

초임계이산화탄소 탈지 밀웜(*Tenebrio molitor*) 분말 및 분리단백의 이화학적 품질 특성

김양지¹ · 김석중^{1,*}

¹동덕여자대학교 식품영양학과

Physicochemical properties of supercritical carbon dioxide defatted mealworm (*Tenebrio molitor*) powder and protein isolate

Yangji Kim¹ and Seok Joong Kim^{1,*}

¹Department of Food and Nutrition, Dongduk Women's University

Abstract Supercritical carbon dioxide (sCO_2) extraction was applied for the defatting of mealworm to prepare defatted powder (DP) and protein isolate (PI) and compare the process to press and hexane extraction, with respect to DP and PI physicochemical properties. sCO_2 DP was obtained by extracting 34.40% oil at 41.37 MPa, 40°C for 180 min, and the product contained 71.66% crude protein, which is similar to that of hexane DP and higher than that of press DP. In using alkali protein extraction to prepare PI from DP, sCO_2 was as effective as hexane and better than press. sCO_2 produced brighter DP and PI than press, but not as much as hexane. Protein solubility was similar in all DP, with minimum values at pH 5. The highest water adsorption capacity was noticeable for sCO_2 PI, and sCO_2 DP showed an oil adsorption capacity comparable to that of hexane DP. sCO_2 DP and PI had better foaming capacity than press DP and PI and showed superior emulsion activity compared to others.

Keywords: mealworm, supercritical carbon dioxide, defatted powder, protein isolate, physicochemical properties

서 론

식용곤충은 세계 113국에서 2000종 이상 식용되고 있으나 곤충섭취에 대한 거부감으로 인해 그 이용도는 매우 낮은 편이다(Kouřimská와 Adámková, 2016). 그러나 앞으로 전 세계적인 인구증가가 예상됨에 따라 식량, 특히 전통적인 동물 단백질원의 공급 부족이 우려되고 있어 새로운 대체 단백질 자원의 발굴이 필요한 상황이다(Godfray 등, 2010). 식용곤충은 가축에 비해 낮은 사육면적 및 온실가스 배출과 수질오염, 그리고 높은 사료전환 효율로 인해 고비용의 동물 단백질에 대한 대체자원으로 여겨지고 있고, 식량농업기구(FAO)도 식량난 해소 및 환경을 보호할 수 있는 미래 식량자원으로 인정하고 있다(Nowak 등, 2016; Van Huis 등 2013). 국내의 경우 2016년 식품공전에 누에(*Bombyx mori*), 백강잠(*Bombycis corpus*), 벼메뚜기(*Oxya chinensis sinuosa*), 갈색거저리(*Tenebrio molitor*) 유충, 흰점박이꽃무지(*Protaetia brevitarsis*) 유충, 쌍별귀뚜라미(*Gryllus bimaculatus*), 장수풍뎅이(*Allomyrina dichotoma*) 유충의 7종이 식용으로 유통, 판매가 가능한 곤충으로 등록되었다(MSDS, 2016). 특히, 전 세계적으로 널리 분포되어 있는 갈색거저리의 유충인 밀웜은 중국, 네덜란드를

포함한 많은 나라에서 식용되고 있고 단백질 공급원으로서 관심이 높은 곤충 중의 하나이다(Nowak 등, 2016; Van Huis 등, 2016). 밀웜은 대부분 아미노산을 만족시키는 단백질이 건물 기준으로 약 50% 정도의 많은 단백질을 함유하고 있고, 불포화 지방이 함량이 약 75% 정도인 지방이 약 30%로 풍부할 뿐 아니라 비타민, 무기질 성분도 많이 함유하고 있다(Rumpold와 Schlter, 2013; Ravzanaadii 등, 2012; Finke, 2002). 또한 추출물(Mattia 등, 2019; Baek 등, 2017b)과 단백질 가수분해물(Yu 등, 2017)의 항산화 활성, 단백질 가수분해물의 혈압강화 효과(Cito 등, 2017) 등도 확인되어 밀웜은 기능성 식품소재로의 활용 가능성도 제기되었다.

그러나 곤충섭취에 대한 거부감으로 인해 밀웜은 주로 분말로 가공하여 시리얼(Azzollini 등, 2018), 식빵(Kim, 2017), 도토리묵(Lee 등, 2017), 소시지(Kim 등, 2016), 쿠키(Min 등, 2016)에 첨가하거나 분말 추출차(Woo 등, 2019) 등에 활용하려는 연구가 진행되었다. 하지만 대부분은, 동결이나 건조한 밀웜을 그대로 분쇄하여 얻은 분말을 사용하는데 이 경우 밀웜에 존재하는 높은 지방 함량으로 인해 분쇄효율이 낮고 응집성이 강하며(Son과 Hwan, 2017), 산패에 의한 품질 열화 및 낮은 저장성 등의 문제가 있다(Bufler 등, 2016). 그러므로 밀웜의 분말화 전에 미리 탈지시키는 것은 이 같은 문제점을 줄여 품질이 우수한 분리단백의 제조에도 매우 중요하다고 알려져 있다(Son과 Hwan, 2017; Yi 등, 2017). 그러나 밀웜의 탈지와 관련된 대부분의 연구는 전통적인 방법인 압착을 하거나 용매(에터, 에탄올, 헥산 등) 추출에 의한 것(Bufler 등, 2016; Son과 Hwan, 2017; Zhao 등, 2016)으로 낮은 탈지율, 갈변 발생, 열분해, 잔존용매 및 독성, 인화성, 낮은 선택성, 환경오염 등의 문제가 있다. 이에 비해 초임계이산

*Corresponding author: Seok Joong Kim, Department of Food and Nutrition, Dongduk Women's University, Seoul 02748, Korea
Tel: +82-2-940-4466
Fax: +82-2-940-4610
E-mail: skim@dongduk.ac.kr
Received September 27, 2020; revised October 6, 2020;
accepted October 6, 2020

화탄소(supercritical carbon dioxide, $s\text{CO}_2$) 추출법은 기존의 압착 탈지나 용매탈지의 단점을 개선할 수 있는 친환경 기술로 알려져 있다(Martnez와 De Aguiá 2014).

어떤 물질이 임계점 이상의 온도 및 압력 조건에 도달 시 액체와 기체의 중간 특성, 즉 낮은 점도와 표면장력 및 높은 확산 특성을 보이는 유체를 초임계유체라 하는데, 다른 물질에 비해 이산화탄소는 비교적 낮은 임계점(31°C , 7.38 MPa)에서 $s\text{CO}_2$ 가 된다. $s\text{CO}_2$ 는 화학적 반응성, 독성, 폭발성 및 부식성이 없고 불연성이며 재활용이 가능하고 비극성을 나타내 지방의 추출에 많이 이용되며 낮은 온도에서 작업이 가능하므로 열에 불안정성 물질 추출에도 적합한 유체이다(Martnez와 de Aguiá, 2014; Roy 등, 2006). 그러므로 탈지 밀웜분말 제조 시 $s\text{CO}_2$ 탈지는 기존의 압착이나 용매탈지의 문제점을 개선할 수 있다. 최근 Purschke 등 (2016)이 밀웜에 $s\text{CO}_2$ 를 적용한 연구를 수행한 바 있으나 이는 추출된 유지의 활용과 관련된 연구로 탈지 분말에 관한 연구는 이루어진 바가 없다.

이에 본 연구에서는 인체에 무해한 친환경 용매로서 다양한 장점을 지닌 $s\text{CO}_2$ 를 이용하여 밀웜에서 지방을 제거한 탈지 분말을 제조하고, 이로부터 분리단백을 얻은 후 고단백 식품소재로써 필요한 물리화학적 특성을 분석하였다. 또한 압착탈지 및 헥산탈지로 얻어진 분말과 분리단백과도 그 특성을 비교하였다.

재료 및 방법

재료

본 연구에서 사용한 밀웜은 (주)MG 내츄럴의 진공건조 제품인 ‘골드고소애’(Jeonnam, Korea)로 실험 전에 가정용 믹서로 분쇄하여 사용하였다. $s\text{CO}_2$ 제조를 위해서 99.99%의 싸이펀타입 이산화탄소(Dong-A Specialty Gases & Dong-A Scientific, Seoul, Korea)를 사용하였고 기타 분석시약이나 n -헥산 등 추출용 용매는 분석용 등급을 사용하였다.

탈지 분말 제조

$s\text{CO}_2$ 로 탈지한 밀웜분말 제조를 위해서, 고압정량정압 펌프(CP-Class, Scientific Systems Inc., State College, PA, USA), 100 mL 추출조(Hanyang Sci., Seoul, Korea), 유속/압력 조절용 metering valve (Autoclave Engineers, Erie, PA, USA), 추출물의 수집기, gas flow meter (Kofloc, Kyoto, Japan) 등으로 구성된 초임계 장치를 사용하였다(Kim 등, 2019b). 즉, 40°C 로 조절된 추출조에 분쇄 밀웜 20g을 넣은 후 이산화탄소를 공급하여 41.37 MPa 압력에 도달시켜 초임계 유체화 시킨 후 1시간 동안 static extraction을 실시하였다. 그 다음 41.37 MPa 을 유지시키면서 2 L/min 의 유속으로 이산화탄소를 배출시키며 추출되는 유지의 양이 더 이상 증가하지 않을 때까지 dynamic extraction을 실시한 후 추출을 멈추고 추출조에 남은 잔사를 분쇄하여 $s\text{CO}_2$ 탈지 분말을 얻었다. 압착탈지 분말은 50g의 분쇄 밀웜을 가정용 착유기(Oil extractor DO-1000, Oska Electronics Co., Ltd., Gyeongnam, Korea)에 넣어 114°C 로 가열하면서 스크루 압착방식으로 착유하고 남은 잔사를 분쇄하여 제조하였고, 헥산탈지 분말은 밀웜 15g에 100 mL 헥산을 가한 후 자동 Soxhlet 추출기(Extraction unit E-816, Bchi Labortechnik AG, Flawil, Switzerland)를 이용해 68.7°C 에서 2h 동안 탈지 후 남은 잔사를 분쇄하여 제조하였다. 3종의 탈지 분말로부터 20 mesh체를 통과시켜 얻은 탈지 분말을 이후의 실험에 이용하였으며, 탈지 분말 회수율은 탈지 후 남은 잔사의 백분율로 비교하였다.

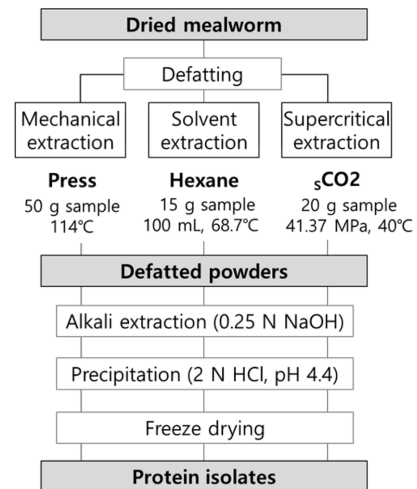


Fig. 1. Scheme for preparing procedure of defatted powder and protein isolate from dried mealworm. Press, hexane and $s\text{CO}_2$ (supercritical carbon dioxide) indicate the different defatting methods.

분리단백의 제조

각 탈지 분말로부터 분리단백의 제조는 Zhao 등(2016)의 방법에 준하여 실시하였다. 먼저 탈지 분말 20g에 0.25 N NaOH 용액 300 mL를 첨가한 후 상온에서 60 min 동안 교반시키면서 단백질을 추출한 다음 4°C , $3,500\times\text{g}$ 조건에서 20 min 동안 원심분리한 후 상등액을 취하였다. 남은 침전물에 대해서 동일한 방식으로 0.25 N NaOH 용액 250 mL로 재추출하고 얻어진 상등액을 앞서 얻은 상등액과 혼합 후 2 N HCl 용액을 가해 pH 4.4로 조절하여 침전을 유도하였다. 이 후 4°C , $2,500\times\text{g}$ 조건에서 15 min 간 원심분리한 다음 얻어진 침전물을 2회 세척(250 mL 증류수로 세척 후 원심분리)하여 최종 침전물을 얻은 후 동결건조하여 분리단백으로 하였다. 분리단백 수율(%)은 탈지 분말 사용량으로부터 얻어진 동결건조 분리단백의 백분율로 계산하였으며 단백질 추출률(%)은 (분리단백의 단백질 함량/탈지 분말의 단백질 함량) × 분리단백 수율(%)의 식으로 계산하였다. 탈지 분말과 분리단백에 존재하는 단백질 함량은 Bradford법(Bradford, 1976)으로 분석하였으며 bovine serum albumin (Sigma-Aldrich, St. Louis, Missouri, USA)을 정량의 표준물질로 사용하였다.

한편, Fig. 1에 3종류의 탈지 분말 및 분리단백 제조에 대한 전체 과정을 나타내었다.

성분 분석

밀웜의 일반성분은 AOAC 표준법에 준하여 Kim 등(2018)의 방법에 따라 분석하였다. 즉, 수분 함량은 105°C 상압가열 건조법, 조지방 함량은 diethyl ether를 사용한 Soxhlet법, 조단백질 함량은 Kjeldahl 법(질소계수 6.25), 조회분 함량은 550°C 에서의 회화법으로 측정하였고 이들 성분 함량을 제외한 값은 탄수화물 및 기타성분 함량으로 하였다.

아미노산 분석을 위해서는 Kim 등(2018)의 방법에 준하여 분석시료를 준비한 후 아미노산 분석기(L-8900 amino acid analyzer, Hitachi Co. Ltd., Tokyo, Japan)를 이용하였다. 먼저, 유리용기에 일정량의 분쇄 밀웜을 취한 후 밀웜 단백질 양의 약 1,000배량(10 mL)에 해당하는 6 N HCl 용액(0.05% (w/v) 2-mercaptoethanol 함유)을 가하였다. 이를 동결시킨 다음 탈지장치를 이용해 용해와 동결을 반복하면서 충분히 탈지시키고 유리용기를 봉관시켰

다. 그 다음 110±1°C에서 22-24 h 동안 가열하여 단백질을 가수 분해시킨 후 봉관을 절단하고 즉시 감압하여 40°C에서 농축건조를 반복하여 HCl을 최대한 제거하였다. 여기에 0.02 N HCl 용액을 가한 후 0.45 µm 필터로 여과하여 분석 시료를 준비하였다. 그 다음 Hitachi custom ion-exchange resin 2622 (4.6 mm×60 mm, particle size 5 µm)가 장착된 아미노산 분석기를 이용해 주입 시료량 10 µL, 완충액 lithium citrate buffer, 반응액 ninhydrin, 유속 0.4 mL/min, 칼럼온도 57°C, 반응코일 온도 135°C의 조건에서 분석을 실시하였다. 정량은 아미노산 혼합 표준품(Fujifilm Wako Pure Chem. Corp., Osaka, Japan)을 이용한 외부표준물질법으로 수행하였다.

품질 특성 분석

밀웜에서 제조한 탈지 분말과 분리단백의 가공적성과 관련된 품질 특성으로 다음의 항목들을 분석하였다.

색도는 시료 10.0 g을 60Φ petri dish (SPL Life Sciences, Pocheon, Korea)에 담아 색차계(CR-400, Konica Minolta Inc., Osaka, Japan)로 측정하였다. 색도 값은 Hunter Lab 색체계를 이용하여 명도(L*), 적색도(a*), 황색도(b*)로 나타내었고 보정용 표준 백색판은 L*=93.26, a*=-0.67, b*=3.49이었다

단백질 용해도는 Zieliska 등(2018)의 방법을 일부 변형시켜 분석하였다. 탈지 분말은 0.1 g, 분리단백은 0.5 g을 각각 증류수 10 mL에 분산시킨 후 1.0 M의 HCl 또는 2.5 M NaOH용액을 사용해 pH를 2-11로 조절한 다음 30 min 간 교반하였다. 그 다음 상온에서 원심분리(12,000×g, 10 min)한 후 얻어진 상등액에서의 단백질 함량을 측정하였다. 각 pH 조건에서 단백질의 용해도(%)는 시료 중 총 단백질 함량에 대한 시료 중 용해성 단백질 함량의 백분율로 계산하였다. 총 단백질 함량은 0.5 N NaOH 용액에 시료를 5 mg/mL 농도로 용해시킨 후 분석하였다.

수분 흡착력과 유지 흡착력은 Zhao 등(2016)의 방법에 따라 측정하였다. 수분 흡착력 측정을 위해 시료 1.0 g에 증류수 10 mL를 첨가하여 5 min 간 교반하면서 분산시킨 다음 상온에서 2,060×g 조건에서 10 min 간 원심분리하였다. 이 후 분리된 물은 조심스럽게 메스실린더에 옮겨 담은 후에 부피를 측정하여 시료 1.0 g 당 부착된 물의 양(mL/g)으로 시료의 수분 흡착력을 나타내었다. 지질흡착력은 미리 칭량한 15 mL 원심관 튜브에 시료를 0.3 g씩 넣고 대두유 3 mL를 첨가한 다음 5 min 간 vortexing 시켰다. 그 다음 상온에서 원심분리(2,060×g, 30 min)하여 분리된 상등액은 버린 후 튜브의 무게를 측정하여 시료 1.0 g에 흡착된 지질의 양(g/g)으로 유지 흡착력을 산출하였다.

거품 형성력 및 거품 안정성은 Zieliska 등(2018)의 방법을 일부 변형하여 분석하였다. 눈금이 있는 50 mL 원심관 튜브에 시

료 0.2 g을 넣고 증류수 20 mL를 첨가한 다음 부피를 측정하였다(V). 이후 homogenizer (Ultra-Turrax T 25 Basic, IKA, Staufenim Breisgau, Germany)를 이용해 16,000 rpm 속도에서 2 min 간 균질화시켜 거품을 형성시킨 다음 튜브를 한 번 뒤집어 거품 경계를 일정하게 한 후 경계까지의 부피를 측정하였다(V₀). 그 다음 튜브를 30 min 간 정치시킨 후 거품 경계까지의 부피를 다시 측정하였다(V₃₀). 거품 형성력은 원래 부피(V)에 비해 거품 생성으로 늘어난 부피(V₀-V)의 백분율로 나타내며, 거품 안정성은 거품 형성 초기의 부피(V₀)에 대한 나중 부피(V₃₀)의 백분율로 산출하였다.

유화력 및 유화 안정성은 Son과 Hwang(2017)의 방법을 일부 변형하여 측정하였다. 15 mL 원심관 튜브에서 시료 0.03 g을 증류수 7.5 mL에 분산시킨 다음 대두유 0.3 mL를 추가하고 homogenizer로 균질화(24,000 rpm, 1 min)시켜 유화액을 제조하였다. 이 중 40 µL를 취해 0.1% SDS 3 mL와 섞은 뒤 500 nm에서의 흡광도(Spectrophotometer, Optizen 2120UV, Mecasys, Daejeon, Korea)를 측정 후 2.303을 곱하여 얻은 값을 유화력으로 하였다. 제조한 유화액은 4°C에서 12 h 동안 정치시킨 후에 동일한 방법으로 유화력을 다시 측정하여 제조 직후 유화액의 유화력에 대한 백분율로서 유화 안정성을 산출하였다.

통계처리

아미노산 분석을 제외한 모든 실험은 3회 이상 반복 측정하여 그 결과를 평균±표준편차로 표시하였고 SPSS (Statistical Package for Social Sciences, Version 18.0, IBM-SPSS Inc., Chicago, IL, USA)를 이용해 각 시료들 간의 유의차는 사후검정(Duncan's multiple range test)을 통해 p<0.05 수준에서 나타내었다.

결과 및 고찰

밀웜의 조성

밀웜의 성분은 식이, 연령, 크기, 생육환경 등 다양한 요인에 의해 차이가 날 수 있다고 알려져 있다(Finke, 2002). 본 연구에서 사용한 진공건조 밀웜의 경우(Table 1), 조단백질 함량은 41.86%로 기존의 다른 연구(Baek 등, 2017a; Kim 등, 2019a; Yi 등, 2017; Zhao 등, 2016)에서 보고된 50% 수준보다는 다소 낮았다. 반면 조지방 함량은 35.72%로 다른 연구에 비해 다소 높거나(Baek 등, 2017a; Zhao 등, 2016) 유사한 수준(Jones 등, 1972)이었다. 탄수화물을 포함한 기타성분은 14.45%로 타 연구에 비해 다소 높았는데, 특히 탄수화물은 밀웜 장관에 존재하는 식이 유래 탄수화물에 의한 영향이 있다고 알려져 있다(Son과 Hwang, 2017; Zhao 등, 2016).

한편, 밀웜의 단백질은 WHO (World Health Organization) 권장

Table 1. Recovery yields and proximate composition of dried mealworm and defatted powder

Mealworm	Yield ¹⁾ (%, w/w)	Composition(%, w/w)					
		Moisture	Ash	Protein	Lipid	Others ³⁾	
Dried mealworm	-	5.02±0.16 ²⁾	2.96±0.15 ^a	41.86±0.15 ^a	35.72±0.07 ^a	14.45	
Defatted powder	Press ⁴⁾	62.30±4.43 ^{ab}	4.04±0.14 ^b	3.88±0.03 ^b	65.95±3.39 ^b	5.48±0.02 ^b	20.64
	Hexane	58.84±0.26 ^a	3.52±0.08 ^c	4.03±0.02 ^b	73.55±2.35 ^c	0.13±0.00 ^c	18.77
	CO ₂	64.11±0.46 ^b	5.27±0.02 ^a	4.27±0.01 ^c	71.66±2.74 ^c	2.69±0.00 ^d	16.11

¹⁾Amount of defatted powders obtained from 100 g dried mealworm.

²⁾Data represents the mean±one standard deviation (n=3). Different letters within a column indicate significantly different values according to Duncan multiple range test (p<0.05).

³⁾e.g. carbohydrates and vitamins.

⁴⁾Press, hexane, and CO₂ indicate the defatting methods.

Table 2. Amino acid composition of dried mealworm

Essential amino acid (%)		Non-essential amino acid (%)	
Isoleucine	1.72	Alanine	3.71
Leucine	3.58	Arginine	2.45
Lysine	2.49	Aspartic acid	4.00
Methione	0.39	Glutamic acid	5.65
Phenylalanine	1.79	Glycine	2.51
Threonine	1.92	Proline	2.80
Valine	3.12	Serine	2.38
Histidine	1.46	Tyrosine	3.29

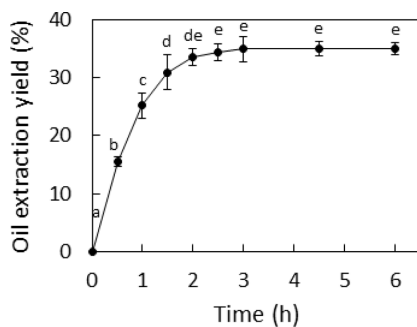


Fig. 2. Yield of oil extraction from dried mealworm by supercritical carbon dioxide of 41.37 MPa and 40°C. Data represents the mean±one standard deviation (n=3). Different letters indicate significantly different values according to Duncan multiple range test ($p<0.05$).

량을 만족하는 수준으로 대부분의 필수아미노산을 함유하고 있다고 알려져 있다(Rumpold와 Schlier, 2013). 본 연구에서 분석한 결과에 따르면 Table 2에서와 같이 필수아미노산 중에는 leucine, lysine 및 valine 함량이 높았고 비필수아미노산 중에는 glutamic acid, aspartic acid, alanine, tyrosine의 함량이 높았는데 이 같은 함량과 조성비는 Back 등(2017a)의 결과와 유사하였다.

이처럼 밀웜이 대부분의 필수아미노산을 함유한 우수한 고단백질 공급원임에도 불구하고 곤충섭취에 대한 거부감으로 인해 분말화 소재로 활용하고 있으나 높은 지방 함량(Table 1)이 분말의 제조 및 품질, 저장성에 문제를 일으키므로, 탈지는 매우 중요한 처리 공정이다(Son과 Hwang, 2017; Yi 등, 2017; Bufler 등, 2016).

SC₂O₂탈지 분말 및 분리단백

SC₂O₂탈지 분말을 제조하기 위해 분쇄밀웜 20 g을 41.37 MPa, 40°C의 SC₂O₂로 추출하면서 탈지되는 유지의 양을 시간에 따라 측정하였다. 그 결과(Fig. 2), 3시간 이후에는 유지 추출률이 34.4%에 도달한 이후 변화가 없어 이를 SC₂O₂탈지의 완료 시점으로 하였다. 탈지가 완료된 후에는 추출조에 남은 잔사를 분쇄하여 SC₂O₂탈지 분말을 제조한 후 압착탈지 분말, 핵산탈지 분말과 일반성분을 비교하였다.

Table 1에 나타난 바와 같이 모든 탈지 분말은 탈지 전 밀웜에 비해 지방 함량의 감소와 단백질 함량이 유의적으로 증가하였으며 SC₂O₂탈지는 핵산탈지에 비해 분말에서의 지방 함량이 다소 높았지만, 단백질 함량은 71.66%로 핵산탈지와 유의적인 차이는 없었다. 핵산탈지 분말을 얻기 위해서는 탈지 후 용매를 제거하는 추가적인 공정이 필요하고 용매의 잔류위험이 있지만,

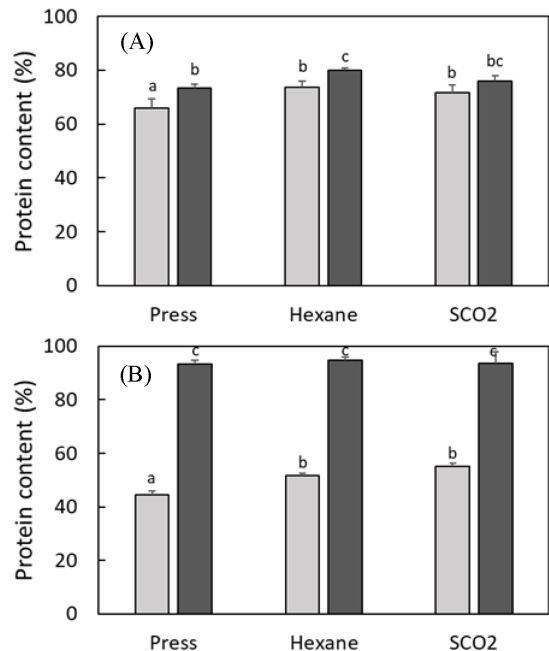


Fig. 3. Protein contents of defatted powder (pale) and protein isolated (dark) of mealworm measured by Kjeldahl (A) and Bradford assay (B). Press, hexane, and SC₂O₂ indicate the defatting methods. Data represents the mean±one standard deviation (n=3). Different letters indicate significantly different values according to Duncan multiple range test ($p<0.05$).

SC₂O₂는 무독성으로 추출과 더불어 제거되기에 추출온도도 낮아 단백질의 포함 성분 변화도 최소화될 수 있다(Marion 등, 2010; Roy 등, 2006). 이러한 장점과 탈지 분말에서의 단백질 함량을 고려했을 때 SC₂O₂의 사용은 의미가 있다고 할 수 있다. 더욱이 탈지 분말 수율도 SC₂O₂탈지(64.11%)가 핵산탈지(58.84%)보다 높은 것으로 나타났다(Table 1). 압착탈지의 경우 SC₂O₂탈지와 비교 시 탈지 분말 수율은 유사(62.30%)하였지만 탈지효과 및 분말의 단백질 함량에서는 가장 낮았다. 한편, Son과 Hwang(2017)은 핵산탈지가 압착탈지보다는 효율적이라고 보고하였으나 탈지 분말에서의 잔존 지방 함량이 높아 본 연구와 차이를 보였다. 이는 본 연구에서 핵산탈지 시 개량형의 Soxhlet 방식으로 상온이 아닌 고온으로 가열하며 추출하였고 압착탈지에서도 고온(114°C)에서 스크루 압착에 의한 탈지한 것과 관련이 된다고 판단된다.

SC₂O₂, 압착 및 핵산탈지 분말로부터 분리단백을 얻어 단백질 함량을 Kjeldahl 및 Bradford 두 가지 방법으로 분석한 결과, 단백질 함량이 증가한 것으로 나타났다(Fig. 3). 그러나 분석법에 따른 차이를 보였는데, 탈지 분말의 단백질 함량은 Kjeldahl법에서 높았던 반면 분리단백의 단백질 함량은 Bradford법에서 높았다. 예를 들어 SC₂O₂탈지 분말의 단백질 함량은 Kjeldahl법 측정치(71.66%)가 Bradford법 측정치(55.00%)보다 높았던 반면, 분리단백에서는 Bradford법 값(93.67%)이 Kjeldahl법 값(75.98%)보다 높았다. 이는 두 방법의 단백질 정량 원리 및 그에 따른 오차 발생의 가능성에 기인한 것으로 생각된다. 즉, Kjeldahl법은 총 질소함량 분석 후 질소계수 6.25를 곱해 단백질을 정량하는데 비단백질 질소의 존재 때문에 단백질 함량이 더 높게 나오는 오차가 발생할 수 있으며, Bradford법은 Coomassie blue 250 시약이 주로 단백질의 arginine 및 lysine 잔기에 결합하여 발색하는 원리를 이용하여 단백질을 정량하는 것으로 단백질 종류에 의한 오차가

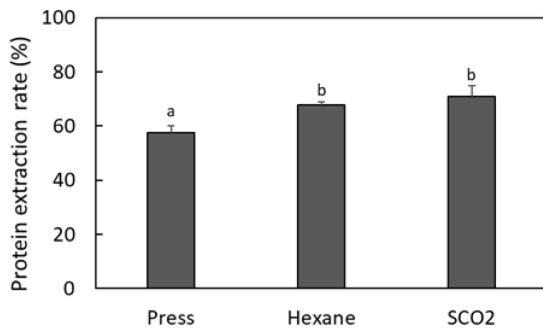


Fig. 4. Extraction rate of protein during protein isolate preparation from defatted powder of mealworm. Press, hexane, and s CO₂ indicate the defatting methods. Data represents the mean±one standard deviation (n=3). Different letters indicate significantly different values according to Duncan multiple range test ($p < 0.05$).

나타날 수 있다(Mæhre 등, 2018; Bradford 1976). 실제 탈지 분말에는 키틴 유래의 비단백태 질소가 존재하여(Nowak 등, 2016; Finke, 2007) 분리단백보다는 Kjeldahl법에 의한 오차발생이 클 수 있고, Bradford법에서는 정량용 표준물질로 밀웬 단백질과는 다른 BSA를 사용한 것이 오차발생에 기여할 수 있다고 생각된다. 즉 이러한 두 방법의 차이가 탈지 분말과 분리단백에서의 단백질 함량 값에 영향을 줄 수 있다고 생각된다.

한편, 탈지방법에 따른 탈지 분말 100 g으로부터 얻어지는 분리단백의 양(분리단백 수율)을 비교한 결과, s CO₂탈지 분말(41.56%)이 가장 높았고 압착탈지 분말(22.39%)이 가장 낮았으며 헥산탈지 분말(37.10%)은 중간 수준이었다. 이러한 차이는 s CO₂탈지가 고온으로 가열되는 압착이나 헥산탈지에 비해 저온에서 수행되기에 성분 변화가 가장 적고, 이러한 현상이 높은 수율과 관련된다고 생각되지만 이에 대한 정확한 설명을 위해서는 추가적인 연구가 필요하다고 판단된다. 탈지 분말에 존재하는 단백질 중 분리단백으로 추출되는 단백질 추출률(%)을 측정한 결과는 Fig. 4에 나타내었으며, 이때 단백질 함량은 비단백태 질소의 오차를 줄이기 위해 Bradford법으로 분석하였다. 그 결과, s CO₂탈지 분말의 단백질 추출률(70.84%)이 가장 높았고 압착탈지 분말의 단백질 추출률(57.46%)이 가장 낮았다. 헥산탈지 분말은 s CO₂탈지 분말보다 단백질 추출률이 조금 낮았으나(67.95%) 유의적 차이는 없었다. 이러한 결과로부터, 분리단백의 제조 시 분리단백의 수율 및 단백질 추출률 측면에서 s CO₂탈지처리가 다른 탈지처리에 비해 우수하다고 판단되었다.

품질 특성

각 탈지 분말과 이로부터 얻어진 분리단백의 색도를 분석한 결과를 Table 3에 나타내었다. s CO₂탈지 분말은 명도, 적색도, 황

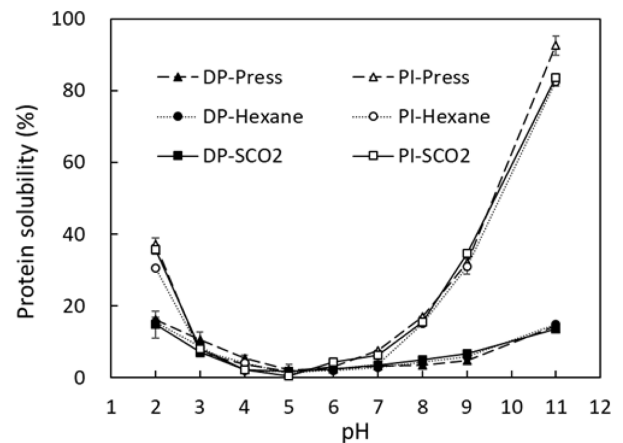


Fig. 5. Protein solubility profile of defatted powder (black) and protein isolate (white) of mealworm. Press, hexane, and s CO₂ indicate the defatting methods. Data represents the mean±one standard deviation (n=3).

색도 값에서 헥산탈지 분말과 압착탈지 분말 사이에 위치하였으나 전반적으로는 헥산탈지 분말과 더 가까웠다. Son과 Hwang (2017)은 헥산탈지의 경우 높은 L* 값, 낮은 a*, b* 값을 나타내는 이유로 지방과 멜라닌 색소가 용출된 결과로 추정하였다. s CO₂탈지 분말은 헥산탈지 분말과 마찬가지로 분리단백 제조 시 L* 값이 낮아져 어두운 경향을 나타냈는데 이는 높은 pH에서 단백질을 추출하면서 단백질 농도의 증가와 화학적 갈변이 증가한 결과로 판단된다(Bufler 등, 2016; Omana 등, 2010). 반면 압착탈지 분말에서 얻은 분리단백은 명도가 증가하였으나 s CO₂나 헥산탈지에 비해서는 여전히 낮은 편이었다.

물에서의 용해도는 단백질의 가장 중요한 물리화학적, 기능적 성질 중 하나로서 식품에서 거품, 유화, 젤의 형성 등에서 매우 중요하며 단백질의 수화과 소수성 정도에 기인한다(Sathe와 Salunkhe, 1981). 또한, 넓은 pH 범위에서 용해도 우수한 단백질은 산성, 알칼리성 식품의 식품 첨가물로서 활용성이 높다. 이에 pH에 따른 밀웬 탈지 분말과 분리단백의 단백질 용해도를 측정하여 그 결과를 Fig. 5에 나타내었다. 단백질 용해도는 0.5 N NaOH로 추출되는 총 단백질 중 여러 pH에서 용해되는 단백질의 함량으로 나타내었는데, 이때 단백질 함량 분석은 비단백태 질소 등 시료의 순도에 의해 영향을 크게 받는 Kjeldahl법보다는 이에 대한 영향이 적고 빠른 분석이 가능한 Bradford법으로 하였다(Paredes-Lopez 등, 1989). s CO₂탈지 분말과 분리단백에서 pH에 따른 단백질 용해도는 pH 5에서 최저였고 이후 산성이나 염기성으로 진행될수록 증가하였으며 분리단백의 용해도가 탈지 분말보다 높게 나타났다. 분리단백에 대해 Zhao 등(2016)와 Zieliska 등(2018)도 유사한 단백질 용해도 특성을 보고한 바 있다. 탈지

Table 3. Hunter Lab color of defatted powder and protein isolate of mealworm

Color	Defatted powder			Protein isolate		
	Press ²⁾	Hexane	s CO ₂	Press	Hexane	s CO ₂
L*	48.63±0.15 ^{a1)}	72.73±0.48 ^b	70.90±0.30 ^c	51.95±0.07 ^d	61.50±0.29 ^e	58.35±0.58 ^f
a*	7.63±0.07 ^a	2.77±0.09 ^b	3.44±0.06 ^c	6.12±0.03 ^d	2.85±0.03 ^b	3.23±0.14 ^c
b*	15.39±0.06 ^a	12.22±0.07 ^b	14.27±0.10 ^c	14.28±0.10 ^c	9.80±0.05 ^d	10.80±0.29 ^e

¹⁾Data represents the mean±one standard deviation (n=3). Different letters within a column indicate significantly different values according to Duncan multiple range test ($p < 0.05$).

²⁾Press, hexane, and s CO₂ indicate the defatting methods.

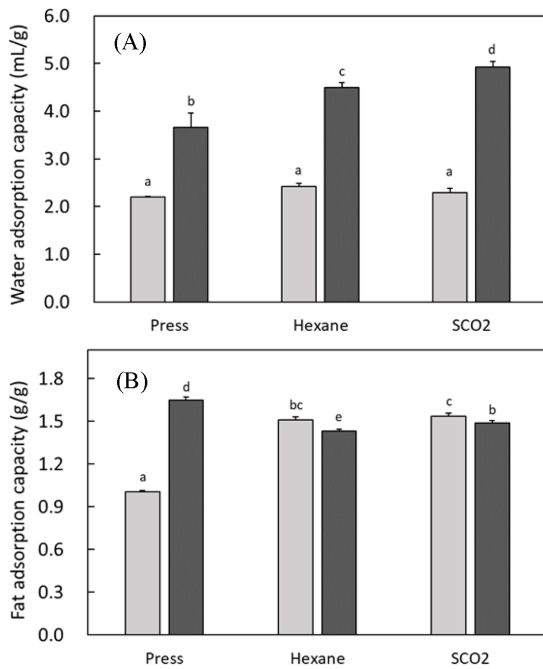


Fig. 6. Water adsorption capacity (A) and oil adsorption capacity (B) of defatted powder (pale) and protein isolate (dark) of mealworm. Press, hexane, and s CO $_2$ indicate the defatting methods. Data represents the mean \pm one standard deviation (n=3). Different letters indicate significantly different values according to Duncan multiple range test ($p<0.05$).

방법 간에 이러한 용해도 특성 차이는 거의 없는 것으로 나타났다.

탈지 분말과 분리단백의 수분 흡착력을 분석한 결과(Fig. 6), 탈지 분말(2.20-2.42 mL/g) 보다는 분리단백의 제조로 수분 흡착력이 크게 상승(3.67-4.94 mL/g)하였음을 알 수 있었다. Zieliska 등(2018)은 분리단백이 탈지 분말에 비해 비타민, 미네랄, 지방산 또는 키틴이 없고 제조비용이 크더라도 높은 수분 흡착력으로 인해 빵 제품 등의 품질 개선 소재로 쓰일 수 있다고 하였다. 3종류의 분리단백에 대한 수분 흡착력 비교에서 s CO $_2$ 탈지 분리단백이 4.94 mL/g로 가장 높은 값을 보였으며 이는 Zieliska 등(2018)이 보고한 분리단백보다 높았다.

단백질의 유지 흡착력은 입속에서의 느낌, 향미 유지 또는 기호성 향상과 관련되므로 베이커리, 간식 및 육류 대용품 등 많은 식품 분야에서 중요하다(El Nasri와 El Tinay, 2007). 3종의 탈지 분말은 수분 흡착력에서는 차이가 없었던 반면, 유지 흡착력은 s CO $_2$ 및 헥산탈지 분말에서 높았으며 분리단백에서는 다소 감소하였다(Fig. 6). 반면, 압착탈지 분리단백에서는 유지 흡착력이 증가하였다. 유지 흡착력은 분말에서 지방이 적고 단백질이 많은 경우에 높으며 소수성 잔기의 존재도 중요하다고 알려져 있다(Zieliska 등, 2018; Sathe 등, 1982). 이에 지방이 상대적으로 많고 단백질이 적었던 압착탈지 분말은 유지 흡착력이 낮았으나 분리단백 제조로 유지 흡착력이 증가한 것으로 생각된다. 또한, 압착탈지 동안에 열변성에 의한 소수성 잔기의 노출도 중요하게 관여될 것으로 생각되나 추가 연구가 필요하다고 판단된다.

제빵, 맥주, 아이스크림 등을 포함한 많은 식품에서 거품은 식품의 질감, 일관성 및 외관의 증진에 중요한 요소이며, 단백질은 주요 거품형성 소재이다(Zieliska 등, 2018). Fig. 7에서 나타나 있듯이 s CO $_2$ 탈지 분말의 거품 형성력은 78.6%이고 분리단백 제조

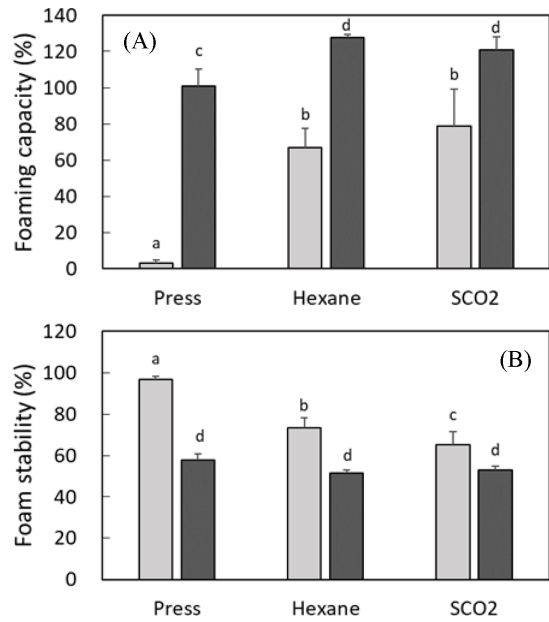


Fig. 7. Foaming capacity (A) and foam stability (B) of defatted powder (pale) and protein isolate (dark) of mealworm. Press, hexane, and s CO $_2$ indicate the defatting methods. Data represents the mean \pm one standard deviation (n=3). Different letters indicate significantly different values according to Duncan multiple range test ($p<0.05$).

시 120.6%로 증가하여 압착탈지로 제조한 분말 및 분리단백보다 높았으며 헥산탈지 분말 및 분리단백과 유사하였다. 단백질 용액이 거품을 형성하기 위해서는 단백질이 공기물의 계면으로 이동하여 양친매성 구조를 띠도록 계면에 재배열될 수 있어야 하므로, 단백질 용액의 거품 형성은 단백질의 형태, 소수성, 소수성 아미노산 잔기의 위치 등에 의해 영향을 받는다(Halling, 1981). 또한, 단백질 외에 존재하는 당이나 지방은 단백질간의 상호작용을 방해하여 거품형성을 낮추기에(Zieliska 등, 2015), 단백질 함량이 높은 분리단백의 경우 거품 형성력이 더 높은 것으로 알려져 있다(Sreerama 등, 2012). 그러므로 압착탈지 분말에서 거품형성이 거의 없었던 것은 상대적으로 높은 지방과 탄수화물 함량(Table 2)과 관련이 있을 것으로 추정되었다. 거품 안정성은 3종의 분리단백 간에는 유의적 차이가 없었으나 탈지 분말보다는 낮아 거품 형성력과 역의 관계였다. 결론적으로 s CO $_2$ 탈지로 헥산탈지와 유사한 거품 형성력과 안정성을 보이는 탈지 분말과 분리단백을 제조할 수 있었다.

현재 식품 산업에서 가장 널리 쓰이는 단백질 유화제는 카제인과 유청 단백질이나 이를 대체할 수 있는 단백질에 대한 수요는 꾸준한 상황이다(Zieliska 등, 2018). Fig. 8에 나타나 있듯이 다른 탈지방법에 비해 s CO $_2$ 탈지로 가장 높은 유화력을 가진 탈지 분말(0.54)과 분리단백(0.48)을 제조할 수 있었다. 그러나 분리단백의 경우 유화력과 유화안정성은 다소 감소하는 경향을 보이므로 유화소재로는 탈지 분말을 사용하는 것이 유리하다고 판단된다. 거품 형성력 및 안정성과 유사하게 유화력 및 유화안정성도 단백질 표면의 양친매성, 가용성 및 불용성 단백질 함량이 중요하며 이외에도 기타 요소가 관련이 되지만(Zieliska 등, 2015), 당류의 존재는 유화액의 점도를 상승시켜 오히려 안정화에 기여할 수 있다고 알려져 있다(Wani 등, 2013).

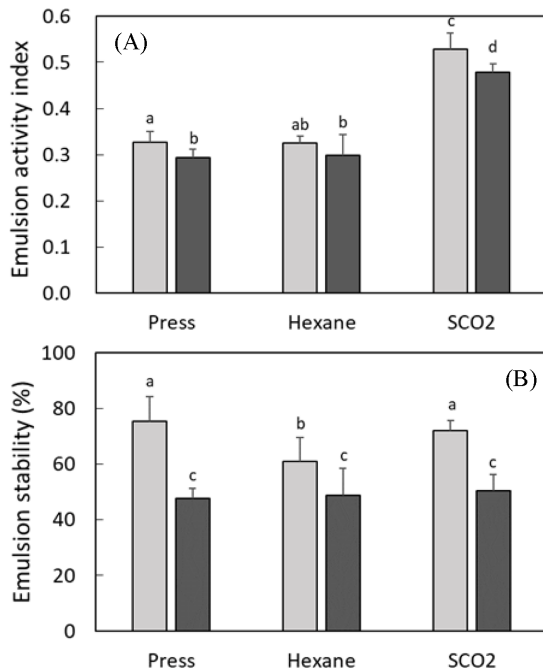


Fig. 8. Emulsion activity index (A) and emulsion stability (B) of defatted powder (pale) and protein isolate (dark) of mealworm. Press, hexane, and s CO $_2$ indicate the defatting methods. Data represents the mean \pm one standard deviation (n=3). Different letters indicate significantly different values according to Duncan multiple range test ($p < 0.05$).

요 약

본 연구에서는 고단백질 식품소재로서 밀웜의 활용성을 높이기 위해 탈지 분말 및 분리단백 제조 시, 기존의 압착이나 용매 탈지의 대안으로 초임계이산화탄소(s CO $_2$) 탈지의 활용 가능성을 조사하였다. 이를 위해 41.37 MPa, 40°C의 s CO $_2$ 로 유지를 추출하여 탈지 분말을 제조하고 이로부터 알칼리 추출 및 등전점 침전을 이용해 분리단백을 제조한 후 단백질 함량 변화 및 수율, 색도, 단백질 용해도, 거품 형성력과 안정성, 유화력과 안정성 등의 품질지표를 측정하고 이를 압착과 헥산탈지로 얻은 탈지 분말 및 분리단백과 비교하였다.

s CO $_2$ 로 밀웜을 탈지하면 단백질 함량(71.66%)이 헥산탈지 분말과 유사한 수준의 탈지 분말을 얻을 수 있었고, 분리단백 추출률도 헥산탈지(37.10%)나 압착탈지(22.39%) 분말보다 높았다. 또한 분리단백의 단백질 수득률도 압착탈지 분리단백보다 높고 헥산탈지 분리단백과 유사하였다. s CO $_2$ 탈지 분말과 분리단백은 압착탈지 시료보다 밝은 색상을 보이며 헥산탈지 시료에 가까운 값 L*, a*, b*값을 보였다. 탈지방법에 상관없이 pH에 따른 탈지 분말 및 분리단백의 단백질 용해도는 pH 5에서 최소였으며 산과 염기로 갈수록 증가하였고 분리단백이 더 높은 용해도를 보였다. 수분 흡착력은 분리단백에서 증가하였으며 s CO $_2$ 탈지 분리단백에서 가장 높았다. s CO $_2$ 탈지 분말의 유지 흡착력은 압착탈지 분말보다 높고 헥산탈지 분말과 유사하였다. 거품 형성력은 분리단백에서 더 높았으며 s CO $_2$ 탈지는 헥산탈지와 유사하였다. 유화력은 다른 탈지 분말 및 분리단백에 비해 s CO $_2$ 탈지 분말과 분리단백이 약 1.6배 정도 높았다. 이상의 결과로부터 밀웜의 탈지 분말이나 분리단백 제조 시, 단백질 함량, 수율 및 여러 품질 특성에서 s CO $_2$ 탈지가 압착탈지보다 전반적으로 우수하였으며 헥산탈지

와는 유사하거나 일부 특성에서는 더 우수한 것으로 나타났다.

감사의 글

이 논문은 2018년도 동덕여자대학교 학술연구비 지원에 의하여 수행된 것으로, 이에 감사드립니다.

References

- Azzollini D, Derossi A, Fogliano V, Lakemond CMM, Severini C. Effects of formulation and process conditions on microstructure, texture and digestibility of extruded insect-riched snacks. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.* 45: 344-353 (2018)
- Baek M, Hwang J-S, Kim MA, Kim S-H, Goo T-W, Yun EY. Comparative analysis of nutritional components of edible insects registered as novel foods. *J. Life Sci.* 27: 334-338 (2017a)
- Baek M, Seo M, Kim M-A, Yun EY, Hwang J-S. The antioxidant activities and hair-growth promotion effects of *Tenebrio molitor* larvae extracts (TMEs). *J. Life Sci.* 27: 1269-1275 (2017b)
- Bradford MM. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.* 72: 248-54 (1976)
- Bufler S, Rumpold BA, Jander E, Rawel HM, Schlter OK. Recovery and techno- functionality of flours and proteins from two edible insect species: Mealworm (*Tenebrio molitor*) and black soldier fly (*Hermetia illucens*) larvae. *Heliyon* 2: e00218 (2016)
- Cito A, Dreassi E, Frosinini R, Zanfini A, Pianigiani C, Botta M, Francardi V. The potential beneficial effects of *Tenebrio molitor* (*Coleoptera tenebrionidae*) and *Galleria mellonella* (*Lepidoptera pyralidae*) on human health. *REDIA* 100: 125-133 (2017)
- El Nasri ENA, El Tinay AH. Functional properties of fenugreek (*Trigonella foenum graecum*) protein concentrate. *Food Chem.* 103: 582-589 (2007)
- Finke MD. Complete nutrient composition of commercially raised invertebrates used as food for insectivores. *Zoo Biol.* 21: 269-285 (2002)
- Finke MD. Estimate of chitin in raw whole insects. *Zoo Biol.* 26: 105-115 (2007)
- Godfray HCJ, Crute IR, Haddad L, Lawrence D, Muir JF, Nisbett N, Pretty J, Robinson S, Toulmin C, Whiteley R. The future of the global food system. *Philos. Trans. R. Soc. B-Biol. Sci.* 365: 2769-2777 (2010)
- Halling PJ. Protein stabilized foams and emulsions. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 15: 155-203 (1981)
- Jones LD, Cooper RW, Harding RS. Composition of mealworm *Tenebrio molitor* larvae. *J. Zoo Anim. Med.* 3: 34-41 (1972)
- Kim HW, Setyabrata D, Lee YJ, Jones OG, Kim YHB. Pre-treated mealworm larvae and silkworm pupae as a novel protein ingredient in emulsion sausages. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.* 38: 116-123 (2016)
- Kim SM, An C-W, Han J-A. Characterization and application of the proteins isolated from edible insects. *Korean J. Food Sci. Technol.* 51: 537-542 (2019a)
- Kim Y, Imm J-Y, Kim I-H, Kim SJ. Functional and emulsifying properties of balloonflower seeds oil extracted by supercritical carbon dioxide. *J. Korean App. Sci. Technol.* 36: 226-236 (2019b)
- Kim Y, Woo H, Imm J-Y, Kim SJ. Evaluation of nutritional characteristics of *Platycodon grandiflorum* seeds. *J. Oil Appl. Sci.* 35: 478-484 (2018)
- Kim YM. Quality characteristics of white bread with hot air-dried *Tenebrio molitor* larvae Linne powder. *Korean J. Food Cook. Sci.* 33: 513-522 (2017)
- Kouřimská L, Adámková A. Nutritional and sensory quality of edible insects. *NFS J.* 4: 22-26 (2016)
- Lee KH, Yoon YT, Park YI, Lee HJ, Jeong NY. Quality evaluation of acorn mook prepared with mealworm (*Tenebrio molitor*) powder. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 30: 1042-1047 (2017)
- Mæhre HK, Dalheim L, Edvinsen GK, Elvevoll EO, Jensen I-J. Pro-

- tein determination-method matters. *Foods* 7: 5 (2018)
- Mariod AA, Abdelwahab SI, Gedi MA, Solati Z. Supercritical carbon dioxide extraction of sorghum bug (*Agonoscelis pubescens*) oil using response surface methodology. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 87: 849-856 (2010)
- Martnez J, De Aguiá AC. Extraction of triacylglycerols and fatty acids using supercritical fluids-Review. *Curr. Anal. Chem.* 10: 67-77 (2014)
- Mattia CD, Battista N, Sacchetti G, Serafini M. Antioxidant activities *in vitro* of water and liposoluble extracts obtained by different species of edible insects and invertebrates. *Front. Nutr.* 6: 106 (2019)
- Min KT, Kang MS, Kim MJ, Lee SH, Han JS, Kim AJ. Manufacture and quality evaluation of cookies prepared with mealworm (*Tenebrio molitor*) powder. *Korean J. Food Nutr.* 29: 12-18 (2016)
- Ministry of Food and Drug Safety. Korea food code. Available from: http://www.nifds.go.kr/brd/m_21/view.do?seq=7819&srchFr=&srchTo=&srchWord=&srchTp=&itm_seq_1=0&itm_seq_2=0&multi_itm_seq=0&company_cd=&company_nm=&page=99. Accessed Feb. 19 (2016)
- Nowak V, Persijn D, Rittenschober D, Charrondiere UR. Review of food composition data for edible insects. *Food Chem.* 193: 39-46 (2016)
- Omana DA, Moayedí V, Xu Y, Betti M. Alkali-aided protein extraction from chicken dark meat: Textural properties and color characteristics of recovered proteins. *Poult. Sci.* 89: 1056-1064 (2010)
- Paredes-Lopez O, Guevara-Lara F, Schevenin-Pinedo ML, Montes-Rivera R. Comparison of procedures to determine protein content of developing bean seeds (*Phaseolus vulgaris*). *Plant Food Hum. Nutr.* 39: 137-148 (1989)
- Purschke B, Stegmann T, Schreiner M, Jger H. Pilot-scale supercritical CO₂ extraction of edible insect oil from *Tenebrio molitor* L. larvae-Influence of extraction conditions on kinetics, defatting performance and compositional properties. *Eur. J. Lipid Sci. Tech.* 119: 1600134 (2016)
- Ravzanaadii N, Kim SH, Choi WH, Hong SJ, Kim NJ. Nutritional value of mealworm, *Tenebrio molitor* as food source. *Int. J. Indust. Entomol.* 25: 93-98 (2012)
- Roy BC, Sasaki M, Goto M. Effect of temperature and pressure on the extraction yield of oil from sunflower seed with supercritical carbon dioxide. *J. Appl. Sci.* 6: 71-75 (2006)
- Rumpold BA, Schlter OK. Nutritional composition and safety aspects of edible insects. *Mol. Nutr. Food Res.* 57: 802-823 (2013)
- Sathe SK, Deshpande SS, Salunkhe DK. Functional properties of winged bean (*Psophocarpus tetragonolobus*, L.) proteins. *J. Food Sci.* 47: 503-508 (1982)
- Sathe SK, Salunkhe DK. Functional properties of the great northern bean (*Phaseolus vulgaris* L.) proteins: Emulsion, foaming, viscosity and gelation properties. *J. Food Sci.* 46: 71-74 (1981)
- Son Y-J, Hwang J-Y. Physicochemical characteristics and oxidative stabilities of defatted mealworm powders under different manufacturing conditions. *J. East Asian Soc. Diet. Life* 27: 194-203 (2017)
- Sreerama YN, Sashikala VB, Pratape VM, Singh V. Nutrients and antinutrients in cowpea and horse gram flours in comparison to chickpea flour: Evaluation of their flour functionality. *Food Chem.* 131: 462-468 (2012)
- Van Huis A, Van Itterbeeck J, Klunder H, Mertens E, Halloran A, Muir G, Vantomme P. Edible insects. Future prospects for food and feed security. FAO, Rome, Italy. pp 201 (2013)
- Wani IA, Sogi DS, Wani AA, Gill BS. Physico-chemical and functional properties of flours from Indian kidney bean (*Phaseolus vulgaris* L.) cultivars. *LWT-Food Sci. Technol.* 53: 278-284 (2013)
- Woo J, Lee H, Choi J, Moon K. Quality characteristics of tea of *Tenebrio molitor* larvae according to manufacturing methods. *Korean J. Food Preserv.* 26: 179-184 (2019)
- Yi L, Van Boekel MAJS, Lakemond CMM. Extracting *Tenebrio molitor* protein while preventing browning: effect of pH and NaCl on protein yield. *J. Insects as Food Feed* 3: 21-31 (2017)
- Yu M-H, Lee H-S, Cho H-R, Lee S-O. Enzymatic preparation and antioxidant activities of protein hydrolysates from *Tenebrio molitor* larvae (mealworm). *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 46: 435-441 (2017)
- Zhao X, Vázquez-Gutiérrez JL, Johansson DP, Landberg R, Langton M. Yellow mealworm protein for food purposes-Extraction and functional properties. *PLoS ONE* 11: e0149991 (2016)
- Zieliska E, Baraniak B, Kara M, Rybczyńska K, Jakubczyk A. Selected species of edible insects as a source of nutrient composition. *Food Res. Int.* 77: 460-466 (2015)
- Zieliska E, Kara M, Baraniak B. Comparison of functional properties of edible insects and protein preparations thereof. *LWT-Food Sci. Technol.* 91: 168-174 (2018)