



고초균 및 버섯 균사체를 이용하여 발효한 쌍별귀뚜라미 발효물의 단백질 및 무기질 성분 변화

장현욱 · 최지호 · 박신영 · 박보람*
농촌진흥청 국립농업과학원 농식품자원부

Changes in Nutritional Composition of *Gryllus bimaculatus* Fermented by *Bacillus* sp. and Mycelium of *Basidiomycetes*

Hyun Wook Jang, Ji Ho Choi, Shin Young Park, Bo Ram Park*

Department of Agrofood Resources, National Institute of Agricultural Science, Rural Development Administration

Abstract

This study examined the changes in the protein and mineral composition of *Gryllus bimaculatus* fermented with *Bacillus subtilis* and the mycelia of *Basidiomycetes*. Normal *Gryllus bimaculatus* (S) and experimental group data obtained after an inoculation of *Bacillus subtilis* (SC) (KACC 19623), *Pleurotus eryngii* (SP) and *Cordyceps militaris* (SC) were compared. The crude protein content of the *Gryllus bimaculatus* (control) was 75.48%, but it decreased to 64.55, 54.32, and 63.53% after fermentation with SB, SP and SC, respectively ($p < 0.05$). An analysis of the organic elements showed that the contents of the carbon and nitrogen sources were also reduced after fermentation, and the most significant decrease was observed after fermentation with SP. In SDS-PAGE, a 120 kDa and a 48 kDa protein of *Gryllus bimaculatus* were found. On the other hand, protein bands faded after fermentation with SP and SC, respectively. Moreover, no visible band was observed after fermentation with SB. According to amino acid analysis, the total free amino acid content increased 3.84 and 1.74 times after fermentation with SB and SP, respectively, compared to the corresponding baseline data. In contrast, it decreased by 0.52 times after fermentation with SC. Among the essential amino acids found in crickets fermented with SB, the valine and isoleucine content was 3.57 and 2.64 times higher, respectively, than the recommended daily amount of essential amino acids.

Key Words: *Gryllus bimaculatus*, fermentation, *bacillus subtilis*, mycelium of basidiomycetes

1. 서 론

21세기에 접어들면서 지구온난화 및 인구증가에 따라 식량생산량 대비 수급균형 문제가 꾸준히 대두되고 있는 실정이다(Kim et al. 2012). 국제연합(UN)이 발간한 세계 인구전망 보고서에 따르면 2019년 전 세계 77억명인 인구가 2050년에는 97억명, 2100년에는 109억명으로 증가할 것으로 예측되고 있다(UN 2019). FAO (식량농업기구)에서는 2050년 경에는 세계인구의 식량 수요량이 2010년 대비 두 배 이상 증가할 것으로 예측하며, 이러한 문제의 해결방안으로 식용곤충을 선정한 바 있고, 동물 단백질의 수요 및 공급 불안에 대한 에너지 효율적 식량생산 방안으로 식용곤충을 제안하였다(Durst et al. 2010; Premalatha et al. 2011; Huis et al. 2013).

이렇게 미래 식량자원으로 주목받는 식용곤충은 우리나라에서 현재식품위생법제7조 제1항에 따른 식품공전에 등록되어 일반식품원료로 총 7종이 이용가능하다(MFDS 2019). 과거, 식문화를 바탕으로 식품공전에 등록되어 있던 벼메뚜기, 누에 번데기, 백강잠을 비롯하여, 2014년 새로운 식품원료로 등록된 갈색거저리(*Tenebrio molitor*) 유충과 흰점박이꽃무지(*Protaetia brevitarsis*) 유충이 있고, 뒤이어 2015년도에 장수풍뎅이(*Allomyrina dichotoma*) 유충과 함께 쌍별귀뚜라미(*Gryllus bimaculatus*) 또한 식약처에서 인정한 식품원료로 등록되었다(MFDS 2018). 식용곤충은 종과 서식지 차이에 따라 어느 정도의 영양성분 함량 차이가 있으나, 일반적으로 조단백질이 50~60%, 조지방이 8.1~59%, 조섬유 4.9~12.1% 함유되어있으며, Fe, Ca, Zn 등 무기성분도 함유되어 미래 식량자원으로 가능성이 높다(Pemberton 1988).

*Corresponding author: Bo Ram Park, Department of Agro-Food Resources, National Institute of Agricultural Sciences, Rural Development Administration, Jeonju 55365, South Korea Tel: +82-63- 238-3642 Fax: +82-63- 238-3842 E-mail: bboram27@korea.kr

쌍별귀뚜라미는 식품원료로 등록된 이후 활용을 위해 다양한 연구가 진행되었다. 미생물 발효에 관한 연구로는 장류 미생물을 이용한 식용곤충 발효 조미페이스트 제조 및 품질 특성(Zhao et al. 2018)처럼 발효에 따른 향기성분 변화에 관한 연구, SPME-GC/MS 이용 식용곤충 페이스트형 발효 조미료의 향기성분 분석(Cho et al. 2018) 연구가 보고된 바 있으나, 향기성분 변화 측면에 주목하였다. 그리고 버섯균을 이용한 식용곤충 발효 연구로는 갈색거저리 유래 동충하초균 추출물 발효유의 항산화 활성 연구(Gim et al. 2017), 발효 동충하초의 유용성분 및 생리활성 연구(Ahn et al. 2015) 등이 보고되어 있다. 이와 같이 식용으로 개발이 가능한 곤충은 외관상 특성으로 인해 원재료 그대로 이용하는 것보다 분말 농축액 등의 소재 형태로 이용성을 증대시키는 방법이 필요할 것으로 보인다.

고초균(*Bacillus sp.*)은 예로부터 장을 담그기 위해 콩을 삶아 띄운 메주에 벗짚을 엮어 말리는 과정 중 고초균의 2차 대사산물인 단백질을 분해효소에 의해 콩이 발효되어 아미노산으로 저분자화 되는데 사용한 균주이다(Kim et al. 2018). 원료의 단백질 성분은 체내 이용률이 낮기 때문에, 이러한 이용효율을 높이기 위해서는 단백질을 저분자화하여 아미노산으로 물에 수용화 되는 아미노산 단위로 분해가 필요하며 이때 미생물을 이용한 발효를 통해 저분자화를 가능하게 할 수 있다(Cha et al. 2011).

버섯균 중 동충하초(*Cordyceps militaris*)는 곤충을 숙주로 그의 영양소를 이용하여 자생하는 약용버섯으로 운습도가 높아지는 여름에 누에, 애벌레 번데기 등에 기생하여 결국엔 숙주를 죽이고 자실체를 형성한다(Lee 1998). 중국의 고서인 본초강목습유, 본초종신에 언급된 동충하초는 폐와 신장의 기능을 돕고 지혈과 가래를 삭이는 데 효과가 있으며, 그 효능이 인삼과 같다고 알려져 있다(Kim et al. 2007).

새송이버섯(*Pleurotus eryngii*)은 분류학적으로 느타리버섯과(*Pleurotaceae*) 느타리버섯속(*Pleurotus*)에 속하는 담자균으로 우리나라에서는 ‘새송이’라 불리며, 큰 느타리버섯으로 품종등록 되어있다(Lee et al. 2013). 버섯 균사체는 자실체와 유사한 항암, 체지방 감소, 혈중 콜레스테롤 저하 및 면역증강 효과 등의 활성을 가지며, 특히 성장 중에 콩 속에 있는 isoflavone의 포도당을 분해시켜 aglycone의 형태로 전환시켜 주는 beta-glucosidase를 포함한 섬유소 분해효소, 단백질 분해효소, 지방질 분해효소 등의 다양한 가수분해 효소를 생성하는 것으로 보고되어있다(Lee & Paek 1998).

최근 송이버섯 균사체와 바실러스 이용 발효대두의 향미 분석 연구(Kim et al. 2018)와 같이 미생물 균종별 발효는 이취제어를 통한 원료의 고부가가치화 차원에서도 이용되는 바, 발효를 이용한 식품원료의 가공은 영양적, 관능적 측면에서 다양하게 연구되고 있으나 식용곤충의 미생물 균종별 발효특성에 관한 연구는 전무하여 쌍별귀뚜라미의 다양한 발효특성을 구명하여 이용가치를 높이는 방안에 대한 연구가

필요할 것으로 사료된다.

따라서 본 연구에서는 고초균과 버섯균사체 발효에 따른 쌍별귀뚜라미의 유기 및 무기원소와 단백질 외 아미노산 함량 변화를 비교 연구함으로써 미생물 균종들이 원료의 영양 성분 변화에 미치는 영향을 분석하고, 나아가 식용곤충을 식품원료로써 사용가치를 증진시키기 위한 기초자료로 제공하고자 하였다.

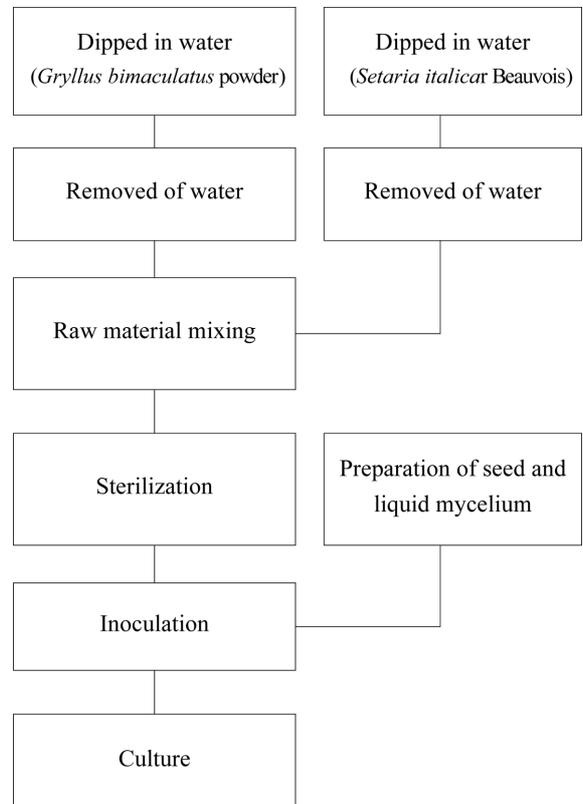
II. 연구내용 및 방법

1. 실험 재료 및 시약

본 연구에서 사용된 쌍별귀뚜라미는 2018년 화성시 사육 농장에서 사육된 쌍별귀뚜라미를 절식을 통해 노폐물을 제거하고 열풍 건조한 제품을 분쇄해(HMF-3600TG, Hanil Electric, Seoul, Korea) 사용하였다. 그리고 본 실험에 사용된 모든 용매 및 시약은 analytical 및 HPLC 등급을 사용하였다.

2. 쌍별귀뚜라미 발효물의 제조

발효물 제조는 <Figure 1>과 같다. 분쇄된 쌍별귀뚜라미 분말 80g과 곡물배지 역할을 하는 조(*Setaria italica* Beauvois) 20g을 각각 물에 1시간 동안 담가 수침 한 후, 체에 받쳐 1시간 동안 물 빼기를 해준다. 그리고 수침과 물 빼기가 완료



<Figure 1> Protocol for the production of fermented *Gryllus bimaculatus* by *Bacillus sp.* and mycelium of *Basidiomycetes*

된 각 시료를 충분히 혼합한 후, 버섯비닐주머니에 담아 121°C에서 30분간 멸균하고 냉각하여 액체종균을 접종시켰다. 이때 사용한 액체종균은 액체기분배지에 *Pleurotus eryngii* (새송이버섯), *Bacillus subtilis* (고초균), *Cordyceps militaris* (동충하초)를 각각 접종한 후 진탕 배양하여 제조하였으며, 사용된 균주는 Korean Agricultural Culture Collection (KACC)에서 분양 받아 사용하였다. 접종 후, 온도 25°C, 습도 40~60%에서 배양을 진행하였다.

3. 유기물(Carbon, Nitrogen), 조단백질 및 무기 성분 함량 변화

쌍별귀뚜라미 원물과 고초균 및 버섯균사체 발효물의 유기원소(탄소, 질소) 함량 분석과 무기성분 함량 변화를 분석하기 위하여 동결건조기(MCFD8518, Ilshin Lab Co. Lat, Seoul, Korea)를 이용해 응축기 온도 -80°C, 압력 5 mmTorr 조건하에서 120시간 동결 건조된 시료를 균일하게 마쇄하여 분석시료로 사용하였다. 탄소 및 질소 분석은 N₂O를 N₂로 환원시켜 N₂가스의 부피를 측정하여 정량하는 Dumas법으로 0.2 g씩 칭량 후 원소분석기(Elementary, vario MAX cube., Germany)를 이용하였으며, 조단백질 함량은 질소 농도에 단백질 환산 계수 6.25를 곱하여 나타내었다. 치환성 양이온(P, K, Ca, Mg)분석은 시료 0.5 g씩 칭량 후 습식분해 법으로 분해용액(HNO₃:H₂SO₄:HClO₄=10:1:4)을 첨가하여 220°C로 4시간 분해 후 여과과정을 거쳐 분광분석기(UV-Cintra 404, GBC Scientific Equipment Pty Ltd., Australia)로 인산분석을 하였고, 유도 결합 플라즈마 발광광도계(Inductively Coupled Plasma Spectrophotometry Mass, ICP Integra XL, GBC Scientific Equipment Pty Ltd., Australia)를 이용하여 칼륨, 칼슘, 마그네슘을 분석하였다.

4. SDS-PAGE를 통한 발효물의 구성단백질 및 크기 확인

쌍별귀뚜라미 원물과 고초균 및 버섯균사체 발효물의 구성단백질 변화양상을 확인하기 위해 Sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE)를 이용해 Laemmli 방법(Sargent 1987)을 변형하여 확인하였다. 식용근충 발효물에 lysis buffer를 첨가하고 초음파 추출하여 상층액을 회수해 샘플을 준비하였다. 그리고 SDS-PAGE는 10% gel (SDS-PAGE, SMOBIO Technology Inc., Hsinchu, Taipei)을 사용하여 전기 영동하였다. Comassie brilliant blue를 사용하여 염색했으며, 10% acetic acid가 함유된 28% 메탄올을 이용하여 탈색하여 molecular weight marker를 통해 단백질 밴드 크기를 확인하였다.

5. 발효물의 유리아미노산 분석

유리아미노산 측정을 위해 AccQ-Tag법을 이용하였으며 아미노산 유도체화를 위해 Waters AccQ-Tag Ultra Derivatization kit (Waters, Milford, MA, USA)를 사용하였다. 분석은 Waters ACQUITY UPLC system (Waters, USA)과 2.1×100

mm AccQ-Tag Ultra column (Waters, USA)을 이용하였고 이동상용매는 AccQ-Tag Ultra Eluent A & B (Waters, USA), 샘플 20°C, column 55°C, 검출기 260 nm, 유속은 0.7 mL/min로 kit에서 제시한 gradient를 이용하여 측정하였다. 아미노산 표준물질은 amino acid standard H (Thermo Fisher Scientific Inc., Rockford, IL, USA)를 사용하였다.

6. 통계처리

실험 결과는 각 군별 평균±표준편차 (mean±SD)로 표시하고, 각 군 별 유의성은 SPSS statistical package (18.0 version, IBM, Armonk, NY, USA)를 이용해서 일원배치 분산분석(one-way ANOVA)으로 분석하고 평균값의 유의적 결과가 나온 변수는 사후검증(Duncan's multiple range test)을 실시하였으며 모든 실험 결과의 유의성은 p<0.05 수준에서 검증하였다.

III. 결과 및 고찰

1. 유기원소(Carbon, Nitrogen), 조단백질 및 무기성분 함량 변화

쌍별귀뚜라미 원물과 이에 *Pleurotus eryngii*, *Bacillus subtilis*, *Cordyceps militaris* 균주를 접종시켜 제조한 발효물의 유기물 및 조단백질 함량 변화는 <Table 1>에, 무기성분 함량 변화는 <Table 2>에 나타내었다. <Table 1>에서 보는 바와 같이 carbon의 경우 원물에 비하여 발효 후 그 함량이 유의적으로 감소하였으며, nitrogen 또한 유의적으로 감소하였다. 이는 고초균 및 버섯균사체가 증식하면서 쌍별귀뚜라미를 미생물 대사에 필요한 유기물 영양원으로 사용하였기 때문으로 보인다. 미생물은 생육에 필요한 영양물질로 탄소 원 및 질소원, 무기염류 등을 요구하며 미생물의 종류에 따라 이용되는 물질의 종류가 다른 것은 미생물 균종별 대사합성능의 차이에 있다(Ghosh et al. 2017). 특히 동충하초 균사체의 경우 곤충에 기생하여 생육하는 것으로 널리 알려져 있는 바와 같이(Lee 1998) 쌍별귀뚜라미를 영양원으로 가장 활발히 이용하여 그 함량이 유의적으로 낮게 조사된 것으로 사료된다. 조단백질 함량의 경우도 유기물과 마찬가지로 원물에 비하여 발효 후 모든 실험군에서 유의적으로 감소함을 확인하였다. 조단백질 함량의 감소는 고초균과 버섯균사체에서 유래한 protease에 의한 가수분해 및 영양원으로 이용된 결과로 사료된다.

<Table 2>에 나타난 원물과 발효물의 다량무기질(K, Ca, Mg, Na, P)을 살펴보면, potassium은 발효 후 고초균 발효물에서만 원물과 유의적으로 같은 함량을 보였다. potassium은 결핍 시 근육 수축 이완, 고혈압, 심부전, 신장이상 등 생리적 장애를 유발한다고 알려져 있는데(Cohn et al. 2000). 고초균 발효물 섭취를 통해 섭취량 공급 유지에 도움을 줄 수 있을 것이다. Calcium과 magnesium은 근육 수축과 이완

<Table 1> The organic element and crude protein contents of *Gryllus bimaculatus* fermented by *Bacillus* sp. and mycelium of Basidiomycetes (%)

Groups	S ¹⁾	SP	SB	SC	F-value ²⁾
C	52.46±0.36 ^a	49.22±0.06 ^c	51.04±0.47 ^b	49.88±0.75 ^c	26.476***
N	12.08±0.06 ^a	8.69±0.47 ^c	10.33±0.07 ^b	10.16±0.37 ^b	63.408***
crude protein	75.48±0.41 ^a	54.32±2.92 ^c	64.55±0.45 ^b	63.53±2.30 ^b	63.408***

All values are mean±SD, n=3.

¹⁾S: *Gryllus bimaculatus*, SP: *Gryllus bimaculatus* fermented of *Pleurotus eryngii*, SB: *Gryllus bimaculatus* fermented of *Bacillus subtilis*, SC: *Gryllus bimaculatus* fermented of *Cordyceps militaris*.

²⁾***p<0.001

^{a-c)}Means with different letters within a same row are significantly different at p<0.05.

<Table 2> The mineral contents of *Gryllus bimaculatus* fermented by *Bacillus* sp. and mycelium of Basidiomycetes (%)

Groups	S ¹⁾	SP	SB	SC	F-value ²⁾
Potassium	1.02±0.03 ^a	0.73±0.07 ^b	1.02±0.03 ^a	0.78±0.02 ^b	39.004***
Calcium	0.14±0.01 ^a	0.10±0.01 ^b	0.14±0.01 ^a	0.11±0.01 ^{ab}	8.353*
Magnesium	0.07±0.00 ^b	0.08±0.00 ^b	0.09±0.01 ^a	0.08±0.00 ^b	6.710*
Sodium	0.38±0.01 ^a	0.25±0.03 ^b	0.37±0.01 ^a	0.28±0.01 ^b	45.063***
Phosphorus	0.18±0.01 ^a	0.15±0.02 ^b	0.16±0.02 ^{ab}	0.17±0.02 ^{ab}	2.164

All values are mean±SD, n=3.

¹⁾S: *Gryllus bimaculatus*, SP: *Gryllus bimaculatus* fermented of *Pleurotus eryngii*, SB: *Gryllus bimaculatus* fermented of *Bacillus subtilis*, SC: *Gryllus bimaculatus* fermented of *Cordyceps militaris*.

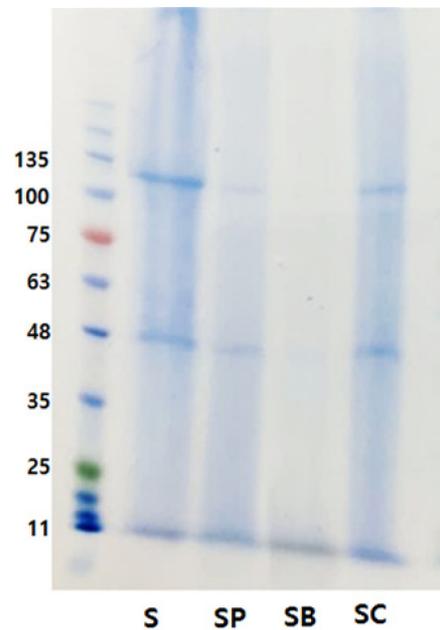
²⁾*p<0.05, ***p<0.001

^{a-b)}Means with different letters within a same row are significantly different at p<0.05.

을 주로 담당하는 다량무기질로, 결핍 시 tetany와 같은 근육 경련 등의 장애를 가져온다(Choi 2006). 분석 결과, Ca의 새송이버섯 발효물을 제외하고 모든 발효물에서 통계적으로 원물 이상의 함량이 분석되어 발효 후 함량 손실 문제는 발생하지 않았다. 하지만 phosphorus의 경우, 새송이버섯 발효물(SP)에서만 원물에 비해 유의적으로 감소함을 확인 할 수 있었다. 식용곤충의 동물성 인은 식물성 인에 비해 체내 흡수율이 높다고 알려져(Capinera 2008). 발효물의 인은 인의 생체 내 이용 효율성에도 도움을 줄 것으로 보인다.

2. SDS-PAGE를 통한 쌍별귀뚜라미 발효물의 구성 단백질 패턴 변화

쌍별귀뚜라미 원물과 고초균 및 버섯균사체 발효물에 대한 구성 단백질 크기 변화를 확인하고자 SDS-PAGE를 실시하여 그 패턴을 <Figure 2>에 나타내었다. 쌍별귀뚜라미 원물(S)과 각 발효물의 단백질 크기를 비교한 결과, 원물에서 120, 48, 11 kDa 이하 위치에서 밴드가 뚜렷하여 쌍별귀뚜라미를 구성하는 주요한 단백질의 크기를 확인하였다. 새송이버섯 발효물(SP)에서는 120, 48kDa 단백질 밴드가 얼어졌음을 확인 할 수 있었다. 특히 고초균 발효물(SB)에서는 원물에서 확인된 구성단백질이 사라진 것을 보아 단백질이 미생물 작용에 의한 가수분해로 저분자화 되어 10 kDa 이상의 구



<Figure 2> SDS-PAGE analysis of crude protein from *Gryllus bimaculatus* fermented by *Bacillus* sp. and mycelium of Basidiomycetes

S, *Gryllus bimaculatus*; SP, *Gryllus bimaculatus* fermented of *Pleurotus eryngii*; SB, *Gryllus bimaculatus* fermented of *Bacillus subtilis*; SC, *Gryllus bimaculatus* fermented of *Cordyceps militaris*.

<Table 3> The essential amino acid contents of *Gryllus bimaculatus* fermented by *Bacillus* sp. and mycelium of Basidiomycetes

Composition (mg/100g)	Groups				F-value	
	S ¹⁾	SP	SB	SC		
Essential	His	675.92±13.71 ^c	748.43±30.46 ^b	1598.14±11.74 ^a	393.80±9.82 ^d	2394.88***
	Thr	339.43±13.12 ^c	1044.38±64.05 ^b	1165.57±63.31 ^a	174.89±6.39 ^d	355.39***
	Lys	957.16±49.88 ^c	2775.03±266.78 ^b	4322.33±124.19 ^a	424.96±11.95 ^d	426.07***
	Phe	287.22±6.26 ^c	881.80±32.21 ^b	2542.95±57.88 ^a	231.86±5.94 ^c	3130.39***
	Met	169.78±6.26 ^b	90.15±8.39 ^c	824.05±66.85 ^a	51.67±1.43 ^c	346.02***
	Val	593.85±22.37 ^c	1134.59±72.25 ^b	5707.74±91.90 ^a	239.37±4.31 ^d	5512.55***
	Ile	339.54±11.98 ^c	893.72±66.73 ^b	3430.21±108.67 ^a	165.50±0.93 ^d	1676.89***
	Leu	578.48±22.01 ^c	1257.14±78.84 ^b	6126.56±216.04 ^a	292.70±3.09 ^d	1685.90***
Total	4037.58±146.23 ^c	8825.24±598.10 ^b	25717.55±583.93 ^a	1974.756±22.35 ^d	1933.41***	

All values are mean±SD, n=3.

¹⁾S: *Gryllus bimaculatus*, SP: *Gryllus bimaculatus* fermented of *Pleurotus eryngii*, SB: *Gryllus bimaculatus* fermented of *Bacillus subtilis*, SC: *Gryllus bimaculatus* fermented of *Cordyceps militaris*.

²⁾***p<0.001

^{a-d)}Means with different letters within a same row are significantly different at p<0.05.

<Table 4> The non-essential amino acid contents of *Gryllus bimaculatus* fermented by *Bacillus* sp. and mycelium of Basidiomycetes

Composition (mg/100 g)	Groups				F-value	
	S ¹⁾	SP	SB	SC		
Non-essential	Tyr	96.22±1.29 ^d	348.18±25.20 ^b	1477.75±58.46 ^a	191.63±2.99 ^c	1214.89***
	Ser	443.74±17.16 ^c	1142.38±65.47 ^b	1306.16±46.63 ^a	238.18±7.09 ^d	478.84***
	Arg	2063.20±73.62 ^b	4354.18±250.97 ^a	815.93±39.42 ^d	1258.20±31.91 ^c	419.15***
	Gly	857.65±30.39 ^b	707.02±36.38 ^c	1261.88±65.97 ^a	143.22±0.43 ^d	389.97***
	Asp	611.64±29.31 ^c	1100.99±82.80 ^b	2409.03±169.11 ^a	219.97±9.38 ^d	299.51***
	Glu	1780.07±77.77 ^b	1878.17±173.06 ^b	5496.81±361.36 ^a	622.96±2.83 ^c	321.68***
	Ala	872.70±37.66 ^c	1143.25±88.25 ^b	3006.42±67.28 ^a	247.90±3.31 ^d	1229.59***
	Pro	1235.52±45.69 ^b	1219.18±91.05 ^b	4324.89±246.15 ^a	1328.81±70.25 ^b	371.34***
Total	7960.74±311.71 ^c	11893.36±779.59 ^b	20098.86±913.98 ^a	4250.858±88.93 ^d	357.48***	

All values are mean±SD, n=3.

¹⁾S: *Gryllus bimaculatus*, SP: *Gryllus bimaculatus* fermented of *Pleurotus eryngii*, SB: *Gryllus bimaculatus* fermented of *Bacillus subtilis*, SC: *Gryllus bimaculatus* fermented of *Cordyceps militaris*.

²⁾***p<0.001

^{a-d)}Means with different letters within a same row are significantly different at p<0.05.

성단백질이 남아있지 않은 것으로 판단되었다. 따라서 고초균에 의한 쌍별귀뚜라미 구성 단백질의 분해가 가장 두드러진 것으로 생각된다. 동충하초 발효물(SC)의 경우 원물과 구성단백질 차이는 미비하였다.

3. 고초균 및 버섯균사체 발효물의 유리아미노산 변화

쌍별귀뚜라미 원물과 고초균 및 버섯균사체 발효물의 유리아미노산 함량을 분석한 결과, 총 16종의 아미노산이 분석되었으며 필수아미노산 8종, 비필수 아미노산 8종이 검출되었다. 각 실험군에 함유된 총 유리아미노산의 양은 원물 11902.10 mg/100 g, 새송이버섯 발효물 20718.60 mg/100 g, 고초균 발효물 45816.41 mg/100 g, 동충하초 발효물 6225.61 mg/100 g으로 나타났다. 대조군 원물 대비 발효물의 총 유리

아미노산 함량은 쌍별 귀뚜라미 고초균과 새송이버섯 발효물에서 각각 원물의 3.84배, 1.74배 증가하였지만, 동충하초 발효물은 0.52배 감소함을 확인 할 수 있었다. 이는 고초균의 단백질 분해효소로 인한 유리아미노산 증가로 보이며 (Baek et al. 2008), Lee(1998)가 보고한 바와 같이 동충하초는 곤충을 숙주로 삼아 기생하여 성장하므로 쌍별귀뚜라미의 유리아미노산을 동충하초 균사체가 오히려 이용하였기 때문에 원물(S) 대비 절반 수준으로 감소한 것으로 보인다.

필수아미노산 조성은 <Table 3>와 같다. 필수아미노산은 체내에서 합성되지 않거나 생리기능유지에 충분한 양이 합성되지 않으므로 반드시 섭취해야 하며, 필수아미노산 결핍 시 성장, 단백질 생합성, 유지대사 등에 장애를 초래한다 (Park et al. 2017). 따라서 필수아미노산 함량은 단백질의 영



<Figure 3> The EAA content of *Gryllus bimaculatus* fermented by *Bacillus* sp. and mycelium of Basidiomycetes relative to RNI Reference Nutrient Intake (RNI): mg/day, Essential Amino Acid (EAA): mg/100 g, S, *Gryllus bimaculatus*; SP, *Gryllus bimaculatus* fermented of *Pleurotus eryngii*; SB, *Gryllus bimaculatus* fermented of *Bacillus subtilis*; SC, *Gryllus bimaculatus* fermented of *Cordyceps militaris*.

양적 가치평가의 기준이 된다(Choi 2006). 특히 valine, leucine, isoleucine은 BCAA (branched-chain amino acid) 라고 불리는 분지사슬 아미노산으로써 인체의 정상적인 성장과 근육발달 및 유지(Hutson et al. 2005), 체내 알코올 분해 활성을 높여 알코올성 간 손상 보호(Chung et al. 2009) 등의 역할을 하는 것으로 보고된 바 있다. 이런 BCAA가 고초균과 새송이버섯 발효물에서 원물에 비해 10.09배, 2.17배 유의적으로 증가함을 보여 발효를 통한 영양성 극대화에도움을 줄 것으로 보인다. 그리고 우리가 주식으로 섭취하는

쌀, 밀 등의 다양한 곡류에서 가장 크게 결핍된 제 1제한 아미노산인 lysine (Macrae et al. 1993)도 원물(S)에 비해 발효 후, 고초균 발효물(SB)은 4.52배, 새송이버섯 발효물(SP)은 2.90배 유의적으로 증가하여 기존 동물성 단백질의 대체재로써 식물성 단백질의 보충효과 가능성을 보일 것으로 기대된다.

비필수아미노산 조성은 <Table 4>와 같다. 아미노산 함량이 증가된 쌍별귀뚜라미 발효물의 식품소재 적용 시, 맛에 대한 기호성은 발효물 활용 확대에 중요한 요소일 것이다.

특히, 유리아미노산은 맛에 관여하는 수용성의 전구물질로 널리 알려져 있다(Wasserman & Gray 1965; Macleod & Ames 1986). 아미노산과 맛 간의 상관관계를 살펴보면, serine과 glycine은 단맛을 나타내고, arginine과 proline은 쓴 맛에 영향을 준다고 알려져 있다(Baek et al. 2013). 특히, 측쇄에 카르복실기가 있고 산성을 나타내는 친수성의 glutamic acid와 aspartic acid는 감칠맛을 나타내(Lee 2016) 정미에 가장 큰 영향을 미친다. 이렇게 감칠맛에 영향을 주는 glutamic acid와 aspartic acid의 함량이 원물에 비해 고초균 발효물에서는 3.30배, 새송이버섯 발효물에서는 1.25배 증가하여 추후 가공식품 분야에서의 활용성을 기대해 볼 수 있을 것이다.

4. 권장섭취량 대비 발효물의 필수아미노산 함량

필수아미노산(EAA) 권장섭취량(RNI) 대비 쌍별귀뚜라미 발효물의 공급량은 <Figure 3>와 같다. 2017 국민건강영양조사(Korea Health Statistics 2017)에 따르면 한국인은 대체적으로 단백질 권장 섭취량을 준수하고 있으나 70세 이상 여성에서 권장섭취량의 94.2%의 섭취비율을 보이고 있다고 보고했다. 단백질은 체구성 성분 형성, 각종 대사기능 조절, 면역기능 등의 중요한 역할을 하고 있는 영양소이기 때문에 적절한 단백질 섭취는 영양학적 측면에서 매우 중요한 요소라고 할 수 있다(Choi 2006). <Figure 3>과 같이 고초균 발효물에서 methionine, threonine을 제외하고 권장섭취량을 충족할 수 있는 것으로 드러났다. 특히, 원물대비 고초균 발효물(SB)에서 valine 3.57배, leucine 2.04배, isoleucine 2.64배가 증가함을 미뤄볼 때 영양적 측면에서 특히 고령식에서 BCAA의 중요한 급원이 될 수 있을 것으로 사료된다.

IV. 요약 및 결론

최근 들어 빈번해지는 이상기후와 계속되는 인구증가로 지속가능한 농업이 위기에 처하자 이에 관한 연구가 다방면에서 활발히 진행되고 있다. 특히 미래 식량자원으로 주목받는 식용곤충의 발효가공을 통한 식품소재화 관련 연구는 부족한 실정이다. 따라서 본 연구에서는 2015년도 식품원료로 등록된 쌍별 귀뚜라미를 고초균과 버섯 균사체를 이용해 발효함으로써 단백질 및 미네랄 성분변화와 발효물의 활용성에 대해 분석하였다. 그 결과, 쌍별귀뚜라미 원료의 탄소원과 질소원의 함량은 발효 후 모든 실험군에서 감소하였다. 원료(S)의 조단백질 함량은 75.48%이었으며 고초균(SB) 및 버섯균 사체(SP, SC) 발효 후 SB는 64.55, SP는 54.32, SC는 63.53%로 각각 감소하였다. 또한 SB 실험군에서 고초균의 protease 작용으로 인해 유의적인 유리아미노산 함량 증가를 확인할 수 있었다($p < 0.05$). 특히, 간에서 분해되지 않고 말초 조직과 근육에서 주로 대사되어 간경화 환자 등 간질환 환자에게 필요한 BCAA 중 valine 3.57배, leucine 2.04배,

isoleucine 2.64배가 고초균 발효물에서 크게 증가한 것을 확인하였다. 이런 결과를 종합해 볼 때, 쌍별 귀뚜라미 버섯균 사체 발효 시 유기물 함량이 감소하는 경향이 있으나 고초균 발효 시, 발효취가 충분히 제어된다면 원물에 비해 유리아미노산 및 미네랄 성분의 영양학적 측면에서 도움을 줄 수 있는 것으로 보여진다. 따라서 식용곤충 발효물은 에너지 보충식, 환자식 등 케어푸드의 식품소재로 활용 가능성이 높이고, 나아가 식용곤충 시장 활성화와 저변 확대에 영향을 줄 수 있을 것으로 기대된다.

감사의 글

본 논문은 농촌진흥청 연구사업(과제번호: PJ01283601) 지원에 의해 이루어진 것으로 이에 감사드립니다.

Conflict of Interest

No potential conflict of interest relevant to this article was reported.

References

- Ahn HY, Park KR, Yoon KH, Lee JY, Cho YS. 2015. Biological Activity and Chemical Characteristics of *Cordyceps militaris* Powder Fermented by Several Microscopic Organisms. *J. of Life Sci.*, 25(2):197-205
- Baek LM, Park YP, Park KS, Lee SH. 2008. Effect of Starter Cultures on the Ferment active Characteristics of Cheonggukjang. *Korean J. Food Sci. Technol.*, 40(4):400-405
- Baek SY, Kim JY, Baek CH, Choi JH, Choi HS, Jeong ST, Yeo SH. 2013. Quality characteristics of hwanggeumju as a traditional home-brewed liquor. *Korean J Food Preserve*, 20:127-133
- Capinera JL. 2008. *Encyclopedia of Entomology*, second ed. Springer Netherlands, Berlin, Germany, pp. 2630
- Cha JY, Kim YS, Ahn HY, Kang MJ, Heo SJ, Cho YS. 2011. Biological activity and biochemical properties of silkworm (*Bombyx mori* L.) powder fermented with *Bacillus subtilis* and *Aspergillus kawachii*. *J. Life Sci.*, 21: 81-88
- Cho JH, Zhao H, Chung CH. 2018. Analysis of volatile compounds in fermented seasoning pastes using edible insects by SPME-GC/MS. *Korean J. Food Sci. Technol.*, 50(2):152-164
- Choi HM. 2006. *The twenty-first century nutrition*. 5th ed. Gyomoonsa, Gyeonggi, Korea, pp 136-161
- Chung YI, Bae IY, Lee JY, Chun HS, Lee HG. 2009. Protective effects of branched-chain amino acid (BCAA)-enriched

- corn gluten hydrolysates on ethanol-induced hepatic injury in rats. *Korean J. Food Sci. Technol*, 41:706-711
- Cohn JN, Kowey PR, Whelton PK, Prisant M. 2000. New guidelines for potassium replacement in clinical practice, a complementary review by the national council on potassium in clinical practice. *Arch. Intern. Med.*, 160: 2429-2436
- Durst PB, Johnson DV, Leslie RN, Shono K. 2010. Edible forest Insects as food: human bite back. RAP publication, Bangkok, Thailand, pp 74
- Ghosh S, Lee SM, Jung CE, Rochow VB M. 2017. Nutritional composition of five commercial edible insects in South Korea. *Journal of Asia-Pacific Entomology*, 20:686-694
- Gim DW, Koo HY, Kim SG, Park JK, Kim YJ, Huh CK, Kim YD, Kim HJ. 2017. Quality characteristics and antioxidative activity of fermented milk added with hot water extract of *Cordyceps militaris* grown upon *Tenebrio molitor*. *Korean J. Food Preserve*, 24(8):1067-1078
- Huis A, Itterbeeck J, Klunder H, Mertens E, Halloran A, Muir G, Vantomme P. 2013. Edible insects: future prospects for food and feed security. FAO, Rome, Italy. Vol 171, p 118.
- Hutson SM, Sweatt AJ, Lanoue KF. 2005. Branched-chain amino acid metabolism: implications for establishing safe intakes. *J Nutr.*, 135:1557-1564
- Kim AJ, Yuh CS, Bang IS. 2007. A qualitative investigation of Dongchunghacho jelly with assorted increments of *Paecilomyces japonica* powder. *Korean J Food Nutr.*, 20: 40-46
- Kim CG, Jeong HK, Han SH, Kim JS, Moon DH. 2012. Impacts and countermeasures of climate change on food supply in Korea. Korea rural economic institute, Korea, pp 48-85
- Kim DS, Kim HS, Seo WT, Shin EC. 2018. Flavor and Taste Properties of Fermented Soybeans with Mycelia of *Tricholoma matsutake* and *Bacillus* sp. *J Korean Soc Food Sci Nutr.*, 47(1):107-115
- Kim TH, Ahn HY, Kim YW, Sim SY, Seo KI, Cho YS. 2018. Hepatoprotective Effect of *Bacillus subtilis*-fermented Silkworm (*Bombyx mori*L.) Extract on an Alcoholic Fatty Liver in Rats. *Journal of Life Science.*, 28(6):697-707
- Korea Health Statistics 2017. Ministry of Health and Welfare, Sejong, Korea, pp 143
- Korean Food Standards Codex 2019. Ministry of Food and Drug Safety, Cheongju, Korea, pp reference 3-2
- Lee BW, Paek MH. 1998. Anti-tum of activity of proteinbound polysaccharides extracted from mycelia of *Lentinus edodes*. *Korean J. Food Sci. Technol*, 30:665-671
- Lee JD (1998) mycology 3rd, Guduck publishing Co, Korea.
- Lee JY, Kim BK, Park HJ. 2013. Quality Characteristics and Antioxidant Activities of Fermented *Deodeok* Tea with *Pleurotus eryngii* Mycelium. *J East Asian Soc Dietary Life.*, 43(5):637-644
- Lee KW. 2016. Scientific review on safety of monosodium glutamate. *Food Science and Industry*, 49(3):48-61
- Macleod G, Ames JM. 1986. The effect of heat on beef aroma: comparisons of chemical composition and sensory properties. *Flavor Frag*, 1(3) :91-104
- Macrae R, Robinson, RK, Sadler MJ. 1993. Encyclopedia of Food Science, Food Technology and Nutrition, Academic Press, London, pp 192-206
- Park YA, Bak WC, Ka KH, Koo CD. 2017. Comparative analysis of amino acid content of *Lentinula edodes*, a new variety of shiitake mushroom, in 'Poongnyunko'. *J. Muchrooms.*, 15(1):31-37
- Pemberton RW. 1988. The use of the *Thai giant waterbug Lathocerus indicus* (Hemiptera: Belostomatidae) as human food in California. *Pan Pac Ento mol.*, 64(1):81-82
- Premalatha M, Abbasi T, Abbasi T, Abbasi S. 2011. Energy-efficient food production to reduce global warming and ecodegradation : the use of edible insects. *Renew Sust Energy Rev.*, 15(9):4357-4360
- Sargent MG. 1987. Fiftyfold amplification of the Lowry protein assay. *Anal Biochem*, 163(2):476-481
- UN. 2013. World Population Prospects: The 2012 Revision. UN, NewYork, USA
- Wasserman AE, Gray N. 1965. Meat flavor..fractionation of water-soluble flavor precursors of beef. *J Food Sci.*, 30: 801-807
- Zhao H, Cho JH, Chung CH. 2018. Characteristics of seasoning pastes fermented by *Aspergillus oryzae* and *Bacillus subtilis* using edible insects. *Korean J. Food Sci. Technol*, 50(3):297-307
- Ministry of Food and Drug Safety. New Food Ingredients Status. Available from: https://www.mfds.go.kr/brd/m_99/view.do?seq=41960, [accessed 2019.10.01]