4 cells/cm²의 농도로 6 well culture plate에 분주하여 24시간 동안 배양. 쌍별귀뚜라미 가수분해물을 0.5 또는 1 mg/mL의 농도로 처리하여 24시간과 48시간 동안 배양하고, 5 ug/mL의 tunicamycin를 처리하여 24시간 동안 추가로 배양. 1% Triton-X (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA)용액을 이용하여 세포를 회수하고, 원심분리 (12,000 x g, 4°C, 10분)하여 얻은 상층액의 단백질 농도를 Bradford 방법으로 정량. 상층액은 다시 가열 (90°C, 2분)과 실온에서 식히는 과정을 반복한 후 14,000 x g에서 15분간 원심분리. 원심분리하여 얻은 상층액을 검체로 사용하여 중성지방 함량과 총콜레스테롤 함량을 측정. 중성지방 함량은 Triglyceride assay kit (EMBIEL, Gunpo, Korea)를 사용하여 측정하였고, 총콜레스테롤 함량은 Total cholesterol assay kit (EMBIEL, Korea)를 사용하여 측정함. 중성지방 및 총콜레스테롤 함량은 단백질 농도에 대한 상대적인 값으로 나타냄.

(5) 배양액의 AST와 ALT 농도 측정

HepG2 세포를 5×10^4 cells/cm²의 농도로 24 well culture plate에 분주하여 24시간 동안 배양. 쌍별귀뚜라미 가수분해물을 0.5 또는 1 mg/mL의 농도로 처리하여 24시간과 48시간 동안 배양하고, 5 ug/mL의 tunicamycin를 처리하여 24시간 동안 추가로 배양. 상층액의 AST와 ALT 농도

는 상업용 키트 (MBL, Korea)를 이용하여 측정. 세포 양의 표준화를 위하여 1% Triton-X (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) 용액을 이용하여 세포를 회수하였고, 12,000 x g, 4°C에서 10분간 원심분리하여 얻은 상층액의 단백질 농도를 Bradford 방법으로 측정하여 AST와 ALT의 농도를 단백질 농도에 대한 상대적인 값으로 나타냄.

(6) RNA 추출 및 cDNA 합성

HepG2 세포를 5×10^4 cells/cm²의 농도로 6 well culture plate에 분주하여 24시간 동안 배양. 쌍별귀뚜라미 가수분해물을 0.5 또는 1 mg/mL의 농도로 처리하여 24시간과 48시간 동안 배양하고, 5 ug/mL의 tunicamycin를 처리하여 24시간 동안 추가로 배양. 세포로부터의 총 RNA 추출은 Nucleozol reagent (MACHEREY-NAGEL, Hoerd, France)을 이용하여 제조회사가 제공하는 방법에 따라 수행. cDNA 합성은 추출한 total RNA 2 ug을 주형으로 moloney murine meukemia virus reverse transcriptase (M-MLV-RTase; BIONEER, Daejeon, Korea)를 사용하여 수행.

(7) 실시간 중합 효소 연쇄반응(Quantitative Real-Time Polymerase Chain Reaction, qRT-PCR)

합성한 cDNA는 Nuclease-free water에 10배 희석. 실시간 중합 효소 연쇄반응은 AccuPower 2X GreenStar™ qPCR MasterMix (BIONEER, Daejeon, Korea)와 CFX Connect Real-Time PCR Detection System (BIORAD, Hercules, CA, USA)을 이용하여 수행. 발현된 유전자의 양은 delta-delta Ct 방법에 따라 RPLP0에 대한 상대적인 양으로서 계산. 사용된 프라이머(primer)의 염기서열은 Table 1에 나타냄.

Table 1. Primer sequences used for quantitative real-time PCR

Gene	Sequence for Primers (5' → 3')
BIP	Forward: CACAGTGGTGCCTACCAAG Reverse: AGCAGGAATTCCAGTCAGA
CHOP	Forward: CTCCCAGAGCCCTCACTCTC Reverse: TGCTTGAGCCGTTTCATTCTC
FASN	Forward: GGATCACAGGGACAACCTGG Reverse: GGGAGATGAGGGGAGTTCCT
PPARG	Forward: AGAGCCTTCCAACCTCCCTCA Reverse: TCTCCGGAAGAAACCCTTGC
RPLP0	Forward: GAAGGCTGTGGTGCTGATG Reverse: GTGAGGTCCTCCTTGGTGAA
SREBP-1c	Forward: TCTCAGTCCCCTGGTCTCTG Reverse: ATAGGCAGCTTCTCCGCATC

BIP, binding immunoglobulin protein; CHOP, C/EBP homologous protein; FASN, fatty acid synthase; PPARG, peroxisome proliferator activated receptor gamma; RPLP0, ribosomal protein, large, P0; SREBF-1c, sterol regulatory element-binding protein 1c.

(8) 통계 분석

실험 결과의 통계처리는 SPSS program (statistical package for social sciences; ver. 25, IBM Corporation, New York, NY, USA)을 이용하여 분석. 모든 실험은 3회 반복수행하여 평균과 표준편차로 나타냄. 각 군의 평균값에 대한 차이는 one-way ANOVA와 Duncan's multiple range test를 사용하여 검증 ($p < 0.05$).

1-3) Palmitic acid를 처리한 간세포에서 쌍별귀뚜라미 가수분해물의 ER 스트레스 억제, 지방축적 억제 효과 평가

(1) 세포 배양

HepG2 세포는 한국세포주은행(Korean Cell Line Bank, Seoul, Korea)으로부터 분양받아 사용. 10% fetal bovine serum (FBS: Welgene, Daegu, Korea)과 1% antimycotic/antibiotics (Gibco, Grand Island, NY, USA)을 첨가한 Dulbecco's modified eagle medium (DMEM: Welgene, Korea)에서, 37°C, 5% CO₂ 조건으로 배양.

(2) 세포독성 측정

쌍별귀뚜라미 고압 효소처리물이 HepG2 세포에서 세포독성을 나타내는지 확인하기 위하여, HepG2 세포를 1×10^5 cells/cm²의 농도로 96 well plate에 분주하여 24시간 동안 배양하고 24시간 동안 1% FBS가 첨가된 DMEM에서 추가로 배양한 후, 다양한 농도(0, 0.1, 0.25, 0.5, 1, 5 mg/mL)의 쌍별귀뚜라미 가수분해물과 함께 24시간 동안 배양. 쌍별귀뚜라미 가수분해물이 palmitic acid로 인한 세포독성을 완화하는지 확인하기 위하여 HepG2 세포를 1×10^5 cells/cm²의 농도로 96 well plate에 분주하여 24시간 동안 배양한 후 24시간 동안 1% FBS가 첨가된 DMEM에서 추가로 배양. 다양한 농도(0.25, 0.5 또는 1 mg/mL)의 쌍별귀뚜라미 가수분해물과 함께 24시간 동안 배양한 후, 0.2 mM BSA conjugated-palmitic acid를 첨가하여 24시간 동안 추가로 배양. 세포 생존율은 EZ-Cytox reagent (Dogenbio Co., Ltd., Seoul, Korea)를 15uL씩 첨가한 후, 37°C를 유지하는 세포 배양기에서 3시간 동안 배양하여 Microplate reader (Molecular Device, San Jose, CA, USA)로 450 nm 파장에서 흡광도 측정. 세포생존률은 대조군(control)에 대한 백분율(%)로 나타냄.

(3) 세포 내 지질농도 측정

HepG2 세포를 1×10^5 cells/cm²의 농도로 6 well plate에 분주하여 24시간 동안 배양한 후 24시간 동안 1% FBS가 첨가된 DMEM에서 추가로 배양. 0.25, 0.5 또는 1 mg/mL 쌍별귀뚜라미 가수분해물과 함께 24시간 동안 배양한 후, 0.2 mM BSA conjugated-palmitic acid를 첨가하여 24시간 동안 추가로 배양. Dulbecco's phosphate buffered saline (DPBS, Welgene, Daegu, Korea)을 이용하여 세척하고 10% 포르말린 용액을 이용하여 실온에서 세포를 고정. 고정한 세포를 60% isopropanol로 세척하고 Oil Red O 워킹 용액을 넣어 실온에서 30분 동안 염색. 염색한 세포를 증류수로 세척한 다음 1 mL Isopropanol로 염색 용액을 용출시켜 Microplate reader (Molecular Device, San Jose, CA, USA)를 이용하여 492 nm에서 흡광도를 측정.

(4) 배양액의 AST와 ALT 농도 측정

HepG2 세포를 1×10^5 cells/cm²의 농도로 6 well plate에 분주하여 24시간 동안 배양한 후 24시간 동안 1% FBS가 첨가된 DMEM에서 추가로 배양. 0.25, 0.5 또는 1 mg/mL의 쌍별귀뚜라미 가수분해물과 함께 24시간 동안 배양한 후, 0.2 mM BSA conjugated-palmitic acid를 첨가하여 24시간 동안 추가로 배양. 배양액의 AST와 ALT 농도는 AST, ALT test kit (EMBIEL, Gunpo, Korea)를 사용하여 측정.

(5) Total RNA 분리 및 cDNA 합성

HepG2 세포를 1×10^5 cells/cm²의 농도로 6 well plate에 분주하여 24시간 동안 배양한 후 24시간 동안 1% FBS가 첨가된 DMEM에서 추가로 배양. 0.25, 0.5 또는 1 mg/mL의 쌍별귀뚜라미 가수분해물과 함께 24시간 동안 배양한 후, 0.2 mM BSA conjugated-palmitic acid를 첨가하여 24시간 동안 추가로 배양. 세포로부터 총 RNA의 추출은 Nucleozol reagent (MACHEREY-NAGEL, Hoerd, France)을 이용하여 수행. 추출한 RNA는 건조한 후 30 uL의

DEPC water에 녹이고 흡광도를 측정하여 정량. cDNA 합성은 추출한 total RNA 2 ug을 주형으로 하여 moloney murine leukemia virus reverse transcriptase (M-MLV-RTASE; BIONEER, Daejeon, Korea)를 사용하여 합성.

(6) 실시간 중합 효소 연쇄반응(Quantitative Real-Time Polymerase Chain Reaction, qRT-PCR) 합성한 cDNA는 Nuclease-free water에 10배 희석. 실시간 중합 효소 연쇄반응은 AccuPower 2X GreenStar™ qPCR MasterMix (BIONEER, Daejeon, Korea)와 CFX Connect Real-Time PCR Detection System (BIORAD, Hercules, CA, USA)을 이용하여 수행. 발현된 유전자의 양은 delta-delta Ct 방법에 따라 RPLP0에 대한 상대적인 양으로서 계산. 사용된 프라이머(primer)의 염기서열은 Table 2에 나타냄.

Table 2. Primer sequences used for quantitative real-time PCR

Gene	Sequence for Primers (5' → 3')
BIP	Forward: CACAGTGGTGCCTACCAAG
	Reverse: AGCAGGAATTCAGTCAGA
FAS	Forward: GGATCACAGGGACAACCTGG
	Reverse: GGGAGATGAGGGGAGTTCCT
IL-1beta	Forward: CTCGCCAGTCAAATGATGGCT
	Reverse: GTCGGAGATTCGTAGCTGGAT
PPARG	Forward: AGAGCCTTCCAACCTCCCTCA
	Reverse: TCTCCGGAAGAAACCCTTGC
RPLP0	Forward: TGGTCATCCAGCAGGTGTTCTGA
	Reverse: ACAGACACTGGCAACATTGCGG
TNFalpha	Forward: GGCAGTCAGATCATCTTCTCG
	Reverse: GGTTTGCTACAACATGGGCTA
XBP1	Forward: CCTGGTTGCTGAAGAGGAGG
	Reverse: TGCACGTAGTCTGAGTGCTG

BIP, binding immunoglobulin protein; FAS, fatty acid synthase; IL, interleukin; PPARG, peroxisome proliferator activated receptor gamma; RPLP0, ribosomal protein, large, P0; TNFalpha, tumor necrosis factor alpha; XBP-1, X-box binding protein 1.

(7) Western Blot 분석

HepG2 세포를 1×10^5 cells/cm²의 농도로 6 well plate에 분주하여 24시간 동안 배양한 후 24시간 동안 1% FBS가 첨가된 DMEM에서 추가로 배양. 0.25, 0.5 또는 1 mg/mL의 쌍별귀뚜라미 가수분해물과 함께 24시간 동안 배양한 후, 0.2 mM BSA conjugated-palmitic acid를 첨가하여 24시간 동안 추가로 배양. Protease Inhibitor (ATTO, Tokyo, Japan)와 phosphatase Inhibitor (ATTO, Tokyo, Japan)가 첨가된 radioimmunoprecipitation (RIPA) lysis buffer (ATTO, Tokyo, Japan)를 가하여 세포를 회수하여 4°C에서 30분간 정치시킨 후 원심분리(14,000 xg, 4°C, 10분)하여 단백질이 포함된 상층액을 회수. 단백질 농도는 Bradford 방법으로 정량하였으며, 표준물질로는 bovine serum albumin (BSA, Thermo-fisher, Massachusetts, USA)를 사용. 추출한 단백질에 5X sample buffer (DYNEBIO, Seongnam, Korea)를 넣고 95°C에서 10분간 반응시킴. 30 ug의 단백질을 8% sodium dodecyl sulphate-polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE)로 분리한 뒤 polyvinylidene fluoride (PVDF) membrane (Millipore, MA, USA)에 1시간 30분 동안 transfer. 항체의 비특이적 결합을 방지하기 위해 membrane은 5% skim milk (BD biosciences, Bedford, USA)를 사용하여 1시간 동안 blocking. 1차 항체는 4°C에서 12시간 이상 반응. 1% Tris buffered saline Tween-20 (TBST) (BIORAD, Hercules, CA, USA)로 3회 세척

후, horseradish peroxidase (HRP)가 결합된 2차 항체를 상온에서 1시간 반응시킨 후 TBST로 5분씩 3회 세척. 사용한 항체는 Table 3에 나타냄. Super signal west pico plus (Thermo-fisher, USA)와 Davinch western system (Davinch K, Seoul, Korea)을 사용하여 단백질 밴드를 확인하고, 단백질 밴드는 Image J software (ver 1.8, National Institutes of Health, Maryland, USA)를 사용하여 정량. 단백질 발현 정도는 house keeping 단백질인 beta-actin을 internal control로 사용하여 각 단백질의 발현량을 대조군에 대한 fold 값으로 나타냄.

Table 3. Antibodies used for western blot analysis

Antibody	Catalog number	Dilution Factor	Corporation
CHOP	2895	1 : 1000	Cell Signaling
Annexin V	ab14196	1 : 1000	Abcam
Beta-actin	sc-8035	1 : 1000	Santa cruz
Anti-rabbit IgG	7074	1 : 2000	Cell Signaling
Anti-mouse IgG	7076	1 : 1000	Cell Signaling

CHOP, CCAAT-enhancer-binding protein homologous protein; IgG, immunoglobulin G.

(8) 통계 분석

실험 결과의 통계처리는 SPSS program (statistical package for social sciences; ver. 25, IBM Corporation, New York, NY, USA)을 이용하여 분석. 모든 실험은 3회 반복수행하여 평균과 표준편차로 나타냄. 각 군의 평균값에 대한 차이는 one-way ANOVA와 Tukey's multiple range test를 사용하여 검증 ($p < 0.05$).

2) 동물 모델에서 쌍별귀뚜라미 가수분해물의 간 건강 개선 효과 평가

2-1) 소포체 스트레스에 의해 유도되는 지방간 동물 모델 확립

(1) 동물 실험

생후 10주령의 수컷 C57BL/6J 마우스 11마리를 1주간 동물 사육실(23±20℃, 상대습도 55±5%, 12시간 light/dark cycle)에서 예비 사육한 후, 정상대조군(n = 3), 1 mg/kg tunicamycin 처리군(n = 4), 2 mg/kg tunicamycin 처리군(n = 4)의 총 3그룹으로 나누어 1 또는 2 mg/kg의 tunicamycin을 복강에 주사. 24시간 후, isoflurane 용액으로 마취시켜 개복하고 심장에서 채혈. 혈액은 Microtainer tube (BD, NJ, USA)에 담아 실온에 1시간 정치한 후, 6,000 rpm, 4℃에서 3분간 원심분리하여 혈청을 분리. 간, 부고환 지방(epididymal adipose tissue), 장간막 지방(mesenteric adipose tissue)과 비장 조직을 적출하여 무게 측정.

(2) 혈액 대사지표 측정

혈청의 총콜레스테롤, 중성지방, AST, ALT 농도는 효소비색법을 이용한 kit (MBL, Korea)를 사용하여 분석.

(3) 통계 분석

실험 결과의 통계처리는 SPSS program (statistical package for social sciences; ver. 25, IBM Corporation, New York, NY, USA)을 이용하여 분석. 결과는 평균 ± 표준편차 (mean ± SD)로 나타냄. 각 군의 평균값에 대한 차이는 one-way ANOVA와 Duncan's multiple range test를 사용하여 검증 ($p < 0.05$).

2-2) 소포체 스트레스-유발 지방간 동물 모델에서 쌍별귀뚜라미 가수분해물의 간 건강 개선 효과 평가

(1) 동물 실험

생후 7주령(19-20 g)의 수컷 C57BL/6J 마우스 60마리를 1주간 동물 사육실(23±20℃, 상대습도 55±5%, 12시간 light/dark cycle)에서 예비 사육한 후, 난괴법에 의하여 10마리씩 정상대조군(NOR), tunicamycin 투여군(TUC), tunicamycin + 250 mg/kg Neutrased 가수분해물 투여군(LGN), tunicamycin + 500 mg/kg Neutrased 가수분해물 투여군(HGN), tunicamycin + 250 mg/kg Flavourzyme 가수분해물 투여군(LGF), tunicamycin + 500 mg/kg Flavourzyme 가수분해물 투여군(HGF)의 총 6그룹으로 나누어 총 4주 동안 사육. 시험물질은 증류수에 녹여서 매일 경구투여하였으며 정상 대조군과 tunicamycin 투여군은 동량의 증류수를 투여. 각 실험동물의 식이는 AIN-93M 식이(Table 4)를 공급하였으며, 전 사육기간 동안 실험 식이와 물은 자유로이 섭취하도록 함. 실험동물의 체중과 식이 섭취량은 일주일에 2번 측정. 실험 종료 후 Isoflurane(아이프란액)을 이용하여 마취시킨 다음 심장 채혈 후, 간, 신장, 부고환 지방, 비장, 장간막 지방을 적출하여 무게를 측정. 채혈한 혈액은 6,000rpm에서 3분간 원심 분리하여 혈청을 분리하고 -70℃에 보관. 모든 동물 실험은 단국대학교 실험동물윤리위원회의 승인을 받아 수행(No. DKU-20-038).

Table 4. Composition of experimental diet

Ingredient	(g/Kg)
Casein	140
L-Cystine	1.8
Corn Starch	495.692
Maltodextrin	125
Sucrose	100
Soybean oil	40
Cellulose	50
Mineral Mix, AIN-93M-MX	35
Vitamin Mix, AIN-93-VX	10
Choline Bitartrate	2.5
TBHQ, antioxidant	0.008

(2) 혈청 대사지표 측정

중성지방 농도는 Triglyceride assay kit (EMBIEL, Gunpo, Korea)를 사용하여 측정하였고, 총콜레스테롤 농도는 Total cholesterol assay kit (EMBIEL, Korea)를 사용하여 측정. HDL 콜레스테롤 농도는 HDL-CHO (EMBIEL, Korea)를 사용하여 측정. Free fatty acid는 PicoSens™ Free Fatty Acid Quantification Kit (BIOMAX, Seoul, Korea)를 사용하여 측정. Apolipoprotein B (APOB) 농도는 ELISA kit (CUSABIO, TX, USA)를 사용하여 측정. AST, ALT 농도는 GOT, GPT test kit (EMBIEL, Korea)를 사용하여 측정.

(3) 간 조직 지질농도 측정

간 조직의 중성지방과 총콜레스테롤 농도를 측정하기 위하여 Folch 방법에 의하여 간 조직에서 총 지질을 추출¹⁾. 적출한 간 조직 0.2 g에 1 mL의 saline을 넣어 tissue grinder로 파쇄 후 3.75 mL의 CHCl₃:MeOH (1:2, v/v)을 첨가하여 냉장 상태에서 하루 동안 방치한 후, CHCl₃ 1.25 mL,

1) Folch, J., Lees, M., & Stanley, G. S. (1957). A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues. Journal of biological chemistry, 226(1), 497-509.

dH₂O 1.25 mL를 가하여 4,000 rpm에서 5분간 원심분리. 하층부의 지질층을 취해 중성지방과 총콜레스테롤 농도를 측정. 중성지방 함량은 Triglyceride assay kit (EMBIEL, Gunpo, Korea)를 사용하여 측정하였고, 총콜레스테롤 함량은 Total cholesterol assay kit (EMBIEL, Korea)를 사용하여 측정.

(4) Western blot 분석

간 조직 0.05 g에 RIPA buffer (EzRIPA Lysis kit, ATTO, Japan) 500 uL를 넣고 30분간 lysis 한 후, 14,000 x g, 4°C에서 10분간 원심분리하여 상층액 회수. 단백질 함량은 Bradford Assay (Protein Assay Dye Reagent Concentrate, Bio Rad, Hercules, CA, USA)를 이용해 측정하였으며, 표준물질로는 bovine serum albumin (BSA, Thermo-fisher, Massachusetts, USA)를 사용. Lysate에 5X sample buffer (DYNEBIO, Seongnam, Korea)를 넣고 95°C에서 10분간 반응시킴. 단백질 30ug (SDS loading buffer x5 포함)을 10% acrylamide (30% Acrylamide-Bis Solution) gel에서 PowerPac™ Basic Power Supply (BIORAD, USA)를 사용하여 전기영동. 분자량에 따라 분리된 단백질은 polyvinylidene fluoride (PVDF) membrane (BIORAD, USA)으로 transfer (120 volt, 90분, 4°C). 5% skim milk (BD biosciences, Bedford, USA)으로 1시간 동안 blocking 후, TBST로 3회 세척. 1차 항체를 4°C에서 9~15시간 반응시킨 후 TBST로 3회 세척. 상온에서 HRP가 결합된 2차 항체와 1시간 동안 반응. 사용한 항체는 Table 5에 나타냄. Membrane을 TBST로 3회 세척하고 암실에서 PicoEPD™ Western Reagent (ELPIS, Daejeon, Korea)를 사용하여 Medical X-Ray Film Blue (AGFA)에 현상. Developer와 fixer (VIVID, Korea)는 각각 1 : 4 (D.W)로 희석된 것을 사용.

Table 5. Antibodies used for western blot analysis

	Antibody	Catalog number	Dilution Factor	Corporation
Primary antibody	BIP	3183	1 : 1,000	Cell Signaling
	CHOP	2895	1 : 1,000	Cell Signaling
	FAS	GTX109833	1 : 2,000	Gene Tex
	GAPDH	sc-365062	1 : 1,000	Santa cruz
	SREBP1	sc-13551	1 : 500	Santa cruz
Secondary antibody	Anti-rabbit IgG	7074	1 : 2,000	Cell Signaling
	Anti-mouse IgG	7076	1 : 2,000	Cell Signaling

BIP, binding immunoglobulin protein; CHOP, CCAAT-enhancer-binding protein homologous protein; FAS, fatty acid synthase; GAPDH, glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase; IgG, immunoglobulin G; SREBF-1, sterol regulatory element-binding protein 1c.

(5) 통계 분석

실험 결과의 통계처리는 SPSS program (statistical package for social sciences; ver. 25, IBM Corporation, New York, NY, USA)을 이용하여 분석하였고 모든 실험은 3회 이상 진행되었으며, 결과는 평균 ± 표준편차 (mean ± SD)로 나타냄. 각 군 간의 평균값에 대한 유의성은 신뢰수준 95% (p < 0.05)에서 one-way ANOVA test를 실시하고 유의한 차이를 검증한 후 사후분석으로 Duncan's multiple range test를 사용하여 검증.

3) 쌍별귀뚜라미 가수분해물의 비장세포 증식능 조절 효과 평가

(1) 비장세포 분리

Isoflurane (아이프란액)를 이용하여 마취시킨 다음 심장에서 혈액을 채혈. 혈액은 EDTA가 처리된 tube에 옮겨 일부는 혈구분석을 위해 사용하였고, 나머지 혈액은 3,000 rpm, 15분, 4°C에서 원심분리하여 혈장을 얻음. 실험동물의 비장은 무균적으로 적출하여 1% Antibiotic-Antimycotic (Gibco, NY, USA), 10mM HEPES (Gibco, USA)를 첨가한 RPMI 1640 배양액에서 tissue grinder pestle로 분쇄 후 18G, 22G, 26G의 바늘을 순차적으로 이용하여 세포를 분리. 세포 현탁액을 40 um cell strainer에 통과시킨 후 4,000rpm, 3분간 원심분리하여 cell pellet을 얻음. cell pellet에 ACK lysis buffer (Sigma, Saint Louis, MO, USA)를 분주하여 5분간 방치. 4,000rpm, 3분간 원심분리한 후 상층액을 따라버리고, 배양액을 다시 가하여 세척과정을 반복하여 비장세포 현탁액을 제조.

(2) 비장세포 증식능 측정

비장세포는 96 well cell culture plate에 1×10^5 /well의 농도로 seeding. 5 ug/mL의 Concanavalin A 또는 10 ug/mL의 LPS와 쌍별귀뚜라미 가수분해물을 각 well에 첨가하고 24, 48, 72시간 동안 37°C, 5% CO₂에서 배양. 각 well에 10 uL의 EZ-Cytox reagent (Dogenbio Co., Ltd., Seoul, Korea)를 첨가하고 2시간 동안 배양한 후 Microplate reader (Molecular Device, San Jose, CA, USA)를 사용하여 450 nm에서 흡광도 측정.

(3) 자연살해(natural killer, NK)세포 활성 측정

비장세포는 effector cell, 자연살해세포-specific Yac-1 세포는 target cell로 하여 비장세포의 자연살해세포 활성을 측정. 96 well cell culture plate에 비장세포(5×10^5 /well)와 YAC-1세포 (1×10^4 /well)을 50:1의 비율로 seeding하고 37°C, 5% CO₂에서 24시간 동안 배양. 각 well의 배양액을 회수하여 600 x g, 4°C에서 5분간 원심분리한 후 상층액을 취하여 젖산탈수소효소(lactate deHydrogenase, LDH) 농도를 측정. LDH 농도는 상층액 10 uL와 LDH Mixture 100 uL를 혼합하여 microplate reader (Molecular Device, San Jose, CA, USA)를 이용해 450 nm에서 흡광도를 측정하여 계산. 비장 자연살해세포 활성은 아래의 공식으로 산출.

$$\text{NK cell activity} = \frac{(\text{sample OD} - \text{target cell OD})}{(\text{target cell lysis OD} - \text{target cell OD})} * 100$$

(4) 통계 분석

실험 결과의 통계처리는 SPSS program (statistical package for social sciences; ver. 25, IBM Corporation, New York, NY, USA)을 이용하여 분석. 결과는 평균 ± 표준편차 (mean ± SD)로 나타냄. 각 군의 평균값에 대한 차이는 one-way ANOVA와 Tukey's multiple range test를 사용하여 검증 ($p < 0.05$).

4) 쌍별귀뚜라미 가수분해물의 복강 대식세포 활성화 효과 평가

4-1) 쌍별귀뚜라미 가수분해물의 대식세포(RAW264.7 cell) 활성화 효과 평가

(1) 세포 배양

RAW264.7 세포는 한국세포주은행(Korean Cell Line Bank, Seoul, Korea)으로부터 분양받아 사용하였으며, 10% fetal bovine serum (FBS: Welgene, Daegu, Korea)과 antimycotic/antibiotics (Gibco, Grand Island, NY, USA)이 첨가된 Dulbecco's modified eagle medium (DMEM: Welgene, Korea)에서, 37°C, 5% CO₂ 조건에서 배양.

(2) 세포독성 측정

RAW264.7 세포를 3×10^4 cells/cm²의 농도로 96 well cell culture plate에 분주하여 24시간 동안 배양한 후, 다양한 농도(0, 10, 50, 100, 500 ug/mL)의 쌍별귀뚜라미 가수분해물을 처리하여 24시간 동안 추가로 배양. 양성대조군으로는 1 ug/mL의 LPS (lipopolysaccharide; E.coli 0111:B4, Sigma-Aldrich)를 사용. 세포 생존율은 EZ-Cytox (Dogenbio Co., Ltd., Seoul, Korea) 키트를 사용하여 측정하였으며, 대조군(control)에 대한 백분율(%)로 나타냄.

(3) 대식세포 탐식 활성 측정

대식세포의 탐식능은 NRU (Neutral Red Uptake) 분석을 이용하여 측정. 0.75% Neutral Red stock solution은 Neutral Red (#N4638, Sigma-Aldrich, MO, USA)와 Dulbecco's phosphate buffered saline (DPBS, Welgene, Daegu, Korea)을 혼합하여 제조하였고, 4°C에서 빛을 차단하여 보관. 0.075% Neutral Red working solution은 사용 직전 제조하였으며, 0.75 % Neutral Red stock solution을 배양 배지에 10 배 희석한 후 0.2 um 시린지 필터를 이용하여 여과하여 제조. 염색 제거 용액은 아세트산, 증류수와 에탄올을 1 : 49 : 50의 비율로 혼합하여 제조. RAW264.7 세포를 3×10^4 cells/cm²의 농도로 96 well cell culture plate에 분주하여 24시간 동안 배양한 후, 쌍별귀뚜라미 가수분해물(0, 50, 100 ug/mL) 또는 1 ug/mL의 LPS를 처리하여 24시간 동안 추가로 배양. 배양액을 제거하고 DPBS (Welgene, Korea)로 2 회 세척한 후 0.075 % Neutral Red working solution을 100 mL씩 분주하여 세포 배양기(37°C, 5% CO₂)에서 30분간 배양. 각 well에서 Neutral Red solution을 제거한 후, DPBS (Welgene, Korea)로 3회 씻어낸 다음 150 uL의 염색 제거 용액을 분주하여 10분간 교반. Microplate reader (Molecular Device, San Jose, USA)를 이용하여 540 nm의 파장에서 흡광도를 측정하여 대조군에 대한 백분율(%)로 나타냄.

(4) 배양액의 NO(nitric oxide)와 사이토카인 농도 측정

RAW264.7 세포를 3×10^4 cells/cm²의 농도로 24 well cell culture plate에 분주하여 24시간 동안 배양한 후, 쌍별귀뚜라미 가수분해물(0, 50, 100 ug/mL) 또는 1 ug/mL의 LPS를 처리하여 24시간 동안 추가로 배양. 배양액의 NO 농도는 Griess Reagent Kit (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA)를 사용하여 측정하였고, 배양액의 TNF-alpha와 IL-6의 농도는 ELISA MAX™ Deluxe Set (BioLegend, San Diego, USA)을 이용하여 측정.

(5) Total RNA 분리 및 cDNA 합성

RAW264.7 세포를 3×10^4 cells/cm²의 농도로 6 well cell culture plate에 분주하여 24시간 동안 배양한 후 쌍별귀뚜라미 가수분해물(0, 50, 100 ug/mL) 또는 1 ug/mL의 LPS를 처리하여 24시간 동안 추가로 배양. 세포로부터 total RNA의 추출은 Nucleozol reagent (MACHERY-NAGEL, Hoerd, France)을 이용하여 제조회사가 제공하는 방법에 따라 수행. 추출한 RNA는 건조한 후 20 uL의 DEPC water에 녹이고 분광광도계에서 흡광도를 측정하여 정량. cDNA 합성은 추출한 total RNA 1 ug을 주형으로 사용하여 M-MLV-RTASE (moloney murine leukemia virus reverse

transcriptase; BIONEER, Daejeon, Korea)를 사용하여 합성.

(6) **실시간 중합 효소 연쇄반응(Quantitative Real-Time Polymerase Chain Reaction, qRT-PCR)**
 실시간 중합 효소 연쇄반응은 5배 희석한 cDNA를 이용하여 iQ™ SYBR Green Supermix (BIORAD, Bio-Rad, Hercules, CA, USA)와 CFX Connect Real-Time PCR Detection System (BIORAD, USA)을 사용하여 수행. 발현된 각각 유전자의 mRNA 양은 delta-delta Ct 방법에 따라 RPLP0에 대한 상대적인 양으로서 계산. 사용된 프라이머(primer)의 염기서열은 Table 6에 나타냄.

Table 6. Primer sequences used for quantitative real-time PCR

유전자	프라이머 서열(5' → 3')
IL-6 (Interleukin-6)	Forward: CTGCAAGAGACTTCCATCCAGTT Reverse: AGGGAAGGCCGTGGTTGT
RPLP0 (ribosomal protein, large, P0)	Forward: GCTTCGTGTTCACCAAGGAGGA Reverse: GTCCTAGACCAGTGTTCTGAGC
TNF-alpha (Tumor necrosis factor alpha)	Forward: GGCTGCCCCGACTACGT Reverse: ACTTTCTCCTGGTATGAGATAGCAAAT

IL, interleukin; RPLP0, ribosomal protein, large, P0; TNFalpha, tumor necrosis factor alpha.

(7) 통계 분석

실험 결과의 통계처리는 SPSS program (statistical package for social sciences; ver. 25, IBM Corporation, New York, NY, USA)을 이용하여 분석하였고 모든 실험은 3회 이상 진행되었으며, 결과는 평균 ± 표준편차 (mean ± SD)로 나타냄. 각 군 간의 평균값에 대한 유의성은 신뢰수준 95% (p < 0.05)에서 one-way ANOVA test를 실시하고 유의한 차이를 검증한 후 사후분석으로 Tukey's multiple range test를 사용하여 검증.

4-2) 쌍별귀뚜라미 가수분해물의 마우스 복강대식세포 활성화 효과 평가

(1) 마우스 복강 대식세포의 분리와 배양

본 실험에서 사용된 실험동물은 수컷, BALB/c 마우스(6주령, 19 - 22g)로 라온바이오(Yongin, Korea)에서 구입. 실험동물은 평균 온도 22 - 24 °C, 상대습도 55 ± 5%, 12 시간(9:00 - 21:00) 점등주기로 설정된 사육 환경에서 사육. Isoflurane (Ifran; Hana Pharm Co, Seoul, Korea)을 프로필렌 글리콜(propylene glycol)에 50 %(v/v)의 농도로 희석하여 마우스를 마취시킨 후, 복강에 7 ml의 DPBS (Welgene, Daegu, Korea)를 주입하여 복강액을 회수. 회수한 복강액은 4,000 rpm에서 5 분간 원심분리하여 세포를 분리. 분리한 세포는 10 % FBS (Welgene, Korea), 1% 페니실린 및 스트렙토마이신을 포함한 RPMI-1640 배지를 사용하여 37°C, 5% CO₂에서 배양한 후 DPBS (Welgene, Korea)로 가볍게 씻어냄으로써 부착되지 않은 세포를 제거한 후에 실험에 사용.

(2) 세포독성 측정

복강 대식세포에서 쌍별귀뚜라미 가수분해물이 세포독성을 나타내는지 확인하기 위하여, 복강 대식세포를 세포를 1.5×10^5 cells/cm²의 농도로 96 well cell culture plate에 분주하여 24시간 동안 배양한 후, 0, 10, 50, 100 또는 500 ug/mL의 쌍별귀뚜라미 가수분해물을 처리하여 24시간 배양. 양성대조군으로 1 ug/mL의 LPS (E.coli 0111:B4, Sigma-Aldrich)를 사용. 세포 생존율은 vEZ-Cytox kit(Dogenbio Co., Ltd., Seoul, Korea)를 사용하여 측정하였으며, 대조군(control)에 대한 백분율(%)로 나타냄.

(3) 대식세포의 탐식 활성 측정

대식세포의 탐식능은 NRU 분석(Neutral Red Uptake assay)를 이용하여 측정. 0.75% Neutral Red stock solution은 Neutral Red(#N4638, Sigma-Aldrich, MO, USA)와 Dulbecco's phosphate buffered saline (DPBS, Welgene, Daegu, Korea)을 혼합하여 제조하였고, 4°C에서 빛을 차단하여 보관. 0.075% Neutral Red working solution은 사용 직전 제조하였으며, 0.75 % Neutral Red stock solution을 배양 배지에 10 배 희석한 후 0.2 um 시린지 필터를 이용하여 여과하여 제조. 염색 제거 용액은 아세트산, 증류수와 에탄올을 1 : 49 : 50의 비율로 혼합하여 제조. 복강 대식세포를 1.5×10^5 cells/cm²의 농도로 96 well cell culture plate에 분주하여 24시간 동안 배양한 후, 쌍별귀뚜라미 가수분해물(0, 50, 100 ug/mL) 또는 1 ug/mL의 LPS를 처리하여 24시간 동안 추가로 배양. 배양액을 제거하고 DPBS (Welgene, Korea)로 2회 세척한 후 0.075 % Neutral Red working solution을 100 uL씩 분주하여 세포 배양기(37°C, 5% CO₂)에서 30분간 배양. 각 well에서 Neutral Red solution을 제거한 후, DPBS (Welgene, Korea)로 3회 씻어낸 다음 150 uL의 염색 제거 용액을 분주하여 10분간 교반. Microplate reader (Molecular Device, San Jose, CA, USA)를 이용하여 540 nm의 파장에서 흡광도를 측정하여 대조군에 대한 백분율(%)로 나타냄.

(4) 배양액의 사이토카인 농도 측정

복강 대식세포를 세포를 1.5×10^5 cells/cm²의 농도로 24 well cell culture plate에 분주하여 24시간 동안 배양한 후, 쌍별귀뚜라미 가수분해물(0, 50, 100 ug/mL) 또는 1 ug/mL의 LPS를 처리하여 24시간 동안 추가로 배양. 배양액의 TNF- α 와 IL-6의 농도는 ELISA MAX™ Deluxe Set (BioLegend, San Diego, USA)을 이용하여 측정.

(5) 통계처리

실험 결과의 통계처리는 SPSS program (statistical package for social sciences; ver. 25, IBM Corporation, New York, NY, USA)을 이용하여 분석하였고 모든 실험은 3회 이상 진행되었으며, 결과는 평균 \pm 표준편차 (mean \pm SD)로 나타냄. 각 군 간의 평균값에 대한 유의성은 신뢰수준 95% (p < 0.05)에서 one-way ANOVA test를 실시하고 유의한 차이를 검증한 후 사후분석으로 Tukey's multiple range test를 사용하여 검증.

5) 동물 모델에서 쌍별귀뚜라미 가수분해물의 면역기능 개선 효과 평가

(1) 동물 실험

생후 6주령의 수컷 Balb/c 마우스를 라온바이오(Yongin, Korea)에서 구입. 1주간 동물사육실 (23±20℃, 상대습도 55±5%, 12시간 light/dark cycle)에서 예비 사육한 후, 난괴법에 의하여 10~11마리씩 정상대조군(NOR), cyclophosphamide 투여군(CY), CY + 200 mg/kg Neutrased 가수분해물 투여군(CY + LN), CY + 400 mg/kg Neutrased 가수분해물 투여군(CY + HN), CY + 200 mg/kg Flavourzyme 가수분해물 투여군(CY + LF), CY + 200 mg/kg Flavourzyme 가수분해물 투여군(CY + HF)의 총 6그룹으로 나누어 28일간 사육. 시험물질은 증류수에 녹여서 매일 경구투여하였으며, 정상 대조군과 CY군은 동량의 증류수를 투여함. 모든 실험동물의 식이는 AIN9-93M 식이를 공급하였으며, 전 사육기간 동안 식이와 물은 자유롭게 섭취하도록 함. 실험 21일과 23차에는 150 mg/kg의 cyclophosphamide (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA)를 복강 주사하였으며, NOR군은 생리식염수를 주사. 실험동물의 체중과 식이 섭취량은 일주일에 2번 측정. 실험 종료 후 Isoflurane (아이프란액)을 이용하여 마취시킨 다음 심장 채혈 후, 간, 신장, 비장, 흉선을 적출하여 무게 측정. 모든 동물 실험은 단국대학교 실험동물윤리위원회의 승인을 받아 수행(No. DKU-20-038).

(2) 혈구검사

항응고제(K₂EDTA)가 담긴 채혈 튜브(BD Microtainer)에 담겨 안정화된 혈액을 이용하여 혈구검사 수행. 혈구검사는 자동 혈구 분석기(MEK-6550, Nihon Kohden, Japan)를 이용하여 수행. 백혈구 수치(WBC), 적혈구 수치(RBC), 헤모글로빈 수치(Hb), 적혈구 용적 백분율(Hct), 혈소판 수치(PLT), 적혈구 지수(RBC indices: MCV, MCH, MCHC, RDW, PDW, MPV) 및 호중구 비율(NEU), 림프구 비율 (LYM), 단핵구 비율 (MON)을 측정.

(3) 혈장 사이토카인 농도 측정

항응고제(K₂EDTA)가 담긴 채혈 튜브(BD Microtainer)에 담겨 안정화된 혈액을 3,000rpm, 4℃에서 10분간 원심분리하여 혈장을 분리. 혈장의 사이토카인은 MILLIPLEX MAP Mouse High Sensitivity T Cell Premixed Panel(MHSTCMAG-70KPMX; EMD Millipore, Billerica, MA, USA)과 Luminex 200™ system(40-012; EMD Millipore)을 이용하여 분석. Th1/Th2의 비율은 Qi 등 (2018)의 방법에 따라 아래의 공식으로 산출.

$$\text{Th1/Th2} = (\text{IFN-}\gamma + \text{IL-2}) / (\text{IL-4} + \text{IL-10})$$

(4) 비장세포 증식능 측정

실험동물에서 비장을 적출하여 비장세포를 분리. 비장세포는 96 well cell culture plate에 1 x 10⁵/well의 농도로 seeding. 5 ug/mL의 Concanavalin A 또는 10 ug/mL의 LPS를 각 well에 첨가하고 24, 48, 72시간 동안 37℃, 5% CO₂에서 배양. 각 well에 10uL의 EZ-Cytox (Dogenbio Co., Ltd., Seoul, Korea)를 첨가하여 2시간 동안 배양한 후 microplate reader (Molecular Device, San Jose, CA, USA)를 사용하여 450 nm에서 흡광도 측정.

(5) 비장 자연살해(natural killer, NK)세포 활성 측정

실험동물에서 비장을 적출하여 비장세포를 분리. 비장세포는 effector cell, 자연살해세포-specific Yac-1 세포는 target cell로 하여 비장세포의 자연살해세포 활성을 측정. 96 well cell culture plate에 비장세포(5 x 10⁵/well)와 YAC-1세포 (1 x 10⁴/well)을 50:1의 비율로 seeding하고 37℃, 5% CO₂에서 24시간 동안 배양. 각 well의 배양액을 회수하여 600 x g, 4℃에서 5분간 원심분리한 후 상층액을 취하여 젖산탈수소효소(lactate deHydrogenase, LDH) 농도를 측정.

LDH 농도는 상층액 10 uL와 LDH Mixture 100 uL를 혼합하여 micro plate reader를 이용해 450 nm에서 흡광도를 측정하여 계산. 비장 자연살해세포 활성은 아래의 공식으로 산출.

$$\text{NK cell activity} = \frac{(\text{sample OD} - \text{target cell OD})}{(\text{target cell lysis OD} - \text{target cell OD})} * 100$$

(6) 혈장 AST와 ALT 농도 측정

혈장 AST, ALT 농도는 GOT, GPT test kit (EMBIEL, Gunpo, Korea)를 사용하여 측정. AST 또는 ALT 기질액을 0.1 mL씩 시험관에 넣고 37°C에서 5분간 반응시킨 후 혈청을 0.02 mL씩을 시험관에 가한 후 37°C 수용상에서 AST의 경우 60분, ALT의 경우 30분간 반응시킨 후 정색시약을 0.1 mL씩 첨가하고 실온에서 20분간 방치한 다음 NaOH를 넣어 반응을 중지시킴. 30분 후 505 nm에서 증류수를 맹검으로 하여 표준액, 검액 및 대조군의 흡광도를 측정하여 표준액의 검량 곡선으로부터 효소의 활성 단위를 환산.

(7) 간 조직 항산화 효소 활성 측정

간 조직의 superoxide Dismutase (SOD)와 catalase (CAT) 의 활성과 reduced glutathione (GSH)와 oxidized glutathione (GSSG)의 비율은 상업용으로 판매하는 분석 kit(Dogenbio, Seoul, Korea)를 사용하여 측정. 간 조직의 SOD와 CAT 측정을 위하여, 냉동 보관된 간 조직을 150mM sodium chloride (SAMCHUM CHEMICALS, Seoul, Korea)와 1% of triton-X (Sigma-Aldrich, Saint Louis, MO, USA), 5mM EDTA, and protease inhibitor)이 포함된 lysing buffer [1M Tris-hcl (pH 7.4), BioShop]에서 tissue grinder를 이용하여 균질화. GSH와 GSSG 측정을 위하여 냉동 보관된 간 조직을 5% metaphosphoric acid (MPA) 용액에서 tissue grinder를 이용하여 균질화. 균질화된 용액은 14,000 x g, 4°C에서 15분간 원심분리하여 상층액을 회수한 후 제조사가 제공하는 측정방법에 따라 분석.

(8) 통계 분석

모든 결과는 평균 ± 표준편차 (mean ± SD) 나타냄. 통계 분석은 GraphpadPrism(ver. 5.0, GraphPad Software, Inc., La Holla, CA, USA)을 사용하여 수행. 군 간의 평균 차이는 일원분산 분석(one-way analysis of variance)과 Tukey's 다중비교 방법을 사용하여 분석. 통계적 유의성은 p값이 0.05 미만일 때 유의한 것으로 간주.

제2협동(경민대학교) : 쌍별귀뚜라미 가수분해물을 이용한 간편식(HMR)제품 개발

구분	연구개발 목표	연구개발 내용 및 범위
1년차	쌍별귀뚜라미 가수분해물의 HMR적용 소재 특성평가	1) 쌍별귀뚜라미 가수분해물 조리가공 특성 평가 <ul style="list-style-type: none"> • 가수분해물의 물리적 특성 평가 • 가수분해물의 조리가공 특성 평가 2) 쌍별귀뚜라미 가수분해물의 관능평가 <ul style="list-style-type: none"> • 가수분해물의 분석적 관능평가 • 가수분해물의 소비자기호도 평가
2년차	쌍별귀뚜라미 가수분해물을 이용한 HMR 제품 개발	3) 쌍별귀뚜라미 가수분해물을 이용한 HMR 개발 <ul style="list-style-type: none"> • HMR제품에 적합한 부재료의 선정 • 개발 HMR제품의 조성 개발 • 시제품 4종 개발 4) 개발 시제품의 관능평가 <ul style="list-style-type: none"> • 개발 시제품의 분석적 관능평가 • 개발 시제품의 소비자 기호도 조사

1) 쌍별귀뚜라미 가수분해물 조리가공 특성 평가

1-1) 쌍별귀뚜라미 가수분해물의 물리적 특성 평가

(1) 수분함량

쌍별귀뚜라미 분말 (탈지분말, 가수분해물) 2 g을 취하여 항량 접시에 균일하게 담아 적외선 수분 측정기 (Moisture Determination Balance FD-610, Kett Electric Laboratory, Japan)를 이용하여 105℃에서 3회 반복 측정하였다.

(2) 조단백질함량

쌍별귀뚜라미 분말(탈지분말, 가수분해물)의 조단백질 함량은 Kjeldahl 질소 정량법에 따라 분석하였다(Gerhardt,Vapodest, Germany). 시료 1g을 단백질분해촉진제(K₂PO₄ : CuSO₄ = 4 : 1)와 함께 Kjeldahl 플라스크에 넣고 95% H₂SO₄을 20 mL 가하여 가열분해 장치에서 가열한 뒤 완료된 분해액은 2시간 냉각한 후 automatic Kjeldahl systems(Kjeltec 1026, FOSS. Korea)에 증류수와 32% NaOH로 증류 및 중화 과정을 실행하였다. 가열로 인한 수증기를 증류하여 발생하는 암모니아를 pH 4.5의 boric acid가 포함된 지시약 50 mL이 담긴 삼각플라스크에 포집하고 0.1N H₂SO₄로 적정하여 아래의 계산식으로 조단백질함량을 구하였다.

$$\text{총질소(\%)} = (T-B) \times F \times \text{Normality} \times 14(\text{당량}) \times 100/W$$

$$\text{조단백질(\%)} = \text{총질소(\%)} \times 6.25(\text{단백질계수})$$

T: 샘플 적정에 들어간 황산 표준용액의 mL

B: 공시료 적정에 들어간 황산 표준용액의 mL

F: 환산표준용액의 factor 값

Normality: 적정에 사용된 산의 노르말 농도

W: 시료의 무게(mg)

(3) 염도 측정

쌍별귀뚜라미 분말(탈지분말, 가수분해물)의 염도는 측정은 Morh 법을 이용하여 시료 2 g을 멸균 팩에 넣고 증류수를 가하여 100 g 까지 정용하였다. 증류수와 희석된 시료는 Stomacher (speed 8, 2 min) 로 균질화 시킨 후 여과하여 실험에 사용하였다. 이 중 10 mL 을 취하여 10% K₂CrO₄ 1 mL 를 넣고 0.1 N AgNO₃로 적정하였다.

(4) 나트륨 측정

시료의 나트륨 측정은 시료 2 g을 자체 크루시블에 취하고 열판에서 예비회화시킨 후 전기로 600°C에서 2시간 이상(회백색) 회화시킨 뒤 방냉하고 염산용액(1:1) 10mL를 가하여 24시간 방치 용해시킨 다음 No.6 여과지를 이용 뜨거운 물로 여과하여 일정량으로 맞춰 시료액으로 한다. 나트륨 표준용액(1,000ppm)과 시료액의 나트륨 농도가 1000ppm이 되도록하여 원자흡광분광광도계 588.9nm에서 표준용액으로 검량선을 구한 다음 시료액의 흡광도를 구하였다.

$$\text{나트륨(\%)} = \frac{\text{시료액의흡광도}/1\text{ppm기준 흡광도} \times \text{희석배수}}{\text{시료중량(g)} \times 106} \times 100$$

(5) 색도 측정

쌍별귀뚜라미 분말(탈지분말, 가수분해물)의 색도는 분말 형태의 시료를 4 g씩 35Φ petri dish (SPL Life Sciences, Pocheon, Seoul)에 빈공간이 없도록 채운 후 색차계 (Spectro colorimeter, Minolta CR-200b, Japan)를 사용하여 시료의 L (Lightness), a (Redness), b (Yellowness)값을 3회 반복 측정하였다. 이때 사용한 표준백색판(Calibration palate CR-A43)의 명도 값은 94.50, 적색도 값은 0.3032, 황색도 값은 0.3193이었다. 측정값은 Hunter 명도 (L), 적색도 (a), 황색도 (b)로 나타내었다.

(6) 겉보기 밀도

조리시에는 계량 스푼이나 계량컵을 자주 사용하고 있어 시료분말을 계량스푼 (5mL, 15mL)과 계량컵(200mL)을 이용하여 시료를 체로 한번 친후 계량도구에 담아서 무게를 3반복 측정하여 겉보기 밀도 (무게g/부피mL)를 제시함

1-2) 쌍별귀뚜라미 분말 수용액의 물리적 특성 분석

시료 처리

쌍별귀뚜라미 분말 (탈지분말, 가수분해물) 2 g에 증류수 20 ml를 가하여 시료와 증류수는 Stomacher (speed 7, 2 min) 로 균질화 시킨 후 3,000 rpm에서 30분간 원심분리 (HMR-220IV, Hanil Industiral Co., Seoul, Korea)한 후 상등액을 취하여 분석 시료로 사용하였다.

(1) pH 측정

pH meter (Model PB-10, Sartorius, Germany)를 이용하여 상등액의 pH를 3회 반복 측정하였다.

(2) 가용성 고형분함량 측정

상등액 1 ml를 굴절당도계 (Digital refractometer, Model PR-101, °Brix 0-45%, Nippon - Optical Works Co, Japan)를 이용하여 3회 반복 측정하여 °Brix %로 표시하였다.

(3) 수분결합능력 (Water Binding Capacity)

원심분리한 시료의 침전물 무게를 측정하고 처음 시료량과의 중량비로부터 수분결합능력을 계산하였다.

$$\text{수분결합능력 (WBC, \%)} = \text{침전물의 중량 (g)} / \text{처음 시료량 (g)} \times 100$$

(4) 단백질 용해도

시료와 상등액의 단백질분석은 위 조단백질분석 방법에 따라 분석하였으며, 단백질의 용해도는 다음 식에 의하여 산출하였다.

$$\text{단백질 용해도 (Protein solubility, \%)} = \text{상등액의 단백질양 (g)} / \text{시료의 단백질량 (g)} \times 100$$

(5) 탁도

시료의 탁도는 시료를 증류수로 30배 희석한 후 UV-Vis Spectrophotometer (UV-1201, Shimadzu Co., Kyoto, Japan)를 이용하여 상등액의 최고 흡광도인 390 nm에서 측정하여 나타내었다.

1-3) 쌍별귀뚜라미 가수분해물의 조리가공 특성 평가

(1) 떡제조 (백설기) 적용

(가) 멬쌀떡 제조방법

멬쌀떡 제조는 백설기 믹스(메고지고, 라이스 파이)를 사용하여 마이찌(메고지고, 라이스 파이) 찌기에 백설기 믹스 대비 쌍별귀뚜라미 가수분해물을 5%, 7%, 10%를 첨가하여 5분간 찌서 제조하였다.

[멬쌀떡 배합비]

재료	(단위 : g)		
	5%	7%	10%
백설기 믹스	95	93	90
쌍별귀뚜라미 가수분해물	5	7	10

(나) 찹쌀떡 제조방법

찹쌀떡제조는 찹쌀 믹스 (메고지고, 라이스 파이)를 사용하여 마이찌(메고지고, 라이스 파이)찌기에 찹쌀 믹스 대비 쌍별귀뚜라미 가수분해물 5%를 첨가하여 5분간 찌서 제조하였다.

[찹쌀떡 배합비]

재료	(단위 : g)		
	5%	7%	10%
찹쌀 믹스	95	93	90
쌍별귀뚜라미 가수분해물	5	7	10

(2) 제면 적용

밀가루와 소금을 섞은 다음 밀가루 중량 100%를 기준하여 쌍별귀뚜라미 가수분해물 5, 8, 10, 15, 20% 첨가하고 물을 가하여 실온(20℃)에서 10분간 반죽한 후 반죽을 비닐 백에 넣어 냉장고

에서 1시간 숙성 시켰다. 완성된 반죽을 제면기(Marcato 8340 Atlas Pasta Dough Roller, Italy)를 이용하여 0, 1, 2, 3 단계에서 각각 2회씩 내려준 후 0.2cm 두께의 면으로 뽑아 생면을 제조하였다. 제조된 생면은 끓는 물에 넣어 5분간 끓인 후 찬물에 2~3번 헹구어 걸물기를 빼었다.

[생면 제조 배합비]

(단위 : g)

재료	5%*	8%*	10%*	15%*	20%*
밀가루	95	92	90	85	80
쌍별 귀뚜라미 가수분해물	5	8	10	15	20
소금	5	5	5	5	5
물	92	92	92	92	92

* : Baker's % (B %)

(4) 죽 조리 적용

냄비에 불린 쌀과 쌍별귀뚜라미 가수분해물을 넣고 약 2분정도 볶다가 물을 부어 끓인다. 끓기 시작하면 약불로 하여 냄비의 뚜껑을 살짝 오픈해서 17분간 더 끓여 준다.

[죽 제조 배합비]

(단위 : g)

재료	0.6%	0.9%
쌀 (1시간 불린쌀)	30	30
쌍별귀뚜라미 가수분해물	2	3
참기름	3	3
소금	0.7	0.7
물	300	300
조리 후 중량	230	240

(5) 전(부침개) 조리 적용

침가루 (백설 5가지 자연에서 얻은 재료 부침가루, (주) 씨제이제일제당)와 쌍별귀뚜라미 초고압 효소처리물을 10%, 15% 첨가하여 물과 섞어 달궈진 팬에 식용유를 두르고 부쳐 제조하였다.

[전(부침개) 제조 배합비]

(단위 : g)

재료	10%*	15%*
부침가루	90	85
쌍별귀뚜라미 가수분해물	10	15
물	160	160
식용유	12	12

* : Baker's %

(6) 핫케익 조리 적용

핫케익믹스((주) 씨제이제일제당)와 쌍별귀뚜라미 가수분해물을 10%, 15% 첨가하여 물과 섞어 달궈진 팬에 식용유를 두르고 부쳐 제조하였다.

[핫케익 제조 배합비]

(단위 : g)

재료	10%*	15%*
핫케익 믹스	90	85
쌍별귀뚜라미 가수분해물	10	15
물	160	160
식용유	10	10

* : Baker's %

(7) 식빵 제조 적용

식빵 제조에 사용된 식빵믹스((주)브레드가든)는 식빵믹스 중량(360g 기준)의 10, 12, 15%를 쌍별귀뚜라미 초고압효소처리물을 대체하여 제조하였다. 식빵 제조에 사용되는 재료를 계량하여 제빵기 (BNVM-12, Daeyong Bakery Machinery Co., Ltd.)에 넣고 제조 (2시간 모드) 하였다.

[식빵 제조 배합비]

(단위 : g)

재료	10%*	12%*	15%*
식빵 믹스	324	316.8	306
쌍별귀뚜라미 가수분해물	36	43.2	54
인스턴트 이스트	4	4	4
물	210	210	210
버터	30	30	30

* : Baker's %

(7) 쿠키 제조 적용

다크초콜릿은 중탕하여 녹여준다. 버터는 상온에 1시간 정도 두어 무르게 만든 후 휘핑하여 풀어 주고 설탕을 넣어 섞는다. 녹인 초콜릿을 위 버터에 넣고 섞어 준 뒤 가루류를 체로 쳐서 스크래퍼로 두드리듯이 섞어준다. 반죽을 뭉쳐 덩어리로 만들어 1시간 냉장 숙성한 후 30g씩 반죽을 떼어 둥글려 준 뒤에 비닐을 덮고 밀대로 밀어 펴준다. 180/160℃로 예열된 오븐에서 10~15분 정도 구워준다.

[초코쿠키 제조 배합비]

(단위 : g)

재료	7%	14%
중력분	18.1	16.8
쌍별귀뚜라미 가수분해물	12.1	24.9
달걀	33.6	28.9
무염버터	20.1	20.1
다크초콜릿	53.7	47.0
황색설탕	40.3	40.3
베이킹소다	0.7	0.7
바닐라익스트랙트	1.3	1.3

(6) 머핀 제조 적용

버터를 상온에 1시간 정도 두어 무르게 만든 후 휘핑하여 가볍게 풀어주고 여기에 설탕을 넣고 달걀을 풀어서 3번에 나눠 잘 섞어주며 넣는다. 나머지 가루 재료를 체에 한번 내려 반정도를 반죽에 넣고 살짝 섞고, 우유와 꿀을 넣은 후 나머지 가루를 넣고 섞어준다. 머핀 틀에 80%정도 패닝하여 190/170℃에서 25분 정도 구워준다.

[머핀 제조 배합비]

(단위 : g)

재료	7%	12%
박력분	40.5	31.8
쌍별귀뚜라미 가수분해물	12.7	21.4
달걀	52.1	52.1
무염버터	14.5	14.5
설탕	37.6	37.6
꿀	5.8	5.8
우유	14.5	14.5
바닐라익스트랙트	1.2	1.2
바닐라익스트랙트	1.2	1.2

(7) 셰이크류 제조 적용

쌍별귀뚜라미 가수분해물을 이용하여 셰이크류 제조시 첨가량과 masking효과가 있는 재료를 탐색 하고자 몇 가지 셰이크류를 만들어 맛 평가를 하였다. 미숫가루 제조 배합표는 다음 표와 같으며, 미숫가루 (마15곡 미숫가루, 담터)에 쌍별귀뚜라미 가수분해물을 3%까지 첨가하여 평가하였다.

[미숫가루 제조 배합비]

재료	0%	2%	3%
미숫가루스	20	20	20
쌍별귀뚜라미 가수분해물	0	2	3
물	100	100	100
설탕	2	2	2

(7-1) 음료 적용

쌍별귀뚜라미 가수분해물을 사용시 masking 효과를 보기 위하여 시중에 판매되는 5개의 음료 분말 제품을 선택 (한방차(담터), 속차(담터), 쌍화차(담터), 생강차(담터), 프로틴 셰이크(마이밀, 대상웰라이프))하여 제품별 각 1포에 쌍별귀뚜라미 가수분해물 3%를 첨가하여 아래 표와 같이 준비하여 맛 평가를 하였다.

[음료(차) 제조 배합비]

재료	음료제품 믹스 (g)	쌍별귀뚜라미 가수분해물 (g)	물 (g)
프로틴 셰이크	20	3	100
한방차	15	3	100
쌍화차	15	3	100
생강차	15	3	100
속 차	15	3	100

2) 쌍별귀뚜라미 가수분해물의 관능 평가

2-1) 쌍별귀뚜라미 가수분해물의 분석적 관능평가

쌍별귀뚜라미 가수분해물의 관능적 특성을 파악하고자 분석적 묘사분석 실시하였다.

(1) 묘사분석 방법

쌍별귀뚜라미 가수분해물의 정량적 묘사분석에 대한 흥미과 관심을 가진 학생을 선발하여 기본적인 맛의 예민도를 검사하고 차이식별검사과정을 통하여 최종적으로 7명의 패널을 선정하였다. 패널들은 2주에 걸쳐 1시간씩 3회 훈련하며 묘사분석의 정의, 방법, 특성 및 정량적 묘사분석의 일반적인 절차와 본 연구의 목적에 대하여 설명하며 훈련을 실시하였다. 훈련과정을 통하여 시료에 나타나는 묘사용어를 도출하며 해당 표준시료와 강도를 설정하였으며 묘사용어의 정의, 약어, 표준시료에 대한 정보는 다음 표와 같다. 본 실험은 2주 동안에 3회 평가 실시하였으며, 평가척도는 15점을 사용하였다. 평가결과와 유의성 분석은 Microsoft Excel의 데이터 분석을 통하여 t-검정(등분산 가정 두집단)으로 분석하였다.

< 쌍별귀뚜라미 가수분해물 관능특성의 정의와 표준물질 >

관능 특성		특성의 정의	표준물질(제조사) (-강도)
색 (color)	명도	밝기 강도	한국표준색표집* (10YR)
	채도	색깔의 강도	한국표준색표집 (10YR)
향 (aroma)	구수한 향	새우분말의 구수한 향	새우분말(참두리) - 12
	비린향	멸치분말의 비린향	멸치분말(빅맘씨푸드) - 15
맛 (taste)	짠맛	혀에서 인지되는 NaCl의 기본적인 짠맛	NaCl soln. 0.5% - 5 ; 1.0% - 13
	쓴맛	혀에서 인지되는 카페인의 기본적인 쓴맛	카카오 닙스 (Fairday, Vietnam) -13
	신맛	혀에서 인지되는 구연산의 기본적인 신맛	Citric acid soln. 0.08% - 4 ; 0.16% - 10
	감칠맛	새우분말의 감칠맛	새우분말(참두리) - 14
질감 (texture)	입자의 잔 존감	입안에서 움직였을 때 혀의 표면에서 느껴 지는 잔존감(degree of residue)	새우분말(참두리) - 6

* 한국표준색표집 (산업자원부 기술표준원) : 색의 3속성에 의한 표시 방법 (KS A 0062) 색상(HUE) 10YR, 명도(Value), 채도(Chroma) H V/C로 표기

2-2) 쌍별귀뚜라미 가수분해물의 소비자 기호도 조사

(1) 개요

쌍별귀뚜라미 가수분해물의 묘사분석에서 관능적으로 쓴맛이 두드러져 나타나 쌍별귀뚜라미가수분해물 시료 자체의 소비자기호도 조사의 의미는 의미가 약한 것으로 판단되어 쌍별귀뚜라미 초고압 효소처리물이 첨가된 셰이크 제품을 만들어 소비자 기호도조사를 실시하기로 하였으며 소비자기호도조사는 (주)센소메트릭스에 의뢰하여 조사를 실시하였으며, 30~50대 여성을 대상으로 선정하여 관능검사를 수행하였다.

(2) 시료 준비 및 방법

(가) 시료

쌍별귀뚜라미 가수분해물이 각각 10%(효소10), 15%(효소15), 20%(효소20)가 첨가된 단백질 셰이크 제품 3종과 쌍별귀뚜라미 탈지분이 20% 첨가된 단백질 셰이크 (대조구), 총 4제품을 관능검사 평가 시료로 하였다.

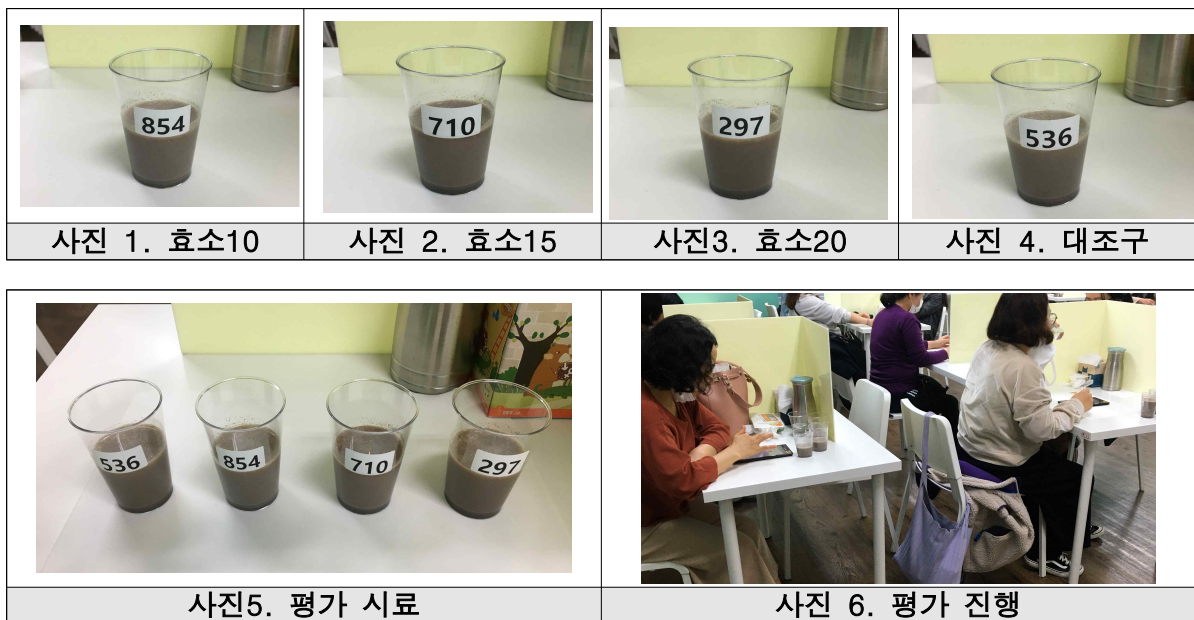
(나) 패널 선정

관능검사 참여자는 식품에 알레르기가 없는 사람으로 30~50대 여성 34명을 선정하였으며, 관능검사는 2020년 11월 18일 오후 3시, 5시 총 2번으로 나누어 서울특별시 영등포구에 위치한 (주)센소메트릭스 관능검사 센터 내에서 실시하였다.

(다) 시료 준비 및 제시

각 평가 시료는 상온 상태에서 1인당 단백질 셰이크 분말 30g을 물 140mL에 넣은 후 잘 섞어 음료형태로 제조하였으며, 투명한 플라스틱 컵에 100mL씩 평가자에서 제공하였다. 4가지 제품의 제공 순서는 평가자 별로 각각 다르게 하였으며, 제공된 제품을 절반 이상 섭취한 뒤 각 제품의 기호/강도를 개별 평가한 후 4 제품 간 종합순서를 평가하도록 하였다.

<평가 진행 및 시료(제품) 사진>



(라) 평가 항목

① 기호특성 평가

기호평가 항목으로 전반적인 맛에 대한 종합기호와 외관, 향, 맛, 입안느낌, 뒷맛의 세부기호를 9점 척도로 평가하였다 (표 1).

표 1. 기호특성 평가(9점 척도)

	9점 척도								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
종합/세부 기호평가	대단히 싫다		싫다		좋지도 않다		좋다		대단히 좋다

② 감각특성 평가

각 평가 시료의 색상, 단맛, 쓴맛, 신맛, 고소한맛, 이미이취, 텁텁함, 걸쭉함, 마시고 난 뒤의 뒷맛 깔끔함에 대해 현재 느껴지는 강한 정도인 인지강도와 인지강도를 기준으로 개선되었으면 하는 정도인 희망강도를 9점 척도(표 2)로 평가하였다.

표 2. 감각특성 평가(9점 척도)

	9점 척도								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
관능속성 인지강도	매우 약하다		약하다		보통 이다		강하다		매우 강하다
관능속성 희망강도	매우 약한		약한		보통		강한		매우 강한

③ CATA 프로파일 평가

외관, 향, 맛, 입안느낌, 뒷맛과 관련한 표현들을 제시하고 각 제품과 어울린다고 생각하는 용어를 모두 선택하게 하였다.

④ 종합 선호 평가

각 평가 시료에 대해 기호/강도 평가를 완료한 후 네 제품 간 선호하는 순서를 1순위 (가장 선호함) ~ 4순위로 평가하는 종합 선호 평가를 실시하였다.

⑤ 컨셉 수용도 평가

식용곤충 단백질 가공식품에 대한 컨셉을 제시하여 컨셉에 대한 만족도와 컨셉 제품에 대한 기대감, 컨셉만 보았을 때 구매의지와 식용곤충 단백질 가공식품의 가격을 제시하였을 때 구매의지를 5점 척도로 평가하였다(표 3).

표 3. 컨셉 수용도 평가(5점 척도)

	5점 척도				
	1	2	3	4	5
컨셉 만족도	전혀 마음에 들지 않는다	마음에 들지 않는 편이다	보통이다	마음에 드는 편이다	매우 마음에 든다
컨셉 기대감	전혀 기대가 되지 않다	기대가 되지 않은 편이다	보통이다	기대가 되는 편이다	매우 기대가 된다
컨셉/가격 구매의지	전혀 구입하고 싶지 않다	구입하고 싶지 않다	반반/ 그저 그렇다	구입하고 싶다	매우 구입하고 싶다

⑥ 가격 평가

식용곤충 단백질 웨이크 제품(1포 30g 기준)에 대해 평가자가 생각하는 구매 가능한 최소가격과 최대가격, 평가자가 생각하는 구매하기에 적절한 가격을 평가하였다.

⑦ 결과 분석

관능분석 결과 수집은 SensMine(센소메트릭스)를 활용하였으며, 결과의 통계분석은 관능검사 소프트웨어 SENSOTOOL R (센소메트릭스)이 사용되었다. 종합 선호 결과는 각 시료에 대한 선호 순위합을 Conover's test 방법으로 95% 신뢰수준에서 다중 비교 검정하였다. 기호 및 강도 평가 결과는 LSD(Least Significant Difference) 방법으로 95% 신뢰수준에서 다중비교 검정하였다. 관능품질 개선 방향에 대해서는 종합기호도와 관능속성의 인지 및 희망강도 반응값에 대해 Ideal Profile Method(IPM) 방법으로 분석하였다.

3) 쌍별귀뚜라미 가수분해물을 이용한 HMR 개발

3-1) 쌍별귀뚜라미 가수분해물을 이용한 HMR 제품에 적합한 부재료의 선정과 개발 HMR 제품의 조성개발
쌍별귀뚜라미 가수분해물의 조리적용 연구에서 멧쌀떡 제조, 식빵 제조, 셰이크류 제조 등이 적절한 첨가범위에서 적용성이 검증되어 기능성과 단백질 제공량을 고려하여 한끼에 균형잡힌 3대 영양소가 제공될 수 있으며 보존을 위한 첨가물의 사용을 최소화하고 섭취가 용이한 가정간편식 (HMR) 제품을 개발하게 됨

4) 개발 시제품의 관능평가

4-1) 개발 시제품의 분석적 관능평가

(1) 귀뚜라미 감자스프

경민대학교 구내에서 학과계시판을 통하여 관능검사 참여 패널을 모집하였으며 20대 2명, 30대 8명, 남자 5명, 여자 5명을 모집하여 알리지 반응에 관한 여부를 확인하고, 제품 평가에 대한 기본적인 훈련을 받은 후에 평가에 참여하도록 하였으며, 항목의 평가는 9점 척도로 진행하였음 (IRB File No. DKU 2021-10-017).

(2) 귀뚜라미 치아바타 샌드위치

경민대학교 구내에서 학과계시판을 통하여 관능검사 참여 패널을 모집하였으며 20대 3명, 30대 7명, 남자 2명, 여자 8명을 모집하여 알리지 반응에 관한 여부를 확인하고, 제품 평가에 대한 기본적인 훈련을 받은 후에 평가에 참여하도록 하였으며, 항목의 평가는 9점 척도로 진행하였음

4-2) 개발 시제품의 소비자 기호도 조사

귀뚜라미 가수분해물과 귀뚜라미탈지분말을 첨가하여 제조한 냉동김밥(귀뚜라미 볶음김밥)과 냉동영양떡(귀뚜라미 단백질영양떡), 2가지 시제품에 대한 소비자 기호도를 확인하기 위해 30~50대 여성 32명을 선정하여 관능검사를 수행 ((주)센소메트릭스 의뢰)하였다.

(1) 시료 및 방법

① 시료

귀뚜라미 가수분해물과 귀뚜라미탈지분말이 첨가된 냉동김밥(귀뚜라미 볶음김밥), 냉동영양떡(귀뚜라미 단백질영양떡) 두 제품을 관능검사의 평가 시료로 하였다. 모든 평가 시료는 경민대학교에서 (주)센소메트릭스에 제공 하였다.

② 패널 선정

관능검사 참여자는 식품에 알레르기가 없는 사람으로 30~50대 여성 32명을 선정하였으며, 관능검사는 2021년 6월 22일 오후 2시, 4시 총 2회로 나누어 서울특별시 영등포구에 위치한 (주)센소메트릭스 관능검사 센터 내에서 실시하였다.

③ 시료 준비 및 제시

각 평가 시료는 전자레인지로 1차 해동(냉동김밥 1분, 냉동영양떡 2분) 후 다시 2분을 더 전자레인지로 가열 조리하였으며, 사기 접시에 1개의 제품을 반으로 잘라 1/2 개씩 평가자에게 제공하였다. 제공된 제품을 절반 이상 섭취한 뒤 각 제품의 기호/강도를 평가하도록 하였다.

<평가 진행 및 시료(제품) 사진>



사진 1. 평가시료 (냉동김밥)

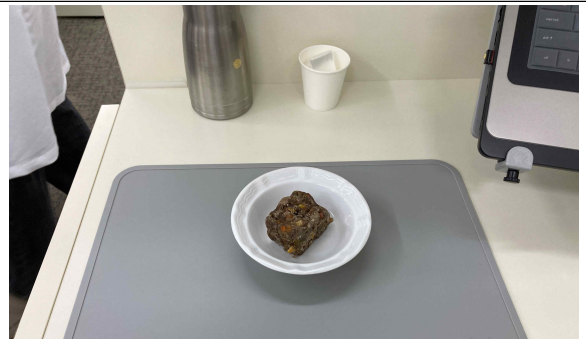


사진 2. 평가시료 (냉동영양떡)



사진 3. 평가 진행 (냉동김밥)

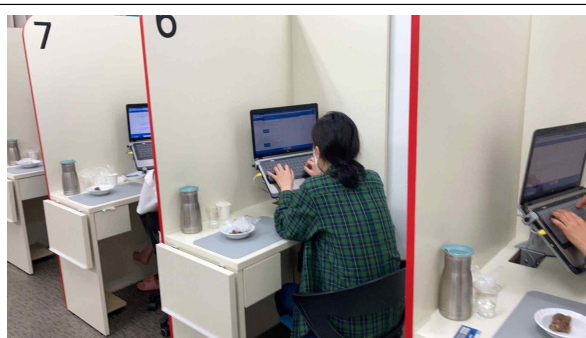


사진 4. 평가 진행 (냉동영양떡)

(2) 평가 항목

① 기호특성 평가

기호평가 항목으로 전반적인 맛에 대한 종합기호와 외관, 향미, 식감, 뒷맛의 세부기호를 9점 척도로 평가하였다 (표 1).

표 1. 기호특성 평가(9점 척도)

	9점 척도								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
종합/세부 기호평가	대단히 싫다		싫다		보통이다		좋다		대단히 좋다

② 감각특성 평가

각 평가 시료의 단맛, 짠맛, 쓴맛, 신맛, 감칠맛, 이미이취, 조화로움(냉동김밥)에 대해 현재 느껴지는 강한정도인 인지강도와 인지강도를 기준으로 개선되었으면 하는 정도인 희망강도를 9점 척도(표 2)로 평가하였다.

표 2. 감각특성 평가(9점 척도)

	9점 척도								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
관능속성 인지강도	매우 약하다		약하다		보통이다		강하다		매우 강하다
관능속성 희망강도	매우 약한		약한		보통		강한		매우 강한

③ 컨셉 수용도 평가

식용곤충 단백질 가공식품에 대한 컨셉을 제시하여 컨셉에 대한 만족도와 식사대체 효과에 대한 기대감을 5점 척도로 평가하였다 (표 3).

표 3. 컨셉 수용도 평가(5점 척도)

	5점 척도				
	1	2	3	4	5
컨셉 만족도	전혀 마음에 들지 않는다	마음에 들지 않는 편이다	보통이다	마음에 드는 편이다	매우 마음에 든다
컨셉 기대감	전혀 기대가 되지 않다	기대가 되지 않은 편이다	보통이다	기대가 되는 편이다	매우 기대가 된다

④ 구매의지 평가

맛만 보았을 때, 컨셉만 보았을 때, 맛과 컨셉을 모두 고려하였을 때 구매의지와 식용곤충 단백질 가공식품의 가격을 제시하였을 때 구매의지를 5점 척도로 평가하였다 (표 4).

표 4. 컨셉 수용도 평가(5점 척도)

	5점 척도				
	1	2	3	4	5
구매의지	전혀 구입하고 싶지 않다	구입하고 싶지 않다	반반/ 그저 그렇다	구입하고 싶다	매우 구입하고 싶다

⑤ 가격 평가

식용곤충 단백질 가공식품 (냉동김밥 1개 180g 기준, 냉동영양떡 1개 180g 기준)에 대해 평가자가 생각하는 구매 가능한 최소가격과 최대가격, 평가자가 생각하는 구매하기에 적절한 가격을 평가하였다.

(3) 결과 분석

관능분석 결과 수집은 SensMine(센소메트릭스)를 활용하였으며, 결과의 통계분석은 관능검사 소프트웨어 SENSOTOOL R (센소메트릭스)이 사용되었다. 관능품질 개선 방향에 대해서는 종합기호도와 관능속성의 인지 및 희망강도 반응값에 대해 Ideal Profile Method(IPM) 방법으로 분석하였다.

3. 연구개발과제의 수행 결과 및 목표 달성 정도

1) 연구수행 결과

(1) 정성적 연구개발성과

제1세부((주)한미양행) : 쌍별귀뚜라미 가수분해물 소재의 개발 및 사업화

1) 쌍별귀뚜라미 가수분해물의 제조법

1-1) 쌍별귀뚜라미 전처리 방법 및 가수분해물 제조방법

(1) 탈지 조건

- 건조 쌍별귀뚜라미를 5분, 10분, 15분 동안 착유하여 탈지한 탈지분말의 수율은 아래와 같음. 탈지 후 생산수율과 로스율을 결과 토대로 생산의 효율성을 위하여 **탈지 시간 15분**을 선정하였음. 탈지 10분과 15분에서는 생산수율이 각각 93.81%, 93.48%로 차이가 나지 않았으나 착유된 오일의 양과 손실율을 비교했을 시 탈지 15분이 생산의 효율성이 높은 것으로 판단됨

표. 쌍별귀뚜라미 탈지 수율

#Lot.	탈지시간	투입량(g)	탈지후 무게(g)	오일량(g)	생산수율(%)	로스율(%)
#1	5분	2,700	2,588	80	95.85	1.19
#2		2,700	2,584	82	95.70	1.26
#3		2,700	2,582	84	95.63	1.26
평균			2,585	82	95.73	1.22
#1	10분	2,700	2,490	112	94.96	0.89
#2		2,700	2,576	104	95.41	0.74
#3		2,700	2,556	108	94.67	1.33
평균			2,533	108	93.81	0.99
#1	15분	2,700	2,532	160	93.78	0.30
#2		2,700	2,516	168	93.19	0.59
#3		2,700	2,524	164	93.48	0.44
평균			2,524	164	93.48	0.44



그림. 탈지시간별 쌍별귀뚜라미 탈지 이미지

(2) 고압증기멸균 조건

- 상기 탈지조건으로 설정된 쌍별귀뚜라미 탈지분말을 고압증기멸균기를 이용하여 121℃에서 0~60분 동안 처리한 후 가수분해도를 분석한 결과, Neutrase 및 Protamex에서는 고압증기 처리시간 30분을 정점으로 시간이 갈수록 가수분해도가 증가되다가 그 이후에는 감소되었으며, 효소별로는 Neutrase에서 가수분해도가 높았음
- 쌍별귀뚜라미 가수분해물 제조를 위한 전처리 방법으로 **고압증기멸균 60분**으로 선정하였음
- 가수분해도 분석 결과 Neutrase에서 높은 분해도를 보였으나, 관능적인 특성에서는 Flavourzyme 효소 사용한 시료에서 활용도가 높아 **제1협동(단국대학교)의 생리활성 실험을 위해서는 Neutrase, Flavourzyme 효소처리물을 시료로 제공하였으며, 제2협동(경민대학교)의 HMR개발을 위해서는 Flavourzyme 효소처리물을 시료로 제공 하였음**

표. 고압증기멸균 처리 시간에 따른 쌍별귀뚜라미 효소가수분해물의 가수분해도

Enzymes	Time of pressure (min)			
	0 (control)	15	30	60
Alcalase	72.57±0.73 ^a	52.72±2.51 ^b	63.92±11.45 ^a	46.02±0.109 ^b
Protamex	49.31±3.54 ^b	56.09±1.81 ^a	55.83±1.15 ^a	52.32±0.62 ^{ab}
Flavourzyme	33.41±2.12 ^a	33.28±1.99 ^a	16.56±9.17 ^b	32.27±1.50^a
Neutrase	52.27±1.19 ^c	59.51±1.87 ^b	69.04±4.81 ^a	70.68±1.47^a

mean ± SD (n=3)

Different superscripts in the same row indicate significant differences (p<0.05).

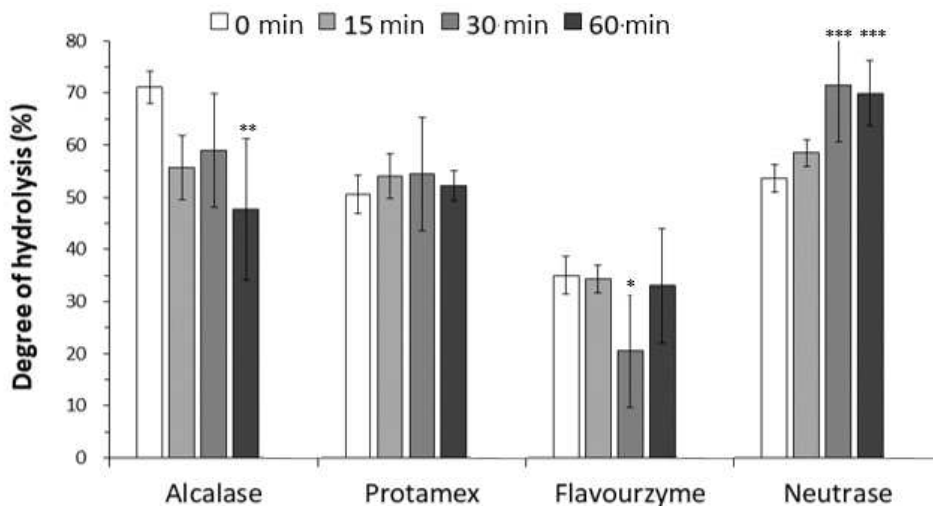


그림. 고압증기멸균 처리 시간에 따른 쌍별귀뚜라미 효소가수분해물의 가수분해도

(3) 초고압처리 조건

- 상기 탈지조건으로 설정된 쌍별귀뚜라미 탈지분말을 1,500 bar~5,500 bar의 압력으로 5분 간 초고압 처리한 후 가수분해도를 분석한 결과, Neutrase군에서는 1,500 bar에서 가수분해도가 증가하였다가 그 이후에서는 감소하였으며, Alcalase군에서는 압력이 증가함에 따라 가수분해도가 증가하여 4,500과 5,500 bar에서는 대조군(0 bar)보다 높았으나 통계상의 유의적인 차이를 보이지 않았음
- 쌍별귀뚜라미 가수분해물 제조를 위한 전처리 방법으로 **초고압처리 압력 1,500 bar, 5분**으로 선정하였음

표. 초고압 처리 압력에 따른 쌍별귀뚜라미 효소가수분해물의 가수분해도

Enzymes	Pressure (bar)					
	0	1,500	2,500	3,500	4,500	5,500
No enzyme	3.93	5.22±0.69	7.30±0.47	3.89±2.44	3.72±1.72	4.68±1.12
Alcalase	30.12	7.15±7.47	38.84±4.78	39.06±7.35	47.21±0.80	49.25±6.28
Protamex	22.32	36.75±7.51	38.93±4.01	37.97±4.35	42.53±2.97	34.46±2.84
Flavourzyme	39.26	23.46±2.23	22.86±0.89	25.01±0.72	20.85±3.06	23.93±1.09
Neutrased	31.32	42.58±5.60	36.42±1.59	33.80±4.09	37.34±3.41	32.11±4.45

mean ± SD (n=3)

Different superscripts in the same row indicate significant differences (p<0.05).

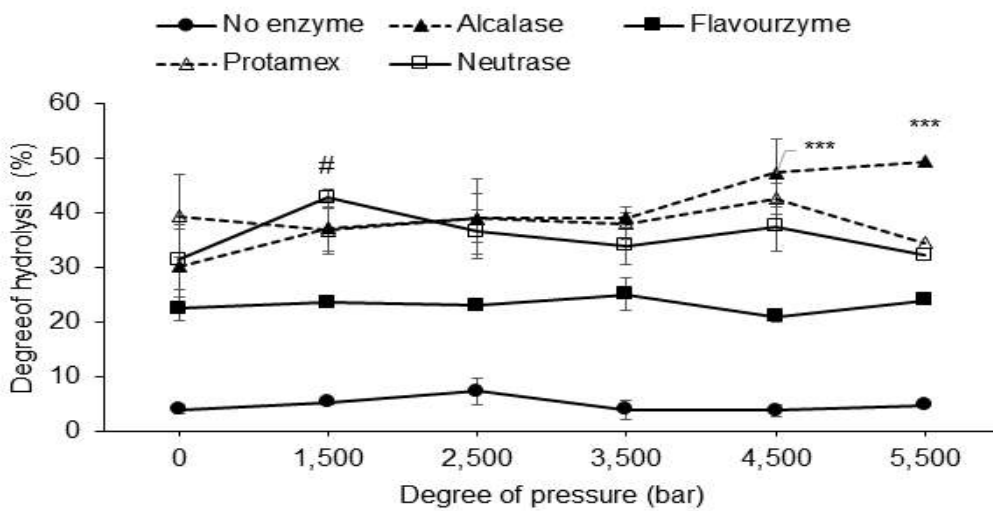


그림. 초고압 처리 압력에 따른 쌍별귀뚜라미 효소가수분해물의 가수분해도

(4) 가수분해물 아미노산

(가) 유리아미노산

- 가수분해도와 in-vitro 효능평가 스크리닝 결과를 토대로, 쌍별귀뚜라미 탈지분말 1,500 bar 초고압 처리하여 효소가수분해 후 여과액을 분무건조하여 유리아미노산을 분석 하였음
- 쌍별귀뚜라미 탈지분말을 가수분해 후 유리아미노산의 함량이 높아짐을 확인하였으며, Neutrased 가수분해물보다 Flavourzyme 가수분해물에서 유리아미노산의 함량이 높았음. 유리아미노산 중 가장 많이 함유된 것은 Arginine 이었음. Arginine는 근육을 강화시키는 작용을 하는 호르몬들의 분비를 돕는 역할을 하며, 혈관을 확장시켜 근육으로 가는 혈액량을 늘려주는 효과가 있음. 또한 필수 아미노산 중 BCAA로 불리는 Valine, Isoleucine, Leucine의 함량이 가수분해 후 증가 하는 것을 확인하였음. BCAA(Branched chain amino acid)의 감소는 간성뇌증의 원인으로 알려져 있는데 쌍별귀뚜라미 가수분해물의 섭취는 간 건강에 도움을 줄 수 있을 것으로 기대됨

표. 쌍별귀뚜라미 가수분해물의 유리아미노산 분석 결과

(단위 : mg/g)

Amino acid	초고압 처리 분말 (대조군)	쌍별귀뚜라미 Neutrased 가수분해물	쌍별귀뚜라미 Flavourzyme 가수분해물
Essential amino acid	Threonine	0.08	4.59
	Valine	0	7.27
	Methionine	0.02	1.84
	Tryptophane	0	0.98
	Phenylalanine	0.06	4.05
	Isoleucine	0.07	5.42
	Leucine	0.15	12.26
	Lysine	0.35	9.19
Sub total	0.73	8.5	45.6
Non-essential amino acid	Glutamic acid	0.10	6.03
	Serine	0.08	4.61
	Histidine	0.18	2.79
	Glycine	0.45	5.16
	Aspartic acid	0	2.32
	Arginine	1.20	20.35
	Alanine	0.68	11.76
	Tyrosine	0.16	5.56
	Proline	0.37	7.88
Sub total	3.22	35.72	66.46
Total	3.95	44.22	112.06

(나) 구성아미노산

- 가수분해도와 in-vitro 효능평가 스크리닝 결과를 토대로, 쌍별귀뚜라미 탈지분말 1,500 bar 초고압 처리하여 효소가수분해 후 잔사를 분무건조하여 구성아미노산을 분석 하였음
- 효소처리하지 않은 분말과 초고압 Neutrased 가수분해물 잔사 및 초고압 Flavourzyme 가수분해물 잔사의 구성아미노산은 알라닌(Ala), 글루타민(Glu)과 아스파르트산(Asp)이 가장 많은 비율을 차지하고 있었음. Neutrased 가수분해물 잔사의 Ala, Glu와 Asp 함량은 각각 11.4, 10.7, 9.0% 이었으며, Flavourzyme 가수분해물 잔사의 Ala, Glu와 Asp 함량은 11.6%, 10.7%, 8.9%으로, 대조군과 비교하여 Asp와 Glu는 감소하였으나 Ala의 함량은 증가하였음. 또한 필수 아미노산 중 BCAA로 불리는 **Valine, Isoleucine, Leucine**의 함량이 가수분해 후 증가 하는 것을 확인하였음. 효소 가수분해물 제조 시 여과액 외 **잔사물의 활용도가 기대됨**

표. 쌍별귀뚜라미 가수분해물의 구성아미노산 분석 결과

(단위 : mg/g)

Amino acid		초고압 처리 분말 (대조군)	Neutrased 가수분해물 잔사	Flavourzyme 가수분해물 잔사
Essential amino acid	Threonine	24.99	24.86	24.77
	Valine	40.49	47.55	47.76
	Methionine	8.11	8.28	8.50
	Tryptophane	4.1	5.16	4.15
	Phenylalanine	21.62	22.09	22.26
	Isoleucine	21.68	23.15	23.72
	Leucine	46.69	47.83	48.38
	Lysine	36.22	31.26	30.98
Sub total		203.9	210.18	210.52
Non- essential amino acid	Glutamic acid	72.42	62.26	61.78
	Serine	33.41	32.01	31.36
	Histidine	15.29	14.59	14.67
	Glycine	35.75	34.94	35.32
	Aspartic acid	57.2	52.52	51.70
	Arginine	41.4	35.78	34.37
	Alanine	60.34	66.42	67.21
	Tyrosine	26.88	31.39	30.85
Proline	38.79	41.43	41.10	
Sub total		381.48	371.34	368.36
Total		585.38	581.52	578.88

1-2) 쌍별귀뚜라미 가수분해물 항산화

(1) DPPH(1,1-Diphenyl-2-Picrylhydrazyl) 라디칼 소거능

- DPPH 분석은 식물이나 식품 추출물 또는 단일 화학물의 항산화능을 측정하기 위해 널리 사용되는 방법임. Neutrased와 Flavourzyme 가수분해물의 DPPH 라디칼 소거능은 각각 23.52%와 21.66%이었으며, 효소간의 가수분해물 항산화 활성은 Flavourzyme 가수분해물보다 Neutrased 가수분해물에서 유의적으로 높았음

(2) TEAC(Trolox equivalent antioxidant capacity)

- TEAC는 양이온에 대한 항산화제의 소거능을 측정하는 방법으로 실험 방법이 간단하여 항산화능 측정에 널리 사용되는 방법 중 하나임. DPPH radical과 마찬가지로 합성된 radical이나 물과 유기용매 모두에 용해되므로 극성 시료뿐만 아니라 비극성 시료의 항산화능 측정에 모두 사용 가능하여 DPPH radical에 비해 다양한 시료의 항산화능 측정에 사용됨. 시료의 ABTS 라디칼 소거 효능을 평가하기 위하여 TEAC를 측정함. Neutrased와 Flavourzyme 가수분해물의 TEAC은 각각 173.66과 165.2 mM TE/g으로, Flavourzyme 가수분해물보다 Neutrased 가수분해물에서 유의적으로 높았음

(3) ORAC(oxygen radical absorption capacity)

- ORAC 분석은 산화물질에서 유도된 peroxy radical에 대한 항산화 물질의 저해능을 측정하는 방법으로 동물의 조직이나 plasma, 채소, 과일 등 다양한 시료의 항산화 상태를 평가할 수 있으나 plasma나 단백질 함량이 높은 시료일 경우 단백질의 thiol group에 의해 peroxy radical 소거가 방해되기도 함. 시료의 과산화기 소거 활성을 평가하기 위하여 ORAC를 측정함. Neutrased 가수분해물의 ORAC은 973.92 uM TE/mg, Flavourzyme 가수분해물의 954.46 uM TE/mg 으로 Neutrased 가수분해물에서 높았으나, 통계적으로 유의하지는 않았음

표. 쌍별귀뚜라미 가수분해물의 항산화 활성

Antioxidant	Neutrased	Flavourzyme
DPPH radical scavenging activity (% Inhibition)	23.52 ± 0.17	21.66 ± 0.38**
TEAC (mM TE/g)	173.66 ± 1.6	165.2 ± 1.48**
ORAC (uM TE/mg)	973.92 ± 16.96 ^{NS}	954.46 ± 9.11 ^{NS}

mean ± SD (n=3)

Statistical analysis was conducted by independent t-test. **P<0.01

2) 쌍별귀뚜라미 가수분해물 공정 표준화

2-1) 가수분해물의 기준 규격

(1) 기준 규격

- 식품공전에 고시된 식용곤충 규격 내용을 토대로 기준 규격을 설정하였음

표. 쌍별귀뚜라미 및 쌍별귀뚜라미 가수분해물의 기준 규격

시험항목		시험기준	기준	비고
중금속 (mg/kg)	납	0.3이하	식품공전 공통기준규격	건조물
	카드뮴	0.3 이하	식품공전 공통기준규격	건조물
대장균		n=5, c=1. m=0, M=10	곤충가공식품	가수분해물
성상		적합	기타가공품	가수분해물
이물		불검출	기타가공품	가수분해물
대장균군		음성	자체규격	가수분해물
수분(%)		5 이하	자체규격	건조물

(2) 분석 결과

- 쌍별귀뚜라미(건조)의 중금속 확인 결과 납 0.033 mg/kg, 카드뮴 0.032 mg/kg으로 식품공전에 고시된 규격에 적합한 것을 확인하였음

표. 쌍별귀뚜라미 건조물 분석 결과

시험항목	단위	결과		기준
납	mg/kg	0.033	적합	식품공전(공인성적)
카드뮴	mg/kg	0.032	적합	식품공전(공인성적)
수분	%	2.52	적합	자체규격(자가품질)



제일분석센터
http://www.cheillab.com

☎ 08389 서울시 구로구 디지털로 272번지 한신타워 913호 전화02-862-8666 팩스02-868-4610 접수담당: 방계희
EWS3-PP5AS-02RAD-7ECH5

검 사 성 적 서

의뢰인	성명 / 상호		사업자등록번호	
	주소		전화번호	
검사품목	귀뚜라미 성체			
접수년월일	2021. 03. 12	검사완료일	2021. 03. 18	
접수번호	21-03-GE0303	검사목적	참고용	

검 사 결 과

검사항목	검출성분	허용기준(mg/kg)	결과(mg/kg)	검토의견
식품(중금속)	납	0.3	0.033	-
	카드뮴	0.3	0.032	-
	수은	0.5	불검출	-
	비소	-	0.75	-

별첨: 시험명목(1장)
시험책임자: 정요준 시험원: 김은진

주) 상기 검사결과에 의뢰인이 당사에 제공한 시료에 대한 분석결과입니다.

2021년 03월 18일

제일분석센터 대표이사 이은미 

쌍별귀뚜라미 건조물 중금속 성적서

* 본 검사결과에 의뢰인의 동의 없이도 소수 통의 목적으로 사용하실 수 있으며, 그에 따른 책임은 당사와는 무관함을 알려드립니다.

- 쌍별귀뚜라미 탈지분말 및 가수분해물을 자사에서 생산하여 시험 분석 의뢰한 결과, 대장균과 대장균군에서 음성의 결과를 보여 적합한 것을 확인하였음

표. 쌍별귀뚜라미 탈지분말 및 가수분해물 분석 결과

시험항목	쌍별귀뚜라미탈지분말	쌍별귀뚜라미가수분해물	기준
대장균	음성	음성	곤충가공식품(공인성적)
대장균군	음성	음성	자체규격(공인성적)
성상	불검출	불검출	기타가공품(자가품질)
이물	불검출	불검출	기타가공품(자가품질)

페이지(1) / (총 1)

제 D2021091224 호
분석확인 MFKC-IS16-4KB1

참고용 시험성적서

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

제품명	쌍별귀뚜라미탈지분말	제조일자 (유통기한)	
의뢰인	업체명 (주)한미양행	성명	정명수
주소	경기도 파주시 문산읍 통일로1888번길 44-20 ((주)한미양행)		
제조번호	접수년월일	2021-09-10	
시험목적	참고용	접수번호	D2021091224

귀하가 우리 연구원에 시험의뢰한 결과는 다음과 같습니다.
 시험·검사 완료일: 2021-09-16
 시험·검사 책임자: 강정훈
 시험관련 총 책임자: 김천희

시험 항목	시험 결과	시험·검사원
대장균	음성	홍서연
대장균군	음성	홍서연

본 성적서는 KS Q ISO/IEC 17025 및 KOLAS 인증의 권한이 없습니다.
 ※ 지면이 부족한 경우 시험 및 결과안은 별지로 작성 가능합니다.

2021년 09월 16일
 한국기능식품연구원

(사)한국건강기능식품협회 부산 한국기능식품연구원 http://www.khsire.kr 전화번호 (051)828-0400-1

쌍별귀뚜라미 탈지분말 시험성적서

페이지(1) / (총 1)

제 D2021091223 호
분석확인 Y6DR-NY09-K3FN

참고용 시험성적서

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

제품명	쌍별귀뚜라미가수분해물	제조일자 (유통기한)	
의뢰인	업체명 (주)한미양행	성명	정명수
주소	경기도 파주시 문산읍 통일로1888번길 44-20 ((주)한미양행)		
제조번호	접수년월일	2021-09-10	
시험목적	참고용	접수번호	D2021091223

귀하가 우리 연구원에 시험의뢰한 결과는 다음과 같습니다.
 시험·검사 완료일: 2021-09-16
 시험·검사 책임자: 강정훈
 시험관련 총 책임자: 김천희

시험 항목	시험 결과	시험·검사원
대장균	음성	홍서연
대장균군	음성	홍서연

본 성적서는 KS Q ISO/IEC 17025 및 KOLAS 인증의 권한이 없습니다.
 ※ 지면이 부족한 경우 시험 및 결과안은 별지로 작성 가능합니다.

2021년 09월 16일
 한국기능식품연구원

(사)한국건강기능식품협회 부산 한국기능식품연구원 http://www.khsire.kr 전화번호 (051)828-0400-1

쌍별귀뚜라미 가수분해물 시험성적서

- 쌍별귀뚜라미 탈지분말 및 가수분해물 9대영양소 분석 결과, 가수분해 시 탄수화물과 당류의 함량은 증가하고 조단백질 함량은 감소하는 것을 확인할 수 있었음. 이는 쌍별귀뚜라미 외형에 있는 키틴이 분해됨에 따라 당류가 생성된 것으로 판단됨

표. 쌍별귀뚜라미 탈지분말 및 가수분해물의 9대영양소

시험항목	쌍별귀뚜라미탈지분말	쌍별귀뚜라미 가수분해물
열량(kcal/100g)	397.49	376.37
탄수화물(g/100g)	22.20	39.33
당류(g/100g)	0.00	7.65
조단백질(g/100g)	65.81	43.67
조지방(g/100g)	5.05	4.93
포화지방(g/100g)	1.94	1.11
트랜스지방(g/100g)	0.00	0.00
콜레스테롤(mg/100g)	115.32	85.05
나트륨(mg/100g)	453.46	274.01

시험항목	시험기준	시험결과	비고
열량(kcal/100g)	-	397.49	상기실형확인함
탄수화물(g/100g)	-	22.20	상기실형확인함
당류(g/100g)	-	0.00	상기실형확인함
조단백질(g/100g)	-	65.81	상기실형확인함
조지방(g/100g)	-	5.05	상기실형확인함
포화지방(g/100g)	-	1.94	상기실형확인함
트랜스지방(g/100g)	-	0.00	상기실형확인함
콜레스테롤(mg/100g)	-	115.32	상기실형확인함
나트륨(mg/100g)	-	453.46	상기실형확인함

시험일자: 서지오, 이슬빈, 조정은, 차영병, 최보라 시험일자 책임자: 노지훈

비고:

※이 결과는 신청자가 제공한 샘플 결과로 전체 제품에 대한 결과를 보장하지 않습니다.
 ※이 결과는 광고 및 소용 목적으로 사용될 수 없습니다.
 ※이 결과는 참고용이며 다른 용도로는 사용하지 않습니다.

위의 성적서를 발행합니다.
 2020년 08월 27일
 ㈜ 씨티케이
 CTX Co., Ltd
 17099 경기도 용인시 기흥구 신정로41번길 52-17
 TEL : 031-702-3155-6, 3158 FAX : 031-624-9501

[CTX-OT-001] 2019.09.02 (개정번호1)

쌍별귀뚜라미 가수분해물 9대영양소

문서확인번호 : KF71-JWB8-KXEG-LG8S

참고용 시험성적서 **KBAI**

본 성적서는 식품위생관리법 제21조 제2항 제2호에 따른 「식품·의약품분야 시험·검사 등에 관한 법률」에 따른 것이 아닙니다.

발행번호	R20210929-0027	접수번호	210104756010
검사완료일	2021-09-24	접수연월일	2021-09-08
제품명	쌍별귀뚜라미호스차리물		
(제품)제조번호	품목제조신고번호		
유형·재질·품목명	기타기준규격외		
제조수입일	유통(유통유지기간)		
시험일자	정명수	업체명 (주)한미양행	
의뢰자	(10806) 경기도 파주시 문산읍 통일로1888번길 44-20 (문산리, (주)한미양행)	전화번호: 팩스번호: 전자우편:	
소제자	제조국		
업체명	제조국		
소제자	제조국		
시험목적	식품 기타(영양성분검사)		

시험 항목 및 결과

시험 항목	시험 기준	시험 결과	비고
열량(kcal/100g)	기준없음	376.37	
탄수화물(g/100g)	기준없음	39.33	
당류(g/100g)	기준없음	7.65	
조단백질(g/100g)	기준없음	43.67	
조지방(g/100g)	기준없음	4.93	
포화지방(g/100g)	기준없음	1.11	
트랜스지방(g/100g)	기준없음	0.00	
콜레스테롤(mg/100g)	기준없음	85.05	
나트륨(mg/100g)	기준없음	274.01	
수분(%)	기준없음	2.52	
회분(%)	기준없음	9.55	

※ 본 증명서는 인터넷으로 발급되었으며, 발급번호를 통하여 허위조 여부를 확인할 수 있습니다.
 또한, 문서해당인 바도도도도 인쇄확인(소제자나문서확인(프로그래밍)을 하실 수 있습니다.

Page 1 of 2


쌍별귀뚜라미 가수분해물 9대영양소

○ 쌍별귀뚜라미 가수분해물 품목보고 진행 완료

표. 쌍별귀뚜라미 가수분해물 제품 개요

항목	내용
제품명	쌍별귀뚜라미효소처리물
품목제조보고번호	20100360360123
제품의 유형	기타가공품
유통기한	제조일로부터 24개월까지
섭취방법	식품 및 건강기능식품 등의 원료로 적당량 사용
보관방법 및 포장재질	실온보관, PE비닐 및 박스포장
포장방법 및 포장단위	밀봉포장 / 10kg, 20kg 등
성상	미, 이취가 없고, 고유의 색택을 가지는 미황색분말

발급번호 : 1249-E8FT-GMSR-082W-5396




식품(식품첨가물) 품목제조보고서

보고인	성명(법인명) 김민서	생년월일(법인번호)	
	주소 경기도 안성시 대덕면 동산말안길 22-13	전화번호 031 8755255	유대전화
영업소	명칭(상호) 디에이치바이오	영업등록번호	20100360360
	소재지 경기도 안성시 대덕면 동산말안길 22-13		
제품정보	식품의 유형	기타가공품	요청하는 품목제조 보고번호
	제품명	쌍별귀뚜라미효소처리물	20100360360123
	유통기한	제조일로부터 24개월	
	품질유지기한		
	유해 또는 성분명, 배합비율	빛장애 기재	
	용도 용법	빛장애 기재	
	보관방법 및 포장재질	빛장애 기재	
	포장방법 및 포장단위	밀봉포장 / 10kg, 20kg 등	
성상	미, 이취가 없고, 고유의 색택을 가지는 미황색분말		
품목의 특성 ■ 고열량·저영양 식품 해당 여부 []에 []아니오 [O]해당 없음 ■ 영·유아를 섭취대상으로 표시 판매하는 식품 해당 여부 []에 [O]아니오 ■ 알라·달라·제올라 해당 여부 [O]비실관 []실관 []영관			
기타			

「식품위생법」 제37조제5항 및 같은 법 시행규칙 제45조제1항에 따라 식품(식품첨가물) 품목제조 사항을 보고합니다. 2020년 11월 06일
 경기도 안성시장 귀하
 보고인 김민서

품목보고번호	20100360360-123				
처리부서	보건소 보건위생과	처리자성명	박미현	처리일자	2020년 11월 12일



본 증명서는 인터넷으로 발급되었으며 식품안전정보포털(<http://www.foodsafetykorea.go.kr/>) 홈페이지에서 확인할 수 있습니다.

쌍별귀뚜라미 가수분해물 품목보고

2-2) 가수분해물 공정 표준화

(1) 쌍별귀뚜라미 탈지 분말 제조 공정

단위공정	원료/기기	조건	비고
원료 ↓	쌍별귀뚜라미 건조	수분<5%	2.7kg
조분쇄 ↓	쌍별귀뚜라미 건조물/ 롤밀	1cycle, 0.5mm	2.7kg
탈지 ↓	쌍별귀뚜라미 조분쇄/ 착유기	45℃, 600kgf/cm ² , 15min	2.5kg (수율 93.5%)
미분쇄	쌍별귀뚜라미 탈지분말/ 초고속분쇄기	1cycle, 80mesh	

(2) 쌍별귀뚜라미 탈지분말 고압증기멸균-가수분해물 공정

○ 곤충 자가 효소 불활성화를 위하여 가수분해 전 전처리 방법으로 고압증기멸균을 실시

단위공정	원료/기기	조건	비고
원료 ↓	쌍별귀뚜라미 탈지분말	수분<5%	1kg
고압증기멸균 ↓	쌍별귀뚜라미 탈지분말/ autoclave	121℃, 1hr	10배수
효소처리 ↓	Flavourzyme or Neutrase/ 농축기	50℃, 3hr	1%
실활 ↓	쌍별귀뚜라미 가수분해물/ 농축기	90℃, 15min	
농축 ↓	가열농축	60℃, 20brix	
건조	분무건조/ 동결건조		

(3) 쌍별귀뚜라미 탈지분말 초고압-가수분해물 공정

- 곤충 자가 효소 불활성화를 위하여 가수분해 전 전처리 방법으로 초고압 멸균을 실시
- 초고압처리기 사용 시 경제성 문제로 인하여 실 생산에 비효율적인 전처리 방법으로 판단
- 가수분해도 분석 결과에서도 초고압 처리 보다는 고압증기멸균에서 더 높은 가수분해도를 보임
- 따라서, 자사에서 대량생산 공정 시 가수분해전 자가효소 불활성화를 위하여 상기의 **고압증기멸균 방법을 선정**

단위공정	원료/기기	조건	비고
원료	쌍별귀뚜라미 탈지분말	수분<5%	1kg
↓			
초고압처리	쌍별귀뚜라미 탈지분말/ HPP	1,500bar, 5min	
↓			
가수 및 효소처리	Flavourzyme or Neutrase/ 농축기	50℃, 3hr	10배수/ 1%효소
↓			
실활	쌍별귀뚜라미 가수분해물/ 농축기	90℃, 15min	
↓			
농축	가열농축	60℃, 20brix	
↓			
건조	분무건조/ 동결건조		

2-3) 가수분해물의 유통기한 설정

(1) 제품 특성

표. 쌍별귀뚜라미 가수분해물 제품 특성

구 분	신규제품
식품유형	곤충가공식품
성상	갈색 또는 암갈색의 분말
사용원료	쌍별귀뚜라미 가수분해물
제조·가공공정	효소처리물
포장재질	PE 또는 PP
포장방법	밀봉
포장단위	100g, 500g, 1kg, 5kg, 10kg
보존 및 유통온도	실온
보존료사용여부	해당사항 없음
유당·유처리여부	해당사항 없음
살균 또는 멸균방법	해당사항 없음

(2) 분석 결과

(가) 저장온도별 저장기간에 따른 각 품질지표의 함량 변화 분석

① 관능(성상) 결과

- 식품공전 성상시험법에 따라 5점 이상일 때 적합 한 것으로 설정하였으며, 저장온도별 저장 기간에 따른 성상 분석 결과, 최저점이 7.50으로 나타남. 저장 기간이 증가함에 따라 성상의 결과가 낮은 값을 보였음

표. 저장온도별 저장기간에 따른 관능(성상) 결과

저장일수	관능(성상)		
	25℃	35℃	40℃
0	9.00	9.00	9.00
30	8.80	8.70	8.80
60	8.80	8.90	8.00
90	8.70	8.80	7.90
120	8.70	8.80	7.90
150	8.90	8.70	7.80
180	8.80	8.60	7.50

② pH 결과

- 식품공전법에 따라 pH 5~6 일때 적합한 것으로 설정하였으며, 저장온도별 저장기간에 따른 pH 분석 결과, 저장 0일차에서 pH값이 5.9로 가장 낮았으며, 90일에서 pH값이 가장 높았음

표. 저장온도별 저장기간에 따른 pH 결과

저장일수	pH		
	25℃	35℃	40℃
0	5.9	5.9	5.9
30	5.69	5.99	5.99
60	5.96	5.99	5.99
90	6.06	6.06	6.07
120	5.91	5.91	5.91
150	5.97	6.02	5.99
180	5.94	5.96	5.95

③ 지방산(오메가9) 결과

- 식품공전 지방산의 품질한계에 따라 25 g/100 g때 적합한 것으로 설정하였으며, 저장온도별 저장기간에 따른 지방산 분석 결과, 모든 범위에서 25 g 이상의 함량을 보였음

표. 저장온도별 저장기간에 따른 지방산(오메가9) 결과

단위: g/100 g

저장일수	지방산(오메가9)		
	25℃	35℃	40℃
0	28.80	28.80	28.80
30	27.20	28.40	26.60
120	27.80	27.50	26.70
150	27.60	27.30	26.70
180	27.50	26.80	26.40

(나) 품질지표별 반응속도상수(K)의 산출 및 활성화 에너지 산출

표. 품질지표별 반응속도상수의 산출

품질 지표	반응 차수	온도	회귀방정식	결정 계수	K	1/T(=X)	LnK	회귀방정식
관능	0차	25	$Y=-0.0006 X + 8.8679$	0.1302	0.0006	0.003356	-7.4265	$Y=-14925.19 X + 42.4944$ $R^2=0.8819$
		35	$Y=-0.0015 X + 8.9250$	0.5559	0.0015	0.003247	-6.4710	
		40	$Y=-0.0079 X + 8.8357$	0.8481	0.0079	0.003195	-4.8463	
	1차	25	$Y=-0.0001 X + 2.1823$	0.1289	0.0001	0.003356	-9.6114	$Y=-15336.92 X + 41.6827$ $R^2=0.8769$
		35	$Y=-0.0002 X + 2.1889$	0.5558	0.0002	0.003247	-8.6461	
		40	$Y=-0.0010 X + 2.1793$	0.8576	0.0010	0.003195	-6.9555	
오메가 9	0차	25	$Y=-0.0038 X + 28.1478$	0.2379	0.0038	0.003356	-5.5647	$Y=-5996.08 X + 14.6435$ $R^2=0.8095$
		35	$Y=-0.0105 X + 28.7701$	0.9920	0.0105	0.003247	-4.5543	
		40	$Y=-0.0091 X + 27.9164$	0.5113	0.0091	0.003195	-4.6963	
	1차	25	$Y=-0.0001 X + 3.3371$	0.2322	0.0001	0.003356	-8.9110	$Y=-6168.89 X + 11.8774$ $R^2= 0.8170$
		35	$Y=-0.0004 X + 3.3595$	0.9914	0.0004	0.003247	-7.8804	
		40	$Y= 0.0003 X + 3.3285$	0.5125	0.0003	0.003195	-8.0151	

(다) 유통기한 산출 (유통온도가 정해지지 않은 제품)

① 관능 0차 반응식을 이용한 유통기한 산출

표. 관능 0차 반응식을 이용한 반응속도상수 산출

온도(°C)	온도(T)	1/T	LnK	K
10	283	0.003534	-10.24474	0.000036
15	288	0.003472	-9.32913	0.000089
20	293	0.003413	-8.44477	0.000215
25	298	0.003356	-7.59009	0.000505
30	303	0.0033	-6.76361	0.001155

표. 관능 0차 반응식을 이용한 연간변화 반응속도상수(K') 산출

온도	연간온도별 유통일수	반응속도상수(K)	연간변화반응속도상수(K')
10	152일(5개월)	0.000036	0.00540267
15	30일(1개월)	0.000089	0.002663979
20	61일(2개월)	0.000215	0.01311634
25	61일(2개월)	0.000505	0.030831705
30	61일(2개월)	0.001155	0.070458287
누계	365일(12개월)		0.122472982

표. 관능검사의 0차 반응식을 이용한 유통기한 산출

최초함량(A)	품질규격(B)	A-B	연간변화반응속도상수(K')	예상유통기한(월)
9.00	5	4	0.12247	391.92317

② 관능 1차 반응식을 이용한 유통기한 산출

표. 관능 1차 반응식을 이용한 반응속도상수 산출

온도(°C)	온도(T)	1/T	LnK	K
10	283	0.003534	-12.51136	0.000004
15	288	0.003472	-11.57049	0.000089
20	293	0.003413	0.000009	0.000215
25	298	0.003356	-10.66173	0.000505
30	303	0.0033	0.000023	0.001155

표. 관능 1차 반응식을 이용한 연간변화 반응속도상수(K') 산출

온도	연간온도별 유통일수	반응속도상수(K)	연간변화반응속도상수(K')
10	152일(5개월)	0.000004	0.000560055
15	30일(1개월)	0.000009	0.000283219
20	61일(2개월)	0.000023	0.001428892
25	61일(2개월)	0.000056	0.003438933
30	61일(2개월)	0.000132	0.008040071
누계	365일(12개월)		0.013751169

표. 관능검사의 1차 반응식을 이용한 유통기한 산출

최초함량(A)	품질규격(B)	A-B	연간변화반응속도상수(K')	예상유통기한(월)
2.19722	1.609437912	0.587786665	0.01375	512.93383

③ 오메가9 0차 반응식을 이용한 유통기한 산출

표. 오메가9 0차 반응식을 이용한 반응속도상수 산출

온도(°C)	온도(T)	1/T	LnK	K
10	283	0.003534	-6.54407	0.001439
15	288	0.003472	-6.17623	0.000089
20	293	0.003413	0.002078	0.000215
25	298	0.003356	-5.82094	0.000505
30	303	0.0033	0.002965	0.001155

표. 오메가9 0차 반응식을 이용한 연간변화 반응속도상수(K') 산출

온도	연간온도별 유통일수	반응속도상수(K)	연간변화반응속도상수(K')
10	152일(5개월)	0.001439	0.218671328
15	30일(1개월)	0.002078	0.062347686
20	61일(2개월)	0.002965	0.180853741
25	61일(2개월)	0.004179	0.254946042
30	61일(2개월)	0.005825	0.355342842
누계	365일(12개월)		1.072161638

표. 오메가9 0차 반응식을 이용한 유통기한 산출

최초함량(A)	품질규격(B)	A-B	연간변화반응속도상수(K')	예상유통기한(월)
28.80	25	3.8	1.07216	42.53090

④ 오메가9 1차 반응식을 이용한 유통기한 산출

표. 오메가9 1차 반응식을 이용한 반응속도상수 산출

온도(°C)	온도(T)	1/T	LnK	K
10	283	0.003534	-9.92077	0.000049
15	288	0.003472	-9.54233	0.000072
20	293	0.003413	0.000072	0.000103
25	298	0.003356	-9.17680	0.000147
30	303	0.0033	0.000103	0.000207

표. 오메가9 1차 반응식을 이용한 연간변화 반응속도상수(K') 산출

온도	연간온도별 유통일수	반응속도상수(K)	연간변화반응속도상수(K')
10	152일(5개월)	0.000049	0.007469781
15	30일(1개월)	0.000072	0.002152486
20	61일(2개월)	0.000103	0.006308037
25	61일(2개월)	0.000147	0.00898075
30	61일(2개월)	0.000207	0.012637689
누계	365일(12개월)		0.037548742

표. 오메가9 1차 반응식을 이용한 유통기한 산출

최초함량(A)	품질규격(B)	A-B	연간변화반응속도상수(K')	예상유통기한(월)
3.36038	3.218875825	0.141499562	0.03755	45.22108

(라) 유통기한 설정 결과

- 귀뚜라미가수분해물의 품질지표 중 품질에 변화를 가져오는 주요 실험 지표인 관능검사, pH, 지방산 구성 중 오메가9 (C18:1-9- octadecenoic methyl ester) 함량의 가속저장실험을 통해 얻은 데이터를 0차 및 1차 반응식에 적용하여 유통기한을 산출하였으며, 이 중 가장 낮은 결과는 지방산(오메가9)의 1차 반응식 결과인 42.5개월이었으며, 유통과정 중의 안전을 고려하고자 안전계수 (0.8)를 적용하여 **34개월로 유통기한을 설정하였음**

3) 쌍별귀뚜라미 가수분해물 소재 시제품 제조

- 쌍별귀뚜라미 가수분해물을 활용하여 시제품 2종을 개발하였음

표. 쌍별귀뚜라미 가수분해물을 이용한 시제품 2종

No	제품명	유형	용량	내용	비고
1	쌍별이 아미노자임 셰이크	곤충가공식품	30g 스틱	쌍별귀뚜라미 가수분해물 6g	품목보고완료
2	쌍별이 아미노자임 그레놀	곤충가공식품	3g 스틱	쌍별귀뚜라미 가수분해물 1.5g	품목보고완료

(1) 제품명 : 쌍별이 아미노자임 셰이크

- 1차 테스트 결과, 단맛 등 전체적으로 깔끔하나 바디감이 낮아 쌍별귀뚜라미 가수분해물의 함량을 5% 증가하고 분리대두단백의 함량을 5% 감소하여 2차 테스트를 수행.
 - 2차 테스트 결과, 1차 테스트와 맛 차이는 크게 나타나지 않았으나 텍스처 부분에서 thick한 결과를 보여 쌍별귀뚜라미 가수분해물의 함량을 5% 증가하고, 분리대두단백의 함량을 5% 감소하여 3차 테스트 수행.
 - 3차 테스트 결과 2차 테스트와 맛 차이는 크게 나타나지 않았으며 텍스처 부분의 기호도가 좋아 최종적으로 쌍별귀뚜라미 가수분해물을 20% 함유한 셰이크 배합을 개발하였음.
- ▶ 제2협동의 관능검사 시료로 제공

1차		2차		3차	
원료	배합비(%)	원료	배합비(%)	원료	배합비(%)
쌍별귀뚜라미 가수분해물	10.0	쌍별귀뚜라미 가수분해물	15.0	쌍별귀뚜라미 가수분해물	20.0
결정과당	27.43	결정과당	27.43	결정과당	27.43
분리대두단백	32.50	분리대두단백	27.50	분리대두단백	22.50
치커리뿌리추출분말	14.50	치커리뿌리추출분말	14.50	치커리뿌리추출분말	14.50
곡물혼합효소	4.00	곡물혼합효소	4.00	곡물혼합효소	4.00
혼합분유	3.50	혼합분유	3.50	혼합분유	3.50
기타	8.07	기타	8.07	기타	8.07
Total	100	Total	100	Total	100

쌍별귀뚜라미 가수분해물 시제품 1차 배합표서 (Case updated: 2023.11.27 09:49:59)

No	원료명	배합비(%)	내용량	투입량	비고
1	싱크	쌍별귀뚜라미 가수분해물	10.0000	3,000.00	
2	A00001	결정과당(ADM, 미국산)	27.4300	8,229.00	
3	A01194	분리대두단백(SUPRO 66) (Solex LLC)	32.5000	9,750.00	
4	A00042	치커리뿌리추출분말(SMART CUP, 분사, 미국산) (Chae SA)	14.5000	4,350.00	
5	A01195	곡물혼합효소(유아용) (미국산) (MATSU)	4.0000	1,200.00	
6	A00191	혼합분유(Megghini) (네덜란드) (진정분말)	3.5000	1,050.00	
7	A01190	과립사리(설유) (ACEL, Cof. Fiber, 미국) (Batterman & S)	2.4400	732.00	
8	A00070	과립사리(설유) (ACEL, Cof. Fiber, 미국) (Batterman & S)	1.0600	308.00	
9	A01192	과립사리(설유) (ACEL, Cof. Fiber, 미국) (Batterman & S)	1.0600	308.00	
10	A01197	과립사리(설유) (ACEL, Cof. Fiber, 미국) (Batterman & S)	1.0600	308.00	
11	A01178	과립사리(설유) (ACEL, Cof. Fiber, 미국) (Batterman & S)	1.0600	308.00	
12	A01198	과립사리(설유) (ACEL, Cof. Fiber, 미국) (Batterman & S)	1.0600	308.00	
13	A01200	과립사리(설유) (ACEL, Cof. Fiber, 미국) (Batterman & S)	1.0600	308.00	
14	A01193	과립사리(설유) (ACEL, Cof. Fiber, 미국) (Batterman & S)	1.0600	308.00	
15	A00087	비타민(비타민 B1, B2, B6, B12, C, E, K, 미네랄) (미국산) (MATSU)	0.8100	243.00	
16	A00058	비타민(비타민 B1, B2, B6, B12, C, E, K, 미네랄) (미국산) (MATSU)	0.8100	243.00	
17	A00046	비타민(비타민 B1, B2, B6, B12, C, E, K, 미네랄) (미국산) (MATSU)	0.8100	243.00	
18					
19					
20					
21					
22					
23					
24					
25					
26					
27					
합계					100.0000 30,000.00

<1차 배합비>

쌍별귀뚜라미 가수분해물 시제품 2차 배합표서 (Case updated: 2023.11.27 09:49:59)

No	원료명	배합비(%)	내용량	투입량	비고
1	싱크	쌍별귀뚜라미 가수분해물	15.0000	4,500.00	
2	A00001	결정과당(ADM, 미국산)	27.4300	8,229.00	
3	A01194	분리대두단백(SUPRO 66) (Solex LLC)	27.5000	8,250.00	
4	A00042	치커리뿌리추출분말(SMART CUP, 분사, 미국산) (Chae SA)	14.5000	4,350.00	
5	A01195	곡물혼합효소(유아용) (미국산) (MATSU)	4.0000	1,200.00	
6	A00191	혼합분유(Megghini) (네덜란드) (진정분말)	3.5000	1,050.00	
7	A01190	과립사리(설유) (ACEL, Cof. Fiber, 미국) (Batterman & S)	2.4400	732.00	
8	A00070	과립사리(설유) (ACEL, Cof. Fiber, 미국) (Batterman & S)	1.0600	308.00	
9	A01192	과립사리(설유) (ACEL, Cof. Fiber, 미국) (Batterman & S)	1.0600	308.00	
10	A01197	과립사리(설유) (ACEL, Cof. Fiber, 미국) (Batterman & S)	1.0600	308.00	
11	A01178	과립사리(설유) (ACEL, Cof. Fiber, 미국) (Batterman & S)	1.0600	308.00	
12	A01198	과립사리(설유) (ACEL, Cof. Fiber, 미국) (Batterman & S)	1.0600	308.00	
13	A01200	과립사리(설유) (ACEL, Cof. Fiber, 미국) (Batterman & S)	1.0600	308.00	
14	A01193	과립사리(설유) (ACEL, Cof. Fiber, 미국) (Batterman & S)	1.0600	308.00	
15	A00087	비타민(비타민 B1, B2, B6, B12, C, E, K, 미네랄) (미국산) (MATSU)	0.8100	243.00	
16	A00058	비타민(비타민 B1, B2, B6, B12, C, E, K, 미네랄) (미국산) (MATSU)	0.8100	243.00	
17	A00046	비타민(비타민 B1, B2, B6, B12, C, E, K, 미네랄) (미국산) (MATSU)	0.8100	243.00	
18					
19					
20					
21					
22					
23					
24					
25					
26					
27					
합계					100.0000 30,000.00

<2차 배합비>

쌍별귀뚜라미 가수분해물 시제품 3차 배합표서 (Case updated: 2023.11.27 09:49:59)

No	원료명	배합비(%)	내용량	투입량	비고
1	싱크	쌍별귀뚜라미 가수분해물	20.0000	6,000.00	
2	A00001	결정과당(ADM, 미국산)	27.4300	8,229.00	
3	A01194	분리대두단백(SUPRO 66) (Solex LLC)	22.5000	6,750.00	
4	A00042	치커리뿌리추출분말(SMART CUP, 분사, 미국산) (Chae SA)	14.5000	4,350.00	
5	A01195	곡물혼합효소(유아용) (미국산) (MATSU)	4.0000	1,200.00	
6	A00191	혼합분유(Megghini) (네덜란드) (진정분말)	3.5000	1,050.00	
7	A01190	과립사리(설유) (ACEL, Cof. Fiber, 미국) (Batterman & S)	2.4400	732.00	
8	A00070	과립사리(설유) (ACEL, Cof. Fiber, 미국) (Batterman & S)	1.0600	308.00	
9	A01192	과립사리(설유) (ACEL, Cof. Fiber, 미국) (Batterman & S)	1.0600	308.00	
10	A01197	과립사리(설유) (ACEL, Cof. Fiber, 미국) (Batterman & S)	1.0600	308.00	
11	A01178	과립사리(설유) (ACEL, Cof. Fiber, 미국) (Batterman & S)	1.0600	308.00	
12	A01198	과립사리(설유) (ACEL, Cof. Fiber, 미국) (Batterman & S)	1.0600	308.00	
13	A01200	과립사리(설유) (ACEL, Cof. Fiber, 미국) (Batterman & S)	1.0600	308.00	
14	A01193	과립사리(설유) (ACEL, Cof. Fiber, 미국) (Batterman & S)	1.0600	308.00	
15	A00087	비타민(비타민 B1, B2, B6, B12, C, E, K, 미네랄) (미국산) (MATSU)	0.8100	243.00	
16	A00058	비타민(비타민 B1, B2, B6, B12, C, E, K, 미네랄) (미국산) (MATSU)	0.8100	243.00	
17	A00046	비타민(비타민 B1, B2, B6, B12, C, E, K, 미네랄) (미국산) (MATSU)	0.8100	243.00	
18					
19					
20					
21					
22					
23					
24					
25					
26					
27					
합계					100.0000 30,000.00

<3차 배합비>

표. 쌍별이 아미노자임 셰이크 최종 배합비

원료명	내용량(g)	배합비(%)
쌍별귀뚜라미 가수분해물	6.00	20.00
결정과당	8.23	27.43
분리대두단백	6.75	22.50
치커리뿌리추출분말	4.35	14.5
곡물혼합효소	1.20	4.00
기타	3.47	11.57
Total	30.0	100.0

표. 쌍별이 아미노자임 셰이크 품목보고

제품명	품목제조번호	제품유형	신고일자
쌍별이 아미노자임 셰이크	19880355033927	곤충가공식품	20.11.20

<p>발급번호 : 1HEJ-U967-ZPYU-1TSV-F4P3 </p> <p style="text-align: center;">식품(식품첨가물) 품목제조보고서</p> <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 20%;">신고인</td> <td style="width: 40%;">성명(법인명) 정영수</td> <td style="width: 40%;">생년월일(법인번호)</td> </tr> <tr> <td rowspan="2">주소</td> <td>주 소</td> <td>전화번호 031 9529554</td> </tr> <tr> <td>경기도 파주시 문산읍 통일로1888번길 44-20(, 18-22, 18-23)</td> <td>휴대전화</td> </tr> <tr> <td rowspan="2">영업소</td> <td>명칭(상호) (주)한미양행</td> <td>영업등록번호 19880355033</td> </tr> <tr> <td>소재지 경기도 파주시 문산읍 통일로1888번길 44-20(, 18-22, 18-23)</td> <td></td> </tr> </table> <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 20%;">식품의 유형</td> <td>곤충가공식품</td> <td>요청하는 품목제조 보고번호</td> <td>19880355033927</td> </tr> <tr> <td>제품명</td> <td>쌍별이 아미노자임 셰이크</td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>유통기한</td> <td>제조일로부터 24개월까지</td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>품질유지기한</td> <td>해당없음</td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td rowspan="6">제품정보</td> <td>원재료 또는 성분명, 배합비율</td> <td>맛장애 기재</td> <td></td> </tr> <tr> <td>중도 용법</td> <td>맛장애 기재</td> <td></td> </tr> <tr> <td>보관방법 및 포장재질</td> <td>맛장애 기재</td> <td></td> </tr> <tr> <td>포장방법 및 포장단위</td> <td>30g~1kg 말봉포장</td> <td></td> </tr> <tr> <td>성상</td> <td>고유의 색감과 향미를 가진 분말제품으로 이미, 아취, 이물이 없음.</td> <td></td> </tr> <tr> <td>품목의 특성</td> <td colspan="2"> ■ 고열량·저열량 식품 해당 여부 []예 []아니오 [O]해당 없음 ■ 영·유아를 섭취대상으로 표시 판매하는 식품 해당 여부 []예 [O]아니오 ■ 산균·발균 제품의 해당 여부 [O]비산균 []산균 []발균 </td> </tr> <tr> <td>기타</td> <td colspan="3"></td> </tr> </table> <p>「식품위생법」 제37조제5항 및 같은 법 시행규칙 제45조제1항에 따라 식품(식품첨가물) 품목제조 사항을 보고합니다. 2020년 11월 17일 보고인 정영수</p> <p style="text-align: center;">경기도 파주시장 귀하</p> <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 20%;">품목보고번호</td> <td>19880355033-927</td> </tr> <tr> <td>처리부서</td> <td>보건소 위생과 처리자성명 윤은미 처리일자 2020년 11월 20일</td> </tr> </table> <p style="font-size: small;">본 증명서는 인터넷으로 발급되었으며 식품안전정보포털(http://www.foodsafetykorea.go.kr/) 홈페이지에서 확인할 수 있습니다.</p>	신고인	성명(법인명) 정영수	생년월일(법인번호)	주소	주 소	전화번호 031 9529554	경기도 파주시 문산읍 통일로1888번길 44-20(, 18-22, 18-23)	휴대전화	영업소	명칭(상호) (주)한미양행	영업등록번호 19880355033	소재지 경기도 파주시 문산읍 통일로1888번길 44-20(, 18-22, 18-23)		식품의 유형	곤충가공식품	요청하는 품목제조 보고번호	19880355033927	제품명	쌍별이 아미노자임 셰이크			유통기한	제조일로부터 24개월까지			품질유지기한	해당없음			제품정보	원재료 또는 성분명, 배합비율	맛장애 기재		중도 용법	맛장애 기재		보관방법 및 포장재질	맛장애 기재		포장방법 및 포장단위	30g~1kg 말봉포장		성상	고유의 색감과 향미를 가진 분말제품으로 이미, 아취, 이물이 없음.		품목의 특성	■ 고열량·저열량 식품 해당 여부 []예 []아니오 [O]해당 없음 ■ 영·유아를 섭취대상으로 표시 판매하는 식품 해당 여부 []예 [O]아니오 ■ 산균·발균 제품의 해당 여부 [O]비산균 []산균 []발균		기타				품목보고번호	19880355033-927	처리부서	보건소 위생과 처리자성명 윤은미 처리일자 2020년 11월 20일	<div style="text-align: center;"> <p>쌍별이 아미노자임 셰이크 5곡 곡물혼합효소&5종 건과류 혼합분말 함유</p> <p>shake</p> <p>곤충가공식품 130g×14포</p> <p>고소한 맛</p> </div>
신고인	성명(법인명) 정영수	생년월일(법인번호)																																																							
주소	주 소	전화번호 031 9529554																																																							
	경기도 파주시 문산읍 통일로1888번길 44-20(, 18-22, 18-23)	휴대전화																																																							
영업소	명칭(상호) (주)한미양행	영업등록번호 19880355033																																																							
	소재지 경기도 파주시 문산읍 통일로1888번길 44-20(, 18-22, 18-23)																																																								
식품의 유형	곤충가공식품	요청하는 품목제조 보고번호	19880355033927																																																						
제품명	쌍별이 아미노자임 셰이크																																																								
유통기한	제조일로부터 24개월까지																																																								
품질유지기한	해당없음																																																								
제품정보	원재료 또는 성분명, 배합비율	맛장애 기재																																																							
	중도 용법	맛장애 기재																																																							
	보관방법 및 포장재질	맛장애 기재																																																							
	포장방법 및 포장단위	30g~1kg 말봉포장																																																							
	성상	고유의 색감과 향미를 가진 분말제품으로 이미, 아취, 이물이 없음.																																																							
	품목의 특성	■ 고열량·저열량 식품 해당 여부 []예 []아니오 [O]해당 없음 ■ 영·유아를 섭취대상으로 표시 판매하는 식품 해당 여부 []예 [O]아니오 ■ 산균·발균 제품의 해당 여부 [O]비산균 []산균 []발균																																																							
기타																																																									
품목보고번호	19880355033-927																																																								
처리부서	보건소 위생과 처리자성명 윤은미 처리일자 2020년 11월 20일																																																								
품목보고서	디자인시안																																																								

(2) 제품명 : 쌍별이 아미노자임 그레놀

- 1차 테스트 결과, 쌍별귀뚜라미 가수분해물을 50%를 첨가하여 반죽하였으나 반죽의 점도가 강하여 과립 공정상 어려움이 발생
- 2차 테스트 결과, 반죽성능 개선되었으나 맛의 개선이 필요함
- 3차 테스트 결과, 옥수수전분 대신 곡물혼합효소와 치커리뿌리추출분말을 추가하여 맛과 반죽의 정도를 개선하였으며, 단맛 추가를 위해 벌꿀혼합분말의 함량을 증가시켜 쌍별귀뚜라미 가수분해물 50%를 함유한 시제품 배합비로 선정하였음.

1차		2차		3차	
원료	배합비(%)	원료	배합비(%)	원료	배합비(%)
쌍별귀뚜라미	50.0	쌍별귀뚜라미	50.0	쌍별귀뚜라미	50.0
가수분해물		가수분해물		가수분해물	
옥수수전분	20.0	옥수수전분	20.0	옥수수전분	0.0
식용건조효모	17.38	식용건조효모	17.38	식용건조효모	17.38
곡물혼합효소	10.0	곡물혼합효소	10.50	곡물혼합효소	23.50
벌꿀혼합분말	1.00	벌꿀혼합분말	1.00	벌꿀혼합분말	2.50
구아검	0.50	구아검	0.00	치커리뿌리추출분말	5.50
기타	1.12	기타	1.12	기타	1.12
Total	100	Total	100	Total	100

1차 배합비		2차 배합비		3차 배합비	
원료명	내용량(g)	원료명	내용량(g)	원료명	내용량(g)
쌍별이 효소처리물	1.50	쌍별이 효소처리물	1.50	쌍별이 효소처리물	1.50
곡물혼합효소	0.71	곡물혼합효소	0.71	곡물혼합효소	0.71
식용건조효모	0.52	식용건조효모	0.52	식용건조효모	0.52
치커리뿌리추출분말	0.17	치커리뿌리추출분말	0.17	치커리뿌리추출분말	0.17
기타	0.10	기타	0.10	기타	0.10
Total	3.0	Total	3.0	Total	3.0

표. 쌍별이 아미노자임 그레놀 최종 배합비

원료명	내용량(g)	배합비(%)
쌍별이 효소처리물	1.50	50.0
곡물혼합효소	0.71	23.50
식용건조효모	0.52	17.38
치커리뿌리추출분말	0.17	5.50
기타	0.10	3.62
Total	3.0	100.0

표. 쌍별이 아미노자임 그레놀 품목보고

제품명	품목제조번호	제품유형	신고일자
쌍별이 아미노자임 그레놀	19880355033929	곤충가공식품	20.11.26

발급번호 : 0494-0997-9F8J-RTFV-ZAFC



식품(식품첨가물) 품목제조보고서

보고인	성명(법인명)	생년월일(법인번호)		
	정명수	1964년 07월 25일		
	주소	전화번호	031 9529554	
영입소	경기도 파주시 문신읍 통일로1888번길 44-20(, 18-22, 18-23)	휴대전화	016704 3703	
	영정(상호)	영업등록번호	19880355033	
	(주)원미양행			
제품정보	소재지	경기도 파주시 문신읍 통일로1888번길 44-20(, 18-22, 18-23)		
	식품의 유형	곤충가공식품	요청하는 품목제조 보고번호	19880355033929
	제품명	쌍별이 아미노자임 그레놀		
	유통기한	제조일로부터 24개월까지		
	품질유지기한	해당없음		
	원재료 또는 성분명, 병행미물	원장에 기재		
	용도 용법	맛장에 기재		
	보관방법 및 포장재질	원장에 기재		
	포장방법 및 포장단위	30g-1kg 양봉포장		
	성상	고유의 색감과 향미를 가진 분말제품으로 이미, 아취, 이물이 없음.		
기타	중독의 특성	<input type="checkbox"/> 에 <input type="checkbox"/> 아니오 <input type="checkbox"/> 해당 없음 <input checked="" type="checkbox"/> 그럼됨 · 저영양 식품 해당 여부 <input type="checkbox"/> 예 <input type="checkbox"/> 아니오 <input type="checkbox"/> 해당 없음 <input checked="" type="checkbox"/> 영·유아를 산후대상으로 표시 관리하는 식품 해당 여부 <input type="checkbox"/> 예 <input type="checkbox"/> 아니오 <input checked="" type="checkbox"/> 실금·말근 제품의 해당 여부 <input type="checkbox"/> 비실금 <input type="checkbox"/> 실금 <input type="checkbox"/> 없음		

「식품위생법」 제37조제5항 및 같은 법 시행규칙 제45조제1항에 따라 식품(식품첨가물) 품목제조 사항을 보고합니다. 2020년 11월 19일 보고인 정명수

경기도 파주시장 귀하

품목보고번호	19880355033-929
처리부서	보건소 위생과
처리지성명	윤은미
처리일자	2020년 11월 26일



본 증명서는 인터넷으로 발급되었는데 식품안전정보포털(http://www.foodsafetykorea.go.kr/) 홈페이지에서 확인할 수 있습니다.

품목보고서



디자인시안

3-2) 부형제 적합성 평가

- 쌍별귀뚜라미 가수분해물과 부형제와의 적합성 평가를 위하여 **조성물 2종(원료)** 개발


표. 쌍별귀뚜라미 가수분해물 조성물 2종(원료)

No	제품명	유형	내용	비고
1	TCH212복합조성물	곤충가공식품	쌍별귀뚜라미 가수분해물 25% 함유 (간보호 특허원료)	품목보고완료
2	TCI213복합조성물	곤충가공식품	쌍별귀뚜라미 가수분해물 28% 함유 (면역증진 특허원료)	품목보고완료

(1) 원료명 : TCH212복합조성물

- 자사의 선행 기술 중 특허 등록된 ‘귀뚜라미 효소처리물을 함유하는 간보호 또는 숙취해소용 조성물’을 토대로 배합비를 선정하였으며, 본 연구 수행 내용을 토대로 쌍별귀뚜라미 가수분해 개선공정을 적용하여 특허원료 제조


표. TCH212 복합조성물 최종 배합비

원료명	내용량(g)	이미지
쌍별귀뚜라미 가수분해물	25	
갈색거저리 유충 가수분해물	25	
갈근추출분말	20	
헛개나무추출분말	20	
울금추출분말	5	
시호추출물	5	

(2) 원료명 : TCI213복합조성물

- 본 연구 결과를 통해 특허 등록된 ‘귀뚜라미 가압증숙 및 효소처리물을 함유하는 면역조절용 조성물’을 토대로 특허원료 제조

표. TCI213 복합조성물 최종 배합비

원료명	내용량(g)	이미지
쌍별귀뚜라미 가수분해물	28	
갈색거저리 유충 가수분해물	10	
상황버섯엑기스분말	20	
오가피추출분말	20	
도라지추출분말	20	
울금추출분말	2	

3-3) 안정성평가 및 제조공정 확립

(1) 안정성 평가를 위한 공인성적서

- 상기 조성물 원료 2종에 대한 공인성적서 발행 완료

표. TCH212 및 TCI213 분석 결과

시험항목	TCH212 복합조성물	TCI213 복합조성물	기준
대장균	음성	음성	곤충가공식품(공인성적)
대장균군	음성	음성	자체규격(공인성적)
성상	불검출	불검출	기타가공품(자가품질)
이물	불검출	불검출	기타가공품(자가품질)

표. TCH212 및 TCI213 9대 영양소

시험항목	TCH212 복합조성물	TCI213 복합조성물
열량(kcal/100g)	390.49	382.06
탄수화물(g/100g)	71.26	80.03
당류(g/100g)	2.12	1.83
조단백질(g/100g)	21.75	11.75
조지방(g/100g)	2.05	1.66
포화지방(g/100g)	0.49	0.63
트랜스지방(g/100g)	0.00	0.02
콜레스테롤(mg/100g)	32.38	16.46
나트륨(mg/100g)	8.53	86.85
수분(%)	3.47	5.45
회분(%)	1.47	1.11

페이지 (1) / (총 1)

제 D2021091225 호
문서확인 N71D-R6PF-MK5R

참고용 시험성적서

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

제품명	TCH212복합조성물	제조일자 (유통기한)	
업체명	(주)한미양행	성명	정영수
주 소	경기도 파주시 문산읍 통일로1888번길 44-20 ((주)한미양행)		
제조번호		접수년월일	2021-09-10
시험목적	참고용	접수번호	D2021091225

귀하가 우리 연구원에 시험의뢰한 결과는 다음과 같습니다.
 시험·검사 완료일: 2021-09-16
 시험·검사 책임자: 장정순
 시험관련 총 책임자: 김천희

시험 항목	시험 결과	시험·검사원
대장균	음성	홍서연
대장균군	음성	홍서연

※ 이 결과는 의뢰된 시험 항목만을 대상으로 한 것입니다.
 ※ 본 성적서는 참고용 성적서입니다. 시험 결과는 시험 목적 이외의 광고 및 홍보, 자가품질검사를 등에 사용할 수 없습니다.
 ※ 법적 효력이 없으며, 정부기관 제출용으로만 사용할 수 있습니다.
 ※ 본 성적서는 KS Q ISO/IEC 17025 및 KOLAS 인증과 관련이 없습니다.
 ※ 지면이 부족한 경우 시험 및 결과판은 별지로 작성 가능합니다.

2021년 09월 16일
한국기능식품연구원
 (사)한국건강기능식품협회 부설 한국기능식품연구원 http://www.khsl.re.kr 전화번호 031-928-0400-1



문서확인번호 : S4VY-ETAU-Q7W-08A3

참고용 시험성적서

KBAL

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

발행번호	R20210929-0017	접수번호	210104730-001
검사완료일	2021-09-23	접수연월일	2021-09-07
제품명	TCH212복합조성물		
(품목)제조번호		품목제조신고번호	
유통·재질·품목명	기타기준규격외		
제조(수입)일		유통(품질유지)기한	
상명	정영수	업체명 (주)한미양행	
의뢰자 소재지	(10808)경기도 파주시 문산읍 통일로1888번길 44-20 (문천리, (주)한미양행)		
전화번호:	팩스번호:	전자우편:	
제조원 업체명		제조국	
소재지			
시험목적	식품 기타(영양성분검사)		

시험 항목 및 결과

시험 항목	시험 기준	시험 결과	비고
열량(kcal/100g)	기준없음	390.49	
탄수화물(g/100g)	기준없음	71.26	
당류(g/100g)	기준없음	2.12	
조단백질(g/100g)	기준없음	21.75	
조지방(g/100g)	기준없음	2.05	
포화지방(g/100g)	기준없음	0.49	
트랜스지방(g/100g)	기준없음	0.00	
콜레스테롤(mg/100g)	기준없음	32.38	
나트륨(mg/100g)	기준없음	8.53	
수분(%)	기준없음	3.47	
회분(%)	기준없음	1.47	

※ 본 성적서는 인터넷으로 발급되었으며, 발급번호를 통하여 위변조 여부를 확인할 수 있습니다.
 또한, 문서해당국의 마크도표로 전자확인(스캐너를 문서확인프로그램)을 하실 수 있습니다.

Page 1 of 2

TCH212 시험성적서

페이지 (1) / (총 1)

제 D2021113735 호
문서확인 43NQ-1652-240S

참고용 시험성적서

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

제품명	TC1213복합조성물	제조일자 (유통기한)	
업체명	(주)한미양행	성명	정영수
주 소	경기도 파주시 문산읍 통일로1888번길 44-20 ((주)한미양행)		
제조번호		접수년월일	2021-11-29
시험목적	참고용	접수번호	D2021113735

귀하가 우리 연구원에 시험의뢰한 결과는 다음과 같습니다.
 시험·검사 완료일: 2021-12-03
 시험·검사 책임자: 장정순
 시험관련 총 책임자: 김천희

시험 항목	시험 결과	시험·검사원
대장균	음성	강분선
대장균군	음성	강분선

※ 이 결과는 의뢰된 시험 항목만을 대상으로 한 것입니다.
 ※ 본 성적서는 참고용 성적서입니다. 시험 결과는 시험 목적 이외의 광고 및 홍보, 자가품질검사를 등에 사용할 수 없습니다.
 ※ 법적 효력이 없으며, 정부기관 제출용으로만 사용할 수 있습니다.
 ※ 본 성적서는 KS Q ISO/IEC 17025 및 KOLAS 인증과 관련이 없습니다.
 ※ 지면이 부족한 경우 시험 및 결과판은 별지로 작성 가능합니다.

2021년 12월 03일
한국기능식품연구원
 (사)한국건강기능식품협회 부설 한국기능식품연구원 http://www.khsl.re.kr 전화번호 031-928-0400-1



문서확인번호 : E2SE-YLMB-7INE-NBLU

참고용 시험성적서

KBAL

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

발행번호	R20211209-0055	접수번호	210105810-001
검사완료일	2021-12-09	접수연월일	2021-11-29
제품명	TC1213복합조성물		
(품목)제조번호		품목제조신고번호	
유통·재질·품목명	기타기준규격외		
제조(수입)일		유통(품질유지)기한	
상명	정영수	업체명 (주)한미양행	
의뢰자 소재지	(10808)경기도 파주시 문산읍 통일로1888번길 44-20 (문천리, (주)한미양행)		
전화번호:	팩스번호:	전자우편:	
제조원 업체명		제조국	
소재지			
시험목적	식품 기타(영양성분검사)		

시험 항목 및 결과

시험 항목	시험 기준	시험 결과	비고
열량(kcal/100g)	기준없음	382.06	
탄수화물(g/100g)	기준없음	80.03	
당류(g/100g)	기준없음	1.83	
조단백질(g/100g)	기준없음	11.75	
조지방(g/100g)	기준없음	1.66	
포화지방(g/100g)	기준없음	0.63	
트랜스지방(g/100g)	기준없음	0.02	
콜레스테롤(mg/100g)	기준없음	16.46	
나트륨(mg/100g)	기준없음	86.85	
수분(%)	기준없음	5.45	
회분(%)	기준없음	1.11	

※ 본 성적서는 인터넷으로 발급되었으며, 발급번호를 통하여 위변조 여부를 확인할 수 있습니다.
 또한, 문서해당국의 마크도표로 전자확인(스캐너를 문서확인프로그램)을 하실 수 있습니다.

Page 1 of 2



TC1213 시험성적서

(2) 효소처리를 위한 대량생산 설비

○ 쌍별귀뚜라미 가수분해물 제조를 위한 pilot 설비와 150L 발효탱크 구축



○ 시험생산(40L Pilot)

제조과정	원료/자재	조건	비고
	쌍별귀뚜라미 탈지분말	수분<5%	2kg
	쌍별귀뚜라미 탈지분말	121℃, 1hr	10배수 pH 7.0
	Flavourzyme or Neutrase	50℃, 3hr	1%
	쌍별귀뚜라미 가수분해물 여과액		
	쌍별귀뚜라미 가수분해물 여과액	90℃, 15min 60℃, brix 20	
	쌍별귀뚜라미 가수분해물		수율 25.0%

○ 대량생산 테스트

제조공정		원료/자재	조건	비고
	<div style="border: 1px solid black; padding: 5px; text-align: center;">원료투입</div>	쌍별귀뚜라미 탈지분말	수분<5%	10kg
 <p style="text-align: center; font-size: small;">가압증숙 및 가수분해</p>	<div style="border: 1px solid black; padding: 5px; text-align: center;">가수 및 가압증숙</div>	쌍별귀뚜라미 탈지분말	121℃, 1hr	10배수 pH 7.0
 <p style="text-align: center; font-size: small;">가압증숙 및 가수분해</p>	<div style="border: 1px solid black; padding: 5px; text-align: center;">가수분해</div>	Flavourzyme or Neutrase	50℃, 8hr	1%
 <p style="text-align: center; font-size: small;">가압증숙 및 가수분해 여과 실험 및 농축</p>	<div style="border: 1px solid black; padding: 5px; text-align: center;">여과</div>	쌍별귀뚜라미 가수분해물 여과액		
 <p style="text-align: center; font-size: small;">실험 및 농축</p>	<div style="border: 1px solid black; padding: 5px; text-align: center;">실험 및 농축</div>	쌍별귀뚜라미 가수분해물 여과액	90℃, 30min 60℃, brix 20	
	<div style="border: 1px solid black; padding: 5px; text-align: center;">동결건조</div>	쌍별귀뚜라미 가수분해물		
	<div style="border: 1px solid black; padding: 5px; text-align: center;">분말</div>	쌍별귀뚜라미 가수분해물 동결건조분말		25.52% 수율


4) 시제품 제조과정 확립

4-1) 소재 2종 개발

(1) 간 건강 원료 소재 개발(원료명 : TCH212복합조성물)

표. TCH212복합조성물 제품개요

항목	내용
제품명	TCH212복합조성물
품목제조보고번호	198803550331012
제품의 유형	곤충가공식품
유통기한	제조일로부터 24개월까지
원료명 및 배합비율	쌍별귀뚜라미효소처리물 25%, 갈색거저리유충효소처리물 25%, 갈근추출분말 20%, 헛개나무열매추출분말 20%, 울금추출분말 5%, 시호추출분말 5%
섭취방법	직접 섭취하거나 식품의 원료로사용
보관방법 및 포장재질	실온보관(직사광성 및 고온다습한 곳을 피하여 서늘한 곳에 보관) 합성수지재 등
포장방법 및 포장단위	밀봉포장 / 1~20kg
성상	고유의 색택과 향미를 가진 분말제품으로 이미, 이취, 이물이 없음

<p>발급번호 : MAMB-ACBY-FUKR-BWKE-CCHE</p> <p style="text-align: center;">식품·식품첨가물 품목제조보고서</p> <table border="1" style="width: 100%;"> <tr> <td>신고인</td> <td>성명 정명수</td> <td>생년월일</td> <td></td> </tr> <tr> <td></td> <td>주소 경기도 고양시 일산동구 일신로273번길 26 (마두)</td> <td>전화번호</td> <td>031 9526554</td> </tr> <tr> <td></td> <td></td> <td>휴대전화</td> <td></td> </tr> <tr> <td>영업소</td> <td>명칭(상호) (주)한미양행</td> <td>영업등록번호</td> <td>19880355033</td> </tr> <tr> <td></td> <td>소재지 경기도 파주시 문산읍 통일로1889번길 44-20, 18-22, 18-23)</td> <td></td> <td></td> </tr> </table> <table border="1" style="width: 100%;"> <tr> <td>식품의 유형</td> <td>곤충가공식품</td> <td>품목제조보고번호</td> <td>198803550331012</td> </tr> <tr> <td>제품명</td> <td>TCH212 복합조성물</td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>유통기한</td> <td>제조일로부터 24개월까지</td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>품질유지기한</td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>원재료명 또는 성분명 및 배합비율</td> <td>헛개에 기재</td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>용도 용법</td> <td>헛개에 기재</td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>보관방법 및 포장재질</td> <td>헛개에 기재</td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>포장방법 및 포장단위</td> <td>헛개에 기재</td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>성상</td> <td>고유의 색택과 향미를 가진 분말제품으로 이미, 이취, 이물이 없음.</td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>품목의 특성</td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td></td> <td> <ul style="list-style-type: none"> ■ 고열량·저영양 식품 해당 여부 []에 []아니오 [O]해당 없음 ■ 영·유아를 섭취대상으로 표시 판매하는 식품 해당 여부 []에 [O]아니오 ■ 고열량·저영양 식품으로 표시해 판매하는 식품의 해당 여부 []에 [O]아니오 ■ 살균·멸균 제품의 해당 여부 [O]비살균 []살균 []멸균 </td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>기타</td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> </table> <p>「식품위생법」 제3조 제5항 및 같은 법 시행규칙 제45조 제1항에 따라 식품(식품첨가물) 품목제조 사항을 보고합니다.</p> <p style="text-align: right;">2021년 07월 09일 보고인 정명수</p> <p style="text-align: center;">경기도 파주시장 귀하</p> <p>품목보고번호 : 198803550331012</p> <table border="1" style="width: 100%;"> <tr> <td>처리부서</td> <td>보건소 위생과</td> <td>처리자성명</td> <td>김수호</td> <td>처리일자</td> <td>2021년 07월 15일</td> </tr> </table> 	신고인	성명 정명수	생년월일			주소 경기도 고양시 일산동구 일신로273번길 26 (마두)	전화번호	031 9526554			휴대전화		영업소	명칭(상호) (주)한미양행	영업등록번호	19880355033		소재지 경기도 파주시 문산읍 통일로1889번길 44-20, 18-22, 18-23)			식품의 유형	곤충가공식품	품목제조보고번호	198803550331012	제품명	TCH212 복합조성물			유통기한	제조일로부터 24개월까지			품질유지기한				원재료명 또는 성분명 및 배합비율	헛개에 기재			용도 용법	헛개에 기재			보관방법 및 포장재질	헛개에 기재			포장방법 및 포장단위	헛개에 기재			성상	고유의 색택과 향미를 가진 분말제품으로 이미, 이취, 이물이 없음.			품목의 특성					<ul style="list-style-type: none"> ■ 고열량·저영양 식품 해당 여부 []에 []아니오 [O]해당 없음 ■ 영·유아를 섭취대상으로 표시 판매하는 식품 해당 여부 []에 [O]아니오 ■ 고열량·저영양 식품으로 표시해 판매하는 식품의 해당 여부 []에 [O]아니오 ■ 살균·멸균 제품의 해당 여부 [O]비살균 []살균 []멸균 			기타				처리부서	보건소 위생과	처리자성명	김수호	처리일자	2021년 07월 15일	<p>[별지 제3호 서식]</p> <p style="text-align: center;">유통기한 설정 사유서</p> <table border="1" style="width: 100%;"> <tr> <td>제품명</td> <td>TCH212 복합조성물</td> </tr> <tr> <td>식품의 유형</td> <td>곤충가공식품</td> </tr> <tr> <td>보존 및 유통 방법</td> <td>실온(O) / 상온() / 냉장() / 냉동() / 기타()</td> </tr> <tr> <td>유통기한</td> <td>제조일로부터 24개월까지</td> </tr> <tr> <td>실험수행기관종류</td> <td>자사() / 의뢰() / 생략(O)</td> </tr> <tr> <td>실험수행기관명</td> <td></td> </tr> </table> <p style="text-align: center;">유통기한 설정근거</p> <table border="1" style="width: 100%;"> <thead> <tr> <th>항목</th> <th>신규제품</th> <th>기존비교제품</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>(1) 제품명</td> <td>TCH212 복합조성물</td> <td>고소매표소저리등 복합조성물 MWM201</td> </tr> <tr> <td>(2) 식품의 유형</td> <td>곤충가공식품</td> <td>곤충가공식품</td> </tr> <tr> <td>(3) 성상</td> <td>고유의 색택과 향미를 가진 분말제품으로 이미, 이취, 이물이 없음.</td> <td>고유의 색택과 향미를 가진 분말제품으로 이미, 이취, 이물이 없음.</td> </tr> <tr> <td>(4) 포장개질 및 포장방법</td> <td>합성수지재/밀봉</td> <td>합성수지재</td> </tr> <tr> <td>(5) 유통 및 보존온도</td> <td>실온</td> <td>실온</td> </tr> <tr> <td>(6) 보존료 사용여부</td> <td>해당사항 없음.</td> <td>해당사항 없음.</td> </tr> <tr> <td>(7) 유통(유통처)여부</td> <td>해당사항 없음.</td> <td>해당사항 없음.</td> </tr> <tr> <td>(8) 살균(추경처리, 산처리포함) 또는 멸균방법</td> <td>해당사항 없음.</td> <td>해당사항 없음.</td> </tr> <tr> <td>(9) 유통기한</td> <td>제조일로부터 24개월까지</td> <td>제조일로부터 24개월까지</td> </tr> </tbody> </table> <p>본 제품과 제품특성이 유사한 기존 유통제품의 유통기한이 24개월인 것을 감안하여 식품의 유통기한 설정기준 II.1.바.3)에 의거하여 유통기한 설정실험을 생략하고 본 제품의 유통기한을 24개월로 설정합니다.</p> <p style="text-align: center;">상기와 같이 유통기한 설정 사유서를 제출합니다.</p> <p style="text-align: center;">2021년 07월 06일</p> <p style="text-align: right;">제출인 : 정명수 (인)</p> <p>파주시장 귀하</p>	제품명	TCH212 복합조성물	식품의 유형	곤충가공식품	보존 및 유통 방법	실온(O) / 상온() / 냉장() / 냉동() / 기타()	유통기한	제조일로부터 24개월까지	실험수행기관종류	자사() / 의뢰() / 생략(O)	실험수행기관명		항목	신규제품	기존비교제품	(1) 제품명	TCH212 복합조성물	고소매표소저리등 복합조성물 MWM201	(2) 식품의 유형	곤충가공식품	곤충가공식품	(3) 성상	고유의 색택과 향미를 가진 분말제품으로 이미, 이취, 이물이 없음.	고유의 색택과 향미를 가진 분말제품으로 이미, 이취, 이물이 없음.	(4) 포장개질 및 포장방법	합성수지재/밀봉	합성수지재	(5) 유통 및 보존온도	실온	실온	(6) 보존료 사용여부	해당사항 없음.	해당사항 없음.	(7) 유통(유통처)여부	해당사항 없음.	해당사항 없음.	(8) 살균(추경처리, 산처리포함) 또는 멸균방법	해당사항 없음.	해당사항 없음.	(9) 유통기한	제조일로부터 24개월까지	제조일로부터 24개월까지
신고인	성명 정명수	생년월일																																																																																																																			
	주소 경기도 고양시 일산동구 일신로273번길 26 (마두)	전화번호	031 9526554																																																																																																																		
		휴대전화																																																																																																																			
영업소	명칭(상호) (주)한미양행	영업등록번호	19880355033																																																																																																																		
	소재지 경기도 파주시 문산읍 통일로1889번길 44-20, 18-22, 18-23)																																																																																																																				
식품의 유형	곤충가공식품	품목제조보고번호	198803550331012																																																																																																																		
제품명	TCH212 복합조성물																																																																																																																				
유통기한	제조일로부터 24개월까지																																																																																																																				
품질유지기한																																																																																																																					
원재료명 또는 성분명 및 배합비율	헛개에 기재																																																																																																																				
용도 용법	헛개에 기재																																																																																																																				
보관방법 및 포장재질	헛개에 기재																																																																																																																				
포장방법 및 포장단위	헛개에 기재																																																																																																																				
성상	고유의 색택과 향미를 가진 분말제품으로 이미, 이취, 이물이 없음.																																																																																																																				
품목의 특성																																																																																																																					
	<ul style="list-style-type: none"> ■ 고열량·저영양 식품 해당 여부 []에 []아니오 [O]해당 없음 ■ 영·유아를 섭취대상으로 표시 판매하는 식품 해당 여부 []에 [O]아니오 ■ 고열량·저영양 식품으로 표시해 판매하는 식품의 해당 여부 []에 [O]아니오 ■ 살균·멸균 제품의 해당 여부 [O]비살균 []살균 []멸균 																																																																																																																				
기타																																																																																																																					
처리부서	보건소 위생과	처리자성명	김수호	처리일자	2021년 07월 15일																																																																																																																
제품명	TCH212 복합조성물																																																																																																																				
식품의 유형	곤충가공식품																																																																																																																				
보존 및 유통 방법	실온(O) / 상온() / 냉장() / 냉동() / 기타()																																																																																																																				
유통기한	제조일로부터 24개월까지																																																																																																																				
실험수행기관종류	자사() / 의뢰() / 생략(O)																																																																																																																				
실험수행기관명																																																																																																																					
항목	신규제품	기존비교제품																																																																																																																			
(1) 제품명	TCH212 복합조성물	고소매표소저리등 복합조성물 MWM201																																																																																																																			
(2) 식품의 유형	곤충가공식품	곤충가공식품																																																																																																																			
(3) 성상	고유의 색택과 향미를 가진 분말제품으로 이미, 이취, 이물이 없음.	고유의 색택과 향미를 가진 분말제품으로 이미, 이취, 이물이 없음.																																																																																																																			
(4) 포장개질 및 포장방법	합성수지재/밀봉	합성수지재																																																																																																																			
(5) 유통 및 보존온도	실온	실온																																																																																																																			
(6) 보존료 사용여부	해당사항 없음.	해당사항 없음.																																																																																																																			
(7) 유통(유통처)여부	해당사항 없음.	해당사항 없음.																																																																																																																			
(8) 살균(추경처리, 산처리포함) 또는 멸균방법	해당사항 없음.	해당사항 없음.																																																																																																																			
(9) 유통기한	제조일로부터 24개월까지	제조일로부터 24개월까지																																																																																																																			


품목보고서

유통기한 설정사유서

(2) 번역기능 개선 원료 소재 개발(원료명 : TCI213복합조성물)

표. TCI213복합조성물 제품개요

항목	내용
제품명	TCI213복합조성물
품목제조보고번호	198803550331011
제품의 유형	곤충가공식품
유통기한	제조일로부터 24개월까지
원료명 및 배합비율	쌍별귀뚜라미효소처리물 28%, 상황버섯엑기스분말 20%, 오가피추출분말 20%, 도라지추출분말 20%, 갈색거저리유충효소처리물 10%, 울금추출분말 2%
섭취방법	직접 섭취하거나 식품의 원료로사용
보관방법 및 포장재질	실온보관(직사광성 및 고온다습한 곳을 피하여 서늘한 곳에 보관) 합성수지재 등
포장방법 및 포장단위	밀봉포장 / 1~20kg
성상	고유의 색택과 향미를 가진 분말제품으로 이미, 이취, 이물이 없음

<p>발급번호 : MAMB-ACBY-RVPR-DXKW-QCSV</p> <p style="text-align: center;">식품·식품첨가물 품목제조보고서</p> <table border="1" style="width: 100%;"> <tr> <td>보고인</td> <td>성명 정명수</td> <td>생년월일</td> <td></td> </tr> <tr> <td></td> <td>주소 경기도 고양시 일산동구 일산로273번길 26 (미두)</td> <td>전화번호</td> <td>031 9529554</td> </tr> <tr> <td></td> <td></td> <td>휴대전화</td> <td></td> </tr> <tr> <td>영업소</td> <td>명칭(상호) (주)편미알함</td> <td>영업등록번호</td> <td>19880355033</td> </tr> <tr> <td></td> <td>소재지 경기도 파주시 문산읍 통일로1888번길 44-20(, 18-22, 18-23)</td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td rowspan="10">제품정보</td> <td>식품의 유형</td> <td>곤충가공식품</td> <td>품목제조보고번호 198803550331011</td> </tr> <tr> <td>제품명</td> <td>TCI213 복합조성물</td> <td></td> </tr> <tr> <td>유통기한</td> <td>제조일로부터 24개월까지</td> <td></td> </tr> <tr> <td>품질유지기한</td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>원재료명 또는 성분명 및 배합비율</td> <td>뒷장에 기재</td> <td></td> </tr> <tr> <td>용도 용법</td> <td>뒷장에 기재</td> <td></td> </tr> <tr> <td>보관방법 및 포장재질</td> <td>뒷장에 기재</td> <td></td> </tr> <tr> <td>포장방법 및 포장단위</td> <td>뒷장에 기재</td> <td></td> </tr> <tr> <td>성상</td> <td>고유의 색택과 향미를 가진 분말제품으로 이미, 이취, 이물이 없음.</td> <td></td> </tr> <tr> <td>품목의 특성</td> <td colspan="2"> <ul style="list-style-type: none"> ■ 고열량·저영양 식품 해당 여부 []예 []아니오 [O]해당 없음 ■ 중, 무알콜 섭취대상으로 표시 []예 []아니오 ■ 판매하는 식품 해당 여부 ■ 고영양식품으로 표시해 판매하는 식품의 해당 여부 []예 []아니오 ■ 알균·열균 제품의 해당 여부 [O]비살균 []살균 []불균 </td> </tr> <tr> <td>기타</td> <td colspan="2"></td> </tr> </table> <p>「식품위생법」 제37조 제5항 및 같은 법 시행규칙 제45조 제1항에 따라 식품(식품첨가물) 품목제조 사항을 보고합니다.</p> <p style="text-align: right;">2021년 07월 07일 보고인 정명수</p> <p style="text-align: center;">경기도 파주시장 귀하</p> <p>품목보고번호 : 198803550331011</p> <table border="1" style="width: 100%;"> <tr> <td>처리부서</td> <td>보건소 위생과</td> <td>처리자명</td> <td>김수호</td> <td>처리일자</td> <td>2021년 07월 15일</td> </tr> </table> <div style="display: flex; justify-content: space-around;">  </div> <p style="text-align: center;">품목보고서</p>	보고인	성명 정명수	생년월일			주소 경기도 고양시 일산동구 일산로273번길 26 (미두)	전화번호	031 9529554			휴대전화		영업소	명칭(상호) (주)편미알함	영업등록번호	19880355033		소재지 경기도 파주시 문산읍 통일로1888번길 44-20(, 18-22, 18-23)			제품정보	식품의 유형	곤충가공식품	품목제조보고번호 198803550331011	제품명	TCI213 복합조성물		유통기한	제조일로부터 24개월까지		품질유지기한			원재료명 또는 성분명 및 배합비율	뒷장에 기재		용도 용법	뒷장에 기재		보관방법 및 포장재질	뒷장에 기재		포장방법 및 포장단위	뒷장에 기재		성상	고유의 색택과 향미를 가진 분말제품으로 이미, 이취, 이물이 없음.		품목의 특성	<ul style="list-style-type: none"> ■ 고열량·저영양 식품 해당 여부 []예 []아니오 [O]해당 없음 ■ 중, 무알콜 섭취대상으로 표시 []예 []아니오 ■ 판매하는 식품 해당 여부 ■ 고영양식품으로 표시해 판매하는 식품의 해당 여부 []예 []아니오 ■ 알균·열균 제품의 해당 여부 [O]비살균 []살균 []불균 		기타			처리부서	보건소 위생과	처리자명	김수호	처리일자	2021년 07월 15일	<p>[별지 제3호 서식]</p> <p style="text-align: center;">유통기한 설정 사유서</p> <table border="1" style="width: 100%;"> <tr> <td>계 품 명</td> <td>TCI213 복합조성물</td> </tr> <tr> <td>식 품 의 유 형</td> <td>곤충가공식품</td> </tr> <tr> <td>보존 및 유통 방법</td> <td>실온(O) / 상온() / 냉장() / 냉동() / 기타()</td> </tr> <tr> <td>유통 기 한</td> <td>제조일로부터 24개월까지</td> </tr> <tr> <td>실험수행기관종류</td> <td>자사() / 의뢰() / 생략(O)</td> </tr> <tr> <td>실험수행기관명</td> <td></td> </tr> </table> <p style="text-align: center;">유통기한 설정근거</p> <table border="1" style="width: 100%;"> <thead> <tr> <th>항목</th> <th>신규제품</th> <th>기존비교제품</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>(1) 계 품 명</td> <td>TCI213 복합조성물</td> <td>고소애호초처리등 복합조성물 MWM201</td> </tr> <tr> <td>(2) 식품의 유형</td> <td>곤충가공식품</td> <td>곤충가공식품</td> </tr> <tr> <td>(3) 성 상</td> <td>고유의 색택과 향미를 가진 분말제품으로 이미, 이취, 이물이 없음.</td> <td>고유의 색택과 향미를 가진 분말제품으로 이미, 이취, 이물이 없음.</td> </tr> <tr> <td>(4) 포장재질 및 포장방법</td> <td>합성수지재/밀봉</td> <td>합성수지재</td> </tr> <tr> <td>(5) 유통 및 보존온도</td> <td>실온</td> <td>실온</td> </tr> <tr> <td>(6) 보존료 사용여부</td> <td>해당사항 없음.</td> <td>해당사항 없음.</td> </tr> <tr> <td>(7) 유통(유통처)여부</td> <td>해당사항 없음.</td> <td>해당사항 없음.</td> </tr> <tr> <td>(8) 살균(주정처리, 산처리포함) 또는 멸균방법</td> <td>해당사항 없음.</td> <td>해당사항 없음.</td> </tr> <tr> <td>(9) 유통기한</td> <td>제조일로부터 24개월까지</td> <td>제조일로부터 24개월까지</td> </tr> </tbody> </table> <p>본 제품과 제품특성이 유사한 기존 유통제품의 유통기한이 24개월인 점을 감안하여 식품의 유통기한 설정기준 II.1.바.3)에 의거하여 유통기한 설정실험을 생략하고 본 제품의 유통기한을 24개월로 설정합니다.</p> <p style="text-align: center;">상기와 같이 유통기한 설정 사유서를 제출합니다.</p> <p style="text-align: center;">2021년 07월 06일</p> <p style="text-align: right;">제출인: 정명수 (인)</p> <p>파주시장 귀하</p> <p style="text-align: center;">유통기한 설정사유서</p>	계 품 명	TCI213 복합조성물	식 품 의 유 형	곤충가공식품	보존 및 유통 방법	실온(O) / 상온() / 냉장() / 냉동() / 기타()	유통 기 한	제조일로부터 24개월까지	실험수행기관종류	자사() / 의뢰() / 생략(O)	실험수행기관명		항목	신규제품	기존비교제품	(1) 계 품 명	TCI213 복합조성물	고소애호초처리등 복합조성물 MWM201	(2) 식품의 유형	곤충가공식품	곤충가공식품	(3) 성 상	고유의 색택과 향미를 가진 분말제품으로 이미, 이취, 이물이 없음.	고유의 색택과 향미를 가진 분말제품으로 이미, 이취, 이물이 없음.	(4) 포장재질 및 포장방법	합성수지재/밀봉	합성수지재	(5) 유통 및 보존온도	실온	실온	(6) 보존료 사용여부	해당사항 없음.	해당사항 없음.	(7) 유통(유통처)여부	해당사항 없음.	해당사항 없음.	(8) 살균(주정처리, 산처리포함) 또는 멸균방법	해당사항 없음.	해당사항 없음.	(9) 유통기한	제조일로부터 24개월까지	제조일로부터 24개월까지
보고인	성명 정명수	생년월일																																																																																																					
	주소 경기도 고양시 일산동구 일산로273번길 26 (미두)	전화번호	031 9529554																																																																																																				
		휴대전화																																																																																																					
영업소	명칭(상호) (주)편미알함	영업등록번호	19880355033																																																																																																				
	소재지 경기도 파주시 문산읍 통일로1888번길 44-20(, 18-22, 18-23)																																																																																																						
제품정보	식품의 유형	곤충가공식품	품목제조보고번호 198803550331011																																																																																																				
	제품명	TCI213 복합조성물																																																																																																					
	유통기한	제조일로부터 24개월까지																																																																																																					
	품질유지기한																																																																																																						
	원재료명 또는 성분명 및 배합비율	뒷장에 기재																																																																																																					
	용도 용법	뒷장에 기재																																																																																																					
	보관방법 및 포장재질	뒷장에 기재																																																																																																					
	포장방법 및 포장단위	뒷장에 기재																																																																																																					
	성상	고유의 색택과 향미를 가진 분말제품으로 이미, 이취, 이물이 없음.																																																																																																					
	품목의 특성	<ul style="list-style-type: none"> ■ 고열량·저영양 식품 해당 여부 []예 []아니오 [O]해당 없음 ■ 중, 무알콜 섭취대상으로 표시 []예 []아니오 ■ 판매하는 식품 해당 여부 ■ 고영양식품으로 표시해 판매하는 식품의 해당 여부 []예 []아니오 ■ 알균·열균 제품의 해당 여부 [O]비살균 []살균 []불균 																																																																																																					
기타																																																																																																							
처리부서	보건소 위생과	처리자명	김수호	처리일자	2021년 07월 15일																																																																																																		
계 품 명	TCI213 복합조성물																																																																																																						
식 품 의 유 형	곤충가공식품																																																																																																						
보존 및 유통 방법	실온(O) / 상온() / 냉장() / 냉동() / 기타()																																																																																																						
유통 기 한	제조일로부터 24개월까지																																																																																																						
실험수행기관종류	자사() / 의뢰() / 생략(O)																																																																																																						
실험수행기관명																																																																																																							
항목	신규제품	기존비교제품																																																																																																					
(1) 계 품 명	TCI213 복합조성물	고소애호초처리등 복합조성물 MWM201																																																																																																					
(2) 식품의 유형	곤충가공식품	곤충가공식품																																																																																																					
(3) 성 상	고유의 색택과 향미를 가진 분말제품으로 이미, 이취, 이물이 없음.	고유의 색택과 향미를 가진 분말제품으로 이미, 이취, 이물이 없음.																																																																																																					
(4) 포장재질 및 포장방법	합성수지재/밀봉	합성수지재																																																																																																					
(5) 유통 및 보존온도	실온	실온																																																																																																					
(6) 보존료 사용여부	해당사항 없음.	해당사항 없음.																																																																																																					
(7) 유통(유통처)여부	해당사항 없음.	해당사항 없음.																																																																																																					
(8) 살균(주정처리, 산처리포함) 또는 멸균방법	해당사항 없음.	해당사항 없음.																																																																																																					
(9) 유통기한	제조일로부터 24개월까지	제조일로부터 24개월까지																																																																																																					




4-2) 제품 5종 개발

(1) TCH212복합조성물(간 건강)을 활용한 제품 3종

(가) 제품명 : 한미침향원

표. 한미침향원 제품개요

항목	내용
제품명	한미침향원
품목제조보고번호	19880355033838
제품의 유형	기타가공품
유통기한	제조일로부터 24개월까지
원료명 및 배합비율	식물혼합분말 46.84%, 사양벌꿀 27.7%, 침향분말 5%, 타우린 5%, 복분주차출분말, 카마젤분말, 곤충가공식품(TCH212복합조성물)
섭취방법	1일 1~3회, 1회 1환씩 씹어서 섭취
보관방법 및 포장재질	실온보관(직사광성 및 고온다습한 곳을 피하여 서늘한 곳에 보관) 내포장재질 : PP, PE, PET 등
포장방법 및 포장단위	3.75g × 30환(대환)
성상	고유의 색상을 가진 환제품으로 이미, 이취, 이물이 없음

<p>발급번호 : MAMB-BABW-CIUS-TRBW-ROVJ</p> <p style="text-align: center;">품목제조보고사항 변경보고서</p> <table border="1" style="width: 100%;"> <tr> <td rowspan="2">보고인</td> <td>성명</td> <td>정명수</td> <td>생년월일</td> </tr> <tr> <td>주소</td> <td>경기도 고양시 일산동구 일산로273번길 26 (마두동)</td> <td>전화번호</td> </tr> <tr> <td rowspan="2">영업소</td> <td>영업소 명칭(상호)</td> <td>(주)한미양행</td> <td>영업등록번호</td> </tr> <tr> <td>영업소재지</td> <td>경기도 파주시 문산읍 통일로1888번길 44-20(, 18-22, 18-23)</td> <td>19880355033</td> </tr> <tr> <td>영업의 종류</td> <td colspan="3">식품제조가공업</td> </tr> <tr> <td>변경품목</td> <td>제품명</td> <td>한미침향원</td> <td>품목보고번호</td> </tr> <tr> <td></td> <td></td> <td></td> <td>19880355033838</td> </tr> </table> <table border="1" style="width: 100%; text-align: center;"> <thead> <tr> <th>변경사항</th> <th>변경 전</th> <th>변경 후</th> <th>변경사유</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>제품명</td> <td>-</td> <td>-</td> <td>해당없음</td> </tr> <tr> <td>유통기한</td> <td>-</td> <td>-</td> <td>덧붙여 기재</td> </tr> <tr> <td>원재료 또는 성분명 및 배합비율</td> <td colspan="3">덧붙여 기재</td> </tr> </tbody> </table> <p>「식품위생법」 제37조 제5항 및 같은 법 시행규칙 제46조 제1항에 따라 식품(식품첨가물) 품목제조 보고사항을 변경하기 위하여 보고합니다.</p> <p style="text-align: right;">2021년 10월 13일 보고인 정명수</p> <p style="text-align: center;">경기도 파주시장 귀하</p> <p>품목보고번호 : 19880355033838</p> <table border="1" style="width: 100%;"> <tr> <td>처리부서</td> <td>보건소 위생과</td> <td>처리자성명</td> <td>이현숙</td> <td>처리일자</td> <td>2021년 10월 14일</td> </tr> </table> <div style="display: flex; justify-content: space-around; margin-top: 10px;">  </div>	보고인	성명	정명수	생년월일	주소	경기도 고양시 일산동구 일산로273번길 26 (마두동)	전화번호	영업소	영업소 명칭(상호)	(주)한미양행	영업등록번호	영업소재지	경기도 파주시 문산읍 통일로1888번길 44-20(, 18-22, 18-23)	19880355033	영업의 종류	식품제조가공업			변경품목	제품명	한미침향원	품목보고번호				19880355033838	변경사항	변경 전	변경 후	변경사유	제품명	-	-	해당없음	유통기한	-	-	덧붙여 기재	원재료 또는 성분명 및 배합비율	덧붙여 기재			처리부서	보건소 위생과	처리자성명	이현숙	처리일자	2021년 10월 14일	<div style="text-align: center;">  </div> <div style="text-align: right; margin-top: 10px;">  </div>
보고인		성명	정명수	생년월일																																													
	주소	경기도 고양시 일산동구 일산로273번길 26 (마두동)	전화번호																																														
영업소	영업소 명칭(상호)	(주)한미양행	영업등록번호																																														
	영업소재지	경기도 파주시 문산읍 통일로1888번길 44-20(, 18-22, 18-23)	19880355033																																														
영업의 종류	식품제조가공업																																																
변경품목	제품명	한미침향원	품목보고번호																																														
			19880355033838																																														
변경사항	변경 전	변경 후	변경사유																																														
제품명	-	-	해당없음																																														
유통기한	-	-	덧붙여 기재																																														
원재료 또는 성분명 및 배합비율	덧붙여 기재																																																
처리부서	보건소 위생과	처리자성명	이현숙	처리일자	2021년 10월 14일																																												
품목보고서	제품 이미지																																																

시험 성적서

작성	검토	승인
김경덕	강지희	기병대

제품명	한미침향원	시험의뢰일	2020. 07. 13
제조번호	1536012	제조일자 /유통기한	2020. 07. 10 2022. 06. 26
제품유형	기타가공품	시험번호	FTP-1536012

시험항목	시험기준	시험결과	판정	시험일자
성상	고유의 색상을 지닌 환제품으로 이미, 이취, 이물이 없다.	고유색 색상 지닌 환제품으로 이미, 이취, 이물이 없다.	적합	2020. 07. 13
평균중량(g)	3.75 g - 4.5 % 이상	3.88g	적합	2020. 07. 13
이물	불검출	불검출	적합	2020. 07. 13
대장균군	음성이어야 한다.	음성	적합	2020. 07. 13
대장균	n=5, c=1, m=0, M=10	0, 0, 0, 0, 0	적합	2020. 07. 13

종합판정	적합	판정자	김성태	판정일자	2020. 07. 24
시험자 : 황성원, 장지성					
비고					

※ 검사결과를 광고하거나 용기·포장 등에 표시할 때에는 시험성적서 전체 내용을 모두 표시하여야 합니다.

(주) 한미양행

성적서

[별지 제3호 서식]

유통기한 설정 사유서

제품명	한미침향원
식품의 유형	기타가공품
보존 및 유통 방법	실온(O) / 상온() / 냉장() / 냉동() / 기타()
유통기한	제조일로부터 24개월까지
실험수행기관종류	자사() / 의뢰() / 생략(O)
실험수행기관명	

유통기한 설정근거

항목	신규제품	기존비교제품
(1) 제품명	한미침향원	황재광진관
(2) 식품의 유형	기타가공품	기타가공품
(3) 성상	고유의 색상을 지닌 환제품으로 이미, 이취, 이물이 없다.	고유의 색상을 지닌 환제품으로 이미, 이취, 이물이 없다.
(4) 포장재질 및 포장방법	합성수지재, 밀봉포장	합성수지재, 밀봉포장
(5) 유통 및 보존온도	실온	실온
(6) 보존료 사용여부	해당없음	해당없음
(7) 유통(유통처리)여부	해당없음	해당없음
(8) 살균(유청처리, 산처리포함) 또는 멸균방법	해당없음	해당없음
(9) 유통기한	제조일로부터 24개월까지	제조일로부터 24개월까지

본 제품과 제품특성이 유사한 기존 유통제품의 유통기한이 24개월인 점을 감안하여 식품의 유통기한 설정기준 II.1.바.3)에 의거하여 유통기한 설정실현을 생략하고 본 제품의 유통기한을 24개월로 설정합니다.

상기와 같이 유통기한 설정 사유서를 제출합니다.

2020년 03월 24일

제출인 : 정명수 (인)

과주시장 귀하

유통기한 설정사유서

(나) 제품명 : 한미침향원프리미엄

표. 한미침향원 프리미엄 제품개요

항목	내용
제품명	한미침향원 프리미엄
품목제조보고번호	19880355033033
제품의 유형	기타가공품
유통기한	제조일로부터 24개월까지
원료명 및 배합비율	식물혼합분말 29.24%, 사양벌꿀28%, 침향분말 22%, 타우린 5%, 곤충가공식품(굼벵이효소처리등복합조성물 elc40), 곤충가공식품(TCH212복합조성물)
섭취방법	1일 1~3회, 1회 1환씩 씹어서 섭취
보관방법 및 포장재질	실온보관(직사광선 및 고온다습한 곳을 피하여 서늘한 곳에 보관) 내포장재질 : PP, PE, PET 등
포장방법 및 포장단위	3.75g × 30환(대환)
성상	고유의 색상을 가진 환제품으로 이미, 이취, 이물이 없음
비고	명인침향원에서 한미침향원 프리미엄으로 변경 (제품명 및 배합비 변경)



품목제조보고사항 변경보고서

보고인	성명	정명수	생년월일
	주소	경기도 고양시 일산동구 일산로273번길 26 (마두동)	전화번호 031 9529554
영업소	영업소 명칭(상호) (주)한미양행	영업등록번호 19880355033	
	영업소재지	경기도 파주시 문산읍 통일로1888번길 44-20(, 18-22, 18-23)	
영업의 종류	식품제조가공업		
변경품목	제품명	품목보고번호	
	한미침향원 프리미엄	19880355033802	
변경사항	변경 전	변경 후	변경사유
제품명	-	-	해당없음
유통기한	-	-	맞장에 기재
원재료 또는 성분명 및 배합비율	맞장에 기재		

「식품위생법」 제37조 제5항 및 같은 법 시행규칙 제46조 제1항에 따라 식품 (식품첨가물) 품목제조 보고사항을 변경하기 위하여 보고합니다.

2021년 08월 04일
보고인 정명수

경기도 파주시장 귀하

품목보고번호 : 19880355033802

처리부서	보건소 위생과	처리자성명	이현숙	처리일자	2021년 08월 06일
------	---------	-------	-----	------	---------------



품목보고서



제품이미지

시험 성적서

작성	검토	승인	결	김영숙	강희원	김성태
			재			
제품명	한미침향원 프리미엄	시험의뢰인		2022. 01. 03		
제조번호	1650123	제조일자 / 유통기한		2021. 12. 30 / 2023. 12. 28		
제품유형	기타가공품	시험번호		FTP-1650123		
시험항목	시험기준	시험결과	판정	시험일자		
성상	고유의 색상을 지닌 흰색粉末 이며, 이취, 이물이 없다.	고유의 색상을 지닌 흰색粉末 이며, 이취, 이물이 없다.	적합	2022. 01. 03		
대장균	음성이어야 한다.	음성	적합	2022. 01. 03		
대장균	n=5, c=1, m=0, M=10	0, 0, 0, 0	적합	2022. 01. 03		
평균중량(g)	3.75 g - 4.5 % 이상	3.76g	적합	2022. 01. 03		
이물	불검출	불검출	적합	2022. 01. 03		

종합판정	적합	판정자	김성태	판정일자	2022. 01. 05
------	----	-----	-----	------	--------------

시험자 : 이정은, 이진희

비고

※ 검사결과를 광고하거나 용기·포장 등에 표시할 때에는 시험성적서 전체 내용을 모두 표시하여야 합니다.

(주) 한미양행

성적서

[별지 제3호 서식]

유통기한 설정 사유서

제품명	명인침향원	
식품의 유형	기타가공품	
보존 및 유통 방법	실온(○) / 상온() / 냉장() / 냉동() / 기타()	
유통기한	제조일로부터 24개월까지	
실험수행기관종류	자사() / 의뢰() / 생략(○)	
실험수행기관명		
유통기한 설정근거		
항목	신규제품	기존비교제품
(1) 제품명	명인침향원	황재활건환
(2) 식품의 유형	기타가공품	기타가공품
(3) 성상	고유의 색상을 지닌 흰색粉末 이며, 이취, 이물이 없다.	고유의 색상을 지닌 흰색粉末 이며, 이취, 이물이 없다.
(4) 포장개질 및 포장방법	합성수지재, 밀봉포장	합성수지재, 밀봉포장
(5) 유통 및 보존온도	실온	실온
(6) 보존료 사용여부	해당없음	해당없음
(7) 유당(유처리)여부	해당없음	해당없음
(8) 살균(우경처리, 산처리포함) 또는 멸균방법	해당없음	해당없음
(9) 유통기한	제조일로부터 24개월까지	제조일로부터 24개월까지

본 제품과 제품특성이 유사한 기존 유통제품의 유통기한이 24개월인 것을 감안하여 식품의 유통기한 설정기준 II.1.바.3)에 의거하여 유통기한 설정실험을 생략하고 본 제품의 유통기한을 24개월로 설정합니다.

상기와 같이 유통기한 설정 사유서를 제출합니다.

2019년 08 일

제출인: 정명수 (인)


파주시장 귀하

유통기한 설정사유서

(다) 제품명 : 헤파스타

표. 헤파스타 제품개요

항목	내용
제품명	헤파스타
품목제조보고번호	200400150831612
제품의 유형	건강기능식품 (밀크씨슬추출물, 비타민B1, 비타민B2, 나이아신, 판토텐산, 비타민B6)
유통기한	제조일로부터 24개월까지
섭취방법	1일 1회, 1회 1정을 충분한 물과 함께 섭취
보존 및 유통기준	고온다습한 곳이나 직사광선을 피하여 서늘한 곳에 보관
포장방법 및 포장단위	PTP포장/ 900mg × 30정(정제)
성상	고유의 향미를 지니고 이미, 이취가 없는 연한 노란색 또는 연한 황갈색 장방형 제피정제
기능성 내용	[밀크씨슬추출물] 간 건강에 도움을 줄 수 있음 [비타민B1] 탄수화물과 에너지 대사에 필요 [비타민B2] 체내 에너지 생성에 필요 [나이아신] 체내 에너지 생성에 필요 [판토텐산] 지방, 탄수화물, 단백질 대사와 에너지 생성에 필요 [비타민B6] ①단백질 및 아미노산 이용에 필요 ②혈액의 호모스테인 수준을 정상으로 유지하는데 필요
기준규격	[실리마린] 130 mg/900 mg [비타민B1] 1.2 mg/900 mg [비타민B2] 1.4 mg/900 mg [나이아신] 15 mgNE/900 mg [판토텐산] 5 mg/900 mg [비타민B6] 1.5 mg/900 mg

<p>발급번호 : MAMB-BMBK-CKJT-RMFB-CAIU</p> <p>제 200400150831612 호</p> <p>건강기능식품 품목제조신고증</p> <p>○ 영업허가(번호) : 20040015083</p> <p>○ 업 소 명 : 주식회사한미양행</p> <p>○ 소 재 지 : 경기도 파주시 문산읍 통일로1888번길 44-20</p> <p>○ 영 업 의 종 류 : 건강기능식품전문제조업</p> <p>○ 제 품 명 : 헤파스타(품목류:밀크씨슬(카르두스 마리야누스) 추출물, 비타민 B1, 비타민 B2, 나이아신, 판토텐산, 비타민 B6)</p> <p>제조방법·원료나 성분의 명칭과 함량·제품의 형태·기준과 규격 : (위쪽 각성) 「건강기능식품에 관한 법률」 제7조와 같은 법 시행규칙 제8조에 따라 건강기능식품 품목제조신고를 수리합니다.</p> <p>2021년 12월 14일</p> <p>서울지방식품의약품안전청장</p> 	 <p>제품 이미지</p>
--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	-----------------------------------------------------------------------------------------------------------



시험·검사성적서

발행번호	R202112100004	접수번호	210128289001	
검사완료일	2021-12-10	접수완료일	2021-12-01	
제품명	해파스타	제품제조사명	주식회사한미양행	
유형·재질·품목명	일크리슬(카르부스 마리아누스) 추출물, 나이아신,비타민 B1,비타민 B2,비타민 B6,판토텐산			
제조(수입)일	2021-11-29	유통(종류유지)기한		
의뢰자	성명: 장영수 소재지: (10806) 경기도 파주시 문신읍 통일로1888번길 44-20 전화번호: 031-952-9555	업체명: 주식회사한미양행 주소: (10806) 경기도 파주시 문신읍 통일로1888번길 44-20 전화번호: 031-952-9556 전자우편: hami@ecount.co.kr	제조국	
시험·검사목적	식품 품목제조·가공검사			

시험·검사 항목 및 결과

시험·검사 항목	시험·검사 기준	시험·검사 결과	판정	단서조항	비고
실리마린(%)	포시량(80% ~ 120%)	96% (125 mg/900mg)	적합	최종제품	130 mg/900mg
백산(mg/kg)	5.0 이하	불검출	적합	해당 용액을 사용한 경우	

종합판정: 적합
 시험검사일자: 김하나, 황민지
 시험검사책임자: 가이현, 이병구, 이연명
 비고:

* 위 판정은 위법된 시험·검사 항목만을 대상으로 한 것입니다.
 * 지령이 부속된 경우 시험·검사 항목 및 결과만 별지로 작성 가능합니다.
 * 검사결과를 참고하거나 용기 조장 등에 표시된 때에는 시험·검사성적서 전체 내용을 모두 표시하여야 합니다.
 * "식품·의약품분야 시험·검사 등에 관한 법률" 제11조제2항 및 같은 법 시행규칙 제12조제4항제1호에 따라 위와 같이 시험·검사성적서를 발급합니다.
 2021년 12월 10일

(사)한국건강기능식품협회부설 한국기능식품연구원

13488 경기도 성남시 분당구 대왕전로 700 A동 102호(상명동, 코리바이오리) T:031-628-2400 F:031-628-0400-1

* 본 증명서는 인터넷으로 발급되었으며, 발급번호를 통하여 위변조 여부를 확인할 수 있습니다.
 또한, 본서장의 단크도도도 권위(특정인스키니온 등서(특정인스키니온)를 받을 수 있습니다. http://ims.mfds.go.kr Page 1 of 1

L/Z

시험 성적서

계	작성	검토	승인
재	김영숙	강지희	김성래
제품명	해파스타	시험의뢰일	2021. 11. 29
LOT 번호	211129-01	의뢰목적	제조·수입종목허가(신고)용 검사

시험 항목	시험 기준	시험 결과	판정	시험일자
상상	고유의 향미를 지니고 이미, 이취가 없는 연한 노란색 또는 연한 황갈색 장황형 제과장제	고유의 향미를 지니고 이미, 이취가 없는 연한 노란색 또는 연한 황갈색 장황형 제과장제	적합	2021. 11. 29
실리마린	포시량(130 mg/900 mg)의 80% 이상 120% 이하	96% (125 mg/900 mg)	적합	2021. 12. 10
비타민B1	포시량(1.2 mg/900 mg)의 80% 이상 180% 이하	152% (1.82 mg/900 mg)	적합	2021. 12. 02
비타민B2	포시량(1.4 mg/900 mg)의 80% 이상 180% 이하	106% (1.49 mg/900 mg)	적합	2021. 12. 07
나이아신	포시량(15 mg/900 mg)의 80% 이상 150% 이하	152% (19.8 mg/900 mg)	적합	2021. 12. 03
판토텐산	포시량(5 mg/900 mg)의 80% 이상 180% 이하	140% (7.0 mg/900 mg)	적합	2021. 12. 03
비타민B6	포시량(1.5 mg/900 mg)의 80% 이상 150% 이하	137% (2.06 mg/900 mg)	적합	2021. 12. 03
백산(mg/kg)	5.0 이하	불검출	적합	2021. 12. 10
납(mg/kg)	1.0 이하	0.0	적합	2021. 12. 08
카드뮴(mg/kg)	0.5 이하	0.0	적합	2021. 12. 08

성적서

[별지 제3호 서식]

유통기한 설정사유서

제품명	해파스타
식품의 유형 (식품첨가물 품목명)	일크리슬추출물, 비타민B1, 비타민B2, 나이아신, 판토텐산, 비타민B6
보존 및 유통 방법	실온(○) / 상온() / 냉장() / 냉동() / 기타()
유통기한	제조일로부터 24개월
시험수행기관종류	자사() / 의뢰() / 생략(○)
시험수행기관명	-

유통기한 설정근거

- 원료의 특성
 - 제품의 각 원료는 건강기능식품, 식품, 식품첨가물의 원료로 적합한 것으로서 원료로 사용하기 전에 엄선된 품질관리를 거쳐 규격에 적합한 원료를 사용함.
- 3. 제조공정 및 포장형태의 검토
 - 제조공정: 원료인양 → 혼합 → 타당 → 코팅 → 포장 → 제품
 - 포장형태 및 형태
 - 본 제품의 포장형태는 병포장 또는 PTP포장으로 포장 완료 상태에서의 외부로부터 공기유입이나 수분흡수가 방지되고 자외선이 차단되어 미생물 등의 오염이 없이 완제품 저장 시에도 안정한 상태를 유지할 수 있음.
 - 제조공정에 따른 품질의 검토
 - 본 제품의 제조공정 중 건조, 미생물 등의 오염이 없도록 철저하게 관리되고 있어 제품의 부패, 변질에 영향을 주는 미생물이 최종제품에 존재하지 않는 상태임
 - 또한, 제품에 함유된 영양소 성분들의 각 제조공정에 따른 물리적 또는 화학적 변화가 최소화되어 당해 규격에 적합하도록 중간 품질관리를 실시하고 있어 최종 제품의 품질보전에 문제가 없음.
- 4. 유통조건 및 타제품과의 비교
 - * 별첨 - 기존 유통제품 유통기한 비교서
- 5. 종합판단

상기항에서 기술한 원료 및 성분의 구성, 제조공정, 유통조건 및 타제품과의 비교 등을 종합하여 검토한 결과 본제품의 유통기한을 설정하여도 무방할 것으로 사료되며, 그 기간내에 품질을 보증하는데 문제가 없을 것이라고 판단됩니다.

기존 유통제품 유통기한 비교서

제품명	해파스타	주식회사 한미양행 간에는 일크리슬
유통기한	제조일로부터 24개월까지	제조일로부터 24개월까지
식품유형 또는 기능성원료	일크리슬추출물, 비타민B1, 비타민B2, 나이아신, 판토텐산, 비타민B6	일크리슬추출물, 이연, 나이아신, 판토텐산, 비타민B6, 셀렌, 비타민B1, 비타민B2
상상	고유의 향미를 지니고 이미, 이취가 없는 연한 노란색 또는 연한 황갈색 장황형 제과장제	이미, 이취가 없고, 고유의 향미가 있는 연한 노란색의 타원형 제과장제
포장재질	병포장: 폴리에틸렌(HDPE), 폴리프로필렌(PP) PTP포장: PVC(폴리염화비닐), 알루미늄호일(Al foil)	병포장: 폴리에틸렌(HDPE), 폴리프로필렌(PP) PTP포장: PVC(폴리염화비닐), 알루미늄호일(Al foil)
유통 및 보존조건	실온 유통	실온 유통
보존료 사용여부	-	-
유량, 유처리여부	-	-
살균 및 멸균방법	-	-
유통기한설정실행여부	-	-
기타	-	-
(기본제품의 생산일자)	-	-

상기와 같이 유통기한 설정사유서를 제출합니다.

첨부: 별지 제2호 서식의 유통기한 설정실험 결과보고서

2021년 12월 10일

제출인: 정명수 (인)

유통기한 설정사유서

(2) TCI213복합조성물(면역기능 개선)을 활용한 제품 2종

(가) 제품명 : 한미생활건강홍타민플러스

표. 한미생활건강홍타민플러스 제품개요

항목	내용
제품명	한미생활건강홍타민플러스
품목제조보고번호	200400150831580
제품의 유형	건강기능식품 (홍삼, 비타민A, 비타민D, 비타민B1, 비타민B2, 나이아신, 판토텐산, 비타민B6, 엽산, 비타민C, 아연, 셀레늄)
유통기한	제조일로부터 24개월까지
섭취방법	1일 1회, 1회 2정을 충분한 물과 함께 섭취
보존 및 유통기준	고온다습한 곳이나 직사광선을 피하여 서늘한 곳에 보관
포장방법 및 포장단위	병포장/ 1000mg × 60정(정제)
성상	고유의 향미를 지니고 이미, 이취가 없는 밝은 회황색 타원형 정제
기능성 내용	[홍삼] 면역력증진, 피로개선, 혈소판 응집억제를 통한 혈액흐름, 기억력개선, 항산화에 도움을 줄 수 있음 [비타민A] 어두운 곳에서 시각적응을 위해 필요, 피부와 점막을 형성하고 기능을 유지하는데 필요, 상피세포의 성장과 발달에 필요 [비타민D] 칼슘과 인이 흡수되고 이용되는데 필요, 뼈의 성장과 유지에 필요, 골다공증발생 위험 감소에 도움을 줌 [비타민B1] 탄수화물과 에너지 대사에 필요 [비타민B2] 체내 에너지 생성에 필요 [나이아신] 체내 에너지 생성이 필요 [판토텐산] 지방, 탄수화물, 단백질 대사와 에너지 생성에 필요 [비타민B6] 단백질 및 아미노산 이용에 필요, 혈액의 호모시스테인 수준을 정상으로 유지하는데 필요 [엽산] 세포와 혈액생성에 필요, 태아 신경관의 정상 발달에 필요, 혈액의 호모시스테인 수준을 정상으로 유지하는데 필요 [비타민C] 결합조직 형성과 기능유지에 필요, 철의 흡수에 필요, 항산화 작용을 하여 유해산소로부터세포를 보호하는데 필요 [아연] 정상적인 면역기능에 필요, 정상적인 세포분열에 필요 [셀레늄] 유해산소로부터 세포를 보호하는데 필요
기준규격	[진세노사이드 Rg1, Rb1 및 Rg3의 합] 3 mg/ 2,000 mg [비타민A] 700 ug RE/ 2,000 mg [비타민D] 10 ug/ 2,000 mg [비타민B1] 1.2 mg/ 2,000 mg [비타민B2] 1.4 mg/ 2,000 mg [나이아신] 15 mg NE/ 2,000 mg [판토텐산] 5 mg/ 2,000 mg [비타민B6] 1.5 mg/ 2,000 mg [엽산] 1,200 ug/ 2,000 mg [비타민C] 100 mg/ 2,000 mg [아연] 8.5 mg/ 2,000 mg [셀레늄] 55 ug/ 2,000 mg

제 200400150831580 호

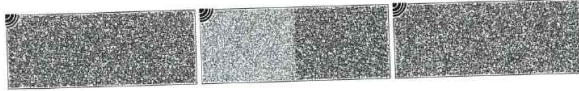
건강기능식품 품목제조신고증

- 영업허가(번호) : 20040015083
- 업 소 명 : 주식회사한미양행
- 소 재 지 : 경기도 파주시 문산읍 통일로1888번길 44-20
- 영 업 의 종 류 : 건강기능식품전문제조업
- 제 품 명 : 한미생활건강 홍타민 플러스 (품목류:홍삼, 비타민 A, 비타민 D, 비타민 E, 비타민 H, 비타민 B2, 나이아신, 판토텐산, 비타민 B6, 엽산, 비타민 C, 아연, 셀레늄(또는 셀렌))

제조방법·원료나 성분의 명칭과 함량·제품의 형태·기준과 규격 : (뒤쪽 작성)
 「건강기능식품에 관한 법률」 제7조와 같은 법 시행규칙 제8조에 따라 건강기능식품 품목제조신고증 수리합니다.

2021년 10월 06일

서울지방식품의약품안전청장



품목보고서



이미지

시험성적서

결 과
 강행욱 강지희 김성래

제 품 명	한미생활건강 홍타민 플러스	시험의뢰일	2021. 11. 29
제 조 번 호	2092111	제 조 일 자 / 유 동 기 한	2021. 11. 16 / 2023. 11. 07
제 품 유 형	홍삼, 비타민A, 비타민D, 비타민B1, 비타민B2, 나이아신, 판토텐산, 비타민B6, 엽산, 비타민C, 아연, 셀레늄(또는 셀렌)	시 험 번 호	FTP-2092111

시 험 항 목	시 험 기 준	시 험 결 과	판 정	시 험 일 자
성 상	고유의 향미를 지니고 이비, 이취가 없는 밝은 회황색 타원형 정제	고유의 향미를 지니고 이비, 이취가 없는 밝은 회황색 타원형 정제	적합	2021. 11. 29
진세노사이드 Rg1, Rb1 및 Rg3의 합	표시량(3 mg/2,000 mg)의 80% 이상	120% (3.6 mg/2,000 mg)	적합	2021. 12. 22
비타민A	표시량(700 µgRE/2,000 mg)의 80% 이상 150% 이하	139% (970.8 µgRE/2,000 mg)	적합	2021. 12. 07
비타민D	표시량(10 µg/2,000 mg)의 80% 이상 180% 이하	107% (10.7 µg/2,000 mg)	적합	2021. 12. 09
비타민B1	표시량(1.2 mg/2,000 mg)의 80% 이상 180% 이하	148% (1.78 mg/2,000 mg)	적합	2021. 12. 02
비타민B2	표시량(1.4 mg/2,000 mg)의 80% 이상 180% 이하	124% (1.74 mg/2,000 mg)	적합	2021. 12. 07
나이아신	표시량(15 mgNE/2,000 mg)의 80% 이상 150% 이하	133% (19.9 mgNE/2,000 mg)	적합	2021. 12. 03
판토텐산	표시량(5 mg/2,000 mg)의 80% 이상 180% 이하	118% (5.9 mg/2,000 mg)	적합	2021. 12. 03
비타민B6	표시량(1.5 mg/2,000 mg)의 80% 이상 150% 이하	127% (1.90 mg/2,000 mg)	적합	2021. 12. 03

시 험 항 목	시 험 기 준	시 험 결 과	판 정	시 험 일 자
엽산	표시량(1,200 µg/2,000 mg)의 80% 이상 150% 이하	137% (1,641.2 µg/2,000 mg)	적합	2021. 12. 14
비타민E	표시량(100 mg/2,000 mg)의 80% 이상 150% 이하	96% (95.5 mg/2,000 mg)	적합	2021. 12. 02
아연	표시량(8.5 mg/2,000 mg)의 80% 이상 150% 이하	133% (11.24 mg/2,000 mg)	적합	2021. 12. 14
셀레늄	표시량(55 µg/2,000 mg)의 80% 이상 150% 이하	112% (61.7 µg/2,000 mg)	적합	2021. 12. 14
대장균군	음성이어야 한다.	음성	적합	2021. 11. 29
붕 해 도	37±2℃, 30분 이내 붕해	17분 32초	적합	2021. 11. 29
평균중량(mg)	1,000mg ± 2%	1,000.3mg	적합	2021. 11. 29
이 물	불침출	불침출	적합	2021. 11. 29

종합판정	적합	판정자	김성래	판정일자	2021. 12. 22
시 험 자 : 강지희, 김행욱, 이진희, 이정운, 권은진, 최지영					
비 고					

※ 검사결과를 참고하거나 용기·포장 등에 표시된 때에는 시험성적서 인쇄 내용을 모두 표시하여야 합니다.

(주) 한 미 양 행

성적서

[별지 제3호 서식]

유통기한 설정사유서	
제 품 명	한미생활건강 톨타민 플러스
식품의 유형 (식품첨가물 품목명)	홍삼, 비타민A, 비타민D, 비타민B1, 비타민B2, 나이아신, 판토텐산, 비타민B6, 엽산, 비타민C, 아연, 셀레늄
보존 및 유통 방법	실온(○) / 상온() / 냉장() / 냉동()/기타()
유통 기 한	제조일로부터 24개월
시험수행기관종류	자사() / 의뢰() / 생략(○)
시험수행기관명	-
유통기한 설정근거	
<p>○ 원료의 특성</p> <ul style="list-style-type: none"> 제품의 각 원료는 건강기능식품, 식품, 식품첨가물의 원료로 적합한 것으로서 원료로 사용하기 전에 엄격한 품질관리를 거쳐 규격에 적합한 원료만을 사용함. <p>3. 제조공정 및 포장형태의 검토</p> <ul style="list-style-type: none"> ○ 제조공정도, 유통장형 → 혼합 → 타정 → 포장 → 제품 ○ 포장재질 및 형태 ○ 제품의 포장형태는 병포장 또는 9TP포장으로 포장 원료 상태에서의 원부로부터 공기유입이나 수분흡수가 방지되고 차단성이 차단되어 미생물 등의 오염이 없이 완제품 저장 시에도 안정한 상태를 유지할 수 있음. ○ 제조공정에 따른 보존성의 검토 ○ 원료, 제품의 제조공정, 각 공정에다 미생물 등의 오염이 없도록 철저하게 관리되고 있어 제품의 부패, 변질에 영향을 주는 미생물이 최종제품에 존재하지 않는 상태임. ○ 완제품에 함유된 영양소 성분들의 각 제조공정에 따른 물리적 또는 화학적 변화가 최소화되어 당해 규격에 적합하도록 중간 품질관리를 실시하고 있어 최종 제품의 품질보존에도 문제가 없음. <p>4. 유통조건 및 타제품과의 비교</p> <ul style="list-style-type: none"> * 별첨 - 기존 유통제품 유통기한 비교서 <p>5. 종합판단</p> <p>상기항에서 기술한 원료 및 성분의 구성, 제조공정, 유통조건 및 타제품과의 비교 등을 종합하여 검토한 결과, 본제품의 유통기한을 2년(24개월)으로 설정하여도 무방할 것으로 사료되며, 그 기간내에 품질을 보증하는데 문제가 없을 것이라고 판단됩니다.</p>	

기존 유통제품 유통기한 비교서		
제 품 명	한미생활건강 톨타민 플러스	네이처퓨어코리아(주) 면역비타첩
유통 기 한	제조일로부터 24개월	제조일로부터 24개월
식품유형 또는 기능성원료	홍삼, 비타민A, 비타민D, 비타민B1, 비타민B2, 나이아신, 판토텐산, 비타민B6, 엽산, 비타민C, 아연, 셀레늄	홍삼, 비타민A, 비타민D, 비타민B1, 비타민B2, 나이아신, 판토텐산, 비타민B6, 엽산, 비타민C, 아연, 셀레늄
성 상	고유의 향미를 지니고 이미, 이취가 없는 하얀색 정방형 제피정제.	백색의 장방형 코팅정제로 이미, 이취가 없다.
포 장 재 질	병포장 폴리에틸렌(PE), 폴리 에틸렌 테레프탈레이트(PET), 폴리스티렌(PS), 폴리프로필렌(PP)	병포장 폴리에틸렌(PE), 폴리 에틸렌 테레프탈레이트(PET), 폴리스티렌(PS), 폴리프로필렌(PP)
유통 및 보존온도	실온 유통	실온 유통
보존료 사용여부	-	-
유당 유처리여부	-	-
살균 및 멸균방법	-	-
유통기한설정실행여부	-	-
기타 (기본제품의 생산일자)	-	-
<p>상기와 같이 유통기한 설정사유서를 제출합니다.</p> <p>첨부 : 별지 제2호 서식의 유통기한 설정실험 결과보고서</p> <p style="text-align: right;">2021 년 09 월 23 일</p> <p style="text-align: right;">제출인 : 정 명 수 (인)</p>		

유통기한 설정사유서

(나) 제품명 : 이문스타

표. 이문스타 제품개요

항목	내용
제품명	이문스타
품목제조보고번호	200400150831598
제품의 유형	건강기능식품(홍삼)
유통기한	제조일로부터 24개월까지
섭취방법	1일 1회, 1회 1포를 직접 섭취하십시오.
보존 및 유통기준	고온다습한 곳이나 직사광선을 피하여 서늘한 곳에 보관
포장방법 및 포장단위	스틱 포장/ 2g × 30포 × 2EA (스틱)
성상	고유의 향미가 있고 이미, 이취가 없는 흐린 황갈색의 분말 진세노사이드 Rg1, Rb1 및 Rb3의 합 : 표시량(3mg/2g)의 80% 이상
기능성 내용	[홍삼] 면역력증진, 피로개선, 혈소판 응집억제를 통한 혈액흐름, 기억력 개선, 항산화에 도움을 줄 수 있음
기준규격	[진세노사이드 Rg1, Rb1 및 Rg3 의 합] 3 mg/ 2,000 mg

제 200400150831598 호

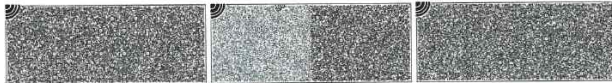
건강기능식품 품목제조신고증

- 영업허가(번호) : 20040015083
- 업 소 명 : 주식회사한미양행
- 소 재 지 : 경기도 파주시 문산읍 통일로1888번길 44-20
- 영 업 의 종 류 : 건강기능식품전문제조업
- 제 품 명 : 이문스타(품목류:홍삼)

제조방법·원료나 성분의 명칭과 함량·제품의 형태·기준과 규격 : (뒤쪽 작성)
 「건강기능식품에 관한 법률」 제7조와 같은 법 시행규칙 제8조에 따라 건강
 기능식품 품목제조신고증 수리합니다.

2021년 11월 10일

서울지방식품의약품안전청장



품목보고서



이미지

시험성적서

결	작성	검토	승인
재	김형욱	강진희	이경은

제품명	이문스타	시험의뢰일	2021. 12. 30
제조번호	2122111	제조일자 /유통기한	2021. 12. 27 2023. 12. 26
제품유형	홍삼	시험번호	FTP-2122111

시험항목	시험기준	시험결과	판정	시험일자
성상	고유의 향미가 있고 이비, 이취가 없는 조린 콩 갈색의 분말	고유의 향미가 있고 이비, 이취가 없는 조 린 콩갈색의 분말	적합	2021. 12. 30
진세노사이드 Rg1, Rb1 및 Rg3의 함	표시량(3 mg/2 g)의 80% 이상	107% (3.2 mg/2 g)	적합	2022. 01. 05
대장균군	음성이어야 한다.	음성	적합	2021. 12. 30
평균중량(g)	2g - 2% 이상	2.01g	적합	2021. 12. 30
이물	불검출	불검출	적합	2021. 12. 30

종합판정	적합	판정자	김성태	판정일자	2022. 01. 05
------	----	-----	-----	------	--------------

시험자 : 김형욱, 이선희, 이경은

비고

※ 검사결과를 알고자하시니 송기·포장 등에 표시할 때에는 시험성적서 전체 내용을 모두 표시하여야 합니다.

(주) 한미양행

성적서

[별지 제3호 서식]

유통기한 설정사유서

제 품 명	이윤스타
식품의 유형 (식품첨가물 품목명)	홍삼
보존 및 유통 방법	실온(○) / 상온() / 냉장() / 냉동() / 기타()
유통 기 한	제조일로부터 24개월
실험수행기관종류	자사() / 의뢰() / 생략(○)
실험수행기관명	-
유통기한 설정근거	
<p>○ 원료의 특성</p> <ul style="list-style-type: none"> 제품의 각 원료는 건강기능식품, 식품, 식품첨가물의 원료로 적합한 것으로서 원료로 사용하기 전에 엄선된 품질관리를 거쳐 규격에 적합한 원료만을 사용함. <p>3. 제조공정 및 포장형태의 검토</p> <ul style="list-style-type: none"> ○ 제조공정도, 원료장량 → 사별 → 혼합 → 포장 → 제품 ○ 포장재질 및 형태 <ul style="list-style-type: none"> 본 제품의 포장형태는 스틱포장으로 포장 완료 상태에서의 외부로부터 공기유입이나 수분흡수가 방지되고 자외선이 차단되어 미생물 등의 오염이 없이 완제품 저장 시에도 안정한 상태를 유지할 수 있음. ○ 제조공정에 따른 보존성의 검토 <ul style="list-style-type: none"> 본 제품의 제조공정은 각 공정마다 미생물 등의 오염이 없도록 철저하게 관리되고 있어 제품의 부패, 변질에 영향을 주는 미생물이 최종제품에 존재하지 않는 상태임. 또한, 제품에 함유된 영양소 성분들의 각 제조공정에 따른 물리적 또는 화학적 변화가 최소화되어 당해 규격에 적합하도록 중간 품질관리를 실시하고 있어 최종 제품의 품질보존에도 문제가 없음. <p>4. 유통조건 및 타제품과의 비교</p> <ul style="list-style-type: none"> * 별첨 : 기존 유통제품 유통기한 비교서 <p>5. 종합판단</p> <p>상기항에서 기술한 원료 및 성분의 구성, 제조공정, 유통조건 및 타제품과의 비교 등을 종합하여 검토한 결과 본제품의 유통기한을 24개월로 설정하여도 무방할 것으로 사료되며, 그 기간내에 품질을 보장하는데 문제점이 없을 것이라고 판단됩니다.</p>	

기존 유통제품 유통기한 비교서

제 품 명	이윤스타	(주)아리바이오에이저엔비 홍삼분말
유통 기 한	제조일로부터 24개월	제조일로부터 24개월
식품유형 또는 기능성원료	홍삼	홍삼
설 상	고유의 향미가 있고 이미·이취가 없는 호린 함갈색의 분말	이미, 이취가 없는 연한 갈색의 분말
포 장 재 질	스틱포장 폴리에틸렌(PE) 등	스틱포장 폴리에틸렌(PE) 등
유통 및 보존온도	실온 유통	실온 유통
보존료 사용여부	-	-
유당, 유처리여부	-	-
살균 및 멸균방법	-	-
유통기한설정실행여부	-	-
기타	-	-
(기본제품의 생산일자)	-	-

상기와 같이 유통기한 설정사유서를 제출합니다.

첨부 : 별지 제2호 서식의 유통기한 설정실험 결과보고서

2021 년 11 월 08 일

제출인 : 정 명 수 (인)



유통기한 설정사유서

5) 제품 대량생산 공정 확립 및 생산

5-1)제품 대량생산조건 확립

(1) 쌍별귀뚜라미 가수분해물 대량생산

- 쌍별귀뚜라미 가수분해물 대량생산을 위한 제조방법은 아래와 같이 쌍별귀뚜라미 건조물을 탈지 및 분쇄 공정을 거치고 난 후 가수분해를 실시하였음

공정명	제조방법 설명
건조시료 탈지	롤밀을 이용하여 쌍별귀뚜라미 건조물을 1차 분쇄 후, 45℃, 600 kgf/cm ² 압력, 15분 (1회) 탈지 한다.
탈지 시료 분쇄	탈지 시료를 분쇄기로 분쇄한다.
전처리	탈지분말에 10 배의 증류수를 첨가한 다음 121℃에서 1시간 동안 살균한다.
효소처리	시료 무게 1%의 효소를 투입하여 50℃에서 8시간 가수분해한다. (Flavourzyme or Neutrase)
효소실활 및 냉각	90℃에서 30분간 효소실활 시킨 후, 40℃까지 냉각한다.
여과 및 농축	필터하여 여과액을 60℃에서 20brix까지 농축한다.
여과액 동결건조	쌍별귀뚜라미 가수분해물 농축액을 동결건조 한다.
분말시료	시료로 사용한다.

(2) 쌍별귀뚜라미 가수분해물을 이용한 소재 대량생산

- 쌍별귀뚜라미 가수분해물을 이용한 소재 TCH212, TCI213복합조성물의 제조방법은 아래와 같이 입고검사, 칭량, 혼합의 공정을 거쳐 생산

공정명	제조방법 설명
입고검사	각각의 위 원료를 구입하여 자체 규격검사를 거쳐 적합품에 한하여 원료로 사용한다.
칭량	배합비율에 따라 원료를 정확히 칭량한다.
혼합	모든 원료를 혼합기를 이용하여 혼합을 실시한다(드림믹서기 8 RPM, 25min)
포장 및 인쇄	혼합된 원료를 포장단위로 포장한 후 인쇄를 실시한다.
시험 및 참고입고	완제품을 자가 시험한 후 적합품에 한하여 제품참고에 입고한다.

제조지시 및 기록서(1.칭량)

제조지시 기록서작성	작 성	제조관리 책임자	품질관리 책임자
거래처명	자 사		품명
제조번호	A 0 1 9 7 3 1 1 1	지시일자	2021 년 월 일
제조일자	2021 년 월 일	작업일자	2021 년 월 일
제조단위	19.400 kg	기록자	점검자
제품성상	고유회 색채와 향미를 가진 분말제품으로 이미, 이취, 이물이 없음.		
코드번호	원료명	배합 비율(%)	기준량 (kg/LOT)
			도입량 (kg/Sub Lot)
			총사용량 (g/LOT)
			시험번호
			장량
			수명
401945	생밀귀뚜라미교소처리물	25.000	4.850
401612A	갈색거저리유충교소처리물	25.000	4.850
401229	갈근유충분말	20.000	3.880
400686	황겨나투입유충분말	20.000	3.880
401142	유골유충분말	5.000	0.970
XHY039	시호지상부유충분말	5.000	0.970
	합계	100.000	19.400
칭량 제조 방법 기록서			
공정/항목	점검사항		점검
준비점검	저용량확인/저용량소상해		작업시간
준비점검	칭량작업소 및 기기청소상태		작업자
항 량	제조지시서의 원료명과 총량을 확인하고 칭량한다.		확인자
인 계	상기의 칭량결과 표기사항을 확인하고 조제실로 인계한다.		
이 물	유	류	조제사항
특이사항	생산중 특기사항		

제조지시 및 기록서(2.혼합)

거래처명	자 사	품명	TCH212 복합조성물	분송가공비율	
제조번호	A 0 1 9 7 3 1 1 1	제조일자	2021 년 월 일	작업일자	
제조일자	2021 년 월 일	기록자	점검자	분송 1	
제조단위	19.400 kg	기록자	점검자		
제품성상	고유회 색채와 향미를 가진 분말제품으로 이미, 이취, 이물이 없음.				
혼 합					
원료명	사용량(kg)	확인			
		1회	2회	3회	4회
생밀귀뚜라미교소처리물	4.85000				
갈색거저리유충교소처리물	4.85000				
갈근유충분말	3.88000				
황겨나투입유충분말	3.88000				
유골유충분말	0.97000				
시호지상부유충분말	0.97000				
합 계	19.40000				
기 계 명	트 랑크 서 기				
양 료	조 건	기 록			
혼합시간(min)	25				
속도(RPM)	2.5 (8)				

혼합 제조 방법 기록서

공정/항목	세 부 점검 항목	점검	작업시간	작업자	확인자
준비점검	작업자 복장점검	트 랑크 서 기 작동/청소상태			
	작업표지판 부착	저용량확인/저용량소상해			
	기구/작업장 청소상태	Mesh망 청소 및 파손 점검			
	수분함량표 측정 기기 작동/청소상태				
사 발	위의 원료를 14 메쉬망에 사용하여 사발한다.				
혼 합	트 랑크 서 기에 원료를 투입 후 혼합한다.				
수분함량표	혼합물을 채취하여 수분함량도를 측정한다.				
이 물	유	류	조제사항		
작업 수율					
이른 생산량(kg)	실 생산량(kg)	수율(%)	손실량(kg)	확인자	
19.400					
특이사항	생산중 특기사항				

제조지시 및 기록서(4.수율인고)

거래처명	자 사	품명	TCH212 복합조성물	분송가공비율
제조번호	A 0 1 9 7 3 1 1 1	제조일자	2021 년 월 일	작업일자
제조일자	2021 년 월 일	기록자	점검자	분송 1
제조단위	19.400 kg	기록자	점검자	
제품성상	고유회 색채와 향미를 가진 분말제품으로 이미, 이취, 이물이 없음.			
포 장 방 법 기록서				
공정/항목	세 부 점검 항목		점검	작업시간
준비점검	작업자 복장점검	저용량확인/저용량소상해		
준비점검	작업표지판 부착	분송검출기 작동 점검		
포장방법	원료를 칭량비닐에 (1)kg의 소분하여 밀봉한다.			
분송검출	분송검출기를 통과시킨다.			
최종작업수율			중정동입고 확인	
이른 생산량(kg)	실 생산량(kg)	수율(%)	인계자	인수자
19.400				
제조번호 및 유통기한 (제조일로부터 24개월)			/	
특이사항	(1)kg 소분장 후 분송검출			
	생산중 특기사항			

TCH212복합조성물 제조지시 및 기록서

제조지시 및 기록서(1. 칭량)

제조지시 기록서작성	작 성	제조관리 책임자	품질관리 책임자				
거래처명	자 사	품명	TC1213 복합조성물	공용가공식용			
제조번호	A 0 1 9 7 4 1 1 1	지시일자	2021 년 월 일	작업일자	2021 년 월 일	lot no	1
제조단위	25.600 kg	기록자		검문자			
제품성상	고유외 색채와 향미를 가진 분말제품으로 이미, 이취, 이물이 없음.						
코드번호	원료명	배합 비율(%)	기준량 (kg/LOT)	작업량 (kg/Sub Lot)	송사용량 (q/LOT)	시열번호	칭량 수행
A01945	왕별기푸라이즈소초리움	28.000	7.168	7.168			
A01978	상향버섯추출분말	20.000	5.120	5.120			
A00205	오가피추출분말	20.000	5.120	5.120			
A01979	도라지추출분말	20.000	5.120	5.120			
A01612A	달보거저리움추출소초리움	10.000	2.560	2.560			
A01142	왕굴추출분말	2.000	0.512	0.512			
	합계	100.000	25.600	25.600			
칭량 제조 방법 기록서							
공정/항목	점검사항			점검	작업시간	작업자	확인자
준비점검	저울정확확인/저울청소상태						
준비점검	칭량작업소 및 기기청소상태						
총 량	제조지시서의 원료명과 총량을 확인하고 칭량한다.						
인 계	상기의 칭량결과 표기사항을 확인하고 조제실로 인계한다.						
이 물	유	무	조제사항				
특이사항	상산중 특기사항						

제조지시 및 기록서(2. 혼합)

거래처명	자 사	품명	TC1213 복합조성물	공용가공식용			
제조번호	A 0 1 9 7 4 1 1 1	제조일자	2021 년 월 일	작업일자	2021 년 월 일	lot no	1
제조단위	25.600 kg	기록자		검문자			
제품성상	고유외 색채와 향미를 가진 분말제품으로 이미, 이취, 이물이 없음.						
혼 합							
원료명	사용량(kg)	확인					
		1회	2회	3회	4회		
왕별기푸라이즈소초리움	7.168000						
상향버섯추출분말	5.120000						
오가피추출분말	5.120000						
도라지추출분말	5.120000						
달보거저리움추출소초리움	2.560000						
왕굴추출분말	0.512000						
합 계	25.600000						
기 계 명	드 럼 락 서 기						
항 목	조 건	기 록					
혼합시간(min)	25						
속도(RPM)	2.5 (8)						

혼합 제조 방법 기록서

공정/항목	세 부 검 검 항 목/항 목			작업시간	작업자	확인자
준비점검	작업자 복장점검	트림믹서기 작동/청소상태				
	작업표지판 부착	저울정확확인/저울청소상태				
	기구/작업장 청소상태	Mesh망 청소 및 파손 점검				
	수분함량도 측정 기기 작동/청소상태					
사 별	위의 항목을 14 명서항을 사용하여 사별한다.					
혼 합	드럼믹서기에 원료를 투입 후 혼합한다.					
수분함량도	혼합분을 채취하여 수분함량도를 측정한다.					
이 물	유	무	조제사항			
작 업 수 율						
이론 생산량(kg)	실 생산량(kg)	수율(%)	손실량(kg)	확인자		
25.600						
특이사항	상산중 특기사항					

제조지시 및 기록서(4. 수율입고)

거래처명	자 사	품명	TC1213 복합조성물	공용가공식용			
제조번호	A 0 1 9 7 4 1 1 1	제조일자	2021 년 월 일	작업일자	2021 년 월 일		
제조단위	25.600 kg	기록자		검문자			
제품성상	고유외 색채와 향미를 가진 분말제품으로 이미, 이취, 이물이 없음.						
포 장 방 법 기 록 서							
공정/항목	세 부 검 검 항 목			점검	작업시간	작업자	확인자
준비점검	작업자 복장점검	저울정확확인/저울청소상태					
	작업표지판 부착	공속검출기 작동 점검					
포장방법	원료를 칭량비닐에 ()kg씩 소분하여 밀봉한다.						
공속검출	공속검출기를 통과시킨다.						
최 종 작 업 수 율							
이론 생산량(kg)	실 생산량(kg)	수율(%)	인계자	인수자			
25.600							
제조번호 및 유통기한 (제조일로부터 24개월)			/				
특이사항	()kg 소분장 후 공속검출						
상산중 특기사항							

TC1213복합조성물 제조지시 및 기록서

(3) 쌍별귀뚜라미 가수분해물 소재를 이용한 제품 대량생산

(가) 한미침향원(TCH212복합조성물 함유)

- 상기 쌍별귀뚜라미 가수분해물 소재를 활용한 제품 한미침향원(대환)의 제조방법은 아래와 같이 혼합, 연합, 제한, 건조의 과정을 거쳐 생산

공정명	제조방법 설명
입고검사	각각의 위 원료를 구입하여 자체 규격검사를 거쳐 적합품에 한하여 원료로 사용한다.
칭량	원료를 배합비율에 따라 정확하게 칭량한다.
혼합, 연합	모든 분말원료를 혼합기(드림믹서기, 8RPM, 25min)에서 혼합한 후 액상원료와 함께 연합(스파이럴 믹서기 2단, 10min) 한다.
제한	제한기로 중량에 맞게 제한을 실시한다.
건조	제한한 환을 제습건조실에서 일정시간동안 건조한다(수분활성도 측정).
포장	건조된 환을 포장단위별로 포장한다.
시험 및 참고입고	완제품을 자가 시험한 후 적합품에 한하여 제품참고에 입고한다.

제조지시 및 기록서(2. 혼합)

거래처명	주식회사 흥연원소정	용명	한미침향원	기타가공품					
제조번호	1 5 3 6 1 2 1	제조일자	2021 년 월 일	작업일자	2021 년 월 일				
포장단위	3.76 g × 30 Ea × 1	제조단위	3,210 c/s	추가 투입	1				
제품성상	고유외 특성을 지닌 환체 품으로 이미, 이취, 이물이 없다.								
혼 합									
원료명	사용량(kg)	확인							
식물혼합분말	56.38366	1회	2회	3회	4회	5회	6회	7회	8회
타우린	6.01875								
침향분말	6.01875								
침향원	0.60188								
농분지추출분말	0.12038								
마카원분말	0.12038								
N-아프지닌	0.12038								
산삼재양근분말	0.12038								
비타민B12분말	0.12038								
비타민B2	0.12038								
비타민B6분말	0.12038								
규리세렌(말분용)	0.12038								
효소처리설탕비아	0.01204								
TCH212복합조성물	0.12038								
합 계	70.11844								
기 계 명	드림믹서기	확인							
항 목	조 건 기 록								
혼합시간(min)	25								
속도(RPM)	2.5 (8)								
혼 합 제 조 방 법 기 록 서									
공정/항목	세 부 명 칭	장 목/장 점	작업시간	작업자	확인자				
준비작업	작업자 복장점검	기구/작업장 청소상태							
	작업표지판 부착	드림믹서기 작동/청소상태							
	Mesh망 청소 및 파손 점검	저용량점검/저용량소상해							
사 명	회의 필요를 14 메이팅을 사용하여 사명한다.								
혼 합	원상원료를 제외한 분말원료를 드림믹서기로 혼합한다.								
이 물	주	조치사항	생산중 특기사항						

제조지시 및 기록서(3. 연합)

거래처명	주식회사 흥연원소정	용명	한미침향원	기타가공품					
제조번호	1 5 3 6 1 2 1	제조일자	2021 년 월 일	작업일자	2021 년 월 일				
포장단위	3.76 g × 30 Ea × 1	제조단위	3,210 c/s	추가 투입	1				
제품성상	고유외 특성을 지닌 환체 품으로 이미, 이취, 이물이 없다.								
연 합									
원료명	사용량(kg)	확인							
밀감	8.33587	1회	2회	3회	4회	5회	6회	7회	8회
글리세린	4.21313	10회	11회	12회	13회	14회	15회	16회	17회
저용량추출물	0.01505								
합 계	12.56414								
기 계 명	스파이럴믹서기	확인							
항 목	조 건 기 록								
연합시간(min)	10								
속도(단)	1단 / 2단								
연 합 제 조 방 법 기 록 서									
공정/항목	세 부 명 칭	장 목/장 점	작업시간	작업자	확인자				
준비작업	작업자 복장점검	기구/작업장 청소상태							
	작업표지판 부착	스파이럴믹서기 작동/청소상태							
	Mesh망 청소 및 파손 점검	저용량점검/저용량소상해							
사 명	회의 필요를 40 메이팅을 사용하여 사명한다.								
연 합	1. 글리세린(말분용) 가열(약120~130 °C)하여 기포를 제거한 후 식혀 저용량추출물용								
이 물	주	조치사항	17.52860938 kg 와 함께 투입하여 연합을 시작한다.						
이 물	주	조치사항	생산중 특기사항						

제조지시 및 기록서(4.제한)

거래처명	주식회사 용연영소금	용명	한미칩향원	기타기종명							
제조번호	1 5 3 8 1 2 1	제조일자	2021년 월 일	작업일자	2021년 월 일						
포장단위	3.75g × 30 EA × 1	제조단위	3.210 c/s	추가 투입	1 기록자						
제품명	고유회 색상을 지닌 환제용으로 이미, 이회, 이물이 없다.										
제품성상	제조법	용량	3.75g ± 0.17g 이상	성형상태	이상부						
시간	내 용 항		이물유무	시간	내 용 항		이물유무	시간	내 용 항		이물유무
	1	2			1	2			1	2	

제한제조방법 기록서

용량/항목	세 부 검 점 항 목/항점	작업시간	작업자	확인자
준비점검	작업자 복장점검	제한기 작동/참소상태		
	작업포지판 부착	제물용량확인/제물중소상태		
	수분함성도 측정 기기 작동/참소상태			
제한성형	연합회 원료를 제한기를 이용하여 성형한다.			
건 조	성형된 환을 제습건조실에서 12시간 이상 건조한다.			
수분함성도	12시간 이상 건조한 환을 채취하여 수분함성도를 측정한다.			
작업수율				
이론 생산량(EA)	실 생산량(EA)	수율(%)	작업자	확인자
	96,300			

제조지시 및 기록서(6.필로포장)

거래처명	주식회사 용연영소금	용명	한미칩향원	기타기종명							
제조번호	1 5 3 8 1 2 1	제조일자	2021년 월 일	작업일자	2021년 월 일						
포장단위	3.75g × 30 EA × 1	제조단위	3.000 c/s	추가 투입	1.07 기록자						
제품명	고유회 색상을 지닌 환제용으로 이미, 이회, 이물이 없다.										
제품성상	제조법	용량	3.75g ± 0.17g 이상	성형상태	이상부						
시간	내 용 항		이물유무	시간	내 용 항		이물유무	시간	내 용 항		이물유무
	1	2			1	2			1	2	

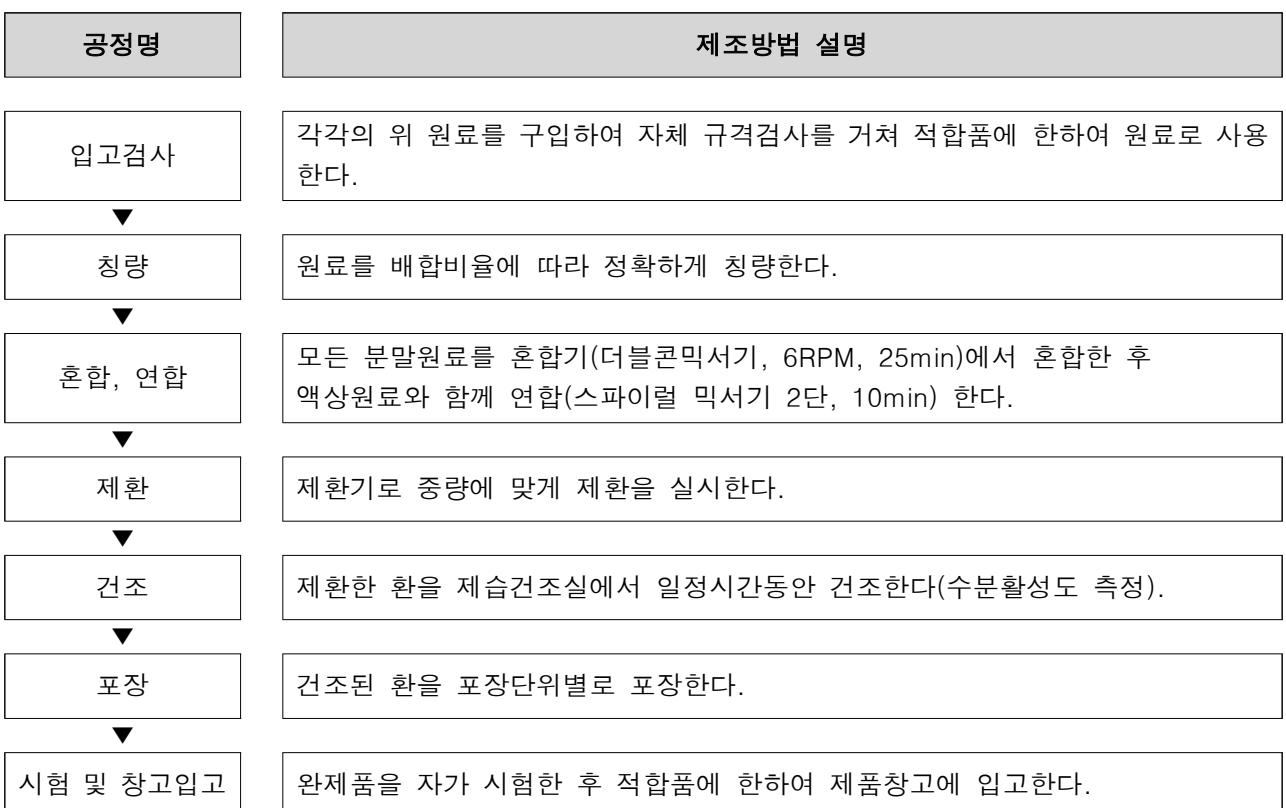
필로포장제조방법 기록서

용량/항목	세 부 검 점 항 목	작업시간	작업자	확인자
준비점검	작업자 복장점검	필로포장기 참소상태		
	작업포지판 부착	작업장 참소상태		
	제물원료(이회/원료)수확	필로포장기 작동 점검		
필로포장	다회회 조건으로 필로포장 작업에 진입한다. 건조 온도: (전)160~200도, (후)160~200도 (상)160~200도, (하)160~200도 결합상태 및 투탕 확인하여 포장.			
작업수율				
이론 생산량(EA)	실 생산량(EA)	수율(%)	작업자	확인자
	96,300			

한미칩향원 제조지시 및 기록서

(나) 한미칩향원프리미엄(TCH212복합조성물 함유)

○ 상기 쌍별귀뚜라미 가수분해물 소재를 활용한 제품 한미칩향원 프리미엄(대환)의 제조방법은 아래와 같이 혼합, 연합, 제한, 건조의 과정을 거쳐 생산



제조지시 및 기록서(2. 혼합)

거래처명	주식회사 용연농소평		용명	한미침향원 프리미엄		기타가공품			
제조번호	1 6 5 0 2 1 1	제조일자	2022 년 월 일	작업일자	2022 년 월 일	제 3			
포장단위	3.75 g × 30 EA × 1	제조단위	5,350 c/s	추가투입	1 기록자	점검자			
제품성상	고유의 색상을 지닌 환제용으로 이미, 이취, 이물이 없다.					중합실온도	중합실온도		
혼 합									
원료명	사용량(kg)	확인							
		1회	2회	3회	4회	5회	6회	7회	8회
식용혼합분말	58.68275								
결합분말	44.13750								
타우린	10.09125								
셀룰로오스	1.00313								
코코넛유(정제) (식품용)	1.00313								
TIC212특탈조성물	1.00313								
복분자추출분말	0.20063								
다가알분말	0.20063								
L-아르기닌	0.20063								
산성백랍분말	0.20063								
비타민B2	0.20063								
비타민B6	0.20063								
포스퍼러스스테인	0.20063								
합 계	117.26531								
기 계 명	더 블 락 믹 서 기								
람 록	조 건	기 록							
혼합시간(min)	25								
속도(RPM)	2.5 (6)								

제조지시 및 기록서(3. 연합)

거래처명	주식회사 용연농소평		용명	한미침향원 프리미엄		기타가공품													
제조번호	1 6 5 0 2 1 1	제조일자	2022 년 월 일	작업일자	2022 년 월 일	제 21													
포장단위	3.75 g × 30 EA × 1	제조단위	5,350 c/s	추가투입	1 기록자	점검자													
제품성상	고유의 색상을 지닌 환제용으로 이미, 이취, 이물이 없다.					중합실온도	중합실온도												
연 합																			
원료명	사용량(kg)	확인																	
		1회	2회	3회	4회	5회	6회	7회	8회	9회	10회	11회	12회	13회	14회	15회	16회	17회	18회
분말	2.67500																		
글리세린	1.28973																		
자몽농자추출물	0.04777																		
합 계	4.01250																		
기 계 명	스 피 이 얼 믹 서 기																		
람 록	조 건	기 록																	
혼합시간(min)	10																		
속도(단)	1단 / 2단																		
연 합 제 조 방 법 기 록 서																			
공정/항목	세 부 절 결 방 록		작업시간		작업자	확인자													
준비절점	작업자 복장점검	기구/작업장 청소상태																	
	작업표지판 부착	스피이 얼 믹 서 기 작동/청소상태																	
사 일	Mesh망 청소 및 파손 점검		저용량업확인/저용량소송해																
	스피이 얼 믹 서 기 40 메쉬망을 사용하여 사일한다.																		
연 합	1. 글리세린+분말을 가열(약120-130 °C)하여 기포를 제거한 후, 식혀 자몽농자추출물을																		
	스피이 얼 믹 서 기에 분말합료 23.4530025 kg 와 함께 투입																		
2. 위의 혼합물 분말합료와 함께 액상합료로 스피이 얼 믹 서 기에 투입 하여 연합을 시킨다.																			
이 용	유 료	조 제사양																	
특이사항	생산중 특기사항																		

제조지시 및 기록서(4. 제한)

거래처명	주식회사 용연농소평		용명	한미침향원 프리미엄		기타가공품		
제조번호	1 6 5 0 2 1 1	제조일자	2022 년 월 일	작업일자	2022 년 월 일			
포장단위	3.75 g × 30 EA × 1	제조단위	5,350 c/s	추가투입	1 기록자	점검자		
제품성상	고유의 색상을 지닌 환제용으로 이미, 이취, 이물이 없다.					중합실온도	중합실온도	
제 한								
제한성형	기 계 명		하 용 로 차		성형상태			
	제한기		3.75 g - 0.17 g 이상		이상률			
시간	내 용 항		시 간	내 용 항		시 간	내 용 항	
	1	2		1	2		1	2
:	:	:	:	:	:	:	:	:
:	:	:	:	:	:	:	:	:
:	:	:	:	:	:	:	:	:
:	:	:	:	:	:	:	:	:
:	:	:	:	:	:	:	:	:
:	:	:	:	:	:	:	:	:
:	:	:	:	:	:	:	:	:
:	:	:	:	:	:	:	:	:
제 한 제 조 방 법 기 록 서								
공정/항목	세 부 절 결 방 록		작업시간		작업자	확인자		
준비절점	작업자 복장점검	제한기 작동/청소상태						
	작업표지판 부착	저용량업확인/저용량소송해						
제한성형	수분함량도 측정 기기 작동/청소상태							
	제한성형 연합원 원료를 제한기를 이용하여 성형한다.							
간조 성형원 환을 재순환실에서 건조한다.								
수분함량도 시료를 채취하여 수분함량도로 측정한다.								
작 업 수 록								
이론 생산량(EA)	실 생산량(EA)	수율(%)	작업자	확인자				
160,500								
특이사항	생산중 특기사항							

제조지시 및 기록서(6. 필로포장)

거래처명	주식회사 용연농소평		용명	한미침향원 프리미엄		기타가공품				
제조번호	1 6 5 0 2 1 1	제조일자	2022 년 월 일	작업일자	2022 년 월 일					
포장단위	3.75 g × 30 EA × 1	제조단위	5,000 c/s	추가투입	1.07 기록자	점검자				
제품성상	고유의 색상을 지닌 환제용으로 이미, 이취, 이물이 없다.					중합실온도	중합실온도			
필 로 포 장										
코드번호	자재명	단위	기준량 (LOT)	사용량 (LOT)	시일번호	용량	사용가 반납	추가사용	분류	수령
M00497	필로포장-루지	통	9							
필 로 포 장 제 조 방 법 기 록 서										
공정/항목	세 부 절 결 방 록		작업시간		작업자	확인자				
준비절점	작업자 복장점검	필로포장기 청소상태								
	작업표지판 부착	작업장-청소상태								
중속연속	중속연속기를 통과한 후 카트에 담는다.									
	피부의 건조로 필로포장기 작동이 지연한다.									
필로포장	성형원도 (간)170 g, (후)170 g		_____g _____g							
	중합원도 (상)170 g, (하)170 g		_____g _____g							
중합성 후 도장 확인하여 포장										
작 업 수 록										
이론 생산량(EA)	이론 생산량(EA)	실 생산량(EA)	수율(%)	작업자	확인자					
	160,500									
특이사항	생산중 특기사항									

한미침향원 프리미엄 제조지시 및 기록서

(다) 헤파스타(TCH212복합조성물 함유)

○ 상기 쌍별귀뚜라미 가수분해물 소재를 활용한 제품 헤파스타(정제) 제조방법은 아래와 같이 칭량, 혼합, 타정, 코팅의 공정을 거쳐 생산

공정명	제조방법 설명
입고검사	각각의 위 원료를 구입하여 자체 규격검사를 거쳐 적합품에 한하여 원료로 사용한다.
칭량	원료를 배합비율에 따라 정확하게 칭량한다.
혼합	모든 원료를 혼합기를 이용하여 혼합을 실시한다(드림믹서기 15 RPM, 20min)
타정	혼합된 원료를 타정기를 이용하여 타정한다.
코팅	타정된 정제를 코팅기를 이용하여 코팅한다.
포장	자동포장기를 이용하여 포장단위로 포장한다.
완제품검사	완제품을 자가 시험한 후 적합품에 한하여 제품창고에 입고한다.

제조지시 및 기록서(2. 혼합)

거래처명	0			용명	헤파스타			건강기능식품
제조번호	2148111	제조일자	2021년 월 일	작업일자	2021년 월 일	LOT	3	
표정단위	900 mg × 30 T × 1	제조단위	1,030 c/s	추가 투입	1	기록자	점검자	
제품성상	고추잎 향미를 지니고 이미, 이취가 없는 연한 노란색 분말							
원료명	사용량(kg)	혼합 / 과립						
		1회	2회	3회	4회	5회	비고	
말코세용추출물분말	8.03451						1. 1회 측정시 정제기 받침수에 맞게 30장 2회 반복 측정 80장여 총 무게를 80로 나누어 1장의 무게를 산출. 합계기준 이면서 무게를 정지 하고 포장 실시 2. 중량검사 시간중 수시교류로 30분-1시간 이내로 실시한다. 3. 5회 중량검사 시 평균중량기 시편 Fe : 0.3mm± Sub : 0.5mm±를 염색 확인한다.	
니코틴산아미드	0.61182							
만복현 산질소	0.20997							
비타민B6염산염	0.06813							
비타민B12염산염	0.06202							
비타민B2	0.06063							
결정셀룰로오스	8.19533							
정제포도당	9.56200							
TCH212복합조성물	2.78100							
크레아틴산아미드	0.83430							
가제시엔탈링용소산염	0.41715							
이산화규소	0.41715							
카복시메틸셀룰로스나트륨	0.41715							
합 계	27.67095							
기 계 명	드림믹서기							
항 목	조 건	기 목						
혼합시간(min)	20							
속도(RPM)	3 (15)							

제조지시 및 기록서(3. 타정/코팅)

거래처명	헤파스타			건강기능식품	
제조번호	2148111	제조일자	2021년 월 일	작업일자	2021년 월 일
표정단위	900 mg × 30 T × 1	제조단위	1,030 c/s	추가 투입	1
제품성상	고추잎 향미를 지니고 이미, 이취가 없는 연한 노란색 분말				
타 정	기 계 명	회 용 오 차	경 도	투 계	이 들
	30발 타정기	898 ± 18 mg	18 ~ 20 kg/or	5.2 ~ 5.5 mm	원 들
중량 검사 기록서					
시 간	중 량(kg)	경 도(kg/or)	투 계(mm)	중량검사기 시편 확인 Fe Sus	비고
타정 제조 방법 기록서					
용량/항목	세 부 질 량 항 목/질 량		작업시간	작업자	확인자
분비물질	작업자 복장입찰	중량검사기 작동/상태			
	작업표지판 부착	타정기 작동/정소상태			
	기구/작업장 청소상태	원분기 작동/정소상태			
	중량검정척인/정소정소상태				
타 정	중량, 경도, 투계, 이물 등을 체크기록서에 기록 정제를 타정 후 양분기와 중량검사기를 통과 시킨다.				
프린	필요주성, BHA, BHT, 프로피르메틸황산화물 0.13905 kg 중량하여 예열 통 건조, 온도, 시간 순서하여 투입 예열 온도 : 65 °C 건조 온도 : 70 °C 예열 시간 : 20분 건조 시간 : 60분				
중량검사	중량 검사기 시편 Fe : 0.3mm± Sub : 0.5mm±를 염색 확인한다.				
작업 수량					
인수량(kg)	이론 생산량(T)	실 생산량(T)	수율(%)	작업자	확인자
	30,900				
특이사항	생산중 특이사항				

헤파스타 제조지시 및 기록서

(라) 한미생활건강홍타민플러스(TCI213복합조성물 함유)

○ 상기 쌍별귀뚜라미 가수분해물 소재를 활용한 제품 한미생활건강홍타민플러스(정제) 제조방법은 아래와 같이 칭량, 혼합, 타정, 코팅의 공정을 거쳐 생산

공정명	제조방법 설명
입고검사	각각의 위 원료를 구입하여 자체 규격검사를 거쳐 적합품에 한하여 원료로 사용한다.
칭량	원료를 배합비율에 따라 정확하게 칭량한다.
혼합	모든 원료를 혼합기를 이용하여 혼합을 실시한다(드림믹서기 8 RPM, 25min)
타정	혼합된 원료를 타정기를 이용하여 타정한다.
코팅	타정된 정제를 코팅기를 이용하여 코팅한다.
포장	자동포장기를 이용하여 포장단위로 포장한다.
완제품검사	완제품을 자가 시험한 후 적합품에 한하여 제품창고에 입고한다.

제조지시 및 기록서(2. 혼합)																		
거의처명	주식회사 용연물소정	용량		한미생활건강 홍타민 플러스		건강기능식품												
제조번호	2092111	지시일자	2021년 월 일	제조일자	2021년 월 일	LOT		8										
포장단위	1000mg × 60T × 1	제조단위	6.180 c/s	추가투입	1 기록자	일명자												
제품상장	고루의 향미를 지니고 이리, 이취가 적은 향은 최상의 타정용 정제 순밀물순도 70 순밀물순도 %																	
혼 합																		
원료명	사용량(kg)	확인																
홍삼농축액분말	7.41800	1회	2회	3회	4회	5회	6회	7회	8회	9회	10회	11회	12회	13회	14회	15회	16회	17회
비타민C	4.07880																	
글루콘산아연	3.15180																	
니코틴산아이드	0.73048																	
분말비타민B6 복합체	0.32037																	
분말비타민B12	0.25214																	
아세트산-비타민B12 복합체	0.21877																	
비타민B6 복합체	0.21358																	
비타민B12 복합체	0.08158																	
비타민B12 복합체	0.07416																	
비타민B12	0.07288																	
엽산	0.05784																	
칼슘글루코산	32.58739																	
정제표도말	22.24800																	
이산화규소	1.40904																	
스퍼아릴산마그네슘	0.74180																	
헥사메타인산마그네슘	0.37080																	

제조지시 및 기록서(3. 타정 1)												
거의처명	주식회사 용연물소정	용량		한미생활건강 홍타민 플러스		건강기능식품						
제조번호	2092111	지시일자	2021년 월 일	제조일자	2021년 월 일	LOT		8				
포장단위	1000mg × 60T × 1	제조단위	6.180 c/s	추가투입	1 기록자	일명자						
제품상장	고루의 향미를 지니고 이리, 이취가 적은 향은 최상의 타정용 정제 순밀물순도 70 순밀물순도 %											
타 정	기 계 명	허 용 오 차	경 도	투 계	이 용							
	30날 타정기	1000 ± 20 mg	15 ~ 21.5kg/or	6.6	7.2 ml/m	합 용						
중 앙 권 사 기 록 서												
시 간	중 량(mg)	경 도(kg/or)	투 계(mm)	결속분율		비 고	검사방법					
				Fe	Sus							
								1. 1회 측정시 정제기 회전수에 관계없이 30일 2회 측정, 30일에 동부계를 80회 사용하여 1일의 부계용 산출 한계기준 미달시 기계동 정지하고 보정 실시				
								2. 중량검사 시간은 수시로하의 30분~1시간 이내로 실시한다.				
								3. 매 중량검사 시 결속분율기 시료 Fe : 0.3mg± Sus : 0.5mg± 표 결속 확인한다				
타 정 / 표 형 제 조 방 법 기 록 서												
중량/일률	세 부 결 결 양 륜/일 결		작업시간	작업자	확인자							
	작업자: 복종결결	결속분율기: 환용/실해										
	전일표지판: 복결	타정기: 환용/할수상해										
	타정기: 환용/할수상해											
타 정	중량, 경도, 투계, 이용 등을 제조기록서에 기록											
	정제를 타정 후 일분기와 결속분율기를 통과 시킨다.											
결속분율	유 추 표지사항											
특이사항			생산중 특이사항									

한미생활건강홍타민플러스 제조지시 및 기록서

(마) 이문스타(TCI213복합조성물 함유)

- 상기 쌍별귀뚜라미 가수분해물 소재를 활용한 제품 이문스타(분말) 제조방법은 아래와 같이 칭량, 사별, 혼합 공정을 거쳐 생산

공정명	제조방법 설명
입고검사	각각의 위 원료를 구입하여 자체 규격검사를 거쳐 적합품에 한하여 원료로 사용한다.
↓	
칭량	원료를 배합비율에 따라 정확하게 칭량한다.
↓	
사별	칭량한 원료를 메쉬를 이용하여 사별한다(14mesh).
↓	
혼합	모든 원료를 혼합기를 이용하여 혼합을 실시한다(드림믹서기 8 RPM, 25min)
↓	
포장	자동포장기를 이용하여 포장단위로 포장한다.
↓	
완제품검사	완제품을 자가 시험한 후 적합품에 한하여 제품창고에 입고한다.

제조지시 및 기록서(2.혼합)															
거래처명					용명	이문스타				건강기능식품					
제조번호	2 1 2 2 1 1 1	제조일자	2021년 월 일	작업일자	2021년 월 일	LOT	1								
포장단위	2 g × 30 P × 1	제조단위	1,030 c/s	추가 투입	1	기록자									
제품성상	고유의 향미가 있고 이미, 이취가 없는 호민 항균색의 분말														
혼 합															
원료명	사용량(kg)	확인													
		1회	2회	3회	4회	5회	6회	7회	8회						
종살누계역분말	6.18000	/	/	/	/	/	/	/	/						
식물성그린분말	26.51220	/	/	/	/	/	/	/	/						
정제보통물	18.54000	/	/	/	/	/	/	/	/						
TCI213복합조성물	6.18000	/	/	/	/	/	/	/	/						
오쿠보트(분)분말	1.85400	/	/	/	/	/	/	/	/						
오쿠보트(분)분말	0.92700	/	/	/	/	/	/	/	/						
스테아린산마그네슘	0.92700	/	/	/	/	/	/	/	/						
자일리톨	0.61800	/	/	/	/	/	/	/	/						
산화아연	0.06180	/	/	/	/	/	/	/	/						
합 계	61.80000														
기 계 명	드림믹서기														
항 목	조 건	기 록													
혼합시간(min)	25														
속도(RPM)	2.5 (8)														

제조지시 및 기록서(3.스틱충전 I - I)															
거래처명					용명	이문스타				건강기능식품					
제조번호	2 1 2 2 1 1 1	제조일자	2021년 월 일	작업일자	2021년 월 일										
포장단위	2 g × 30 P × 1	제조단위	1,030 c/s	추가 투입	1	기록자									
제품성상	고유의 향미가 있고 이미, 이취가 없는 호민 항균색의 분말														
스틱충전															
스틱충전기 12ml															
10g - 0.2g 이상															
이상부															
검사방법	각 개별로 스틱수 5개의 무게를 측정 합산하여 중량을 표기한다.														
시간	내 용 량														
	1일 / 2일	3일 / 4일	5일 / 6일	7일 / 8일	9일 / 10일	11일 / 12일	결핵상태	이물유무							
:	/	/	/	/	/	/									
:	/	/	/	/	/	/									
:	/	/	/	/	/	/									
:	/	/	/	/	/	/									
:	/	/	/	/	/	/									
:	/	/	/	/	/	/									
:	/	/	/	/	/	/									
:	/	/	/	/	/	/									
:	/	/	/	/	/	/									
:	/	/	/	/	/	/									
:	/	/	/	/	/	/									
:	/	/	/	/	/	/									
:	/	/	/	/	/	/									
:	/	/	/	/	/	/									
:	/	/	/	/	/	/									
스틱충전 방법 기록서															
용량/항목	세부검점 항목/일점				작업시간	작업자		확인자							
준비일점	잔여량 측정일점		스틱충전기 작동/정소상해												
	작업표지판 부착		자동영장확인/자동정소상해												
스틱충전	1일-12일 온도 : 227℃, 압도들 전후 : 113℃														
중량, 결합, 이물 등을 체크기록서에 기록															
특이사항	생산중 특기사항														

이문스타 제조지시 및 기록서

5-2) 생산제품의 영양성분 및 기능성분 분석

(1) 쌍별귀뚜라미 가수분해물 및 활용 소재 2종 영양성분(TCH212, TCI213복합조성물)

○ 쌍별귀뚜라미 가수분해물과 활용 소재 2종의 영양성분 분석 결과, 쌍별귀뚜라미 가수분해물 보다 소재 2종에서 탄수화물의 함량이 높았으며, 조단백질의 함량이 낮았음. 이는 TCH212의 경우 쌍별귀뚜라미 가수분해물 외 간 건강에 좋다고 알려진 천연물(갈근추출분말, 헛개나무추출분말, 울금추출분말, 시호추출분말)이 75%가 함유되어 있으며, TCI213은 면역기능 개선에 좋다고 알려진 천연물(상항버섯엑기스분말, 오가치추출분말, 도라지추출분말, 울금추출분말)이 72% 함유되어 있어 쌍별귀뚜라미 가수분해물보다는 탄수화물이 높고 단백질 함량은 낮았음

표. 쌍별귀뚜라미 가수분해물 및 활용 소재 2종 9대 영양성분

시험항목	쌍별귀뚜라미 가수분해물	TCH212 복합조성물	TCI213 복합조성물
열량(kcal/100g)	376.37	390.49	382.06
탄수화물(g/100g)	39.33	71.26	80.03
당류(g/100g)	7.65	2.12	1.83
조단백질(g/100g)	43.67	21.75	11.75
조지방(g/100g)	4.93	2.05	1.66
포화지방(g/100g)	1.11	0.49	0.63
트랜스지방(g/100g)	0.00	0.00	0.02
콜레스테롤(mg/100g)	85.05	32.38	16.46
나트륨(mg/100g)	274.01	8.53	86.85

본 분석서는 식품의약품안전처 「식품·의약품분야 시험·검사 등에 관한 법률」에 따른 것이 아닙니다.
 분석번호 : R202110929-0007 검사번호 : 245104756-000
 검사일자 : 2023.09.24 검사연월일 : 2023.09.08
 제품명 : 쌍별귀뚜라미가수분해물 용역계약번호 : 2023.09.08

시험항목 : 식용 | 가미(영양성분분석)

시험 항목 및 결과

시험 항목	시험 기준	시험 결과	비고
열량(kcal/100g)	기준없음	376.37	
탄수화물(g/100g)	기준없음	39.33	
당류(g/100g)	기준없음	7.65	
조단백질(g/100g)	기준없음	43.67	
조지방(g/100g)	기준없음	4.93	
포화지방(g/100g)	기준없음	1.11	
트랜스지방(g/100g)	기준없음	0.00	
콜레스테롤(mg/100g)	기준없음	85.05	
나트륨(mg/100g)	기준없음	274.01	
수분(%)	기준없음	2.52	
회분(%)	기준없음	9.55	

Page 1 of 2

본 분석서는 식품의약품안전처 「식품·의약품분야 시험·검사 등에 관한 법률」에 따른 것이 아닙니다.
 분석번호 : S4VY-ETAU-QTRV-001 검사번호 : 2130104730-001
 검사일자 : 2023.09.09 검사연월일 : 2023.09.07
 제품명 : TCH212복합조성물 용역계약번호 : 2023.09.07

시험항목 : 식용 | 가미(영양성분분석)

시험 항목 및 결과

시험 항목	시험 기준	시험 결과	비고
열량(kcal/100g)	기준없음	390.49	
탄수화물(g/100g)	기준없음	71.26	
당류(g/100g)	기준없음	2.12	
조단백질(g/100g)	기준없음	21.75	
조지방(g/100g)	기준없음	2.05	
포화지방(g/100g)	기준없음	0.49	
트랜스지방(g/100g)	기준없음	0.00	
콜레스테롤(mg/100g)	기준없음	32.38	
나트륨(mg/100g)	기준없음	8.53	
수분(%)	기준없음	3.47	
회분(%)	기준없음	1.47	

Page 1 of 2

본 분석서는 식품의약품안전처 「식품·의약품분야 시험·검사 등에 관한 법률」에 따른 것이 아닙니다.
 분석번호 : E23E-YLMB-77NE-NBLU 검사번호 : 2105081810-000
 검사일자 : 2023.12.09 검사연월일 : 2023.11.29
 제품명 : TCI213복합조성물 용역계약번호 : 2023.11.29

시험항목 : 식용 | 가미(영양성분분석)

시험 항목 및 결과

시험 항목	시험 기준	시험 결과	비고
열량(kcal/100g)	기준없음	382.06	
탄수화물(g/100g)	기준없음	80.03	
당류(g/100g)	기준없음	1.83	
조단백질(g/100g)	기준없음	11.75	
조지방(g/100g)	기준없음	1.66	
포화지방(g/100g)	기준없음	0.63	
트랜스지방(g/100g)	기준없음	0.02	
콜레스테롤(mg/100g)	기준없음	16.46	
나트륨(mg/100g)	기준없음	86.85	
수분(%)	기준없음	5.45	
회분(%)	기준없음	1.11	

Page 1 of 2

쌍별귀뚜라미가수분해물

TCH212복합조성물

TCI213복합조성물

(2) 쌍별귀뚜라미 가수분해물 소재를 이용한 제품 3종 기능성분

(가) 헤파스타(TCH212복합조성물 함유)

○ TCH212복합조성물을 함유한 헤파스타 기능성분 분석결과, 실리마린이 식약처 고시 일일섭취량 130 mg/900 mg 기준 125 mg/900 mg 함유되어 있었으며, 비타민B1 125mg/ 900 mg, 비타민B2 1.49 mg/900 mg, 나이아신 19.8 mgNE/900 mg, 판토텐산 7.0 mg/900 mg, 비타민b6 2.06 mg/900 mg 으로 건강기능식품으로 적합하게 나타났음

표. 헤파스타 시험성적

시험항목	시험기준	시험결과	판정
실리마린	표시량(130 mg/900 mg)의 80% 이상 120% 이하	96% (125 mg/900 mg)	적합
비타민B1	표시량(1.2 mg/900 mg)의 80% 이상 180% 이하	152% (1.82 mg/900 mg)	적합
비타민B2	표시량(1.4 mg/900 mg)의 80% 이상 180% 이하	106% (1.49 mg/900 mg)	적합
나이아신	표시량(15 mgNE/900 mg)의 80% 이상 150% 이하	132% (19.8 mgNE/900 mg)	적합
판토텐산	표시량(5 mg/900 mg)의 80% 이상 180% 이하	140% (7.0 mg/900 mg)	적합
비타민B6	표시량(1.5 mg/900 mg)의 80% 이상 150% 이하	137% (2.06 mg/900 mg)	적합

From: 건강 To: 031952556 10/12/2021 09:25 #466 P.001/001

문서확인번호 : ONF5-ADD2-UWQI-NLX8

시험 · 검사성적서

제38호

발행번호	R20211219-0004	접수번호	210128289001
검사완료일	2021-12-10	접수완료일	2021-12-01
제품명	헤파스타		
(분류)제조번호	분류제조번호		
유형 · 제품 · 품목명	발크레올(카로투스 락타이노스) 추출물,사이타린 B1,비타민 B2,비타민 B6,판토텐산		
제조(수입)일	2021.11.29	유통(유통유지)기한	
최저차	성명	성명수	업체명
소재지	소재지	소재지	소재지
제조원	업체명	소재지	소재지
시험 · 검사목적	식품 분획제조 · 가공검사		

시험 · 검사 항목 및 결과

시험 · 검사 항목	시험 · 검사 기준	시험 · 검사 결과	판정	단위(조성)	비고
실리마린(%)	표시량의 80% ~ 120%	96% (125 mg/900mg)	적합	최종제품	130 mg/900mg
비타민B1	5.0 이하	불검출	적합	해당 용매를 사용한 경우	

통합판정 : 적합
 시험검사원 : 김하나, 황민지
 시험검사책임자 : 기미현, 이병구, 이현영

비고 :
 ※ 위 판정은 의뢰된 시험 · 검사 항목만을 대상으로 한 것입니다.
 ※ 저량이 부족한 경우 시험 · 검사 항목 및 결과판정은 검사로 작성 가능합니다.
 ※ 검사결과를 공표하거나 용기 등에 표시할 때에는 시험 · 검사성적서 전체 내용을 모두 표시하여야 합니다.
 ※ '식품 · 의약품'이 시험 · 검사 등이 관한 법률 제11조제2항 및 같은 법 시행규칙 제12조제4항제1호에 따라 위와 같이 시험 · 검사성적서를 발급합니다.
 2021년 12월 10일

(사)한국건강기능식품협회부설 한국기능식품연구원

13140 경기도 성남시 분당구 대왕전교로 700 4층 102호(성남동, 코하이비이오리) T.031-628-2400 F.031-628-0400-1

* 본 증명서는 영인본으로 발급되었으며, 발급연호를 통하여 위변조 여부를 확인할 수 있습니다.
 또한, 본 시험결과 및 검사결과에 대한 책임은 본 시험실로부터 귀사로 전할 수 없습니다. http://ims.mfds.go.kr Page 1 of 1

1/2

시험성적서

제 품 명	제 조 일 자 /수 통 기 한	시험의뢰일	시험의뢰자	시험번호	결 과	검 도	승 인
					김영국	강태기	김서라
판데생칼 건강 총타인 플러스	2021.11.16	2021.11.29	2021.11.16	2021.11.07			
202111							
통상, 비타민A, 비타민D, 비타민B1, 비타민B2, 나이아신, 판토텐산, 비타민B6, 엷산, 비타민C, 아연, 셀레늄(또는 셀렌)							

시 험 항 목	시 험 기 준	시 험 결 과	판 정	시 험 일 자
성 상	고유의 향미를 지니고 이비, 아취가 없는 밝은 회황색의 타원형 경계	고유의 향미를 지니고 이비, 아취가 없는 밝은 회황색의 타원형 경계	적합	2021. 11. 29
진세노사이드 Rg1, Rb1 및 Rg3의 합	표시량(3 mg/2,000 mg)의 80% 이상	120% (3.6 mg/2,000 mg)	적합	2021. 12. 22
비타민A	표시량(700 µgRE/2,000 mg)의 80% 이상	139% (970.8 µgRE/2,000 mg)	적합	2021. 12. 07
비타민D	표시량(10 µg/2,000 mg)의 80% 이상	107% (10.7 µg/2,000 mg)	적합	2021. 12. 09
비타민B1	표시량(1.2 mg/2,000 mg)의 80% 이상	148% (1.78 mg/2,000 mg)	적합	2021. 12. 02
비타민B2	표시량(1.4 mg/2,000 mg)의 80% 이상	124% (1.74 mg/2,000 mg)	적합	2021. 12. 07
나이아신	표시량(15 mgNE/2,000 mg)의 80% 이상	133% (19.9 mgNE/2,000 mg)	적합	2021. 12. 03
판토텐산	표시량(5 mg/2,000 mg)의 80% 이상	118% (5.9 mg/2,000 mg)	적합	2021. 12. 03
비타민B6	표시량(1.5 mg/2,000 mg)의 80% 이상	127% (1.90 mg/2,000 mg)	적합	2021. 12. 03

기능성분 분석

(나) 한미생활건강홍타민플러스(TCI213복합조성물 함유)

○ TCI213복합조성물을 함유한 한미생활건강홍타민플러스 기능성분 분석결과, 진세노사이드 Rg1, Rb1 및 Rg3의 합이 3.66 mg/2,000 mg 함유되어 있어 면역기능개선에 도움을 줄 수 있는 기준에 부합하였음. 또한 비타민A, 비타민D, 비타민B1, 비타민B2, 나이아신, 판토텐산, 비타민B6, 엽산, 비타민C, 아연, 셀레늄 모두 100% 이상 함유하고 있어 면역기능개선 건강기능식품으로 적합함을 확인하였음

표. 한미생활건강홍타민플러스 시험성적

시험항목	시험기준	시험결과	판정
진세노사이드 Rg1, Rb1 및 Rg3의 합	표시량(3 mg/2,000 mg)의 80% 이상	120% (3.6 mg/2,000 mg)	적합
비타민A	표시량(700 ugNE/2,000 mg)의 80% 이상 150% 이하	139% (970.8ugNE/2,000 mg)	적합
비타민D	표시량(10 ug/2,000 mg)의 80% 이상 180% 이하	107% (10.7 ug/2,000 mg)	적합
비타민B1	표시량(1.2 mg/2,000 mg)의 80% 이상 180% 이하	148% (1.78 mg/2,000 mg)	적합
비타민B2	표시량(1.4 mg/2,000 mg)의 80% 이상 180% 이하	124% (1.74 mg/2,000 mg)	적합
나이아신	표시량(15 mgNE/2,000 mg)의 80% 이상 150% 이하	133% (19.9 mgNE/2,000 mg)	적합
판토텐산	표시량(5 mg/2,000 mg)의 80% 이상 180% 이하	118% (5.9 mg/2,000 mg)	적합
비타민B6	표시량(1.5 mg/2,000 mg)의 80% 이상 150% 이하	127% (1.90 mg/2,000 mg)	적합
엽산	표시량(1,200 ug/2,000 mg)의 80% 이상 150% 이하	137% (1,641 ug/2,000 mg)	적합
비타민C	표시량(100 mg/2,000 mg)의 80% 이상 150% 이하	96% (95.5 mg/2,000 mg)	적합
아연	표시량(8.5 mg/2,000 mg)의 80% 이상 150% 이하	132% (11.24 mg/2,000 mg)	적합
셀레늄	표시량(55 ug/2,000 mg)의 80% 이상 150% 이하	112% (61.7 ug/2,000 mg)	적합

1/2

시험성적서

검정기관: **경원대학교시험센터**

제품명	한미생활건강 홍타민 플러스	시험뢰위일	2021. 11. 29
제조번호	2092111	제조일자/유통기한	2021. 11. 16 / 2023. 11. 07
제품유형	홍삼, 비타민A, 비타민D, 비타민B1, 비타민B2, 나이아신, 판토텐산, 비타민B6, 엽산, 비타민C, 아연, 셀레늄(또는 셀렌)	시험번호	FTP-2092111

시험항목	시험기준	시험결과	판정	시험일자
성상	고유의 향미를 지니고 이비, 아자가 없는 맑은 회황색 타원형 정제	고유한 향미를 지니고 이비, 아자가 없는 맑은 회황색 타원형 정제	적합	2021. 11. 29
진세노사이드 Rg1, Rb1 및 Rg3의 합	표시량(3 mg/2,000 mg)의 80% 이상	120% (3.6 mg/2,000 mg)	적합	2021. 12. 22
비타민A	표시량(700 ugNE/2,000 mg)의 80% 이상 150% 이하	139% (970.8 ugNE/2,000 mg)	적합	2021. 12. 07
비타민D	표시량(10 ug/2,000 mg)의 80% 이상 180% 이하	107% (10.7 ug/2,000 mg)	적합	2021. 12. 08
비타민B1	표시량(1.2 mg/2,000 mg)의 80% 이상 180% 이하	148% (1.78 mg/2,000 mg)	적합	2021. 12. 02
비타민B2	표시량(1.4 mg/2,000 mg)의 80% 이상 180% 이하	124% (1.74 mg/2,000 mg)	적합	2021. 12. 07
나이아신	표시량(15 mgNE/2,000 mg)의 80% 이상 150% 이하	133% (19.9 mgNE/2,000 mg)	적합	2021. 12. 03
판토텐산	표시량(5 mg/2,000 mg)의 80% 이상 180% 이하	118% (5.9 mg/2,000 mg)	적합	2021. 12. 03
비타민B6	표시량(1.5 mg/2,000 mg)의 80% 이상 150% 이하	127% (1.90 mg/2,000 mg)	적합	2021. 12. 03

2/2

시험항목	시험기준	시험결과	판정	시험일자
엽산	표시량(1,200 ug/2,000 mg)의 80% 이상 150% 이하	137% (1,641 ug/2,000 mg)	적합	2021. 12. 14
비타민C	표시량(100 mg/2,000 mg)의 80% 이상 150% 이하	96% (95.5 mg/2,000 mg)	적합	2021. 12. 02
아연	표시량(8.5 mg/2,000 mg)의 80% 이상 150% 이하	132% (11.24 mg/2,000 mg)	적합	2021. 12. 14
셀레늄	표시량(55 ug/2,000 mg)의 80% 이상 150% 이하	112% (61.7 ug/2,000 mg)	적합	2021. 12. 14
대중안전	중성이어야 한다.	중성	적합	2021. 11. 29
중금속	37±2℃, 30분 이내 용해	17분 32초	적합	2021. 11. 29
중금속	1,000mg ± 2%	1,000.3mg	적합	2021. 11. 29
이물질	불검출	불검출	적합	2021. 11. 29

중금속: **적합** 판정: **적합** 검사: **적합** 판정: **적합** 2021. 12. 22

시험과: 김지희, 임정희, 이진희, 서정은, 권은진, 최재영

비고:

※ 표의내용은 원료의검사 용기·포장 등에 표시된 시험항목의 실제 내용과 다를 수 있습니다.

(주) 한미약품

기능성분 분석

(다) 이문스타(TCI213복합조성물 함유)

- TCI213복합조성물을 함유한 이문스타 기능성분 분석결과, 진세노사이드 Rg1, Rb1 및 Rg3의 합이 3.66 mg/2,000 mg 함유되어 있어 면역기능개선에 도움을 줄 수 있는 기준에 부합하였음

표. 한미생활건강홍타민플러스 시험성적

시험항목	시험기준	시험결과	판정
진세노사이드 Rg1, Rb1 및 Rg3의 합	표시량(3 mg/2,000 mg)의 80% 이상	107% (3.2 mg/2,000 mg)	적합

1/1

시험성적서		결	작성	검토	승인
		계	김형욱	강지현	김성태
제품명	이문스타	시험의뢰일	2021. 12. 30		
제조번호	2122111	제조일자 /유통기한	2021. 12. 27 /2023. 12. 26		
제품유형	홍삼	시험번호	FTP-2122111		
시험항목	시험기준	시험결과	판정	시험일자	
성상	고유의 향미가 있고 이비, 이취가 없는 초연 황갈색의 분말	고유의 향미가 있고 이비, 이취가 없는 초연 황갈색의 분말	적합	2021. 12. 30	
진세노사이드 Rg1, Rb1 및 Rg3의 합	표시량(3 mg/2 g)의 80% 이상	107% (3.2 mg/2 g)	적합	2022. 01. 05	
대장균군	음성이어야 한다.	음성	적합	2021. 12. 30	
평균중량(g)	2g - 2% 이상	2.01g	적합	2021. 12. 30	
이물	불검출	불검출	적합	2021. 12. 30	
종합판정	적합	판정자	김성태	판정일자	2022. 01. 05
시험자 : 김형욱, 이선희, 이정은					
비고					
* 검사결과를 정교하거나 용기·포장 등에 표시한 때에는 시험결과서 전체 내용을 모두 표시하여야 합니다.					
(주) 한미양행					
기능성분 분석					

6) 최종 개발제품의 사업화

6-1) 간보호 및 면역증진 기능을 갖는 제품 개발(소재 2종, 제품 5종 개발)

구분	원료명	제품명	비고
간보호	TCH212복합조성물	한미침향원, 한미침향원 프리미엄, 헤파스타	소재 1종 제품 3종
면역증진	TCI213복합조성물	한미생활건강홍타민플러스, 이문스타	소재 1종 제품 2종

(1) 간보호 및 면역증진 기능을 갖는 소재 2종 개발 및 사업화

○ TCH212(간보호), TCI213복합조성물(면역증진)은 품목보고 완료 하였으며, 자체 생산을 통해 자사에서 생산중인 제품에 원료로 사용

(가) 간보호 원료 : TCH212복합조성물

○ 자사의 선행 기술 중 특허 등록한 ‘귀뚜라미 효소처리물을 함유하는 간보호 또는 숙취해소용 조성물’을 토대로 배합비를 선정하였으며, 본 연구 수행 내용을 토대로 쌍별귀뚜라미 가수분해 개선공정을 적용하여 간보호 특허원료 제조

(나) 면역증진 원료 : TCI213복합조성물

○ 본 연구 결과를 통해 특허 등록한 ‘귀뚜라미 가압증숙 및 효소처리물을 함유하는 면역조절용 조성물’을 토대로 면역증진 특허원료 제조



TCH212복합조성물 선행기술(특허등록)

TCI213복합조성물 선행기술(특허등록)

(2) 간보호 및 면역증진 기능을 갖는 소재 활용 제품 개발(5종) 및 사업화

(가) 간보호 제품 3종(TCH212복합조성물)

- 기존 자사에서 생산하여 판매하던 한미침향원 및 한미침향원 프리미엄 제품에 TCH212복합 조성물을 부원료로 함유하여 배합비 변경 후 리뉴얼 하여 제품화 진행
- 밀크씨슬 추출물이 주 원료인 간 건강기능식품에 TCH212복합조성물을 부원료로 함유하여 신규 제품 개발 및 생산

제품명	제품 유형	주원료 및 부원료	비고
한미침향원	기타가공품	식품혼합분말, 사양벌꿀, 타우린, 침향분말, TCH212복합조성물	기존 제품에 TCH212복합조성물 함유하여 배합비변경, 품목보고 변경
한미침향원프리미엄	기타가공품	식품혼합분말, 사양벌꿀, 타우린, 침향분말, TCH212복합조성물	
헤파스타	건강기능식품	밀크씨슬추출물, 비타민B1, 비타민B2, 나이아신, 판토텐산, 비타민B6, TCH212복합조성물	-

(나) 면역증진 제품 2종(TCI213복합조성물)

- 홍삼이 주 원료인 면역기능 개선 건강기능식품에 TCI213복합조성물을 부원료로 함유하여 신규 제품 개발 및 생산

제품명	제품 유형	주원료 및 부원료	비고
한미생활건강홍타민플러스	건강기능식품	홍삼농축액분말, 비타민 9종, 표고버섯추출분말, 헛개나무추출물분말, 차가버섯추출분물분말, TCI213복합조성물	-
이문스타	건강기능식품	홍삼농축액분말, TCI213복합조성물	-

6-2) 분말스틱, 과립, 액상스틱, 짜먹는 정 테스트

(1) 쌍별귀뚜라미를 활용한 다양한 제형 테스트

- 쌍별귀뚜라미를 활용한 다양한 제형의 제제 테스트를 진행하여, 분말, 과립, 액상, 젤리 및 양갱 제조가 가능함을 확인하였으나, 사업화로 진행되지 않았음. 향후 기호성 제품에 적용할 예정

구분	내용	비고																		
분말	쌍별귀뚜라미 가수분해물을 활용한 분말 제품가능성 여부 검토를 위해, 1차년도 30g 웨이크에 쌍별귀뚜라미 가수분해물을 20% 함유하여 배합테스트 진행 ▶ 제2협동(경민대학교) 관능검사 샘플로 제공	1차년도 수행 (제품명 : 쌍별이아미노자임쉐이크)																		
과립	쌍별귀뚜라미 가수분해물을 활용한 과립 제품 가능성 여부 검토를 위해, 1차년도 3 g 과립 성형 테스트 진행	1차년도 수행 (제품명 : 쌍별이아미노자임그래놀)																		
액상스틱	쌍별귀뚜라미 가수분해물 농축액(20brix)를 베이스로 블루베리맛, 베리믹스맛, 적포도 맛 등 3가지 맛으로 혼합음료 제조 테스트를 진행 ▶ 쌍별귀뚜라미 가수분해물 제조공정 중 ‘농축’ 단계에서 원료를 활용할 수 있어 건조 시간 및 비용이 절감할 수 있는 장점이 있으나, 단백질함량 및 기능성분 등에는 건조물보다는 가치가 낮아, 기능성제품 외 일반식품의 원료로 활용이 가능함 <div style="text-align: center;"> <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th style="width: 20%;">공정명</th> <th style="width: 80%;">제조방법 설명</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>건조시료 탈지</td> <td>롤밀을 이용하여 쌍별귀뚜라미 건조물을 1차 분쇄 후, 45°C, 600 kgf/cm²압력, 15분 (1회) 탈지 한다.</td> </tr> <tr> <td>탈지 시료 분쇄</td> <td>탈지 시료를 분쇄기로 분쇄한다.</td> </tr> <tr> <td>전처리</td> <td>탈지분말에 10 배의 증류수를 첨가한 다음 121°C에서 1시간 동안 살균한다.</td> </tr> <tr> <td>효소처리</td> <td>시료 무게 1%의 Flavourzyme 투입하여 50°C에서 8시간 가수분해한다.</td> </tr> <tr> <td>효소실활 및 냉각</td> <td>90°C에서 30분간 효소실활 시킨 후, 40°C까지 냉각한다.</td> </tr> <tr style="background-color: #ffff00;"> <td>여과 및 농축</td> <td>필터하여 여과액을 60°C에서 20brix까지 농축한다.</td> </tr> <tr> <td>여과액 동결건조</td> <td>쌍별귀뚜라미 가수분해물 농축액을 동결건조 한다.</td> </tr> <tr> <td>분말시료</td> <td>시료로 사용한다.</td> </tr> </tbody> </table> </div>	공정명	제조방법 설명	건조시료 탈지	롤밀을 이용하여 쌍별귀뚜라미 건조물을 1차 분쇄 후, 45°C, 600 kgf/cm ² 압력, 15분 (1회) 탈지 한다.	탈지 시료 분쇄	탈지 시료를 분쇄기로 분쇄한다.	전처리	탈지분말에 10 배의 증류수를 첨가한 다음 121°C에서 1시간 동안 살균한다.	효소처리	시료 무게 1%의 Flavourzyme 투입하여 50°C에서 8시간 가수분해한다.	효소실활 및 냉각	90°C에서 30분간 효소실활 시킨 후, 40°C까지 냉각한다.	여과 및 농축	필터하여 여과액을 60°C에서 20brix까지 농축한다.	여과액 동결건조	쌍별귀뚜라미 가수분해물 농축액을 동결건조 한다.	분말시료	시료로 사용한다.	2차년도 수행
공정명	제조방법 설명																			
건조시료 탈지	롤밀을 이용하여 쌍별귀뚜라미 건조물을 1차 분쇄 후, 45°C, 600 kgf/cm ² 압력, 15분 (1회) 탈지 한다.																			
탈지 시료 분쇄	탈지 시료를 분쇄기로 분쇄한다.																			
전처리	탈지분말에 10 배의 증류수를 첨가한 다음 121°C에서 1시간 동안 살균한다.																			
효소처리	시료 무게 1%의 Flavourzyme 투입하여 50°C에서 8시간 가수분해한다.																			
효소실활 및 냉각	90°C에서 30분간 효소실활 시킨 후, 40°C까지 냉각한다.																			
여과 및 농축	필터하여 여과액을 60°C에서 20brix까지 농축한다.																			
여과액 동결건조	쌍별귀뚜라미 가수분해물 농축액을 동결건조 한다.																			
분말시료	시료로 사용한다.																			
짜먹는 정 (젤리)	쌍별귀뚜라미 가수분해물 농축액(20brix)를 베이스로 블루베리맛, 베리믹스맛, 적포도 맛 등 3가지 맛으로 젤스틱 테스트 진행 ▶ 쌍별귀뚜라미 가수분해물 농축액 20% 함유에도 기호도가 높아 향후 기호성 식품으로 제품화 가능성	2차년도 수행																		
양갱	쌍별귀뚜라미 탈지분말을 5, 6, 7% 첨가한 양갱을 제조하여 테스트를 진행 ▶ 쌍별귀뚜라미 탈지분말 6% 함유에도 기호도가 높아 향후 기호성 식품으로 제품화 가능성	2차년도 수행																		

(가) 액상스틱 테스트

- 쌍별귀뚜라미 가수분해물 농축액(20brix)를 베이스로 하여 블루베리, 베리믹스, 적포도 농축액을 혼합하여 음료 테스트
- 1차 테스트 시 쌍별귀뚜라미 가수분해물 농축액을 15% 첨가하여 제조 하였으며, 블루베리, 베리믹스, 적포도 농축액의 맛이 강하여 쌍별귀뚜라미 가수분해물 농축액의 특유의 냄새를 마스킹 할 수 있었음. 또한 푸드겔과 카라기난 등 증점제의 함유로 인해 점성이 있는 음료로 제조되어 2차 제조 시 쌍별귀뚜라미 가수분해물 농축액 증가, 증점제 감소하여 테스트 진행
- 2차 테스트 시 쌍별귀뚜라미 가수분해물 농축액을 20%로 증가하여 제조하였으며, 증점제 함량을 감소하고, 특유의 가수분해 냄새 제거를 위해 합성향료(시트러스)를 첨가하여 제조 하였음
- 3차 테스트 시, 증점제를 제외하여 테스트. 쌍별귀뚜라미 가수분해물의 특유의 냄새가 마스킹 되며 액상 제품으로서의 활용도가 높을 것으로 판단됨

1차	
원료	배합비(%)
쌍별귀뚜라미 가수분해물 농축액	15
프락토올리고당	16.25
과채농축액	15
푸드겔	0.4
카라기난	0.05
무수구연산	0.4
구연산삼나트륨	0.2
효소처리스테비아	0.3
정제수	52.4
Total	100

2차	
원료	배합비(%)
쌍별귀뚜라미 가수분해물 농축액	20
프락토올리고당	16.5
과채농축액	15
푸드겔	0.2
무수구연산	0.4
구연산삼나트륨	0.2
효소처리스테비아	0.2
합성향료	0.1
정제수	47.4
Total	100

3차	
원료	배합비(%)
쌍별귀뚜라미 가수분해물 농축액	20
프락토올리고당	16.4
과채농축액	15
무수구연산	0.6
구연산삼나트륨	0.3
효소처리스테비아	0.2
합성향료	0.1
정제수	47.4
Total	100

쌍별귀뚜라미 가수분해물 농축액 제조공정 (Case report - 2022.11.16.15.13)						
№	원료코드	원료명	배합비(%)	내용량	단위량	비고
1	A0001	쌍별귀뚜라미 가수분해물	15.0000	1,500.00	7.50	
2	A00017	과채농축액(감귤농축액,연육리고시럽,1)	15.0000	1,500.00	9.30	
3	A0001	과채농축액	15.0000	1,500.00	7.50	
4	A0001	푸드겔	0.4000	40.00	0.20	
5	A0001	카라기난	0.0500	5.00	0.05	
6	A0002	무수구연산(Citric Acid Anhydrous,오스트리아Jungbunz)	0.4000	40.00	0.20	
7	A00008	구연산삼나트륨(삼수물)(Sodium Citrate,오스트리아,3)	0.2000	20.00	0.10	
8	A00021	효소처리스테비아(아미노,스위스)리프,1	0.3000	30.00	0.15	
9	A00067	정제수	52.4000	5,240.00	26.20	
10						
11						
12						
13						
14						
15						
16						
17						
18						
19						
20						
21						
22						
23						
24						
합계			100.0000	10,000.00	50.00	

<1차 배합비>

쌍별귀뚜라미 가수분해물 혼합음료2차 제조공정 (Case report - 2022.11.16.15.13)						
№	원료코드	원료명	배합비(%)	내용량	단위량	비고
1	A0001	쌍별귀뚜라미 가수분해물	20.0000	2,000.00	10.00	
2	A00017	과채농축액(감귤농축액,연육리고시럽,1)	15.0000	1,500.00	9.30	
3	A0001	과채농축액	15.0000	1,500.00	7.50	
4	A0001	푸드겔	0.2000	20.00	0.10	
5	A0002	무수구연산(Citric Acid Anhydrous,오스트리아Jungbunz)	0.2000	20.00	0.10	
6	A00008	구연산삼나트륨(삼수물)(Sodium Citrate,오스트리아,3)	0.2000	20.00	0.10	
7	A00021	효소처리스테비아(아미노,스위스)리프,1	0.1000	10.00	0.05	
8	A00067	정제수	47.4000	4,740.00	23.70	
9						
10						
11						
12						
13						
14						
15						
16						
17						
18						
19						
20						
21						
22						
23						
24						
합계			100.0000	10,000.00	50.00	

<2차 배합비>

쌍별귀뚜라미 가수분해물 혼합음료3차 제조공정 (Case report - 2022.11.16.15.13)						
№	원료코드	원료명	배합비(%)	내용량	단위량	비고
1	A0001	쌍별귀뚜라미 가수분해물	20.0000	2,000.00	10.00	
2	A00017	과채농축액(감귤농축액,연육리고시럽,1)	15.0000	1,500.00	9.30	
3	A0001	과채농축액	15.0000	1,500.00	7.50	
4	A0002	무수구연산(Citric Acid Anhydrous,오스트리아Jungbunz)	0.6000	60.00	0.30	
5	A00008	구연산삼나트륨(삼수물)(Sodium Citrate,오스트리아,3)	0.3000	30.00	0.15	
6	A00021	효소처리스테비아(아미노,스위스)리프,1	0.2000	20.00	0.10	
7	A0001	합성향료	0.1000	10.00	0.05	
8	A00067	정제수	47.4000	4,740.00	23.70	
9						
10						
11						
12						
13						
14						
15						
16						
17						
18						
19						
20						
21						
22						
23						
24						
합계			100.0000	9,910.00	49.55	

<3차 배합비>



(나) 젤리스틱 테스트

- 쌍별귀뚜라미 가수분해물 농축액(20brix)를 베이스로 하여 블루베리, 베리믹스, 적포도 농축액을 혼합하여 젤리스틱 테스트
- 1차 테스트 시 쌍별귀뚜라미 가수분해물 농축액을 15% 첨가하여 제조하였으며, 젤리 제조 시 사용량이 높은 증점제인 푸드겔과 카라기난을 혼합하여 배합하였음. 쌍별귀뚜라미 가수분해물 특유의 가수분해 냄새가 나지 않아 20% 상향 조정이 필요하며 단맛이 부족하였음
- 2차 테스트 진행 시 쌍별귀뚜라미 가수분해물 농축액을 20% 첨가하여 제조하였으며, 단맛 보강을 위하여 프락토 올리고당을 3배 이상 첨가하여 제조 하였음. 당도 첨가로 인하여 텍스처가 높아져 증점제의 함량 조절에 대한 테스트가 필요함
- 3차 테스트 진행 시 텍스처(식감) 조절을 위해 푸드겔의 함량을 1/2로 하여 첨가. 쌍별귀뚜라미 가수분해물 특유의 가수분해 냄새가 나지 않으며 텍스처, 당도에서 좋은 기호도를 보였음

1차		2차		3차	
원료	배합비(%)	원료	배합비(%)	원료	배합비(%)
쌍별귀뚜라미 가수분해물 농축액	15	쌍별귀뚜라미 가수분해물 농축액	20	쌍별귀뚜라미 가수분해물 농축액	20
프락토올리고당	5	프락토올리고당	15	프락토올리고당	15
과채농축액	25	과채농축액	15	과채농축액	15
푸드겔	1.6	푸드겔	1.6	푸드겔	0.8
카라기난	0.1	카라기난	0.1	카라기난	0.1
무수구연산	0.4	무수구연산	0.4	무수구연산	0.2
구연산삼나트륨	0.2	구연산삼나트륨	0.2	구연산삼나트륨	0.2
효소처리스테비아	0.3	효소처리스테비아	0.3	효소처리스테비아	0.1
정제수	52.4	정제수	47.4	정제수	47.4
Total	100	Total	100	Total	100

쌍별귀뚜라미 가수분해물 첨가(1차 배합) (Case study 20211116 17:41:4)						
제	배합기호치 (역상)	02-02-	작성일자	작성	검	검
분	시	번호	작성일자	작성	번호	검
분	시	번호	작성일자	작성	번호	검
쌍별귀뚜라미 가수분해물 젤리식 2차						
제	배합기호치 (역상)	02-02-	작성일자	작성	검	검
분	시	번호	작성일자	작성	번호	검
분	시	번호	작성일자	작성	번호	검
쌍별귀뚜라미 가수분해물 젤리식 3차						
제	배합기호치 (역상)	02-02-	작성일자	작성	검	검
분	시	번호	작성일자	작성	번호	검
분	시	번호	작성일자	작성	번호	검

<1차 배합비>

<2차 배합비>

<3차 배합비>



블루베리맛 젤리



베리믹스맛 젤리



적포도맛 젤리

(다) 양갱 테스트

- 쌍별귀뚜라미 탈지분말을 25, 30, 35 g(5, 6, 7%) 첨가하여 양갱 테스트
- 쌍별귀뚜라미 탈지분말(단백질)의 첨가는 양갱의 물성에 영향을 미침으로 겔 형성에 도움을 주는 한천의 비율을 5, 6, 7 g(1, 1.2, 1.4%) 첨가하여 양갱 테스트
- 쌍별귀뚜라미 탈지분말(X1)과 한천(X2)에 따른 가공적성 평가를 위해 반응표면분석법을 실시 하였음
- 관능검사 결과, 외관 항목은 쌍별귀뚜라미 탈지분말 최대치 함량인 35 g, 한천분말 최대치 함량인 7 g을 첨가한 샘플 9에서 기호도가 높았음. 맛 항목은 쌍별귀뚜라미 탈지분말 30 g을 첨가한 샘플 4에서 가장 높은 기호도를 보였음. 전체적인 기호도는 쌍별귀뚜라미 탈지분말 30 g을 첨가한 샘플 4에서 가장 높은 기호도를 보여 향후 양갱 생산 시 6%의 쌍별귀뚜라미 탈지분말 함량은 소비자들의 거부감없이 섭취가 가능할 것으로 판단됨

Sample No.	Variables1)		팔랑금 (g)	설탕 (g)	올리고당 (g)	물 (g)
	X1(g)	X2(g)				
1	25(-1)	5(-1)	255	79	22	108
2	25(-1)	6(0)	255	79	22	108
3	25(-1)	7(1)	255	79	22	108
4	30(0)	5(-1)	255	79	22	108
5	30(0)	6(0)	255	79	22	108
6	30(0)	7(1)	255	79	22	108
7	35(1)	5(-1)	255	79	22	108
8	35(1)	6(0)	255	79	22	108
9	35(1)	7(1)	255	79	22	108
10	30(0)	6(0)	255	79	22	108

1) X1 : 쌍별귀뚜라미 탈지분말 X2 : 한천분말

Sample No.	Appearance	Flavor	Taste	Aftertaste	Chewiness	Softness	Overall acceptability
1	5.15±1.07 ²⁾	4.28±1.80	5.14±1.21	4.71±1.50	5.29±1.80	5.71±1.38	5.29±1.38
2	5.14±1.07	5.00±1.29	4.71±1.26	4.14±1.68	4.57±1.72	5.00±1.63	5.00±1.00
3	4.43±1.27	4.14±0.90	4.71±0.95	4.14±0.69	4.14±0.90	4.71±1.38	4.43±0.96
4	5.14±0.69	5.57±0.79	5.86±1.07	5.71±0.49	5.29±1.25	6.00±0.58	5.86±1.07
5	5.00±1.00	5.00±1.00	5.14±0.69	5.29±0.76	4.86±1.21	5.29±0.49	5.14±1.07
6	4.86±1.95	5.00±1.00	5.00±1.29	5.14±1.46	4.29±0.95	4.71±1.38	4.57±1.90
7	5.29±1.79	4.43±0.98	4.71±1.80	4.29±1.89	4.57±1.51	5.00±1.15	4.71±1.38
8	5.14±1.77	4.57±1.51	4.71±1.38	4.43±1.90	4.43±1.62	4.86±0.90	4.14±1.35
9	5.43±1.81	5.43±0.79	4.00±1.91	5.00±0.82	4.14±0.90	4.71±1.38	4.71±0.95
10	5.00±1.83	4.57±1.13	4.86±1.22	5.29±0.95	4.43±1.72	5.86±0.90	5.00±1.00

1) X1 : 쌍별귀뚜라미 탈지분말 X2 : 한천분말

2) mean±SD.

3) NS : not significantly

6-3) 최종제품의 사업화

(1) 간 건강 제품

(가) 한미침향원

○ 한미양행 한미생활건강 스토어, 오픈마켓 등 온라인몰에 판매 진행 중

제품정보	한미침향원
식품의 유형	기타가공품
내용량	3.75g x 30환 (112.5g)
품목보고번호	19890355033-802
섭취방법	1일 1~3회, 1회 1환씩 씹어서 섭취하십시오.
섭취시 주의사항	특이체질, 알레르기 체질이신 경우 성분을 확인 후 섭취하십시오.
보관방법	고온다습한 곳이나 직사광선을 피하여 서늘한 곳에 보관하십시오.
내포장재질	폴리에틸렌(PE)
소비자 상담실	02-6953-7701
반류 및 교환처	구입처
원재료명	식물혼합분말 [진피(국산), 대추(국산), 백적약, 감초, 당귀, 숙지황, 백출, 황기, 계미, 오미자, 산수유, 원지, 홍삼, 녹용], 사탕발효물(국산), 글리세린, 타우린, 침향분말(인도네시아산), 젤라틴, 복분자추출분말, 마카겔분말, L-아르지닌, 산삼배양근분말, 비타민B, 염산염, 비타민B, 비타민B6염산염, 궁평이효소처리 등복합조성물인 C40, 자몽종지추출물, 효소처리 스테비아
제조원	(주)한미양행 / 경기도 파주시 문신읍 통일로 1888번길 44-20
유통전문판매원	(주)휴엔물소프 / 인천광역시 서구 보동로 158, 6층 광주동 624호 (오류동, 블루텍)

※본 제품은 공정거래위원회고시 소비자 분쟁 해결기준에 의거 교환 또는 보상받을 수 있습니다.
 ※본 제품은 알류, 우유, 메밀, 땅콩, 대두, 밀, 고등어, 계, 새우, 돼지고기, 복숭아, 토마토, 호두, 닭고기, 쇠고기, 오징어, 조개류(굴, 가리비, 홍합) 등을 사용한 제품과 같은 제조시설에서 제조하고 있습니다.

한미침향원 상품화 출시



3 한미양행 단독사용 가능한 특허원료 함유

간이 건강해야 피로가 쌓이지 않습니다

1. 귀뚜라미 효소 처리물을 함유하는 간보호 또는 숙취해소용 조성물

또는 숙취해소용 조성물

2. 곰팡이 효소 처리물을 함유하는 간 보호용 조성물

유하는 간 보호용 조성물

간 보호 또는 숙취해소용 조성물
쌍별 귀뚜라미 효소 처리물 TCH212

쌍별 귀뚜라미 효소 처리물	갈색거저리 유충 효소 처리물	검은 추출분말	흰개나뉘벌레 추출분말	올금 추출분말	시호 추출분말
25%	25%	20%	20%	5%	5%

간 보호용 조성물
곰팡이 효소처리 등 복합조성물 ELC40

곰팡이 효소 처리물	갈색거저리 유충 효소 처리물	영강귀 추출물	사철속 추출물	민들레 추출물
40%	30%	20%	5%	5%

한미침향원 상세페이지

(나) 한미침향원 프리미엄

○ 한미양행 한미생활건강 스토어, 오픈마켓 등 온라인몰에 판매 진행 중

한미양행 침향원 프리미엄 침향 22% 30환 1박스 +쇼핑백 포함

60% **110,000원 43,900원**

한미생활건강 고객을 위한 혜택

최대 적립 포인트 **1,058원** ?
 기본적립 439원

TTP. 포인트 더 받는 방법 *최대 4,829원

- N+ 바바리 최대 5% 적립 (모든 시간) > 1,756원
- N+ 바바리 네이버 현대카드로 결제 시 > 2,195원
- N+ 2% 충전포인트로 결제 시 > 878원

5% 적립 포기하시겠어요? (N+)

무이자할부 카드 자세히보기 ?

원산지 국산(경기도 파주시)

택배배송 무료배송
 제주 / 도서산간 추가 택배비용 발생

총 상품 금액 **43,900원** 총수량 1개

구매하기

특목문의 | 찜하기 0 | 장바구니

제품정보	한미침향원 프리미엄
식품의 유형	기타가공품
내용량	3.75g x 30환(112.5g)
품목보고번호	19880355033-802
섭취방법	1일 1~3회, 1회 1환씩 씹어서 섭취하십시오.
섭취시 주의사항	특이체질, 알레르기 체질이신 경우 성분을 확인 후 섭취하십시오.
보관방법	고온다습한 곳이나 직사광선을 피하여 서늘한 곳에 보관하십시오.
내포장재질	플리에틸렌(PE)
소비자 상담실	02-6953-7701
반동 및 교환처	구입처
원재료명	식물혼합분말[진피(국산), 대추(국산), 백작약, 감초, 당귀, 숙지황, 백술, 황기, 계피, 오미자, 산수유, 원지뿌리, 홍삼, 녹용], 시암발골(국산), 침향분말(인도네시아산), 클리세린, 타우린, 젤라틴, 공병이 호스치리등복합조 정물디.C40, 복분자추출물분말, 마카겔분말, L-아르지닌, 산삼배양근분말, 비타민 B1염산염, 비타민B2, 비타민B6, 자몽종자추출물, 호소치리스테비아
제조원	(주)한미양행 / 경기도 파주시 문산읍 통일로 1888번길 44-20
유통권문판매원	(주)휴먼웰소핑 / 인천광역시 서구 보동로 158, 6층 공준동 624호 (오류동, 블루텍)

※본 제품은 공정거래위원회고시 소비자분쟁해결기준에 의거 교환 또는 보상 받으실 수 있습니다.
 ※본 제품은 알류, 우유, 메밀, 땅콩, 대두, 밀, 고등어, 게, 새우, 돼지고기, 복숭아, 토마토, 호두, 닭고기, 쇠고기, 오징어, 조개류(굴, 가리비, 홍합) 등을 사용한 제품과 같은 제조시설에서 제조하고 있습니다.

한미침향원 프리미엄 상품화 출시

피로회복과 스트레스해소를 위한

한미침향원

50년 전통 건강기능식품 전문기업 한미양행에서 좋은 재료를 엄선하여 정성껏 만들었습니다

자사제품 대비
침향
22%
최대함량

한미침향원프리미엄만의 특별함

1 전통적으로 사용된 귀한 원료, 침향

[침향]은 침향나무에서 분리된 수지가 침착되어 굳어진 부분을 말하며 '물 속에 가라앉는 향나무'라는 뜻을 가지고 있습니다. 세계 3대 향중 하나인 침향은 나무에서 난 상처를 치유하기 위해 모인 수지가 수백년에서 수천년을 거쳐 굳어서 만들어지기 때문에 그만큼 귀해 천년의 산삼이라고 불립니다.

↑22% 함유

(자사제품 대비 최대함량)

2 대표적인 피로회복 성분, 타우린

타우린이란, 단백질을 구성하는 아미노산으로 자양강장제, 피로회복제 등 드링크제품의 주성분입니다.

5% 함유

3 한미양행 단독사용 가능한 특허원료 함유

간이 건강해야 피로가 쌓이지 않습니다

1. 귀뚜라미 효소 처리물을 함유하는 간보호 또는 숙취해소용 조성물

또는 숙취해소용 조성물

2. 곰팡이 효소 처리물을 함유하는 간 보호용 조성물

유하는 간 보호용 조성물

간 보호 또는 숙취해소용 조성물 쌍별 귀뚜라미효소 처리물 TCH212					
쌍별귀뚜라미 효소처리물	감색거저리 유충 효소처리물	감근 추출분말	헥사나우염매 추출분말	율금 추출분말	시호 추출분말
25%	25%	20%	20%	5%	5%

간 보호용 조성물 곰팡이 효소처리 등 복합조성물 ELC40				
곰팡이 효소 처리물	감색거저리 유충 효소처리물	영경귀 추출물	사철쑥 추출물	민들레 추출물
40%	30%	20%	5%	5%

한미침향원 상세페이지

(다) 헤파스타


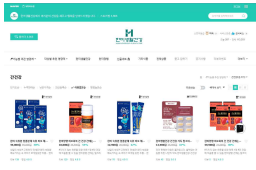
① 간 건강기능식품 제품분석

- 현재 국내 간 건강기능식품의 고시형 원료는 밀크씨슬 추출물 1개로 실리마린(기능성분) 일일섭취량 130 mg을 기준으로 대부분의 제품들이 정제 형태로 판매
- 밀크씨슬 추출물 관련 간 건강기능식품 제품은 아래와 같이 밀크씨슬 추출물과 비타민, 미네랄을 함유하여 5~7종 기능성으로 건강기능식품 규격을 맞추고, 간 건강에 좋다고 알려진 천연물인 헛개나무열매추출분말, 울금추출물분말, 표고버섯추출물분말 등을 부원료로 활용한 제품이 출시되고 있음

제품명	특징	제품사진
GNM 건강한 간 밀크씨슬	<ul style="list-style-type: none"> ▪ 주원료 : 밀크씨슬추출물, 비타민B1, 비타민B2, 비타민B6, 나이아신, 판토텐산 ▪ 6종 기능성 ▪ 실리마린 130mg : 식약처 고시 1일 섭취량 ▪ 비타민B군 5종 : 활력에너지 ▪ 7가지 부원료 : 홍삼농축액분말, 운지버섯자실체추출분말, 영지버섯자실체추출분말, 헛개나무열매추출물분말, 울금추출물분말, 표고버섯추출물분말, 민들레추출물분말 ▪ 900mg × 30T 	
플래티넘 밀크씨슬9	<ul style="list-style-type: none"> ▪ 주원료 : 밀크씨슬추출물, 비타민B1, 비타민B2, 비타민B6, 나이아신, 판토텐산, 엽산, 셀레늄, 아연 ▪ 9종 기능성 ▪ 실리마린 130mg : 식약처 고시 1일 섭취량 ▪ 비타민 5종 + 미네랄 3종 ▪ 9가지 부원료 : 흑마늘, 과라나, 헛개나무, 민들레, 울금, 표고버섯추출분말, 과일혼합농축분말, 채소혼합농축분말, 식물혼합농축분말 ▪ 900mg × 30T 	
닥터슈퍼칸	<ul style="list-style-type: none"> ▪ 주원료 : 밀크씨슬추출물, 비타민B1, 비타민B2, 비타민B6, 비타민E ▪ 5종 기능성 ▪ 실리마린 130mg : 식약처 고시 1일 섭취량 ▪ 비타민B군 4종 ▪ 7가지 부원료 : 헛개나무열매추출분말, 상황버섯추출분말, 민들레추출분말, 영지버섯자실체추출분말, 타우린, 비타민C, 엽산 ▪ 1,000mg × 30T 	
세노비스 밀크씨슬 플러스	<ul style="list-style-type: none"> ▪ 주원료 : 밀크씨슬추출물, 비타민B1, 비타민B2, 비타민B6, 비타민B12, 나이아신, 판토텐산 ▪ 7종 기능성 ▪ 실리마린 130mg : 식약처 고시 1일 섭취량 ▪ 비타민 6종 ▪ 부원료 4종 : 마늘추출물분말, 민들레추출물분말, 헛개나무열매추출분말 ▪ 900mg × 120T 	

② 헤파스타(간 건강기능식품) 차별점 및 마케팅 전략

○ 본 연구결과를 토대로 쌍별귀뚜라미 가수분해물을 원료로한 간 건강기능식품 개발

구분	특징	비고
<p>제품소개</p>	<ul style="list-style-type: none"> ▪ 주원료 : 밀크씨슬추출물, 비타민B1, 비타민B2, 비타민B6, 나이아신, 판토텐산 ▪ 5종 기능성 ▪ 실리마린 130mg : 식약처 고시 1일 섭취량 ▪ 부원료 : TCH212복합조성물 10% 함유 ▪ 900mg × 30T 	
<p>차별점</p>	<ul style="list-style-type: none"> ▪ 한미양행 단독원료 TCH212복합조성물 사용 <ul style="list-style-type: none"> - 본 연구를 통해 개발한 쌍별귀뚜라미 가수분해물 원료 사용 - 타 제품에서는 사용한 적 없는 식용곤충을 부원료로 사용 	
<p>마케팅전략</p>	<ul style="list-style-type: none"> ▪ 주요고객 <ul style="list-style-type: none"> - 자사 내부 판매 네트워크 시장에 접근하는 소비자 - 편의점, 휴게소 등과 같은 오프라인 유통채널에 기존 건강기능식품을 구매하는 소비자 - 온라인 유통채널을 이용한 소비자 대상 ▪ 사업화 방안 <ul style="list-style-type: none"> - 자사 온라인 채널 바이어를 통하여 온라인 유통의 상품 출시 - 단국대학교, 경민대학교 공동개발과 농림부 국책사업 과제 수행성과에 대한 제품에 적극적인 홍보 마케팅을 통한 판촉도모 	

(2) 면역증진 제품

(가) 한미생활건강홍타민 플러스

○ 한미양행 한미생활건강 스토어에 판매 진행 중



한미생활건강
HAMI HOUSEHOLD & HEALTH CARE

한미생활건강 홍타민 플러스

홍삼, 비타민9종, 미네랄2종
건강기능식품
1,000mg x 60정(60g)

한미생활건강 홍타민 플러스

홍삼, 비타민9종, 미네랄2종
건강기능식품
1,000mg x 60정(60g)

한미생활건강 홍타민 플러스

홍삼, 비타민9종, 미네랄2종
건강기능식품
1,000mg x 60정(60g)

한미생활건강 홍타민 플러스

홍삼, 비타민9종, 미네랄2종
건강기능식품
1,000mg x 60정(60g)

한미생활건강 면역개선 홍타민 플러스 1,000mg 60정 4박스

30%

99,000원 **69,000원**

한미생활건강 고객을 위한 혜택

최대 적립 포인트 **840원** ?

기초적립 690원

TIP. 포인트 더 받는 방법 **+최대 7,590원**

- N + 멤버십** 최대 5% 적립, 무료 시작 > 2,760원
- N + 멤버십** 네이버, 현대카드로 결제 시 > 3,450원
- N 기본** 추천포인트로 결제 시 > 1,380원

N + 멤버십 5% 적립 포기하시겠어요? 받!

무이자할부 카드 자세히보기 ?

택배배송 무료배송

제주 추가 3,000원, 제주 외 도서지역 추가 5,000원

[배송비 절약상품 보기 >](#)

제품정보



한미생활건강 홍타민 플러스

홍삼, 비타민9종, 미네랄2종
건강기능식품
1,000mg x 60정(60g)

한미생활건강

한미생활건강 홍타민 플러스

제품명 한미생활건강 홍타민 플러스

원료명 홍삼(홍삼추출물), 비아민(비타민B1), 비아민(비타민B2), 비아민(비타민B6), 비아민(비타민B12), 비아민(비타민C), 비아민(비타민E), 비아민(비타민K), 비아민(비타민A), 비아민(비타민D), 비아민(비타민H), 비아민(비타민I), 비아민(비타민J), 비아민(비타민K), 비아민(비타민L), 비아민(비타민M), 비아민(비타민N), 비아민(비타민O), 비아민(비타민P), 비아민(비타민Q), 비아민(비타민R), 비아민(비타민S), 비아민(비타민T), 비아민(비타민U), 비아민(비타민V), 비아민(비타민W), 비아민(비타민X), 비아민(비타민Y), 비아민(비타민Z)

내용량 100g(100정) / 200g(200정) / 300g(300정) / 400g(400정) / 500g(500정) / 600g(600정) / 700g(700정) / 800g(800정) / 900g(900정) / 1000g(1000정)

제조국 대한민국

유통기한 제조일로부터 24개월

유통처 한미생활건강 (주) (서울특별시 강남구 테헤란로15길 20)

문의처 1577-2488

www.hamillife.com

영양·기능정보

1일 섭취량당

성분	함량	% 영양분기준치
에너지	8 kcal	
단백질	2 g	1%
지방	0 g	0%
탄수화물	0 mg	0%
비타민A	700 µg RE	100%
비타민D	10 µg	100%
비타민E	1.4 mg	100%
비타민K	1.2 mg	100%
나이아신	15 mg NE	100%
판토텐산	5 mg	100%
비타민B6	1.5 mg	100%
엽산	1,200 µg	300%
비타민B12	100 µg	100%
아연	8.5 mg	100%
셀레늄	55 µg	100%
진세노사이드 Ag, Rb1 및 Rg3의 합	3 mg	

※ % 영양분기준치 : 1일 영양분기준치에 대한 비율

한미침향원 프리미엄 상품화 출시

홍타민 플러스

홍삼, 비타민9종, 미네랄2종



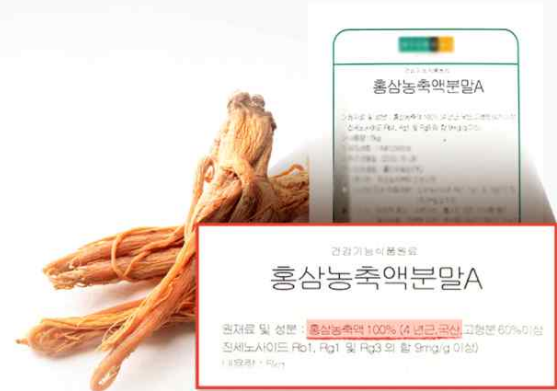
건강기능식품
1,000 mg x 60정(60 g)



01

POINT

간간하게 선별한
4년근 국산 홍삼 농축액 100%를
분말화하여 사용했습니다!



02

POINT

비타민미네랄을 포함한 12종
복합기능성분의 일일섭취량
100% 이상 보장



성분명	함량	일일섭취량 대비
비타민A	700 µg RE	100 %
비타민D	10 µg	100 %
비타민B ₁	1.2 mg	100 %
비타민B ₂	1.4 mg	100 %
나이아신	15 mg NE	100 %
판토텐산	5 mg	100 %
비타민B ₆	1.5 mg	100 %
엽산	1,200 µg	300 %
비타민C	100 mg	100 %
아연	8.5 mg	100 %
셀레늄	55 µg	100 %
프세노사이드	3 mg	

03

POINT

엄선한 부원료 6종



헛개나무추출물분말

표고버섯추출물분말

차가버섯추출물분말



TC1213복합조성물

복분자추출물분말

비오틴혼합제제
(규원 식품 이미지입니다.)

한미침향원 상세페이지

(나) 이윤스타



① 면역 기능 증진 건강기능식품 제품분석

- 현재 국내 면역 기능 증진 건강기능식품의 고시형 원료는 인삼, 홍삼, 클로렐라, 알콕시글리 세를 함유 상어간유, 알로에 겔, 상황버섯 추출물이 있고, 이 중 홍삼제품은 국내 건강기능 식품 시장 점유율 1위로 대부분의 제품들이 홍삼농축액 형태로 판매
- 홍삼 관련 면역증진 건강기능식품 제품은 아래와 같이 홍삼농축액과 쓴맛을 완화 시키기 위 해 천연물인 감초추출물, 대추농축액, 배농축액, 인삼열매농축액 등을 부원료로 활용한 제 품이 출시되고 있음

제품명	특징	제품사진
홍삼정 에브리타인	<ul style="list-style-type: none"> ▪ 주원료 : 홍삼농축액 ▪ 진세노사이드 Rg1, Rb1 및 Rg3 의 합 : 7 mg ▪ 부원료 : 감초추출물, 프로폴리스, 생강시럽농축액 ▪ 10mL × 30P 	
기력보감 스틱	<ul style="list-style-type: none"> ▪ 주원료 : 홍삼농축액 ▪ 진세노사이드 Rg1, Rb1 및 Rg3 의 합 : 4.5 mg ▪ 부원료 : 식물혼합추출농축액, 대추농축액, 배농축액, 벌꿀 ▪ 10mL × 28P 	
6년근 홍삼정 진엑스틱	<ul style="list-style-type: none"> ▪ 주원료 : 홍삼농축액 ▪ 진세노사이드 Rg1, Rb1 및 Rg3 의 합 : 13 mg ▪ 부원료 : 대추농축액, 인삼열매농축액, 동굴레농축액, 글킵질농축액 ▪ 10g × 30P 	
홍삼정 프리미엄	<ul style="list-style-type: none"> ▪ 주원료 : 홍삼농축액 ▪ 진세노사이드 Rg1, Rb1 및 Rg3 의 합 : 20 mg ▪ 부원료 : 정제수 ▪ 10mL × 30P 	

② 이문스타(면역증진 건강기능식품) 차별점 및 마케팅 전략

○ 본 연구결과를 토대로 쌍별귀뚜라미 가수분해물을 원료로한 면역증진 건강기능식품 개발

구분	특징	비고
<p>제품소개</p>	<ul style="list-style-type: none"> ▪ 주원료 : 홍삼농축액분말 ▪ 진세노사이드 Rg1, Rb1 및 Rg3 의 합 : 3 mg ▪ 부원료 : TCI213복합조성물 10% 함유 ▪ 2,000mg × 30P × 2EA 	
<p>차별점</p>	<ul style="list-style-type: none"> ▪ 한미양행 단독원료 TCI213복합조성물 사용 <ul style="list-style-type: none"> - 본 연구를 통해 개발한 쌍별귀뚜라미 가수분해물 원료 사용 - TCI213은 면역기능 개선에 좋다고 알려진 천연물(상항버섯 엑기스분말, 오가치추출분말, 도라지추출분말, 울금추출분말)이 72% 함유되어 있음 - 분말 제형으로 섭취의 용이함 	
<p>마케팅전략</p>	<ul style="list-style-type: none"> ▪ 주요고객 <ul style="list-style-type: none"> - 자사 내부 판매 네트워크 시장에 접근하는 소비자 - 편의점, 휴게소 등과 같은 오프라인 유통채널에 기존 건강기능식품을 구매하는 소비자 - 온라인 유통채널을 이용한 소비자 대상 	

1) 세포 모델에서 쌍별귀뚜라미 가수분해물의 ER 스트레스 억제, 지방축적 억제 효과 평가

1-1) 다양한 효소를 사용하여 제조한 쌍별귀뚜라미 가수분해물의 지질축적 억제 효과 평가 스크리닝

(1) HepG2 세포에서 쌍별귀뚜라미 가수분해물의 세포독성

Alcalase, Protamex, Neutrase, Flavourzyme를 이용하여 제조한 쌍별귀뚜라미 가수분해물이 Hep G2 간세포에서 세포독성을 나타내는지 확인하기 위하여 쌍별귀뚜라미 가수분해물 다양한 농도로 처리하여 세포 생존율을 측정함.

Alcalase, Protamex, Flavourzyme, Neutrase를 이용하여 제조한 쌍별귀뚜라미 가수분해물은 모두 배양액에 2% 이하로 첨가하여 24 또는 48시간 동안 배양할 경우 모두 세포 생존율을 유의적으로 감소시키지 않아 세포독성을 나타내지 않는 것으로 판단되었음(Figure 1).

따라서 추후의 실험에서 시료를 1% 또는 2% 첨가하여 진행하였음.

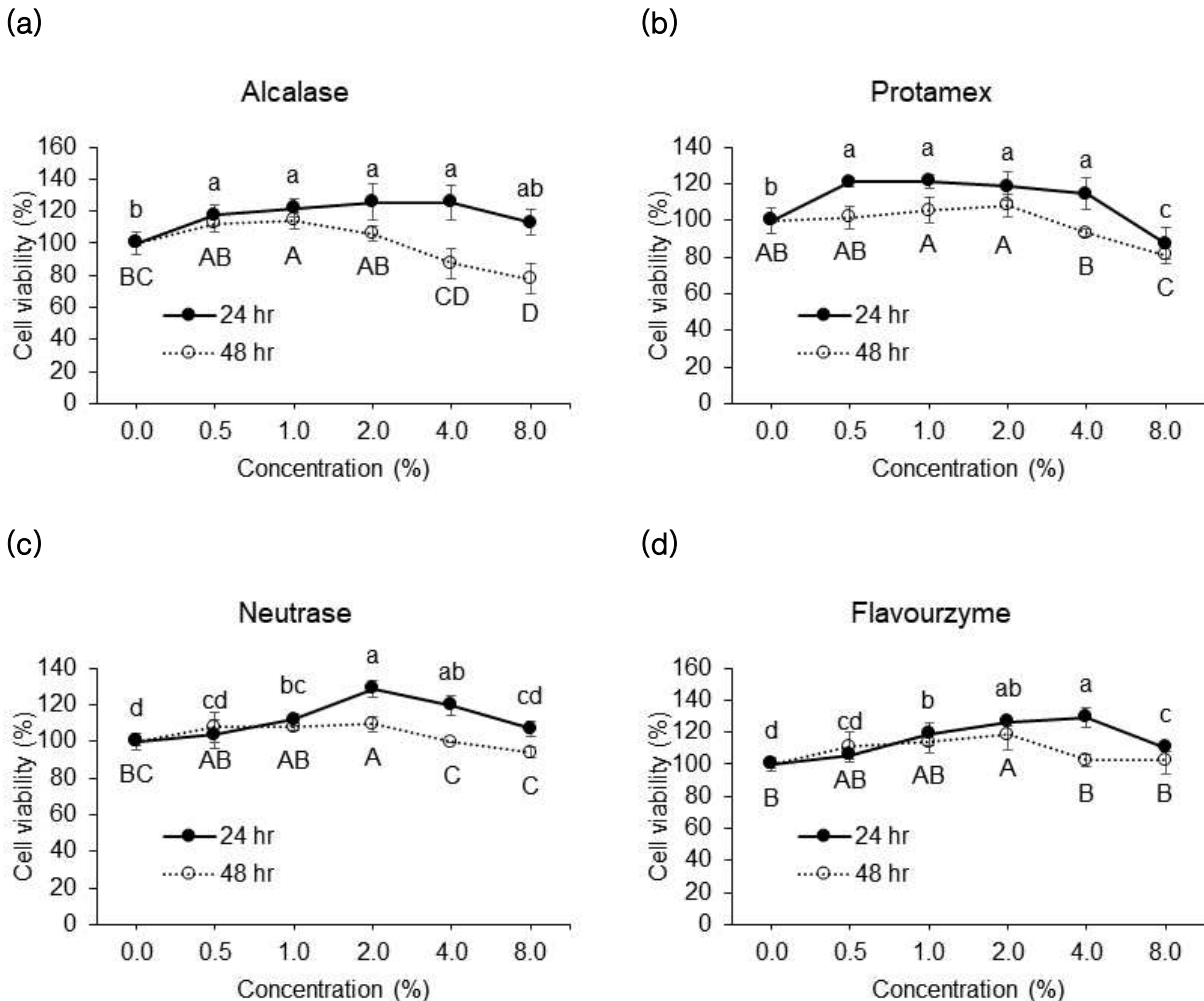


Figure 1. Cytotoxicity of two-spotted cricket hydrolysates in HepG2 cells. Two-spotted cricket powder was hydrolyzed by (a) Alcalase, (b) Protamex, (c) Flavourzyme, and (d) Neutrase. HepG2 cells were incubated with various concentrations (0, 0.5, 1, 2, 4 and 8%) of two-spotted crickets hydrolysates for 24 and 48 hours. Cell viability was determined using a water-soluble tetrazolium salt (WST-1) assay. Results are expressed

as mean \pm SD (n = 3). Statistical analysis was conducted by one-way ANOVA followed by Duncan's multiple range test. ^{a-d}Mean values with different letters in samples treated for 24 hr are significantly different at $p < 0.05$. ^{A-D}Mean values with different letters in samples treated for 48 hr are significantly different at $p < 0.05$.

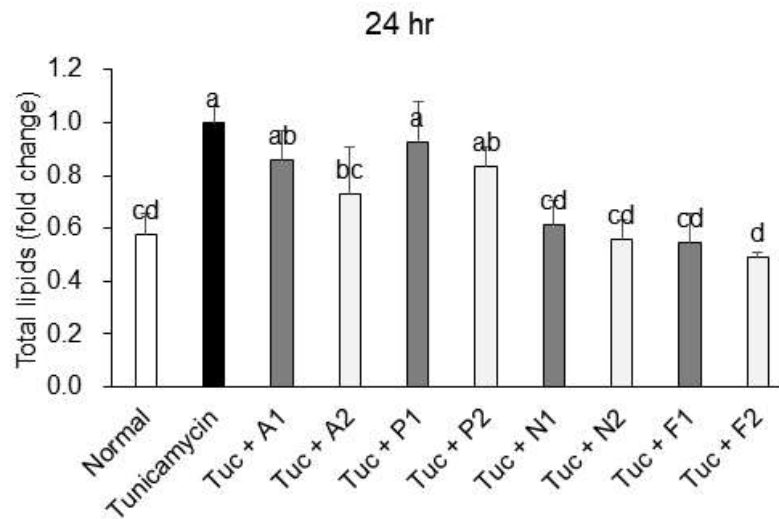
(2) 쌍별귀뚜라미 가수분해물의 지질축적 억제 효과

Alcalase, Protamex, Neutrase, Flavourzyme를 이용하여 제조한 쌍별귀뚜라미 가수분해물이 ER 스트레스로 인한 세포 내 지질축적을 억제하는지 확인하기 위하여 Oil-Red O로 염색한 세포 내 총 지질 함량을 측정함.

HepG2 세포에 tunicamycin을 24시간 또는 48시간 동안 처리한 결과 세포 내 지질축적이 유의적으로 증가하였음($p < 0.05$; Figure 2a,b). 반면, 2%의 Alcalase 가수분해물, 1%와 2%의 Neutrase 가수분해물과 1%와 2%의 Flavourzyme 가수분해물을 24시간 동안 처리한 경우 tunicamycin에 의한 지질축적 증가가 유의적으로 완화되었음($p < 0.05$; Figure 2a). 또한, 반면, 2%의 Protamex 가수분해물, 1%와 2%의 Neutrase 가수분해물과 1%와 2%의 Flavourzyme 가수분해물을 48시간 동안 처리한 경우에도 tunicamycin에 의한 지질축적 증가가 유의적으로 완화되었음($p < 0.05$; Figure 2b).

따라서, **Neutrase와 Flavourzyme 가수분해물**은 Alcalase와 Protamex 가수분해물과 비교하여 tunicamycin에 의한 세포 내 지질축적 억제 효과가 우수한 것으로 판단되었음.

(a)



(b)

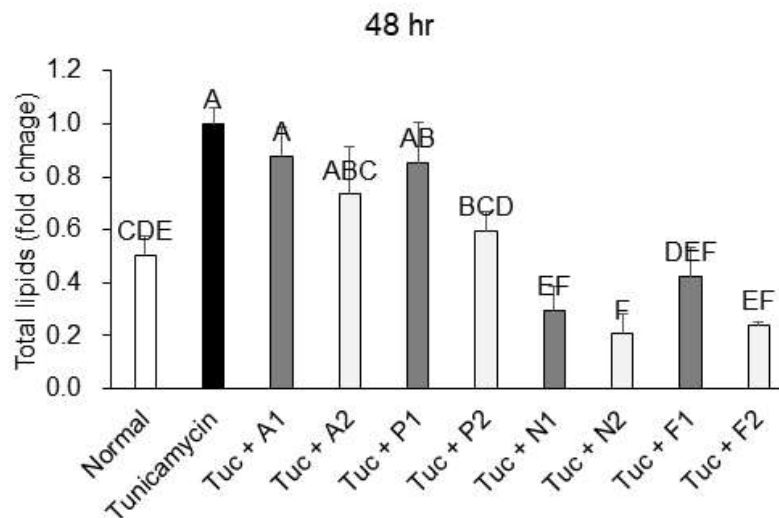


Figure 2. Effect of two-spotted cricket hydrolysates on lipid accumulation induced by tunicamycin in HepG2 cells. Two-spotted cricket powder was hydrolyzed by Alcalase, Protamex, Flavourzyme, and Neutrase. Cells were incubated with various concentrations (0, 0.5, 1, 2, 4 and 8%) of two-spotted crickets hydrolysates for (a) 24 and (b) 48 hours, and then co-incubated with 5 ug/mL tunicamycin for 24 hours. Lipid droplets in HepG2 cells were stained with Oil-Red O. The intracellular lipid content in each group was quantified by measuring absorbance at 492 nm. Results are expressed as mean \pm SD ($n = 3$). Statistical analysis was conducted by one-way ANOVA followed by Duncan's multiple range test. ^{a-d}Mean values with different letters in samples treated for 24 hr are significantly different at $p < 0.05$. ^{A-F}Mean values with different letters in samples treated for 48 hr are significantly different at $p < 0.05$.

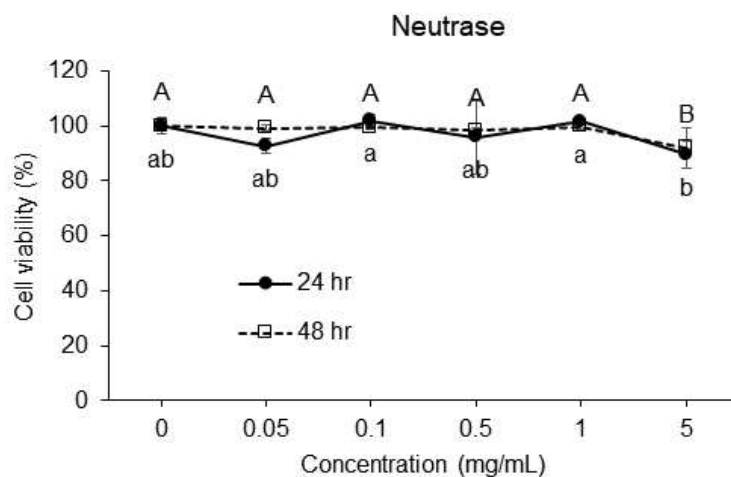
1-2) Tunicamycin을 처리한 간세포에서 쌍별귀뚜라미 가수분해물의 ER 스트레스 억제, 지방축적 억제 효과 평가

(1) HepG2 세포에서 쌍별귀뚜라미 가수분해물의 세포독성

다양한 효소를 사용하여 제조한 쌍별귀뚜라미 가수분해물의 지질축적 억제 효과 평가결과를 토대로 Neutrased와 Flavourzyme 가수분해물을 최종 시료로 선정하여 실험을 진행하였음.

Neutrased와 Flavourzyme 가수분해물의 세포독성을 측정하기 위하여 배양액에 0.05, 0.1, 0.5, 1과 5 mg/mL의 농도로 첨가하여 24시간 또는 48시간 배양함. Neutrased와 Flavourzyme 가수분해물을 1 mg/mL 이하로 첨가하여 24시간 또는 48시간 동안 배양한 경우 세포 생존율에 유의적인 차이를 나타내지 않았음(Figure 3a,b). 그러나 Neutrased와 Flavourzyme 가수분해물을 5 mg/mL의 농도로 첨가하여 24시간 또는 48시간 동안 배양한 경우 세포 생존율이 유의적으로 감소하였음($p < 0.05$; Figure 3a,b).

(a)



(b)

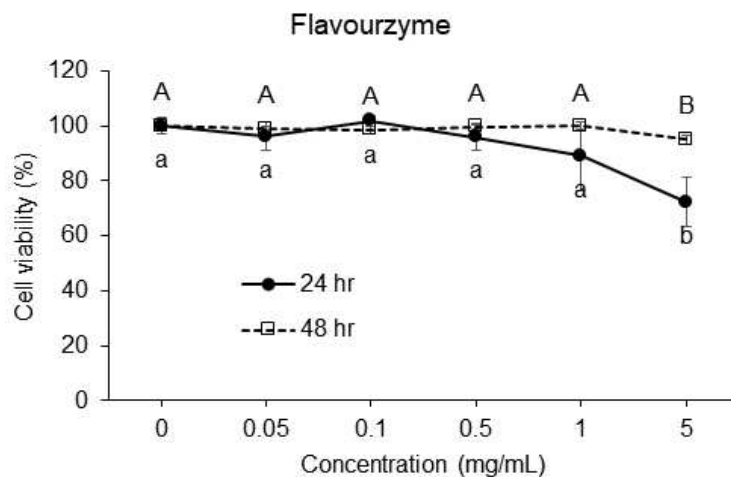


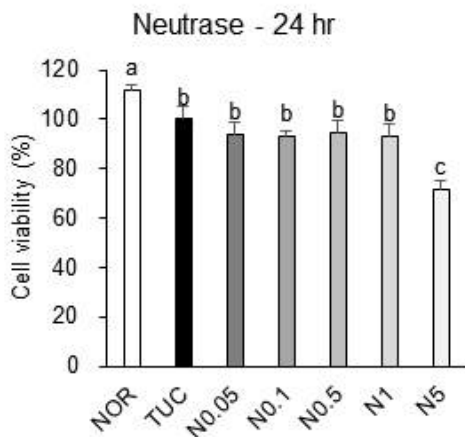
Figure 3. Effect of two-spotted cricket hydrolysates on cell viability in HepG2 cells. Cells were incubated with various concentrations (0, 0.05, 0.1, 0.5, 1, and 5 mg/mL) of two-spotted cricket hydrolyzed by (a) Neutrased and (b) Flavourzyme for 24 and 48 hours. Cell viability was measured by using a water-soluble tetrazolium salt (WST-1) assay. Results are expressed as mean \pm SD ($n = 3$). Statistical analysis was conducted by one-way ANOVA followed by Duncan's multiple range test. ^{a,b}Mean values with different letters in samples treated for 24 hr are significantly different at $p < 0.05$. ^{A,B}Mean values with different letters in samples treated for 48 hr are significantly different at $p < 0.05$

(2) Tunicamycin을 처리한 HepG2 세포에서 쌍별귀뚜라미 가수분해물이 세포 생존율에 나타내는 영향

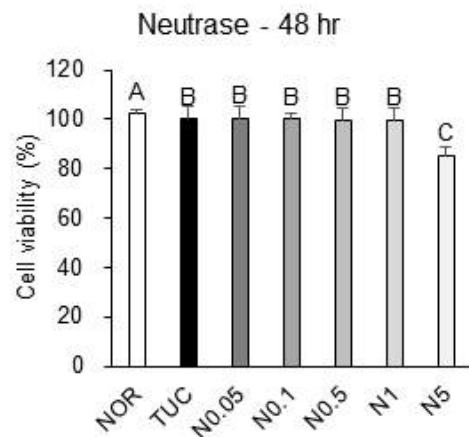
HepG2 간세포에 tunicamycin을 24 또는 48시간 처리한 경우 정상 대조군(NOR)에 비하여 세포 생존율이 감소하였음(Figure 4a-d). Neutralse와 Flavourzyme 가수분해물을 24시간 또는 48시간 동안 1 mg/mL 이하로 처리할 경우 세포 생존율이 tunicamycin을 단독으로 처리한 군(TUC)과 비교하여 유의적으로 다르지 않았으나(Figure 4a-d), 5 mg/mL을 첨가한 경우, 유의적으로 감소하였음($p < 0.05$; Figure 4a-d).

따라서 추후 효능평가를 위한 실험농도를 세포독성이 나타나지 않는 농도인 0.5와 1 mg/mL로 설정하였음.

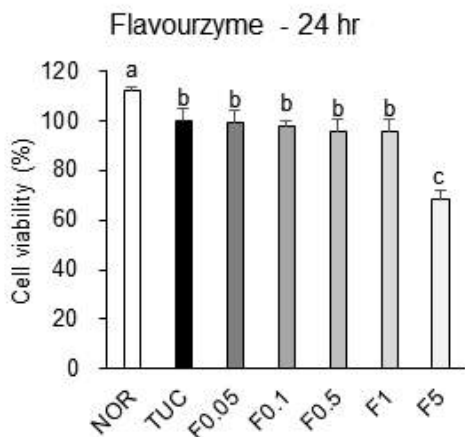
(a)



(b)



(c)



(d)

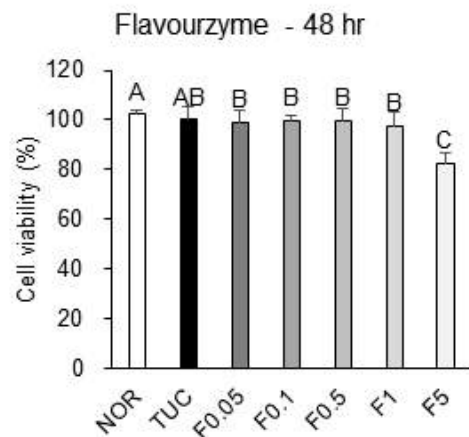


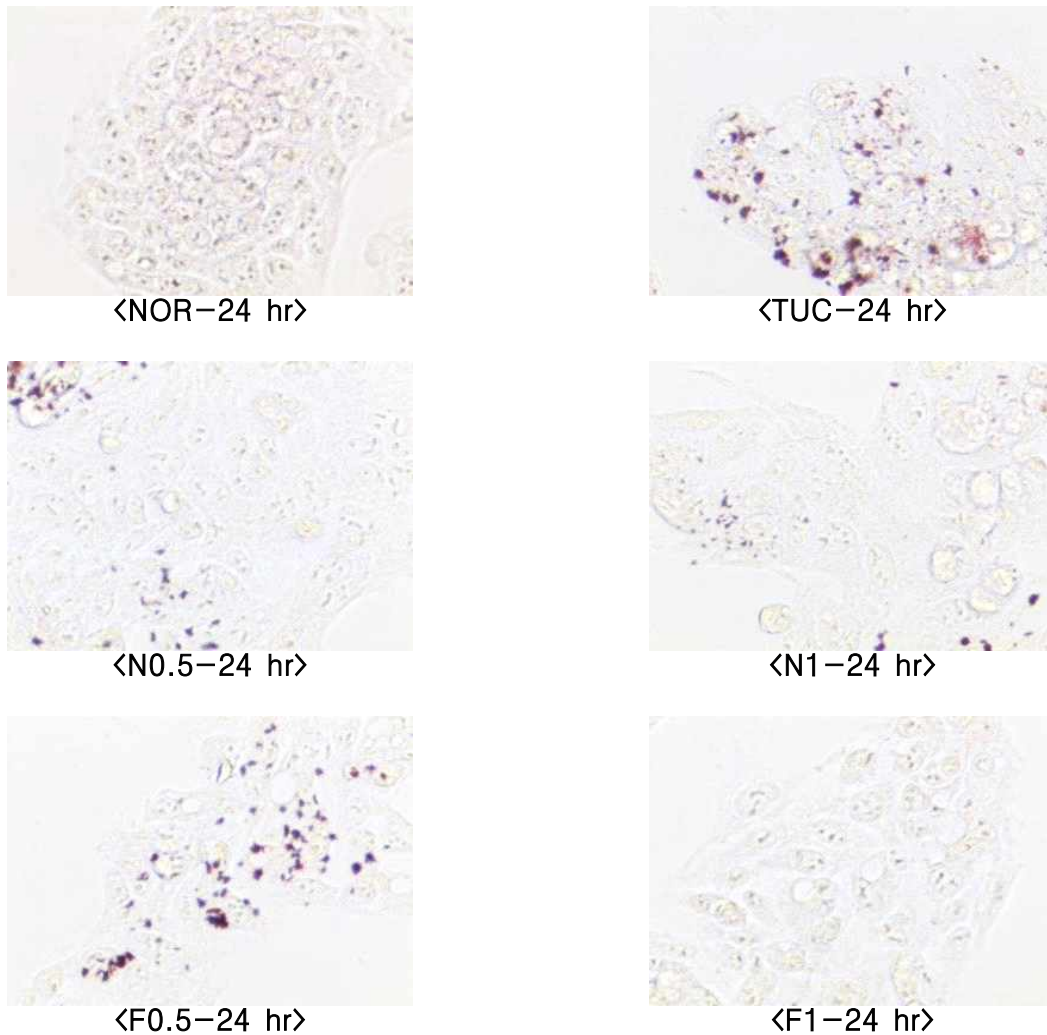
Figure 4. Effect of two-spotted cricket hydrolysates on cell viability in HepG2 cells treated with tunicamycin. Cells were incubated with various concentrations (0, 0.05, 0.1, 0.5, 1, and 5 mg/mL) of two-spotted cricket hydrolyzed by (a, b) Neutralse and (c, d) Flavourzyme for 24 and 48 hours. The cells were co-incubated with 5 ug/mL tunicamycin for another 24 hours. Cell viability was measured by using a water-soluble tetrazolium salt (WST-1) assay. Results are expressed as mean \pm SD ($n = 3$). Statistical analysis was conducted by one-way ANOVA followed by Duncan's multiple range test. ^{a-c}Mean values with different letters in samples treated for 24 hr are significantly different at $p < 0.05$. ^{A-C}Mean values with different letters in samples treated for 48 hr are significantly different at $p < 0.05$. NOR, normal; TUC, tunicamycin.

(3) Tunicamycin을 처리한 HepG2 세포에서 쌍별귀뚜라미 가수분해물의 세포 내 지질축적 억제 효과

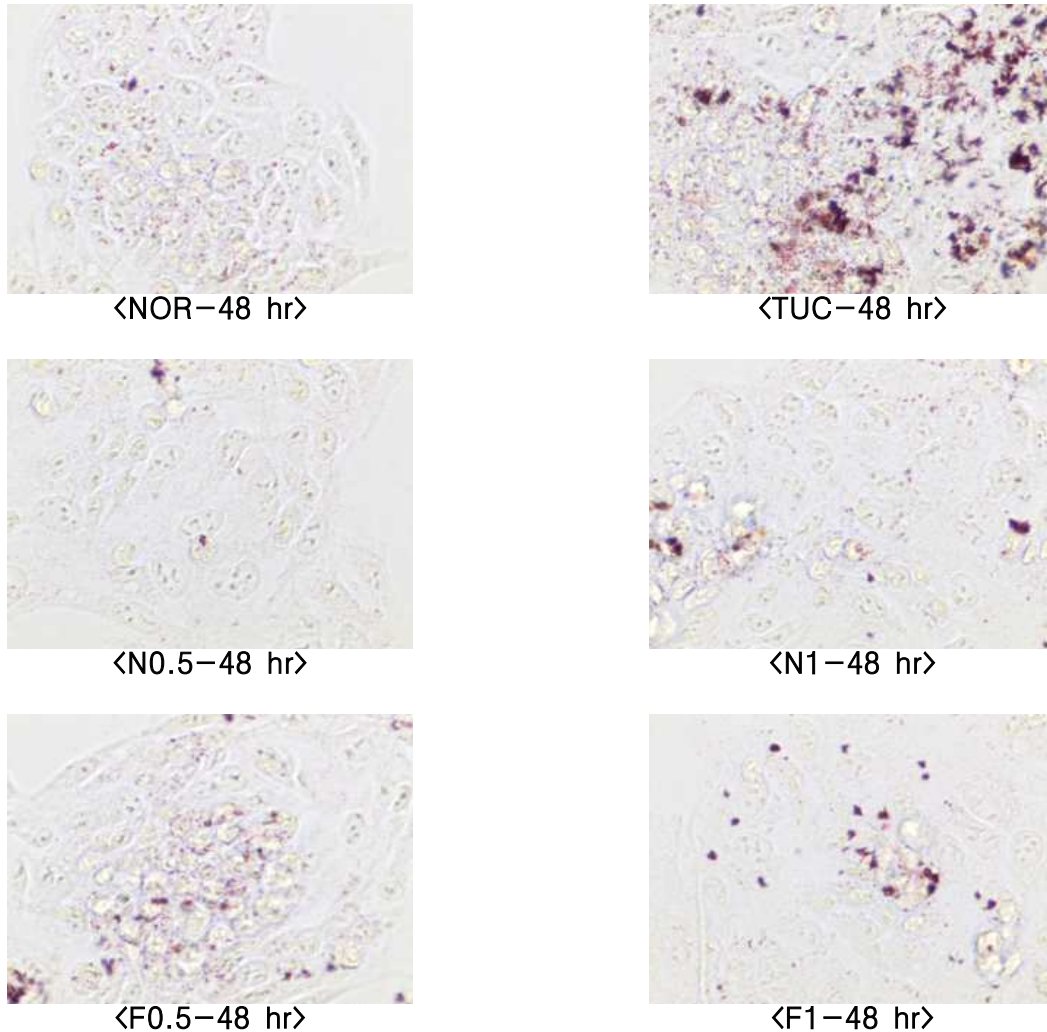
세포 내 지질 함량을 측정하기 위하여 세포 내 지질을 Oil-red O 용액으로 염색하였음(Figure 5a,b). Oil-red O 용액을 용출시켜 흡광도를 측정하여 정량한 결과 tunicamycin에 의하여 세포 내 지질 함량이 정상 대조군(NOR)에 비하여 유의적으로 증가하였음($p < 0.05$; Figure 5c,d). 반면, 0.5와 1 mg/mL의 Neutrase 가수분해물과 1 mg/mL의 Flavourzyme 가수분해물을 24시간 동안 처리한 결과 세포 내 지질 함량이 tunicamycin 처리 대조군과 비교하여 유의적으로 감소하였음($p < 0.05$; Figure 5c). 또한 Neutrase 가수분해물과 Flavourzyme 가수분해물을 48시간 동안 처리한 경우에는 모든 농도에서 세포 내 지질 함량이 tunicamycin 처리 대조군과 비교하여 유의적으로 감소하였음($p < 0.05$; Figure 5d).

따라서 Neutrase 가수분해물과 Flavourzyme 가수분해물은 tunicamycin에 의한 지질축적을 효과적으로 완화하는 것으로 판단되었음.

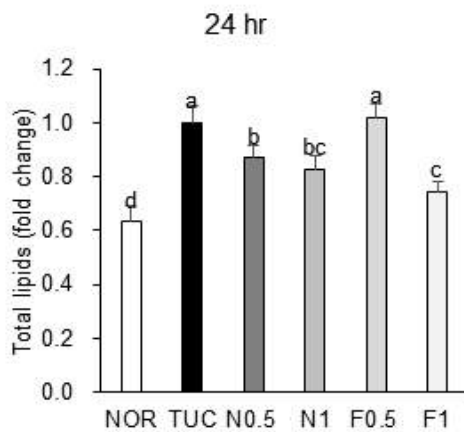
(a)



(b)



(c)



(d)

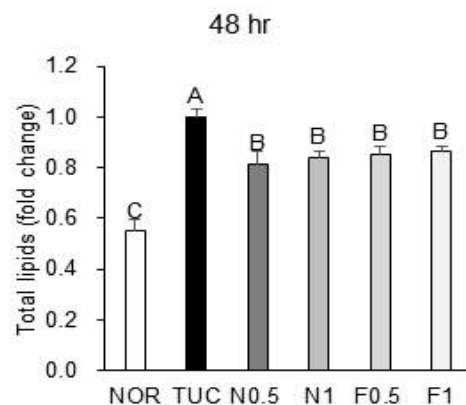


Figure 5. Effect of two-spotted cricket hydrolysates on intracellular lipid accumulation in HepG2 cells treated with tunicamycin. Cells were incubated with 0.5 and 1 mg/mL of two-spotted cricket hydrolysates for 24 and 48 hours. The cells were then treated with 5 ug/mL tunicamycin for another 24 hours. **(a, b)** Lipid droplets in cells were stained with Oil-Red O and reviewed under an optical microscope (magnification x400). **(c, d)** The intracellular lipid content in each group was quantified by measuring absorbance at 492 nm. Results are expressed as mean \pm SD ($n = 3$). Statistical analysis was conducted by one-way ANOVA followed by Duncan's multiple range test. ^{a-c}Mean values with different letters in samples treated for 24 hr are significantly different at $p < 0.05$. ^{A,B}Mean

values with different letters in samples treated for 48 hr are significantly different at $p < 0.05$. NOR, normal; TUC, tunicamycin.

(4) Tunicamycin을 처리한 HepG2 세포에서 쌍별귀뚜라미 가수분해물의 세포 내 중성지방과 총콜레스테롤 농도의 조절 효과

세포 내 중성지방과 총콜레스테롤 농도는 tunicamycin에 의하여 증가하였으나, 통계적으로 유의하지는 않았음 (Figure 6a-d). 세포 내 중성지방은 Neutrase 가수분해물과 Flavourzyme 가수분해물을 48시간 동안 처리한 경우 모든 처리 농도에서 tunicamycin 처리 대조군과 비교하여 감소하였으나 통계적으로 유의하지는 않았음 (Figure 6b).

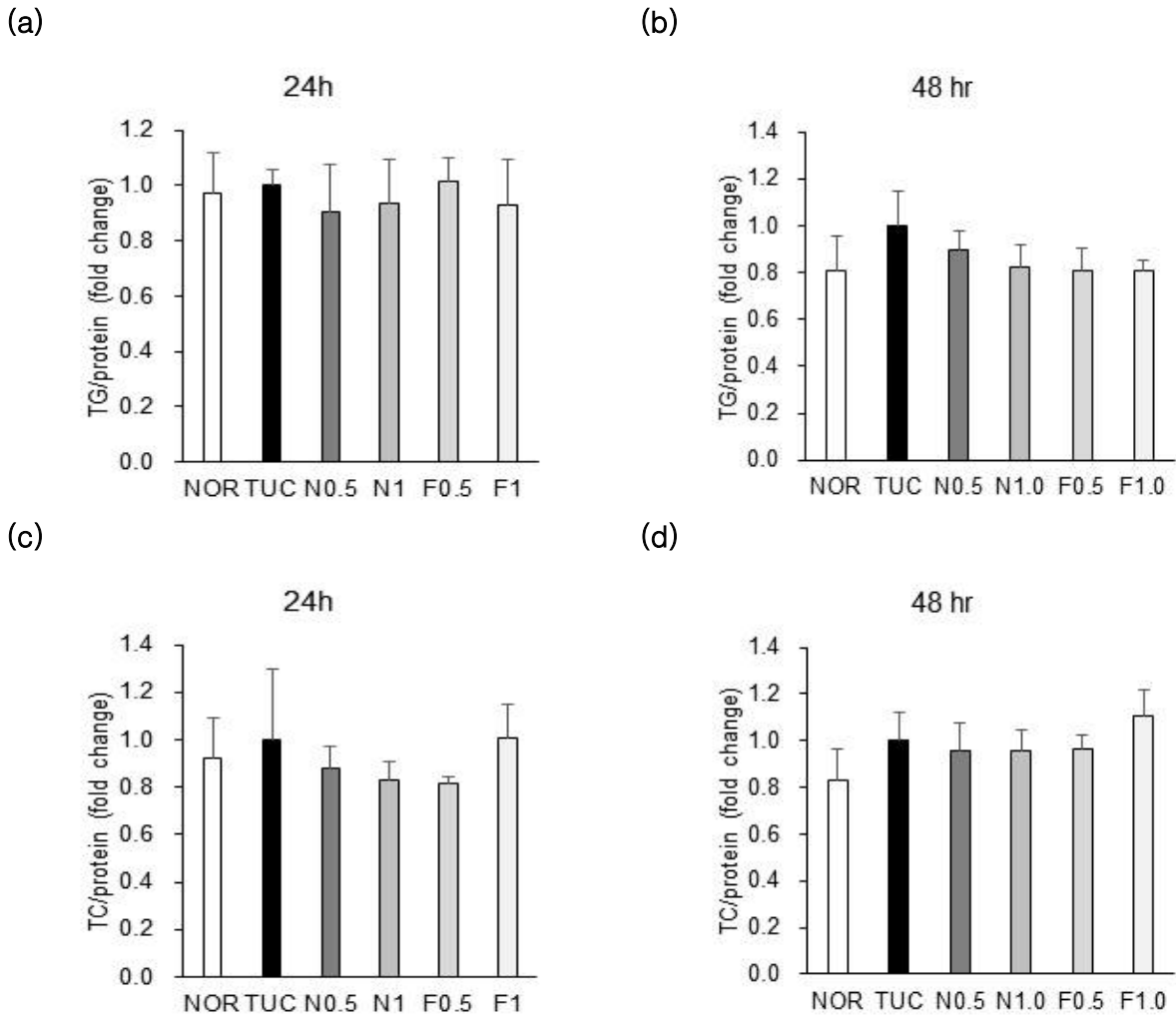


Figure 6. Effect of two-spotted cricket hydrolysates on intracellular levels of triglyceride and total cholesterol in HepG2 cells treated with tunicamycin. Cells were incubated with 0.5 and 1 mg/mL of two-spotted cricket hydrolysates for 24 and 48 hours. The cells were then treated with 5 ug/mL tunicamycin for another 24 hours. The levels of (a, b) TG and (c, d) TC were measured using a commercial kit according to the manufacturers instructions. Results are expressed as mean \pm SD (n = 3). Statistical analysis was conducted by one-way ANOVA followed by Duncan's multiple range test at $p < 0.05$. NOR, normal; TUC, tunicamycin; TG, triglycerides; TC, total cholesterol.

(5) Tunicamycin을 처리한 HepG2 세포에서 쌍별귀뚜라미 가수분해물의 AST와 ALT 분비 조절 효과

Neutrase 가수분해물과 Flavourzyme 가수분해물을 24시간 동안 처리하여 배양한 경우에는 배양액의 AST와 ALT 농도가 군 간에 유의적으로 다르지 않았음(Figure 7a,c). Neutrase 가수분해물과 Flavourzyme 가수분해물을 48시간 동안 처리한 세포 배양액의 AST 농도는 tunicamycin에 의하여 유의적으로 증가하였으나($p < 0.05$; Figure 7b), 가수분해물 처리에 따라 유의적으로 달라지지 않았음(Figure 7b). Neutrase 가수분해물과 Flavourzyme 가수분해물을 48시간 동안 처리한 세포의 배양액 중 ALT 농도는 tunicamycin 처리 대조군과 비교하여 1 mg/mL의 Neutrase 가수분해물과 0.5와 1 mg/mL의 Flavourzyme 가수분해물을 처리한 군에서 유의적으로 증가하였음($p < 0.05$; Figure 7d).

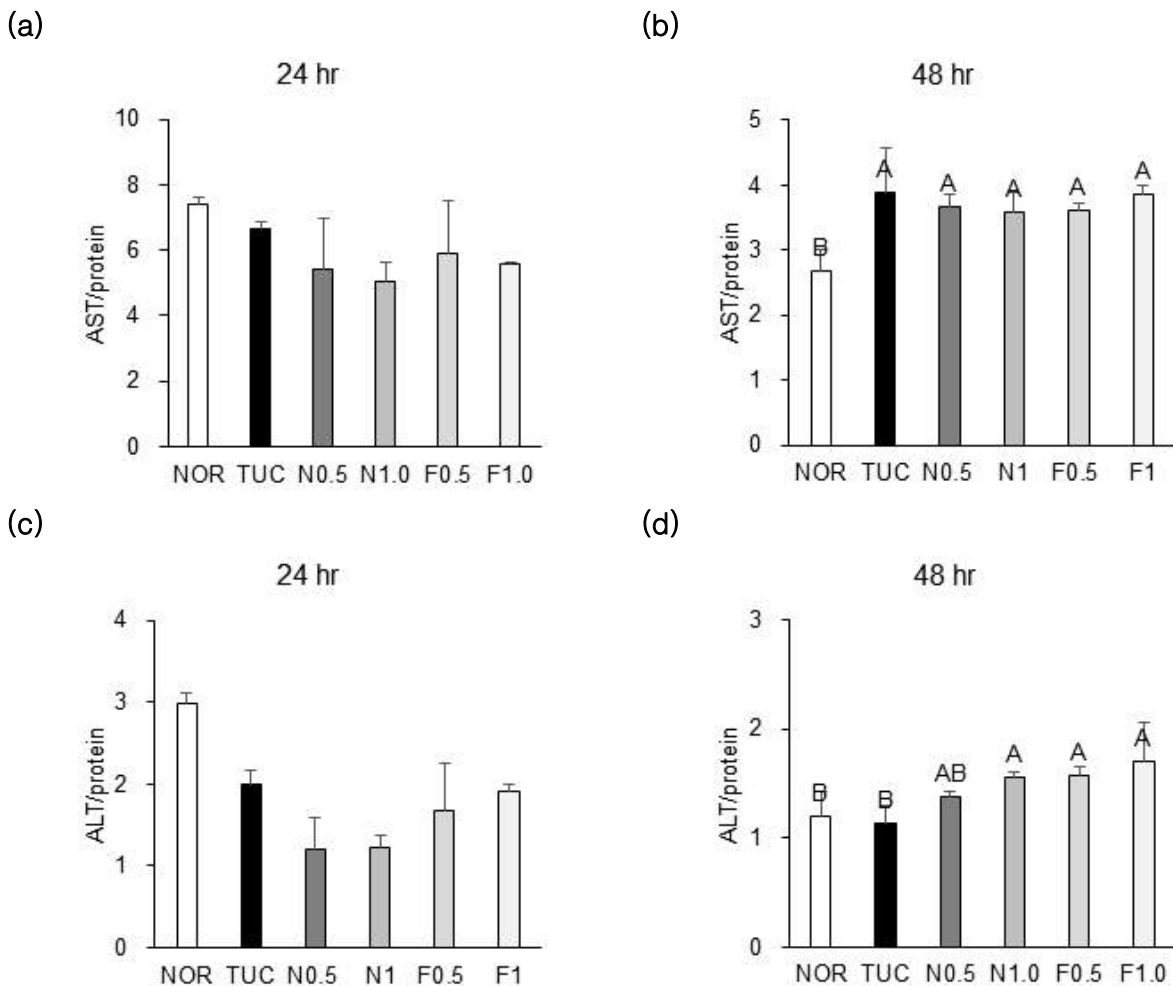


Figure 7. Effect of two-spotted cricket hydrolysates on the levels of AST and ALT in culture medium of HepG2 cells treated with tunicamycin. Cells were incubated with 0.5 and 1 mg/mL of two-spotted cricket hydrolysates for 24 and 48 hours. The cells were then treated with 5 ug/mL tunicamycin for another 24 hours. The levels of (a, b) AST and (c, d) ALT were measured using a commercial kit according to the manufacturers instructions. Results are expressed as mean \pm SD ($n = 3$). Statistical analysis was conducted by one-way ANOVA followed by Duncan's multiple range test. ^{A,B}Mean values with different letters in samples treated for 48 hr are significantly different at $p < 0.05$. NOR, normal; TUC, tunicamycin; AST, aspartate transaminase; ALT, alanine transaminase.

(6) Tunicamycin을 처리한 HepG2 세포에서 쌍별귀뚜라미 가수분해물의 지방생성 관련 유전자 발현 조절 효과

쌍별귀뚜라미 가수분해물이 tunicamycin에 의한 지방축적을 억제하는 기전을 규명하기 위하여 지방생성에 관여하는 유전자의 발현을 측정하였음. PPAR- γ (peroxisome proliferator activated receptor γ)는 지질대사에 주로 관여하는 전사인자로, LPL(lipoprotein lipase)과 FAT/CD36, FATP5, FABP4/5와 같이 지방산의 흡수, 수송에 관여하는 단백질의 발현을 촉진함. SREBP(sterol regulatory element-binding protein)는 지질의 합성과 지질 uptake에 관여하는 유전자의 발현을 조절하는 전사인자이며, isoform인 SREBP-1c는 FASN(fatty acid synthase)의 발현을 촉진함. Fatty acid synthase(FAS)는 지방산 합성을 촉매하는 다중 효소 단백질임.

Tunicamycin을 처리한 세포에서 FASN, SREBP-1c, PPARG의 mRNA 발현 수준은 모든 배양 시간에서 비처리 대조군에 비하여 낮았으나, 통계적으로 유의하지는 않았음(Figure 8a-f). 쌍별귀뚜라미 가수분해물을 24 또는 48시간 동안 처리하여 배양한 경우, 모든 농도에서 tunicamycin에 의한 FASN, SREBP-1c, PPARG의 mRNA 발현 감소가 완화되는 것으로 보였으나, 유의적으로 다르지는 않았음(Figure 8a-f).

따라서 Neutrase 가수분해물과 Flavourzyme 가수분해물이 tunicamycin에 의한 지방축적을 완화하는 효과는 지방생성에 관여하는 유전자의 발현 조절과 관련이 낮은 것으로 판단됨.

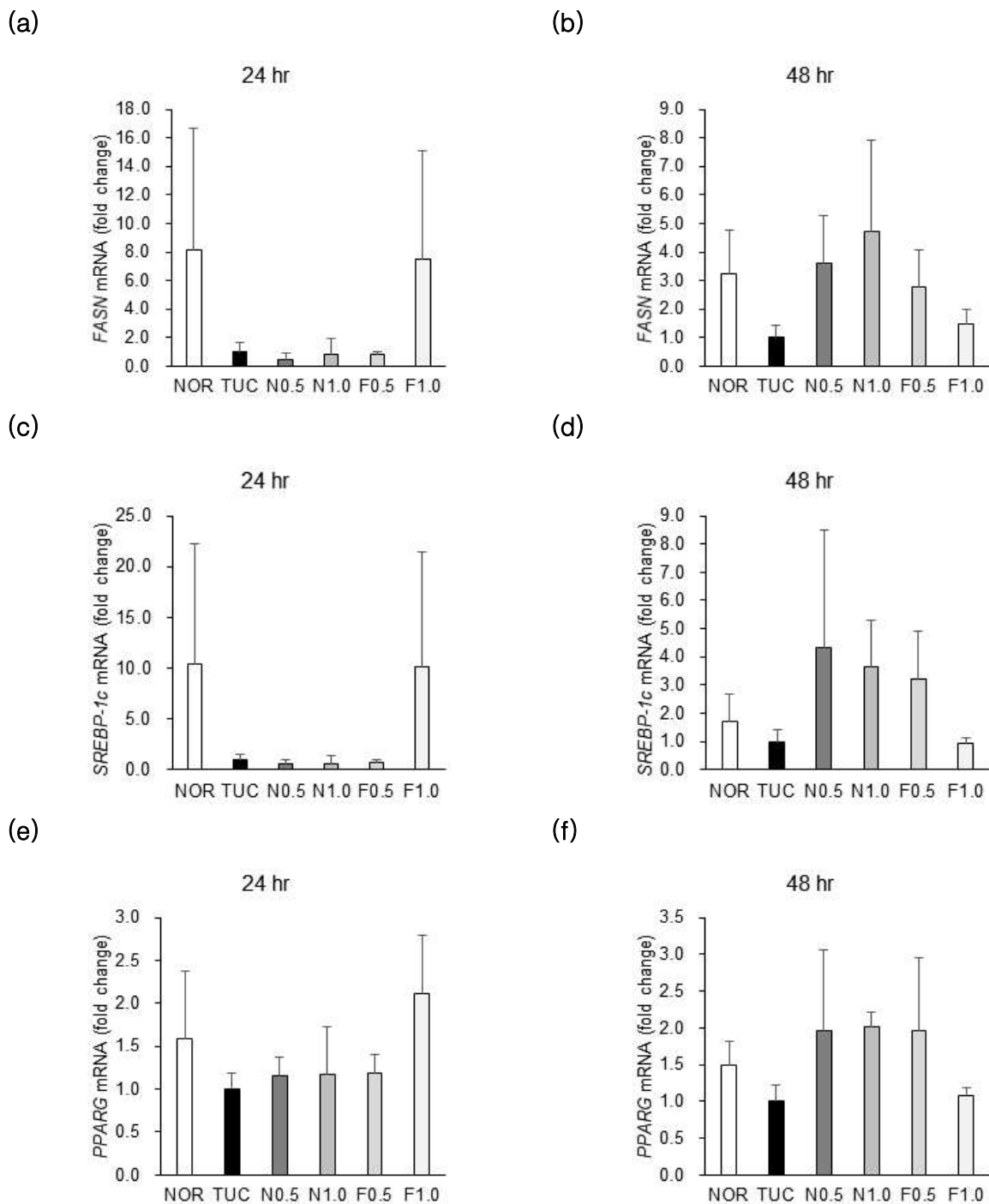


Figure 8. Effect of two-spotted cricket hydrolysates on the mRNA expression levels of lipogenic genes in HepG2 cells treated with tunicamycin. Cells were incubated with 0.5 and 1 mg/mL of two-spotted cricket hydrolysates for 24 and 48 hours. The cells were then treated with 5 μ g/mL tunicamycin for another 24 hours. The mRNA levels of (a, b) FASN, (c, d) SREBP-1c, and (e, f) PPARG were measured using quantitative real-time PCR and normalized to *RPLP0*. Results are expressed as mean \pm SD ($n = 3$). Statistical analysis was conducted by one-way ANOVA followed by Duncan's multiple range test at $p < 0.05$. NOR, normal; TUC, tunicamycin; FASN, fatty acid synthase; SREBP-1c, ; PPARG, peroxisome proliferator activated receptor gamma; RPLP0, ribosomal protein, large, P0.

(7) Tunicamycin을 처리한 HepG2 세포에서 쌍별귀뚜라미 가수분해물의 소포체 스트레스 관련 유전자발현 억제 효과

소포체 스트레스가 증가하면 세포는 생존하기 위한 방어기전을 나타냄. 세포에 소포체 스트레스가 발생하면 단백질의 folding 능력을 향상하기 위하여 BIP(binding immunoglobulin protein) 과 같은 샤페론(chaperon)의 발현이 유도됨. 세포가 소포체 스트레스를 극복하지 못하면 CHOP(C/EBP homologus protein) 등에 의하여 세포 자연사 경로가 활성화됨.

본 연구에서 tunicamycin은 모든 배양시간에서 BIP과 CHOP의 mRNA 발현을 유의적으로 증가시켰음($p < 0.05$; Figure 9a-d). BIP mRNA는 0.5 mg/mL의 Neutrase 가수분해물과 0.5와 1 mg/mL의 Flavourzyme 가수분해물을 24시간 처리한 경우와 0.5와 1 mg/mL의 Neutrase 가수분해물과 0.5 mg/mL의 Flavourzyme 가수분해물을 24시간 처리한 경우에 tunicamycin만 처리한 대조군에 비하여 유의적으로 증가하였음($p < 0.05$; Figure 9a,b). 쌍별귀뚜라미 가수분해물에 의한 BIP mRNA의 발현 증가는 ER 스트레스로부터 회복하기 위한 단백질의 folding 능력 향상에 관여할 수 있을 것으로 사료됨.

CHOP mRNA는 0.5와 1 mg/mL의 Neutrase 가수분해물과 0.5 mg/mL의 Flavourzyme 가수분해물을 24시간 처리한 경우 tunicamycin만 처리한 대조군에 비하여 감소하였으나, 통계적으로 유의하지는 않았음(Figure 9c). 반면 0.5와 1 mg/mL의 Neutrase 가수분해물과 0.5 mg/mL의 Flavourzyme 가수분해물을 48시간 처리한 경우에는 CHOP mRNA는 tunicamycin만 처리한 대조군에 비하여 유의적으로 증가하였음($p < 0.05$; Figure 9d).

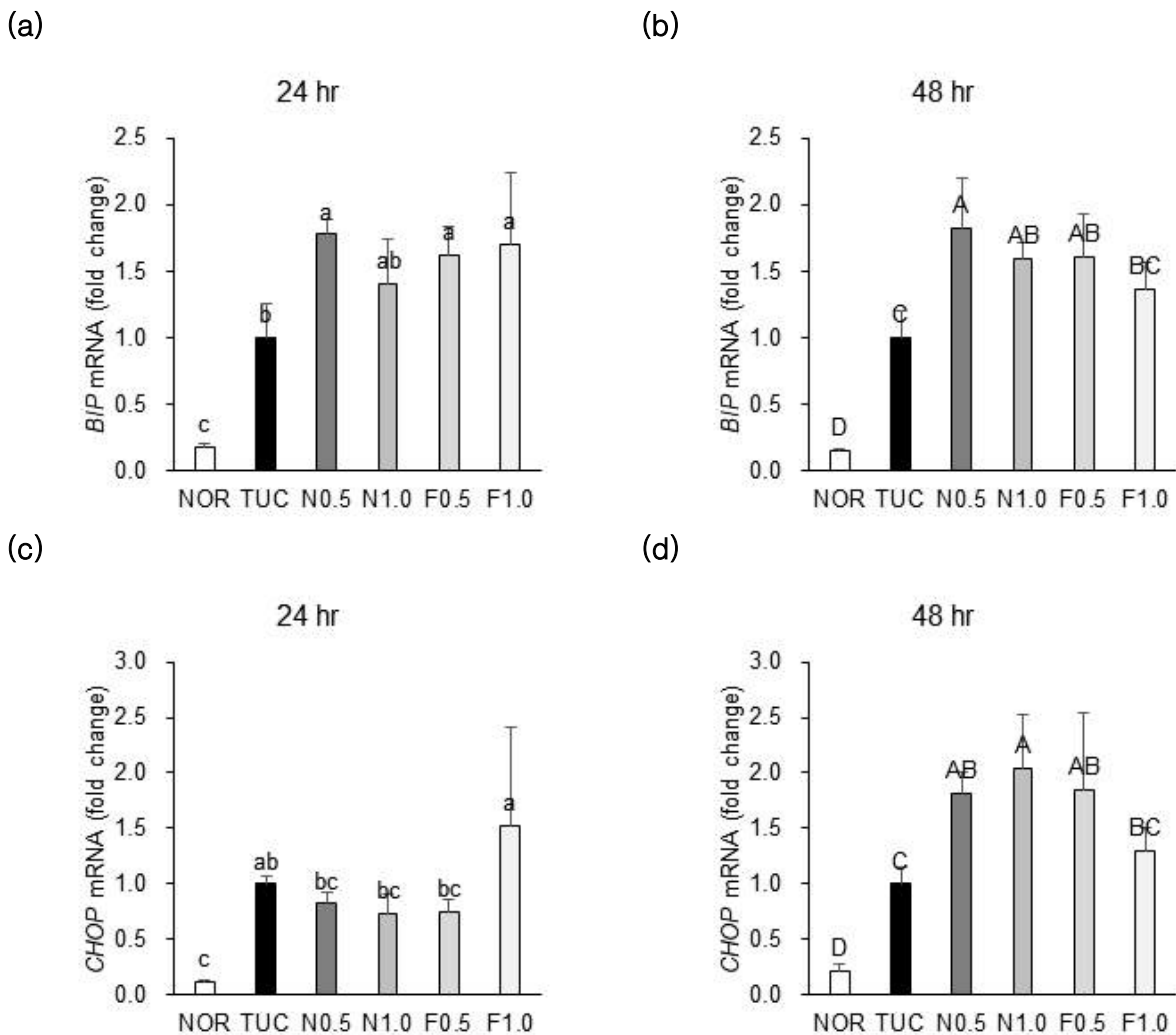


Figure 9. Effect of two-spotted cricket hydrolysates on the mRNA expression levels of ER stress-related genes in HepG2 cells treated with tunicamycin. Cells were incubated with 0.5 and 1 mg/mL of two-spotted cricket hydrolysates for 24 and 48 hours. The cells were then treated with 5 ug/mL tunicamycin for another 24 hours. The mRNA levels of **(a, b)** BIP and **(c, d)** CHOP were measured using quantitative real-time PCR and normalized to *RPLP0*. Results are expressed as mean \pm SD (n = 3). Statistical analysis was conducted by one-way ANOVA followed by Duncan' s multiple range test. ^{a-c}Mean values with different letters in samples treated for 24 hr are significantly different at $p < 0.05$. ^{A-D}Mean values with different letters in samples treated for 48 hr are significantly different at $p < 0.05$. NOR, normal; TUC, tunicamycin; BIP, binding immunoglobulin protein; CHOP, C/EBP homologous protein; RPLP0, ribosomal protein, large, P0.

1-3) Palmitic acid를 처리한 간세포에서 쌍별귀뚜라미 가수분해물의 ER 스트레스 억제, 지방축적 억제 효과 평가

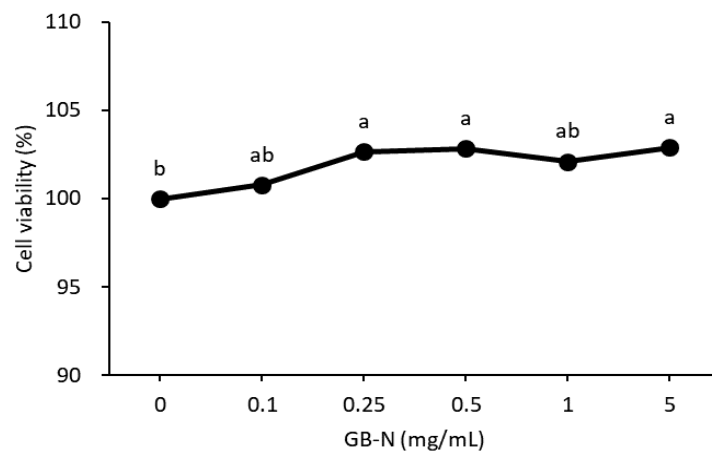
(1) HepG2세포에서 쌍별귀뚜라미 가수분해물의 세포독성

Neutrased와 Flavourzyme을 이용하여 제조한 쌍별귀뚜라미 가수분해물이 HepG2세포에서 세포독성을 나타내는지 평가하기 위하여 세포생존률을 측정하였음.

Neutrased를 이용하여 제조한 쌍별귀뚜라미 가수분해물(GB-N)을 HepG2 세포에 0.25, 0.5와 5 mg/mL의 농도로 처리한 경우 대조군(0 mg/mL)과 비교하여 세포증식률이 유의적으로 증가함($p < 0.05$; Figure 10a). Flavourzyme을 이용하여 제조한 쌍별귀뚜라미 가수분해물(GB-F)을 0.5 mg/mL의 농도로 처리한 경우 대조군(0 mg/mL)과 비하여 세포 생존율이 유의적으로 증가함($p < 0.05$; Figure 10b).

따라서 GB-N과 GB-F은 0.1-5 mg/mL의 농도에서 세포독성을 나타내지 않으며, 오히려 0.25, 0.5와 5 mg/mL의 GB-N과 0.5 mg/mL의 GB-F는 세포증식을 촉진하는 것으로 판단됨.

(a)



(b)

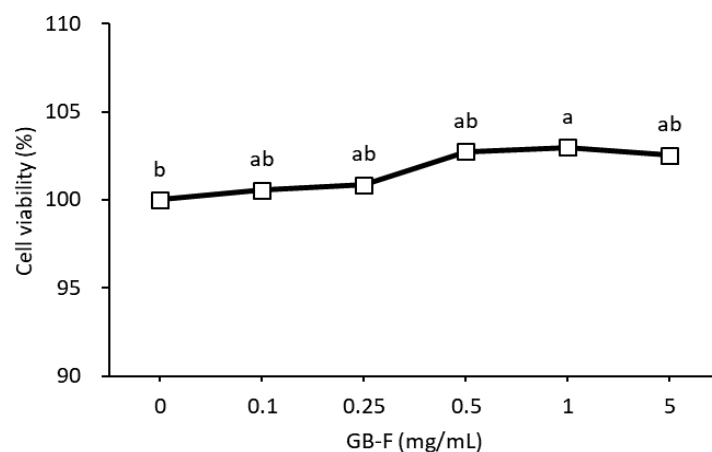


Figure 10. Effect of two-spotted cricket hydrolysates on cell viability in HepG2 cells. Cells were incubated with various concentrations (0, 0.1, 0.25, 0.5, 1, and 5 mg/mL) of two-spotted cricket hydrolyzed by (a) Neutrased (GB-N) and (b) Flavourzyme (GB-F) for 24 hours. Cell viability was measured by using a water-soluble tetrazolium salt (WST-1) assay. Results are expressed as mean \pm SD ($n = 3$). Statistical analysis was conducted by one-way ANOVA followed by Tukey's multiple range test. ^{a,b}Mean values with different letters in samples treated for 24 hr are significantly different at $p < 0.05$.

(2) Palmitic acid을 처리한 HepG2 세포에서 쌍별귀뚜라미 가수분해물이 세포 생존율에 나타내는 영향

쌍별귀뚜라미 가수분해물이 palmitic acid(PA)에 의한 세포독성을 완화할 수 있는지 평가하였음.

PA를 처리한 세포는 BSA 대조군과 비교하여 세포 생존율이 유의하게 감소함($p < 0.05$; Figure 11). 반면 GB-N 또는 GB-F를 0.25, 0.5와 1 mg/mL의 농도로 처리한 경우에는 PA로 인한 세포 생존율의 감소가 유의적으로 억제되었음($p < 0.05$; Figure 11).

따라서 GB-N과 GB-F는 PA로 인한 세포독성을 완화하는 것으로 판단됨.

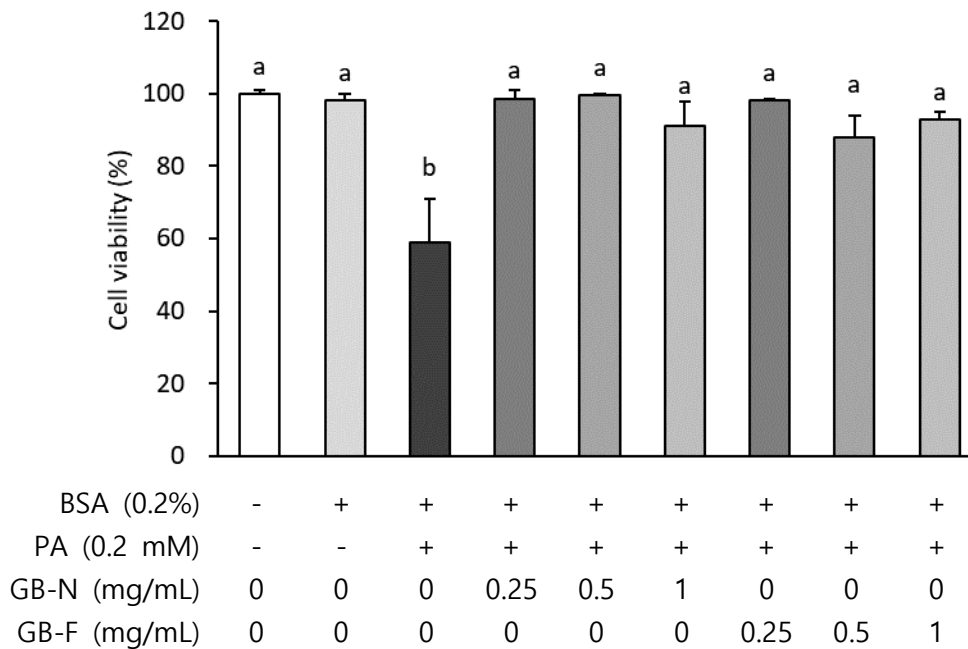


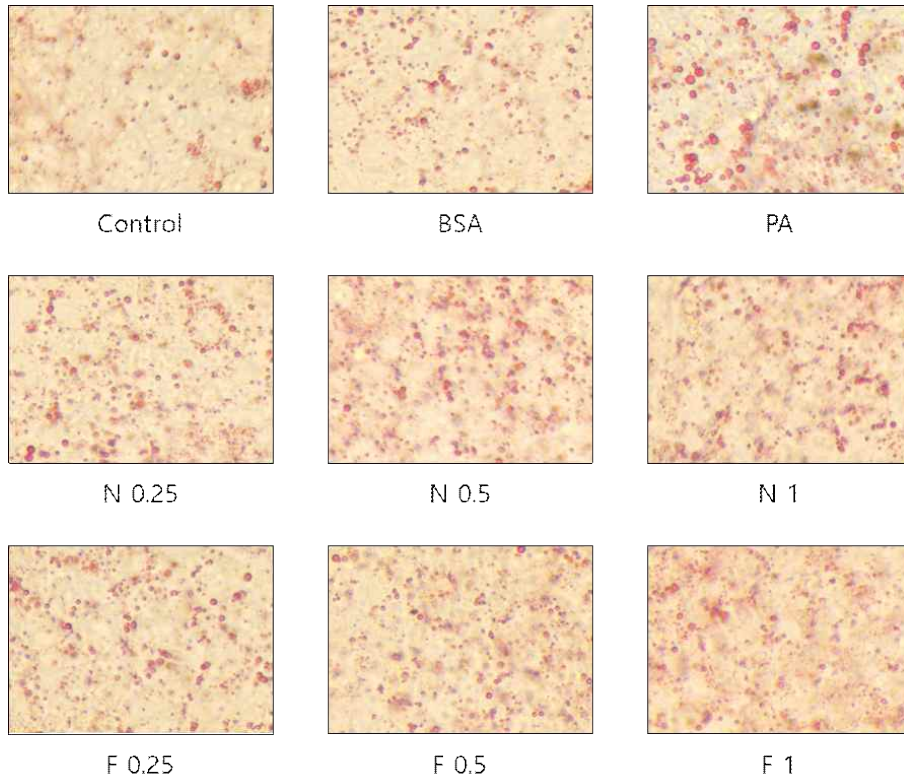
Figure 11. Effects of two-spotted cricket hydrolysates on cell viability in HepG2 cells treated with palmitic acid (PA). Cells were incubated with various concentrations (0, 0.25, 0.5, and 1 mg/mL) of two-spotted cricket hydrolyzed by Neutrased (GB-N) and Flavourzyme (GB-F) for 24 hours. The cells were co-incubated with 0.2 μ M PA conjugated with bovine serum albumin (BSA) for another 24 hours. Cell viability was measured by using a water-soluble tetrazolium salt (WST-1) assay. Results are expressed as mean \pm SD ($n = 3$). Statistical analysis was conducted by one-way ANOVA followed by Tukey's multiple range test. ^{a,b}Mean values with different letters in samples treated for 24 hr are significantly different at $p < 0.05$.

(3) Palmitic acid을 처리한 HepG2 세포에서 쌍별귀뚜라미 가수분해물의 세포 내 지질축적 억제 효과

세포 내 지질농도를 측정하기 위하여 Oil-Red O(ORO) 용액으로 세포 내 지질을 염색하였음 (Figure 12a). ORO 용액을 용출시켜 세포 내 지질농도를 측정한 결과 PA를 처리한 세포는 BSA 대조군과 비교하여 세포 내 지질 함량이 유의하게 높았음($p < 0.05$; Figure 12b). 반면 GB-N 또는 GB-F를 0.25, 0.5와 1 mg/mL의 농도로 처리한 군에서는 세포 내 지질 함량이 PA만 처리한 대조군에 비하여 유의적으로 낮았음($p < 0.05$; Figure 12b).

따라서 GB-N과 GB-F는 PA로 인한 세포 내 지질축적을 효과적으로 완화하는 것으로 판단됨.

(a)



(b)

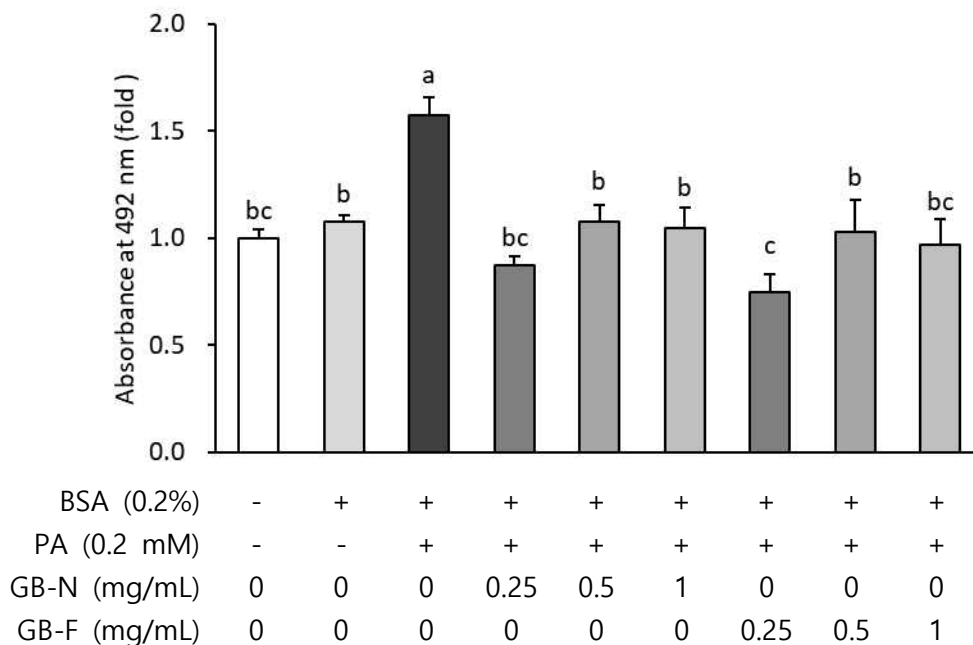


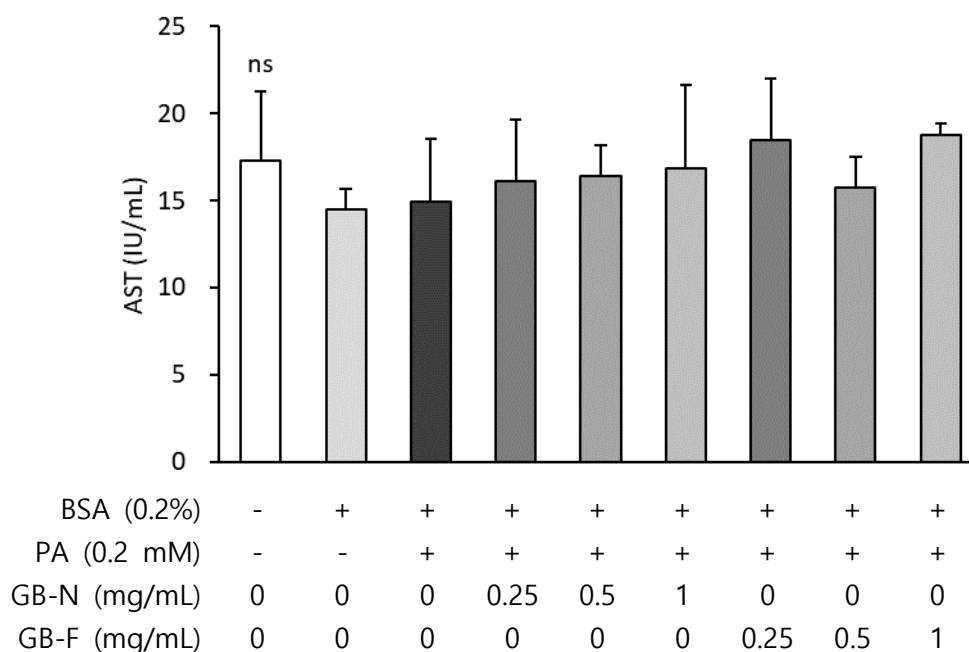
Figure 12. Effects of two-spotted cricket hydrolysates on intracellular lipid accumulation in HepG2 cells treated with palmitic acid (PA). Cells were incubated with various concentrations (0, 0.25, 0.5, and 1 mg/mL) of two-spotted cricket hydrolyzed by Neutrase (GB-N) and Flavourzyme (GB-F) for 24 hours. (a) Lipid droplets in cells were stained with Oil-Red O and reviewed under an optical microscope (magnification x400). (b) The intracellular lipid content in each group was quantified by measuring absorbance at 492 nm. Results are expressed as mean \pm SD (n = 3). Statistical analysis was conducted by one-way ANOVA followed by Tukey's multiple range test. ^{a-c}Mean values with different letters in samples treated for 24 hr are significantly different at $p < 0.05$.

(4) Palmitic acid을 처리한 HepG2 세포에서 쌍별귀뚜라미 가수분해물의 AST와 ALT 분비조절 효과

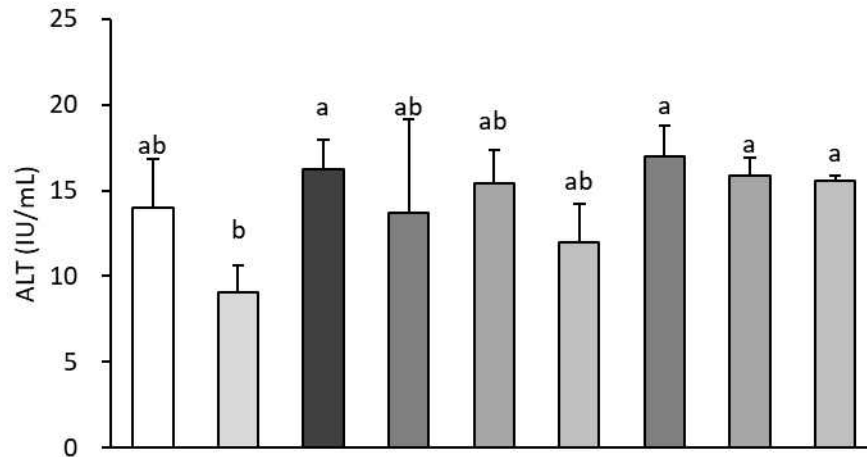
혈중 aspartate aminotransferase (AST)와 alanine aminotranferase (ALT) 농도는 간 기능의 중요한 지표이며, 비알코올성 지방간을 비롯한 간 질환에서 증가함.

본 연구에서는 배양액의 AST 농도가 모든 군에서 통계적으로 유의하게 다르지 않았음(Figure 13a). 그러나 배양액의 ALT 농도는 PA를 처리한 세포에서 BSA 대조군과 비교하여 유의하게 증가하였으며($p < 0.05$; Figure 13b), 0.25-1 mg/mL의 GB-N을 처리한 경우에는 배양액의 ALT 농도가 PA만 처리한 세포에 비하여 감소하는 경향이 있었음(Figure 13b).

(a)



(b)



BSA (0.2%)	-	+	+	+	+	+	+	+	+
PA (0.2 mM)	-	-	+	+	+	+	+	+	+
GB-N (mg/mL)	0	0	0	0.25	0.5	1	0	0	0
GB-F (mg/mL)	0	0	0	0	0	0	0.25	0.5	1

Figure 13. Effects of two-spotted cricket hydrolysates on the levels of AST and ALT in culture medium of HepG2 cells treated with palmitic acid (PA). Cells were incubated with various concentrations (0, 0.25, 0.5, and 1 mg/mL) of two-spotted cricket hydrolyzed by Neutrase (GB-N) and Flavourzyme (GB-F) for 24 hours. The levels of (a) AST and (b) ALT were measured using a commercial kit according to the manufacturers instructions. Results are expressed as mean \pm SD (n = 3). Statistical analysis was conducted by one-way ANOVA followed by Tukey's multiple range test. ^{a,b}Mean values with different letters in samples treated for 24 hr are significantly different at $p < 0.05$.

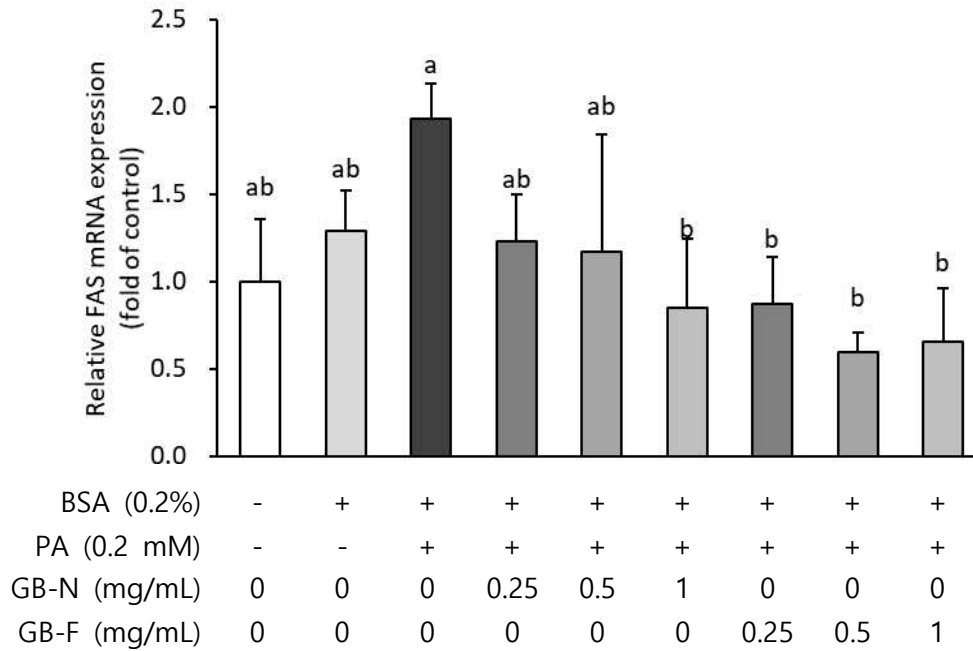
(5) Palmitic acid을 처리한 HepG2 세포에서 쌍별귀뚜라미 가수분해물의 지방생성 관련 유전자 발현 억제 효과

쌍별귀뚜라미 가수분해물이 PA에 의한 지방축적을 억제하는 기전을 규명하기 위하여 지방생성에 관여하는 유전자의 발현을 측정하였음.

Figure 14a를 참고하면, PA를 처리한 세포에서 FAS mRNA 발현이 BSA 대조군과 비교하여 증가하는 경향이 있었음. 반면 1 mg/mL의 GB-N를 처리한 세포와 0.5와 1 mg/mL의 GB-F를 처리한 세포는 FAS mRNA 발현이 PA만 처리한 대조군과 비교하여 유의적으로 낮았음($p < 0.05$; Figure 14a). PPARgamma mRNA 발현은 PA만 처리한 세포에서 BSA 대조군과 비교하여 유의적으로 증가함($p < 0.05$; Figure 14b). 반면 GB-N 또는 GB-F를 처리한 세포의 PPARgamma mRNA 발현은 모든 농도에서 PA만 처리한 세포와 비교하여 유의적으로 낮았음($p < 0.05$; Figure 14b).

따라서 GB-N과 GB-F는 PA로 인한 지방합성 관련 유전자의 mRNA 발현 증가를 억제하여 세포 내 지질축적을 완화하는 것으로 판단됨.

(a)



(b)

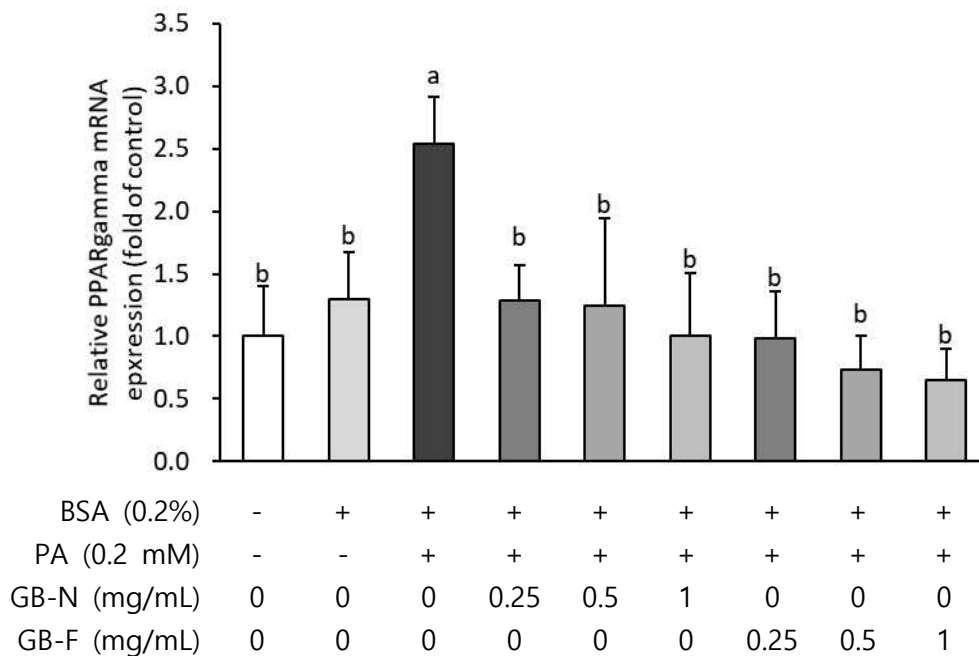


Figure 14. Effects of two-spotted cricket hydrolysates on the mRNA expression levels of lipogenic genes in HepG2 cells treated with palmitic acid (PA). Cells were incubated with various concentrations (0, 0.25, 0.5, and 1 mg/mL) of two-spotted cricket hydrolyzed by Neutrase (GB-N) and Flavourzyme (GB-F) for 24 hours. The mRNA levels of (a) FAS and (b) PPARGamma were measured using quantitative real-time PCR and normalized to *RPLP0*. Results are expressed as mean \pm SD (n = 3). Statistical analysis was conducted by one-way ANOVA followed by Tukey's multiple range test. ^{a,b}Mean values with different letters in samples treated for 24 hr are significantly different at $p < 0.05$. FAS, fatty acid synthase; PPAR, peroxisome proliferator activated receptor; RPLP0, ribosomal protein, large, P0.

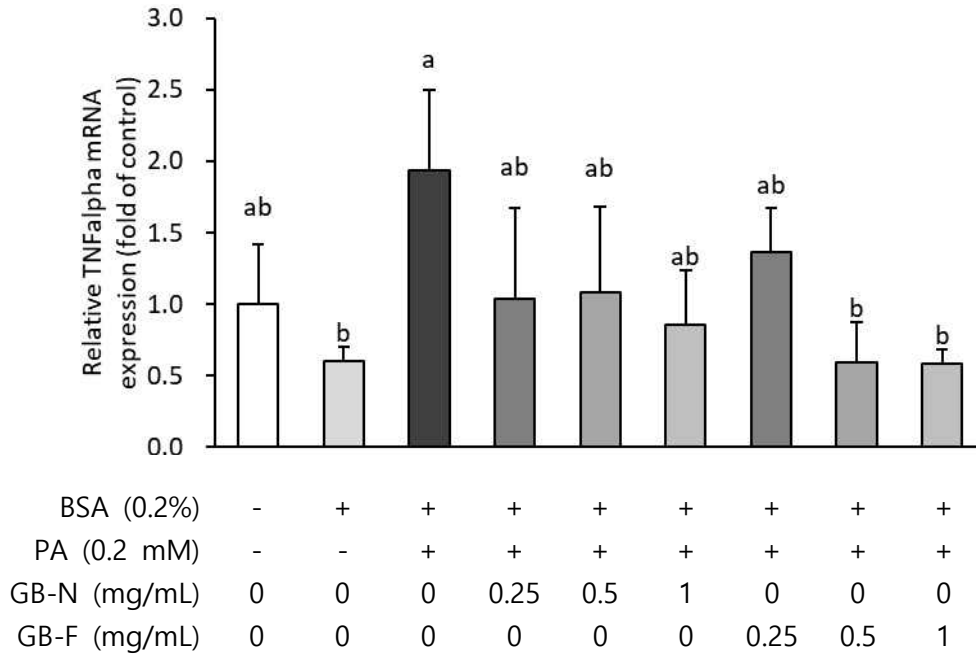
(6) Palmitic acid을 처리한 HepG2 세포에서 쌍별귀뚜라미 가수분해물의 염증성 사이토카인 유전자 발현 억제 효과

지방간에서 tumor necrosis factor alpha(TNFalpha)와 interleukin 1 beta(IL-1beta)의 발현 증가는 간 질환의 진행을 악화시킬 뿐만 아니라 만성염증의 전신 염증 상태를 초래하는 것으로 보고됨.

Figure 15a를 참고하면, TNFalpha mRNA 발현은 PA를 처리한 세포가 BSA 대조군과 비교하여 유의적으로 높았음($p < 0.05$; Figure 15a). 반면 0.5와 1 mg/mL의 GB-F를 처리한 세포의 TNFalpha mRNA 발현은 PA만 처리한 세포보다 유의적으로 낮았음($p < 0.05$; Figure 15a). IL-1beta mRNA 발현은 또한 PA를 처리한 세포에서 BSA 대조군과 비교하여 유의적으로 높았음($p < 0.05$; Figure 15b). 반면 0.25와 1 mg/mL의 GB-N 또는 0.25, 0.5와 1 mg/mL의 GB-F를 처리한 세포의 IL-1beta mRNA 발현은 PA만 처리한 세포와 비교하여 유의적으로 낮았음($p < 0.05$; Figure 15b).

따라서 GB-N과 GB-F는 PA로 인한 염증성 사이토카인의 mRNA 발현을 억제하여 염증과 지방간의 진행을 완화시킬 수 있을 것으로 사료됨.

(a)



(b)

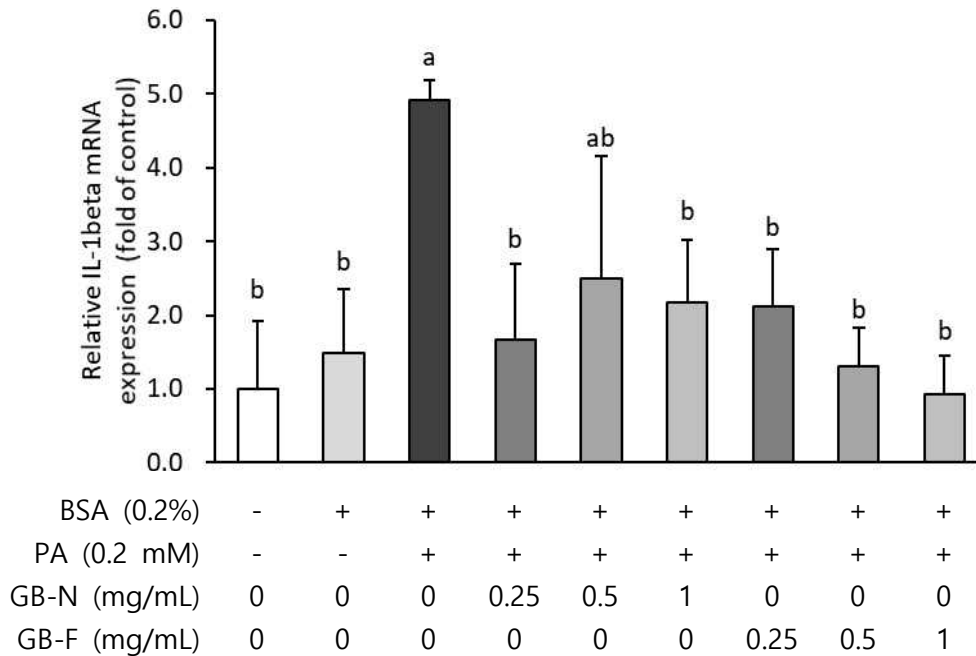


Figure 15. Effects of two-spotted cricket hydrolysates on the mRNA expression levels of inflammatory cytokines in HepG2 cells treated with palmitic acid (PA). Cells were incubated with various concentrations (0, 0.25, 0.5, and 1 mg/mL) of two-spotted cricket hydrolyzed by Neutrase (GB-N) and Flavourzyme (GB-F) for 24 hours. The mRNA levels of (a) TNFalpha and (b) IL-1beta were measured using quantitative real-time PCR and normalized to *RPLP0*. Results are expressed as mean \pm SD ($n = 3$). Statistical analysis was conducted by one-way ANOVA followed by Tukey's multiple range test. ^{a,b}Mean values with different letters in samples treated for 24 hr are significantly different at $p < 0.05$. TNF, tumor necrosis factor; IL, interleukin; RPLP0, ribosomal protein, large, P0.

(7) Palmitic acid을 처리한 HepG2 세포에서 쌍별귀뚜라미 가수분해물의 소포체 스트레스 관련 유전자 발현과 CHOP 수준 조절 효과

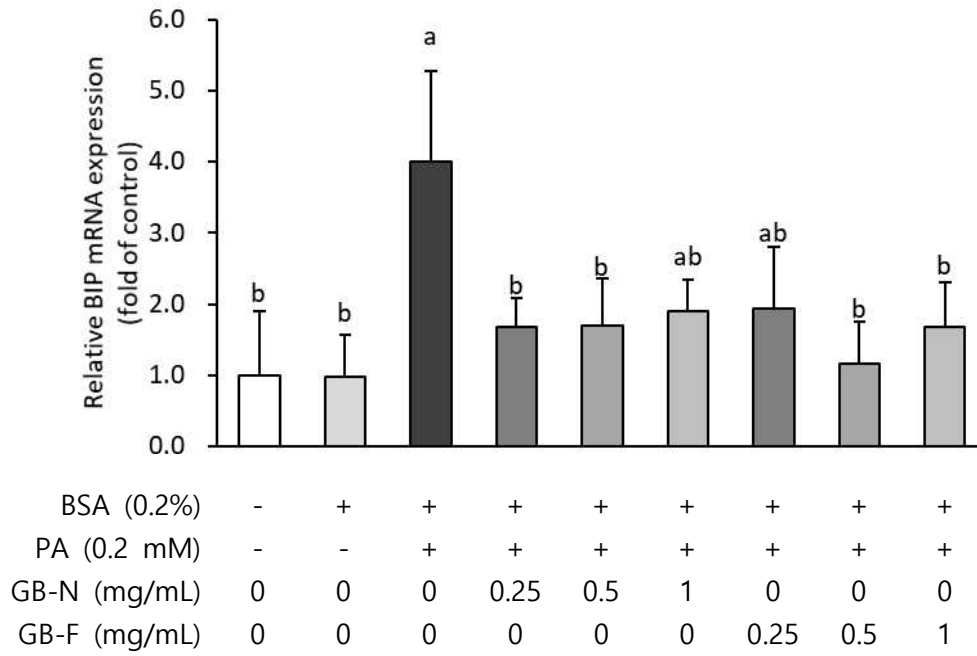
비알코올성 지방간 질환에서 소포체 스트레스에 의하여 비접힘 단백질 반응이 활성화되면 전사조절인자인 X-box binding protein 1(XBP-1)은 binding immunoglobulin protein(BiP)과 같이 소포체 내의 단백질의 접힘을 도와주는 샤페론(chaperone) 단백질들의 발현을 증가시킴. CCAAT-enhancer-binding protein homologous protein(CHOP)은 세포자멸사를 유도하는 전사인자이며, 소포체 스트레스에 의하여 전사와 번역이 활성화됨.

본 연구에서는 PA를 처리한 세포가 BSA 대조군과 비교하여 BiP mRNA 발현이 유의적으로 증가하였음($p < 0.05$; Figure 16a). 반면 0.25와 0.25 mg/mL의 GB-N 또는 0.5와 1 mg/mL의 GB-F를 처리한 세포는 BiP mRNA 발현이 PA만 처리한 세포보다 유의적으로 낮았음($p < 0.05$; Figure 16a). Figure 16b를 참고하면, PA를 처리한 세포에서 XBP-1 mRNA 발현이 BSA 대조군과 비교하여 증가하는 경향이 있었음. 반면 1 mg/mL의 GB-N 또는 0.5와 1 mg/mL의 GB-F를 처리한 세포의 XBP-1 mRNA 발현은 PA만 처리한 세포와 비교하여 유의적으로 낮았음($p < 0.05$; Figure 16).

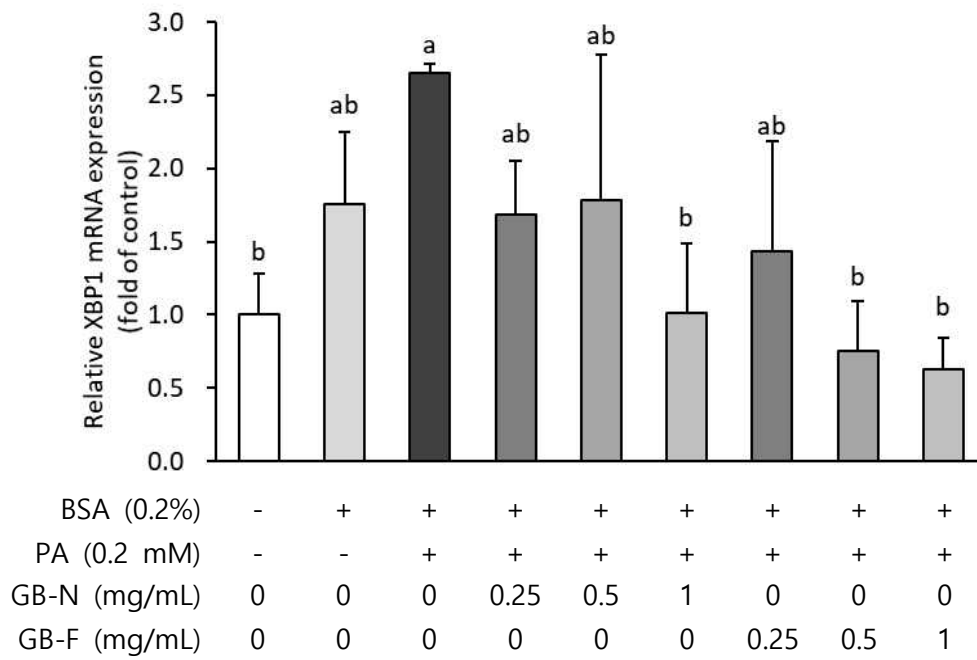
Figure 16에 의하면, PA를 처리한 세포에서 CHOP 단백질 발현은 BSA 대조군과 비교하여 증가하는 경향이 있었음. 반면 0.5 mg/mL의 GB-N 또는 0.5 mg/mL의 GB-F를 처리한 세포는 CHOP 단백질 발현이 PA만 처리한 세포와 비교하여 유의적으로 낮았음($p < 0.05$; Figure 16).

따라서 GB-N과 GB-F는 PA로 인한 소포체 스트레스를 완화하는 것으로 판단됨.

(a)



(b)



(c)

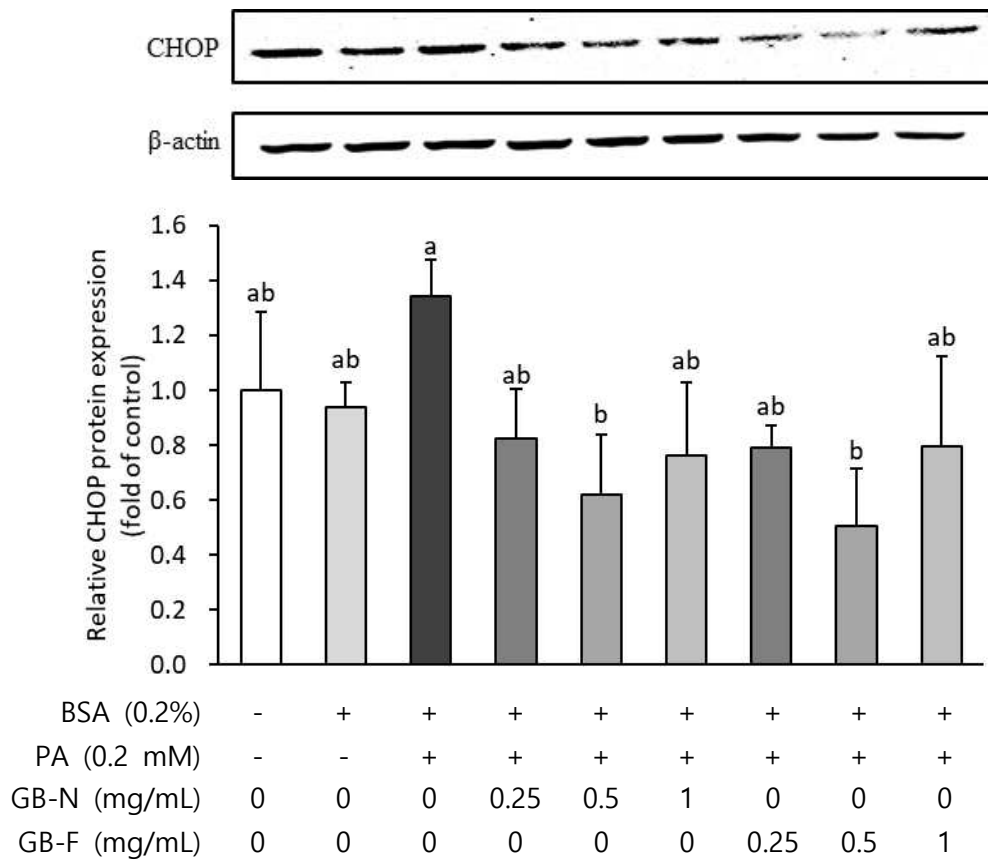


Figure 16. Effects of two-spotted cricket hydrolysates on the mRNA expression levels of endoplasmic reticulum (ER) stress-related genes in HepG2 cells treated with palmitic acid (PA). Cells were incubated with various concentrations (0, 0.25, 0.5, and 1 mg/mL) of two-spotted cricket hydrolyzed by Neutrase (GB-N) and Flavourzyme (GB-F) for 24 hours. The mRNA levels of (a) BIP and (b) XBP1 were measured using quantitative real-time PCR and normalized to *RPLP0*. The relative protein level of (c) CHOP was measured using western blot analysis. Beta actin was used as an internal control. Results are expressed as mean \pm SD (n = 3). Statistical analysis was conducted by one-way ANOVA followed by Tukey's multiple range test. ^{a,b}Mean values with different letters in samples treated for 24 hr are significantly different at $p < 0.05$. BiP, binding immunoglobulin protein; XBP-1, X-box binding protein 1; RPLP0, ribosomal protein, large, P01 CHOP, C/EBP homologous protein.

2) 동물 모델에서 쌍별귀뚜라미 가수분해물의 간 건강 개선 효과 평가

2-1) 소포체 스트레스에 의해 유도되는 지방간 동물 모델 확립

(1) Tunicamycin에 의한 조직 무게 변화

Tunicamycin에 의한 조직 무게 변화를 측정한 결과, 간 무게는 군 간에 통계적으로 유의한 차이가 없었음(Table 7).

부고환 지방조직(epididymal AT) 무게는 tunicamycin 투여 농도가 증가함에 따라 감소하는 경향이 있었고, 장간막지방 지방조직(mesenteric AT) 무게는 증가하는 경향이 있었으나 통계적으로 유의하지는 않았음(Table 7).

비장 무게는 1 mg/kg과 2 mg/kg의 tunicamycin을 투여한 군에서 모두 정상 대조군(Normal)과 비교하여 유의적으로 낮았음(Table 7).

Table 7. Organ weights

	Normal	1 mg/kg tunicamycin	2 mg/kg tunicamycin
Liver (g)	1.24 ± 0.06 ^{ns}	1.27 ± 0.02	1.19 ± 0.04
Liver (g/100 g body weight)	5.08 ± 0.21 ^{ns}	5.12 ± 0.24	5.09 ± 0.11
epididymal AT (g)	0.32 ± 0.06 ^{ns}	0.32 ± 0.06	0.28 ± 0.03
epididymal AT (g/100 g body weight)	1.32 ± 0.23 ^{ns}	1.27 ± 0.32	1.21 ± 0.10
mesenteric AT (g)	0.31 ± 0.02 ^{ns}	0.32 ± 0.07	0.32 ± 0.07
mesenteric AT (g/100 g body weight)	1.27 ± 0.07 ^{ns}	1.36 ± 0.27	1.37 ± 0.28
spleen (g)	0.09 ± 0.01 ^a	0.07 ± 0.01 ^b	0.07 ± 0.01 ^b
spleen (g/100 g body weight)	0.37 ± 0.04 ^a	0.30 ± 0.03 ^b	0.28 ± 0.03 ^b

Results are expressed as mean ± SD (n = 3–4). Statistical analysis was conducted by one-way ANOVA followed by Duncan's multiple comparison tests. Values with different letters are significantly different at $p < 0.05$. AT, adipose tissue.

(2) Tunicamycin에 의한 혈액 대사지표 농도 변화

혈청 중성지방과 총콜레스테롤 농도는 1 mg/kg과 2 mg/kg의 tunicamycin을 주사한 군에서 모두 정상 대조군과 비교하여 유의적으로 낮았음($p < 0.05$; Figure 17a,b).

혈청의 AST 농도는 tunicamycin 농도가 높을수록 증가하는 경향이 있었으나, 실험군 간에 유의적인 차이는 없었음(Figure 17c). 혈청의 ALT 농도는 1 mg/kg과 2 mg/kg의 tunicamycin을 주사한 군에서 모두 정상 대조군과 비교하여 유의적으로 높았음($p < 0.05$; Figure 17d).

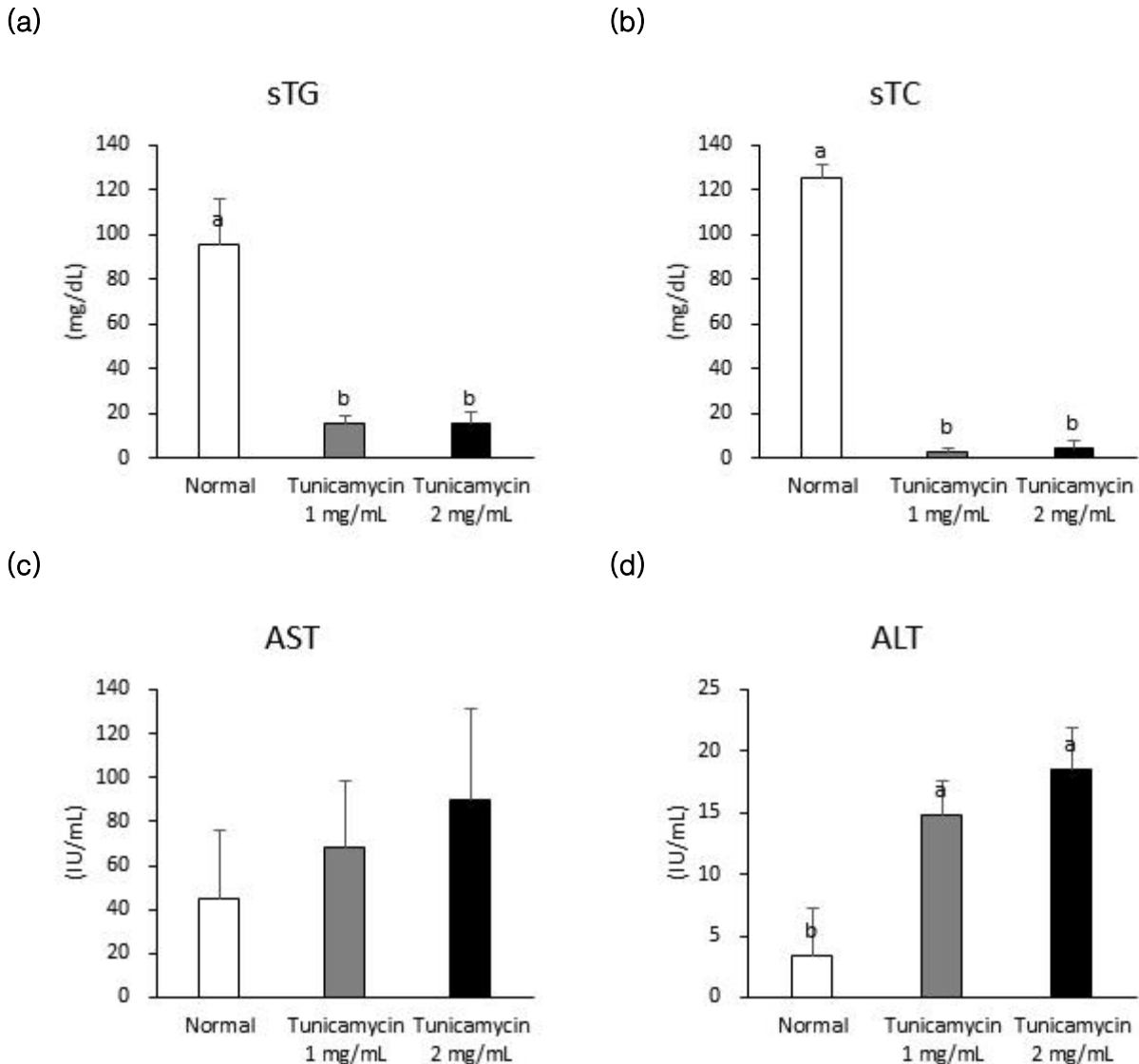


Figure 17. Effect of tunicamycin on serum biochemical parameters in mice. C57BL/6J mice intraperitoneally injected with tunicamycin (1 or 2 mg/kg) or vehicle. After 24 hours, blood was collected by cardiac puncture and the serum was obtained. The serum levels of (a) TG, (b) TC, (c) AST, and (d) ALT were measured using a commercial kit according to the manufacturers instructions. Results are expressed as mean \pm SD ($n = 3-4$). Statistical analysis was conducted by one-way ANOVA followed by Duncan's multiple range test. ^{a,b}Mean values with different letters are significantly different at $p < 0.05$. TG, triglycerides; TC, total cholesterol; AST, aspartate transaminase; ALT, alanine transaminase.

2-2) 소포체 스트레스-유발 지방간 동물 모델에서 쌍별귀뚜라미 가수분해물의 간 건강 개선 효과 평가

(1) 쌍별귀뚜라미 가수분해물이 체중과 식이 섭취량에 나타내는 영향

실험 기간, 체중, 체중증가량과 식이 섭취량은 군 간에 유의적인 차이가 없었음(Figure 18a-d). 따라서 쌍별귀뚜라미 가수분해물은 체중과 식이 섭취량에 영향을 주지 않는 것으로 판단됨.

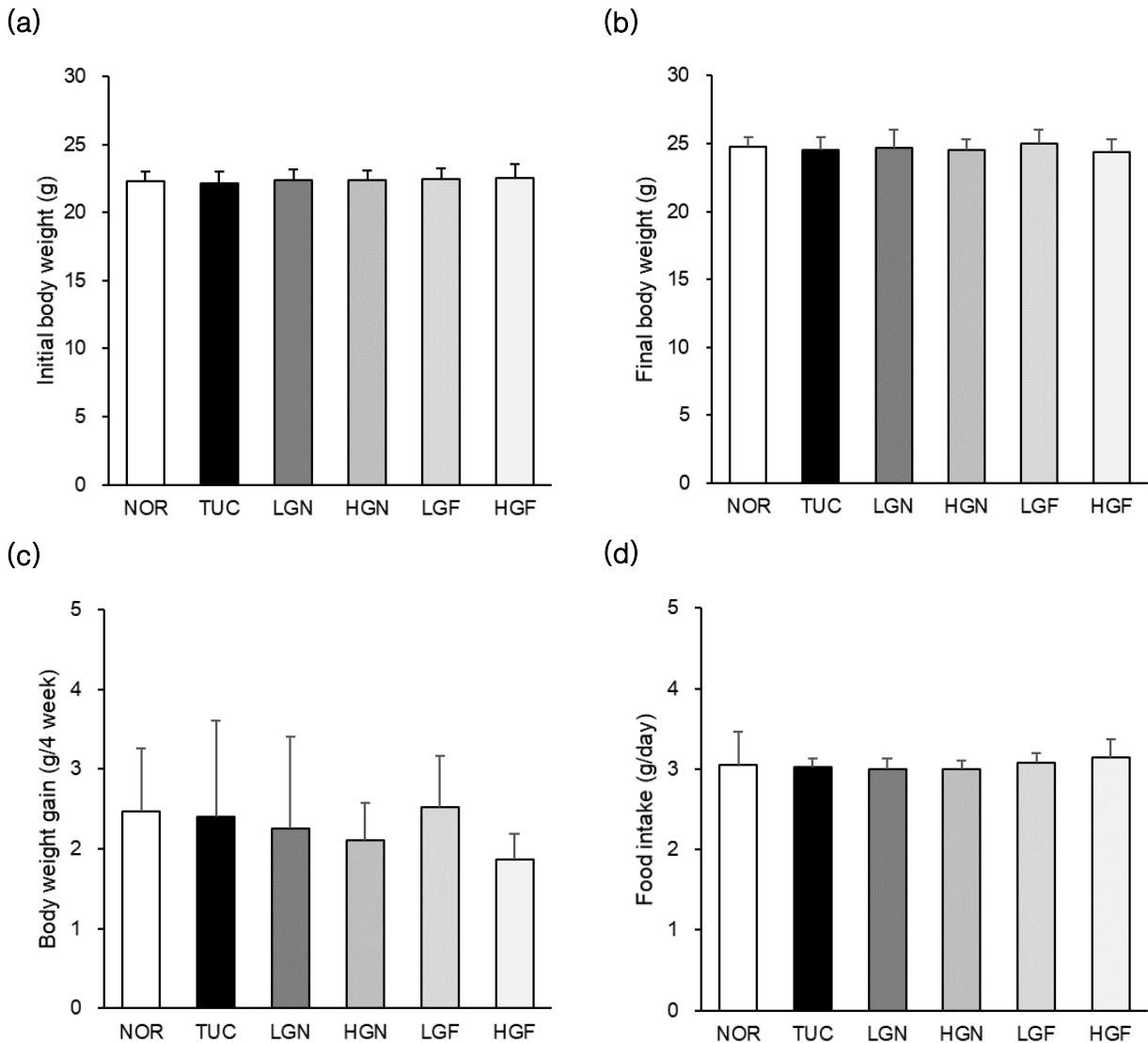


Figure 18. Effect of two-spotted cricket hydrolysates on body weight and food intake during experimental period. (a) Initial body weight, (b) final body weight, (c) body weight gain, and (d) food intake. Results are expressed as mean \pm SD (n = 10). Statistical analysis was conducted by one-way ANOVA followed by Duncan's multiple range test at $p < 0.05$. NOR, normal group; TUC, tunicamycin treated group; LGN, low dose of *Gryllus bimaculatus* hydrolysates by Neutrased; HGN, high dose of *Gryllus bimaculatus* hydrolysates by Neutrased; LGF, low dose of *Gryllus bimaculatus* hydrolysates by Flavourzyme; HGF, high dose of *Gryllus bimaculatus* hydrolysates by Flavourzyme.

(2) Tunicamycin을 주사한 마우스에서 쌍별귀뚜라미 가수분해물이 조직 무게에 나타내는 영향

Tunicamycin을 주사한 군(TUC)은 정상 대조군(NOR)보다 간과 부고환 지방 조직의 무게가 유의적으로 낮았음($p < 0.05$; Figure 19a,b). 쌍별귀뚜라미 가수분해물을 투여한 마우스는 TUC군과 비교하여 간과 부고환 지방 조직의 무게가 유의적으로 다르지 않았음(Figure 19a,b). 장간막 지방과 신장 무게는 실험군 간에 유의적인 차이가 없었음(Figure 19c,d).

따라서 tunicamycin은 간과 부고환 지방 조직에 영향을 줄 수 있으며, 쌍별귀뚜라미 가수분해물은 조직 무게에 유의적인 변화를 나타내지 않는 것으로 판단됨.

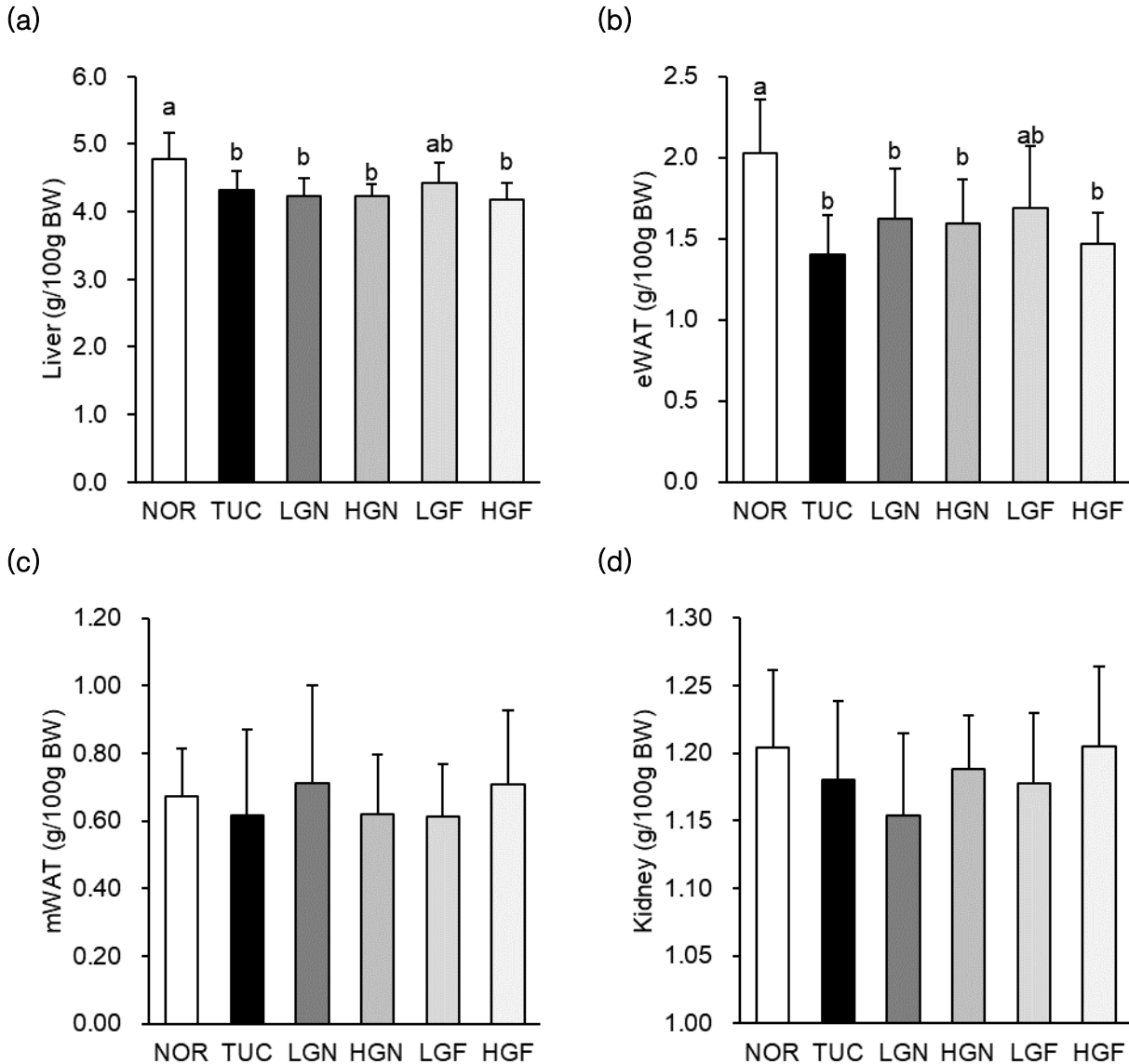


Figure 19. Effect of two-spotted cricket hydrolysates on organ weights. (a) Liver, (b) epididymal adipose tissue (eWAT), (c) mesenteric adipose tissue (mWAT), and (d) kidney. Results are expressed as mean \pm SD (n = 10). Statistical analysis was conducted by one-way ANOVA followed by Duncan's multiple range test. ^{a,b}Mean values with different letters are significantly different at $p < 0.05$. NOR, normal group; TUC, tunicamycin treated group; LGN, low dose of *Gryllus bimaculatus* hydrolysates by Neutrased; HGN, high dose of *Gryllus bimaculatus* hydrolysates by Neutrased; LGF, low dose of *Gryllus bimaculatus* hydrolysates by Flavourzyme; HGF, high dose of *Gryllus bimaculatus* hydrolysates by Flavourzyme.

(3) Tunicamycin을 주사한 마우스에서 쌍별귀뚜라미 가수분해물의 혈액 AST와 ALT 농도 조절 효과

혈청의 AST와 ALT 농도는 TUC군이 NOR군보다 유의적으로 높았음($p < 0.05$; Figure 20a,b). 쌍별귀뚜라미 가수분해물을 투여한 마우스의 AST 농도는 TUC과 비교하여 감소하는 경향이 있었으나 통계적으로 유의하지는 않았음(Figure 20a). 쌍별귀뚜라미 가수분해물을 투여한 마우스의 ALT 농도는 TUC과 비교하여 통계적으로 유의하게 다르지 않았음(Figure 20b).

따라서 쌍별귀뚜라미 가수분해물은 tunicamycin에 의한 간 독성을 효과적으로 완화하지는 않는 것으로 판단됨.

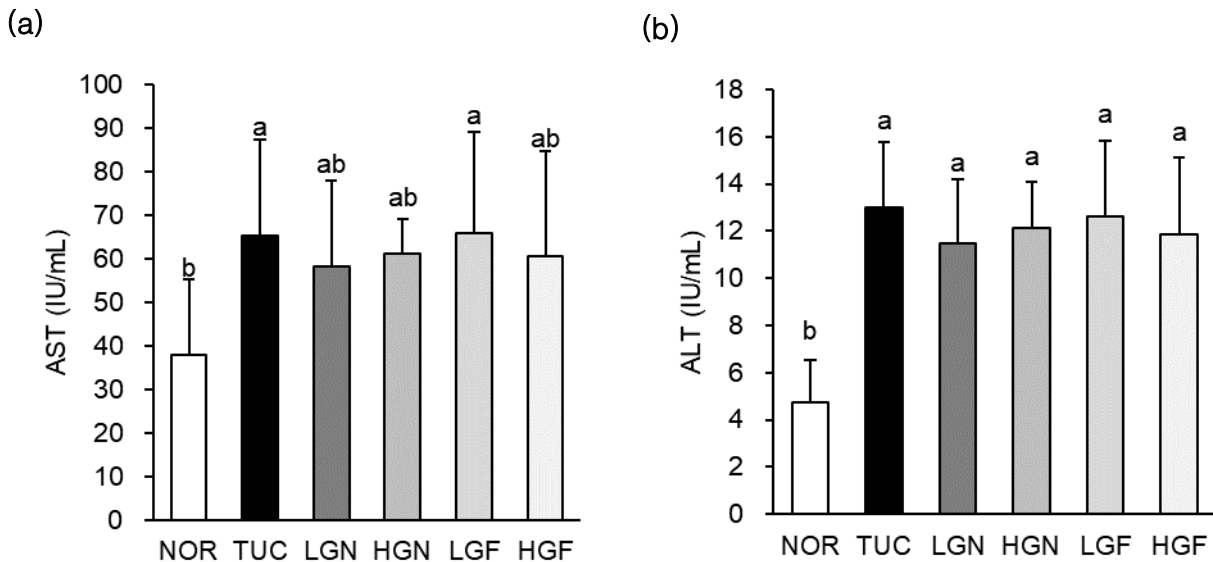
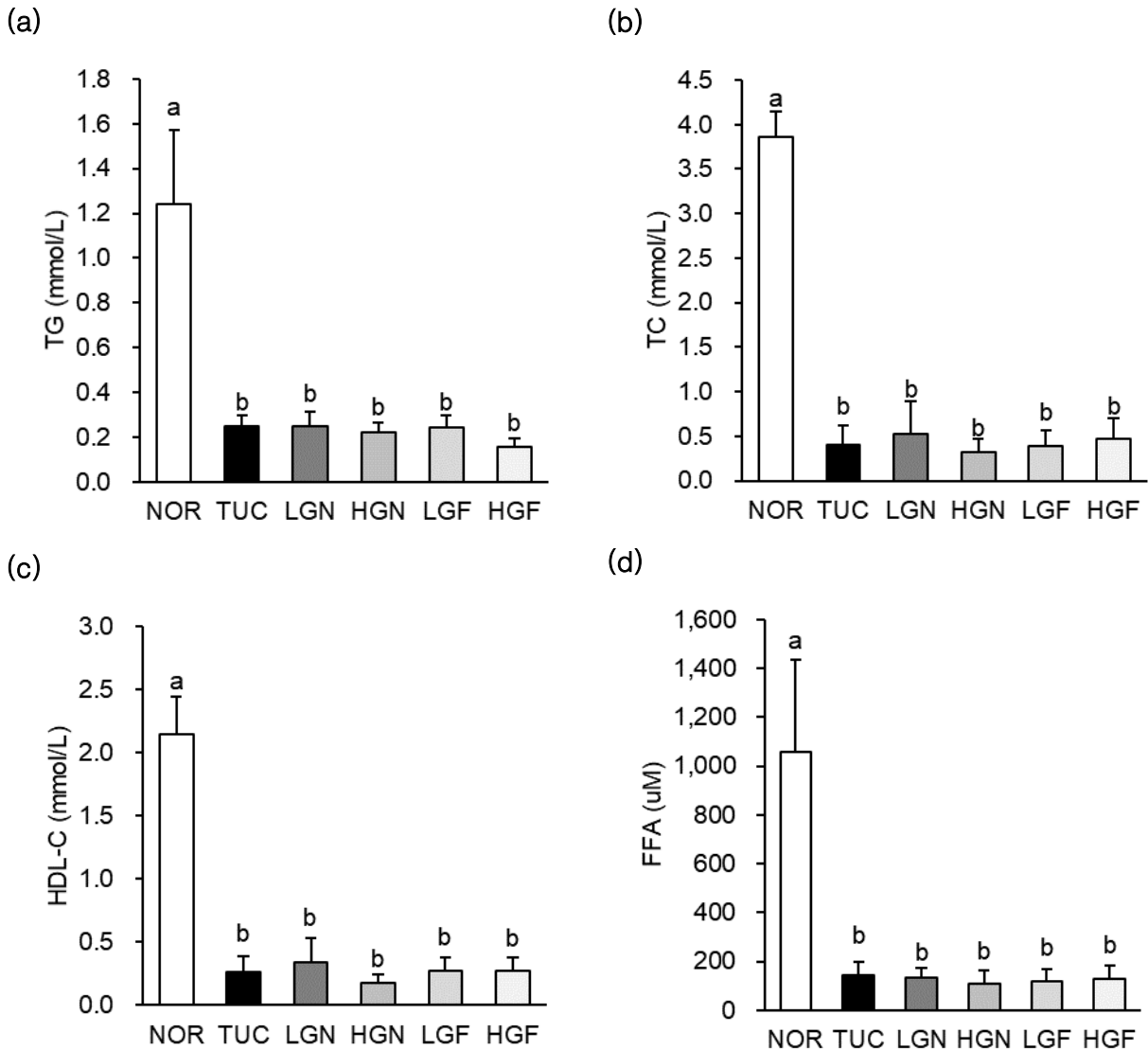


Figure 20. Effect of two-spotted cricket hydrolysates on serum (a) aspartate aminotransferase (AST) and (b) alanine aminotranferase (ALT) levels. Results are expressed as mean \pm SD ($n = 10$). Statistical analysis was conducted by one-way ANOVA followed by Duncan's multiple range test. ^{a,b}Mean values with different letters are significantly different at $p < 0.05$. NOR, normal group; TUC, tunicamycin treated group; LGN, low dose of *Gryllus bimaculatus* hydrolysates by Neutrased; HGN, high dose of *Gryllus bimaculatus* hydrolysates by Neutrased; LGF, low dose of *Gryllus bimaculatus* hydrolysates by Flavourzyme; HGF, high dose of *Gryllus bimaculatus* hydrolysates by Flavourzyme.

(4) Tunicamycin을 주사한 마우스에서 쌍별귀뚜라미 가수분해물의 혈액 지질농도 조절 효과

TUC군은 NOR군과 비교하여 혈청 중성지방, 총콜레스테롤, HDL콜레스테롤과 유리지방산의 농도가 유의적으로 낮았음($p < 0.05$; Figure 21a-d).

아포지단백B(ApoB)은 저밀도지단백(low-density lipoprotein, LDL)과 초저밀도지단백(very low-density lipoprotein, LDL)과 같은 죽상 경화성 지단백 입자 표면에 존재하는 주요 단백질이며, LDL 수용체의 리간드로 작용하여 세포 내로 지방을 전달하는 역할을 함. 따라서 ApoB의 분비 증가는 ER 스트레스로 인한 지방간 증을 완화하는 것으로 보고. 본 연구 결과에서 혈청의 ApoB 농도는 NOR군과 TUC군이 유의적으로 다르지 않았으나, LGF군과 HGF군의 ApoB 농도는 TUC군과 비교하여 유의적으로 높았음($p < 0.05$; Figure 21e).



(e)

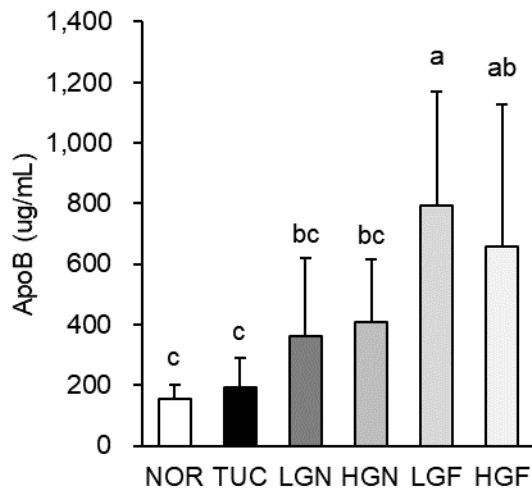


Figure 21. Effect of two-spotted cricket hydrolysates on serum lipid levels. (a) triglycerides (TG), (b) total cholesterol (TC), (c) high-density lipoprotein cholesterol (HDL-C), (d) free fatty acid (FFA), and (e) apolipoprotein B (ApoB). Results are expressed as mean \pm SD (n = 10). Statistical analysis was conducted by one-way ANOVA followed by Duncan's multiple range test. ^{a-c}Mean values with different letters are significantly different at $p < 0.05$. NOR, normal group; TUC, tunicamycin treated group; LGN, low dose of *Gryllus bimaculatus* hydrolysates by Neutrased; HGN, high dose of *Gryllus bimaculatus* hydrolysates by Neutrased; LGF, low dose of *Gryllus bimaculatus* hydrolysates by Flavourzyme; HGF, high dose of *Gryllus bimaculatus* hydrolysates by Flavourzyme.

(5) Tunicamycin을 주사한 마우스에서 쌍별귀뚜라미 가수분해물의 간 지질축적 조절 효과

실험동물에서 적출한 간 조직의 대표 사진은 Figure 22에 나타내었음. NOR군은 TUC 군과 비교하여 붉은 경향이 있었으나, 쌍별귀뚜라미 가수분해물을 투여한 군은 TUC 군과 비교하면 관찰 가능한 차이가 없었음.

따라서 간 조직의 지질을 추출하여 지질농도를 측정한 결과 TUC군의 총 지질 농도는 NOR군과 비교하여 유의적으로 높았고($p < 0.05$; Figure 23a). 쌍별귀뚜라미 가수분해물을 투여한 군은 TUC군과 비교하여 유의적인 차이가 없었음(Figure 23a). 이와 유사하게 TUC 군 간의 중성지방과 총콜레스테롤 농도는 NOR군보다 유의적으로 높았으나($p < 0.05$; Figure 23bc), 쌍별귀뚜라미 가수분해물을 투여한 군은 TUC군과 비교하여 유의적인 차이가 없었음(Figure 23bc).

따라서 쌍별귀뚜라미 가수분해물은 tunicamycin에 의한 지방간증을 효과적으로 완화하지 않는 것으로 판단됨.

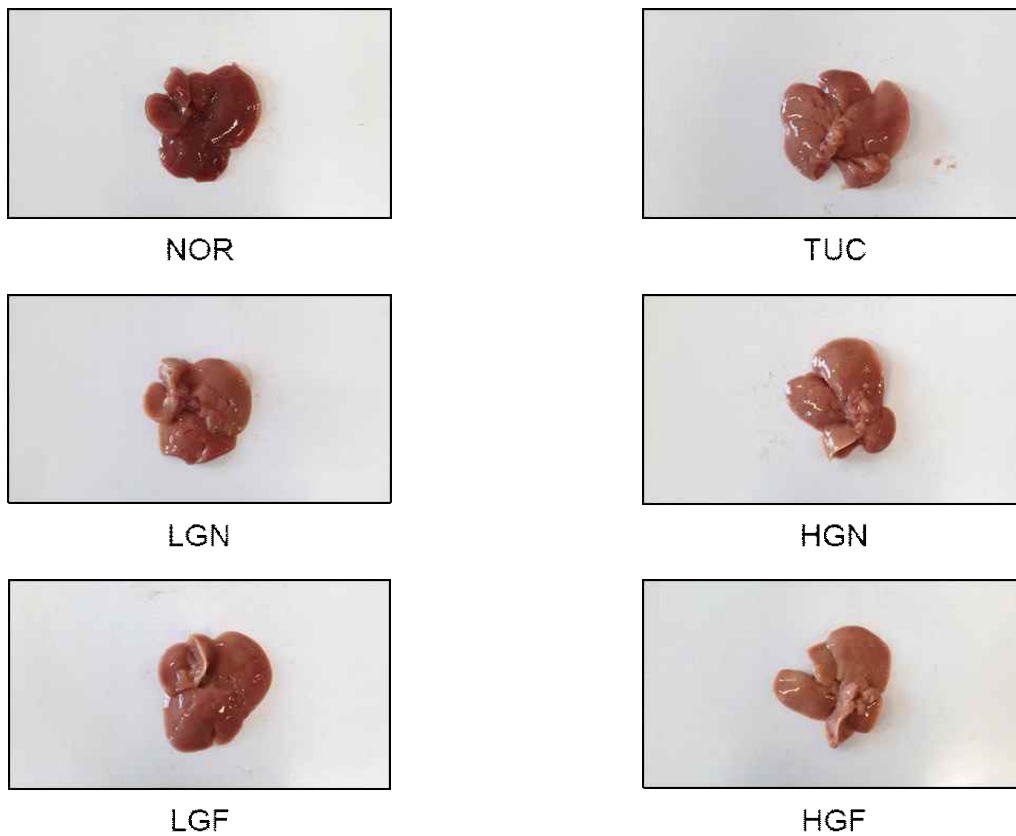


Figure 22. Representative images of liver of mice. NOR, normal group; TUC, tunicamycin treated group; LGN, low dose of *Gryllus bimaculatus* hydrolysates by Neutrase; HGN, high dose of *Gryllus bimaculatus* hydrolysates by Neutrase; LGF, low dose of *Gryllus bimaculatus* hydrolysates by Flavourzyme; HGF, high dose of *Gryllus bimaculatus* hydrolysates by Flavourzyme.

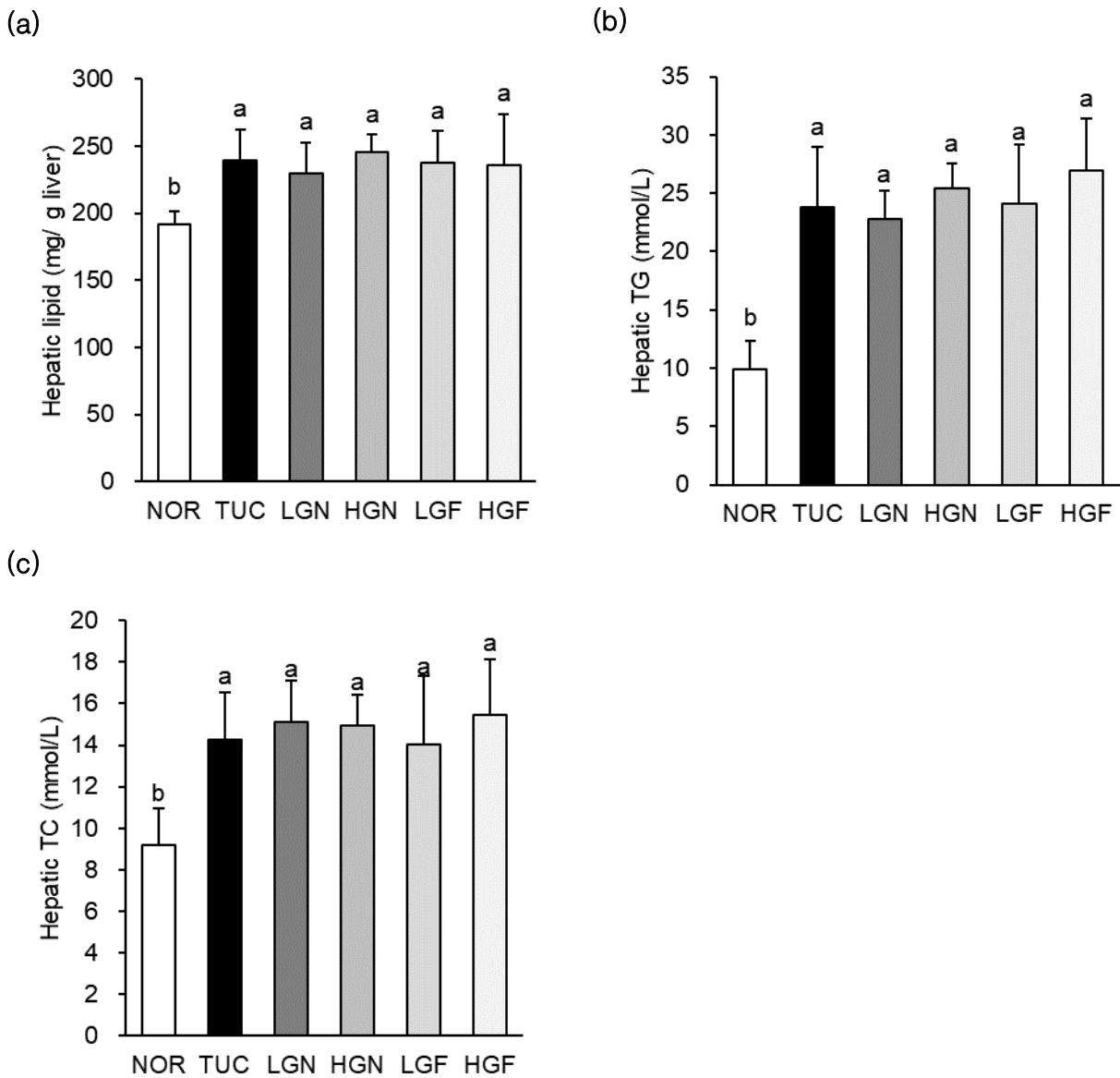


Figure 23. Effect of two-spotted cricket hydrolysates on hepatic lipid levels. (a) total lipid, (b) triglycerides, and (c) total cholesterol (TC). Results are expressed as mean \pm SD (n = 10). Statistical analysis was conducted by one-way ANOVA followed by Duncan's multiple range test. ^{a,b}Mean values with different letters are significantly different at $p < 0.05$. NOR, normal group; TUC, tunicamycin treated group; LGN, low dose of *Gryllus bimaculatus* hydrolysates by Neutrased; HGN, high dose of *Gryllus bimaculatus* hydrolysates by Neutrased; LGF, low dose of *Gryllus bimaculatus* hydrolysates by Flavourzyme; HGF, high dose of *Gryllus bimaculatus* hydrolysates by Flavourzyme.

(6) Tunicamycin을 주사한 마우스에서 쌍별귀뚜라미 가수분해물의 지질합성 관련 단백질 발현 조절 효과

SREBP1은 FAS 등의 전사를 촉진하여 주로 지방산과 중성지방의 합성에 관여하는 전사인자임. SREBP1은 소포체에서 골지로 이동하고 골지에서는 단계적 절단 과정을 통해 활성화.

본 연구에서 간 조직의 SREBP1 전구체(precursor) 수준은 TUC군에서 NOR군보다 유의적으로 낮았으며($p < 0.05$; Figure 24a), 쌍별귀뚜라미 가수분해물을 투여한 군은 TUC군과 비교하여 유의적으로 다르지 않았음(Figure 24a). 반면, 간 조직에서 SREBP1 활성화형(mature)의 수준은 군 간에 유의적인 차이가 없었으나, TUC군이 NOR군보다 낮았으며 쌍별귀뚜라미 가수분해물을 투여한 군은 TUC군과 비교하여 높았음 (Figure 24b). 간 조직의 FAS 수준은 TUC군에서 NOR군보다 유의적으로 낮았으며($p < 0.05$; Figure 24c), 쌍별귀뚜라미 가수분해물을 투여한 군은 TUC군과 비교하여 유의적으로 다르지 않았음(Figure 24c).

따라서 tunicamycin은 간 조직에서 지질 합성과 관련한 단백질의 발현을 억제하며, 쌍별귀뚜라미는 이에 유의적인 효과를 나타내지는 않는 것으로 판단됨.

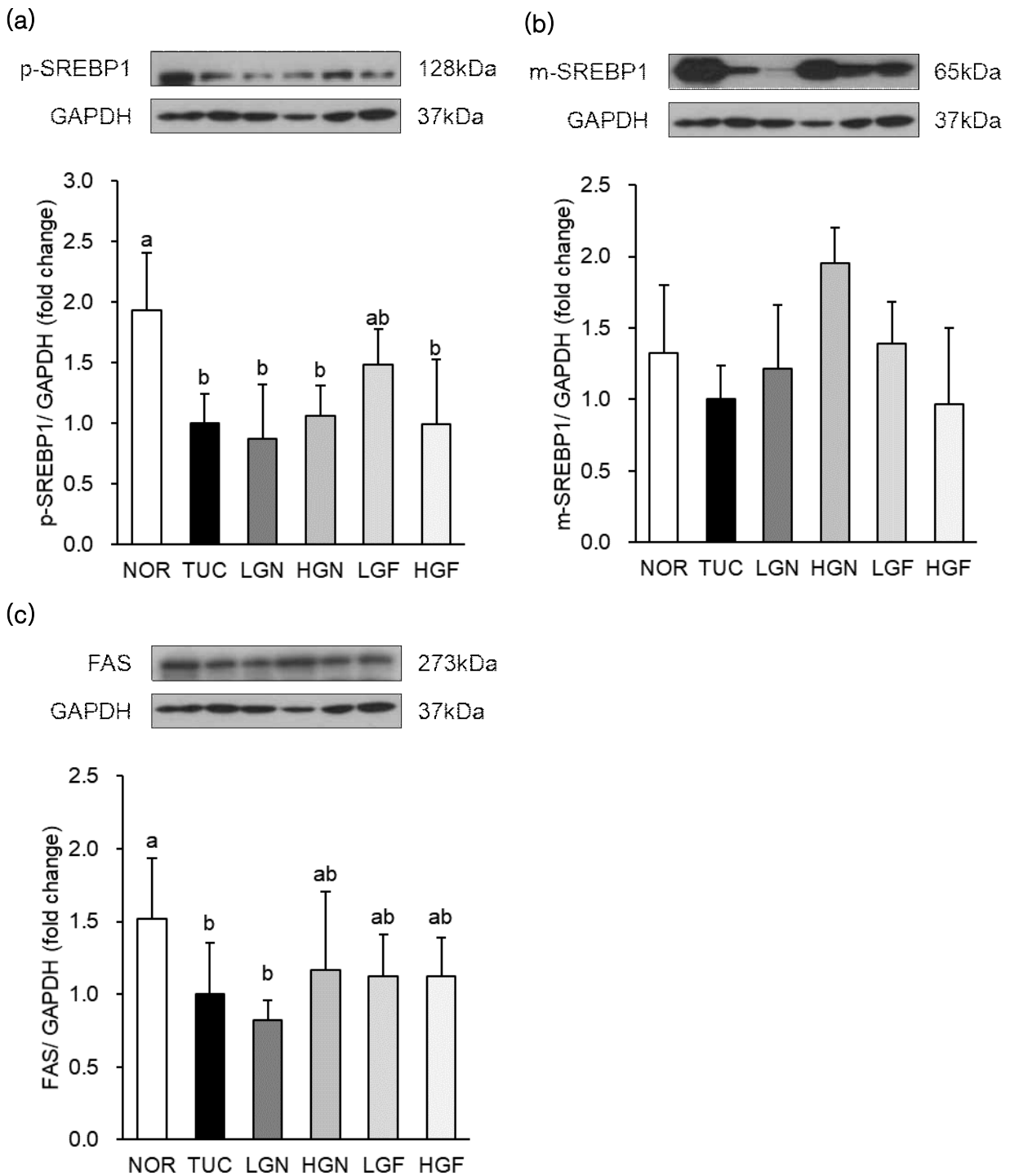


Figure 24. Effect of two-spotted cricket hydrolysates on hepatic levels of proteins related to lipid synthesis. (a) precursor sterol regulatory element-binding protein 1 (SREBP1), (b) mature SREBP1, and (c) fatty acid synthase (FAS). Relative protein levels were measured using western blot analysis. Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (GAPDH) was used as internal control. Results are expressed as mean \pm SD ($n = 10$). Statistical analysis was conducted by one-way ANOVA followed by Duncan's multiple range test. ^{a,b}Mean values with different letters are significantly different at $p < 0.05$. NOR, normal group; TUC, tunicamycin treated group; LGN, low dose of *Gryllus bimaculatus* hydrolysates by Neutrased; HGN, high dose of *Gryllus bimaculatus* hydrolysates by Neutrased; LGF, low dose of *Gryllus bimaculatus* hydrolysates by Flavourzyme; HGF, high dose of *Gryllus bimaculatus* hydrolysates by Flavourzyme.

(7) Tunicamycin을 주사한 마우스에서 쌍별귀뚜라미 가수분해물의 소포체 스트레스 관련 단백질 발현 조절 효과

TUC는 NOR군과 비교하여 간의 BIP 수준이 유의적으로 높았고, 쌍별귀뚜라미 가수분해물은 이를 완화하는 경향이 있었으나 통계적으로 유의하지는 않았음(Figure 25a). 실험동물의 간 조직 CHOP 수준은 군 간에 유의적인 차이가 없었음(Figure 25b). 따라서 tunicamycin은 소포체 스트레스로 인하여 UPR(unprotein response)을 활성화하나, 쌍별귀뚜라미 가수분해물은 이러한 반응에 효과적인 차이를 나타내지는 않는 것으로 판단되었음.

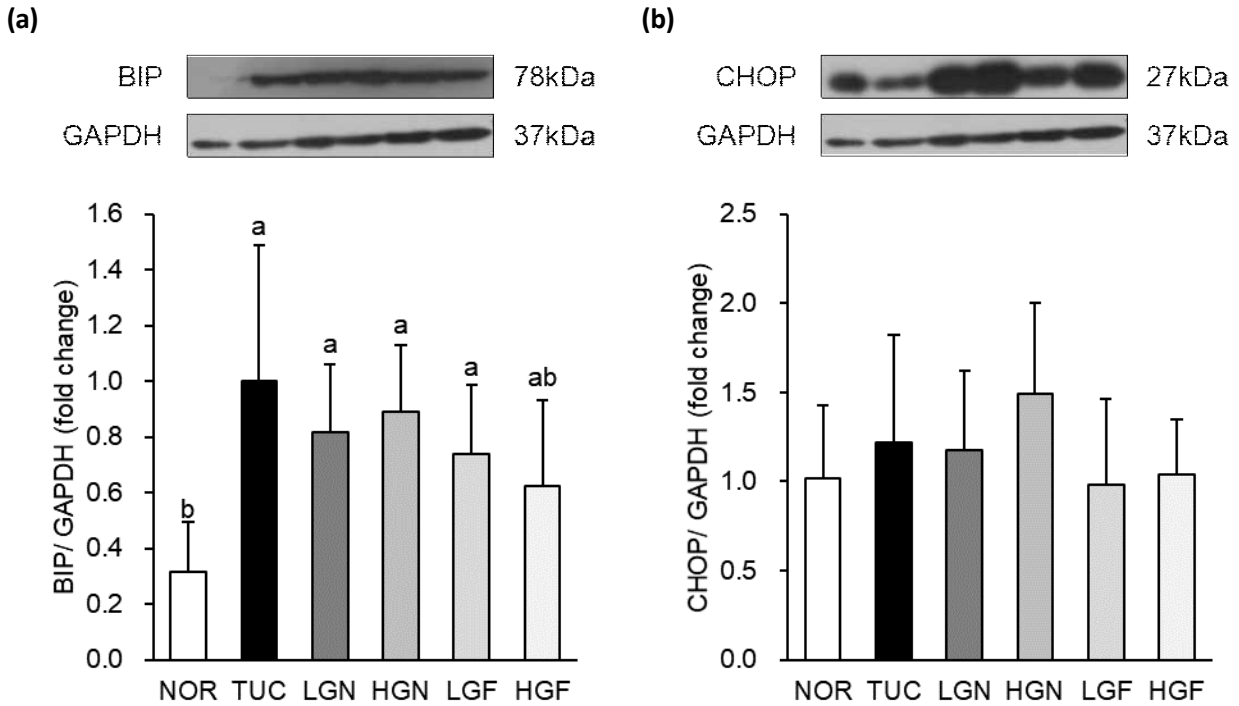


Figure 25. Effect of two-spotted cricket hydrolysates on hepatic levels of proteins related to endoplasmic reticulum (ER) stress. (a) binding immunoglobulin protein (BIP) and (b) CCAAT-enhancer-binding protein homologous protein (CHOP). Relative protein levels were measured using western blot analysis. Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (GAPDH) was used as internal control. Results are expressed as mean \pm SD (n = 10). Statistical analysis was conducted by one-way ANOVA followed by Duncan's multiple range test. ^{a,b}Mean values with different letters are significantly different at $p < 0.05$. NOR, normal group; TUC, tunicamycin treated group; LGN, low dose of *Gryllus bimaculatus* hydrolysates by Neutrased; HGN, high dose of *Gryllus bimaculatus* hydrolysates by Neutrased; LGF, low dose of *Gryllus bimaculatus* hydrolysates by Flavourzyme; HGF, high dose of *Gryllus bimaculatus* hydrolysates by Flavourzyme.

3) 쌍별귀뚜라미 가수분해물의 비장세포 증식능 조절 효과 평가

(1) 쌍별귀뚜라미 가수분해물의 비장세포 증식률 조절 효과

비장은 초기면역반응을 담당하는 주요한 말초 면역기관으로, 주로 T세포, B세포 및 대식세포 등으로 구성되어 있음. 이러한 면역세포들은 항원에 의해 자극을 받은 후에 분화하여 세포성 면역반응과 체액성 면역반응을 유도함. LPS와 ConA는 각각 B세포와 T세포를 특이적으로 활성화하는 미토겐(mitogen)임.

본 연구결과, LPS와 ConA는 미처리 대조군과 비교하여 비장 세포증식률을 효과적으로 증가시켰으며(Figure 26a-d), 쌍별귀뚜라미 Neutrase 가수분해물을 처리한 세포는 control 또는 LPS와 ConA의 존재하에서 미처리 대조군과 비교하여 비장세포 증식률이 유의적으로 다르지 않았음(Figure 26a).

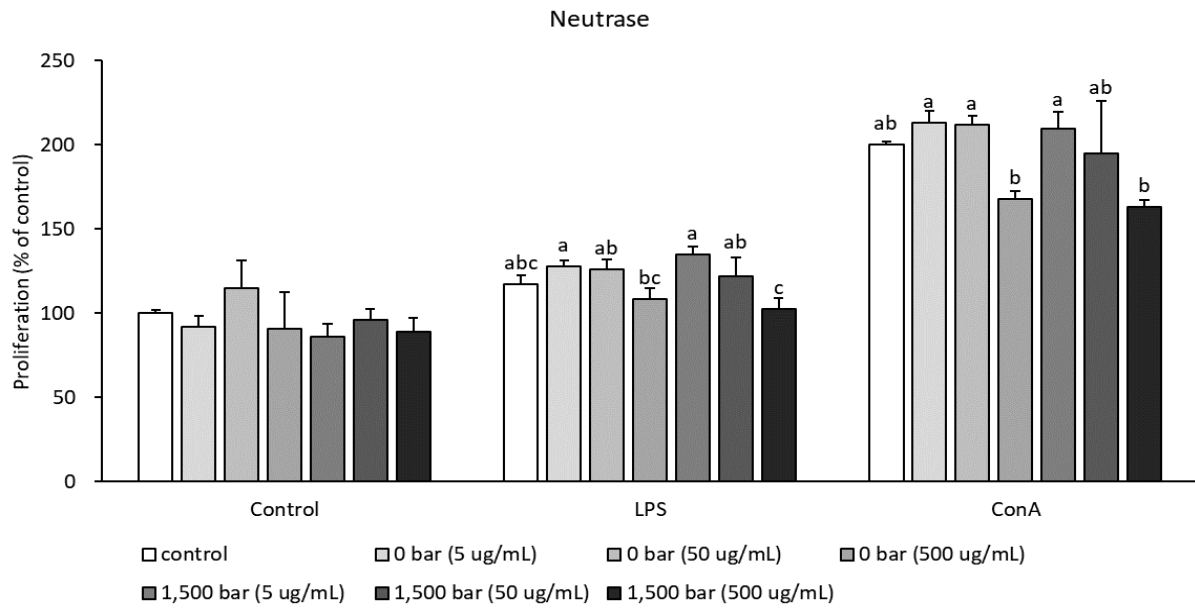
쌍별귀뚜라미 Flavourzyme 가수분해물을 처리한 세포는 control에서 고압 여부와 상관없이 모든 농도에서 비장세포 증식률이 유의적으로 감소하였고, LPS 존재하에서는 고압 처리하지 않은 Flavourzyme 가수분해물을 500 ug/mL의 농도로 처리한 경우에 비장세포 증식률이 유의적으로 감소하였음($p < 0.05$; Figure 26b). 또한, ConA 존재하에서는 고압 여부와 상관없이 500 ug/mL의 Flavourzyme 가수분해물을 처리한 경우 비장세포 증식률이 유의적으로 감소함($p < 0.05$; Figure 26b).

쌍별귀뚜라미 Alcalase 가수분해물을 처리한 세포는 control에서 미처리 대조군과 비교하여 비장 세포 증식률이 유의적으로 다르지 않았음(Figure 26c). 그러나 LPS 존재하에서는 고압 여부와 상관없이 500 ug/mL의 Alcalase 가수분해물을 처리한 경우 비장세포 증식률이 유의적으로 감소하였고($p < 0.05$; Figure 26c), ConA 존재하에서는 고압 처리하지 않은 Alcalase 가수분해물을 50 또는 500 ug/mL의 농도로 처리한 경우와 고압 처리한 Alcalase 가수분해물을 500 ug/mL의 농도로 처리한 경우 비장세포 증식률이 유의적으로 감소함($p < 0.05$; Figure 26c).

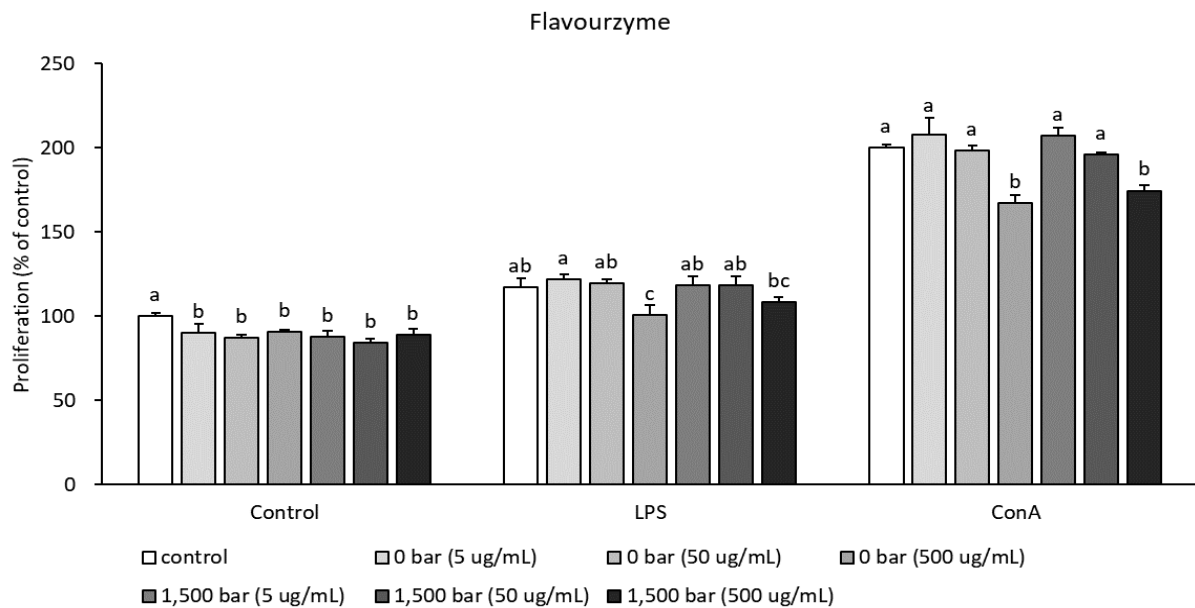
쌍별귀뚜라미 Protamex 가수분해물을 처리한 세포는 control에서 미처리 대조군과 비교하여 5와 50 ug/mL의 농도로 처리한 경우에 비장세포 증식률이 유의적으로 증가함($p < 0.05$; Figure 26d). 그러나 LPS 존재하에서는 고압 처리하지 않은 Protamex 가수분해물을 500 ug/mL 처리한 경우와 고압 처리한 Protamex 가수분해물을 50 또는 500 ug/mL의 농도로 처리한 경우 비장 세포 증식률이 유의적으로 감소하였음($p < 0.05$; Figure 26d). 또한, ConA 존재하에서는 고압 여부와 상관없이 500 ug/mL의 Protamex 가수분해물을 처리한 경우 비장세포 증식률이 유의적으로 감소하였고($p < 0.05$; Figure 26d).

종합하면 쌍별귀뚜라미 가수분해물은 Protamex 가수분해물을 제외하면 비장세포 증식을 효과적으로 활성화하지 못하는 것으로 판단되며, Protamex 가수분해물은 LPS 또는 ConA의 자극 여부와는 상관없이 비장세포의 증식을 촉진하는 것으로 생각됨.

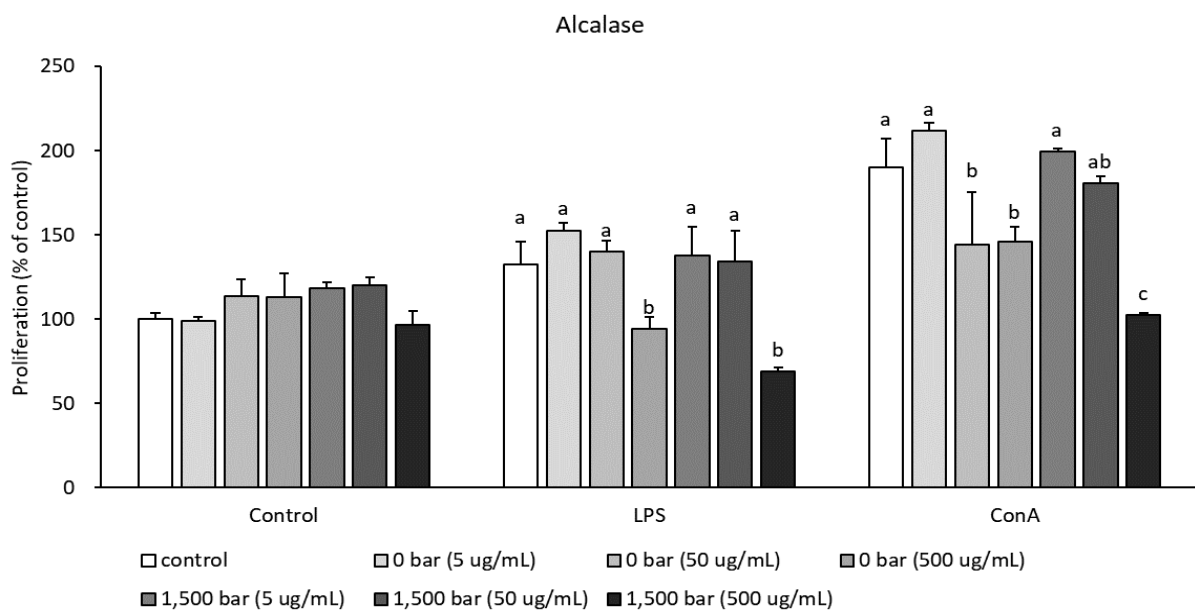
(a)



(b)



(c)



(d)

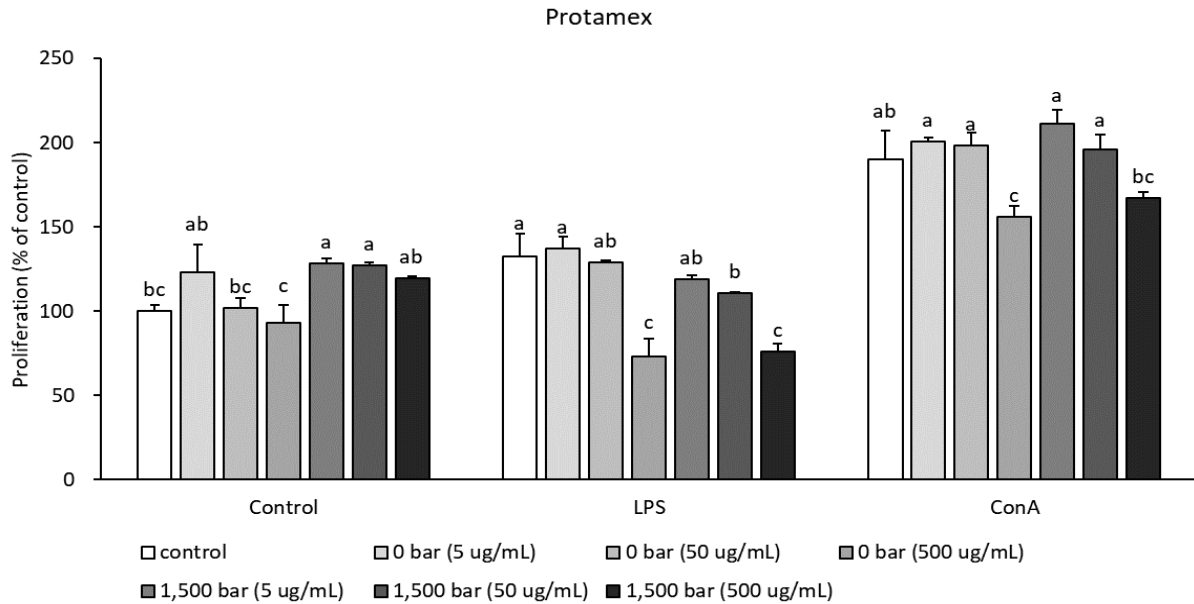


Figure 26. Effect of two-spotted cricket hydrolysates on splenocyte proliferation. Splenocytes were collected from Balb/c mice. The cells were incubated with various concentrations of two-spotted cricket hydrolysates for 24 h in the presence of lipopolysaccharide (LPS) or concanavalin A (ConA). Cell proliferation was measured using a water-soluble tetrazolium salt (WST-1) assay. Values were represented as mean \pm SD ($n = 3-4$). Statistical analyses were performed by Tukey's multiple range test after one-way ANOVA. ^{a-c}Bars with different letters are statistically different ($p < 0.05$).

(2) 쌍별귀뚜라미 가수분해물의 비장 자연살해세포 활성 조절 효과

자연살해세포(Natural killer cell) 림프구의 일종으로 혈관 및 림프조직 특히 비장에서 발견되며 세포성 면역반응을 수행함. 자연살해세포는 또한 활성화된 이후 다양한 사이토카인을 빠르게 분비하는 능력을 갖추고 있어서 선천면역계(innate immune system)의 핵심적인 요소가 되며 각종 바이러스, 박테리아와 같은 외부 항원들에 대응하여 초기의 면역반응을 유발하며 표적 세포에 대한 세포 살해기능을 갖고 있어 자연살해세포의 활성 자극 효과는 체내 면역력 향상과 관련이 있음.

본 연구에서는 자연살해세포에 특이적으로 반응하는 YAC-1 종양세포를 이용하여 쌍별귀뚜라미 가수분해물에 의한 비장의 자연살해세포 활성 증진 효과를 측정하였음. 실험 결과 고압 처리한 Alcalase 가수분해물을 세포에 500 ug/mL의 농도로 처리한 경우 자연살해세포의 활성이 유의적으로 증가함($p < 0.05$; Figure 27c). 반면 Neutrase, Flavourzyme과 Protamex 가수분해물은 고압 여부와 상관없이 비장의 자연살해 세포의 활성을 증가시키지는 못하였음(Figure 27a,b,d). 따라서 쌍별귀뚜라미 Alcalase 가수분해물은 자연살해세포 활성화를 통하여 면역력 향상 효과가 있을 것으로 기대됨.

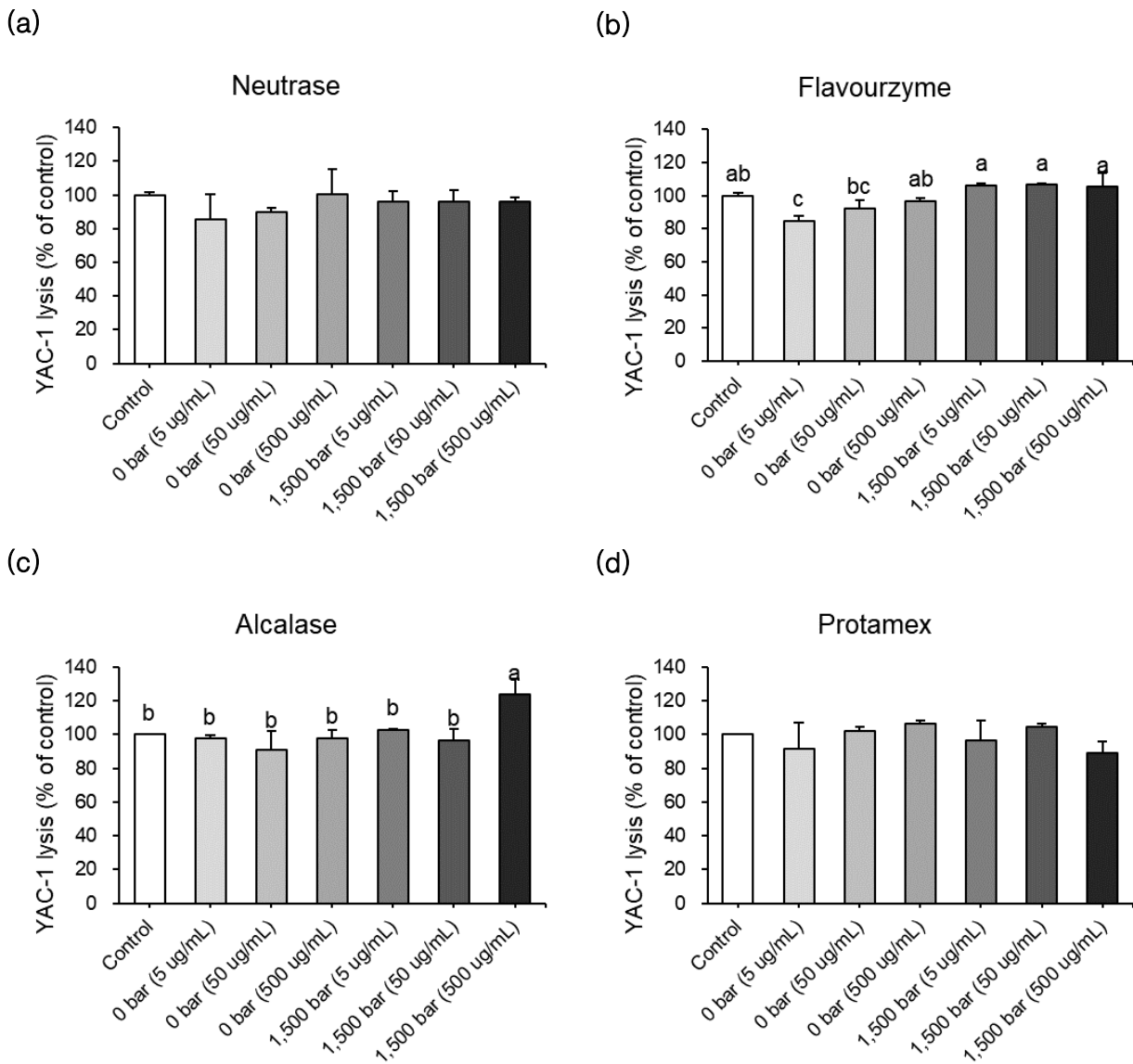


Figure 27. Effect of two-spotted cricket hydrolysates on splenic natural killer (NK) cell activity. Splenocytes were coincubated with Yac-1 cells at a 50:1 ratio for 24 h in the presence of with various concentrations of two-spotted cricket hydrolysates. NK cell activity was measured by measuring lactate dehydrogenase (LDH) release from YAC-1 cells. Values were represented as mean \pm SD (n = 3-4). Statistical analyses were performed by Tukey's multiple range test after one-way ANOVA. ^{a,b}Bars with different letters are statistically different ($p < 0.05$).

4) 쌍별귀뚜라미 가수분해물의 복강 대식세포 활성화 효과 평가

4-1) 쌍별귀뚜라미 가수분해물의 대식세포(RAW264.7 cell) 활성화 효과 평가

(1) 쌍별귀뚜라미 가수분해물의 대식세포(RAW264.7 cell) 증식능 조절 효과

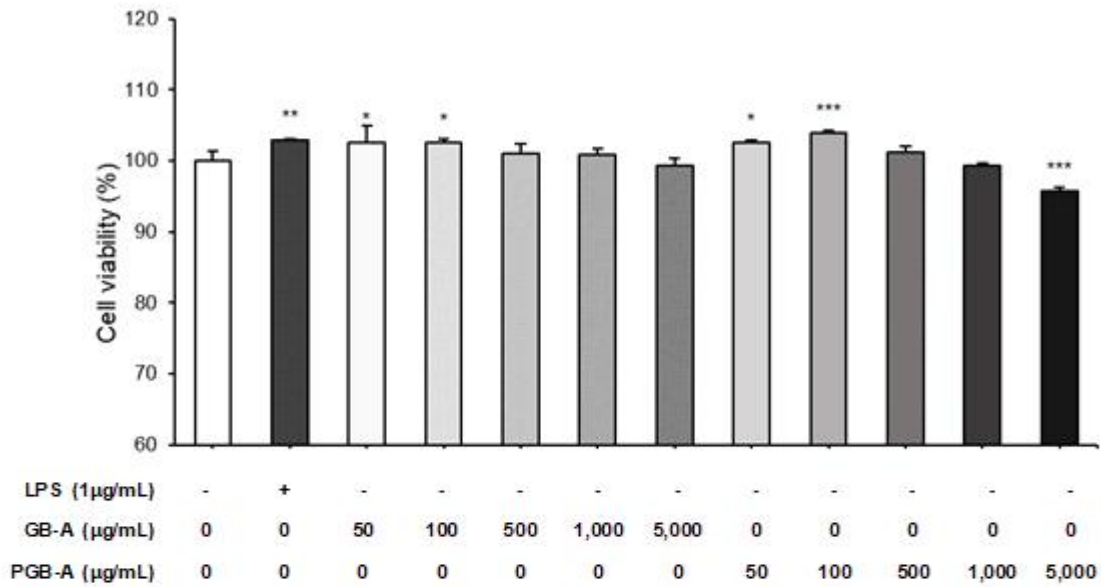
림프구의 증식을 측정하는 방법은 면역 활성 평가 방법 중 가장 광범위하게 이용되는 방법으로 대식세포에 기능성 소재를 가하여 배양하면서 대식세포의 증식능을 측정함으로써 대식세포의 활성화에 의한 기능성 소재의 면역 증강 효과를 평가할 수 있음.

본 연구에서 양성대조군인 LPS는 세포 증식률을 유의적으로 증가시켰으며, 쌍별귀뚜라미 Alcalase 가수분해물(GB-A)은 또한 50 또는 100 ug/mL의 농도에서 대조군(0 ug/mL)과 비교하여 세포 생존율을 유의적으로 증가시켰다($p < 0.05$; Figure 28a). 고압 처리한 쌍별귀뚜라미의 Alcalase 가수분해물(PGB-A)은 50 또는 100 ug/mL의 농도로 처리한 경우 대조군(0 ug/mL)과 비교하여 세포 생존율을 유의하게 증가시켰으나($p < 0.05$; Figure 28a), 5,000 ug/mL의 농도에서는 세포 증식률이 유의적으로 감소함($p < 0.05$; Figure 28a).

또한, 쌍별귀뚜라미 Protamex 효소분해물(GB-P)과 고압 처리한 쌍별귀뚜라미의 Protamex 효소분해물(PGB-A)은 50, 100 또는 500 ug/mL 농도에서 대조군(0 ug/mL)과 비교하여 세포 생존율이 유의하게 높았으나($p < 0.05$; Figure 28b), 5,000 ug/mL의 농도에서는 세포 증식률이 유의적으로 감소함($p < 0.05$; Figure 28b).

따라서 모든 시료는 1,000 ug/mL 이하의 농도로 처리한 경우 세포독성을 나타내지 않으며, 50과 100 ug/mL의 농도로 처리한 경우에는 세포 증식률을 활성화하여 면역 증강 효과가 있는 것으로 판단됨.

(a)



(b)

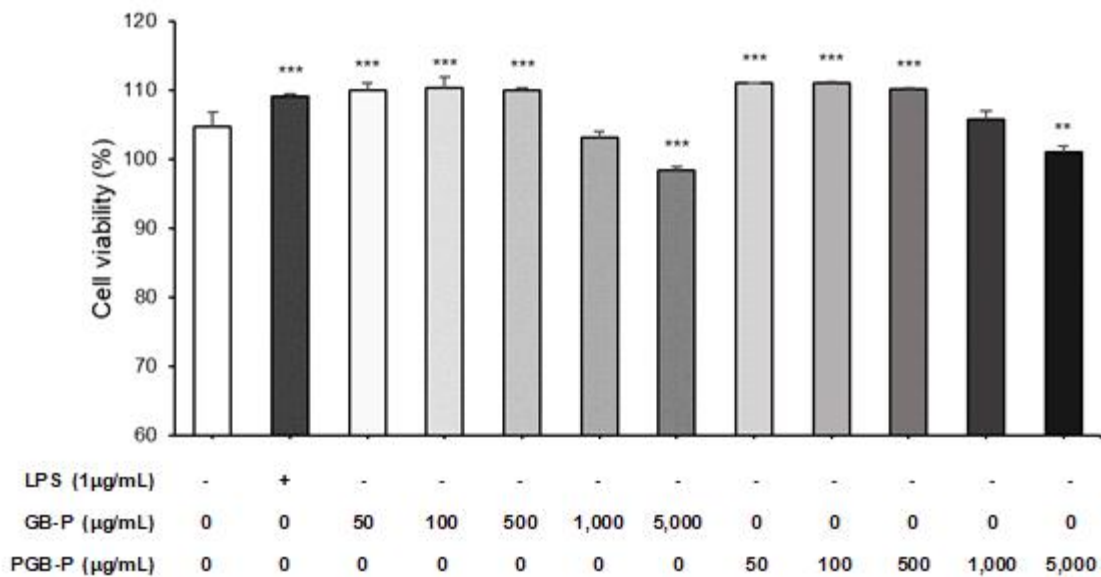


Figure 28. Effect of two-spotted cricket hydrolysates on proliferation. RAW264.7 cells were treated with test substances (0, 50, 100, 500, 1000, and 5000 µg/mL) or LPS (1 µg/mL) for 24 h and were used to test the cell viability by a water-soluble tetrazolium salt (WST-1) assay. Values were represented as mean ± SD (n = 3-4). Statistical analyses were performed by Tukey's multiple range test after one-way ANOVA. ***p* < 0.01 and ****p* < 0.001 vs. untreated control. LPS, lipopolysaccharide.

(2) 쌍별귀뚜라미 가수분해물의 대식세포(RAW264.7 cell) 탐식 활성 증진 효과

대식세포는 비특이적 면역반응에 관여하는 면역세포로 박테리아, 바이러스 등의 감염성 병원체와 노화된 정상 세포와 암세포 등에 탐식 작용을 일으켜 제거하는 방어 능력을 갖춤.

본 연구결과에서 LPS는 대조군과 비교하여 대식세포의 탐식 활성을 다소 증가시켰으나, 통계적으로 유의하지는 않았음(Figure 29). 그러나 GB-A, PGB-A 또는 PGB-P를 50 ug/mL의 농도로 처리한 경우, 대식세포의 탐식 활성이 대조군에 비하여 유의적으로 높았고, 100 ug/mL의 농도에서는 GB-A, GB-P, PGB-A와 PGB-P 모두 대식세포의 탐식 활성을 유의적으로 증가시킴($p < 0.05$; Figure 29).

농도별로는 GB-A에 비해 PGB-A의 탐식 활성이 높았으며, GB-P에 비해 PGB-P의 탐식 활성이 높아 고압 처리한 쌍별귀뚜라미 가수분해물은 더욱 효과적으로 대식세포 탐식 활성을 증가시켜 면역능을 증진시키는 효과가 있는 것으로 판단됨.

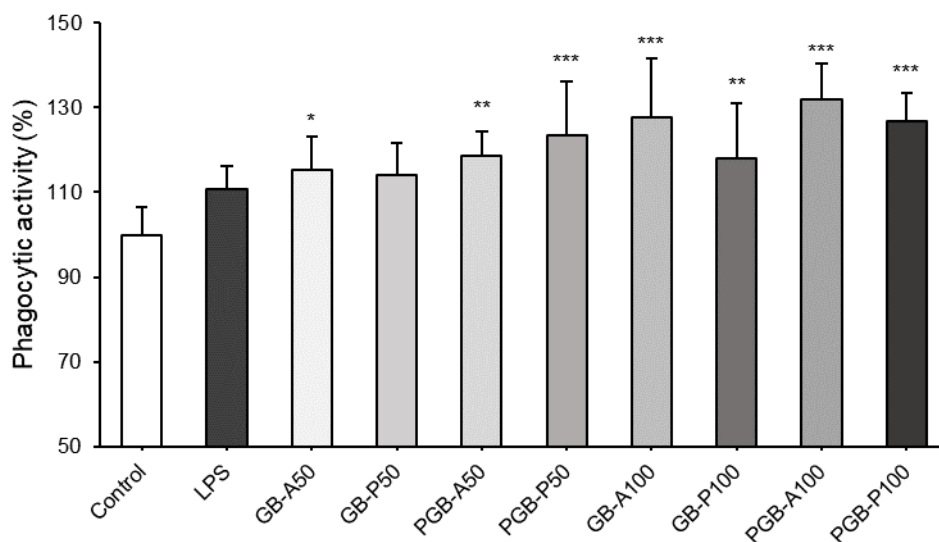


Figure 29. Effect of two-spotted cricket hydrolysates on phagocytosis. RAW264.7 cells were treated with test substances (0, 50, and 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$) or LPS (1 $\mu\text{g}/\text{mL}$) for 24 h and were used to test the phagocytosis by neutral red uptake assay. Values were represented as mean \pm SD ($n = 3-4$). Statistical analyses were performed by Tukey's multiple range test after one-way ANOVA. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ and *** $p < 0.001$ vs. untreated control. LPS, lipopolysaccharide.

(3) 대식세포(RAW264.7 cell)에서 쌍별귀뚜라미 가수분해물의 NO와 사이토카인 분비 활성화 효과

대식세포는 항원 제시작용 및 일산화질소(NO)를 비롯하여 다양한 사이토카인을 분비함으로써 면역작용을 수행하는데, 이들 면역조절 분자의 분비능력을 조절함으로써 생체방어기능을 높일 수 있음.

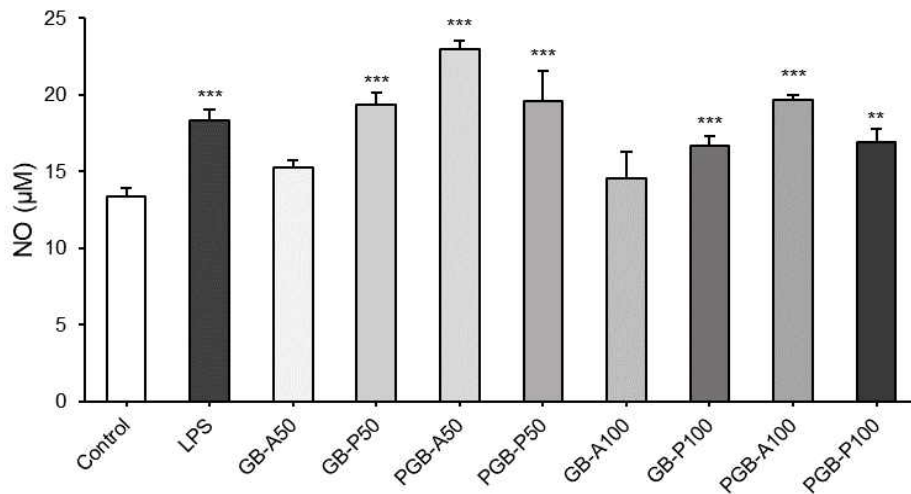
본 연구에서 LPS를 처리한 세포는 대조군과 비교하여 배양액의 NO 농도가 유의하게 높았음($p < 0.05$; Figure 30a). 이와 유사하게 GB-P, PGB-A와 PGB-P는 50과 100 ug/mL의 농도에서 대조군과 비교하여 배양액의 NO 농도가 유의하게 높았음($p < 0.05$; Figure 30a).

배양액의 TNF-alpha 농도의 경우 LPS를 처리한 세포에서 대조군보다 유의하게 높았음($p < 0.05$; Figure 30b). 이와 유사하게 PGB-A와 PGB-P는 50 ug/mL의 농도에서 배양액의 TNF-alpha 농도를 유의하게 증가시켰고, 100 ug/mL의 농도에서는 GB-P, PGB-A와 PGB-P가 대식세포의 탐식 활성을 유의적으로 증가시켰음($p < 0.05$; Figure 30b).

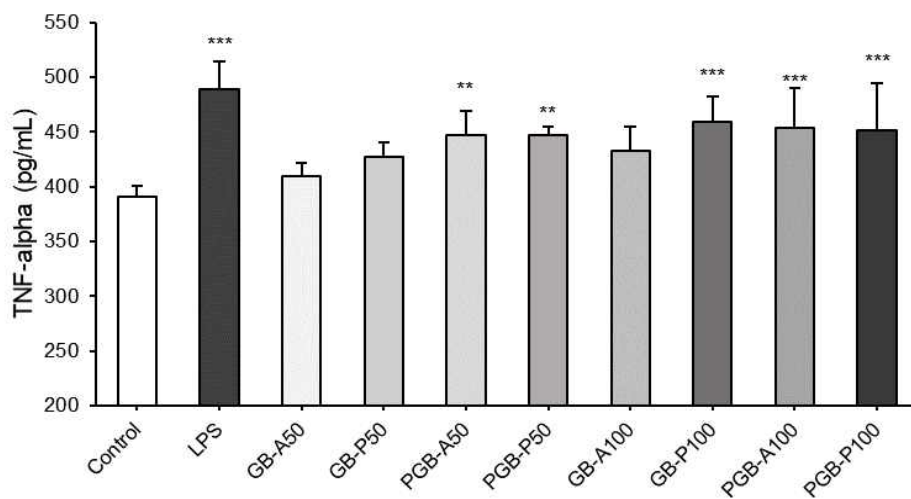
LPS는 대조군과 비교하여 배양액의 IL-6(Interleukin-6) 농도를 유의하게 증가시켰음($p < 0.05$; Figure 30c). 이와 유사하게 GB-A, GB-P, PGB-A와 PGB-P는 50과 100 ug/mL의 농도에서 배양액의 IL-6 농도를 유의하게 증가시켰음($p < 0.05$; Figure 30c).

따라서 GB-A, GB-P, PGB-A와 PGB-P는 모두 대식세포를 활성화하여 NO와 사이토카인의 분비를 증가시키는 것으로 판단됨. 또한, 각 농도 별 GB-A에 비해 PGB-A의 NO, 사이토카인 분비가 증가하였으며, GB-P에 비해 PGB-P의 사이토카인 분비가 증가함.

(a)



(b)



(c)

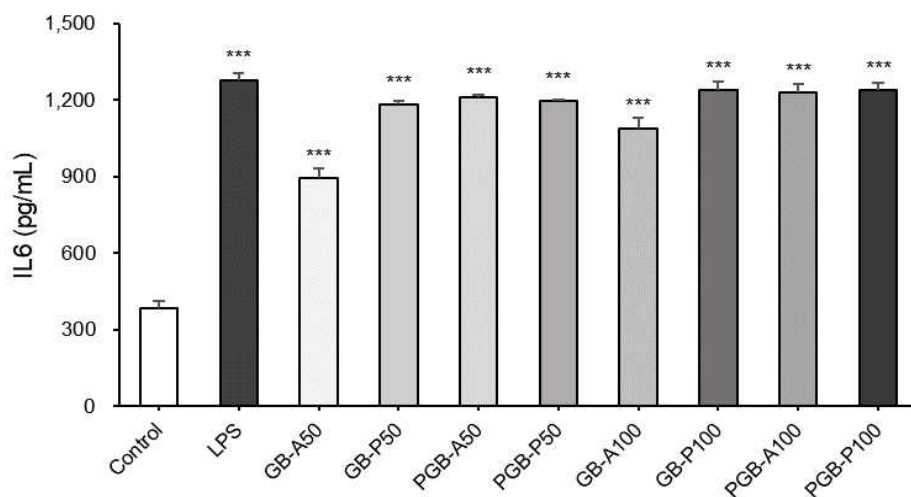


Figure 30. Effect of two-spotted cricket hydrolysates on the production of nitric oxide (NO) and cytokines. RAW264.7 cells were treated with test substances (0, 50, and 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$) or LPS (1 $\mu\text{g}/\text{mL}$) for 24 h. The supernatant (a) NO levels were determined using Griess reagent. The supernatant (b) TNF α and (c) IL-6 levels were measured using ELISA kits. Values were represented as mean \pm SD ($n = 3-4$). Statistical analyses were performed by Tukey's multiple range test after one-way ANOVA. ** $p < 0.01$ and *** $p < 0.001$ vs. untreated control. LPS, lipopolysaccharide; TNF, tumor necrosis factor alpha; IL-6, interleukin 6.

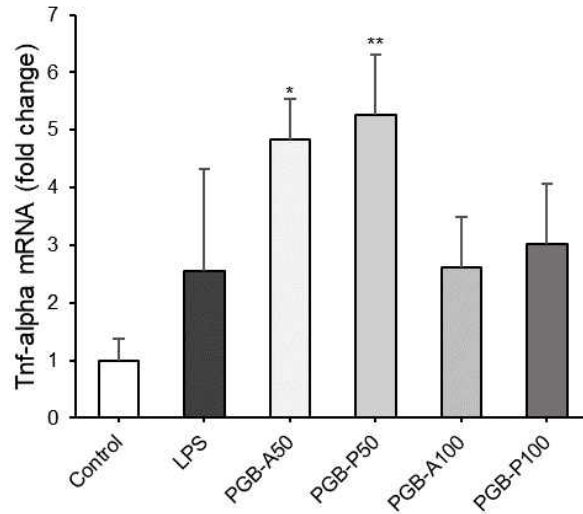
(4) 대식세포(RAW264.7 cell)에서 쌍별귀뚜라미 가수분해물의 사이토카인 유전자 발현 활성화 효과

LPS는 대조군과 비교하여 TNF- α mRNA 발현을 증가시키는 경향이 있었음(Figure 31a). 이와 유사하게 PGB-A와 PGB-P를 50 ug/mL의 농도로 처리한 세포에서 대조군과 비교하여 통계적으로 유의하게 증가함($p < 0.05$; Figure 31a).

LPS는 대조군과 비교하여 IL-6 mRNA 발현을 증가시키는 경향이 있었음(Figure 31b). 이와 유사하게 PGB-P를 100 ug/mL의 농도로 처리한 세포에서 대조군과 비교하여 통계적으로 유의하게 증가함($p < 0.05$; Figure 31b).

따라서 PGB-A와 PGB-P는 대식세포를 활성화하여 사이토카인의 mRNA 발현을 증가시키는 효과가 있으며, PGB-P는 더욱 효과적으로 사이토카인의 mRNA 발현을 증가시키는 효과가 있는 것으로 판단됨.

(a)



(b)

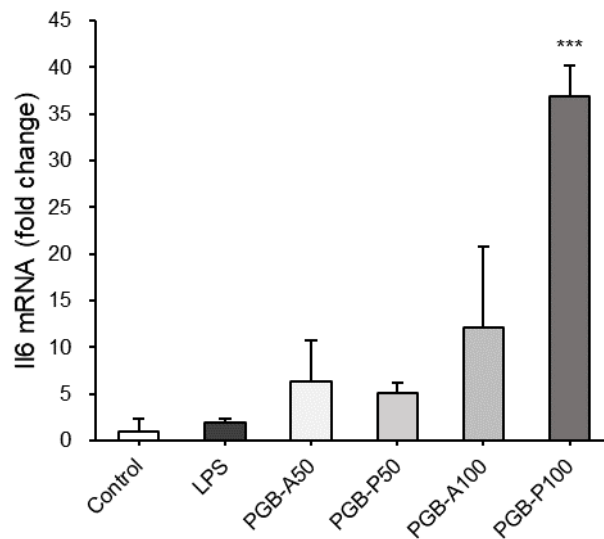


Figure 31. Effect of two-spotted cricket hydrolysates on the mRNA expression of cytokines. RAW264.7 cells were treated with test substances (0, 50, and 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$) or LPS (1 $\mu\text{g}/\text{mL}$) for 24 h. The mRNA expression levels of (a) TNF α and (b) IL-6 were measured by a quantitative real-time PCR. RPLP0 was used as an internal control. Values were represented as mean \pm SD (n = 3–4). Statistical analyses were performed by Tukey's multiple range test after one-way ANOVA. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ and *** $p < 0.001$ vs. untreated control. LPS, lipopolysaccharide; TNF, tumor necrosis factor alpha; IL-6, interleukin 6; RPLP0, ribosomal protein, large, P0.

4-2) 쌍별귀뚜라미 가수분해물의 마우스 복강대식세포 활성화 효과 평가

(1) 쌍별귀뚜라미 가수분해물의 복강 대식세포 증식능 조절 효과

Figure 32에 의하면 LPS는 세포 생존율을 유의적으로 증가시켰으나, 고압 처리한 쌍별귀뚜라미의 Acalase 가수분해물(PGB-A)과 Protamex 가수분해물(PGB-P)은 모든 농도에서 대조군(0 ug/mL)과 비교하여 세포 생존율을 유의하게 변화시키지 않았음.

따라서, 10 - 500 ug/mL의 쌍별귀뚜라미 가수분해물은 복강 대식세포의 증식률을 효과적으로 증가시키지는 않으나, 세포독성을 나타내지 않는 것으로 판단됨.

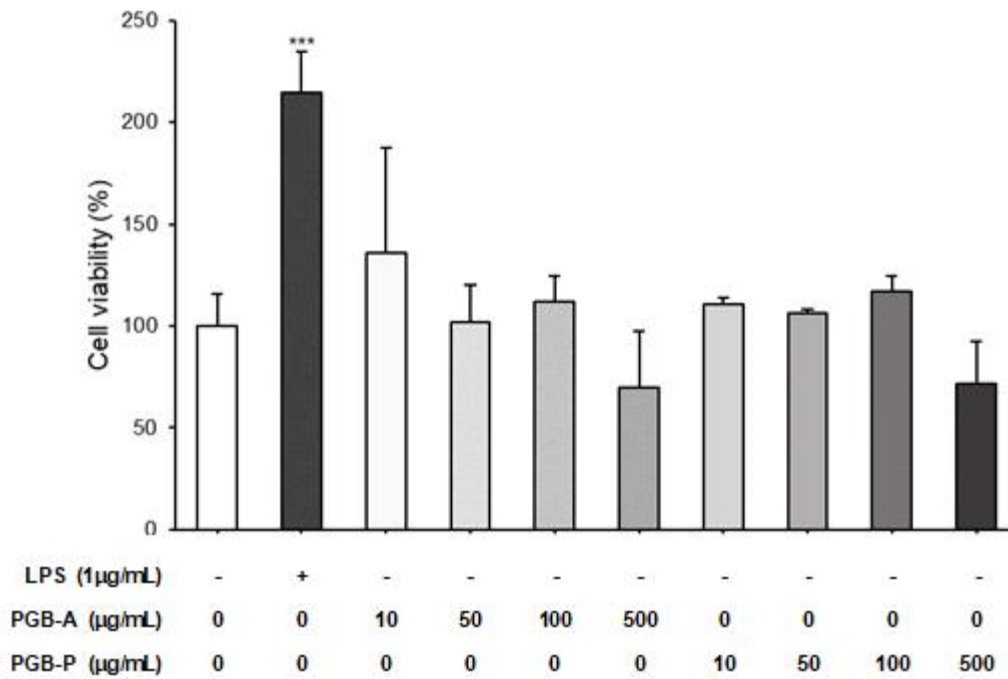


Figure 32. Effect of two-spotted cricket hydrolysates on proliferation. Peritoneal macrophages obtained from Balb/c mice were treated with test substances (0, 10, 50, 100, and 500 µg/mL) or LPS (1 µg/mL) for 24 h and were used to test the cell viability by a water-soluble tetrazolium salt (WST-1) assay. Values were represented as mean ± SD (n = 3-4). Statistical analyses were performed by Tukey's multiple range test after one-way ANOVA. ****p* < 0.001 vs. untreated control. LPS, lipopolysaccharide.

(2) 쌍별귀뚜라미 가수분해물의 복강 대식세포 탐식 활성 증진 효과

Figure 33을 참고하면, LPS는 대조군과 비교하여 대식세포의 탐식 활성을 다소 증가시켰으나, 통계적으로 유의하지는 않았음. 그러나 PGB-A와 PGB-P는 50과 100 ug/mL의 농도에서 대식세포의 탐식 활성을 유의적으로 증가시킴(Figure 33).

따라서 쌍별귀뚜라미 가수분해물은 복강 대식세포 탐식 활성을 증가시켜 면역능을 증진시키는 효과가 있음을 확인함.

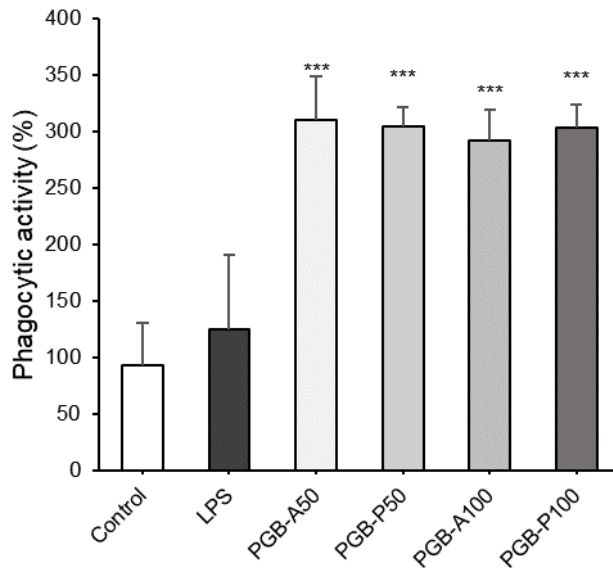


Figure 33. Effect of two-spotted cricket hydrolysates on phagocytosis. Peritoneal macrophages obtained from Balb/c mice were treated with test substances (0, 50, and 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$) or LPS (1 $\mu\text{g}/\text{mL}$) for 24 h and were used to test the phagocytosis by neutral red uptake assay. Values were represented as mean \pm SD (n = 3–4). Statistical analyses were performed by Tukey's multiple range test after one-way ANOVA. *** $p < 0.001$ vs. untreated control. LPS, lipopolysaccharide.

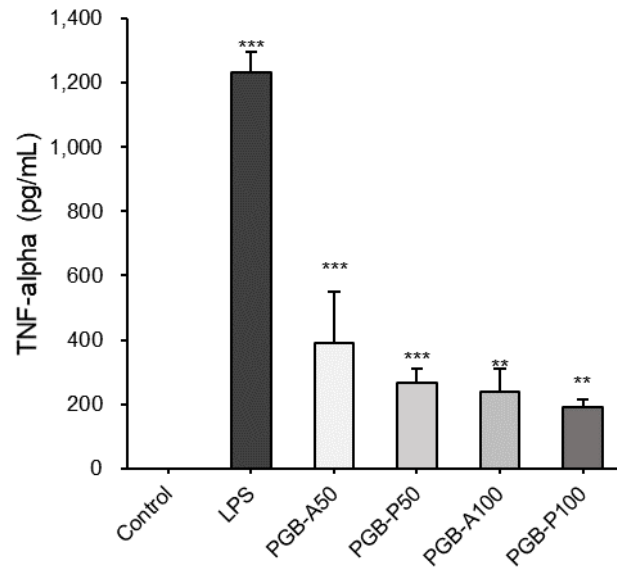
(3) 복강 대식세포에서 쌍별귀뚜라미 가수분해물의 사이토카인 분비 활성화 효과

LPS는 대조군과 비교하여 배양액의 TNF- α 농도를 유의하게 증가시킴 ($p < 0.05$; Figure 34a). 이와 유사하게 PGB-A와 PGB-P는 50과 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 의 농도에서 배양액의 TNF- α 농도를 유의하게 증가시킴 ($p < 0.05$; Figure 34a).

LPS는 대조군과 비교하여 배양액의 IL-6 농도를 유의하게 증가시킴 ($p < 0.05$; Figure 34b). 이와 마찬가지로 PGB-A와 PGB-P는 50과 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 의 농도에서 배양액의 IL-6 농도를 유의하게 증가시킴 ($p < 0.05$; Figure 34b).

따라서 PGB-A와 PGB-P는 모두 대식세포를 활성화하여 NO와 사이토카인의 분비를 증가시키는 것으로 판단됨.

(a)



(b)

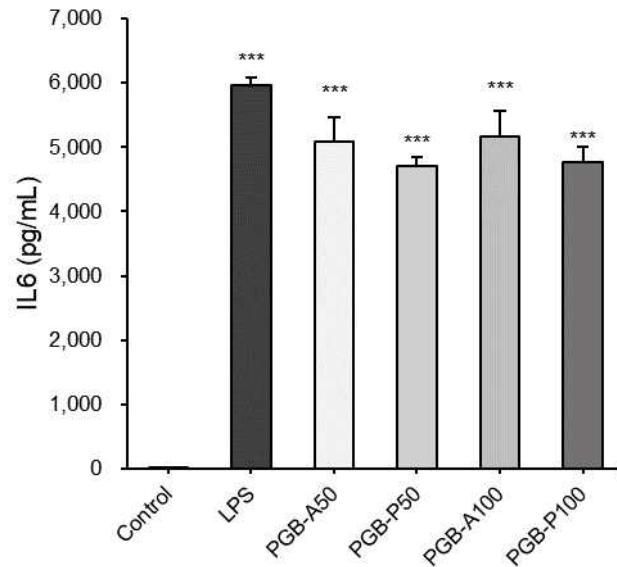


Figure 34. Effect of two-spotted cricket hydrolysates on the production of cytokines. Peritoneal macrophages obtained from Balb/c mice were treated with test substances (0, 50, and 100 $\mu\text{g/mL}$) or LPS (1 $\mu\text{g/mL}$) for 24 h. The supernatant (a) TNF α and (b) IL-6 levels were measured using ELISA kits. Values were represented as mean \pm SD (n = 3-4). Statistical analyses were performed by Tukey's multiple range test after one-way ANOVA. ** $p < 0.01$ and *** $p < 0.001$ vs. untreated control. LPS, lipopolysaccharide; TNF, tumor necrosis factor alpha; IL-6, interleukin 6.

5) 동물 모델에서 쌍별귀뚜라미 가수분해물의 면역기능 개선 효과 평가

(1) 쌍별귀뚜라미 가수분해물이 체중에 나타내는 영향

쌍별귀뚜라미 가수분해물이 cyclophosphamide (CY)에 의한 면역기능변화를 조절하는지 평가하기 위하여 Neutrase 또는 Flavourzyme으로 제조한 쌍별귀뚜라미 가수분해물을 실험동물에 28일간 경구로 투여함. CY는 실험 21일 차와 23일 차에 각각 1회씩 총 2회 복강에 주사하여 실험동물의 면역기능변화를 유도하였음.

실험 시작 전 마우스의 체중은 군 간에 유의적인 차이가 없었고(Figure 35a), 쌍별귀뚜라미 가수분해물을 투여한 21일 차의 체중은 군 간에 유의적인 차이가 없었음(Figure 35b). 그럼에도 불구하고, 28일 차의 체중은 NOR 군에 비하여 CY를 주사한 군에서 유의적으로 감소하였으나($p < 0.05$; Figure 35c), 쌍별귀뚜라미 가수분해물을 투여한 마우스는 CY 군과 비교하여 유의적인 차이가 없었음(Figure 35c).

실험 기간에 마우스의 체중 변화는 군 간에 유의적으로 다르지 않았으나(Figure 35d), CY를 복강 주사한 후 21일 차부터 28일 차에 NOR군은 체중이 증가하여 양의 값을 나타내었으나 CY를 주사한 군은 체중이 감소하여 음의 값을 나타내었음. 따라서 CY 주사 후 체중 변화는 NOR군과 CY군과 유의적으로 달랐으며($p < 0.05$; Figure 35e), 쌍별귀뚜라미 가수분해물을 투여한 군과 CY 군 간에는 유의적인 차이가 없었음(Figure 35e).

따라서 CY는 실험동물의 체중을 감소시키며, 쌍별귀뚜라미 가수분해물은 CY에 의한 체중 감소를 효과적으로 완화하지는 않는 것으로 판단됨.

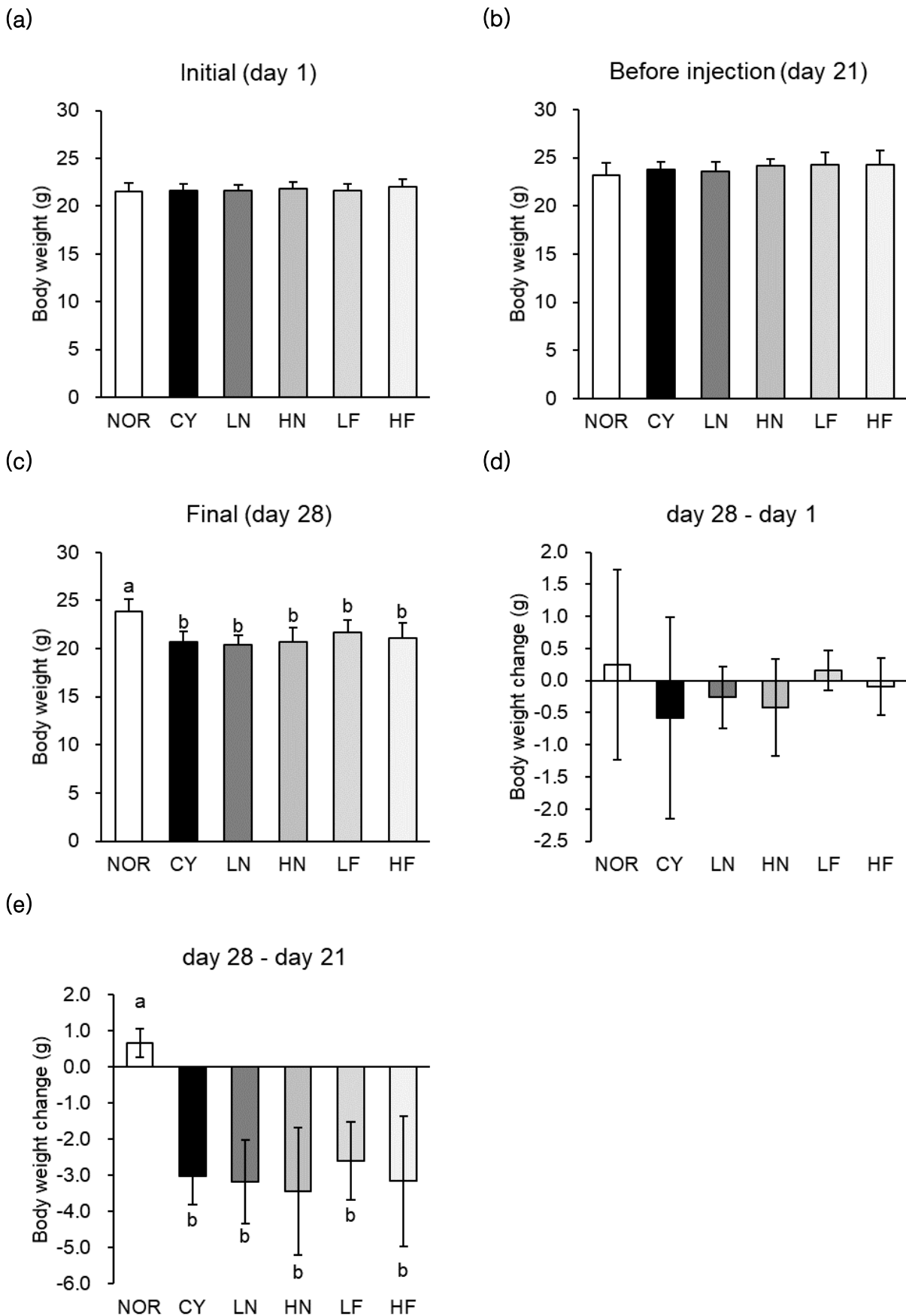


Figure 35 . Effect of two–spotted cricket hydrolysates on body weight during experimental period. (a) Initial body weight, (b) body weight before injection, (c) final body weight, (d) body weight gain, and (e) body weight gain after injection. Results are expressed as mean \pm SD (n = 10). Statistical analysis was conducted by one–way ANOVA followed by Tukey’ s multiple range test. ^{a,b}Mean values with different letters are significantly

different at $p < 0.05$. NOR, normal group; CY, cyclophosphamide treated group; LN, low dose of two-spotted cricket hydrolysed by Neutrase; HN, high dose of two-spotted cricket hydrolysed by Neutrase; LF, low dose of two-spotted cricket hydrolysed by Flavourzyme; HF, high dose of two-spotted cricket hydrolysed by Flavourzyme.

(2) 쌍별귀뚜라미 가수분해물이 식이 섭취량에 나타내는 영향

CY를 주사하기 전인 1일에서부터 20일까지 식이 섭취량은 군 간에 유의적인 차이가 없었음 (Figure 36a). 이와 마찬가지로, CY를 주사한 이후인 21일부터 28일까지의 식이 섭취량은 군 간에 유의적인 차이가 없었음 (Figure 36b). 이에 따라 실험 기간의 총 식이 섭취량은 군 간에 유의적으로 다르지 않았음 (Figure 36c).

종합하면, CY와 쌍별귀뚜라미 가수분해물은 식욕을 저하 또는 증가시키지 않는 것으로 판단됨.

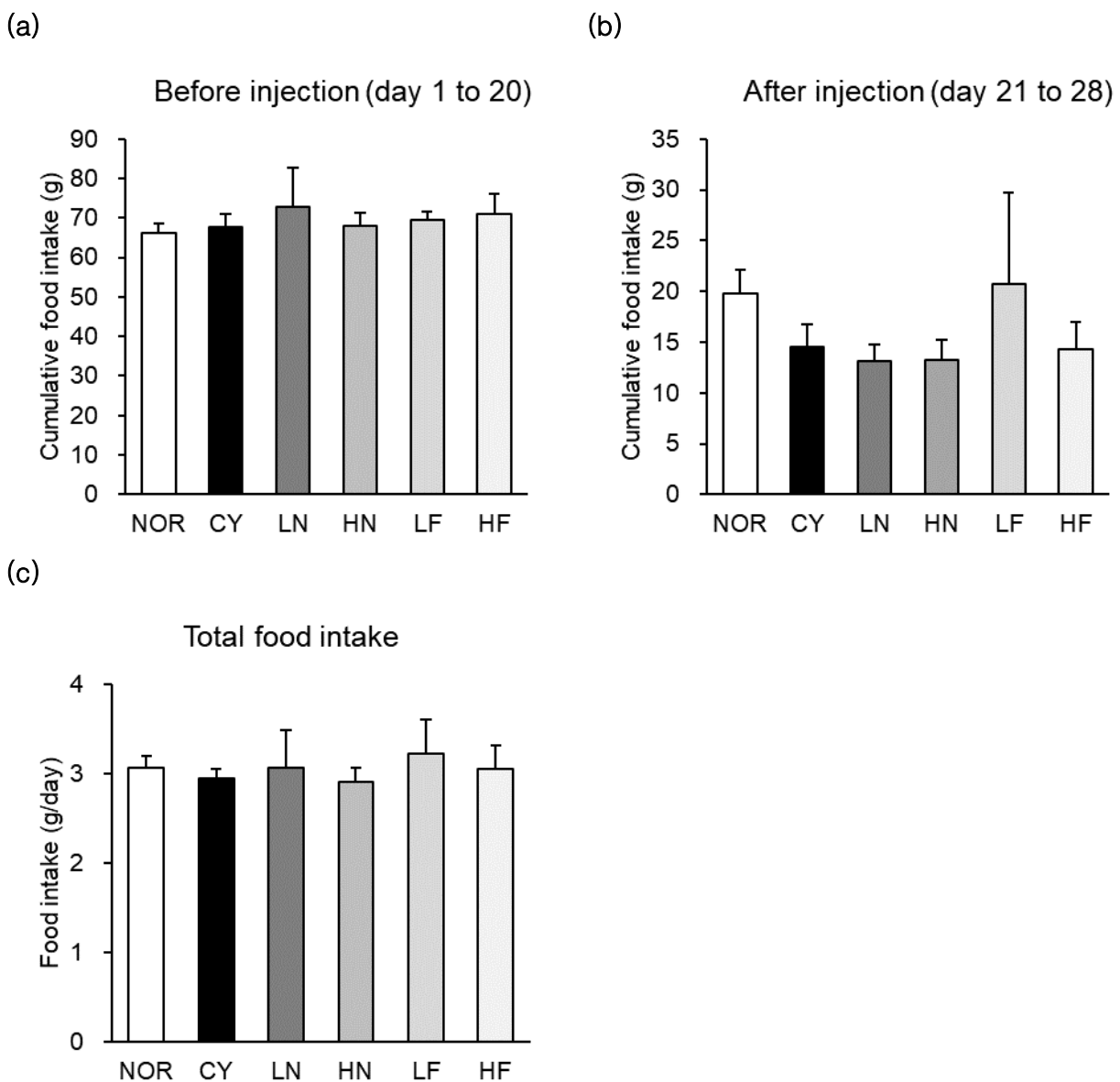


Figure 36. Effect of two-spotted cricket hydrolysates on food intake during experimental period. (a) Cumulative food intake before injection, (b) Cumulative food intake after injection, and (c) daily food intake during the experimental period. Results are expressed as mean \pm SD ($n = 10$). Statistical analysis was conducted by one-way ANOVA followed by Tukey's multiple range test at $p < 0.05$. NOR, normal group; CY,

cyclophosphamide treated group; LN, low dose of two-spotted cricket hydrolysed by Neutrase; HN, high dose of two-spotted cricket hydrolysed by Neutrase; LF, low dose of two-spotted cricket hydrolysed by Flavourzyme; HF, high dose of two-spotted cricket hydrolysed by Flavourzyme.

(3) Cyclophosphamide를 주사한 마우스에서 쌍별귀뚜라미 가수분해물이 조직 무게에 나타내는 영향

비장 무게는 CY 군에서 NOR 군보다 낮았으나, 군 간에 유의적인 차이는 없었음(Figure 37a). 흉선의 무게는 CY 군이 NOR군보다 유의적으로 낮았으며($p < 0.05$; Figure 37b), 쌍별귀뚜라미 가수분해물은 CY에 의한 흉선의 무게 감소를 유의적으로 완화하지는 못하였음(Figure 37b). 신장과 간의 무게는 CY에 의하여 증가하였으나, 군 간에 유의적인 차이는 없었음(Figure 37c,d). 따라서 CY는 T세포의 성숙에 관여하는 흉선의 무게를 감소시킴으로써 실험동물의 면역기능에 변화를 나타낼 수 있을 것으로 생각되며, 쌍별귀뚜라미 가수분해물은 CY로 인한 조직 무게 변화에는 효과적으로 영향을 주지 않는 것으로 판단됨.

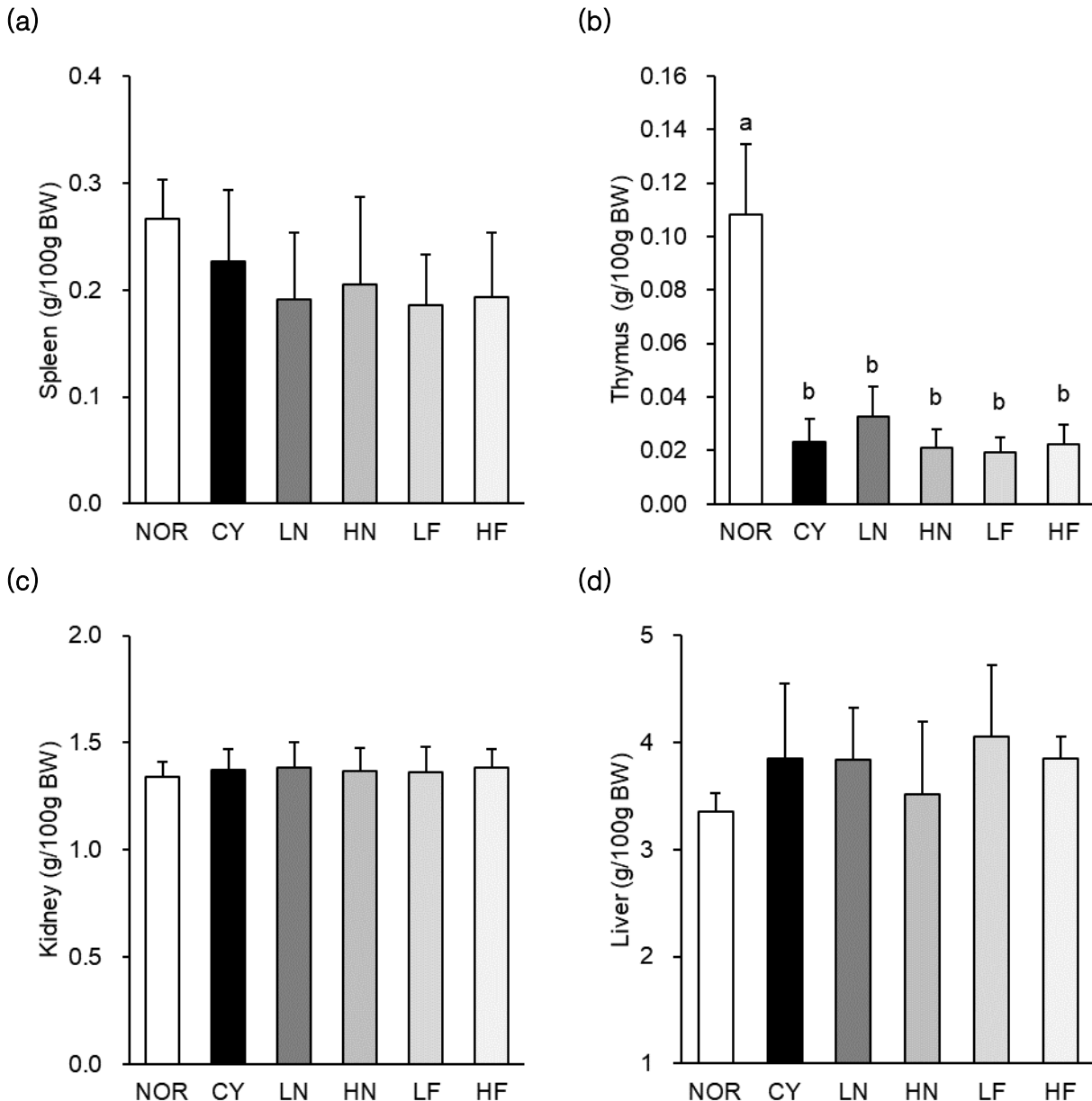


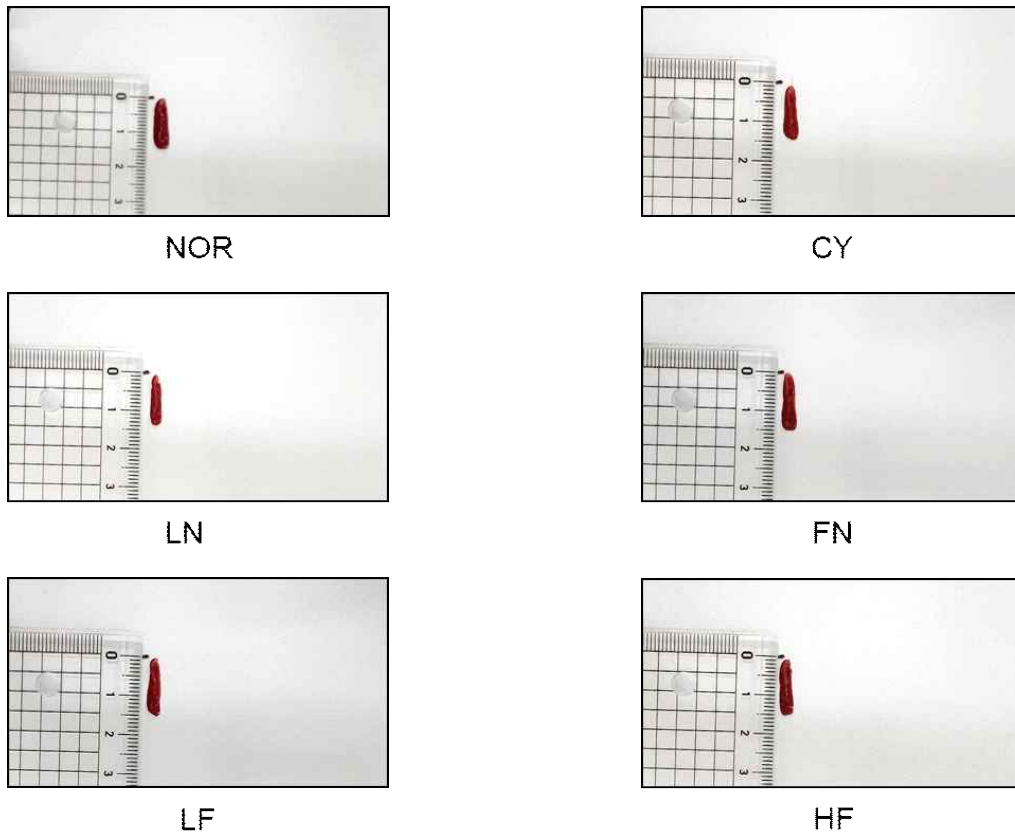
Figure 37. Effect of two-spotted cricket hydrolysates on organ weights. (a) Spleen, (b) thymus, (c) kidney, and (d) liver. Results are expressed as mean \pm SD ($n = 10$). Statistical analysis was conducted by one-way ANOVA followed by Tukey's multiple range test. ^{a,b}Mean values with different letters are significantly different at $p < 0.05$. NOR, normal group; CY, cyclophosphamide treated group; LN, low dose of two-spotted cricket hydrolysed by Neutrase; HN, high dose of two-spotted cricket hydrolysed by Neutrase; LF, low dose of two-spotted cricket hydrolysed by Flavourzyme; HF, high dose of two-spotted cricket hydrolysed by Flavourzyme.

(4) Cyclophosphamide를 주사한 마우스에서 쌍별귀뚜라미 가수분해물이 비장 크기에 나타내는 영향

비장의 형태와 길이는 군 간에 유의적인 차이가 나타나지 않았음(Figure 38a,b).

따라서 쌍별귀뚜라미 가수분해물은 비장의 형태와 크기에 유의한 영향을 주지 않는 것으로 판단 됨.

(a)



(b)

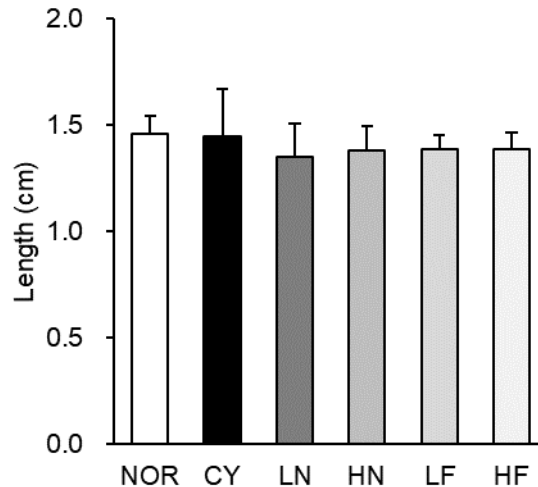


Figure 38. Effect of two-spotted cricket hydrolysates on the spleen tissue. (a) Representative images of spleen and (b) spleen length. Results are expressed as mean \pm SD ($n = 10$). Statistical analysis was conducted by one-way ANOVA followed by Tukey's multiple range test at $p < 0.05$. NOR, normal group; CY, cyclophosphamide treated group; LN, low dose of two-spotted cricket hydrolysed by Neutrased; HN, high dose of two-spotted cricket hydrolysed by Neutrased; LF, low dose of two-spotted cricket hydrolysed by Flavourzyme; HF, high dose of two-spotted cricket hydrolysed by Flavourzyme.

(5) Cyclophosphamide를 주사한 마우스에서 쌍별귀뚜라미 가수분해물이 혈구 세포에 나타내는 영향

평균적혈구용적(mean cell volume, MCV)은 CY 군이 NOR 군보다 유의적으로 낮았으며($p < 0.05$; Figure 39e), 쌍별귀뚜라미 가수분해물을 투여한 군은 CY 군과 비교하여 증가하는 경향이 있었으나 통계적으로 유의하지는 않았음(Figure 39e).

이와 마찬가지로 평균적혈구혈색소(mean cell hemoglobin, MCH)는 CY 군이 NOR 군보다 낮았으나 통계적으로 유의하지는 않았음(Figure 39f); 반면 쌍별귀뚜라미 Neutrased 가수분해물은 CY와 비교하여 높은 경향이 있었으나 통계적으로 유의하지는 않았고(Figure 39f), 쌍별귀뚜라미 Flavourzyme 가수분해물은 모든 농도에서 MCH가 CY 군보다 유의적으로 높았음($p < 0.05$; Figure 39f).

혈소판(platelet, PLT)과 림프구(lymphocyte, LYM)는 CY군에서 NOR군 보다 유의적으로 낮았으나($p < 0.05$; Figure 39h,m), 쌍별귀뚜라미 가수분해물을 투여한 군은 CY군과 비교하여 유의적인 차이가 없었음(Figure 39h,m).

이와는 반대로 평균혈소판용적(mean platelet volume, MPV)와 호중구(neutrophil, NEU)는 CY 군에서 NOR군 보다 유의적으로 높았으나($p < 0.05$; Figure 39k,l), 쌍별귀뚜라미 가수분해물을 투여한 군은 CY군과 비교하여 유의적인 차이가 없었음(Figure 39k,l).

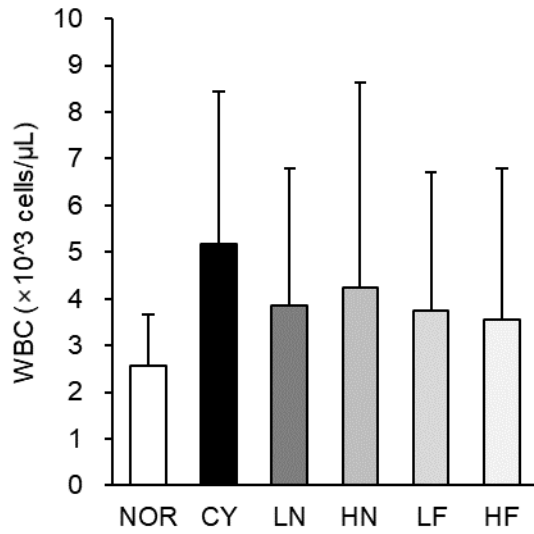
호중구-림프구 비율(neutrophil to lymphocyte ratio, NLR) 또한 CY 군에서 NOR 군보다 유의적으로 높았고($p < 0.05$; Figure 39o), LN과 LF, HF 군은 CY에 의한 NLR을 감소시키는 경향을 나타내었지만, 통계적으로 유의하지는 않았음(Figure 39o).

한편 백혈구(white blood cell, WBC) 수, 적혈구(red blood cell, RBC) 수, 적혈구용적을

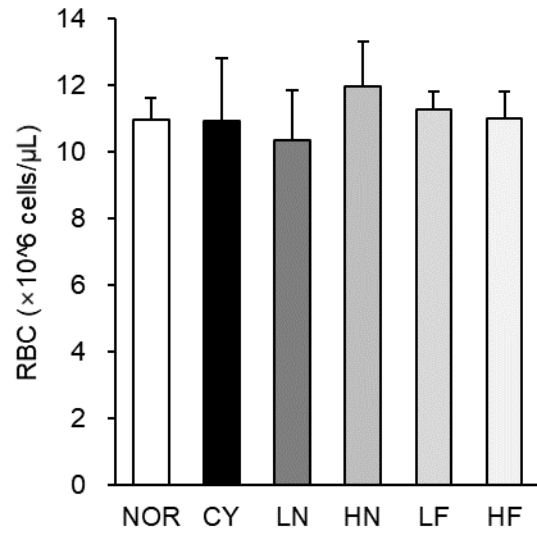
(hematocrit, HCT), 평균적혈구혈색소농도(mean cell hemoglobin concentration, MCHC), 적혈구분포폭(red blood cell distribution width, RDW), 혈소판분포폭(platelet distribution width, PDW), 단핵구(monocyte, MON) 수는 군 간에 유의적인 차이가 없었음(Figure 39a,b,d,g,i,j,n). 이와 마찬가지로 혈색소(hemoglobin, HGB) 농도는 NOR과 CY군이 통계적으로 유의하게 다르지 않았으며(Figure 39c, 쌍별귀뚜라미 가수분해물을 투여한 군 또한 CY군과 통계적으로 유의하게 다르지 않았음(Figure 39c).

종합하면 CY는 MCV, MCH PLT와 LYM을 감소시키며, NLR, MPV, NEU을 증가시킴. 반면 쌍별귀뚜라미 가수분해물은 CY에 의한 MCV, MCH 감소와 NLR의 증가를 완화하는 효과가 있었음. 평균적혈구용적과 평균적혈구혈색소의 감소는 철결핍빈혈 또는 재생불량성빈혈과 관련이 있으며, 호중구-림프구 비율은 전신의 염증 상태를 반영하는 지표이고, 다양한 종류의 암의 예후인자로 간주되고 있음. 따라서 쌍별귀뚜라미 가수분해물은 **CY로 인한 빈혈과 염증을 완화할 수 있을 것으로 판단됨.**

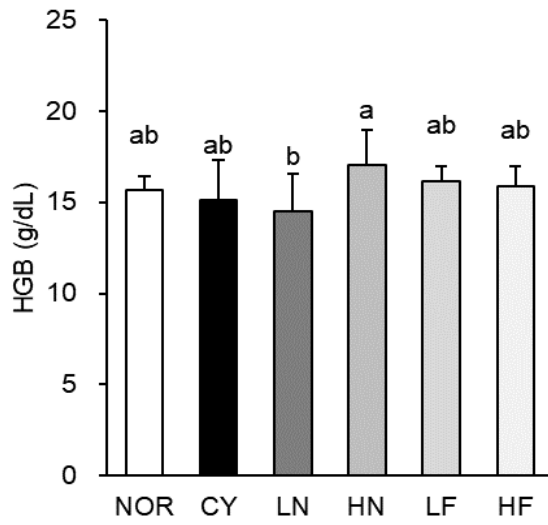
(a)



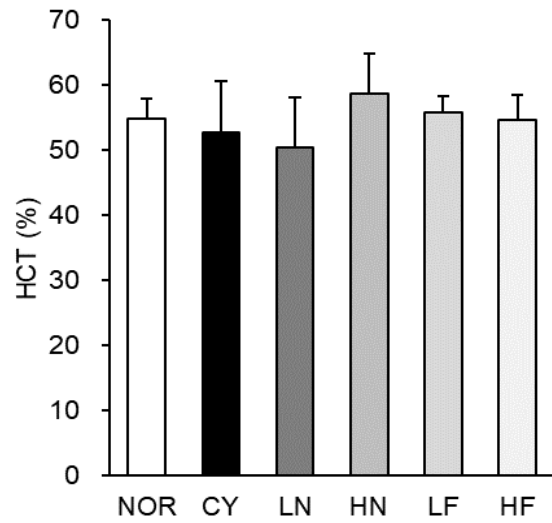
(b)



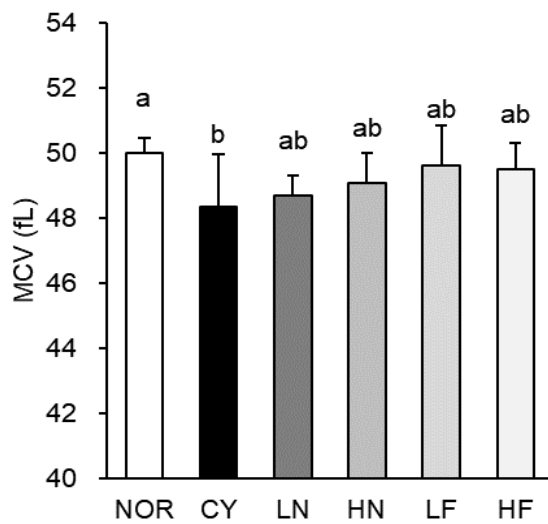
(c)



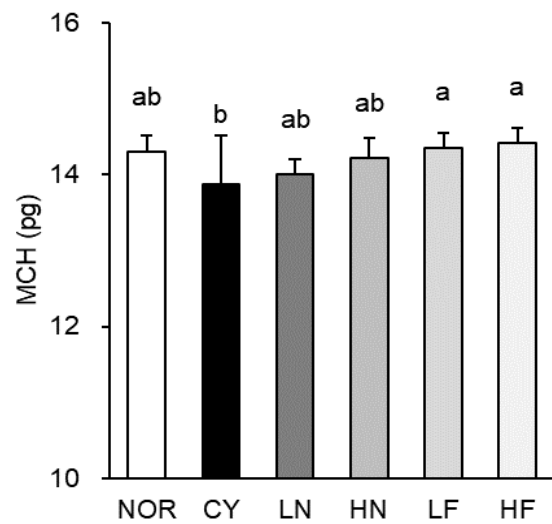
(d)



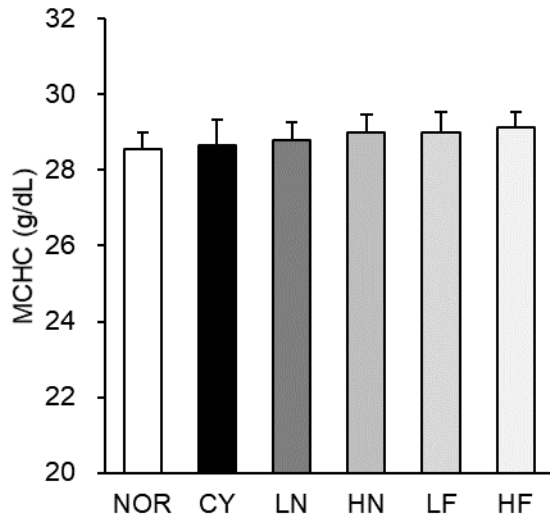
(e)



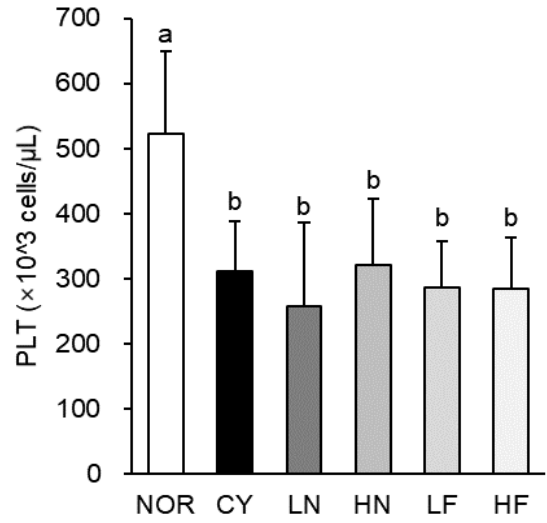
(f)



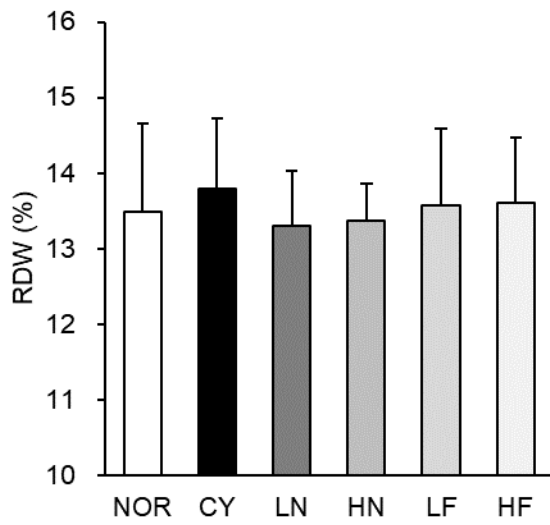
(g)



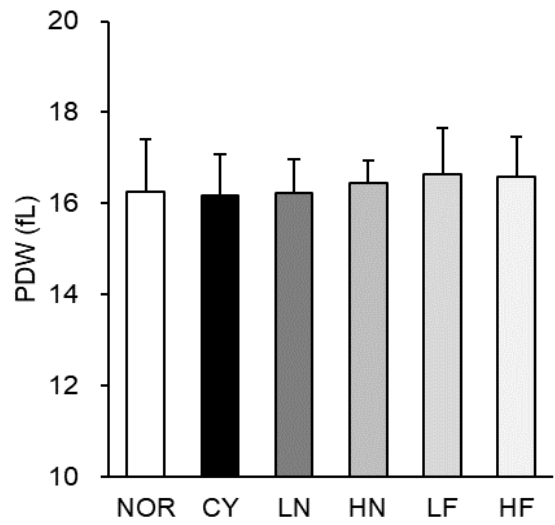
(h)



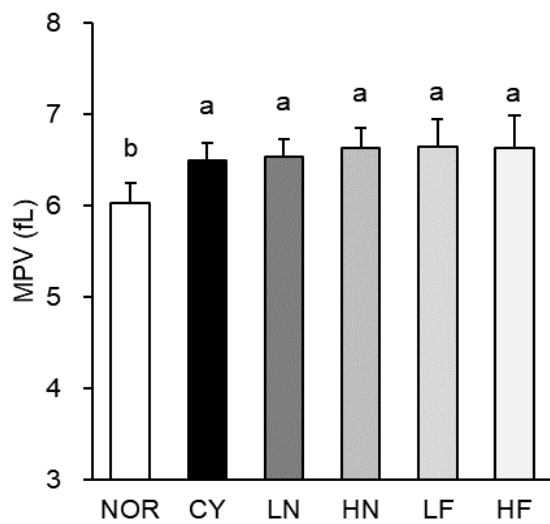
(i)



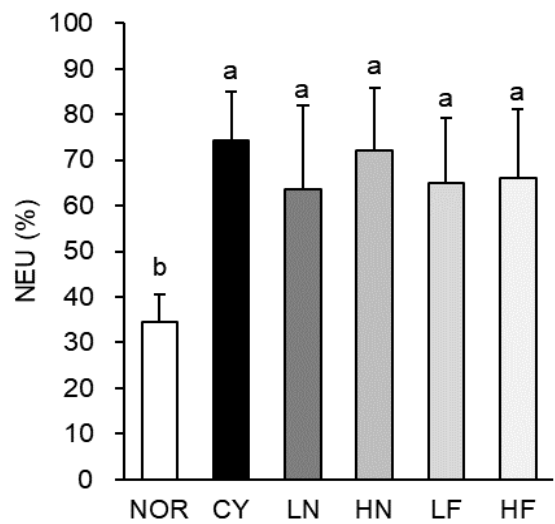
(j)



(k)



(l)



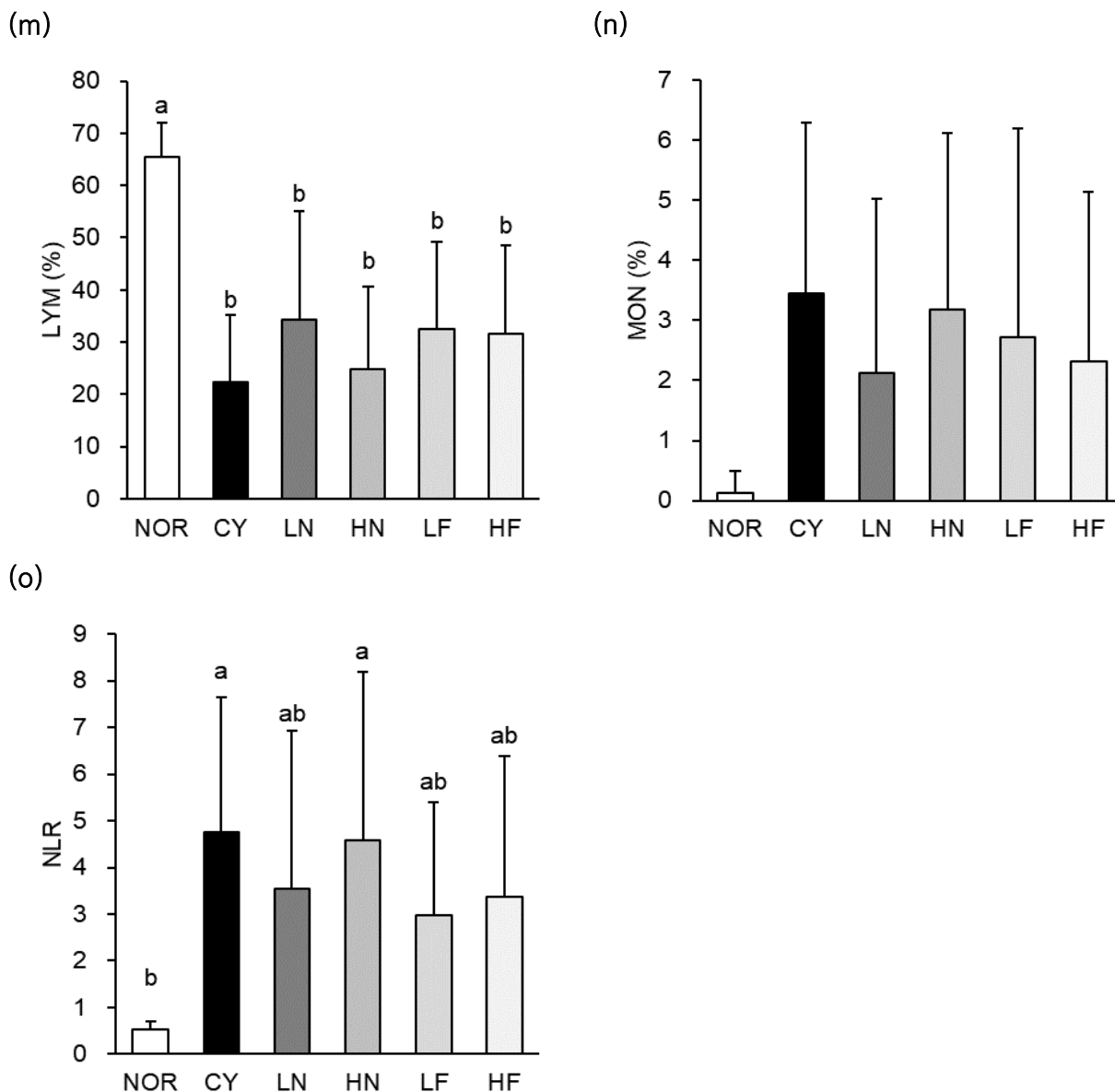


Figure 39. Effect of two-spotted cricket hydrolysates on complete blood count. (a) White blood cell (WBC), **(b)** red blood cell (RBC), **(c)** hemoglobin (HGB), **(d)** hematocrit (HCT), **(e)** mean cell volume (MCV), **(f)** mean cell hemoglobin (MCH), **(g)** mean cell hemoglobin concentration (MCHC), **(h)** platelet (PLT), **(i)** red blood cell distribution width (RDW), **(j)** platelet distribution width (PDW), **(k)** mean platelet volume (MPV), **(l)** neutrophil (NEU), **(m)** lymphocyte (LYM), **(n)** monocyte (MON), and **(o)** neutrophil to lymphocyte ratio (NLR). Results are expressed as mean \pm SD ($n = 10$). Statistical analysis was conducted by one-way ANOVA followed by Tukey's multiple range test. ^{a,b}Mean values with different letters are significantly different at $p < 0.05$. NOR, normal group; CY, cyclophosphamide treated group; LN, low dose of two-spotted cricket hydrolysed by Neutrased; HN, high dose of two-spotted cricket hydrolysed by Neutrased; LF, low dose of two-spotted cricket hydrolysed by Flavourzyme; HF, high dose of two-spotted cricket hydrolysed by Flavourzyme.

(6) Cyclophosphamide를 주사한 마우스에서 쌍별귀뚜라미 가수분해물이 혈장 면역글로불린 농도에 나타내는 영향

면역세포 중 B세포는 외부에서 침입한 특이적인 항원에 대해서 면역글로불린(immunoglobulin, Ig)이라고 불리는 항체를 생산하여 체액성 면역반응을 유도. IgG는 정상 혈액에서 전체 면역글로불린의 70–75%를 차지하며 세균, 바이러스, 곰팡이, 독소 등과 같은 다양한 병원체에 대한 방어 작용을 담당함. IgM은 전체 면역글로불린의 10% 정도를 차지하며, 1차 면역반응에서 주요한 항체가 됨.

본 연구에서는 CY 군이 NOR군보다 혈장의 IgG와 IgM의 농도가 유의적으로 낮았음($p < 0.05$; Figure 40a,b). 그러나 쌍별귀뚜라미 가수분해물은 CY에 의한 혈장의 IgG와 IgM의 농도 감소를 유의적으로 완화시키지 못하였음(Figure 40a,b).

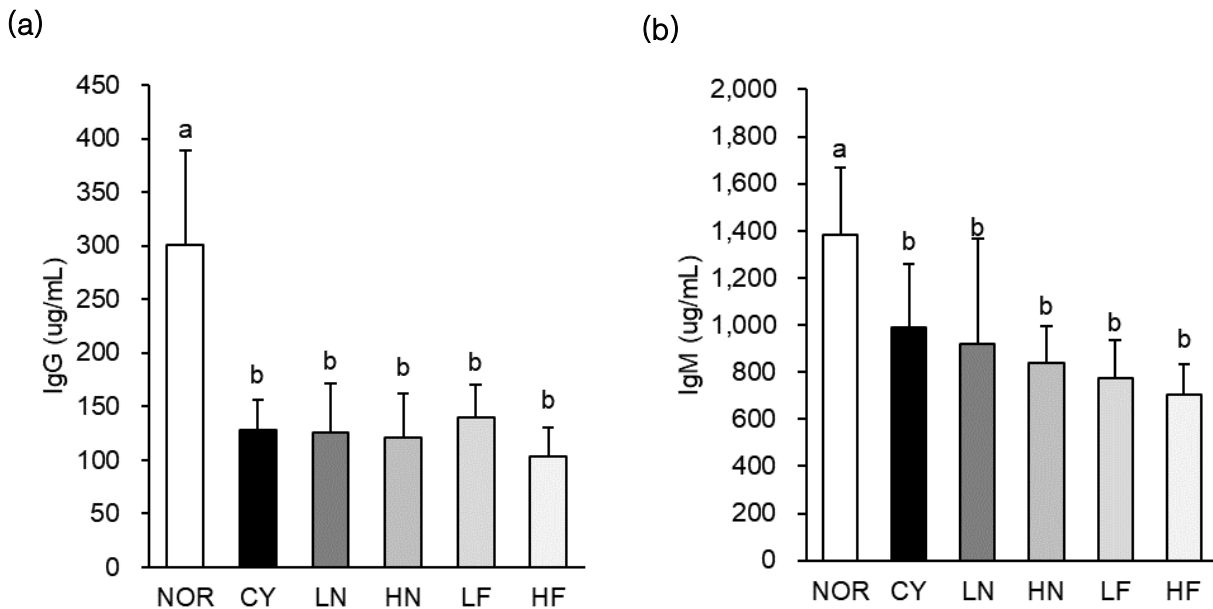


Figure 40. Effect of two-spotted cricket hydrolysates on plasma immunoglobulin (Ig) levels. (a) IgG and (b) IgM. Results are expressed as mean \pm SD ($n = 10$). Statistical analysis was conducted by one-way ANOVA followed by Tukey's multiple range test. ^{a,b}Mean values with different letters are significantly different at $p < 0.05$. NOR, normal group; CY, cyclophosphamide treated group; LN, low dose of two-spotted cricket hydrolysed by Neutrased; HN, high dose of two-spotted cricket hydrolysed by Neutrased; LF, low dose of two-spotted cricket hydrolysed by Flavourzyme; HF, high dose of two-spotted cricket hydrolysed by Flavourzyme.

(7) Cyclophosphamide를 주사한 마우스에서 쌍별귀뚜라미 가수분해물이 혈장 사이토카인 농도에 나타내는 영향

사이토카인은 면역세포에서 생성되는 수용성 단백질로서 이들은 다양한 표적기관에 작용하여 세포의 증식과 활성화, 분화의 조절과 염증세포의 활성화, 여러 면역세포 간의 협력을 중재하는 역할을 함. 따라서 이들의 생성과 분비는 면역반응의 조절에 있어서 매우 중요함.

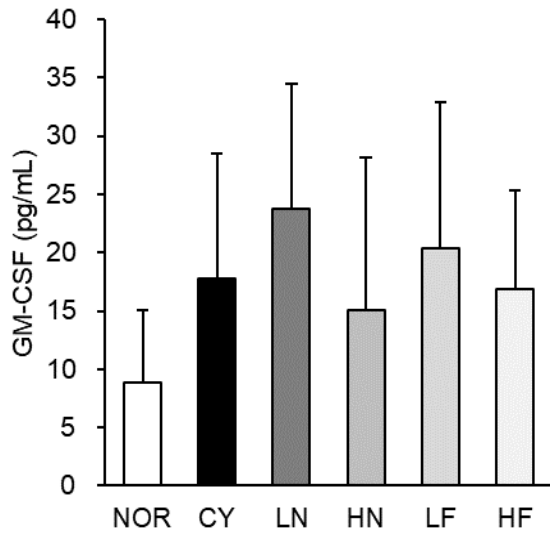
본 연구결과 혈장의 IFN γ (interferon gamma), MCP1 (monocyte chemoattractant protein 1) 수준은 CY 군이 NOR군보다 유의적으로 높았으며($p < 0.05$; Figure 41b,p), IL-5, IL-13, IL (interleukin)-17A, KC (keratinocyte chemoattractant), TNF α (tumor necrosis factor alpha) 수준 또한 CY 군이 NOR군보다 높은 경향이 있었음(Figure 41g,l,n,o,r).

Neutrane 또는 Falvourzyme으로 제조한 쌍별귀뚜라미 가수분해물을 투여한 군은 CY 군보다 IFN γ , MCP1, IL-5 수준이 낮은 경향이 있었으나, 통계적으로 유의하지는 않았음(Figure 41b,p,g).

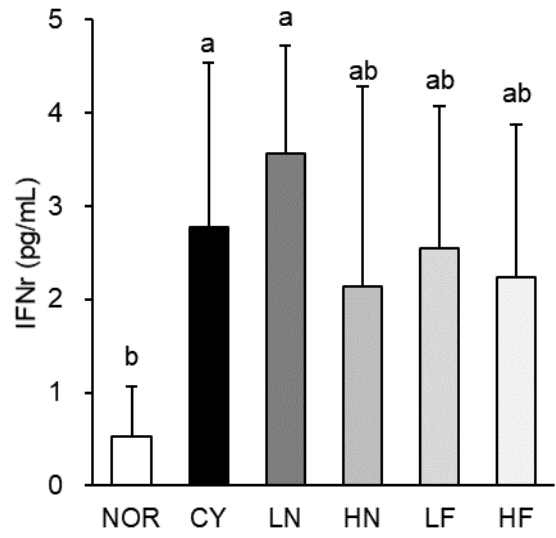
한편 혈장의 GM-CSF(granulocyte-macrophage colony-stimulating factor), IL-1a, IL-1b, IL-2, IL-4, IL-6, IL-7, IL-12, LIX (LPS-induced CXC chemokine), MIP2 (macrophage inflammatory protein 2) 수준은 군 간에 통계적으로 유의한 차이가 없었음 (Figure 41a,c-f,h-k,m,q).

종합하면 쌍별귀뚜라미 가수분해물은 CY에 의한 혈액 IFN γ , MCP1과 IL-5의 증가를 완화하였음. IFN γ 은 NK 세포, Th1 세포, cytotoxic T세포 등에 의해 분비되고, 감염 시 증가하여 대식세포, 자연살해세포, 호중구 등을 활성화함. IFN γ 은 또한 MCP1의 발현을 유도하는 것으로 보고되었는데, MCP1은 단핵구 화학주성 물질 중 하나로 염증반응의 진행을 유도하며, 미분화된 T세포가 Th2형의 세포로 진행되는 데 역할을 함. IL-5는 활성화된 B세포에 의한 항체 생산을 자극하며, 호산구의 분화와 증식을 일으키고 알레르기 질환과 관련이 있음. 따라서 쌍별귀뚜라미 가수분해물은 IFN γ , MCP1과 IL-5을 감소시켜 CY에 의한 염증반응을 완화할 수 있을 것으로 판단됨.

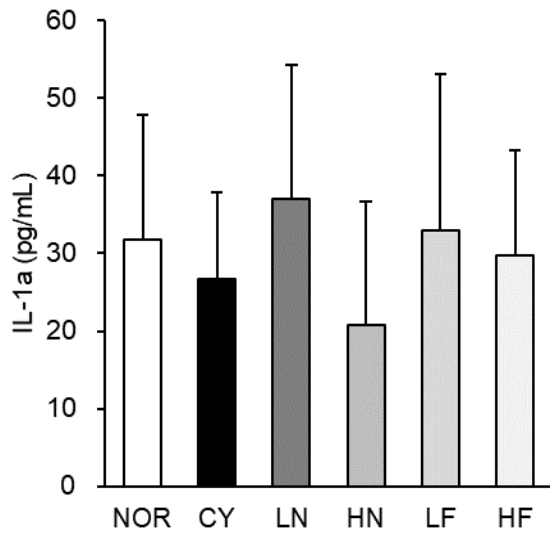
(a)



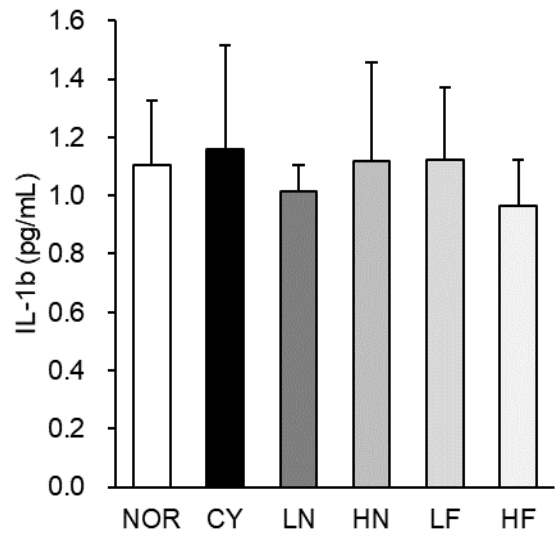
(b)



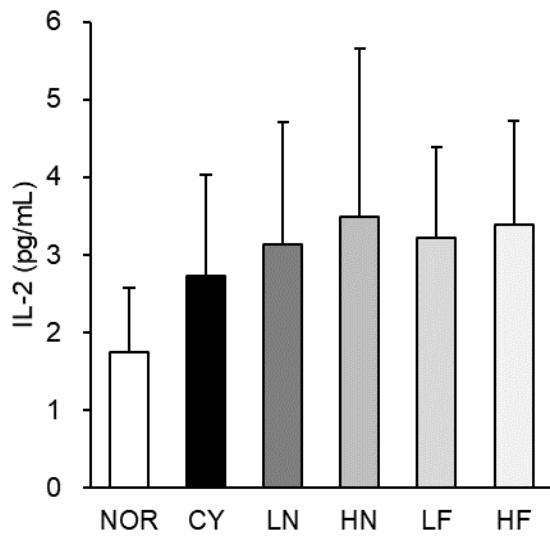
(c)



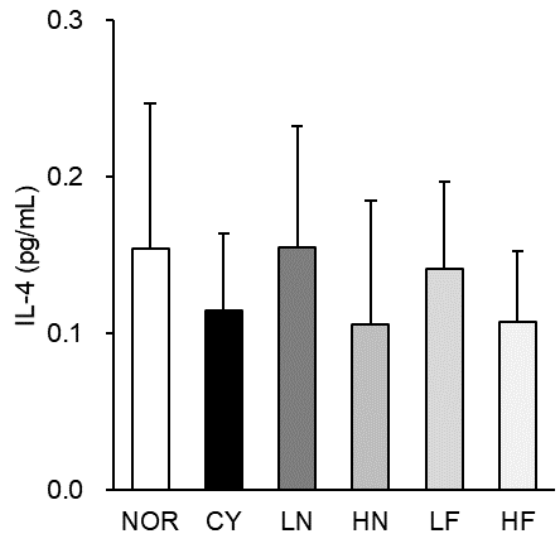
(d)



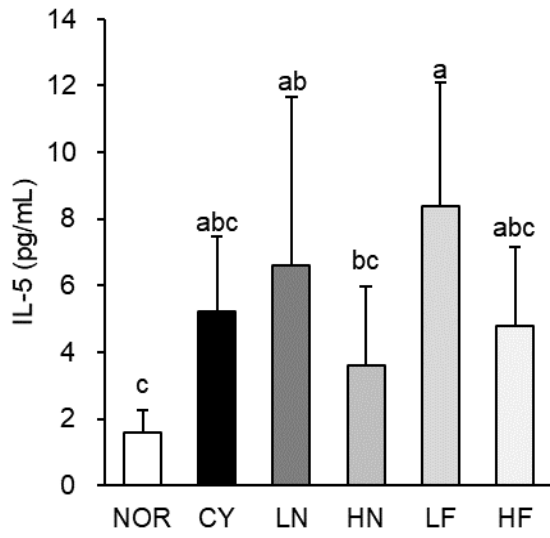
(e)



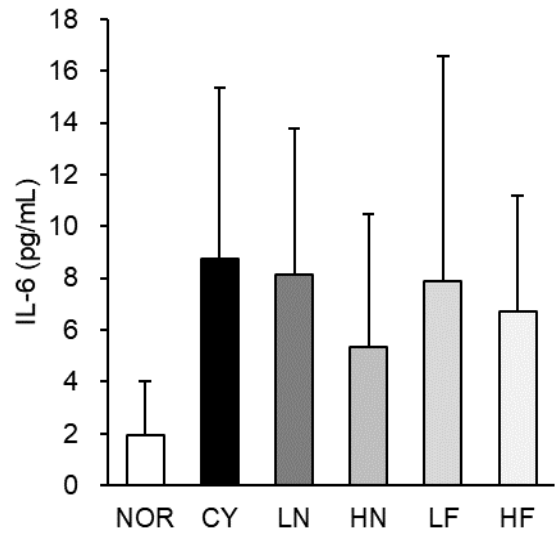
(f)



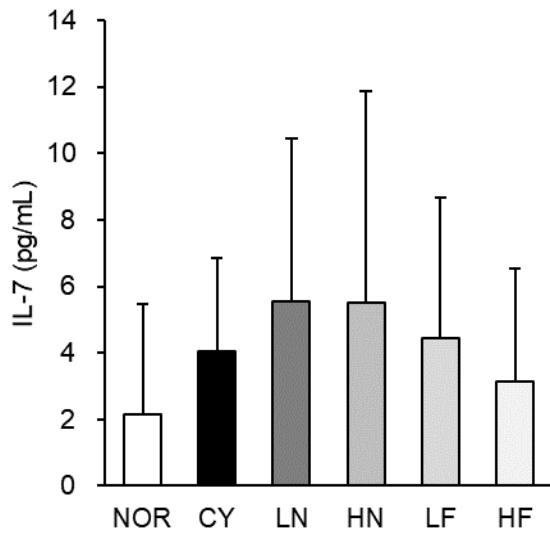
(g)



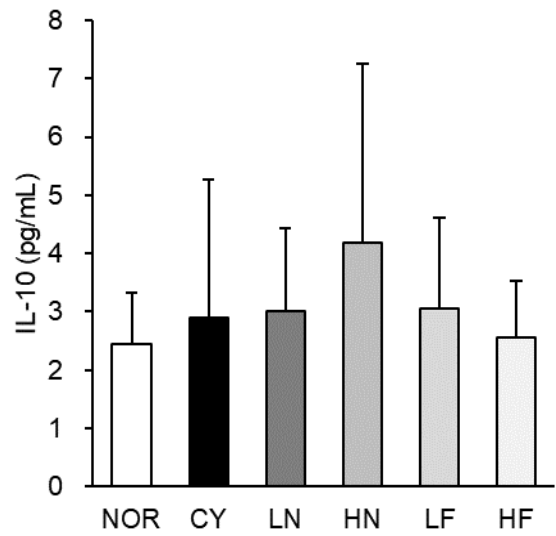
(h)



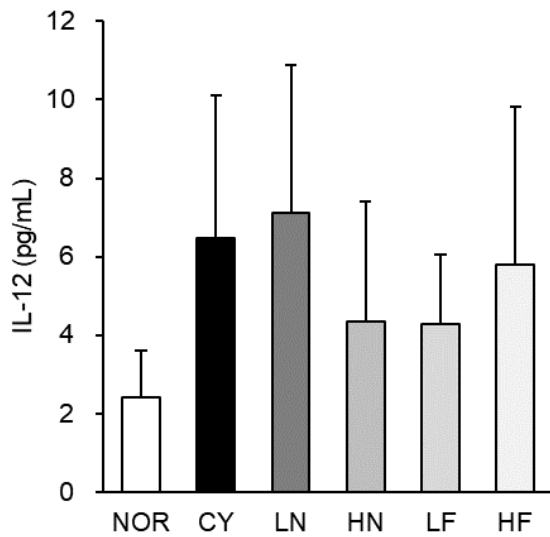
(i)



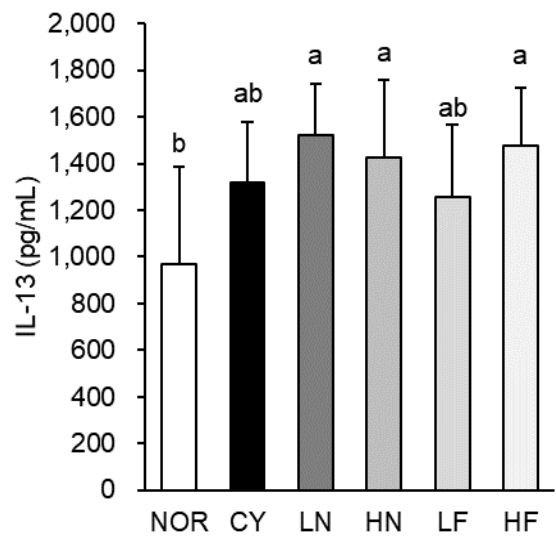
(j)



(k)



(l)



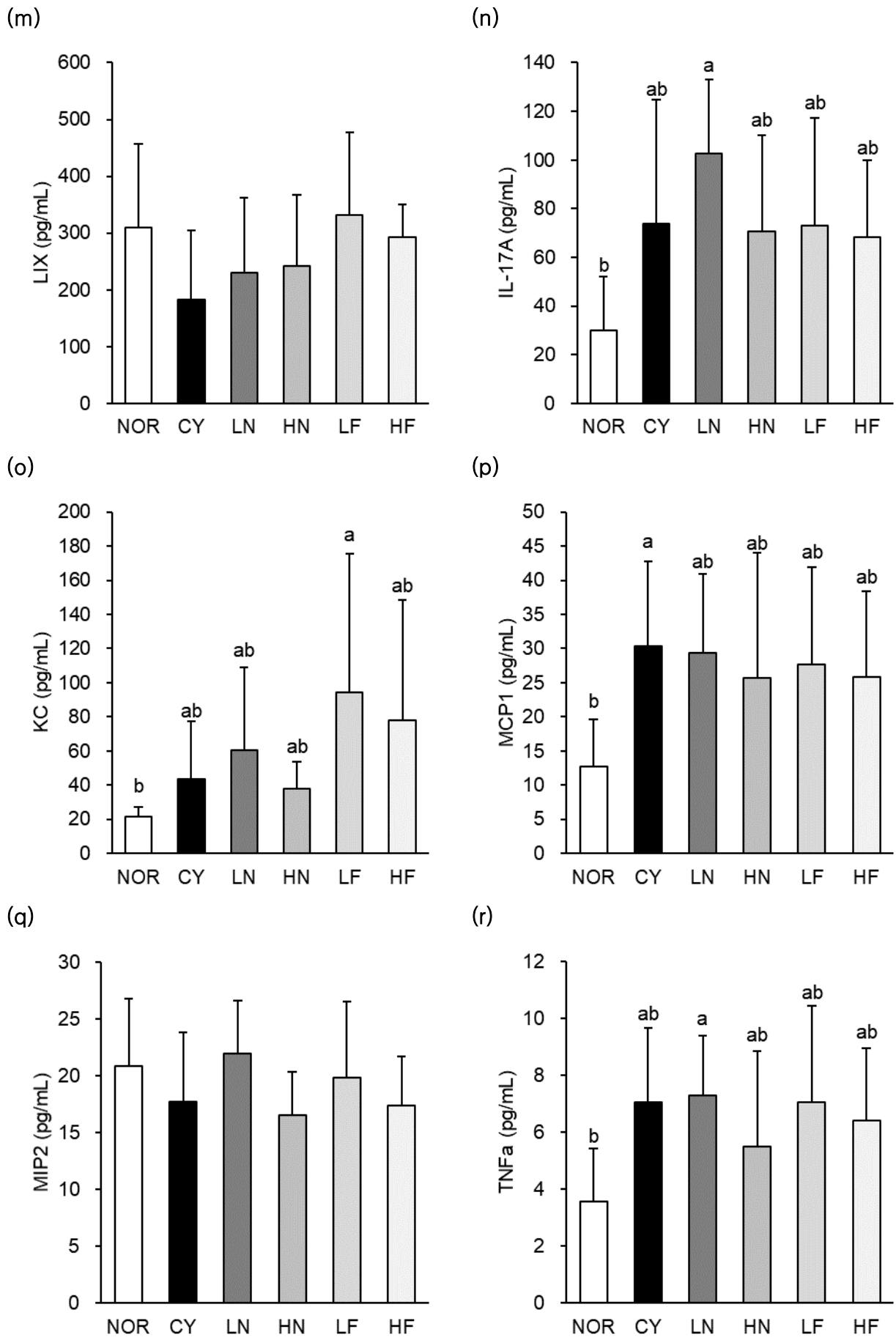


Figure 41. Effect of two-spotted cricket hydrolysates on plasma cytokines. (a) Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF), (b) interferon gamma

(IFN γ), (c) interleukin (IL)-1a, (d) IL-1b, (e) IL-2, (f) IL-4, (g) IL-5, (h) IL-6, (i) IL-7, (j) IL-10, (k) IL-12, (l) IL-13, (m) LPS-induced CXC chemokine (LIX), (n) IL-17A, (o) keratinocyte chemoattractant (KC), (p) monocyte chemoattractant protein 1 (MCP1), (q) macrophage inflammatory protein 2 (MIP2), and (r) tumor necrosis factor alpha (TNF α). Results are expressed as mean \pm SD (n = 10). Statistical analysis was conducted by one-way ANOVA followed by Tukey's multiple range test. ^{a-c}Mean values with different letters are significantly different at $p < 0.05$. NOR, normal group; CY, cyclophosphamide treated group; LN, low dose of two-spotted cricket hydrolysed by Neutrase; HN, high dose of two-spotted cricket hydrolysed by Neutrase; LF, low dose of two-spotted cricket hydrolysed by Flavourzyme; HF, high dose of two-spotted cricket hydrolysed by Flavourzyme.

(8) Cyclophosphamide를 주사한 마우스에서 쌍별귀뚜라미 가수분해물이 비장세포 증식과 자연살해세포 활성화에 나타내는 영향

비장은 인체에서 가장 큰 림프 기관으로 면역세포의 기능을 돕고 우리 몸에 있는 세균이나 항원을 걸러내며, 노화된 적혈구를 제거하는 역할을 함. 그리고 비장은 골수의 기능이 저하되었을 때 골수의 역할을 도와 혈액세포를 생성하는 역할도 함. 비장 비대는 비장이 일반적인 크기보다 더 커지는 경우를 의미하며, 비장에 모인 세포 수가 많을수록 비장이 더 커지고 비장이 클수록 더 많은 혈구가 모여 파괴되는 악순환이 일어남.

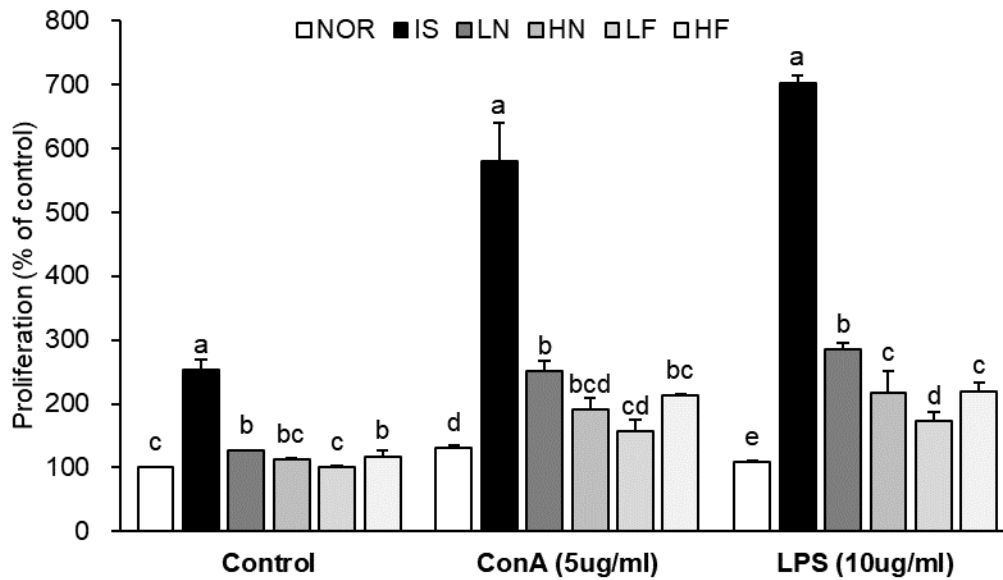
비장 비대는 간이나 심장에 문제가 있거나 감염성 질환이나 염증이 생길 때 비장의 역할이 많아지면서 발생할 수 있고, 따라서 비장 비대는 간이나 골수, 혈액질환을 앓는 경우 나타날 확률이 높음. 비장 비대가 있는 경우 혈소판 감소와 이에 따른 출혈 등이 발생할 수 있고, 외부로부터 쉽게 감염될 수 있을 뿐만 아니라, 내부에서 면역 과잉이 일어나기 쉬움. 또한, 비장이 비대해질 경우 비장 안에 과다 적혈구가 저장되어 빈혈이 유발될 수 있으며, 때로는 비장이 백혈구 또는 혈소판을 파괴하여 백혈구감소증과 혈소판감소증을 유발할 수 있음. 따라서 비장 비대로 인하여 혈액 기능이 원활히 작용하지 못하면 신체의 염증이 잘 회복되지 않으며 염증이 더 악화하는 현상이 나타남.

본 연구에서는 LPS와 ConA의 처리 여부와 상관없이 모든 CY 군에서 NOR군보다 비장세포 증식률이 유의적으로 높았음($p < 0.05$; Figure 42a). 반면에 쌍별귀뚜라미 가수분해물을 투여한 군은 PS와 ConA의 처리 여부와 상관없이 모든 군에서 CY 군보다 비장세포 증식률이 유의적으로 낮았음($p < 0.05$; Figure 42a).

한편 비장 자연살해세포 활성화의 경우에는 CY군에서 NOR군보다 유의적으로 높았으며($p < 0.05$; Figure 42b), 쌍별귀뚜라미 가수분해물 투여군은 모두 CY 군보다 자연살해세포 활성화가 유의적으로 낮았음($p < 0.05$; Figure 42b).

따라서 쌍별귀뚜라미 가수분해물은 CY에 의한 비장세포 증식과 자연살해세포 활성화 증가를 억제하여 비장 기능의 이상을 완화할 수 있을 것으로 판단됨.

(a)



(b)

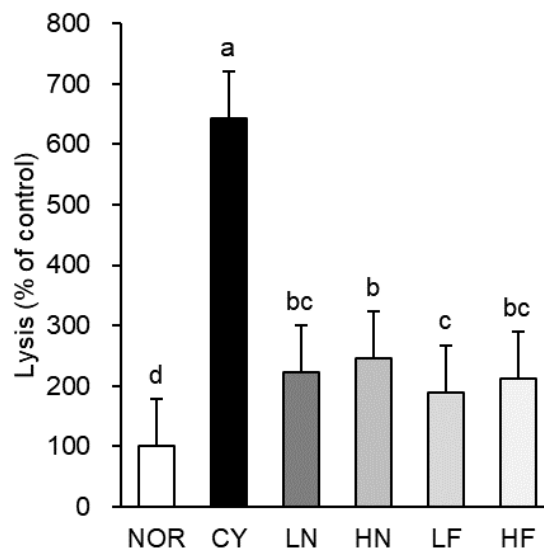


Figure 42. Effect of two-spotted cricket hydrolysates on (a) splenocyte proliferative responses to ConA and LPS and (b) splenic natural killer (NK) cell activity. Results are expressed as mean \pm SD (n = 10). Statistical analysis was conducted by one-way ANOVA followed by Tukey's multiple range test. ^{a-d}Mean values with different letters are significantly different at $p < 0.05$. NOR, normal group; CY, cyclophosphamide treated group; LN, low dose of two-spotted cricket hydrolysed by Neutrase; HN, high dose of two-spotted cricket hydrolysed by Neutrase; LF, low dose of two-spotted cricket hydrolysed by Flavourzyme; HF, high dose of two-spotted cricket hydrolysed by Flavourzyme.

(9) Cyclophosphamide를 주사한 마우스에서 쌍별귀뚜라미 가수분해물이 비장 사이토카인 분비에 나타내는 영향

비장에서 분비하는 IFN γ 는 CY 군에서 NOR군과 비교하여 낮은 경향이 있었음(Figure 43b). 이와 유사하게, LIX도 NOR군보다 CY 군에서 유의적으로 낮았음($p < 0.05$; Figure 43m).

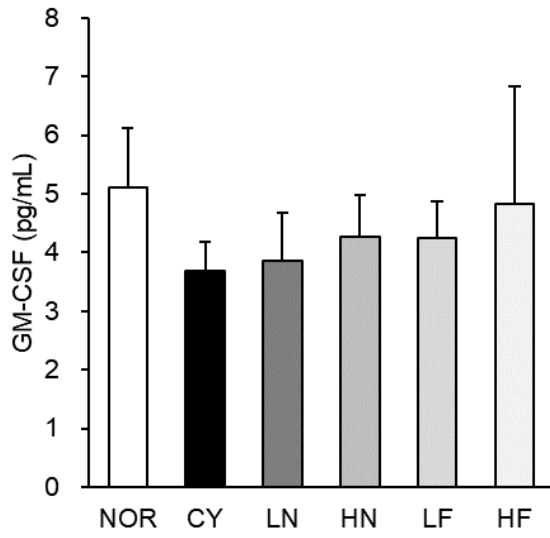
이와는 반대로 비장에서 분비하는 IL-1b, IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, KC, MCP1과 TNF α 는 CY 군에서 NOR 군보다 유의적으로 높았고($p < 0.05$; Figure 43d-h,o,p,r), IL-10과 MIP2도 CY 군에서 NOR 군보다 높았으나, 통계적으로 유의하지는 않았음(Figure 43j,q).

한편 Neutrase 또는 Falvourzyme으로 제조한 쌍별귀뚜라미 가수분해물을 투여한 군은 CY 군보다 IL-1b, IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, KC, MCP1, TNF α , IL-10과 MIP2의 분비량이 통계적으로 유의하게 낮았음($p < 0.05$; Figure 43d-h,j,o-r)

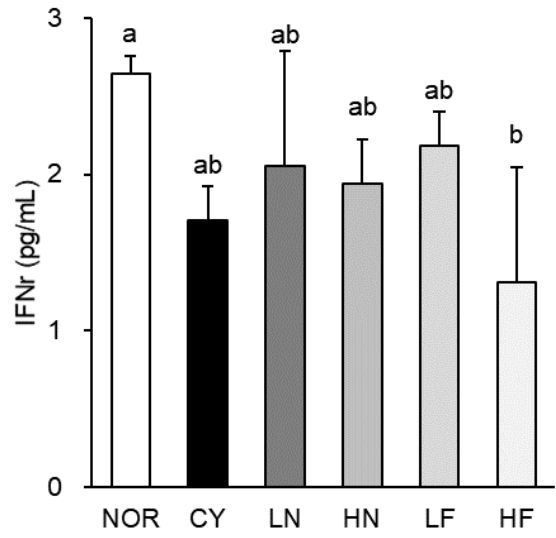
반면에 GM-CSF, IL-1a, IL-7, IL-12, IL-13, IL-17A의 분비 수준은 실험군 간에 차이가 없었음(Figure 43a,c,i,k,l,n).

IL-1b, IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, KC, MCP1, TNF α , IL-10과 MIP2과 같은 사이토카인은 활성화된 면역세포에서 분비되고 더 많은 면역세포를 활성화하여 신체를 병원체로부터 보호하는 역할을 하지만, 과도하게 분비될 경우 과민면역반응을 일으켜 알러지 반응, 자동면역반응, 세포의 섬유화 등을 유발하여 체내에 부정적인 결과를 초래할 수 있음. 따라서 본 연구결과를 통하여 쌍별귀뚜라미 가수분해물은 CY에 의한 비장의 과민면역반응을 완화할 수 있을 것으로 판단됨.

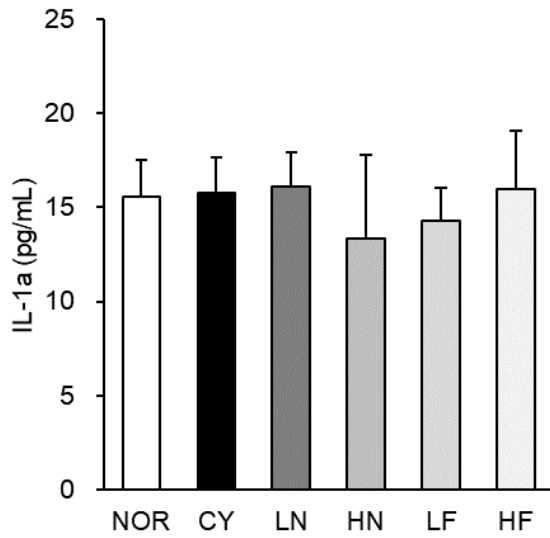
(a)



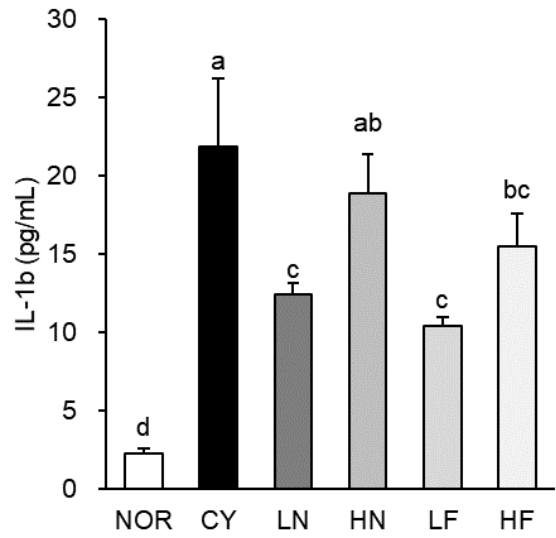
(b)



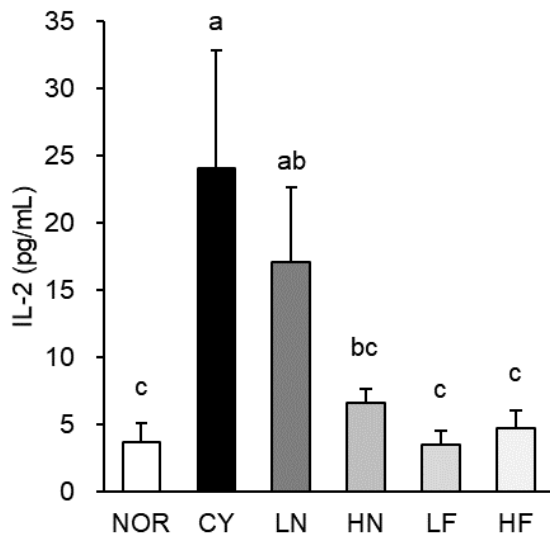
(c)



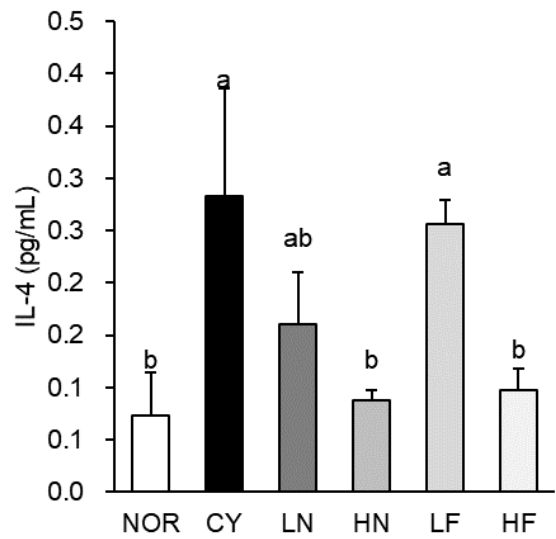
(d)



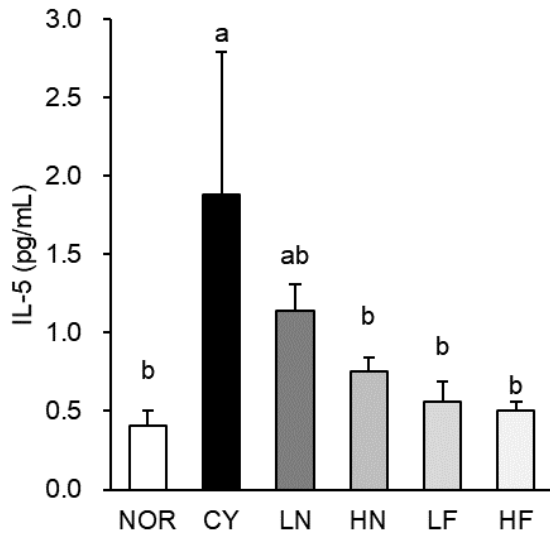
(e)



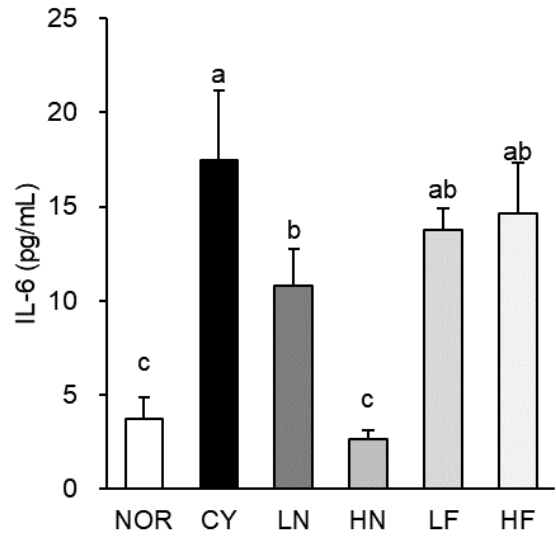
(f)



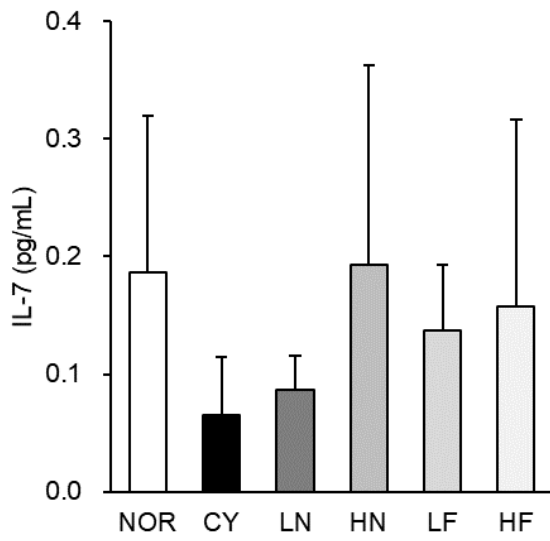
(g)



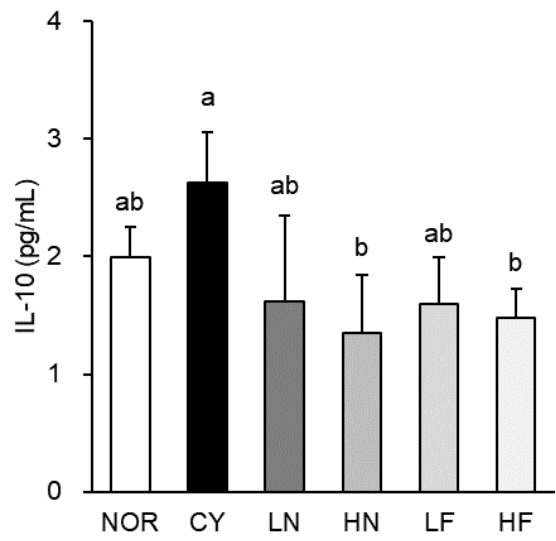
(h)



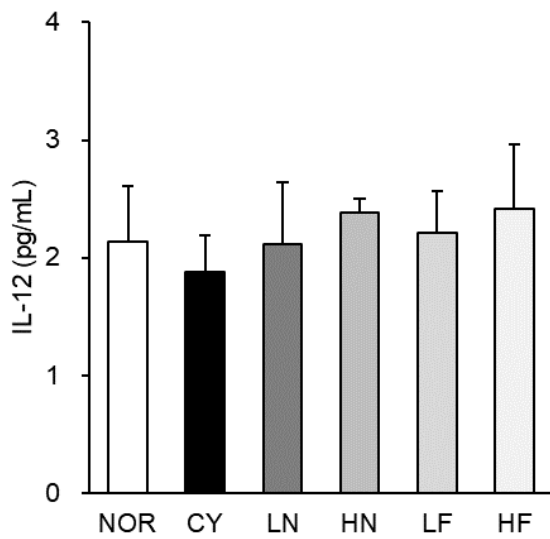
(i)



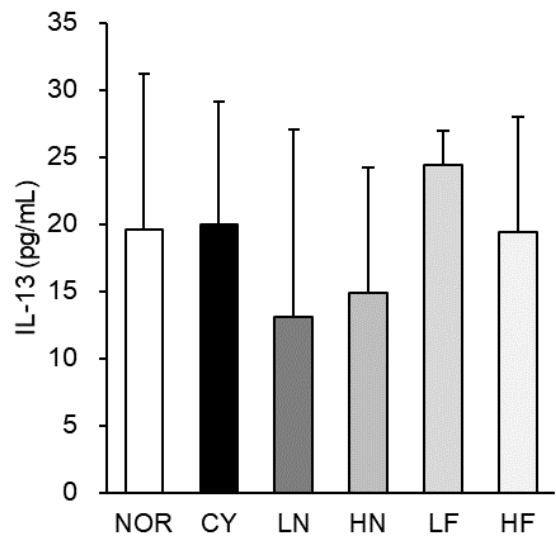
(j)



(k)



(l)



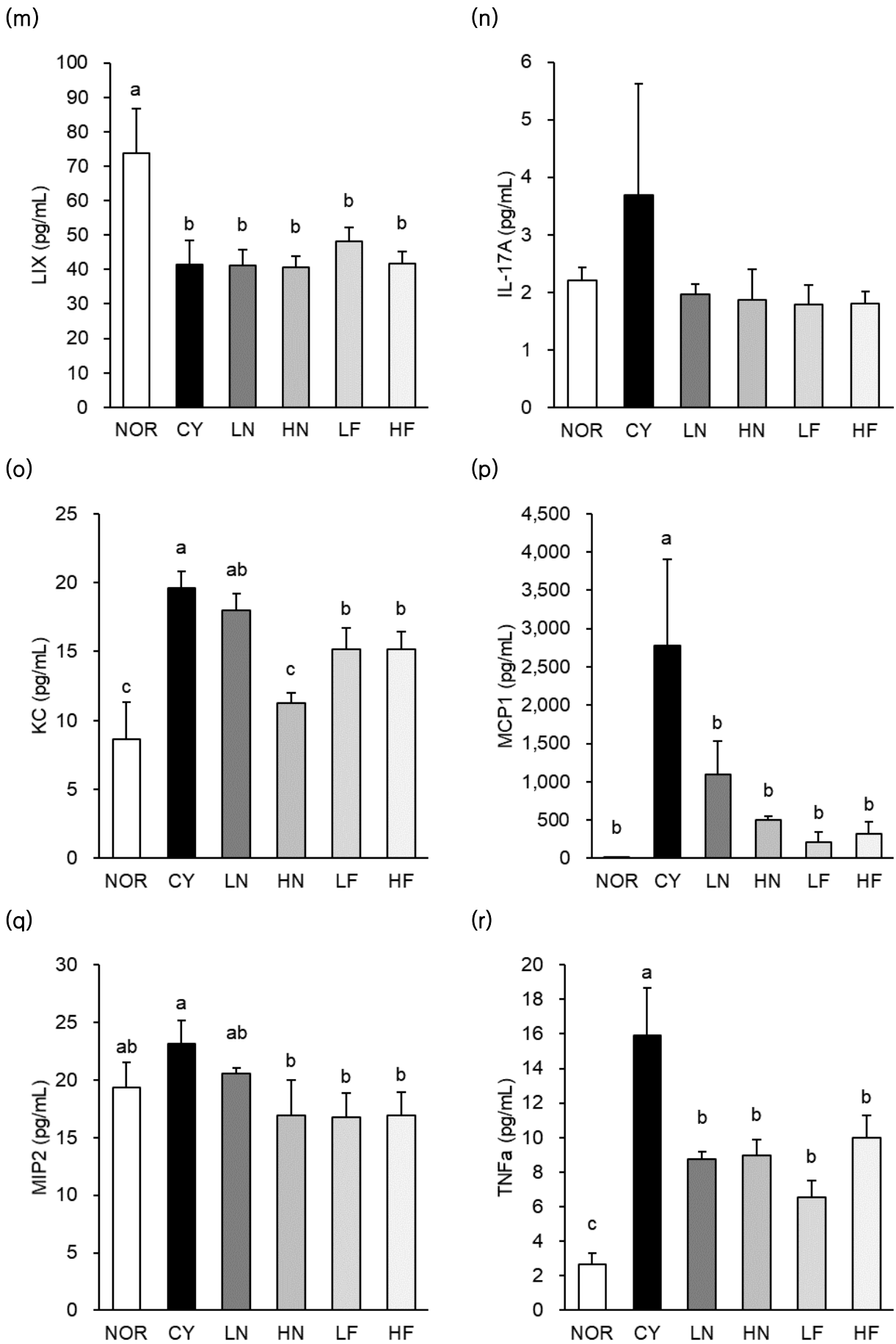


Figure 43. Figure 41. Effect of two-spotted cricket hydrolysates on cytokines released from splenocytes. (a) Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF), (b) interferon gamma (IFN γ), (c) interleukin (IL)-1 α , (d) IL-1 β , (e) IL-2, (f) IL-4, (g)

IL-5, (h) IL-6, (i) IL-7, (j) IL-10, (k) IL-12, (l) IL-13, (m) LPS-induced CXC chemokine (LIX), (n) IL-17A, (o) keratinocyte chemoattractant (KC), (p) monocyte chemoattractant protein 1 (MCP1), (q) macrophage inflammatory protein 2 (MIP2), and (r) tumor necrosis factor alpha (TNF α). Results are expressed as mean \pm SD (n = 10). Statistical analysis was conducted by one-way ANOVA followed by Tukey's multiple range test. ^{a-d}Mean values with different letters are significantly different at $p < 0.05$. NOR, normal group; CY, cyclophosphamide treated group; LN, low dose of two-spotted cricket hydrolysed by Neutrased; HN, high dose of two-spotted cricket hydrolysed by Neutrased; LF, low dose of two-spotted cricket hydrolysed by Flavourzyme; HF, high dose of two-spotted cricket hydrolysed by Flavourzyme.

(10) Cyclophosphamide를 주사한 마우스에서 쌍별귀뚜라미 가수분해물이 간 독성에 나타내는 영향

CY의 대사산물인 acrolein과 phosphoramidate mustard(PAM)은 골수 기능 이상뿐만 아니라 간 기능장애와 같은 부작용을 일으킴. 한편, 본 연구결과에서는 간 손상에서 발생할 수 있는 비장세포의 과다 증식이 나타났는데 따라서 CY에 의한 간 손상에 대한 쌍별귀뚜라미 가수분해물의 효과를 추가로 조사하였음.

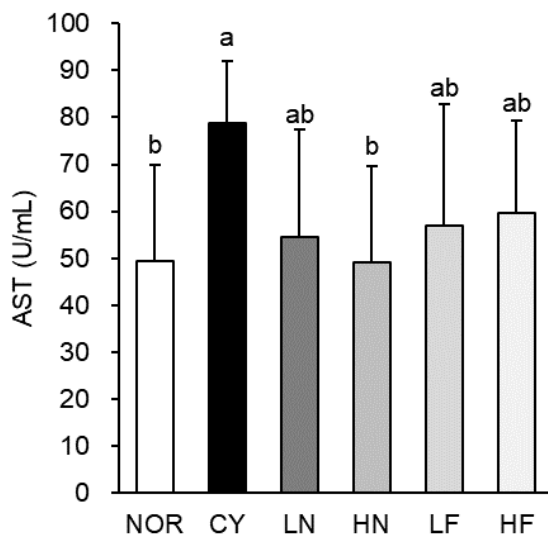
AST는 간, 심근, 횡문근 등에 주로 존재하고, ALT는 간에 존재하여 세포가 손상될 경우 혈중으로 방출이 증가함. 따라서 혈중 AST와 ALT의 증가는 간 손상의 결과로 해석될 수 있음.

이에 본 연구에서도 혈장의 AST의 농도를 측정된 결과, CY 군은 NOR 군보다 혈장 AST 농도가 유의적으로 높았음($p < 0.05$; Figure 44a). 반면, 쌍별귀뚜라미 가수분해물은 CY에 의한 AST 농도의 증가를 완화하였으며, 특히 LH군에서 혈장의 AST의 농도는 CY 군보다 유의적으로 낮았음($p < 0.05$; Figure 44a).

혈장 ALT 농도의 경우에는 CY 군에서 NOR군보다 유의적으로 높았으며($p < 0.05$; Figure 44b), 쌍별귀뚜라미 가수분해물을 투여한 군은 모두 CY 군보다 혈장의 ALT 농도가 유의적으로 낮았음($p < 0.05$; Figure 44b).

따라서 쌍별귀뚜라미 가수분해물은 CY에 의한 간 손상을 완화하는 것으로 판단됨.

(a)



(b)

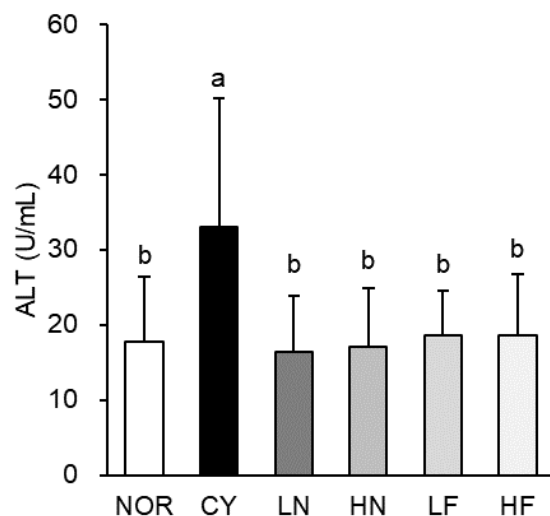


Figure 44. Effect of two-spotted cricket hydrolysates on plasma (a) aspartate aminotransferase (AST) and (b) alanine aminotranferase (ALT) levels. Results are expressed as mean \pm SD (n = 10). Statistical analysis was conducted by one-way ANOVA followed by Tukey' s multiple range test. ^{a,b}Mean values with different letters are significantly different at $p < 0.05$. NOR, normal group; CY, cyclophosphamide treated group; LN, low dose of two-spotted cricket hydrolysed by Neutrased; HN, high dose of two-spotted cricket hydrolysed by Neutrased; LF, low dose of two-spotted cricket hydrolysed by Flavourzyme; HF, high dose of two-spotted cricket hydrolysed by Flavourzyme.

(11) Cyclophosphamide를 주사한 마우스의 간 조직에서 쌍별귀뚜라미 가수분해물의 산화스트레스 억제 효과

CY에 의한 간 독성은 산화스트레스와 염증반응의 일련의 과정으로 발생함. 따라서 쌍별귀뚜라미의 간 보호 효과가 항산화 효소의 활성화와 관련이 있는지 추가로 조사하였음.

SOD(superoxide dismutase)는 superoxide radical을 과산화수소로 전환하는 촉매작용을 함. 과산화수소는 이후에 glutathione peroxidase와 catalase에 의해서 물과 산소로 분해되는데, 따라서 SOD는 궁극적으로 산화스트레스로 인한 세포의 손상을 억제하는 중요한 역할을 함.

GSH(reduced glutathione)는 대부분의 생물체에 존재하는 중요한 항산화제임. 환원형의 GSH은 전자 공여체로서 작용하여 산화형인 GSSG(glutathione disulfide)로 전환되는데, 산화에 따른 스트레스가 증가하는 상황에서는 GSSG의 농도가 증가함. 따라서 세포 내 GSH/GSSG 비율 감소는 세포의 산화스트레스 척도로 사용될 수 있음.

본 연구에서는 SOD 활성이 CY 군에서 NOR군보다 유의적으로 낮았으나($p < 0.05$; Figure 45a), 쌍별귀뚜라미 가수분해물을 투여한 경우 CY로 인한 SOD 활성 감소가 완화되었음. 특히 HF 군의 SOD는 CY 군보다 유의적으로 높았음($p < 0.05$; Figure 45a).

GSH 농도는 CY 군에서 NOR 군보다 낮은 경향이 있었고, 쌍별귀뚜라미 가수분해물을 투여한 군은 CY 군보다 GSH 농도가 높았음(Figure 45b). 특히, LF 군은 CY 군보다 GSH 농도가 유의적으로 높았음($p < 0.05$; Figure 45b).

GSSG 농도는 CY 군에서 NOR 군보다 높은 경향이 있었고, 쌍별귀뚜라미 가수분해물을 투여한 군은 CY 군보다 GSSG 농도가 낮았음(Figure 45c). 특히, HN 군은 CY 군보다 GSSG 농도가 유의적으로 낮았음($p < 0.05$; Figure 45c).

이러한 결과로 GSH/GSSG 비율은 CY군에서 NOR 군보다 낮은 경향이 있었고, 쌍별귀뚜라미 가수분해물을 투여한 군은 CY 군보다 GSH/GSSG 비율이 높았음(Figure 45d). 특히, HF 군은 CY 군보다 GSH/GSSG 비율이 유의적으로 높았음($p < 0.05$; Figure 45d).

종합하면, 쌍별귀뚜라미 가수분해물은 CY에 의한 산화적 간 손상을 억제하며, 이러한 효과는 SOD의 활성 증가, GSH/GSSG의 비율증가와 관련이 있을 것으로 판단됨.

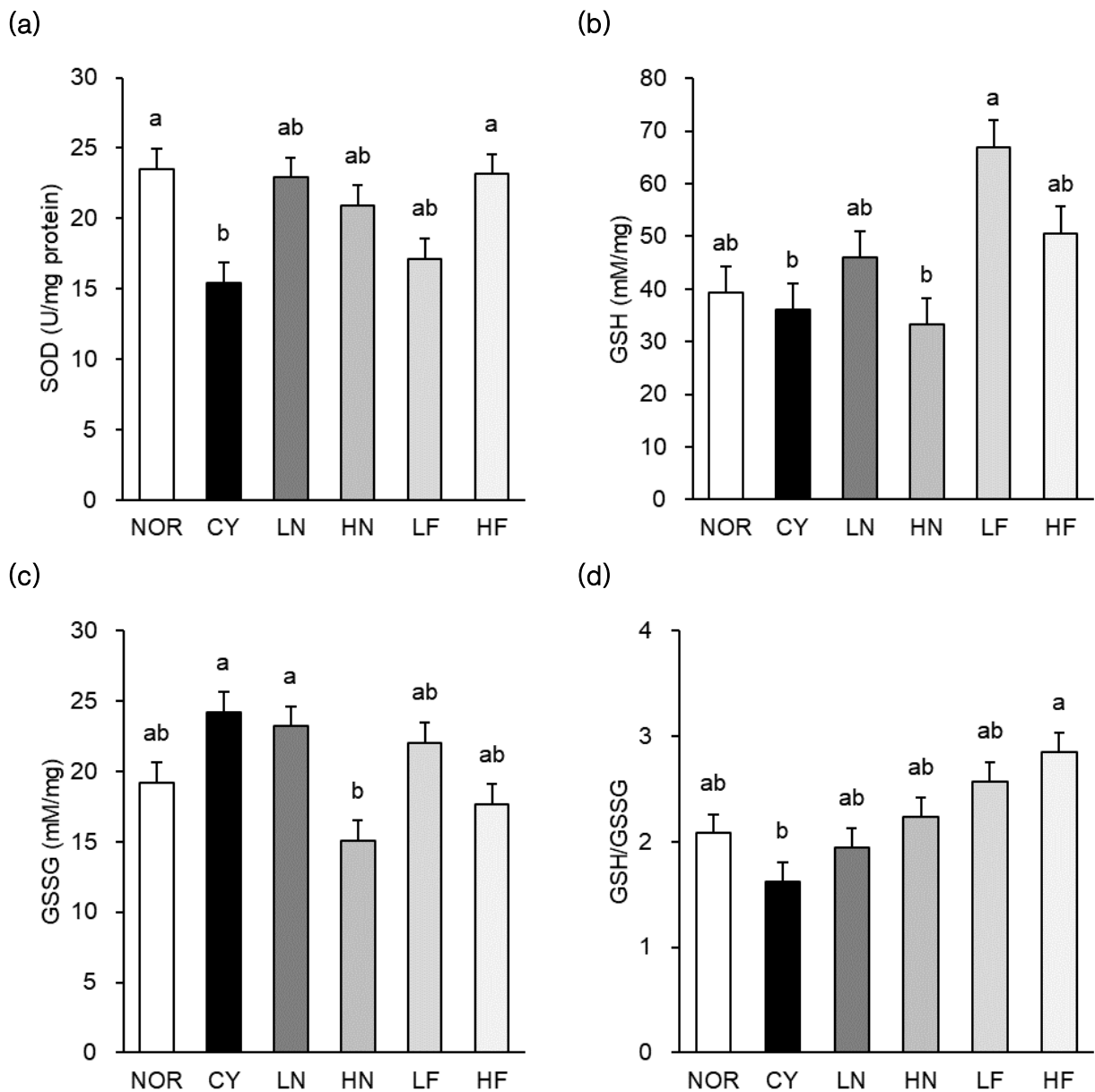


Figure 45. Effect of two-spotted cricket hydrolysates on oxidative stress in liver. (a) superoxide dismutase (SOD), **(b)** reduced glutathione (GSH), **(c)** glutathione disulfide (GSSG), and **(d)** the ratio of GSH to GSSG. Results are expressed as mean \pm SD (n = 10). Statistical analysis was conducted by one-way ANOVA followed by Tukey's multiple range test. ^{a,b}Mean values with different letters are significantly different at $p < 0.05$. NOR, normal group; CY, cyclophosphamide treated group; LN, low dose of two-spotted cricket hydrolysed by Neutrased; HN, high dose of two-spotted cricket hydrolysed by Neutrased; LF, low dose of two-spotted cricket hydrolysed by Flavourzyme; HF, high dose of two-spotted cricket hydrolysed by Flavourzyme.

1) 쌍별귀뚜라미 가수분해물 조리가공 특성 평가

1-1) 쌍별귀뚜라미 가수분해물의 물리적 특성 평가

(1) 수분함량

- 쌍별귀뚜라미 가수분해물의 수분함량은 1.87%로 탈지분말의 3.53%보다 다소 낮았음

표. 쌍별귀뚜라미 탈지분말 및 가수분해물의 수분함량

Sample	수분함량 (%)
쌍별귀뚜라미 탈지분말	3.53±0.06
쌍별귀뚜라미 가수분해물	1.87±0.15

(2) 조단백질 함량

- 쌍별귀뚜라미 가수분해물의 조단백질 함량은 68.20%로 탈지분말(67.30%) 보다 약간 높게 나왔으며, 가수분해 과정에서 단백질 농축현상이 나타난 것으로 보임

표. 쌍별귀뚜라미 탈지분말 및 가수분해물의 조단백함량

Sample	조단백함량 (%)
쌍별귀뚜라미 탈지분말	67.30±0.042
쌍별귀뚜라미 가수분해물	68.20±0.028

(3) 염도 함량

- 쌍별귀뚜라미 가수분해물의 염도는 탈지분말이 0.42%였으나 가수분해 후 0.55%로 높아졌음. 효소처리과정 중 pH 조절에 기인하거나 가수분해로 인한 짠맛 펩타이드 생성에 의한 것인지 연구가 필요할 것으로 판단됨

표. 쌍별귀뚜라미 탈지분말 및 가수분해물의 조단백함량

Sample	염도함량 (%)
쌍별귀뚜라미 탈지분말	0.42±0.01
쌍별귀뚜라미 가수분해물	0.55±0.02

(4) 나트륨 함량

- 쌍별귀뚜라미 가수분해물의 나트륨 함량은 0.74 mg 이었음

표. 쌍별귀뚜라미 탈지분말 및 가수분해물의 나트륨 함량

Sample	나트륨함량 (%)
쌍별귀뚜라미 탈지분말	0.79±0.01
쌍별귀뚜라미 가수분해물	0.74±0.02

(5) 색도

- 쌍별귀뚜라미 가수분해물의 가공과정을 통해 명도와 적색도는 증가하였으며, 황색도의 차이는 보이지 않았음

표. 쌍별귀뚜라미 탈지분말 및 가수분해물의 색도

Sample	Hunter's color value		
	Lightness(L)	Redness(a)	Yellowness(b)
쌍별귀뚜라미 탈지분말	40.50±2.55	5.82±0.16	17.10±0.65
쌍별귀뚜라미 가수분해물	42.16±0.41	7.81±0.02	17.04±0.09

(6) 겉보기 밀도

- 쌍별귀뚜라미 가수분해물의 저분자화로 겉보기 밀도가 탈지분말에 비하여 0.37 g/mL로 크게 나타났음

표. 쌍별귀뚜라미 탈지분말 및 가수분해물의 겉보기 밀도

부피	쌍별귀뚜라미 탈지분말	쌍별귀뚜라미 가수분해물
5mL	0.295±0.003	0.375±0.014
15mL	0.295±0.018	0.354±0.007
200mL	0.305±0.003	0.376±0.014
평균	0.30	0.37

1-2) 쌍별귀뚜라미 탈지분말 및 가수분해물 수용액의 물리적 특성 분석

(1) pH

- 쌍별귀뚜라미 가수분해물은 효소처리 단계에서 pH를 조정하는 과정을 거쳐 pH가 6.29로 탈지분말에 비해 낮아졌음

표. 쌍별귀뚜라미 탈지분말 및 가수분해물의 pH

Sample	pH
쌍별귀뚜라미 탈지분말	6.68±0.01
쌍별귀뚜라미 가수분해물	6.29±0.02

(2) 가용성 고형분 함량

- 쌍별귀뚜라미 가수분해물은 가용성 고형분 함량이 1.12 °Brix에서 4.13 °Brix로 높아져 가수분해과정에서 상당부분이 저분자화된 것을 확인 할 수 있었음

표. 쌍별귀뚜라미 탈지분말 및 가수분해물의 가용성 고형분

Sample	가용성 고형분함량 (°Brix)	가용성 고형분함량 (g)
쌍별귀뚜라미 탈지분말	1.12±0.20	0.317±0.035
쌍별귀뚜라미 가수분해물	4.13±0.12	0.645±0.02

(3) 수분결합능력

- 쌍별귀뚜라미 가수분해물의 수분결합능력은 214.50%로 탈지분말의 260.25%보다 감소함. 이는 가수분해과정에서 저분자화, 수용화로 인한 것으로 사료됨

표. 쌍별귀뚜라미 탈지분말 및 가수분해물의 수분결합능력

Sample	수분결합능력 (%)
쌍별귀뚜라미 탈지분말	260.25±5.374
쌍별귀뚜라미 가수분해물	214.50±1.803

(4) 단백질 용해도

- 쌍별귀뚜라미 가수분해물의 수용액의 단백질 용해도는 11.20%로 탈지분말의 용해도 10.78%보다 다소 높음

표. 쌍별귀뚜라미 탈지분말 및 가수분해물의 단백질 용해도

Sample	단백질 용해도 (%)
쌍별귀뚜라미 탈지분말	10.78±0.066
쌍별귀뚜라미 가수분해물	11.20±0.042

(5) 탁도

- 쌍별귀뚜라미 가수분해물의 탁도가 15.03으로 증가된 것으로 보아 가수분해과정에서 저분자화된 입자들의 현탁화가 증가된 것으로 보임

표. 쌍별귀뚜라미 탈지분말 및 가수분해물의 탁도

Sample	ABS (Absorbency)
쌍별귀뚜라미 탈지분말	12.33±0.21
쌍별귀뚜라미 가수분해물	15.03±1.44

1-3) 쌍별귀뚜라미 가수분해물의 조리가공 특성 평가

(1) 떡제조(백설기) 적용

- 멍쌀떡 제조를 위해 쌍별귀뚜라미 가수분해물을 믹스 가루 대비 5%, 7%, 10% 첨가하여 멍쌀떡을 제조 하였음. 멍쌀떡은 믹스 가루대비 쌍별귀뚜라미 가수분해물 10% 첨가군까지 제조가 가능하였으나 10% 첨가군에서 쓴맛과 귀뚜라미 향이 강하게 인식 되어서 masking 없이는 10%이상은 적용이 어려울 것으로 판단됨

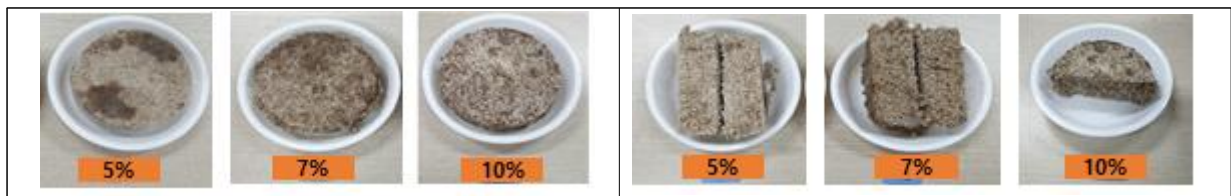


그림. 쌍별귀뚜라미 가수분해물을 첨가한 멍쌀떡(백설기)

- 찹쌀떡 제조를 위해 쌍별귀뚜라미 가수분해물을 믹스 가루 대비 5%, 10%, 15% 첨가하여 찹쌀떡을 제조 하였음. 찹쌀떡은 쌍별귀뚜라미 가수분해물 5%첨가군에서 귀뚜라미의 쓴맛이 나고, 찰떡의 조직은 잘 나왔으며, 귀뚜라미 쓴맛으로 인해 찹쌀 믹스 가루대비 쌍별귀뚜라미 가수분해물 5% 첨가군 까지 제조 가능할 것으로 판단됨

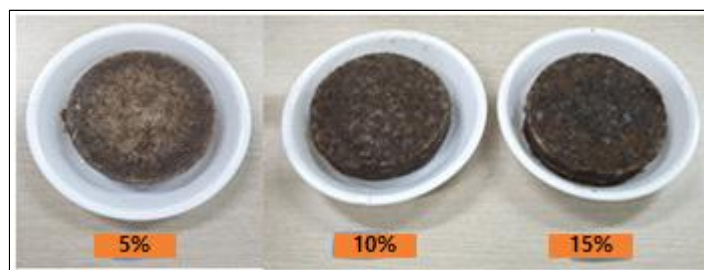


그림. 쌍별귀뚜라미 가수분해물을 첨가한 찹쌀떡

(2) 제면 적용

- 생면 제조를 위해 쌍별귀뚜라미 가수분해물을 밀가루 대비 5%, 8%, 10%, 15%, 20%로 첨가하여 생면을 제조 하였음. 생면은 밀가루대비 쌍별귀뚜라미 가수분해물 8% 첨가군이 면반죽이 끊어짐 없이 성형이 잘되었으며, 삶은 후 10%에서는 면발성형은 되나 면을 삶은 국물에 쓴맛이 용출됨에 따라 제물국수보다는 강한 양념이 되는 비빔국수용으로 활용이 가능할 것으로 여겨짐. 15% 이상 첨가군에서는 면반죽은 만들어지나 면을 삶은 후 면발이 끊기게 되어 10%미만으로 첨가하여 생면을 제조해야 할 것으로 판단됨

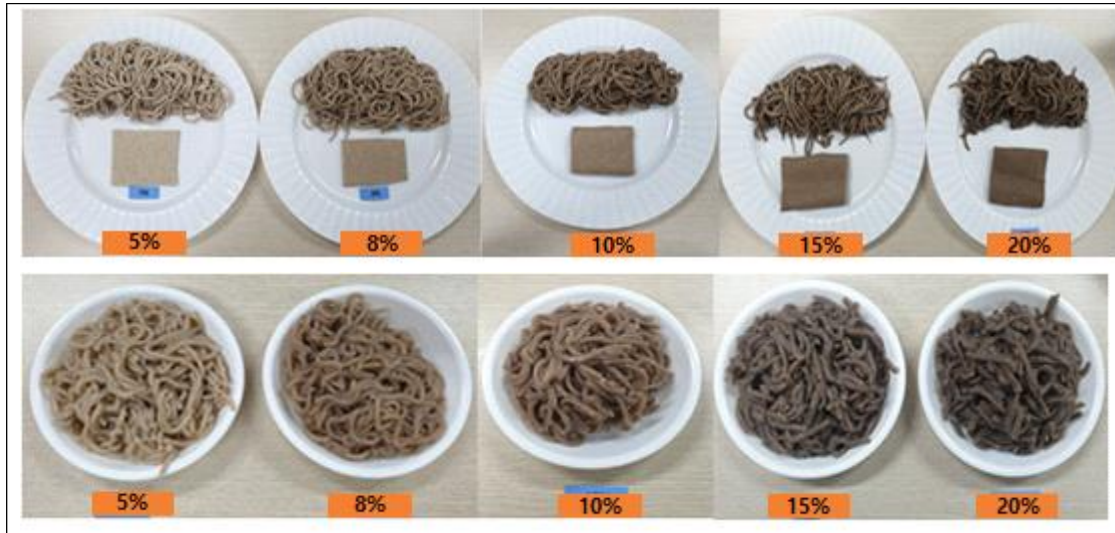


그림. 쌍별귀뚜라미 가수분해물을 첨가한 생면과 반죽, 생면 삶은 후 이미지

(3) 죽 조리 적용

- 죽 테스트를 위해 쌍별귀뚜라미 가수분해물을 0.6%, 0.9% 첨가하여 테스트를 진행 하였음. 죽 조리 후의 쌍별귀뚜라미 가수분해물의 첨가비율은 각각 0.9%와 1.3% 정도로 1.3% 죽에서는 시료의 쓴맛이 느껴져서 0.6%(조리후 0.9%) 정도까지 첨가하여 죽 제조가 가능할 것으로 판단



그림. 쌍별귀뚜라미 가수분해물을 첨가한 죽

(4) 전(부침개) 조리 적용

- 전 테스트를 위해 쌍별귀뚜라미 가수분해물을 10%, 15% 첨가하여 테스트 하였음. 전은 15%첨가군 까지 제조가 가능하나 쓴맛이 느껴져서 쌍별귀뚜라미 가수분해물을 10% 정도로 첨가하여 전과 같은 음식의 조리가 가능할 것으로 판단됨

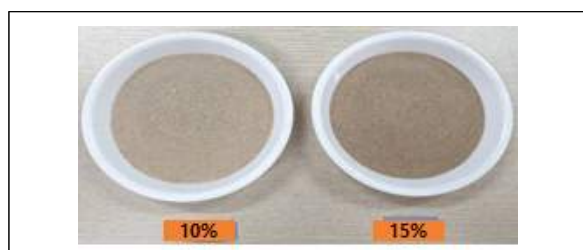


그림. 쌍별귀뚜라미 가수분해물을 첨가한 전

(5) 핫케익 제조 적용

- 핫케익 테스트를 위해 쌍별귀뚜라미 가수분해물을 10%, 15% 첨가하여 테스트 하였음. 핫케익 제조 시 쌍별귀뚜라미 가수분해물 10% 이상에서는 제품이 형성되지 않았음

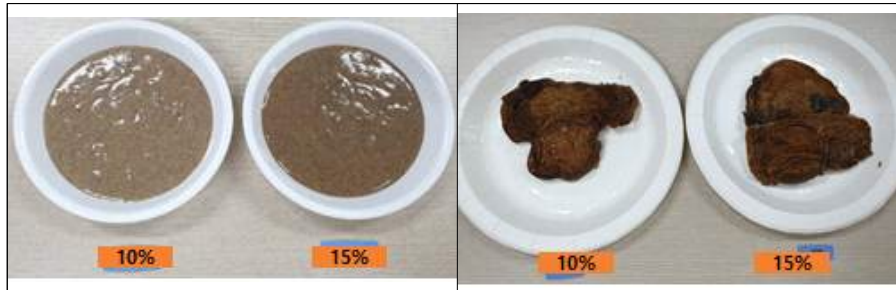


그림. 쌍별귀뚜라미 가수분해물을 첨가한 핫케익반죽과 핫케익

(6) 식빵 제조 적용

- 식빵 테스트를 위해 쌍별귀뚜라미 가수분해물을 10%, 12%, 15% 첨가하여 테스트 하였음. 쌍별귀뚜라미 가수분해물을 첨가한 식빵의 제조시 12% 이상 첨가 시 빵의 부피 팽창이 제대로 되지 않는 것으로 나타나 10% 이내의 첨가가 적절한 것으로 판단

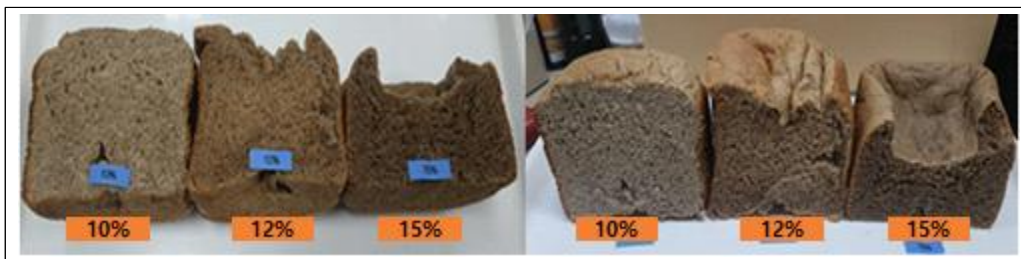


그림. 쌍별귀뚜라미 가수분해물을 첨가한 식빵

(7) 쿠키 제조 적용

- 쿠키 테스트를 위해 쌍별귀뚜라미 가수분해물을 7%, 14% 첨가하여 테스트 하였음. 7% 첨가량에서는 비교적 무난한 제과적성을 보였으며 맛에서도 이취가 크게 나타나지 않았으나 14% 첨가한 쿠키는 부풀기가 약해지고 표면의 크랙이 상대적으로 많았으며 귀뚜라미분말의 쓴 맛이 평가되어 쿠키 제조 시 10% 이내로 사용하는 것이 적절할 것으로 보임



그림. 쌍별귀뚜라미 가수분해물을 첨가한 쿠키

(8) 머핀 제조 적용

- 머핀 테스트를 위해 쌍별귀뚜라미 가수분해물을 7%, 12% 첨가하여 테스트 하였음. 머핀제조에서도 쌍별귀뚜라미 가수분해물의 12% 첨가시에 제품의 부풀기 정도가 떨어지며 귀뚜라미 이취와 쓴맛이 나타나 쌍별귀뚜라미 가수분해물은 10% 미만으로 첨가하는 것이 적절할 것으로 판단



그림. 쌍별귀뚜라미 가수분해물을 첨가한 머핀

(9) 셰이크 제조 적용

- 셰이크 테스트를 위해 쌍별귀뚜라미 가수분해물을 0%, 2%, 3% 첨가하여 테스트 하였음. 쌍별귀뚜라미 가수분해물 2% 첨가 미숫가루는 물에 타서 즉시 섭취할 때에는 쓴맛이 많이 느껴지지 않았으나 시간이 지나면 쓴맛이 약간 살아나는 현상을 보였고, 3% 첨가 미숫가루는 수용화 즉시 약간의 쓴맛이 나타나 맛 개선의 조정이 없는 경우에는 2% 정도까지 첨가가 가능할 것으로 판단

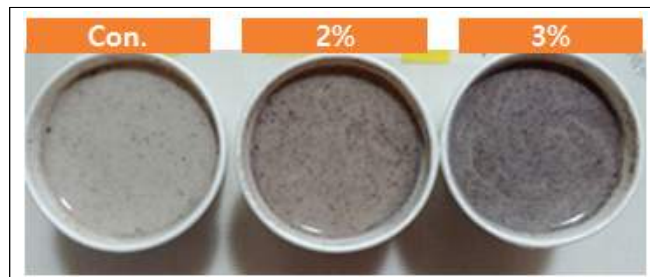


그림. 쌍별귀뚜라미 가수분해물을 첨가한 셰이크

- 쌍별귀뚜라미 가수분해물 masking 효과를 위해 시중에 판매되는 5개의 음료 분말 제품에 쌍별귀뚜라미 가수분해물 3%를 첨가하여 맛평가를 실시하였음. 쌍별귀뚜라미 초고압효소처리물 3% 각 음료의 맛 평가 시 프로틴 셰이크와 한방차는 부정적으로 평가되었으나 **쌍화차, 생강차, 쑥차**의 경우는 특유의 귀뚜라미의 이취와 쓴맛도 잡아주면서 맛을 개선시켜서 쌍별귀뚜라미 가수분해물의 첨가량을 높일 수 있는 효과적인 소재가 될 수 있을 것으로 사료



그림. 쌍별귀뚜라미 가수분해물을 첨가한 음료 테스트

2) 쌍별귀뚜라미 가수분해물의 관능평가

2-1) 쌍별귀뚜라미 가수분해물의 분석적 관능평가

(1) 쌍별귀뚜라미 가수분해물의 묘사분석 결과

- 쌍별귀뚜라미 탈지분(GBSP)과 쌍별귀뚜라미 가수분해물(PEGBP)의 묘사분석결과 두 시료의 색은 10YR 3.67/3.33 10YR 3.57/2.67로 나타났으나 명도에서는 유의한 차이가 없었으며 감칠맛도 시료간 유의한 차이가 없었음. 그러나 다른 모든 관능특성에서는 모두 유의한 차이가 있는 것으로 평가. 쌍별귀뚜라미 가수분해물은 입자의 잔존감이 크게 개선된 것으로 평가되었으나 쓴맛과 짠맛, 신맛, 비린향 등이 강한 것으로 평가되었으며 이중에서 식품가공이나 조리 시에 불리한 쓴맛이 크게 나타나 가공이나 조리 시에 제한점이 될 것으로 사료됨

표. 쌍별귀뚜라미 탈지분말과 가수분해물의 묘사분석 결과

특성		쌍별귀뚜라미 탈지분	쌍별귀뚜라미 가수분해물	t-value	P
색 (color)	명도	3.67 ± 0.658	3.33 ± 0.577	1.745	0.089
	채도	3.57 ± 0.507	2.67 ± 0.483	5.920	6.120E-07***
향 (aroma)	구수한 향	8.95 ± 1.396	7.71 ± 1.577	2.781	0.008**
	비린 향	6.06 ± 1.893	8.78 ± 2.211	-4.482	6.058E-05***
맛 (taste)	짠 맛	3.33 ± 1.815	7.67 ± 1.645	-3.223	0.003**
	쓴 맛	5.22 ± 1.896	10.56 ± 2.007	-9.573	6.687E-06***
	신 맛	2.11 ± 1.323	3.50 ± 1.505	-2.834	0.007**
	감칠 맛	9.50 ± 1.855	10.06 ± 1.765	-1.698	0.097
질감 (texture)	입자의 잔존감	10.50 ± 1.654	4.56 ± 0.922	15.210	3.179E-18***

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

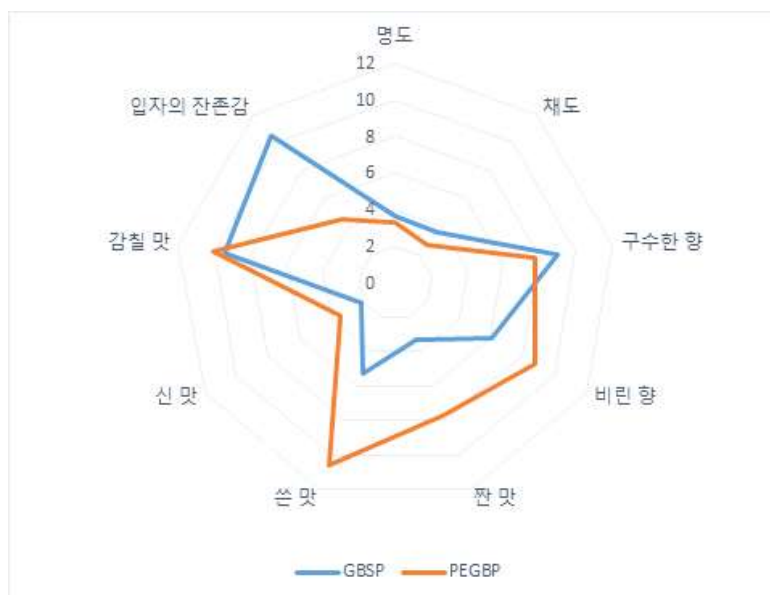


그림. 쌍별귀뚜라미분말(GBSP), 가수분해물(PEGBP)의 관능특성 인지 강도

2-2) 쌍별귀뚜라미 가수분해물의 소비자 기호도 조사

- 쌍별귀뚜라미 가수분해물이 첨가된 셰이크 제품을 만들어(1세부 제공) 소비자 기호도 조사를 실시하였음. (㈜센소메트릭스에 의뢰하여 조사를 실시하였으며, 30~50대 여성을 대상으로 선정하여 관능검사를 수행
- 쌍별귀뚜라미 가수분해물 0, 10, 15, 20% 함유한 30 g 셰이크를 제공하였음

(1) 종합 선호

- 단백질 셰이크 4종의 종합 선호 결과, 대조구, 효소10, 효소15, 효소20 순으로 대조구와 효소 10이 효소15, 효소20 보다 선호도가 뚜렷하게 높은 것으로 평가. 효소15는 효소20 보다 뚜렷하게 높은 것으로 나타나며, 대조구와 효소10 두 제품 간 선호 차이는 뚜렷하지 않은 것으로 평가

표. 종합선호

제품	종합선호				
	순위합 ¹⁾	1순위	2순위	3순위	4순위
효소10	70 ^{a 2)}	14	9	6	5
효소15	90 ^b	3	10	17	4
효소20	114 ^c	3	4	5	22
대조구	66 ^a	14	11	6	3

¹⁾ 종합선호 순위합: 순위합이 낮을수록 선호도가 높은 것을 의미함.

(1순위: 1점, 2순위: 2점, 3순위: 3점, 4순위: 4점으로 하여 각 순위빈도의 전체 합)

²⁾ 동일한 문자는 시료 간 유의차가 없다는 것을 의미(95% 신뢰수준).

순위 사후 검정은 각 시료의 순위합에 대해 Conover's test로 검증함.

(2) 종합 기호 분석

- 단백질 셰이크 4종의 종합 기호 결과, 종합기호는 대조구, 효소10, 효소15의 세 제품이 효소 20보다 기호도가 뚜렷하게 높았으며, 대조구, 효소10, 효소15 세 제품 간 종합기호 차이는 뚜렷하지 않았음
- 효소10 종합기호 평균은 6.12, 긍정반응(Top3) 비율은 58.8%로 부정반응(Bottom3) 14.7% 보다 뚜렷하게 높아 효소10에 대한 만족도는 상당히 긍정적인 것으로 평가
- 효소15 종합기호 평균은 5.44, 긍정반응(Top3) 비율은 44.1%로 보통수준(Mid3) 26.5%, 부정반응(Bottom3) 29.4%로 효소15에 대한 만족도는 대체로 긍정적 수준인 것으로 평가
- 효소20 종합기호 평균은 4.03, 부정반응(Bottom3, 52.9%)이 긍정반응(Top3, 23.5%)보다 뚜렷하게 높아, 효소20에 대한 만족도는 부정적인 수준인 것으로 평가
- 대조구 종합기호 평균은 6.15, 긍정반응(Top3) 비율은 52.9%로 부정반응(Bottom3) 17.6% 보다 뚜렷하게 높아, 대조구에 대한 만족도는 상당히 긍정적인 것으로 평가

표. 종합 기호

제품	종합기호			
	평균 ¹⁾	Bottom3 ²⁾	Mid3	Top3
효소10	6.12 ^{a 3)}	14.7	26.5	58.8
효소15	5.44 ^a	29.4	26.5	44.1
효소20	4.03 ^b	52.9	23.5	23.5
대조구	6.15 ^a	17.6	29.4	52.9

¹⁾ 종합기호 평균: 9점 척도, 1점(대단히 싫다), 3점(싫다), 5점(중지도/싫지도 않다), 7점(좋다), 9점(대단히 좋다)

²⁾ Bottom3(%) : 종합기호에 대한“싫다”이하의 부정반응(1~3점) 비율(%)

Mid3(%) : 종합기호에 대한 보통수준(4~6점) 비율(%)

Top3(%) : 종합기호에 대한“좋다”이상의 긍정반응(7~9점) 비율(%)

³⁾ 동일한 문자는 시료 간 유의차가 없다는 것을 의미(p<0.05)

다중비교는 시료 평균에 대해 LSD 검증함

(3) 세부 기호 분석

- 단백질 셰이크 4종의 세부 기호 결과, 대조구는 상대적으로 뒷맛, 맛, 입안느낌에 대한 만족도가 높은 제품으로 평가
- 효소10은 상대적으로 뒷맛, 맛, 외관에 대한 만족도가 높은 제품으로 평가
- 효소15는 모든 세부 속성 기호에 대해 뚜렷하게 좋거나 싫지 않은 제품으로 평가
- 효소20은 상대적으로 향, 입안느낌, 맛, 뒷맛에 대한 만족도가 낮은 제품으로 평가
- 외관 기호는 네 제품 간 차이가 뚜렷하지 않은 것으로 평가
- 향 기호는 대조구, 효소10, 효소15, 효소20 순으로 높게 나타났고, 대조구와 효소10은 효소20 보다 뚜렷하게 높고, 대조구, 효소10, 효소15 간, 효소15, 효소20 간 차이는 뚜렷하지 않은 것으로 평가
- 맛 기호는 대조구, 효소10, 효소15, 효소20 순으로 높게 나타났고, 대조구와 효소10은 효소15, 효소20 보다 뚜렷하게 높고, 효소15는 효소20보다 뚜렷하게 높은 것으로 평가. 대조구, 효소10 간 차이는 뚜렷하지 않은 것으로 나타남
- 입안느낌 기호는 대조구, 효소10, 효소15, 효소20 순으로 높게 나타났고, 대조구, 효소10, 효소15는 효소20 보다 뚜렷하게 높고, 세 제품 간 차이는 뚜렷하지 않은 것으로 평가
- 뒷맛 기호는 대조구와 효소10, 효소15, 효소20 순으로 높게 나타났고, 대조구와 효소10은 효소15, 효소20 보다 뚜렷하게 높고, 효소15는 효소20보다 뚜렷하게 높은 것으로 평가. 대조구, 효소10 간 차이는 뚜렷하지 않은 것으로 나타남(95% 신뢰수준).

표. 세부 기호

제품	세부 기호(평균, 9점)				
	외관 ¹⁾	향	맛	입안느낌	뒷맛
효소10	5.97 ^{a2)}	5.94 ^a	5.94 ^a	5.65 ^a	6.06 ^a
효소15	5.32 ^a	5.74 ^{ab}	4.88 ^b	5.47 ^a	4.76 ^b
효소20	5.38 ^a	5.12 ^b	3.91 ^c	4.24 ^b	3.79 ^c
대조구	5.56 ^a	6.03 ^a	6.12 ^a	6.06 ^a	6.06 ^a

¹⁾ 세부기호 평균, 9점 척도

²⁾ 동일한 문자는 제품 간 유의차가 없다는 것을 의미함(95% 신뢰수준).

다중비교는 시료 평균에 대해 LSD 검증함.

(4) 감각특성 분석

(가) 인지강도(Intensity) 분석

- 단백질 셰이크 4종의 인지 강도 분석 결과, 대조구는 상대적으로 고소한맛, 단맛, 뒷맛깔끔함 강도는 강하고 쓴맛은 약한 제품이라고 평가
- 효소10은 상대적으로 이미 이취, 색상, 쓴맛이 약한 제품이라고 평가
- 효소15는 상대적으로 쓴맛이 강한 제품이라도 평
- 효소20은 상대적으로 쓴맛, 색상, 신맛, 이미이취 강도는 강하고 뒷맛깔끔함, 고소한맛 강도는 약한 제품이라고 평가
- 색상은 효소20, 효소15, 대조구, 효소10 순으로 강하게 나타났고, 효소20은 효소15, 대조구, 효소10 보다 뚜렷하게 진한 것으로 평가되었고, 효소15, 대조구, 효소10 간 차이는 뚜렷하지 않은 것으로 평가
- 단맛은 대조구, 효소10, 효소15, 효소20 순으로 강하게 나타났고, 대조구는 효소20 보다 뚜렷하게 강하며, 대조구, 효소10, 효소15 간, 효소10, 효소15, 효소20 간 차이는 뚜렷하지 않은 것으로 평가
- 쓴맛은 효소20, 효소15, 효소10, 대조구 순으로 강하게 나타났고, 효소20은 효소15, 효소10, 대조구 보다 뚜렷하게 강하고, 효소15는 효소10, 대조구 보다 뚜렷하게 강하고, 효소10, 대조구 간 차이는 뚜렷하지 않은 것으로 평
- 신맛은 효소20, 효소10과 효소15, 대조구 순으로 강하게 나타났고, 효소20은 효소10과 효소15, 대조구 보다 뚜렷하게 강하며, 효소10과 효소15, 대조구 간 차이는 뚜렷하지 않은 것으로 평가
- 고소한맛은 대조구, 효소15, 효소10, 효소20 순으로 강하게 나타났고, 대조구, 효소15, 효소10은 효소20 보다 뚜렷하게 강하며, 세 제품 간 차이는 뚜렷하지 않은 것으로 평가
- 이미이취는 효소20, 효소15, 대조구, 효소10 순으로 강하게 나타났고, 효소20은 대조구, 효소10 보다 뚜렷하게 강하고, 효소15는 효소10보다 뚜렷하게 강하며, 효소20, 효소15 간, 효소15, 대조구 간, 대조구, 효소10 간 차이는 뚜렷하지 않은 것으로 평가
- 뒷맛깔끔함 강도는 대조구, 효소10, 효소15가 효소20 보다 뚜렷하게 강한 것으로 평가되었고, 대조구, 효소10, 효소15 간 차이는 뚜렷하지 않은 것으로 평가
- 텁텁함, 걸쭉함 강도는 네 제품 간 차이가 뚜렷하지 않은 것으로 평가

표. 인지강도 평균

제품	색상 ¹⁾	단맛	쓴맛	신맛	고소한맛	이미이취	텁텁함	걸쭉함	뒷맛 깔끔함
효소10	5.76 ^{b2)}	5.53 ^{ab}	3.09 ^c	2.56 ^b	5.56^a	4.41 ^c	5.38 ^a	5.47 ^a	4.85^a
효소15	6.26 ^b	5.26 ^{ab}	4.50 ^b	2.56 ^b	5.71^a	5.09 ^{ab}	5.32 ^a	5.56 ^a	4.68^a
효소20	7.09^a	5.12 ^b	5.41^a	3.41^a	4.56 ^b	5.65^a	5.79 ^a	5.18 ^a	3.76 ^b
대조구	6.00 ^b	5.94^a	2.94 ^c	2.50 ^b	6.00^a	4.53 ^{bc}	5.21 ^a	5.59 ^a	5.18^a

¹⁾ 속성강도 평균, 9점 척도

²⁾ 동일한 문자는 제품 간 유의차가 없다는 것을 의미함(95% 신뢰수준).
다중비교는 시료 평균에 대해 LSD 검증함.

(5) 관능품질 개선방향 분석

(가) 효소 10

○ 효소10은 고소한맛, 뒷맛깔끔함은 강하게 텁텁함은 약하게 변경되기를 희망하는 것으로 평가되며, 고소한맛, 뒷맛깔끔함, 텁텁함 특성 강도 개선 시 약 24% 수준의 종합기호도 상승이 예상되며, 뒷맛깔끔함, 고소한맛, 텁텁함 순으로 특성강도 개선 시 종합기호에 미치는 긍정적인 영향이 큰 것으로 나타남

표. 인지 및 희망 강도 평균

구분	색상	단맛	쓴맛	신맛	고소한맛	이미이취	텁텁함	겉쪽함	뒷맛 깔끔함
인지강도 ¹⁾	5.76 ^{a3)}	5.53 ^a	3.09 ^a	2.56 ^a	5.56 ^b	4.41 ^a	5.38 ^a	5.47 ^a	4.85 ^b
희망강도 ²⁾	5.56 ^a	5.03 ^a	3.03 ^a	2.26 ^a	6.88 ^a	3.88 ^a	4.21 ^b	5.41 ^a	6.24 ^a

1) 인지강도: 맛본 제품에서 느껴지는 각 속성의 강한정도 평균, 9점 척도

2) 희망강도: 인지강도를 기준으로 개선되었으면 하는 정도

3) 동일한 문자는 인지강도와 희망강도 간 차이가 뚜렷하지 않음을 의미함(p<0.05)

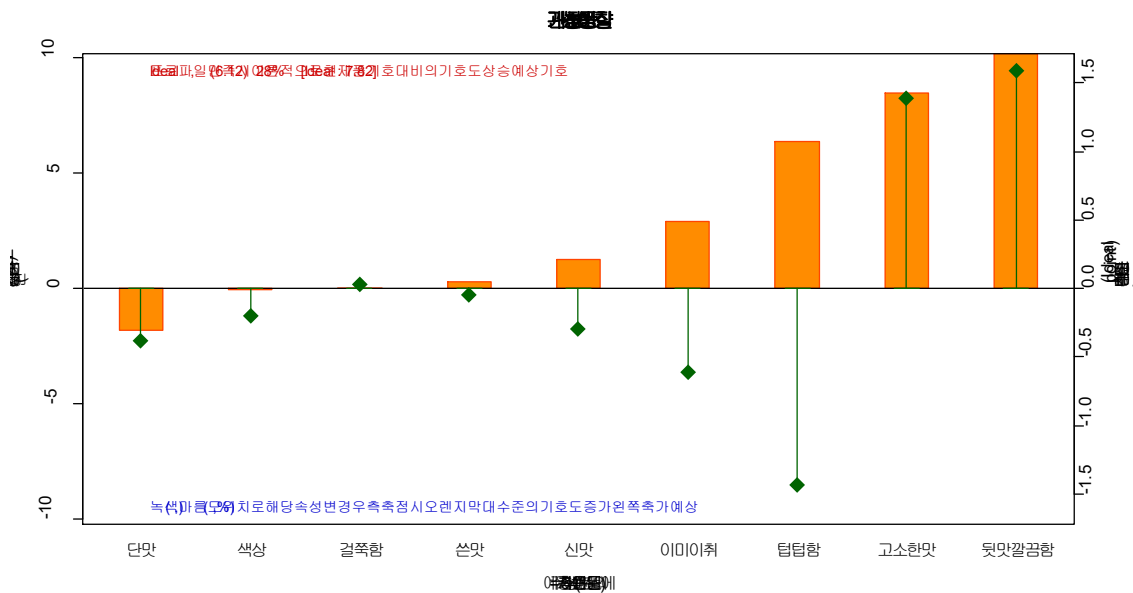


그림. 관능품질 개선방향: 효소10

- 기호도 증가 그래프(오렌지막대)가 음의 방향으로 크게 나타나는 경우는 해당 특성의 변경에 대해 평가자 그룹내에 상이한 반응을 보이는 평가자가 많이 존재하는 것을 의미함.
- 녹색마름모 위치는 희망강도와 인지강도 간 차이 정도를 나타냄(우측 척도)
- 오렌지색 막대 그래프는 강도개선 시 기호도 증가 예상 비율(좌측 척도)
- 좌측에서 우측으로 갈수록 개선 시 기호도 증가에 미치는 영향이 큰 속성을 의미함.

(나) 효소 15

○ 효소15는 색상, 쓴맛, 이미이취, 텁텁함은 약하게, 고소한맛, 뒷맛깔끔함은 강하게 변경되기를 희망하는 것으로 평가되었다. 색상 강도 개선에 의한 종합기호도 상승효과는 미미할 것으로 예상되나, 이미이취, 텁텁함, 고소한맛, 쓴맛, 뒷맛깔끔함 특성 강도 개선 시 약 44% 수준의 종합기호도 상승이 예상. 뒷맛깔끔함, 쓴맛, 고소한맛, 텁텁함, 이미이취 순으로 특성 강도 개선 시 종합기호에 미치는 긍정적인 영향이 큰 것으로 평가

표. 인지 및 희망 강도 평균

구분	색상	단맛	쓴맛	신맛	고소한맛	이미이취	텁텁함	겉쪽함	뒷맛 깔끔함
인지강도 ¹⁾	6.26 ^{a3)}	5.26 ^a	4.50 ^a	2.56 ^a	5.71 ^b	5.09 ^a	5.32 ^a	5.56 ^a	4.68 ^b
희망강도 ²⁾	5.50 ^b	5.06 ^a	3.03 ^b	2.41 ^a	7.03 ^a	3.88 ^b	3.82 ^b	5.71 ^a	6.26 ^a

1) 인지강도: 맛본 제품에서 느껴지는 각 속성의 강한정도 평균, 9점 척도

2) 희망강도: 인지강도를 기준으로 개선되었으면 하는 정도

3) 동일한 문자는 인지강도와 희망강도 간 차이가 뚜렷하지 않음을 의미함(p<0.05)

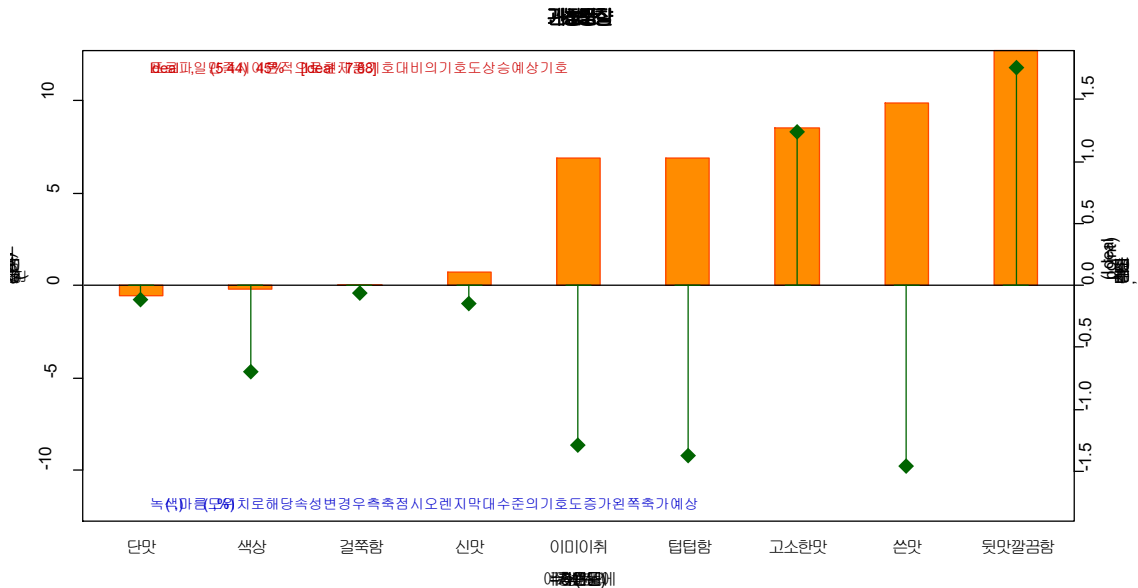


그림. 관능품질 개선방향: 효소15

(다) 효소 20

○ 효소20은 색상, 쓴맛, 신맛, 이미이취, 텁텁함은 약하게, 고소한맛, 뒷맛깔끔함은 강하게 변경되기를 희망하는 것으로 평가되었다. 색상, 신맛 강도 개선에 의한 종합기호도 상승효과는 미미할 것으로 예상되나, 쓴맛, 이미이취, 텁텁함, 고소한맛, 뒷맛깔끔함 특성 강도 개선 시 약 90% 수준의 종합기호도 상승이 예상. 뒷맛 깔끔함, 고소한 맛, 쓴맛, 이미이취, 텁텁함 순으로 특성강도 개선 시 종합기호에 미치는 긍정적인 영향이 큰 것으로 평가

표. 인지 및 희망 강도 평균

구분	색상	단맛	쓴맛	신맛	고소한맛	이미이취	텁텁함	겉쪽함	뒷맛 깔끔함
인지강도 ¹⁾	7.09 ^{a3)}	5.12 ^a	5.41 ^a	3.41 ^a	4.56 ^b	5.65 ^a	5.79 ^a	5.18 ^a	3.76 ^b
희망강도 ²⁾	5.56 ^b	5.24 ^a	3.12 ^b	2.71 ^b	7.03 ^a	3.53 ^b	4.03 ^b	5.53 ^a	6.79 ^a

1) 인지강도: 맛본 제품에서 느껴지는 각 속성의 강한정도 평균, 9점 척도

2) 희망강도: 인지강도를 기준으로 개선되었으면 하는 정도

3) 동일한 문자는 인지강도와 희망강도 간 차이가 뚜렷하지 않음을 의미함(p<0.05)

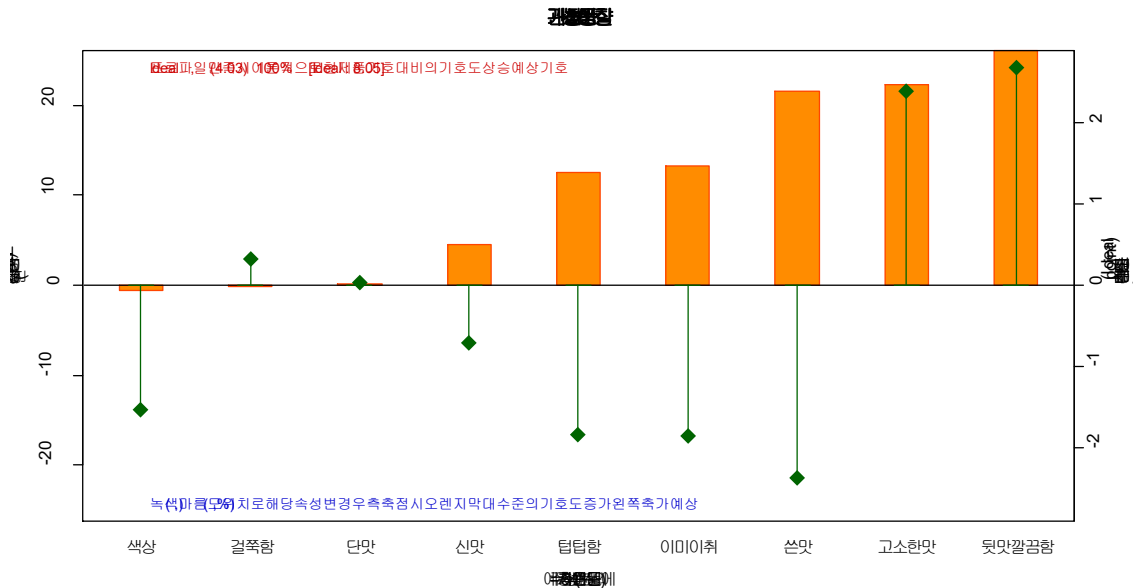


그림. 관능품질 개선방향: 효소20

(라) 대조구

○ 대조구는 신맛, 이미이취, 텁텁함은 약하게, 고소한맛, 뒷맛깔끔함은 강하게 변경되기를 희망하는 것으로 평가되었다. 신맛, 이미이취 강도 개선에 의한 종합기호도 상승효과는 미미할 것으로 예상되나, 고소한맛, 뒷맛깔끔함, 텁텁함 특성 강도 개선 시 약 19% 수준의 종합기호도 상승이 예상. 뒷맛깔끔함, 고소한맛, 텁텁함 순으로 특성 강도 개선 시 종합기호에 미치는 긍정적인 영향이 큰 것으로 평가

표. 인지 및 희망 강도 평균

구분	색상	단맛	쓴맛	신맛	고소한맛	이미이취	텁텁함	겉쪽함	뒷맛 깔끔함
인지강도 ¹⁾	6.00 ^{a3)}	5.94 ^a	2.94 ^a	2.50 ^a	6.00 ^b	4.53 ^a	5.21 ^a	5.59 ^a	5.18 ^b
희망강도 ²⁾	5.62 ^a	5.26 ^a	3.00 ^a	2.18 ^b	6.85 ^a	3.91 ^b	3.74 ^b	5.35 ^a	6.47 ^a

1) 인지강도: 맛본 제품에서 느껴지는 각 속성의 강한정도 평균, 9점 척도

2) 희망강도: 인지강도를 기준으로 개선되었으면 하는 정도

3) 동일한 문자는 인지강도와 희망강도 간 차이가 뚜렷하지 않음을 의미함(p<0.05)

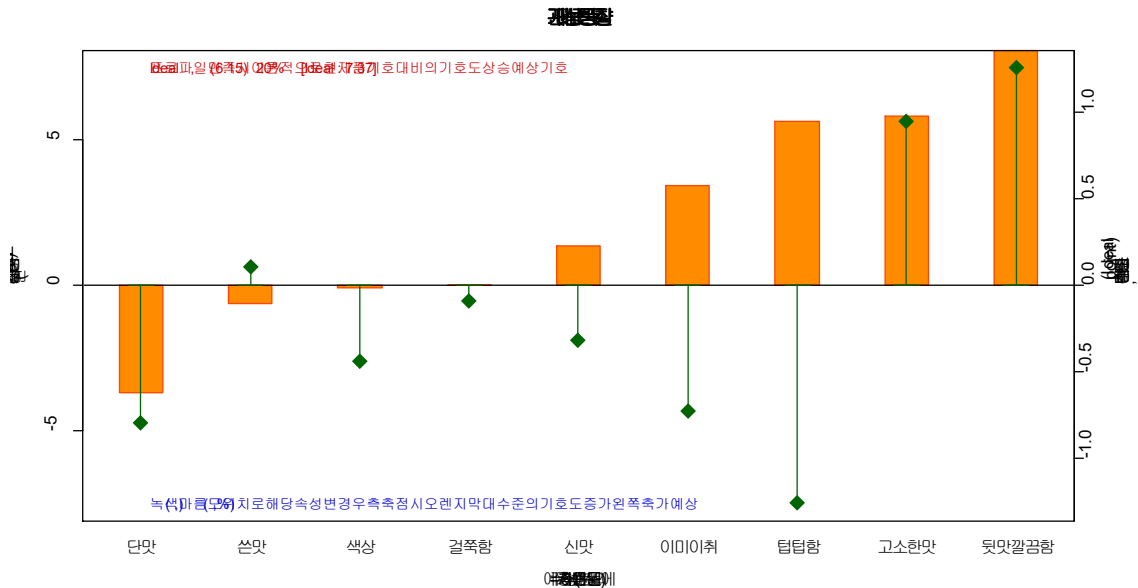


그림. 관능품질 개선방향: 대조구

(6) 속성별 CATA 프로파일 분석

(가) 외관

○ 4제품의 외관 특성으로 블랙곡물색과 흑임자색에 대한 선택 빈도가 높았음

표. 외관 CATA 분할표

제품	들깨가루색	미숫가루색	블랙곡물색	코코넛 가루입자	콩가루색	쿠키앤크림 과자색	크림색	흑임자색
효소10	15	10	28	11	14	11	4	25
효소15	17	6	26	10	10	15	0	28
효소20	12	6	29	11	7	17	1	27
대조구	17	9	30	9	8	14	2	25

* 가장 많이 응답한 상위 2개 특성을 표시함

(나) 향

○ 4제품의 향 특성으로 곡류냄새와 고소한냄새에 대한 선택 빈도가 높았음

표. 향 CATA 분할표

제품	건새우냄새	견과류냄새	고소한냄새	곡류냄새	구운생선향	녹진한냄새	바닐라향	새우분말향
효소10	3	15	24	30	0	5	5	3
효소15	3	15	20	29	1	7	2	2
효소20	1	13	14	20	3	6	2	4
대조구	4	16	27	33	0	2	4	2

제품	지린내	청국장향	초콜릿향 (카카오향)	쿰쿰한냄새	퀴퀴한냄새	탄향	헤이즐넛향	흑임자냄새
효소10	1	3	1	4	2	4	2	15
효소15	1	4	5	6	4	6	2	16
효소20	1	6	7	10	8	4	2	13
대조구	1	3	6	5	3	4	3	18

* 가장 많이 응답한 상위 2개 특성을 표시함

(다) 맛

○ 효소10, 효소15, 대조구 세 제품의 맛 특성으로 미숫가루맛, 고소한맛이 가장 많이 선택되었으며, 효소20의 맛 특성으로 미숫가루맛과 텁텁한맛이 많이 선택

표. 맛 CATA 분할표

제품	감칠맛	견과류맛	고소한맛	미숫가루맛	분유맛	사또밥 과자맛	새우분말맛	신맛
효소10	9	16	22	27	3	3	5	2
효소15	6	16	21	22	3	1	4	1
효소20	5	7	13	22	2	0	3	7
대조구	10	20	26	26	1	2	2	2

제품	쌀과자맛	쓴맛	우유맛	인위적인 단맛	짠맛	텁텁한맛	해물맛	홍차맛
효소10	6	7	7	7	5	12	2	4
효소15	6	12	5	8	8	17	2	2
효소20	4	16	4	12	7	19	2	4
대조구	11	4	4	10	5	18	0	2

* 가장 많이 응답한 상위 2개 특성을 표시함

(라) 입안느낌

- 효소10, 대조구, 효소15의 입안느낌 특성으로는 미끈함과 부드러움이 많이 선택되었으며, 효소20의 입안느낌 특성으로는 미끈함에 대한 응답이 가장 많은 것으로 나타남

표. 입안느낌 CATA 분할표

제품	끈적임	모래씹힘	미끈함	부드러움
효소10	9	7	18	19
효소15	11	7	15	15
효소20	10	7	18	9
대조구	11	9	14	15

* 가장 많이 응답한 상위 2개 특성을 표시함

(마) 뒷맛

- 효소10, 대조구의 뒷맛 특성으로는 단맛과 잔여감이 많이 선택되었으며, 효소15, 효소20의 뒷맛 특성으로는 잔여감에 대한 응답이 가장 많은 것으로 나타남

표. 뒷맛 CATA 분할표

제품	단맛	잔여감	짠맛
효소10	21	19	4
효소15	13	19	10
효소20	13	19	8
대조구	22	19	7

* 가장 많이 응답한 상위 특성을 표시함

(7) 컨셉 수용도 평가

- 식용곤충 단백질 셰이크 제품의 컨셉을 제시한 후, 컨셉에 대한 만족도 및 기대감을 평가
- 컨셉 만족도(5점 척도)는 평균 3.41, 긍정반응은 58.8%로, 컨셉에 대한 만족도는 긍정적인 것으로 평가. 컨셉제품 효능 기대감(5점 척도)은 평균 3.76, 긍정반응은 76.5%로, 컨셉 효능 기대감이 뚜렷하게 높은 것으로 평가

표. 컨셉 제시

<input type="checkbox"/> 식용곤충 단백질셰이크 <ul style="list-style-type: none"> - 식용곤충 효소처리 분말이 주원료 - 식용곤충으로 만든 고단백 프로틴 셰이크 - 동·식물성 단백질 1:1 균형 배합 (동물성 단백질 : 식용곤충 효소처리분말, 식물성 단백질 : 분리대두단백) - 1회 1포(30g) 섭취로 단백질 10g 섭취 가능(1일 영양성분 기준치 18% 충족)

표. 컨셉 수용도

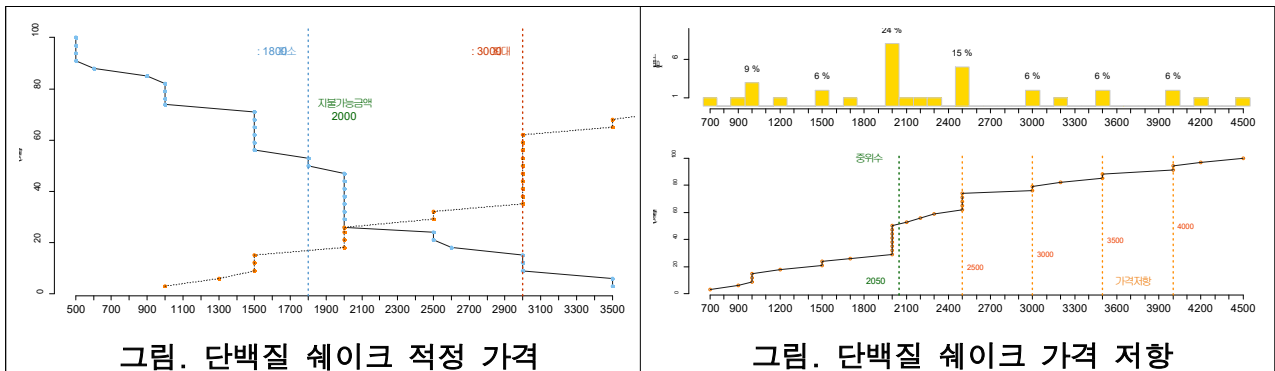
	컨셉 만족도 ¹⁾	컨셉 효능 기대감 ²⁾
평균(5점)	3.41	3.76
Top2(%) ³⁾	58.8	76.5
Mid(%)	17.7	17.7
Bottom2(%)	23.5	8.8

- 1) 컨셉 만족도 평균: 5점 척도
1점(전혀 마음에 들지 않는다)~3점(마음에 들지도/안 들지도 않는다)~5점(매우 마음에 든다)
- 2) 컨셉 효능 기대감 평균: 5점 척도
1점(전혀 기대가 되지 않는다)~3점(보통이다)~5점(매우 기대가 된다)
- 3) Bottom2(%) : 컨셉 만족도에 대해 “마음에 들지 않는다”이하의 부정반응(1~2점) 비율(%)
Mid(%) : 컨셉 만족도에 대해 보통반응(3점) 비율(%)
Top2(%) : 컨셉 만족도에 대한 “마음에 든다”이상의 긍정반응(4~5점) 비율(%)

(8) 적정 가격 및 구매의지 평가

(가) 적정 가격 평가

- 단백질 셰이크 1포(30g)를 구매하는 데 지불 가능한 최소가격은 1,800원, 최대가격은 3,000원, 적정 가격은 2,000원으로 평가. 가격이 2,000원 보다 비싸질 경우 2,500원, 3,000원, 3,500원, 4,000원에서 가격에 대한 저항이 있을 것으로 예상



(나) 구매의지 평가

- 컨셉에 대한 구매의지는 평균 3.00, Top2(긍정반응) 41.2%로, 컨셉만을 보았을 때 구매의지는 보통수준인 것으로 평가
- 가격 제시 후 구매의지는 평균 3.03, Top2(긍정반응) 38.2%로, 가격 구매의지는 보통수준인 것으로 평가

표. 구매의지

	컨셉 구매의지 ¹⁾	가격 구매의지
평균(5점)	3.00	3.03
Top2(%) ²⁾	41.2	38.2
Mid(%)	23.5	23.5
Bottom2(%)	35.3	38.2

¹⁾ 구매의지 평균, 5점 척도

²⁾ Bottom2(%) : 구매의지에 대한 “구입하고 싶지 않다” 이하의 부정반응(1~2점) 비율(%)

Mid(%) : 구매의지에 대한 “반반/그저 그렇다”의 보통반응(3점) 비율(%)

Top2(%) : 구매의지에 대한 “구입하고 싶다” 이상의 긍정반응(4~5점) 비율(%)

(9) 소비자 기호도 결론

- 쌍별귀뚜라미 가수분해물 단백질 웨이크에 대한 소비자 기호도를 확인하기 위해 30-50대 여성 34명을 대상으로 평가한 결과, 종합선호 순위는 대조구, 효소10 이 효소15, 효소20보다 뚜렷하게 높은 것으로 평가. 종합기호 평균은 대조구, 효소10, 효소15, 효소20 순으로 대조구, 효소10, 효소15 세 제품이 효소20보다 기호도가 뚜렷하게 높은 것으로 평가
- 효소10과 대조구는 종합기호 평균과 전반적인 관능품질에 대한 긍정반응 비율(“좋다” 이상의 응답 비율, TOP3)로 볼 때, 전반적인 관능품질 만족도가 높은 제품으로 판단되며, 효소15는 관능품질 만족도가 보통수준 이상인 제품으로 판단. 효소20은 “별로 좋지 않다” 이하의 부정적 반응 비율이 긍정반응 비율보다 뚜렷하게 높은 것으로 나타나 관능품질 만족도가 낮은 제품이라고 판단. 효소20의 경우 나머지 세 제품보다 상대적으로 쓴맛과 신맛은 강하고 고소한맛은 약하며, 뒷맛이 깔끔하지 않은 제품으로 평가되었으며, 다른 제품들보다 외관, 향, 맛, 입안느낌, 뒷맛의 세부 속성에 대한 만족도가 낮은 제품으로 평가되어, 효소20과 다른 제품들 간 감각특성 인지강도 차이가 효소20의 세부 기호에 부정적인 영향을 미친 것으로 판단된다.
- 결론적으로, 효소10과 대조구는 관능품질 만족도가 상당히 높은 제품으로 두 제품 간 관능품질 만족도는 동등한 수준이며, 관능품질 경쟁력 또한 효소10과 대조구가 효소20보다 우수하고, 효소15보단 경쟁우위에 있다고 판단

3) 쌍별귀뚜라미 가수분해물을 이용한 HMR 개발

3-1) 쌍별귀뚜라미 가수분해물을 이용한 HMR 제품에 적합한 부재료의 선정과 개발 HMR 제품의 조성개발

- 쌍별귀뚜라미 가수분해물의 조리적용 연구에서 멥쌀떡 제조, 식빵 제조, 셰이크류 제조 등이 적절한 첨가범위에서 적용성이 검증되어 기능성과 단백질 제공량을 고려하여 한끼에 균형잡힌 3대 영양소가 제공될 수 있으며 보존을 위한 첨가물의 사용을 최소화하고 섭취가 용이한 가정간편식(HMR) 제품을 개발하게 됨
- 스프 2종, 볶음김밥, 치아바타샌드위치, 프로틴 영양떡 등 HMR 제품 개발(5종)

(1) 귀뚜라미 감자스프

- 감자수프는 언제 어디서든지 뜨거운 물만 부어서 따끈한 수프를 먹을 수 있으며, 제품 40g 당 약 140kcal의 에너지와 단백질 8g을 손쉽게 섭취할 수 있음 또한 3D Food Printer의 푸딩크로도 사용이 가능하여 많은 확장성을 가지고 있는 간편식제품임

재료	무게 (g)	조성비율(%)
감자분말 (Oregon Potato)	15.0	37.500
귀뚜라미 탈지분말	2.0	5.000
귀뚜라미가수분해물	2.0	5.000
고소애탄지분말	4.0	10.000
전지분유 (서울우유)	4.0	10.000
알파미분 (ES식품원료)	1.7	4.250
파마산치즈분 (메사나)	3.47	8.675
마늘분 ((주)부미식품)	0.7	1.750
양파분 ((주)부미식품)	0.8	2.000
자일리톨 (바이오믹스)	3.0	7.500
설탕 (백설)	2.5	6.250
소금	0.77	1.925
후춧가루	0.06	0.150
계	40	100.000

- 귀뚜라미 감자수프의 영양구성(농진청 국가표준식품성분 DB기준)

에너지(kcal)	탄수화물 (g)	단백질 (g)	지방 (g)
140.7	20.6	7.8	3.1

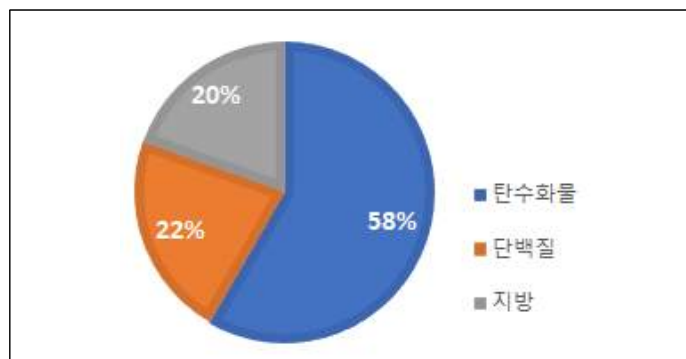


표. 귀뚜라미 감자수프의 3대영양소 열량 구성비

(2) 귀뚜라미 채소 감자스프

재료	무게 (g)	비율(%)
감자분말 (Oregon Potato)	14.04	35.100
귀뚜라미 탈지분말	2.0	5.000
귀뚜라미 가수분해물	2.0	5.000
고소애 탈지분말	4.0	10.000
전지분유 (서울우유)	4.5	11.250
현미분말 (더에스 와이(주))	1.0	2.500
파마산치즈분 (메사나)	3.4	8.500
마늘분 ((주)부미식품)	0.3	0.750
양파분 ((주)부미식품)	0.5	1.250
자일리톨 (바이오믹스)	3.0	7.500
설탕 (백설)	3.0	7.500
소금	0.7	1.750
후춧가루	0.06	0.150
채소믹스분태* (은산푸드)	1.5	3.750
계	40	100.000

* 채소믹스분태 : 분쇄기 2분 정도 갈아서 사용

○ 귀뚜라미 채소 감자수프의 영양구성(농진청 국가표준식품성분 DB기준)

에너지(kcal)	탄수화물 (g)	단백질 (g)	지방 (g)
141.8	20.4	7.9	3.2

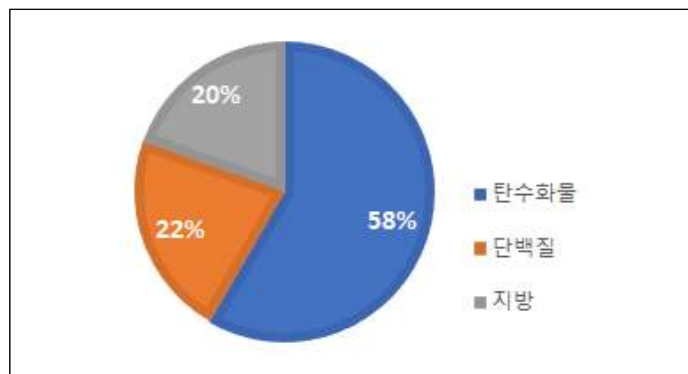
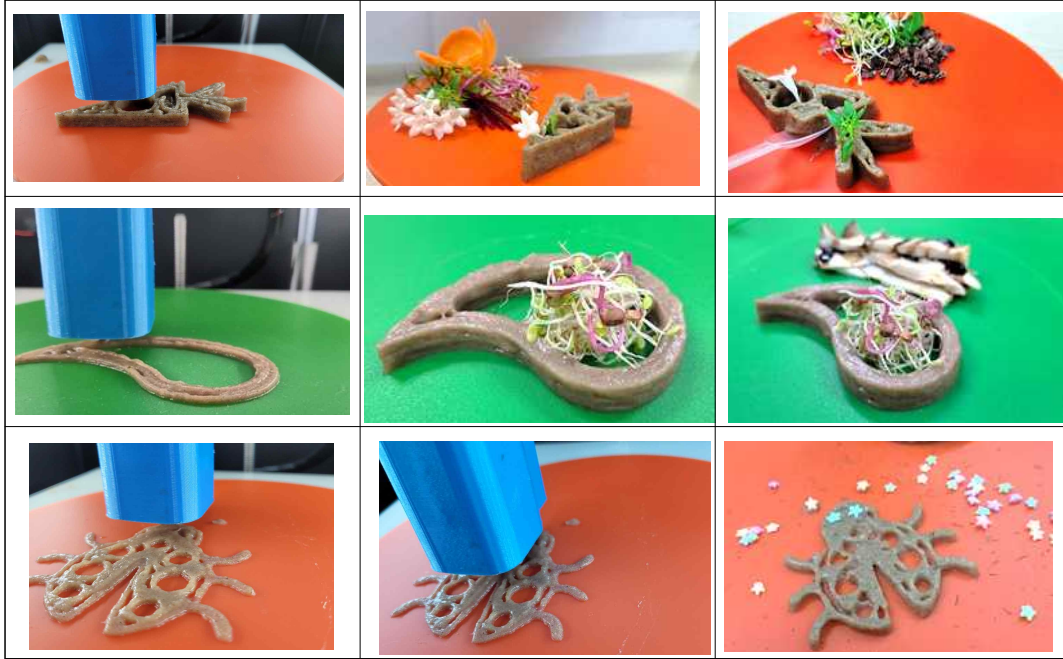


표. 귀뚜라미 채소감자수프의 3대영양소 열량 구성

			
귀뚜라미 감자수프 (3D Food Printing 용)	귀뚜라미 감자수프		귀뚜라미 채소감자수프
40g stick/110mL (파우더 무게 2.8배 가수량)	40g stick/200mL (파우더 무게 5배 가수량)		40g stick/200mL (파우더 무게 5배 가수량)

< 귀뚜라미 감자수프를 이용한 3D Food Printing >



(3) 귀뚜라미 볶음김밥(냉동)

- 풍부한 채소와 함께 식이섬유와 미량영양소가 풍부한 찰현미를 이용하고 귀뚜라미탈지분말과 귀뚜라미 가수분해물을 더해 단백질과 기능을 보강한 볶음 밥을 만들어 냉동함으로 저장을 위한 첨가물 없이 장시간 보관이 가능하며 필요시에 해동하여 섭취할 수 있는 간편식임. 또한 볶음밥을 한손으로도 편리하게 섭취할 수 있도록 (one hand meal) 김을 사용하여 김밥으로 만들었으며 냉동과 해동과정에서 김밥의 물리적 상태를 보강하기 위하여 라이스페이퍼를 추가적으로 사용한 제품임. 탄수화물의 에너지 제공 비율이 51% 정도로 저탄고지 유형의 제품이며, 우유와 함께 섭취시 410kcal 정도에 단백질은 약 20g을 섭취할 수 있어서 바쁜 일정 가운데도 손쉽고 편리한 균형잡힌 한끼의 식사가 될 수 있는 제품

<p>피트밥스 / 판매원 : (주)피트룩</p>	<p>전천후참맛김밥 / 제조 : (주)선사인푸드</p>	<p>판매 :마켓컬리 / 제조 : (주)복을만드는사람들</p>	<p>단백한줄 / 제조 : (주)복 을만드는사람들</p>
<p>불고기맛 외 2종, 240g/ea, 334~420kcal 단백질 28~41g 판매가 : 4,500원</p>	<p>불고기김밥 외 2종, 190g, 425kcal 판매가 : 2,000원</p>	<p>비건김밥 우영유부외 4종 단백질 8~16g/ea. 판매가 : 3,800~4,200원</p>	<p>묵은지참치외 2종, 220g/ea. 287~360kcal, 단백질 16~17g/ea. 판매가 : 3,800~4,200원</p>
<p>각 제품별 김밥 종류에 따라서 맛품질이 균일하지 않으며 단백질함량이 높은 경우 채소와 같은 다른 식재료의 비율 균형이 잡히지 못한 점 등이 평가 됨</p>			


< 시중의 냉동김밥 제품 >

(가) 현미밥 취사 조건

- 김밥용 밥은 찰현미와 백미 혼합비는 1 : 1
- 찰현미의 경우 백미와 취반속도가 달라서 찰현미와 백미의 수침 시간을 달리 하여 취반을 실시함

쌀	수세 또는 수침 조건	수세 또는 수침 후 흡수량
백미	수침없이 바로 수세한 후 취반	15.0% ± 1.82
찰현미	수세 후 상온에서 30분간 수침 후	20.8% ± 1.46

- 수세와 수침 후 취반시 가수량 : 쌀무게의 0.8배
- 취반시 총 가수량 : 쌀무게의 0.975배
- 취반 후 현미밥의 수율 : 쌀무게의 1.78배 (±0.059)

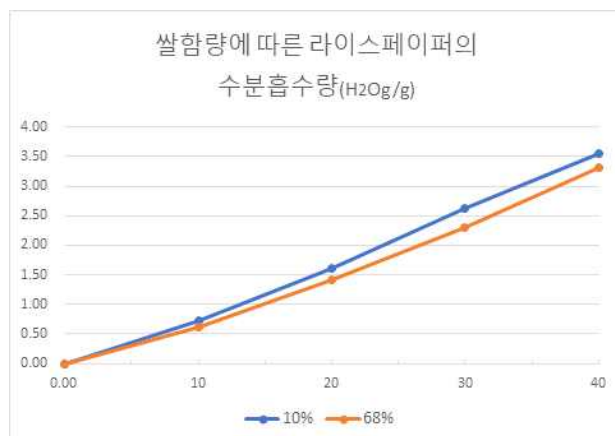


(나) 김과 라이스페이퍼를 이용한 볶음밥의 김말이

	
<p>라이스페이퍼 없이 해동한 김밥 : 김밥의 표면에 수분감이 많이 느껴짐</p>	<p>라이스페이퍼 추가사용 후 해동한 김밥 : 김밥의 표면에 수분감이 적고 표면에 수분 흡수로 인한 우그러드는 현상이 적음</p>

(라) 라이스페이퍼 사용시 수침온도와 시간 설정

- 라이스페이퍼의 쌀함량이 높을수록 수분흡수속도 (상온 20.5℃)가 다소 느리고, 수분 흡수 후의 탄력이 강한 것으로 판단되어 68% 쌀함량의 라이스페이퍼를 사용하기로 함. 라이스페이퍼의 수침 시간이 너무 짧을 경우 해동시 식감이 좋지 않고, 수침시간이 너무 긴 경우 김밥의 외형을 잡아주거나 여분의 수분감 조절력이 떨어지는 것으로 판단되어 라이스페이퍼의 수침시간을 상온에서 20초로 설정함



(마) 귀뚜라미 볶음 김밥의 조성

재료	1인 분량	비율(%)
현미밥	60	26.942
귀뚜라미탈지분	5.5	2.470
귀뚜라미가수분해물	1.2	0.539
닭가슴살 다짐*	32	14.369
단무지(일가집) 무침**	45	20.207
양파 다짐*	15	6.736
당근 다짐*	10	4.490
애호박 다짐*	25	11.226
옥수수 (캔, 그린자이언트)	16	7.185
깻잎 다짐*	6	2.694
감자분말 (동원홈푸드)	3	1.347
현미유	4	1.796
계	223	100.000

(바) 귀뚜라미 볶음김밥 만드는 법

1. 닭가슴살에 귀뚜라미분말(탈지분말+가수분해물)을 섞어 놓는다.
2. 예열된 후라이팬에 현미유를 두르고 양파, 당근, 애호박을 넣고 볶다가 단무지무침을 넣어 볶는다 (강불 사용하여 채소의 수분을 충분하게 날려준다).
3. 2에 닭가슴살과 귀뚜라미분말을 무쳐 놓은 것을 넣고 볶아준다(중강불).
4. 3에 옥수수, 현미밥을 넣어 볶고, 감자가루와 깻잎을 넣어 섞어 볶음밥을 완료한다.
5. 김을 김발에 올리고 라이스페이퍼를 실온의 물에 20초 담궜다가 꺼내 김에 올려놓는다.
6. 5에 4의 볶음밥을 얇게 펼쳐 말아준다.



(마) 귀뚜라미 냉동김밥의 영양구성 (농진청 국가표준식품성분 DB기준)

에너지(kcal)	탄수화물 (g)	단백질 (g)	지방 (g)
289.1	37.2	13.6	9.6

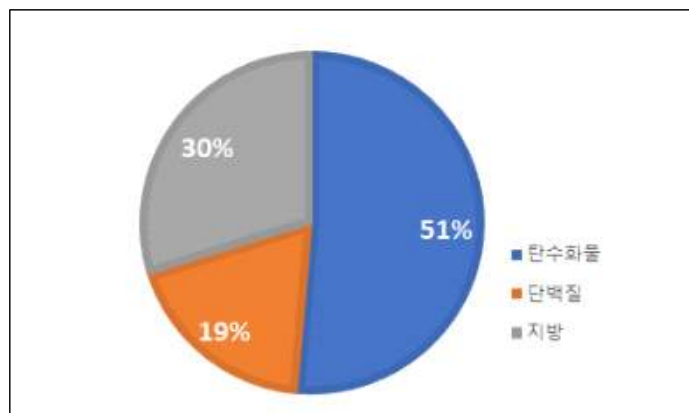


표. 귀뚜라미 냉동김밥의 3대영양소 열량 구성

(4) 귀뚜라미 치아바타 샌드위치(냉동)

- 샌드위치의 경우 탄수화물과 단백질의 비율과 채소 함량조정이 용이하여 한끼로서 균형잡힌 간편식이 될수 있는 제품이나 냉장저장 유통이 되는 것으로 유통기한이 매우 짧아 필요시에 항상 구매를 해서 섭취해야하는 식품임. 귀뚜라미 치아바타 샌드위치는 에너지 약 600 kcal 와 단백질 28g, 생채소로 환산시 100g이상의 채소가 들어가 있으면서 냉동제품으로 개발되어 언제든지 필요할 때 훌륭하게 균형잡힌 한끼의 식사로서 손쉽게 섭취할 수 있는 귀뚜라미 간편식 제품임. 귀뚜라미 치아바타빵은 빵 단품의 제품으로써 여러 베이커리 제품으로의 응용과 활용이 가능함

재료	무게 (g)	비율 (%)
빵용 쌀가루 (햇쌀마루)	200	27.203
통밀가루 (지리산우리밀)	100	13.602
귀뚜라미탈지분말	18	2.448
귀뚜라미 가수분해물	5	0.680
고소애탈지분	16	2.176
스피루리나분말 (KOS, USA)	2	0.272
호두분태	18	2.448
아몬드분태	15	2.040
호박씨	10	1.360
헴프 씨드	7	0.952
크랜베리	25	3.400
이스트 (건, saf-instant)	4	0.544
소금	5.2	0.707
올리브유 (CJ백설)	22	2.992
물	288	39.173
합계	735.2 (12 ea.)	100.000

(가) 귀뚜라미 치아바타 제조

1. 이스트, 소금과 물을 섞어서 빵용 쌀가루, 통밀가루에 넣어 가루가 없어질 때까지 반죽해 준다.
2. 올리브유, 스피루리나, 견과류를 넣어 섞어주고 반죽하여 냉장고에 12시간 숙성 시킨다. (1차 발효)
3. 반죽을 분할(120g/ea)하고 패닝한 후 60분간 2차 발효(35℃)를 한다.
4. 컨벡션 오븐 163℃ 10~12분간 굽는다. (치아바타 베이킹 수율 0.87±0.021)

			
1차 발효 (냉장, 12hr)	분할과 패닝 (120g/ea.)	2차 발효 (35℃, 1hr)	굽기 (163℃, 10~12min.)

(나) 귀뚜라미 치아바타 샌드위치 제조

1. 소고기 다짐에 귀뚜라미탈지분말, 데리야키소스와 간장소스를 넣어 버무려 준다.
2. 팬을 달군 후 올리브유를 두르고 1의 양념된 소고기를 볶은 후 식혀 준다.
3. 초절임 채소, 올리브, 감자분말을 섞어준다.
4. 귀뚜라미 치아바타를 길이로 반 갈라서 안쪽에 마요네즈, 씨겨자를 바른 후 2와 3을 올려준 뒤에 체다 치즈와 모짜렐라 치즈를 얹은 후 빵을 덮어서 샌드위치를 완성한다.
5. 왁스유산지로 샌드위치를 포장하여 48시간 냉동한 후 꺼내어 진공 포장한다.

재료	무게 (g)	비율 (%)
귀뚜라미 치아바타	105	34.826
소고기 다짐	50	16.584
귀뚜라미탈지분말	2	0.663
데리야키소스 (CJ백설)	4.5	1.493
간장소스*	3	0.995
올리브유 (Extra Virgin, CJ백설)	3	0.995
초절임 채소**	70	23.217
블랙올리브(병, 슬라이스, 동서식품)	10	3.317
체다 치즈 (매일)	16	5.307
모짜렐라 치즈 (서울우유)	16	5.307
마요네즈 (오뚜기 골드)	10	3.317
씨겨자 (Amora Maille, France)	7	2.322
감자분말 (동원홈푸드)	5	1.658
계	301.5 (1/ea.)	100.000



(다) 귀뚜라미 치아바타 및 속재료 의 영양구성 (농진청 국가표준식품성분 DB기준)

구 분	에너지(kcal)	탄수화물(g)	단백질(g)	지방(g)
귀뚜라미 치아바타	277.0	39.4	9.2	9.0
속재료	330.3	14.8	18.9	21.9
계	607.3	54.2	28.1	30.9

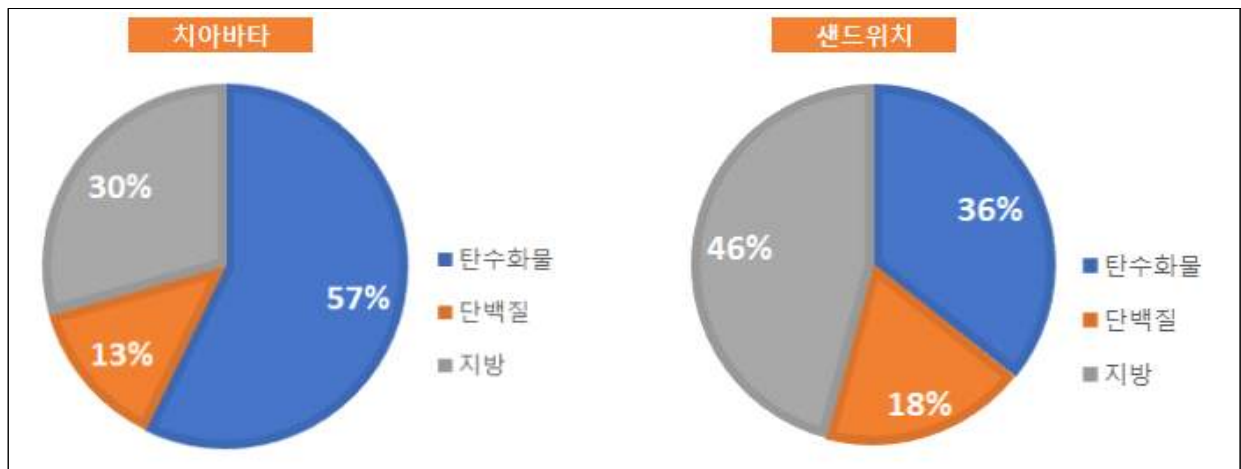


그림. 귀뚜라미 치아바타와 치아바타 샌드위치 3대영양소 열량 구성

(5) 귀뚜라미 단백질영양떡(냉동)

- 귀뚜라미 단백질영양떡은 설기떡에 귀뚜라미탈지분말과 귀뚜라미 가수분해물, 다양한 채소와 닭고기, 새우 등을 첨가하여 한끼에 충분한 단백질양과 채소와의 영양균형을 갖춘 제품임. 일반적으로 찰떡은 해동을 통해서 섭취하기가 용이하나 멥쌀떡의 경우에는 해동 후에 맛품질이 떨어지는데 귀뚜라미 단백질영양떡은 전자레인지로 해동시에도 촉촉한 우수한 맛품질을 보여 줌. 우유와 함께 섭취시 에너지 약 500kcal 정도에 단백질은 약 20g을 섭취할 수 있어서 냉동보관하면서 바쁜 일정 가운데 손쉽고도 편리하게 균형잡힌 한끼의 식사 보충이 가능한 간편식 제품임

재료	비율 (%)	전처리
멥쌀	32.295	3~4 시간 수침
귀뚜라미탈지분말	3.844	
귀뚜라미 가수분해물	2.100	
소고기 다짐	8.900	우둔살,고기양의 9%에 해당하는 간장소스 밀간
새우살	4.936	된장물에 데친** 후 0.6cm 다짐
단호박	15.340	0.7 x 0.7 cm 다이스
양파	4.440	0.5 x 0.5 cm 다이스
당근	2.261	0.5 x 0.5 cm 다이스
옥수수(캔)	6.459	물기 충분히 잘 빼어 놓음
완두콩(캔)	6.863	물기 충분히 잘 빼어 놓음
올리브유	2.099	쌀가루에 비벼서 섞어줌
설탕	6.701	
소금	0.533	
물	3.229	
계	100.000	

(가) 귀뚜라미 영양떡 제조

1. 불린 쌀은 소금을 넣고 분쇄 (광명덕산기계, 돌roller) 한다.
2. 귀뚜라미 분말과 물, 올리브유를 넣고 섞어 준 뒤에 다시 분쇄하고 체로 한번 내린다.
3. 설탕과 준비된 다진 소고기, 새우살, 단호박, 양파, 당근, 옥수수, 완두콩을 넣고 고르게 섞어 준다.
4. 찜기 (금성스팀보일러)에 올려서 찜기 위로 증기가 올라오면 20분간 더 찜다(25~30분).
5. 한 김이 식으면 분할(180g/ea.)하고 날개 포장하여 48시간 냉동 후 진공포장한다.



(나) 귀뚜라미 영양떡의 영양구성 (농진청 국가표준식품성분 DB기준)

에너지(kcal)	탄수화물 (g)	단백질 (g)	지방 (g)
379.5	62.8	15.3	6.81



표. 귀뚜라미 단백질영양떡의 3대영양소 열량 구성

3-2) 시제품 4종 개발(일일 에너지 필요추정량, 단백질권장량 대체)

- 일일에너지 필요추정량 5%~20% (2,000 kcal 기준 시 100~400 kcal)
- 단백질권장량 10~30% (1일 55 g 기준 시 5.5~16.5 g)
- 쌍별귀뚜라미 이용 간편식 제품의 영양균형성과 식사 대체성을 나타내 줄 수 있는 제품명 브랜딩 하였음



(1) 귀뚜라미 감자수프 / 감자채소수프

- 약 140kcal의 에너지와 단백질 8g 정도를 포함하는 즉석 감자수프 제품
 - 포장 단위 : 20g/pack
 - 보관 및 이용법 : 서늘한 곳에 상온보관하며 제품 40g (2 packs)에 뜨거운 물 200mL을 부어 잘 섞어서 섭취함



귀뚜라미 감자수프 제조 공정



(2) 귀뚜라미 볶음 김밥

- 약 290kcal의 에너지와, 단백질 14g 정도를 제공하는 찰현미 볶음 김밥 냉동제품
 - 포장 단위 : 180g/pack
 - 보관 및 이용법 : 냉동보관하며 겉비닐 봉지를 다 벗겨내고 접시에 옮겨서 1~2분 정도 해동하고 다시 1~2분간 따끈해 질 때까지 가열하여 섭취함. (섭취 전날 냉장보관하여 해동하면 더 쉽게 가열이 가능)



(3) 귀뚜라미 치아바타 샌드위치

- 약 600kcal의 에너지에 단백질 28g, 생채소 환산량 100g 정도를 한끼에 섭취할 수 있는 냉동샌드위치 제품
- 포장 단위 : 270g/pack
- 보관 및 이용법 : 냉동보관(-18℃)하며 겉 비닐 포장을 완전히 벗겨낸 후 접시에 옮겨서 전자레인지에 2~3분 정도 가열하고, 다시 2~3분간 속까지 따끈해 질 때까지 가열 후 섭취함. (섭취 전날 냉장보관한 후 해동하면 더 쉽게 가열이 가능)



귀뚜라미 치아바타 제조



귀뚜라미 치아바타샌드위치

(4) 귀뚜라미 프로틴 영양떡

- 약 380kca의 에너지에, 단백질 15g 정도를 포함하며 단호박, 양파 등의 채소도 포함하고 있는 냉동 영양떡 제품
 - 포장 단위 : 180g/pack
 - 보관 및 이용법 : 냉동보관(-18℃)하며 포장지 한쪽 면을 다 개봉하고 전자레인지에 이용하여 1~2분간 해동하고 다시 한번 더 2~3분간 따끈해 질 때까지 가열 후 섭취. (섭취 전날 냉장보관하고 해동하면 더 쉽게 가열이 가능)



4) 개발 시제품의 관능평가

4-1) 개발 시제품의 분석적 관능평가

- 경민대학교 구내에서 학과계시판을 통하여 관능검사 참여 패널을 모집하였으며 20대 2명, 30대 8명, 남자 5명, 여자 5명을 모집하여 알리지 반응에 관한 여부를 확인하고, 제품 평가에 대한 기본적인 훈련을 받은 후에 평가에 참여하도록 하였으며, 항목의 평가는 9점 척도로 진행하였음
- 귀뚜라미 감자스프, 귀뚜라미 치아바타 샌드위치 2종에 대해 관능평가

(1) 귀뚜라미 감자스프

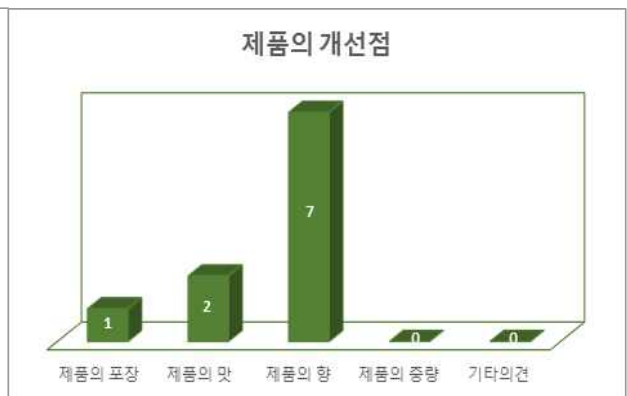
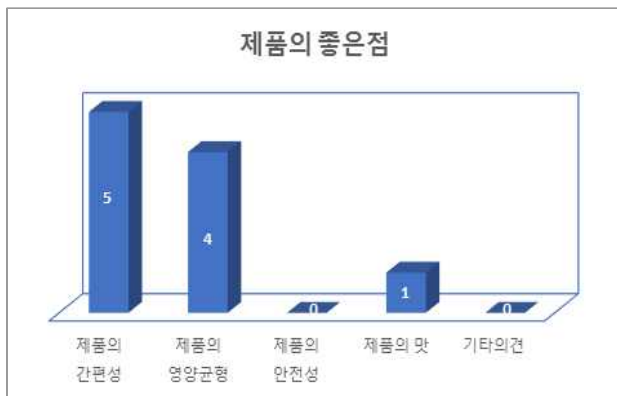
- 귀뚜라미 감자수프에 대한 단과 짠맛은 각각 5.1, 5.0으로 보통인 것으로 평가 되었으며, 이미(異味)는 4.8로 귀뚜라미 분말의 첨가 총량 약 10% 정도에서도 4.8로 크게 인지되지 않은 것으로 평가 되었음. 감칠맛은 6.2점으로 다소 높게 평가 되었으며, 제품의 컨셉에 대하여서도 6.2의 우호적인 평가결과가 나왔음

표. 귀뚜라미 감자스프 관능평가 결과

[문항1]	제품의 컨셉에 대한 내용이 얼마나 마음에 드시나요?									
	1- 전혀 마음에 들지 않는다	2	3	4	5- 보통이다	6	7	8	9- 매우 마음에 든다	평균 (±표준편차)
	0명 0.00%	0명 0.00%	0명 0.00%	1명 10.00%	3명 30.00%	1명 10.00%	3명 30.00%	2명 20.00%	0명 0.00%	6.2 ± 1.40
[문항2]	제품의 단맛의 강한 정도는 어떻습니까?									
	1- 매우 약하다	2	3	4	5- 보통이다	6	7	8	9- 매우 강하다	평균 (±표준편차)
	1명 10.00%	0명 0.00%	0명 0.00%	1명 10.00%	4명 40.00%	2명 20.00%	2명 20.00%	0명 0.00%	0명 0.00%	5.1 ± 1.73
[문항3]	제품의 짠맛의 강한 정도는 어떻습니까?									
	1- 매우 약하다	2	3	4	5- 보통이다	6	7	8	9- 매우 강하다	평균 (±표준편차)
	0명 0.00%	0명 0.00%	3명 30.00%	0명 0.00%	3명 30.00%	2명 20.00%	2명 20.00%	0명 0.00%	0명 0.00%	5.0 ± 1.56
[문항4]	제품의 쓴맛의 강한 정도는 어떻습니까?									
	1- 매우 약하다	2	3	4	5- 보통이다	6	7	8	9- 매우 강하다	평균 (±표준편차)
	5명 50.00%	1명 10.00%	1명 10.00%	1명 10.00%	1명 10.00%	1명 10.00%	0명 0.00%	0명 0.00%	0명 0.00%	2.5 ± 1.90
[문항5]	제품의 신맛의 강한 정도는 어떻습니까?									
	1- 매우 약하다	2	3	4	5- 보통이다	6	7	8	9- 매우 강하다	평균 (±표준편차)
	7명 70.00%	1명 10.00%	1명 10.00%	0명 0.00%	1명 10.00%	0명 0.00%	0명 0.00%	0명 0.00%	0명 0.00%	1.7 ± 1.34
[문항6]	제품의 감칠맛의 강한 정도는 어떻습니까?									
	1- 매우 약하다	2	3	4	5- 보통이다	6	7	8	9- 매우 강하다	평균 (±표준편차)
	0명 0.00%	0명 0.00%	1명 10.00%	1명 10.00%	1명 10.00%	1명 10.00%	5명 50.00%	0명 0.00%	1명 10.00%	6.2 ± 1.75
[문항7]	제품의 이미의 강한 정도는 어떻습니까?									
	1- 매우 약하다	2	3	4	5- 보통이다	6	7	8	9- 매우 강하다	평균 (±표준편차)
	1명 10.00%	3명 30.00%	0명 0.00%	0명 0.00%	0명 0.00%	3명 30.00%	2명 20.00%	0명 0.00%	1명 10.00%	4.8 ± 2.78

[문항8]	제품의 속재료의 조화로운 정도는 어떻습니까?									
	1- 매우조화롭지 않다	2	3	4	5- 보통이다	6	7	8	9- 매우조화롭다	평균 (±표준편차)
	0명 0.00%	0명 0.00%	0명 0.00%	0명 0.00%	1명 10.00%	0명 0.00%	7명 70.00%	1명 10.00%	1명 10.00%	7.1 ± 0.99
[문항9]	제품의 식감(씹는 느낌)은 얼마나 마음에 드십니까?									
	1- 대단히 싫다	2	3	4	5- 보통이다	6	7	8	9- 매우좋다	평균 (±표준편차)
	0명 0.00%	0명 0.00%	0명 0.00%	0명 0.00%	2명 20.00%	0명 0.00%	2명 20.00%	5명 50.00%	1명 10.00%	7.3 ± 1.34
[문항10]	제품의 뒷맛은 얼마나 마음에 드십니까?									
	1- 대단히 싫다	2	3	4	5- 보통이다	6	7	8	9- 매우좋다	평균 (±표준편차)
	0명 0.00%	0명 0.00%	0명 0.00%	0명 0.00%	3명 30.00%	0명 0.00%	6명 60.00%	1명 10.00%	0명 0.00%	6.5 ± 1.08
[문항11]	제품의 컨셉, 맛, 품질 등 전체적으로 보았을 때, 이 제품이 얼마나 마음에 드십니까?									
	1- 전혀마음에 들지 않는다	2	3	4	5- 보통이다	6	7	8	9- 매우 마음에 든다	평균 (±표준편차)
	0명 0.00%	0명 0.00%	0명 0.00%	0명 0.00%	1명 10.00%	0명 0.00%	6명 60.00%	2명 20.00%	1명 10.00%	7.2 ± 1.03
[문항12]	본제품이 식사를 대체하는데 도움이 될것으로 기대가 되십니까?									
	1- 전혀마음에 들지 않는다	2	3	4	5- 보통이다	6	7	8	9- 매우 마음에 든다	평균 (±표준편차)
	0명 0.00%	0명 0.00%	0명 0.00%	0명 0.00%	1명 10.00%	0명 0.00%	4명 40.00%	5명 50.00%	0명 0.00%	7.3 ± 0.95

본 제품에 대하여 좋은점 1가지를 골라주십시오.			본 제품에 대하여 개선점 1가지를 골라주십시오.		
[1]	제품의 간편성	5명 (50.0 %)	[1]	제품의 포장	1명 (10.0 %)
[2]	제품의 영양균형	4명 (40.0 %)	[2]	제품의 맛	2명 (20.0 %)
[3]	제품의 안전성	0명 (0.00%)	[3]	제품의 향	7명 (70.0 %)
[4]	제품의 맛	1명 (10.0 %)	[4]	제품의 중량	0명 (0.0 %)
[5]	기타의견	0명 (0.0 %)	[5]	기타의견	0명 (0.0 %)



위와 같은 제품이 출시 된다면 적정 가격을 선택해 주십시오 (스프 1인분 기준).		
[1]	1,500원 이하	0명 (0.00 %)
[2]	2,500원	2명 (20.00 %)
[3]	3,000원	1명 (10.00 %)
[4]	5,000원	7명 (70.00 %)
[5]	10,000원 이상	0명 (0.00 %)



- 제품의 좋은 점에 대하여서는 간편성 (50%)과 영양균형(40%)이 높게 평가되었으며, 제품의 개선점은 제품의 향과 맛을 좀 더 개선하기를 희망하는 것으로 나타나 관능평가 결과를 참고하여 제품의 조성을 다시 조절하였으며, 귀뚜라미 감자채소수프 제품도 추가적으로 더 개발함

(2) 귀뚜라미 치아바타 샌드위치

- 귀뚜라미 치아바타 샌드위치의 단맛은 4.3으로 다소 약한 것으로 평가가 되었으며, 짠맛은 5.3으로 평가되어 보통인 것으로 평가되었음. 냉해동에 적절한 채소를 사용하기 위하여 초절임한 채소를 사용하였으나 제품의 신맛에서는 3.9로 나타나 초절임한 채소가 속재료와 무난하게 조화되고 있음을 확인함. 전체적인 속재료의 조화정도도 6.5로 나타났으며, 식감과 뒷맛도 6.7과 6.8로 긍정적으로 평가되었음. 제품의 컨셉 등을 포함한 전체적인 만족도도 7.0, 식사 대체 효과도 7.2로 높게 평가되었으며 제품의 장점도 영양균형성이 70%로 나타나, 주로 즉석제조 식품으로 판매되고 있는 샌드위치를 냉동제품으로서 언제든지 편리하게 귀뚜라미 치아바타 샌드위치는 한끼의 식사대용으로써 우수한 제품이 될 수 있음을 확인 할 수 있었음

표. 귀뚜라미 치아바타 관능평가 결과

[문항1]	제품의 컨셉에 대한 내용이 얼마나 마음에 드시나요?									
	1- 전혀 마음에 들지 않는다	2	3	4	5- 보통이다	6	7	8	9- 매우 마음에 든다	평균 (±표준편차)
	0명 0.00%	0명 0.00%	0명 0.00%	1명 10.00%	0명 0.00%	2명 20.00%	4명 40.00%	2명 20.00%	1명 10.00%	6.9 ± 1.37
[문항2]	제품의 단맛의 강한 정도는 어떻습니까?									
	1- 매우 약하다	2	3	4	5- 보통이다	6	7	8	9- 매우 강하다	평균 (±표준편차)
	0명 0.00%	1명 10.00%	2명 20.00%	2명 20.00%	4명 40.00%	0명 0.00%	1명 10.00%	0명 0.00%	0명 0.00%	4.3 ± 1.42
[문항3]	제품의 짠맛의 강한 정도는 어떻습니까?									
	1- 매우 약하다	2	3	4	5- 보통이다	6	7	8	9- 매우 강하다	평균 (±표준편차)
	0명 0.00%	0명 0.00%	0명 0.00%	3명 30.00%	3명 30.00%	2명 20.00%	2명 20.00%	0명 0.00%	0명 0.00%	5.3 ± 1.16

[문항4]	제품의 쓴맛의 강한 정도는 어떻습니까?									
	1- 매우 약하다	2	3	4	5- 보통이다	6	7	8	9- 매우 강하다	평균 (±표준편차)
	1명 10.00%	3명 30.00%	4명 40.00%	0명 0.00%	1명 10.00%	1명 10.00%	0명 0.00%	0명 0.00%	0명 0.00%	3.0 ± 1.49
[문항5]	제품의 신맛의 강한 정도는 어떻습니까?									
	1- 매우 약하다	2	3	4	5- 보통이다	6	7	8	9- 매우 강하다	평균 (±표준편차)
	1명 10.00%	1명 10.00%	3명 30.00%	1명 10.00%	2명 20.00%	1명 10.00%	1명 10.00%	0명 0.00%	0명 0.00%	3.9 ± 1.85
[문항6]	제품의 감칠맛의 강한 정도는 어떻습니까?									
	1- 매우 약하다	2	3	4	5- 보통이다	6	7	8	9- 매우 강하다	평균 (±표준편차)
	0명 0.00%	0명 0.00%	1명 10.00%	1명 10.00%	3명 30.00%	1명 10.00%	3명 30.00%	0명 0.00%	1명 10.00%	5.8 ± 1.75
[문항7]	제품의 이미의 강한 정도는 어떻습니까?									
	1- 매우 약하다	2	3	4	5- 보통이다	6	7	8	9- 매우 강하다	평균 (±표준편차)
	2명 20.00%	2명 20.00%	0명 0.00%	0명 0.00%	5명 50.00%	0명 0.00%	1명 10.00%	0명 0.00%	0명 0.00%	3.8 ± 2.10

[문항8]	제품의 속재료의 조화로운 정도는 어떻습니까?									
	1- 매우 조화롭지 않다	2	3	4	5- 보통이다	6	7	8	9- 매우 조화롭다	평균 (±표준편차)
	0명 0.00%	0명 0.00%	1명 10.00%	0명 0.00%	0명 0.00%	2명 20.00%	6명 60.00%	1명 10.00%	0명 0.00%	6.5 ± 1.35
[문항9]	제품의 식감(씹는 느낌)은 얼마나 마음에 드십니까?									
	1- 대단히 싫다	2	3	4	5- 보통이다	6	7	8	9- 매우 좋다	평균 (±표준편차)
	0명 0.00%	0명 0.00%	1명 10.00%	0명 0.00%	0명 0.00%	2명 20.00%	4명 40.00%	3명 30.00%	0명 0.00%	6.7 ± 1.49
[문항10]	제품의 뒷맛은 얼마나 마음에 드십니까?									
	1- 대단히 싫다	2	3	4	5- 보통이다	6	7	8	9- 매우 좋다	평균 (±표준편차)
	0명 0.00%	0명 0.00%	0명 0.00%	0명 0.00%	1명 10.00%	2명 20.00%	5명 50.00%	2명 20.00%	0명 0.00%	6.8 ± 0.92
[문항11]	제품의 컨셉, 맛, 품질 등 전체적으로 보았을 때, 이 제품이 얼마나 마음에 드십니까?									
	1- 전혀 마음에 들지 않는다	2	3	4	5- 보통이다	6	7	8	9- 매우 마음에 든다	평균 (±표준편차)
	0명 0.00%	0명 0.00%	0명 0.00%	0명 0.00%	0명 0.00%	2명 20.00%	6명 60.00%	2명 20.00%	0명 0.00%	7.0 ± 0.67
[문항12]	본제품이 식사를 대체하는데 도움이 될것으로 기대가 되십니까?									
	1- 전혀 마음에 들지 않는다	2	3-	4	5- 보통이다	6	7	8	9- 매우 마음에 든다	평균 (±표준편차)
	0명 0.00%	0명 0.00%	0명 0.00%	0명 0.00%	0명 0.00%	2명 20.00%	4명 40.00%	4명 40.00%	0명 0.00%	7.2 ± 0.79

본 제품에 대하여 좋은점 1가지를 골라주십시오.			본 제품에 대하여 개선점 1가지를 골라주십시오.		
[1]	제품의 간편성	2명 (20.0 %)	[1]	제품의 포장	4명 (40.0 %)
[2]	제품의 영양균형	7명 (70.0 %)	[2]	제품의 맛	3명 (30.0 %)
[3]	제품의 안전성	0명 (0.0 %)	[3]	제품의 향	0명 (0.0 %)
[4]	제품의 맛	1명 (10.0 %)	[4]	제품의 중량	1명 (10.0 %)
[5]	기타의견	0명 (0.0 %)	[5]	기타의견	2명 (20.0 %)



위와 같은 제품이 출시 된다면 적정 가격을 선택해 주십시오.

[1]	1,500원 이하	0명 (0.00 %)
[2]	2,500원	0명 (0.00 %)
[3]	3,000원	3명 (30.00 %)
[4]	5,000원	7명 (70.00 %)
[5]	10,000원 이상	0명 (0.00 %)



4-2) 개발 시제품의 소비자 기호도 조사

- 귀뚜라미 가수분해물과 귀뚜라미탈지분말을 첨가하여 제조한 냉동김밥(귀뚜라미 볶음김밥)과 냉동영양떡(귀뚜라미 프로틴영양떡), 2가지 시제품에 대한 소비자 기호도를 확인하기 위해 30~50대 여성 32명을 선정하여 관능검사를 수행 ((주)센소메트릭스 의뢰)

(1) 냉동김밥

(가) 종합 기호

- 종합기호 평균은 6.31로 긍정반응(Top3) 비율은 50.0%로 부정반응(Bottom3) 6.2%보다 뚜렷하게 높아 냉동김밥에 대한 만족도는 상당히 긍정적인 것으로 평가

표. 종합 기호

제품	종합기호			
	평균 ¹⁾	Bottom3 ²⁾	Mid3	Top3
냉동김밥	6.31	6.2	43.8	50.0

¹⁾ 종합기호 평균: 9점 척도, 1점(대단히 싫다), 3점(싫다), 5점(좋지도/싫지도 않다), 7점(좋다), 9점(대단히 좋다)

²⁾ Bottom3(%) : 종합기호에 대한“싫다”이하의 부정반응(1~3점) 비율(%)
 Mid3(%) : 종합기호에 대한 보통수준(4~6점) 비율(%)
 Top3(%) : 종합기호에 대한“좋다”이상의 긍정반응(7~9점) 비율(%)

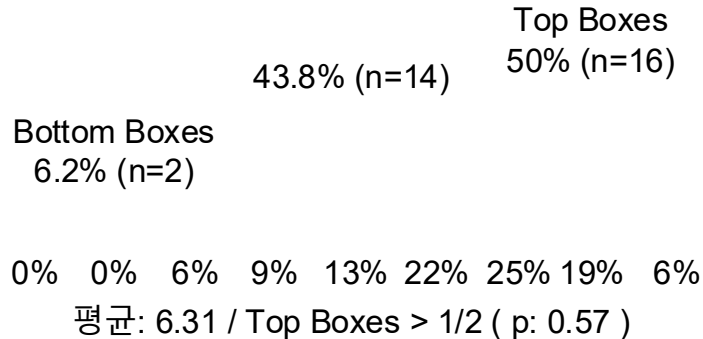


그림. 종합기호 분포 - 냉동김밥

(나) 세부 기호

- 외관기호 평균은 5.34이고 긍정반응(Top3) 비율은 31.3%, Mid3는 59.4%, 부정반응(Bottom3)은 9.4%로 나타나 외관에 대한 만족도는 보통수준인 것으로 평가
- 향미기호 평균은 6.38이고 Top3 비율은 59.4%로 Mid3(34.4%)와 Bottom3(6.3%)의 합보다 뚜렷하게 높아 만족도가 뚜렷하게 높은 수준인 것으로 평가
- 식감기호 평균은 6.13이고 Top3 비율은 53.1%, Mid3(37.5%)와 Bottom3(9.4%)의 합보다 뚜렷하게 높아 만족도가 뚜렷하게 높은 수준인 것으로 평가
- 뒷맛기호 평균은 6.22이고 Top3 비율은 53.1%, Mid3(40.6%)와 Bottom3(6.3%)의 합보다 뚜렷하게 높아 만족도가 뚜렷하게 높은 수준인 것으로 평가

표. 세부 기호 - 냉동김밥

제품	세부 기호(평균, 9점)			
	외관 ¹⁾	향미	식감	뒷맛
냉동김밥	5.34	6.38	6.13	6.22
Top3 ²⁾	31.3	59.4	53.1	53.1
Mid3	59.4	34.4	37.5	40.6
Bottom3	9.4	6.3	9.4	6.3

- 1) 세부기호 평균, 9점 척도
- 2) Bottom3(%) : 종합기호에 대한“싫다”이하의 부정반응(1~3점) 비율(%)
 Mid3(%) : 종합기호에 대한 보통수준(4~6점) 비율(%)
 Top3(%) : 종합기호에 대한“좋다”이상의 긍정반응(7~9점) 비율(%)

(다) 감각특성

○ 단맛, 짠맛, 감칠맛과 조화로우름 강도는 보통수준보다 강하다고 평가되며, 쓴맛과 신맛은 약한 제품이라고 평가. 냉동김밥에서 느껴지는 이미 정도는 보통수준인 것으로 나타남

표. 인지강도 평균

제품	단맛 ¹⁾	짠맛	쓴맛	신맛	감칠맛	이미	조화로우름
냉동김밥	5.97	5.59	2.72	3.78	6.19	5.25	6.03

1) 속성강도 평균, 9점 척도

(라) 관능품질 개선 방향

○ 냉동김밥은 단맛과 짠맛이 약하게 변경되기를 희망하는 것으로 평가되나 개별 특성 강도 개선에 의한 종합기호도 상승효과는 미미할 것으로 예상

표. 인지 및 희망 강도 평균

구분	단맛 ¹⁾	짠맛	쓴맛	신맛	감칠맛
인지강도 ¹⁾	5.97 ^a	5.59 ^a	2.72 ^a	3.78 ^a	6.19 ^a
희망강도 ²⁾	4.81 ^b	4.72 ^b	2.44 ^a	3.59 ^a	6.03 ^a

- 1) 인지강도: 맛본 제품에서 느껴지는 각 속성의 강함정도 평균, 9점 척도
- 2) 희망강도: 인지강도를 기준으로 개선되었으면 하는 정도
- 3) 동일한 문자는 인지강도와 희망강도 간 차이가 뚜렷하지 않음을 의미함(p<0.05)

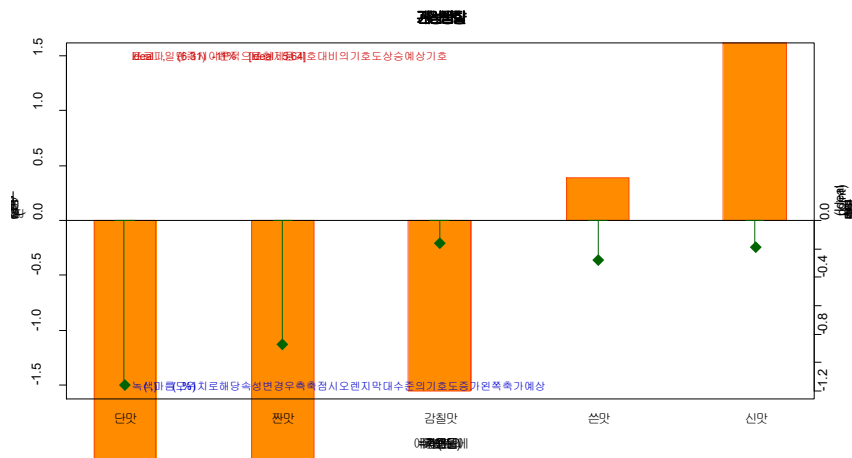


그림. 관능품질 개선방향: 냉동김밥

- 기호도 증가 그래프(오렌지막대)가 음의 방향으로 크게 나타나는 경우는 해당 특성의 변경에 대해 평가자 그룹내 상이한 반응을 보이는 평가자가 많이 존재하는 것을 의미함.
- 녹색막대모 위치는 희망강도와 인지강도 간 차이 정도를 나타냄(우측 척도)
- 오렌지색 막대그래프는 강도개선 시 기호도 증가 예상 비율(좌측 척도)
- 좌측에서 우측으로 갈수록 개선 시 기호도 증가에 미치는 영향이 큰 속성을 의미함.

(마) 컨셉 수용도 평가

- 냉동김밥의 컨셉을 제시한 후, 컨셉에 대한 만족도 및 기대감을 평가
- 컨셉 만족도(5점 척도)는 평균 3.75, 긍정반응은 68.7%로, 컨셉에 대한 만족도는 긍정적
- 컨셉제품 효능 기대감(5점 척도)은 평균 3.91, 긍정반응은 81.3%로, 컨셉 효능 기대감이 뚜렷하게 높은 것으로 평가

표. 컨셉 제시

□ 냉동김밥(180g)
- 풍부한 채소와 함께 현미밥에 귀뚜라미탈지분말, 닭가슴살을 넣어 볶아서 만든 김밥으로 탄수화물 에너지 제공 비율이 51%정도로 저탄수화물 고지방 유형의 제품이며, 우유와 함께 섭취시 에너지 410kcal, 단백질은 약 20g 정도를 섭취할 수 있어서 바쁜 일정 가운데도 손쉽고 편리한 균형잡힌 한 끼의 식사가 될 수 있음.
- 냉동보관하며 해동 후에도 밥과 김의 식미 손상이 크지 않도록 설계.
- 전자레인지로 이용하여 약 3분 정도 가열하여 섭취.

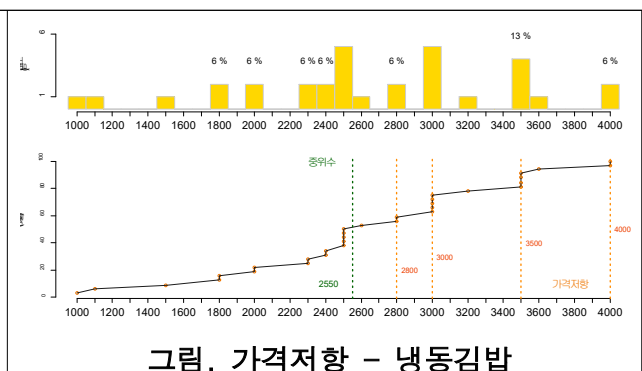
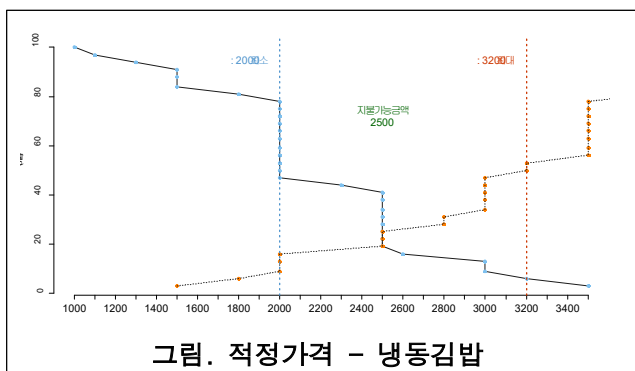
표. 컨셉 수용도

	컨셉 만족도 ¹⁾	컨셉 효능 기대감 ²⁾
평균(5점)	3.75	3.91
Top2(%) ³⁾	68.7	81.3
Neutral(%)	21.9	9.4
Bottom2(%)	9.4	9.4

- 1) 컨셉 만족도 평균: 5점 척도
1점(전혀 마음에 들지 않는다)~3점(마음에 들지도/안 들지도 않는다)~5점(매우 마음에 든다)
- 2) 컨셉 효능 기대감 평균: 5점 척도
1점(전혀 기대가 되지 않는다)~3점(보통이다)~5점(매우 기대가 된다)
- 3) Bottom2(%): 컨셉 만족도에 대해 "마음에 들지 않는다"이하의 부정반응(1~2점) 비율(%)
Neutral(%): 컨셉 만족도에 대해 보통반응(3점) 비율(%)
Top2(%): 컨셉 만족도에 대한 "마음에 든다"이상의 긍정반응(4~5점) 비율(%)

(바) 적정 가격 평가

- 냉동김밥 1줄을 구매하기는 데 지불 가능한 최소가격은 2,000원, 최대가격은 3,200원, 적정 가격은 2,500원으로 평가. 가격이 2,550원 보다 비싸질 경우 2,800원, 3,000원, 3,500원, 4,000원에서 가격에 대한 저항이 있을 것으로 예상



(사) 구매의지 평가

- 컨셉만 보았을 때 구매의지 평균은 3.72, 긍정반응(Top2) 71.9%로, 컨셉 구매의지는 뚜렷하게 높은 수준인 것으로 평가
- 냉동김밥의 맛으로만 볼 때 구매의지 평균은 3.50, Top2가 59.4%로, 맛 구매의지는 뚜렷하게 높은 수준인 것으로 평가
- 맛과 컨셉 구매의지는 평균 3.50, Top2가 65.6%로 맛과 컨셉 구매의지는 상당히 높은 수준인 것으로 평가
- 가격 제시 후 구매의지는 평균 3.06, Top2(37.5%), Neutral(37.5%), Bottom2(25.0%)로 평가되어, 가격 제시 후 구매의지는 보통 수준인 것으로 평가

표. 구매의지

	컨셉 구매의지 ¹⁾	맛 구매의지	맛과 컨셉 구매의지	가격 구매의지
평균(5점)	3.72	3.50	3.50	3.06
Top2(%) ²⁾	71.9	59.4	65.6	37.5
Neutral(%)	18.8	21.9	18.8	37.5
Bottom2(%)	9.4	18.7	15.6	25.0

¹⁾ 구매의지 평균, 5점 척도

²⁾ Bottom2(%) : 구매의지에 대한 “구입하고 싶지 않다”이하의 부정반응(1~2점) 비율(%)

Mid(%) : 구매의지에 대한 “반반/그저 그렇다”의 보통반응(3점) 비율(%)

Top2(%) : 구매의지에 대한 “구입하고 싶다”이상의 긍정반응(4~5점) 비율(%)

(아) 제품관련 만족 의견 서술

안에 속재료의 조화로움이 좋다. 김과 속재료가 잘 어울리고 간도 적절하다, 간단하게 먹기 적당, 고소함, 약간의 신맛으로 인해 깔끔한 맛이 유지, 색깔 좋음. 조화로움. 단맛적당. 짠맛적당. 감칠맛적당, 다양한 재료가 어우러져 있고 단맛이 약하며 맛이 좋다, 전체적인 맛이 좋고 내용물을 씹는 맛도 뛰어난, 맛이 좋고, 먹기 수월하다, 식감 우수, 재료 조화 좋음, 감칠맛이 좋다. 식감 좋다. 전체적으로 조화롭다, 짠맛의 강도가 적당함, 식감 좋음, 적당히 단맛, 고소함, 비빔밥을 먹는 것 같은 맛이라 괜찮았음, 고소한 맛이 적당, 재료가 많다, 맛이 조화롭고 혼하지 않은 맛이라 좋다., 식감적당, 짠맛적당, 신맛적당. 뒷맛적당, 감칠맛적당, 향이 입맛 돋움, 속재료는 김밥이라고 하기에는 여러 종류가 섞여 있으나 맛은 조화로움, 맛은 약간 달달한게 조화는 잘 된 느낌이다, 식감이랑 감칠맛이 있습니다, 맛있었다/여러가지 재료가 들어감/옥수수때문에 식감이 좋음, 냉동 후 해동한 맛이 기대 이상이다, 색깔이 좋고 재료의 씹는 맛이 좋으며 구미가 당긴다, 맛과 촉촉함과 부드러움이 적당하다. 김치김밥 맛이 나는 듯해서 좋음, 고소함 적당, 감칠맛 적당, 재료 조화로움, 씹는 맛 좋음, 단맛 좋음. 짠맛적당, 비빔밥과 리조토를 섞은 맛이 상당히 고급스럽다. 옥수수의 식감이 씹으면서 신선하다, 고소함 적당. 재료의 다양함. 양도 적당, 단맛적당/감칠맛 좋음

(2) 냉동영양떡

(가) 종합기호

- 종합기호 평균은 5.41, 긍정반응(Top3) 비율은 34.4%, Mid3(46.9%), 부정반응(Bottom3)는 18.8%로 나타나 냉동영양떡에 대한 만족도는 보통 수준인 것으로 평가

표. 종합 기호

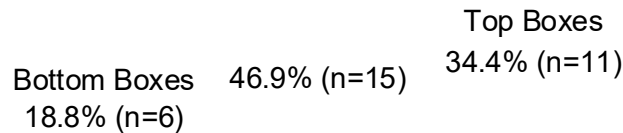
제품	종합기호			
	평균 ¹⁾	Bottom3 ²⁾	Mid3	Top3
냉동영양떡	5.41	18.8	46.9	34.4

¹⁾ 종합기호 평균: 9점 척도, 1점(대단히 싫다), 3점(싫다), 5점(좋지도/싫지도 않다), 7점(좋다), 9점(대단히 좋다)

²⁾ Bottom3(%) : 종합기호에 대한“싫다”이하의 부정반응(1~3점) 비율(%)

Mid3(%) : 종합기호에 대한 보통수준(4~6점) 비율(%)

Top3(%) : 종합기호에 대한“좋다”이상의 긍정반응(7~9점) 비율(%)



0% 6% 13% 12% 19% 16% 22% 12% 0%

평균: 5.41 / Top Boxes > 1/2 (p: 0.9749)

그림. 종합기호분포 - 냉동영양떡

(나) 세부기호

- 외관기호 평균은 5.44이고 긍정반응(Top3) 비율은 37.5%, Mid3는 43.8%, 부정반응(Bottom3)은 18.8%로 나타나 외관에 대한 만족도는 보통 수준인 것으로 평가
- 향미기호 평균은 5.16, Top3(28.1%), Mid3(50.0%), Bottom3(21.9%)로 나타나 향에 대한 만족도는 보통 수준인 것으로 평가
- 식감기호 평균은 4.84, Top3(37.5%), Mid3(18.8%), Bottom3(43.8%)로 나타나 맛에 대한 만족도는 다소 부정적인 것으로 평가
- 뒷맛기호 평균은 4.81, Top3(25.0%), Mid3(43.8%), Bottom3(31.3%)로 나타나 뒷맛에 대한 만족도는 다소 부정적인 것으로 평가

표. 세부 기호 - 냉동영양떡

제품	세부 기호(평균, 9점)			
	외관 ¹⁾	향미	식감	뒷맛
냉동영양떡	5.44	5.16	4.84	4.81
Top3 ²⁾	37.5	28.1	37.5	25.0
Mid3	43.8	50.0	18.8	43.8
Bottom3	18.8	21.9	43.8	31.3

¹⁾ 세부기호 평균, 9점 척도

²⁾ Bottom3(%) : 종합기호에 대한“싫다”이하의 부정반응(1~3점) 비율(%)

Mid3(%) : 종합기호에 대한 보통수준(4~6점) 비율(%)

Top3(%) : 종합기호에 대한“좋다”이상의 긍정반응(7~9점) 비율(%)

(다) 감각특성

- 냉동영양떡은 쓴맛, 신맛은 약하며, 단맛, 짠맛, 감칠맛의 강도가 보통 수준보다 다소 약한 것으로 평가. 냉동영양떡에서 느껴지는 이미 정도는 보통수준보다 강하다고 인지되는 것으로 나타남

표. 인지강도 평균

제품	단맛 ¹⁾	짠맛	쓴맛	신맛	감칠맛	이미
냉동영양떡	4.31	4.47	2.94	2.69	4.88	5.53

¹⁾ 속성강도 평균, 9점 척도

(라) 관능품질 개선 방향

- 냉동영양떡의 단맛, 짠맛, 쓴맛, 신맛, 감칠맛에 대한 특성강도 개선요구는 뚜렷하지 않은 것으로 평가되나, 관능품질 개선 방향은 감칠맛, 단맛이 현재보다 강하게 개선될 경우 약 9% 수준의 종합기호도 상승이 예상

표. 인지 및 희망 강도 평균

구분	단맛 ¹⁾	짠맛	쓴맛	신맛	감칠맛
인지강도 ¹⁾	4.31 ^{a3)}	4.47 ^a	2.94 ^a	2.69 ^a	4.88 ^a
희망강도 ²⁾	4.91 ^a	4.13 ^a	2.78 ^a	2.59 ^a	5.41 ^a

¹⁾ 인지강도: 맛본 제품에서 느껴지는 각 속성의 강한정도 평균, 9점 척도

²⁾ 희망강도: 인지강도를 기준으로 개선되었으면 하는 정도

³⁾ 동일한 문자는 인지강도와 희망강도 간 차이가 뚜렷하지 않음을 의미함(p<0.05)

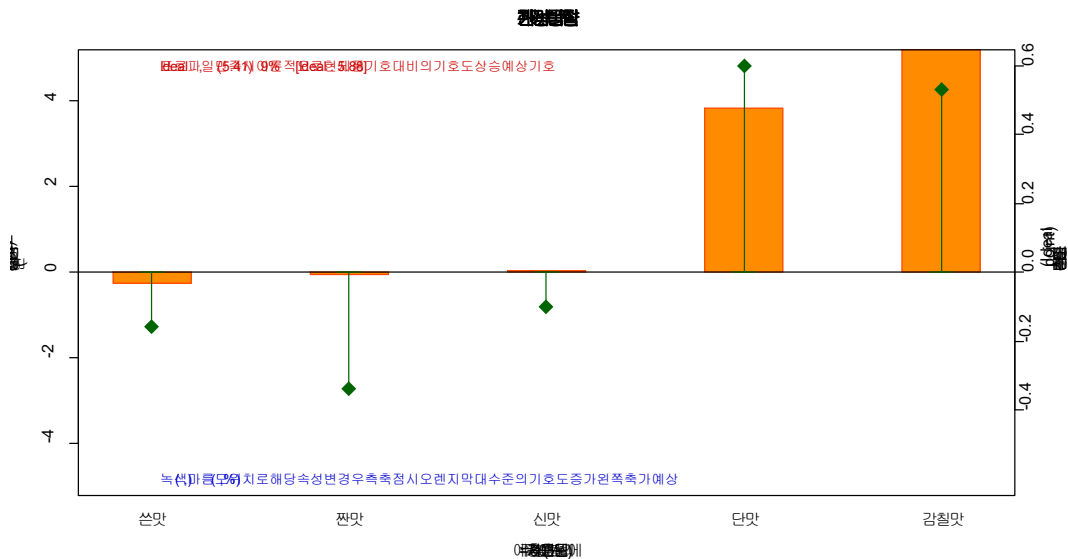


그림. 관능품질 개선방향 - 냉동영양떡

- 기호도 증가 그래프(오렌지막대)가 음의 방향으로 크게 나타나는 경우는 해당 특성의 변경에 대해 평가자 그룹내에 상이한 반응을 보이는 평가자가 많이 존재하는 것을 의미함.
- 녹색마름모 위치는 희망강도와 인지강도 간 차이 정도를 나타냄(우측 척도)
- 오렌지색 막대그래프는 강도개선 시 기호도 증가 예상 비율(좌측 척도)
- 좌측에서 우측으로 갈수록 개선 시 기호도 증가에 미치는 영향이 큰 속성을 의미함.

(마) 컨셉 수용도 평가

- 냉동영양떡의 컨셉을 제시한 후, 컨셉에 대한 만족도 및 기대감을 평가
- 컨셉 만족도(5점 척도)는 평균 3.41, 긍정반응은 56.2%로, 컨셉에 대한 만족도는 긍정적인 것으로 평가
- 컨셉제품 효능 기대감(5점 척도)은 평균 3.50, 긍정반응은 65.6%로, 컨셉 효능 기대감이 뚜렷하게 높은 것으로 평가

표. 컨셉 제시

<p>□ 냉동영양떡(180g)</p> <p>- 일반적으로 떡은 탄수화물이 주된 급원식품이나 냉동영양떡은 쌀가루에 단백질 함량이 65%가 넘는 탈지귀뚜라미 분말, 단호박, 당근 등 다양한 채소 및 닭고기와 새우 등을 첨가하여 한끼로의 영양균형을 마쳤으며, 우유와 함께 섭취시 에너지 약 500kcal, 단백질 약 20g 정도를 섭취할 수 있어서 바쁜 일정 가운데 손쉽게 편리한 균형잡힌 한끼의 식사가 될 수 있음</p> <p>- 냉동보관하며 전자레인지로 이용하여 약 4분 정도 가열하여 섭취합니다.</p>

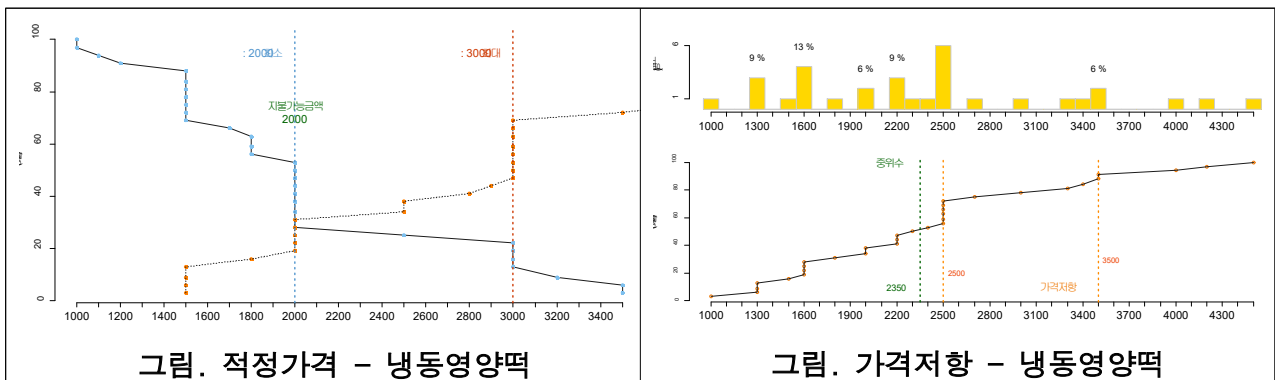
표. 컨셉 수용도

	컨셉 만족도 ¹⁾	컨셉 효능 기대감 ²⁾
평균(5점)	3.41	3.50
Top2(%) ³⁾	56.2	65.6
Neutral(%)	21.9	12.5
Bottom2(%)	21.9	21.9

- 1) 컨셉 만족도 평균: 5점 척도
1점(전혀 마음에 들지 않는다)~3점(마음에 들지도/안 들지도 않는다)~5점(매우 마음에 든다)
- 2) 컨셉 효능 기대감 평균: 5점 척도
1점(전혀 기대가 되지 않는다)~3점(보통이다)~5점(매우 기대가 된다)
- 3) Bottom2(%): 컨셉 만족도에 대해 "마음에 들지 않는다"이하의 부정반응(1~2점) 비율(%)
Neutral(%): 컨셉 만족도에 대해 보통반응(3점) 비율(%)
Top2(%): 컨셉 만족도에 대해 "마음에 든다"이상의 긍정반응(4~5점) 비율(%)

(바) 적정 가격 평가

- 냉동영양떡 1개를 구매하기는 데 지불 가능한 최소가격은 2,000원, 최대가격은 3,000원, 적정 가격은 2,000원으로 평가. 가격이 2,350원 보다 비싸질 경우 2,500원, 3,500원에서 가격에 대한 저항이 있을 것으로 예상



(사) 구매의지 평가

- 컨셉만 보았을 때 구매의지 평균은 3.00, 긍정반응(Top2) 34.4%, 보통반응(Neutral) 31.2%, 부정반응(Bottom2) 34.4%로, 컨셉 구매의지는 보통 수준인 것으로 평가
- 냉동영양떡의 맛만 보았을 때 구매의지 평균은 2.66, Top2(31.3%)보다 Bottom2(53.1%)가 뚜렷하게 높아 맛 구매의지는 다소 부정적인 것으로 평가
- 맛과 컨셉 구매의지는 평균 2.59, Top2(21.9%)보다 Bottom2(56.2%)가 뚜렷하게 높아 맛과 컨셉 구매의지는 다소 부정적인 것으로 평가
- 가격을 제시한 후 구매의지 평균은 2.41, Top2(15.6%)보다 Bottom2(59.4%)가 뚜렷하게 높아 가격 구매의지는 다소 부정적인 것으로 평가

표. 구매의지

	컨셉 구매의지 ¹⁾	맛 구매의지	맛과 컨셉 구매의지	가격 구매의지
평균(5점)	3.00	2.66	2.59	2.41
Top2(%) ²⁾	34.4	31.3	21.9	15.6
Neutral(%)	31.2	15.6	21.9	25.0
Bottom2(%)	34.4	53.1	56.2	59.4

¹⁾ 구매의지 평균, 5점 척도

²⁾ Bottom2(%): 구매의지에 대한 “구입하고 싶지 않다”이하의 부정반응(1~2점) 비율(%)

Mid(%): 구매의지에 대한 “반반/그저 그렇다”의 보통반응(3점) 비율(%)

Top2(%): 구매의지에 대한 “구입하고 싶다”이상의 긍정반응(4~5점) 비율(%)

(아) 제품관련 만족 의견 서술

여러가지 재료가 다양하게 들어있어서 좋다, 한끼 든든 할 것 같음, 색감 좋음, 향 좋음. 부드러움, 씹는식감 좋음 색감도 좋음 전체적으로 맛이 좋음, 적당히 고소하고 감칠맛이 난다, 색감은 건강해 보이는 듯 해서 좋음, 외관이 마음에 든다.(다양한 재료, 몸에 좋을 것 같은 느낌, 색이 예쁘다), 식감 우수, 색감 우수, 단맛이 강하지 않음, 부드럽다. 고소함 적당, 식감 적당. 단맛 적당, 단맛의 강도가 적당함 내용물의 식감이 좋음, 고소함, 식감 좋음, 많이 달지 않고 콩이 있어 좋다. 색상이 좋다, 식감 좋음/달지 않다, 색감은 괜찮은편, 떡 베이스는 고소하고 맛있다, 단맛 적당. 고소함 적당, 단맛 적당, 달지 않고 야채가 어우러져 씹을수록 고소함, 달지 않아서 한끼 식사로 먹기 좋을 거 같다, 고소함과 식감, 고소함이 적당, 색감은 나쁘지 않다, 자극적이지 않고 누구나 좋아할 무난한 맛이다. 색감이 입맛을 자극한다, 색감과 향은 바쁘지 않음, 고소함 적당, 짠맛 적당, 고소함 적당, 옥수수의 색상이 시선을 자극함. 어린아이들도 눈으로 호기심을 불러일으킬 듯. 맛이 조화롭고 건강한 맛, 식감이 부드럽다 뒷맛이 깔끔하다 고소하다

(3) 결론

(가) 냉동김밥 (귀뚜라미볶음김밥)

- 냉동김밥에 대한 종합기호 평균은 6.12, “좋다” 이상의 뚜렷한 긍정반응 비율(Top3)은 50%로 나타나 냉동김밥의 관능품질 만족도는 상당히 긍정적인 것으로 평가되었다. 냉동김밥의 향, 맛, 뒷맛에 대한 만족도도 긍정반응 비율이 뚜렷하게 높은 것으로 나타나 향, 맛, 뒷맛 만족도도 상당히 긍정적인 것으로 평가되었다. 외관에 대한 만족도는 Top3(31.3%), Mid3(59.4%), Bottom3(9.4%)로 나타나 외관만족도는 보통 수준인 것으로 평가되었다. 냉동김밥은 단맛과 짠맛이 약해지기를 바라는 것으로 나타나, 개별 특성 강도 개선 시 종합기호에 미치는 영향은 크지 않을 것으로 예상된다.
- 냉동김밥의 컨셉과 컨셉을 보았을 때 효능 기대감은 뚜렷하게 긍정적인 것으로 평가되었다.

컨셉 구매의지와 맛 구매의지, 맛과 컨셉을 복합적으로 고려한 구매의지 모두 뚜렷하게 긍정적인 것으로 평가되며, 맛과 컨셉에 대한 높은 만족도가 구매의지에도 긍정적 영향을 미친 것으로 판단된다.

- 결론적으로, 냉동김밥은 관능품질 만족도가 높은 귀뚜라미칩가 간편식 제품이라고 판단된다.

(나) 냉동영양떡 (귀뚜라미 프로틴영떡)

- 냉동영양떡에 대한 종합기호 평균은 5.41, “좋다” 이상의 뚜렷한 긍정반응 비율(Top3)은 34%, Mid3(47%), 부정반응(Bottom3, 19%)로 나타나 냉동영양떡의 관능품질 만족도는 보통 수준인 것으로 평가되었다. 냉동영양떡의 외관, 향에 대한 만족도는 Top3가 Bottom3보다 높으나 Mid3가 가장 높아 만족도는 보통수준인 것으로 평가되며, 맛과 뒷맛에 대한 만족도는 Top3보다 Bottom3가 높아 만족도가 다소 부정적인 것으로 평가되었다. 냉동영양떡의 기본맛 특성에 대한 개선요구는 뚜렷하지 않은 것으로 평가되나, 감칠맛, 단맛이 현재보다 강하게 개선될 경우 종합기호도가 상승될 것으로 예상된다.
- 냉동영양떡의 컨셉과 컨셉을 보았을 때 효능 기대감은 뚜렷하게 긍정적인 것으로 평가되나, 컨셉 구매의지, 맛 구매의지, 맛과 컨셉을 복합적으로 고려한 구매의지 모두 부정반응이 긍정반응보다 높은 것으로 나타나 구매의지는 부정적인 것으로 평가되었다.
- 결론적으로, 냉동영양떡은 전반적인 관능품질 만족도가 보통수준이라고 판단되며, 감칠맛과 단맛 강도가 개선될 경우 관능품질 만족도가 높아질 것으로 예상된다.

(2) 정량적 연구개발성과

성과지표	계획(A)	실적(B)	가중치(C) [%]	목표달성률 (D=B/A)	환산가중치 (E)	점수 (F=D*E)
특허 출원	5	5	15.0%	100.0%	15.0%	15.0
특허 등록		2				
기술이전(건)		1				
기술료(백만원)		0.35				
제품화(건)	4	9	25.0%	100.0%	25.0%	25.0
매출액(백만원)	53	145	20.0%	100.0%	20.0%	20.0
고용창출(명)	2	4	20.0%	100.0%	20.0%	20.0
논문(SCI)	2	1				
논문(비SCI)	2	2				
논문평균 IF	2	4.36	5.0%	100.0%	5.0%	5.0
학술발표	3	4	5.0%	100.0%	5.0%	5.0
교육지도		2				
인력양성	4	4	10.0%	100.0%	10.0%	10.0
계	77	183.71	100.0%		100.0%	100.0점

(3) 세부 정량적 연구개발성과

[과학적 성과]

□ 논문(국내외 전문 학술지) 게재

번호	논문명	학술지명	주저자명	호	국명	발행기관	SCIE 여부 (SCIE/비SCIE)	게재일	등록번호 (ISSN)	기여율
1	Gryllus bimaculatus De Geer hydrolysates alleviate lipid accumulation, inflammation, and endoplasmic reticulum stress in palmitic acid-treated Hep G2 cells	Journal of Ethnopharmacology	김나연, 정선운, 정윤희	-	Ireland	ELSEVIER	SCIE	Minor revision	0378-8741	100
2	Comparisons of Yield, Amino Acid Composition and Antioxidant Activity of the Ten Extracts of Gryllus bimaculatus (Two-Spotted Cricket) Prepared by Different Methods	Food Suppl Biomater Health	정원영, 김철민, 김안나, 최영기, 김종래, 정명수, 정윤희, 김중화	1(4)	대한민국	건강기능식품 미래포럼	비SCIE	21. 12. 28	2765-4362	100
3	반응표면분석법을 이용한 쌍별귀뚜라미 탈지분말 첨가 양갱의 품질특성 및 제조조건 최적화	한국식품 조리과학회지	김안나, 정명수, 정원영, 정윤희, 김수희	-	대한민국	한국식품조리과학회	비SCIE	-	2287-1772	100

Gryllus bimaculatus De Geer hydrolysates alleviate lipid accumulation, inflammation, and endoplasmic reticulum stress in palmitic acid-treated human hepatoma G2 cells

Nayeon Kim^{a,b,c,1}, Sunyoung Jung^{a,b,1}, Eun Jung Lee^{a,b}, Eun-Byeol Jo^{a,b}, Seongjun Yoon^c, Yoonhwa Jeong^{a,b,*}

^a Department of Food Science and Nutrition, Dankook University, Cheonan, Chungnam, 31116, South Korea
^b Research Center for Industrialization of Natural Non-fermented, Dankook University, Cheonan, Chungnam, 31116, South Korea
^c HANMI Natural Nutrition Co., Ltd., Paju, Gyeonggi, 10808, South Korea
^d Department of Staling Science, Ulsanjin College, Gyeongju, Chungnam, 32246, South Korea

ARTICLE INFO

Keywords: *Gryllus bimaculatus* De Geer hydrolysates; Lipid accumulation; Inflammation; Endoplasmic reticulum stress

ABSTRACT

Ethnopharmacological relevance: *Gryllus bimaculatus* De Geer (DB) is one of the common hepatic diseases closely associated with saturated fatty acids intake. Therefore, various studies are being conducted to find natural substances to prevent either the onset or progression of NAFLD. According to traditional medicinal literature, it has been reported that *Gryllus bimaculatus* De Geer (DB) has systemic detoxifying activity; however, the preventive effect of DB on NAFLD has not been elucidated to date.

Aim of study: To evaluate the potential of DB as a natural for the mitigation of NAFLD, we investigated the effects of DB hydrolysates on the hepatic lipid accumulation, inflammation, and endoplasmic reticulum (ER) stress in human hepatoma G2 (Hep G2) cells treated with palmitic acid (PA).

Methods: Treated and control (DB free) cells, pretreated, and then hydrolyzed following hydrolyzation using Novozyme (GB-N) or Flavourzyme® (GB-F). Hep G2 cells were incubated with GB-N or GB-F at various concentrations (0, 0.25, 0.5, and 1 mg/ml) for 24 h, and PA was treated for another 24 h.

Results: The GB-N and GB-F significantly prevented the PA-induced intracellular lipid accumulation in the human liver cells ($p < 0.001$). Moreover, the GB-N and GB-F increased the hepatic cellular stability against the PA-treatment ($p < 0.05$). In addition, the GB-N and GB-F significantly ameliorated the PA-induced proinflammatory cytokines mRNA expression, such as tumor necrosis factor- α and interleukin-1 β , compared to the PA-treated hepatic cells ($p < 0.05$). Furthermore, the GB-N and GB-F inhibited the PA-induced lipogenic mRNA expression, such as fatty acid synthase, stearoyl-CoA ligase, and peroxisome proliferator-activated receptor- α ($p < 0.05$). Moreover, the GB-N and GB-F alleviated the ER stress-related mRNA expression, such as chaperone regulatory protein 78 and X box binding protein 1, in PA-treated cells ($p < 0.05$).

Conclusion: These results indicate that GB-N and GB-F could be used as materials to prevent the NAFLD onset or progression with alleviating hepatic lipid accumulation, inflammation, and ER stress.

1. Introduction

Nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) is a common liver disease specified by a condition ranging from hepatic steatosis to severe hepatic pathologies, such as nonalcoholic steatohepatitis (NASH), fibrosis, cirrhosis, and carcinoma (Mishra et al., 2013). The prevalence of NAFLD has steadily increased, and the current global incidence rate of NAFLD is estimated to be ~25% (Youniss et al., 2016, 2018). NAFLD is highly associated with the pathogenesis of multiple metabolic complications such as obesity, type 2 diabetes, insulin resistance, hypertension, and cardiovascular diseases (Youniss et al., 2016). Moreover, studies have reported that excess energy intake, toxin exposure,

1. Corresponding author. Department of Food Science and Nutrition, Dankook University, Cheonan, Chungnam, 31116, South Korea.
 E-mail address: yjeong@naver.com (N. Kim), yjeong@hanmi.co.kr (S. Jung), yjeong@foodscience.com (E. B. Jo), yjeong@nrci.or.kr (S. Yoon), yjeong@med.ulsan.ac.kr (Y. Jeong).
¹ These authors contributed equally to this work.

<https://doi.org/10.1016/j.jep.2022.113117>
 Received 29 November 2021; Received in revised form 5 February 2022; Accepted 14 February 2022
 0378-8741/© 2021

Brief Communication

Comparisons of Yield, Amino Acid Composition and Antioxidant Activity of the Ten Extracts of *Gryllus bimaculatus* (Two-Spotted Cricket) Prepared by Different Methods

Wonyoung Jeong^{a,b,c,1}, Chulmin Kim^{a,b}, An-Na Kim^{a,b}, Younggi Choi^{a,b}, Jong Rae Kim^{a,b}, Myeongsso Jeong^{a,b}, Yoonhwa Jeong^{a,b}, Joong-Hark Kim^{a,b}

^a Hamil MedFood Material R&D Center, Hamil Natural Science Co., Ltd., Goyang, Korea
^b Department of Food Science and Nutrition, Dankook University, Cheonan, Korea
^c Department of Medical Biotechnology, Kangwon National University, Chuncheon, Korea

OPEN ACCESS

ABSTRACT

Rapid increase of human population together with environmental changes to reduce crop yields are threatening human survival since these problems are expected to cause food shortage soon. Edible insects are getting attention as a new food resource that can solve forthcoming food shortages since they are particularly rich in protein and unsaturated fatty acids. Thus, when they are used as food, it is important to prepare the extract formulation with high yield of proteins and other nutritional components with minimal damage to them. In this study, 5 extraction methods were used, which were hot water (HW), autoclave (AT), high pressure treatment for 5 minutes (HPS), high pressure treatment for 30 minutes (HPI0) and enzymatic hydrolysis (ENZ), and ten extracts were prepared by using one of these methods or combinations thereof. The extracts prepared were HW, AT, ATENZ, ATENZ/HW, HPS/HW, HPS/ENZ, HPS/HW/HPI0, HPI0/HW, HPI0/ENZ, HPI0/ENZ/HW, which were investigated for yields, molecular sizes of the components, amino acid (AA) composition and antioxidant activities. The extracts prepared using ENZ method were observed to contain high contents of total AA, high ratio of essential/non-essential AA and high antioxidant activity. Thus, ENZ method is recommended to prepare the high quality-extract of this insect.

Keywords: *Gryllus bimaculatus*; Two-Spotted Cricket; Edible Insect; Functional Food; Food Supplement

In recent years, along with the continuous increase in the world population, problems with the environment such as carbon dioxide emissions have become important issues for the possibility of humanity's future survival. In the 2009 briefing document, Food and Agriculture Organization (FAO) emphasized the importance of food security, stating that the world's population will reach about 9.1 billion by 2050, and therefore food production should increase by more than 70%. Contrary to the increase in food demand accompanying the increase in population, the agricultural land is continuously decrease and impact on animal husbandry and agriculture farming because of climate change, environmental pollution and promotion of urbanization. Therefore, future food problem is expected to become even

반응표면분석법을 이용한 쌍별귀뚜라미 탈지분말 첨가량의 품질특성 및 제조 조건 최적화

김안나¹ · 정영수² · 권영환³ · 정수희⁴
¹연세대학교 연구원, ²연세대학교 식품영양학과 교수, ³연세대학교 호텔외식조리학과 교수

Quality characteristics and formulation optimization of yanggaeng prepared with defatted two-spotted cricket using response surface methodology

An Na Kim¹, Myeong Soo Jeong², Won Young Jeong³, Yoon Hwa Jeong⁴, Soo Hee Kim¹
¹Researcher, HANMI NATURAL NUTRITION LTD, Paju-si 10808, Korea
²CEO, HANMI NATURAL NUTRITION LTD, Paju-si 10808, Korea
³Professor, Department of Food Science and Nutrition, Dankook University, Cheonan-si 31116, Korea
⁴Professor, Department of Culinary Arts, Kyungju College, Ulsjeongsu-si 11618, Korea

Abstract

Purpose: This study was performed to optimize the yanggaeng processing conditions of prepared with different amounts of defatted two-spotted cricket powder, and agar powder using the response surface methodology. **Methods:** The experimental conditions were designed according to the a central composite design with 10 experimental points, including two replicates for two independent variables. The Physicochemical properties, texture, and sensory properties of the were analyzed. **Results:** As the agar content of the yanggaeng increased, the moisture content too increased ($p < 0.05$). As the content of two-spotted cricket powder increased, the pH of the yanggaeng increased ($p < 0.05$). As a result of two-spotted cricket powder increased, the sugar content decreased ($p < 0.05$). Hardness increased as the amount of added defatted two-spotted cricket powder and agar increased ($p < 0.05$). As a result of the DPPH radical scavenging activity measurement, it increased with the addition of the defatted two-spotted cricket powder ($p < 0.05$). As a result of the sensory test of yanggaeng, the flavor was 4.14-5.57, the taste was 4.00-5.86, and the overall preference was 4.14-5.86. In the group with a 0% addition of defatted two-spotted cricket powder, the flavor, taste, and overall preference were high, but there was no significant difference. **Conclusion:** In this study it is considered that defatted two-spotted cricket powder can be used as a food ingredient due to its high overall preference.

Key words: defatted two-spotted cricket, yanggaeng, response surface methodology, quality characteristics, edible insects

1. 서론

국내 식품공전에 등록된 식물 곤충은 누에번데기, 벼베뚜기, 백강잠, 갈색거저리 유충, 흰줄머슴벌레 유충, 갈수물떼기 유충, 쌍별귀뚜라미 등 7종이며, 2020년 아메리카왕거저리 유충, 탈지분말과 수별 번데기, 2021년 볼루지홍 나비 유충, 탈지분말과 수별 번데기, 2021년 볼루지홍 나비 유충 등 10종이 추가되어 현재 식용 가능한 곤충은 총 17종이다(Kim SY 등 2021). 그 중 쌍별귀뚜라미(*Gryllus bimaculatus*)는 활동 기간을 거치지 않고 온도만 맞으면 사육 및 번식이 가능하며 단백질 함량이 62% 이상

으로 높아 식품 원료나 가공식품으로 이용 가치가 높다(Cho HR 등 2019). 또한 e-3, e-6, chitin, chitosan 등 기능성 성분이 함유되어 있다고 보고되고 있으며, 항염증, 면역 조절 및 간 보호에 대한 연구가 진행 되었다(Seo DH 등 2007). 쌍별귀뚜라미는 필수아미노산이 풍부하게 함유되어 있으며, BCAA(branched-chain amino acid, 분지아미노산)로 알려진 leucine, isoleucine, valine이 비율이 46%를 차지하고 있다(Lee JA & Kim AJ 2019). BCAA는 인간의 정상적인 단백질 대사과정 유지와 합성 과정에 필수적이거나 근육 단백질의 합성을 촉진시킬 수 있다고 알려

Corresponding author: An Na Kim, HANMI NATURAL NUTRITION LTD, 44-20, Tongil-ro 1888beon-gil, Munson-eup, Paju-si, Gyeonggi-do 10808, Korea
 ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5213-3425>
 Tel: +82-2-741-7411, Fax: +82-2-741-1965, E-mail: hoyanna@naver.com

© 2022 Korean Society of Food and Cookery Science
 This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

□ 국내 및 국제 학술회의 발표

번호	회의 명칭	발표자	발표 일시	장소	국명
1	2020 KFN International Symposium and Annual Meeting (Development of Protein Hydrolysate from Gryllus bimaculatus)	이은정, 정선운, 하정현, 김미숙, 이영승, 정윤화	2020.10.23	ICC JEJU	대한민국
2	2020 KFN International Symposium and Annual Meeting (Two spotted cricket (Gryllus bimaculatus) hydrolysates ameliorates ER stress induced lipid accumulation in HepG2 cells)	이은정, 김나연, 박서현, 정선운, 하정현, 김미숙, 이영승, 정윤화	2020.10.23	ICC JEJU	대한민국
3	2021 한국영양학회 추계학술대회 및 제 56차 정기총회 (Quality characteristics of Yanggaeng added with defatted two-spotted cricket powder)	김안나, 정원영, 정명수, 최영기	2021.10.15	서울드래곤 시티호텔	대한민국
4	2021 KFN International Symposium and Annual Meeting (Gryllus Bimaculatus Hydrolysates Ameliorate Tunicamycin Inducible Endoplasmic Reticulum Stress in C57BL/6 Mice)	조은별, 이은정, 원혜리, 정선운, 손희경, 하정현, 김미숙, 이영승, 정윤화	2021.10.29	벡스코, 부산	대한민국

Development of Protein Hydrolysate from *Gryllus bimaculatus*

ARC (ARC CENTER FOR INDUSTRIALIZATION OF NUTRITIONAL AND FUNCTIONAL FOODS)

Abstract: *Gryllus bimaculatus* (GB) contains a high level of protein content and the degraded as an important alternative food resource. It has been reported that protein are degraded into low-molecular weight by protease hydrolysis for easily absorbed and utilized in body. Therefore, we aimed to develop protein hydrolysate from GB by acid-catalyzed and protease hydrolysis. The protein was treated under different conditions of high hydrolysis pressure (1000, 1200, 1400, 1600, 1800, 2000, 2200, 2400, 2600, 2800, 3000, 3200, 3400, 3600, 3800, 4000, and 4200 bar) and hydrolysis temperature (40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 110, 120, 130, 140, 150, 160, 170, 180, 190, 200, 210, 220, 230, 240, 250, 260, 270, 280, 290, 300, 310, 320, 330, 340, 350, 360, 370, 380, 390, 400, 410, 420, 430, 440, 450, 460, 470, 480, 490, 500, 510, 520, 530, 540, 550, 560, 570, 580, 590, 600, 610, 620, 630, 640, 650, 660, 670, 680, 690, 700, 710, 720, 730, 740, 750, 760, 770, 780, 790, 800, 810, 820, 830, 840, 850, 860, 870, 880, 890, 900, 910, 920, 930, 940, 950, 960, 970, 980, 990, 1000 °C) for 24 hours. The contents of water-soluble protein (WSP) and amino acid (AA) were analyzed by HPLC and HPLC-ESI/MS, respectively. When GB was hydrolyzed by alkaline, the degree of hydrolysis (DH) was increased at 3000 bar and 500 bar compared to control (p < 0.05) in 24 hours. It was higher at 2000 bar compared to control (p < 0.05) in 12 hours. DH was significantly affected by the pH (1.0, 2.0, 3.0, 4.0, 5.0, 6.0, 7.0, 8.0, 9.0, 10.0) and temperature. These results indicate that the degree of protein hydrolysis from GB could be optimized by using HPLC.

Materials and Methods: High hydrolysis pressure (1000-4200 bar) and high hydrolysis temperature (40-600 °C) for 24 hours. HPLC and HPLC-ESI/MS analysis. DH, WSP, AA, and AA composition analysis.

Results: Table 1. Composition of *Gryllus bimaculatus* (GB). Table 2. Degree of hydrolysis (DH) of *Gryllus bimaculatus* by various pressure according to various pressure. Table 3. Contents of water-soluble protein (WSP) and amino acid (AA) in hydrolysis suspension from *Gryllus bimaculatus* (GB). Table 4. Contents of amino acid (AA) in hydrolysis suspension from *Gryllus bimaculatus* (GB).

Conclusion: Degree of protein hydrolysis from *Gryllus bimaculatus* (GB) was significantly optimized according to hydrolysis pressure and temperature. The contents of WSP and AA were significantly affected by DH and DH was significantly affected by pressure and temperature. These results indicate that the degree of protein hydrolysis from GB could be optimized by using HPLC.

Two-spotted cricket (*Gryllus bimaculatus*) hydrolysates ameliorates ER stress-induced lipid accumulation in HepG2 cells

ARC (ARC CENTER FOR INDUSTRIALIZATION OF NUTRITIONAL AND FUNCTIONAL FOODS)

Abstract: The two-spotted cricket (*Gryllus bimaculatus*) is a good protein source. It has been reported that protein are degraded into low-molecular weight by protease hydrolysis for easily absorbed and utilized in body. Therefore, we aimed to develop protein hydrolysate from GB by acid-catalyzed and protease hydrolysis. The protein was treated under different conditions of high hydrolysis pressure (1000, 1200, 1400, 1600, 1800, 2000, 2200, 2400, 2600, 2800, 3000, 3200, 3400, 3600, 3800, 4000, and 4200 bar) and hydrolysis temperature (40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 110, 120, 130, 140, 150, 160, 170, 180, 190, 200, 210, 220, 230, 240, 250, 260, 270, 280, 290, 300, 310, 320, 330, 340, 350, 360, 370, 380, 390, 400, 410, 420, 430, 440, 450, 460, 470, 480, 490, 500, 510, 520, 530, 540, 550, 560, 570, 580, 590, 600, 610, 620, 630, 640, 650, 660, 670, 680, 690, 700, 710, 720, 730, 740, 750, 760, 770, 780, 790, 800, 810, 820, 830, 840, 850, 860, 870, 880, 890, 900, 910, 920, 930, 940, 950, 960, 970, 980, 990, 1000 °C) for 24 hours. The contents of water-soluble protein (WSP) and amino acid (AA) were analyzed by HPLC and HPLC-ESI/MS, respectively. When GB was hydrolyzed by alkaline, the degree of hydrolysis (DH) was increased at 3000 bar and 500 bar compared to control (p < 0.05) in 24 hours. It was higher at 2000 bar compared to control (p < 0.05) in 12 hours. DH was significantly affected by the pH (1.0, 2.0, 3.0, 4.0, 5.0, 6.0, 7.0, 8.0, 9.0, 10.0) and temperature. These results indicate that the degree of protein hydrolysis from GB could be optimized by using HPLC.

Materials and Methods: 1. Sample preparation: Tissue collection, homogenization, centrifugation, and extraction. 2. Cell culture: HepG2 cells, tunicamycin treatment, and hydrolysate treatment. 3. Methods: Cell viability, cholesterol, TG, TC, and AST/ALT measurement.

Results: Figure 1. Degree of hydrolysis of the two-spotted cricket hydrolyzed by commercial enzymes according to the reaction concentrations. Figure 2. Effect of two-spotted cricket hydrolysates on cell viability. Figure 3. Effect of two-spotted cricket hydrolysates on lipid accumulation. Figure 4. Effect of two-spotted cricket hydrolysates on AST and ALT activities.

Conclusion: Two-spotted cricket hydrolysates significantly decreased ER stress-induced lipid accumulation, cholesterol, and AST/ALT activities in HepG2 cells.

1. 포스터발표

Quality characteristics of Yanggaeng added with defatted two-spotted cricket powder

ARC (ARC CENTER FOR INDUSTRIALIZATION OF NUTRITIONAL AND FUNCTIONAL FOODS)

Abstract: Yanggaeng is a traditional Korean fermented soybean paste. It is a good protein source. It has been reported that protein are degraded into low-molecular weight by protease hydrolysis for easily absorbed and utilized in body. Therefore, we aimed to develop protein hydrolysate from GB by acid-catalyzed and protease hydrolysis. The protein was treated under different conditions of high hydrolysis pressure (1000, 1200, 1400, 1600, 1800, 2000, 2200, 2400, 2600, 2800, 3000, 3200, 3400, 3600, 3800, 4000, and 4200 bar) and hydrolysis temperature (40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 110, 120, 130, 140, 150, 160, 170, 180, 190, 200, 210, 220, 230, 240, 250, 260, 270, 280, 290, 300, 310, 320, 330, 340, 350, 360, 370, 380, 390, 400, 410, 420, 430, 440, 450, 460, 470, 480, 490, 500, 510, 520, 530, 540, 550, 560, 570, 580, 590, 600, 610, 620, 630, 640, 650, 660, 670, 680, 690, 700, 710, 720, 730, 740, 750, 760, 770, 780, 790, 800, 810, 820, 830, 840, 850, 860, 870, 880, 890, 900, 910, 920, 930, 940, 950, 960, 970, 980, 990, 1000 °C) for 24 hours. The contents of water-soluble protein (WSP) and amino acid (AA) were analyzed by HPLC and HPLC-ESI/MS, respectively. When GB was hydrolyzed by alkaline, the degree of hydrolysis (DH) was increased at 3000 bar and 500 bar compared to control (p < 0.05) in 24 hours. It was higher at 2000 bar compared to control (p < 0.05) in 12 hours. DH was significantly affected by the pH (1.0, 2.0, 3.0, 4.0, 5.0, 6.0, 7.0, 8.0, 9.0, 10.0) and temperature. These results indicate that the degree of protein hydrolysis from GB could be optimized by using HPLC.

Materials and Methods: Sample preparation, cell culture, and analysis methods.

Results: Table 1. Quality characteristics of Yanggaeng. Table 2. Effect of two-spotted cricket hydrolysates on cell viability. Table 3. Effect of two-spotted cricket hydrolysates on lipid accumulation. Table 4. Effect of two-spotted cricket hydrolysates on AST and ALT activities.

Conclusion: Yanggaeng added with two-spotted cricket powder significantly improved quality characteristics and ameliorated ER stress-induced lipid accumulation.

2. 포스터발표

***Gryllus Bimaculatus* Hydrolysates Ameliorate Tunicamycin-Inducible Endoplasmic Reticulum Stress in C57BL/6 Mice**

ARC (ARC CENTER FOR INDUSTRIALIZATION OF NUTRITIONAL AND FUNCTIONAL FOODS)

Abstract: Tunicamycin (TM) is a well-known ER stress inducer. It has been reported that protein are degraded into low-molecular weight by protease hydrolysis for easily absorbed and utilized in body. Therefore, we aimed to develop protein hydrolysate from GB by acid-catalyzed and protease hydrolysis. The protein was treated under different conditions of high hydrolysis pressure (1000, 1200, 1400, 1600, 1800, 2000, 2200, 2400, 2600, 2800, 3000, 3200, 3400, 3600, 3800, 4000, and 4200 bar) and hydrolysis temperature (40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 110, 120, 130, 140, 150, 160, 170, 180, 190, 200, 210, 220, 230, 240, 250, 260, 270, 280, 290, 300, 310, 320, 330, 340, 350, 360, 370, 380, 390, 400, 410, 420, 430, 440, 450, 460, 470, 480, 490, 500, 510, 520, 530, 540, 550, 560, 570, 580, 590, 600, 610, 620, 630, 640, 650, 660, 670, 680, 690, 700, 710, 720, 730, 740, 750, 760, 770, 780, 790, 800, 810, 820, 830, 840, 850, 860, 870, 880, 890, 900, 910, 920, 930, 940, 950, 960, 970, 980, 990, 1000 °C) for 24 hours. The contents of water-soluble protein (WSP) and amino acid (AA) were analyzed by HPLC and HPLC-ESI/MS, respectively. When GB was hydrolyzed by alkaline, the degree of hydrolysis (DH) was increased at 3000 bar and 500 bar compared to control (p < 0.05) in 24 hours. It was higher at 2000 bar compared to control (p < 0.05) in 12 hours. DH was significantly affected by the pH (1.0, 2.0, 3.0, 4.0, 5.0, 6.0, 7.0, 8.0, 9.0, 10.0) and temperature. These results indicate that the degree of protein hydrolysis from GB could be optimized by using HPLC.

Materials and Methods: Sample preparation, cell culture, and analysis methods.

Results: Figure 1. Body weight and food efficiency ratio. Figure 2. Effect of two-spotted cricket hydrolysates on lipid accumulation. Figure 3. Effect of two-spotted cricket hydrolysates on protein expression. Figure 4. Effect of two-spotted cricket hydrolysates on ER stress markers.

Conclusion: *Gryllus bimaculatus* hydrolysates significantly ameliorated tunicamycin-induced ER stress in C57BL/6 mice.

3. 포스터발표

4. 포스터발표

[기술적 성과]

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

번호	지식재산권 등 명칭 (건별 각각 기재)	국명	출원				등록			기여율	활용 여부
			출원인	출원일	출원 번호	등록 번호	등록인	등록일	등록 번호		
1	귀뚜라미 및 갈색거저리 유충의 가압증숙 및 효소처리물을 함유하는 탈모예방 또는 발모촉진 조성물	대한민국	(주) 한미양행	20.09.01	10-2020-0111061	10-2195880	(주) 한미양행	21.12.21	10-2195880	100	
2	귀뚜라미 가압증숙 및 효소처리물을 함유하는 면역조절용 조성물	대한민국	(주) 한미양행	20.11.24	10-2020-0158697	10-2260026	(주) 한미양행	21.05.28	10-226002	100	
3	쌍별귀뚜라미 가수분해물을 유효성분으로 함유하는 비알콜올성 지방간 질환 예방 또는 개선용 식품 조성물 및 이의 제조방법	대한민국	단국대학교 천안캠퍼스 산학협력단	21.10.13	10-2021-0136053					100	
4	쌍별귀뚜라미 성충의 가수분해물 및 발효 오가피 복합 추출물을 함유하는 관절염의 예방 또는 치료용 조성물	대한민국	(주) 한미양행	21.10.21	10-2021-0140932					100	
5	쌍별귀뚜라미 효소추출물을 유효성분으로 함유하는 면역력 증진용 조성물 및 이의 제조방법	대한민국	단국대학교 천안캠퍼스 산학협력단	21.12.29	10-2021-0191711					100	

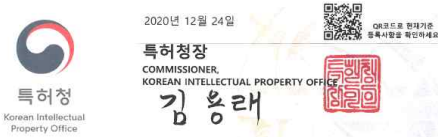
○ 지식재산권 활용 유형

※ 활용의 경우 현재 활용 유형에 √ 표시, 미활용의 경우 향후 활용 예정 유형에 √ 표시합니다(최대 3개 중복선택 가능).

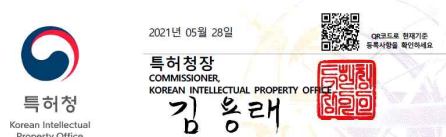
번호	제품화	방어	전용실시	통상실시	무상실시	매매/양도	상호실시	담보대출	투자	기타
	√					√				



위의 발명은 「특허법」에 따라 특허등록원부에 등록되었음을 증명합니다.
This is to certify that, in accordance with the Patent Act, a patent for the invention has been registered at the Korean Intellectual Property Office.



위의 발명은 「특허법」에 따라 특허등록원부에 등록되었음을 증명합니다.
This is to certify that, in accordance with the Patent Act, a patent for the invention has been registered at the Korean Intellectual Property Office.



1. 특허등록

특허로 Page 1 of 2

관인생략
출원번호통지서

출원 일자 2021.10.13
특기사항 심사청구(유) 공개신청(무)
출원 번호 10-2021-0136053 (접수번호 1-1-2021-1173133-17) (DAS접근코드DF08)
출원인 명칭 단국대학교 진안캠퍼스 산학협력단(1-2012-037172-1)
대리인 성명 특허법인 비엘티(9-2020-100126-4)
발명자 성명 정윤화 이정현 이영송 김미숙 김인용 정선수 김나연 정원영 정주영 김인나
발명의 명칭 생별귀뚜라미 가수분해물을 유효성분으로 함유하는 비발효유성 지방산 유효분 배합 또는 개선 용액 조성물 및 그의 제조방법

특 허 청 장

<< 안내 >>

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

2. 특허등록

특허로 Page 1 of 2

관인생략
출원번호통지서

출원 일자 2021.10.21
특기사항 심사청구(유) 공개신청(무) 잠정번호(0433)
출원 번호 10-2021-0140932 (접수번호 1-1-2021-1207137-31) (DAS접근코드6048)
출원인 명칭 주식회사 한미양행(1-1995-013034-1)
대리인 성명 특허법인오임(9-2018-100021-5)
발명자 성명 정영수 김종래 이종철 김수의 최진주 김인나 최영기 정원영 정주영
발명의 명칭 생별귀뚜라미 성층의 가수분해물 및 발효 오기파 복합 추출물을 함유하는 관절염의 예방 또는 치료용 조성물

특 허 청 장

<< 안내 >>

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

3. 특허출원

특허로 Page 1 of 2

관인생략
출원번호통지서

출원 일자 2021.12.29
특기사항 심사청구(유) 공개신청(무)
출원 번호 10-2021-0191711 (접수번호 1-1-2021-1524824-92) (DAS접근코드1100)
출원인 명칭 단국대학교 진안캠퍼스 산학협력단(1-2012-037172-1)
대리인 성명 특허법인 비엘티(9-2020-100126-4)
발명자 성명 정윤화 김나연 김미숙 김인나 김인용 이영송 이은정 이지수 정선수 정원영 정주영 조은별 허정민
발명의 명칭 생별귀뚜라미 효소추출물을 유효성분으로 함유하는 면역력 증진용 조성물 및 그의 제조방법

특 허 청 장

<< 안내 >>

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

4. 특허출원

특허로 Page 1 of 2

관인생략
출원번호통지서

출원 일자 2021.12.29
특기사항 심사청구(유) 공개신청(무)
출원 번호 10-2021-0191711 (접수번호 1-1-2021-1524824-92) (DAS접근코드1100)
출원인 명칭 단국대학교 진안캠퍼스 산학협력단(1-2012-037172-1)
대리인 성명 특허법인 비엘티(9-2020-100126-4)
발명자 성명 정윤화 김나연 김미숙 김인나 김인용 이영송 이은정 이지수 정선수 정원영 정주영 조은별 허정민
발명의 명칭 생별귀뚜라미 효소추출물을 유효성분으로 함유하는 면역력 증진용 조성물 및 그의 제조방법

특 허 청 장

<< 안내 >>

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

5. 특허출원

특허로 Page 1 of 2

관인생략
출원번호통지서

출원 일자 2021.12.29
특기사항 심사청구(유) 공개신청(무)
출원 번호 10-2021-0191711 (접수번호 1-1-2021-1524824-92) (DAS접근코드1100)
출원인 명칭 단국대학교 진안캠퍼스 산학협력단(1-2012-037172-1)
대리인 성명 특허법인 비엘티(9-2020-100126-4)
발명자 성명 정윤화 김나연 김미숙 김인나 김인용 이영송 이은정 이지수 정선수 정원영 정주영 조은별 허정민
발명의 명칭 생별귀뚜라미 효소추출물을 유효성분으로 함유하는 면역력 증진용 조성물 및 그의 제조방법

특 허 청 장

<< 안내 >>

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

[경제적 성과]

□ 시제품 제작

번호	시제품명	출시/제작일	제작 업체명	설치 장소	이용 분야	사업화 소요 기간	인증기관 (해당 시)	인증일 (해당 시)
1	TCI213복합조성물	21.10.05	한미양행	-	면역증진소재			
2	TCH212복합조성물	21.10.06	한미양행	-	간건강소재			
3	한미침향원프리미엄	21.10.08	한미양행	-	건강지향식품			
4	한미침향원	21.11.12	한미양행	-	건강지향식품			
5	한미생활건강홍타민플러스	21.12.10	한미양행	-	건강기능식품			
6	헤파스타	21.12.31	한미양행	-	건강기능식품			
7	이문스타	21.12.31	한미양행	-	건강기능식품			
8	한끼균형 귀뚜라미 프로틴 영양떡	21.08.25	민속떡집	-	시제품홍보, 전시회참석, 기술이전	4주		
9	한끼균형 귀뚜라미감자스프	21.08.31	(주)한미양행	-	시제품홍보, 전시회참석, 기술이전	2주		
10	한끼균형 귀뚜라미볶음김밥	21.11.30	(주)동경	-	시제품홍보, 전시회참석	3주		
11	한끼균형 치아바타샌드위치	21.10.12	치보베이커리	-	시제품홍보, 전시회참석, 기술이전	3주		

	
<p>1. TCI213복합조성물</p>	<p>2. TCH212복합조성물</p>
	
<p>3. 한미침향원프리미엄</p>	<p>4. 한미침향원</p>
	
<p>5. 한미생활건강강홍타민플러스</p>	<p>6. 헤파스타</p>
	
<p>7. 이문스타</p>	<p>8. 한끼균형 귀뚜라미 프로틴 영양떡</p>
	
<p>9. 한끼균형 귀뚜라미 감자스프</p>	<p>10. 한끼균형 귀뚜라미 볶음김밥</p>
	
<p>11. 한끼균형 치아바타 샌드위치</p>	

□ 기술 실시(이전)

번호	기술 이전 유형	기술 실시 계약명	기술 실시 대상 기관	기술 실시 발생일	기술료 (해당 연도 발생액)	누적 징수 현황
1	특허등록	귀뚜라미 가압증숙 및 효소처리물을 함유하는 면역조절용 조성물	(주)한미양행	21.11.15	-	
2	통상실시권	귀뚜라미 감자스프와 귀뚜라미 프로틴 영양떡 제조법에 대한 기술거래	농업회사법인 곤충킹 주식회사	21.12.20	315,000원	

* 내부 자금, 신용 대출, 담보 대출, 투자 유치, 기타 등

■ 농림축산식품연구개발사업 관리기준 [별지 제27호 서식] <제35조제4항 관련> (2쪽 중 1쪽)

기술실시 보고(확인)서

(단위 : 원)

연구개발과제 현황	사업명	농생명산업기술개발사업	연구과제번호	120041-02		
	연구과제명	항별귀뚜라미 가수분해물을 이용한 고부가가치 소재 및 제품 개발				
	연구개발기관명	(주)한미양행	연구책임자	정명수		
	연구개발일	2020.04.29.	연구기간	2020.04.29. ~ 2021.12.31		
기술실시기약 및 성과활용 현황	연구개발비	장부시원연구개발비	기관부담연구개발비	기타 ()		
	계	528,000,000	176,600,000	704,600,000		
	계약(기술)명	귀뚜라미 가압증숙 및 효소처리물을 함유하는 면역조절용 조성물				
	계약(확인)일	2021.11.15	실시(활용)기간	해출발생일로부터 5년간		
기술료	지재권 종류	특허	실시권 유형	직접 실시		
	* 지재권이 특허(출원, 등록)인 경우	명칭	귀뚜라미 가압증숙 및 효소처리물을 함유하는 면역조절용 조성물			
	번호	10-2260026	일자	2021.05.28		
	기관명	(주)한미양행	기관유형	중소기업		
기타특기사항	실시(활용)기관	주소	경기도 파주시 문신읍 통일로 1888번길 44-20	대표자	정명수	
	사업자번호	128-81-06465	전화번호	02-741-7411		
	부세(담당자)	최영기	e-mail	ronung87@naver.com		
	종역기술료	경상기술료	기타 조건			
기술료	징수(예정)일	징수(예정)금액	징수(예정)일	징수(예정)금액	기타 조건	
			징수시각(예정)일	결산일		
			매출에 따른 기술료	2021.05.28	12	
	계		징수종료(예정)일	기여도		
			2026.06.30	100 %		

「농림축산식품 연구개발사업 관리기준」 제35조제3항에 따라 위와 같이 기술실시 내용을 보고(확인)합니다.

붙임 1. 기술실시계약서 사본 1부(타기공으로 기술이전시).
 2. 지식재산권을 포함하는 기술이전인 경우 해당 증명자료(특허 등록증, 출원증 등) 1부 (타기공으로 기술이전시).
 3. 연구개발과제협약서 사본 1부(직접실시시).

2021년 11월 15일

(주)한미양행 대표 정명수 [직인]

농림식품기술기획평가원장 귀하

1. 기술실시 보고서

기술거래 계약서

① 계약명	귀뚜라미 감자스프와 귀뚜라미 프로틴 영양떡 제조법에 대한 기술거래
② 거래개요	- 귀뚜라미 감자스프 (관련과제번호 120041-02-1-HD030) - 귀뚜라미 프로틴 영양떡 (관련과제번호 120041-02-1-HD030)
③ 계약형태	통상실시
④ 계약기간	계약체결일로부터 2022년 12월 31일까지
⑤ 계약금액 (실사료)	금315,000원(금당실질발오원환) ※ 부가세별도

이 계약을 체결함에 있어 붙임 "기술거래 계약 일반조건"이 계약의 일부가 됨을 확인하며 상호 대등의 입장에서 신의에 따라 성실히 계약상의 의무를 이행하고 준수할 것을 확약하며 제 4항에 준거로서 이 계약서 2통을 작성하여 계약 당사자 기명날인한 후 1통씩 보유한다.

붙임 : 기술거래 계약 일반조건 1부
 계약기술 (Know-How) 설명서 1부.

계약 일자 : 2021년 12월 17일

기술공급자 '갑'	주소	경기도 의정부시 서부로 545		
	상호	경민대학교 산학협력단	전화번호	031-828-7080
	대표자	김환철	사업자등록번호	127-82-12748
	기술거래 책임자	김수희	이메일	kslax@kyungmin.ac.kr
기술수요자 '을'	실무담당자	정하늘	전화번호	031-828-7080
	주소	경기도 고양시 덕양구 행당로 39, 1층		
	상호	농업회사법인곤충킹 주식회사	전화번호	031-972-3737
	대표자	송순철	사업자등록번호	268-86-01730
	실무담당자	신문환	e-mail	hngsang@naver.com
			전화번호	031-972-3737

2. 기술실시 계약서

□ 매출 실적(누적)

사업화명	발생 연도	매출액		합계	산정 방법
		국내(천원)	국외(달러)		
한미침향원	2021	42,900		42,900	세금계산서
한미침향원프리미엄	2021	71,514		71,514	세금계산서
한미생활건강홍타민플러스	2021	31,152		31,152	세금계산서
합계				145,566	

전자세금계산서				승인번호 20211130-41000061-77Jka52			
등록번호	128-81-06465	회사명	한미침향원	등록번호	748-87-00739	회사명	한미침향원
사업장 주소	경기도 파주시 문산읍 황포로1889번길 44-30			사업장 주소	경기도 파주시 문산읍 황포로1889번길 44-30		
연락처	대표이사	대표이사직책	대표이사직책	연락처	대표이사	대표이사직책	대표이사직책
대표이사	김기호	대표이사	김기호	연락처	김기호	대표이사	김기호
대표이사	김기호	대표이사	김기호	연락처	김기호	대표이사	김기호
대표이사	김기호	대표이사	김기호	연락처	김기호	대표이사	김기호
대표이사	김기호	대표이사	김기호	연락처	김기호	대표이사	김기호
대표이사	김기호	대표이사	김기호	연락처	김기호	대표이사	김기호
대표이사	김기호	대표이사	김기호	연락처	김기호	대표이사	김기호
대표이사	김기호	대표이사	김기호	연락처	김기호	대표이사	김기호

전자세금계산서				승인번호 20211031-41000061-78Jck28c			
등록번호	128-81-06465	회사명	한미침향원	등록번호	748-87-00739	회사명	한미침향원
사업장 주소	경기도 파주시 문산읍 황포로1889번길 44-30			사업장 주소	경기도 파주시 문산읍 황포로1889번길 44-30		
연락처	대표이사	대표이사직책	대표이사직책	연락처	대표이사	대표이사직책	대표이사직책
대표이사	김기호	대표이사	김기호	연락처	김기호	대표이사	김기호
대표이사	김기호	대표이사	김기호	연락처	김기호	대표이사	김기호

1. 세금계산서(한미침향원)

전자세금계산서				승인번호 20211130-41000061-77Jka52			
등록번호	128-81-06465	회사명	한미침향원	등록번호	748-87-00739	회사명	한미침향원
사업장 주소	경기도 파주시 문산읍 황포로1889번길 44-30			사업장 주소	경기도 파주시 문산읍 황포로1889번길 44-30		
연락처	대표이사	대표이사직책	대표이사직책	연락처	대표이사	대표이사직책	대표이사직책
대표이사	김기호	대표이사	김기호	연락처	김기호	대표이사	김기호
대표이사	김기호	대표이사	김기호	연락처	김기호	대표이사	김기호
대표이사	김기호	대표이사	김기호	연락처	김기호	대표이사	김기호
대표이사	김기호	대표이사	김기호	연락처	김기호	대표이사	김기호
대표이사	김기호	대표이사	김기호	연락처	김기호	대표이사	김기호
대표이사	김기호	대표이사	김기호	연락처	김기호	대표이사	김기호
대표이사	김기호	대표이사	김기호	연락처	김기호	대표이사	김기호

2. 세금계산서(한미침향원프리미엄)

전자세금계산서				승인번호 20211231-41000061-772ak9c			
등록번호	128-81-06465	회사명	한미침향원	등록번호	748-87-00739	회사명	한미침향원
사업장 주소	경기도 파주시 문산읍 황포로1889번길 44-30			사업장 주소	경기도 파주시 문산읍 황포로1889번길 44-30		
연락처	대표이사	대표이사직책	대표이사직책	연락처	대표이사	대표이사직책	대표이사직책
대표이사	김기호	대표이사	김기호	연락처	김기호	대표이사	김기호
대표이사	김기호	대표이사	김기호	연락처	김기호	대표이사	김기호
대표이사	김기호	대표이사	김기호	연락처	김기호	대표이사	김기호
대표이사	김기호	대표이사	김기호	연락처	김기호	대표이사	김기호
대표이사	김기호	대표이사	김기호	연락처	김기호	대표이사	김기호
대표이사	김기호	대표이사	김기호	연락처	김기호	대표이사	김기호
대표이사	김기호	대표이사	김기호	연락처	김기호	대표이사	김기호

3. 세금계산서(한미생활건강홍타민플러스)

□ 고용 창출

순번	사업화명	사업화 업체	고용창출 인원(명)		합계
			2020년	2021년	
1	쌍별귀뚜라미 가수분해물을 이용한 고부가가치 소재 및 제품개발	(주)한미양행	2	2	4
합계			2	2	4

□ 고용 효과

고용 효과	구분	고용 효과(명)	
		개발 전	개발 후
	연구인력		-
			-
	생산인력		2
			2

[사회적 성과]

□ 전문 연구 인력 양성

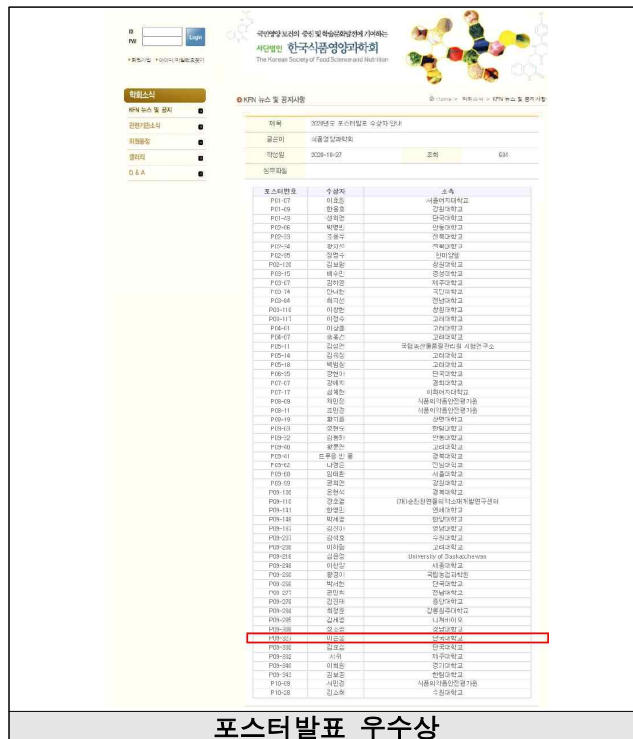
번호	분류	기준 연도	현황										
			학위별				성별		지역별				
			박사	석사	학사	기타	남	여	수도권	충청권	영남권	호남권	기타
1	학위취득 (졸업자)	2021		2			1	1		2			
2	학위취득 (졸업자)	2022		2			0	2		2			

[참고]

2021: 김요섭(2021.2. 석사졸업), 김나연(2021.8. 석사졸업),
 2022: 이은정(2022.2. 석사 졸업 예정), 박서현(2022.2. 석사 졸업 예정),

□ 포상 및 수상 실적

번호	종류	포상명	포상 내용	포상 대상	포상일	포상 기관
1	포스터발표 우수상	우수상 (Two-spotted cricket (Gryllus bimaculatus) hydrolysates ameliorate ER stress-induced lipid accumulation in HepG2 cells)	포스터발표 우수상	(단국대학교) 이은정, 김나연, 박서현, 정선윤, 하정현, 김미숙, 이영승, 정윤희	20.10.27	한국식품영양과학회



2) 목표 달성 수준

추진 목표	달성 내용	달성도(%)
○ 쌍별귀뚜라미 가수분해물의 제조법 확립	○ 쌍별귀뚜라미 탈지조건 확립 ○ 쌍별귀뚜라미 가수분해물 제조공정의 개발 및 표준화	○ 100
○ 쌍별귀뚜라미 가수분해물 제조공정의 개발 및 표준화	○ 쌍별귀뚜라미 및 쌍별귀뚜라미 가수분해물의 기준 규격 설정 ○ 쌍별귀뚜라미 가수분해물 공정 표준화 ○ 쌍별귀뚜라미 가수분해물 활용 조성물 및 시제품 개발	○ 100
○ 세포 모델에서 쌍별귀뚜라미 가수분해물의 ER 스트레스 억제, 지방축적 억제 효과 평가	○ HepG2 간세포에서 세포독성 측정, 세포 내 지질농도 측정, 지방축적 관련 유전자와 ER 스트레스 관련 유전자의 발현 분석	○ 100
○ 동물 모델에서 쌍별귀뚜라미 가수분해물의 간 건강 개선 효과 평가	○ C57BL/6J 마우스에서 조직 무게 측정, 간 기능 관련 효소의 농도 측정, 혈청 지질 측정, 간 조직의 지질 농도 측정, 간 조직의 지방축적 관련 유전자와 ER 스트레스 관련 유전자의 발현 분석	○ 100
○ 쌍별귀뚜라미 가수분해물의 비장세포 증식능 조절 효과 평가	○ 마우스 비장 세포에서 세포증식률 측정, 비장 자연살해세포 활성 측정	○ 100
○ 쌍별귀뚜라미 가수분해물의 복강 대식세포 활성화 효과 평가	○ 마우스 복강 대식세포의 탐식활성 측정, 배양액의 NO 농도 등 측정	○ 100
○ 동물 모델에서 쌍별귀뚜라미 가수분해물의 면역기능 개선 효과 평가	○ Balb/c 마우스에서 체중 및 흉선, 비장 등의 무게 측정, 혈장 사이토카인과 면역글로불린 농도 측정, 비장 세포증식률 측정, 비장 자연살해세포 활성 측정, 비장 세포 배양액의 사이토카인 농도 측정	○ 100
○ 쌍별귀뚜라미 가수분해물과 탈지분말의 물리적 특성 평가	○ 쌍별귀뚜라미 가수분해물과 쌍별귀뚜라미 탈지분말의 물리적 특성 평가 수행	○ 100
○ 쌍별귀뚜라미 가수분해물의 조리가공 특성 평가	○ 쌍별귀뚜라미 가수분해물의 조리가공 특성 평가 수행	○ 100
○ 쌍별귀뚜라미 가수분해물의 분석적 관능평가	○ 쌍별귀뚜라미 가수분해물의 분석적 관능 평가 수행	○ 100
○ 쌍별귀뚜라미 가수분해물의 소비자 기호도 조사	○ 쌍별귀뚜라미 가수분해물의 소비자 기호도 조사 실시	○ 100
○ 쌍별귀뚜라미 가수분해물을 이용한 HMR제품 개발	○ 쌍별귀뚜라미 가수분해물을 이용한 가정간편식 (HMR) 시제품 4종 개발	○ 100
○ HMR제품의 분석적 관능평가 및 소비자 기호도 조사	○ 개발 시제품의 분석적 관능평가 실시 및 기호도 조사 실시	○ 100
○ 쌍별귀뚜라미 가수분해물을 이용한 다양한 제품 개발 및 제조	○ 간 보호 및 면역증진 기능을 갖는 제품 소재 및 제품 개발 ○ 쌍별귀뚜라미 가수분해물, 소제, 제품 대량생산 공정 확립	○ 100
○ 대량생산 제조 공정 확립 및 사업화	○ 개발제품 5종의 사업화	○ 100

4. 목표 미달 시 원인분석

1) 목표 미달 원인(사유) 자체분석 내용

- 1차년도 동물실험에서는 계획하였던 내용에 대하여 유의미한 차이를 얻지 못하였음. 따라서 SCI(E)급 논문 게재를 위하여 추가적인 분석을 위한 시간이 필요하였음.
 - 1차년도에는 COVID-19로 인하여 과제 시작이 지연되었고, 주요 장비인 초고압 기기의 사용 신청이 어려웠음. 따라서 세포 및 동물실험의 진행이 지연됨.
 - 1차년도에서 가수분해 효소에 따른 생리활성 차이가 발생함을 발견. 따라서 2차년도에서도 생리활성 스크리닝 과정을 추가로 진행한 후, 세포실험을 수행할 필요가 있었음.
 - 2차년도 동물실험에서는 계획하였던 내용에 대하여 유의미한 차이를 얻었으나, 예상결과와는 다소 상이하여 추가 분석이 필요하였음.
-

2) 자체 보완활동

- 1차년도 동물실험에서 쌍별귀뚜라미 가수분해물의 tunicamycin-유발 지방간 억제 효과를 평가하였으나, 계획하였던 지표에 대하여는 유의미한 차이를 얻지 못하였음. 따라서 쌍별귀뚜라미 가수분해물이 지방간으로 인한 산화스트레스와 염증에 대한 조절 효과를 추가로 분석 계획 중이며, 유의미한 결과가 도출된다면 추가 성과의 달성이 가능할 것으로 판단됨.
 - 1차년도에는 COVID-19로 인하여 주요 장비인 초고압 기기의 사용과 시료 제조가 지연되었음. 따라서 추후 초고압 기기 사용 시 여분의 시료를 제조하여 2차년도 과제 수행에 필요한 시료를 미리 확보하였음.
 - 2차년도 세포실험에서 추가 실험으로 인하여 일정이 지연되었으나, 당 초 계획하였던 연구 내용은 100% 진행하였으며, 추가 실험을 통하여 유의미한 결과를 도출하였음. 따라서 해당 결과는 현재 논문 투고 준비 중이며, 6개월 이내에 목표하였던 성과를 달성할 수 있음.
 - 2차년도 동물실험 또한 당 초 계획하였던 연구내용을 100% 진행하였으며, 추가 실험을 통하여 유의미한 결과를 도출하였음. 해당 결과는 또한 논문 투고 준비 중으로 6개월 이내에 목표하였던 성과를 달성할 수 있음.
-

3) 연구개발 과정의 성실성

- 당 초 계획하였던 연구내용은 100% 수행되었으며, 도출된 결과를 바탕으로 추가 실험 또한 진행하여 논문을 투고 중임.
 - 단국대학교에서 계획하였던 연구성과는 특허출원 2건, 학술발표 2건, 논문 게재 3건, 인력양성 4건이었으며, 과제 종료 시 연구성과의 달성도는 특허출원 100%, 학술발표 150%, 논문발표 30%, 인력양성 100% 임. 학술발표 성과 목표는 초과 달성하였으며, 논문발표 성과 목표는 6개월 이내에 100% 달성할 수 있음.
-

5. 연구개발성과의 관련 분야에 대한 기여 정도

- 쌍별귀뚜라미 가수분해물의 비알코올성 지방간 개선용 특허출원을 통하여 개발 소재는 간 건강 기능성 소재로 활용될 수 있음.
 - 쌍별귀뚜라미 가수분해물의 면역기능 개선용 특허출원을 통하여 개발 소재는 면역과 관련한 질환의 예방 및 치료를 위한 기능성 소재로 활용될 수 있음.
 - 쌍별귀뚜라미의 부가가치 창출을 통하여 곤충 사육 농가와 관련 산업의 활성화에 기여할 수 있음.
 - 쌍별귀뚜라미의 생리활성에 관한 연구를 통하여 식용곤충의 고부가가치 제품개발을 위한 기술을 선점하였음.
 - 본 과제에 총 4명의 대학원생이 참여하여 쌍별귀뚜라미 등 식용곤충의 생리활성 평가를 위한 우수 전문 연구인력을 확보하였음.
-

6. 연구개발성과의 관리 및 활용 계획

- 쌍별귀뚜라미 가수분해물을 이용한 개발 소재는 간건강 또는 면역기능 개선 소재로 사용
- 쌍별귀뚜라미 가수분해물을 이용한 다양한 제품 개발에 활용
- 쌍별귀뚜라미 가수분해물의 간, 면역기능 개선 임상시험을 진행하여 건강기능식품 개별인정형으로 확대

구분(정량 및 정성적 성과 항목)		연구개발 종료 후 5년 이내	
국외논문	SCIE		
	비SCIE		
	계		
국내논문	SCIE	1	
	비SCIE	1	
	계	2	
특허출원	국내	1	
	국외		
	계	1	
특허등록	국내	1	
	국외		
	계	1	
인력양성	학사		
	석사		
	박사		
	계		
사업화	상품출시	1	
	기술이전		
	공정개발	1	
제품개발	시제품개발		
비임상시험 실시			
임상시험 실시 (IND 승인)	의약품	1상	
		2상	
		3상	
	의료기기		
진료지침개발			
신의료기술개발			
성과홍보			
포상 및 수상실적			
정성적 성과 주요 내용			

주 의

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