

ORIGINAL ARTICLE

추출 온도 및 용매에 따른 아메리카동애등에(*Hermetia illucens*) 유충 추출물의 항산화 효과

박지영 · 구분우 · 김용순 · 박관호*

농촌진흥청 국립농업과학원 농업생물부 곤충양잠산업과

Antioxidant Effects of *Hermetia illucens* Larvae Extracts Using Different Extraction Temperatures and Solvents

Ji Yeong Park, Bonwoo Koo, Yong-Soon Kim, Kwanho Park*

Industrial Insect and Sericulture Division, Department of Agricultural Biology, National Institute of Agricultural Sciences, RDA, Wanju 55365, Korea

Abstract

This study investigated the antioxidant effect of *Hermetia illucens* larvae using different extraction temperatures and solvents. We found significant differences in total phenolic content (TPC), total flavonoid content (TFC), and in three antioxidant indexes 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH), 1,1'-azino-bis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid (ABTS), and ferric-reducing antioxidant power (FRAP) contents, among the samples depending on the extraction temperature and solvent used. The sample extracted with water at 45°C (HIW-45°C) showed the highest TPC, DPPH, ABTS, and FRAP contents, while the sample extracted with water at 90°C (HIW-90°C) showed the highest TFC. These differences can be due to the different chemical structures of the extracted components. Based on these results, HIW-45°C was the optimal extraction method for *Hermetia illucens*. We intend to further investigate the availability of functional materials for *Hermetia illucens* using this method.

Key words : *Hermetia illucens*, Antioxidant effect, Extraction temperature, Extraction solvent

1. 서 론

국내 곤충시장 규모는 2018년 375억원에서 2021년 446억원으로 약 18.9% 증가하였다. 특히, 사료용 곤충 시장은 2018년 22억원에서 2021년 109억원으로 약 396% 증가하였으므로(MAFRA, 2021), 곤충 산업화를 위하여 사료용 곤충에 대한 연구가 필요한 실정이다. 최근, 사료용 곤충을 산업자원으로 발전시키기 위하여 법

령을 개정하여 제도 개선하는 등 많은 노력이 이루어지고 있다.

우리 나라에서는 농림축산식품부 사료관리법 '사료 등의 기준 및 규격'에 따르면, 사료용 곤충은 거저리유충(밀웜·슈퍼밀웜), 건조귀뚜라미, 건조메뚜기, 동애 등애유충, 번데기(번데기박 포함), 장구벌레, 파리유충, 혼합곤충으로 명시하고있다. 사료용 곤충인 아메리카 동애등애(*Hermetia illucens*)는 성장 속도가 매우

Received 25 January, 2023; Revised 7 March, 2023;

Accepted 15 March, 2023

*Corresponding author : Industrial Insect and Sericulture Division, Department of Agricultural Biology, National Institute of Agricultural Sciences, RDA, Wanju 55365, Korea
Phone : +82-63-238-2994
E-mail : nicegano@korea.kr

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

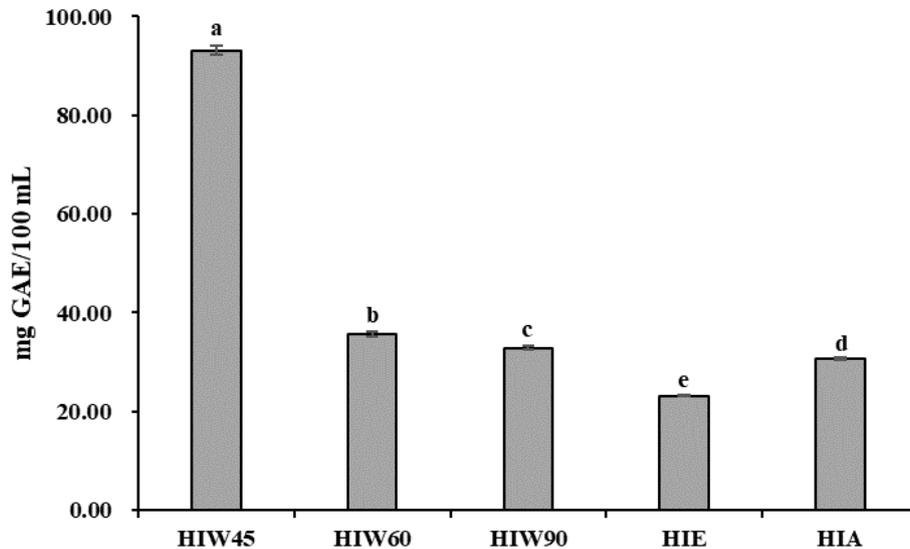


Fig. 1. Total phenolic content (TPC) of the extracts from *Hermetia illucens* larvae. HIW-45°C : 45°C hot water extract of *Hermetia illucens* larvae, HIW-60°C : 60°C hot water extract of *Hermetia illucens* larvae, HIW-90°C : 90°C hot water extract of *Hermetia illucens* larvae, HIE : ethanol extract of *Hermetia illucens* larvae, HIA : acetic acid extract of *Hermetia illucens* larvae. Values are expressed as mean \pm SD (n=5), values with different superscript letters are significantly different at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range test.

빠르고 고밀도로 사육할 수 있으므로 단위/시간당 주요 영양소 생산량이 매우 높아 가축사료를 대체할 단백질 원으로 연구되고 있다(Kim et al., 2019). 또한 아메리카동애에는 비교적 저렴하게 대량 사육할 수 있는 기술이 확보되어 있어 가축사료로서 활용 가능성이 높다(Park, 2016). 또한, 다른 동물들과 비교하여 탄소 배출량이 현저히 낮으므로 바이오산업 소재로서 주목받고 있다(Vargas-Abúndez et al., 2019).

현재까지 아메리카동애에의 생태 특성(Kim et al., 2008) 및 사료 이용(Choi et al., 2019; Kim et al., 2019) 연구가 주로 보고되었으나, 최근에는 펫사료로 급이 시 반려견의 장내 미생물 변화(Choi et al., 2022), 소화율 증진(Choi et al., 2022) 등의 응용연구, 선천성 면역기전인 항균 활성(Alvarea et al., 2019; Firmansyah and Abduh, 2019), 항혈전(Pyo et al., 2020), 유충 추출물의 지방세포 분화 억제(Park et al., 2021), 피부 미백 효과(Park et al., 2022) 등과 같은 기능성 연구가 보고되고 있다. 그리고 추출 용매별 항산화 효능(Park et al., 2014), 단백질 가수분해물의 항산화 효능(Firmansyah and Abduh,

2019) 등의 항산화 활성 연구가 보고되고 있으나, 현재까지 추출 온도에 따른 항산화 활성 비교 연구는 보고된 바 없다.

항산화 효능은 과도한 스트레스, 흡연, 과음 및 피로, 환경오염 등으로 생체 내 세포막, 단백질, DNA 등 여러 조직 및 기관에 치명적인 기능적 손상을 유발하거나, 다양한 질병 촉진 및 노화 현상으로 인간의 수명 단축에 큰 영향을 끼치는 활성산소(Reactive Oxygen Species, ROS)를 제거하는 능력으로(Kim, 2013), 활성산소는 체내 방어기작에 의해 대부분 소실되지만 생성 속도가 제거 속도보다 커지면 항상성 유지 기능이 감소되어 질병 발생 요인이 된다(Kim et al., 2005). 또한, 활성산소는 항산화물질에 의해 제거되는데 체내에서 존재하는 ascorbate peroxidase (APX), catalase, glutathione reductase (GR), superoxide dismutase (SOD), glutathione peroxidase (GSHPx) 및 catalase (CAT) 등의 항산화 효소, 천연 항산화제 및 합성 항산화제로 구분된다. 합성 항산화제는 butylated hydroxyanisole (BHA), butylated hydroxytoluene (BHT), tertiary butyl hydroquinone (TBHQ),

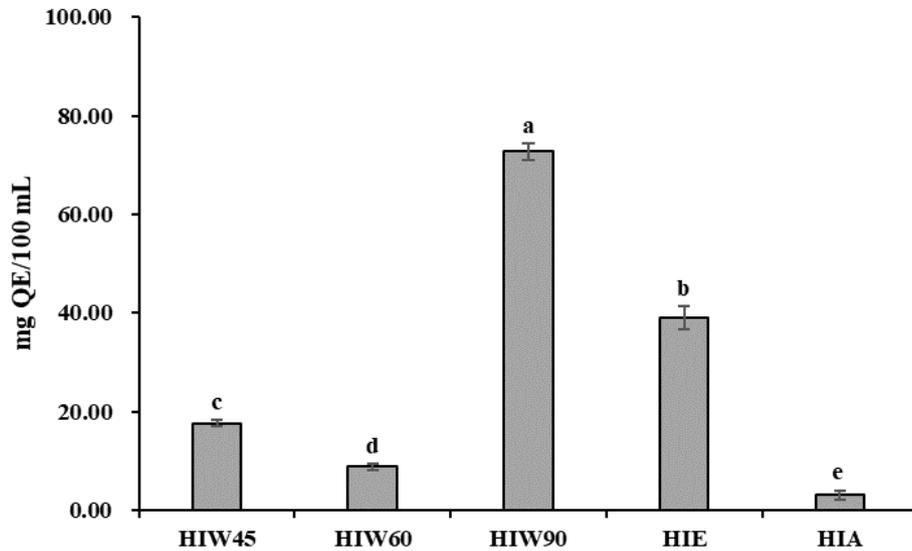


Fig. 2. Total flavonoid content (TFC) of the extracts from *Hermetia illucens* larvae. HIW-45°C : 45°C hot water extract of *Hermetia illucens* larvae, HIW-60°C : 60°C hot water extract of *Hermetia illucens* larvae, HIW-90°C : 90°C hot water extract of *Hermetia illucens* larvae, HIE : ethanol extract of *Hermetia illucens* larvae, HIA : acetic acid extract of *Hermetia illucens* larvae. Values are expressed as mean \pm SD (n=5), values with different superscript letters are significantly different at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range test.

propyl gallate (PG) 등이 있으며, 우수한 항산화력과 저렴한 가격으로 경제성이 높아 널리 사용되고 있으나 고용량으로 장기간 복용 시 간, 위장점막, 폐, 신장, 순환계 등에 부작용이 나타날 수 있다는 인체 유해성과 안전성 문제로 사용량이나 사용 방식에 대한 법적인 규제가 시행되고 있다(Branen, 1975; Kim et al., 2016). 천연 항산화제는 주로 페놀성 화합물로 vitamin C, vitamin E, carotenoid, flavonoid, phenolic acid, tocopherol 등 폴리페놀이 주성분이며, 활성산소종과 유리의 활성을 저해하거나 생성을 지연시켜 산화적 손상을 개선시키는 항산화 작용 및 항암 효과가 있다(Wang et al., 2013). 이는 인체에 부작용은 거의 없으나 고비용으로 지용성이라는 이용상의 제약과 단일 제제로 사용시 탁월한 효과를 나타내지 못한다는 단점이 있다. 따라서 새로운 천연 항산화제 개발에 대한 연구가 활발하게 이루어지고 있다(Byun et al., 2020). 최근까지 천연물 유래 건강기능성 소재 개발에 관한 연구가 활발히 진행되고 있으며(Osawa, 1994), 특히 동물성 및 식물성 단백질을 효소 분해하여 얻어진 펩타이드(Kim et al., 2000)와 곤충 유래의 2차 대사산물 또한 항산화 활성을 가지는

것으로 보고되고 있다(Jun et al., 2014).

따라서 본 연구에서는 아메리카동애등에 유충의 열수 추출 시, 추출 온도를 달리한 열수 추출물(HIW-45°C, HIW-60°C, HIW-90°C, HIW; Hot water extraction of *Hermetia illucens* at temperature)의 총 페놀 및 총 플라보노이드 함량을 조사하고, 항산화 활성 지표인 DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) radical scavenging activity, ABTS (2,2' - azino-bis - 3 - ethylbenzothiazoline - 6 - sulfonic acid) radical scavenging activity, FRAP (Ferric reducing antioxidant power) activity 측정을 통해 아메리카동애등에 유충 열수 추출물의 천연 항산화 소재로서의 이용 가능성을 제시하고자 한다.

2. 재료 및 방법

2.1. 실험 재료

실험에 사용한 아메리카동애등에 유충은 농촌진흥청 국립농업과학원 온실에서 채란하여 사용하였다. 부화 후 5 일이 경과된 유충을 플라스틱 사육상자(가로 60 cm X

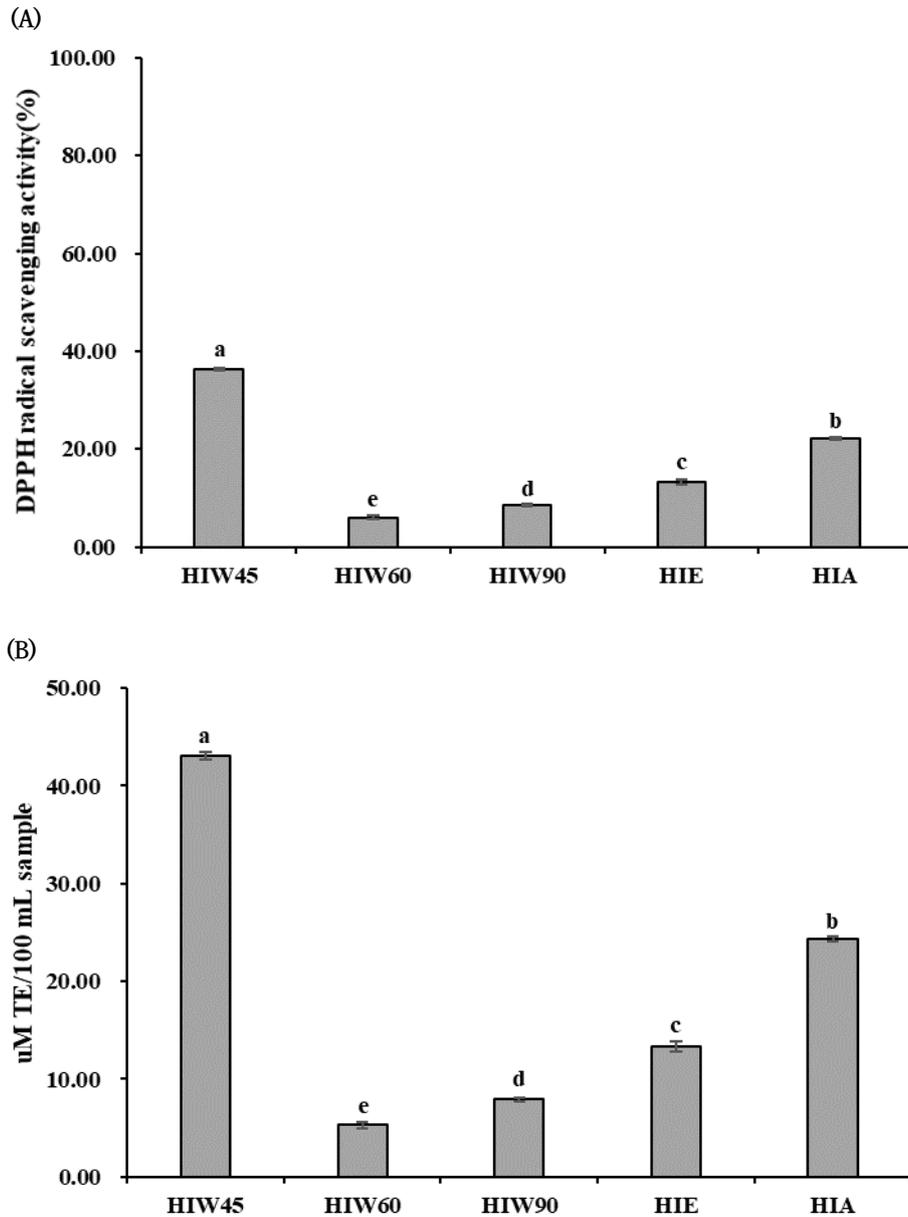


Fig. 3. DPPH free radical scavenging activity (A) and uM TE/100 mL sample (B) of the extracts from *Hermetia illucens* larvae. HIW-45°C : 45°C hot water extract of *Hermetia illucens* larvae, HIW-60°C : 60°C hot water extract of *Hermetia illucens* larvae, HIW-90°C : 90°C hot water extract of *Hermetia illucens* larvae, HIE : ethanol extract of *Hermetia illucens* larvae, HIA : acetic acid extract of *Hermetia illucens* larvae. Values are expressed as mean \pm SD (n=5), values with different superscript letters are significantly different at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range test.

세로 60 cm X 높이 15 cm)에 넣은 후, 남은 음식물을 공급하며 약 15 일동안 집단사육하였다. 노숙 유충이

발생하기 전 유충을 분리하여 약 1 일간 절식시킨 후 채반을 이용하여 이물질질을 제거하였고, 이물질이 제거된

유충은 물에 3 회 세척한 후 물기를 제거하였다. 전처리 된 유충은 -70℃(Nihon freezer, Japan)에서 24 시간 이상 급속냉동한 후, 72 시간동안 동결건조(Illshin biobase, Korea)하였으며, 건조된 아메리카동애등에 유충은 분쇄기(Garyeo industry, Korea)로 분쇄한 후, 100 mesh 체반에 걸러서 아메리카동애등에 유충 분말(HI, *Hermetia illucens*)을 제조하였다.

2.2. 아메리카동애등에 유충 추출물 제조

아메리카동애등에 유충 추출물은 열수(45℃, 60℃, 90℃), 에탄올, 산 등의 용매별 추출물을 제조하였으며, 아메리카동애등에 유충 분말(HI) 5 g 에 용매 100 mL (w/v)을 첨가하여 추출하였다. 열수 추출물(HIW-X℃)은 45, 60, 90℃의 수조에서 100 rpm, 24 시간 교반하면서 추출하였고, 에탄올 추출물(HIE, Ethanol extract of *Hermetia illucens*)은 ultrasonication (Sonics & Materials, Australia) 으로 10 s/10 s/15 min 하여 추출하였으며, 산 추출물(HIA, Acetic acid extract of *Hermetia illucens*)은 4℃에서 100 rpm 으로 24 시간 교반하면서 추출하였다. TPC, TFC 및 항산화 시험(DPPH, ABTS, FRAP)에 사용된 아메리카동애등에 유충 추출물(HIW-45℃, HIW-60℃, HIW-90℃, HIE, HIA)은 10,000 rpm, 10 분 원심분리(CF-10, Daihan scientific, Korea)하여, filtration (PVDF, 0.2 um, Hyundai micro, Korea)한 후 사용하였다.

2.3. Total polyphenol content (TPC)

아메리카동애등에 유충 추출물의 TPC 는 Folin and Denis(1912)방법을 변형하여 측정하였다. 시료 20 uL 와 deionized water 1,580 uL 를 혼합한 후, 2 N Folin-Ciocalteu's phenol reagent 100 uL, 20% Na₂CO₃ (w/v) 용액을 300 uL 첨가하여 30 분간 반응하였다. UV-Vis spectrophotometer (Libra S70, Biochrom, UK)를 이용하여 765 nm 에서 흡광도를 측정하였다. 시료와 동일한 조건에서 gallic acid 를 표준물질로 사용하여 standard curve 를 작성하였고, 시료와 동일한 TPC 를 나타내는 gallic acid 의 농도를 계산하여 mg GAE (Gallic Acid Equivalent) / 100 mL 로 나타내었다.

2.4. Total flavonoid content (TFC)

아메리카동애등에 유충 추출물의 TFC 는 Zhishen et al.(1999)과 Singleton et al.(1999)의 방법을 수정하여 측정하였다. 시료 200 uL 와 deionized water 800 uL 를 혼합하여 5% NaNO₂ (w/v) 용액 60 uL, 10% AlCl₃ (w/v) 용액 60 uL 를 혼합하여 5 분간 반응하였다. 1 M sodium hydroxide 400 uL, deionized water 480 uL 를 첨가하여 다시 6 분간 반응시킨 후, UV-Vis spectrophotometer (Libra S70, Biochrom, UK)를 이용하여 510 nm 에서 흡광도를 측정하였다. 시료와 동일한 조건에서 quercetin 을 표준물질로 이용하여 standard curve 를 작성하였고, 시료와 동일한 TFC 를 나타내는 quercetin 의 농도를 계산하여 mg QE (Quercetin Equivalents) / 100 mL 로 나타내었다.

2.5. 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl(DPPH) radical scavenging activity

아메리카동애등에 유충 추출물의 DPPH radical scavenging activity는 Blois(1958)의 방법을 변형하여 다음과 같이 측정하였다. DPPH 시약 24 mg을 methanol 100 mL에 혼합하여 -20℃에서 보관하였고, DPPH reagent는 실험 전에 methanol을 이용하여 517 nm에서 흡광도 0.98 ± 0.02로 희석하여 사용하였다. 시료 50 uL에 DPPH reagent 1.5 mL을 혼합하여 실온의 암소에서 30 분간 반응시킨 후, UV-Vis spectrophotometer (Libra S70, Biochrom, UK)를 이용하여 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. 시료의 DPPH radical scavenging activity (%)는 아래의 식에 따라 계산하였다. 시료와 동일한 조건에서 trolox를 표준물질로 사용하여 standard curve를 작성하였고, 시료와 동일한 항산화력을 나타내는 trolox의 농도를 계산하여 uM TE (Trolox equivalents) 100 mL로 나타내었다.

DPPH scavenging activity (%)

$$= \frac{(ABS_{Control} - ABS_{Sample})}{ABS_{Control}} \times 100$$

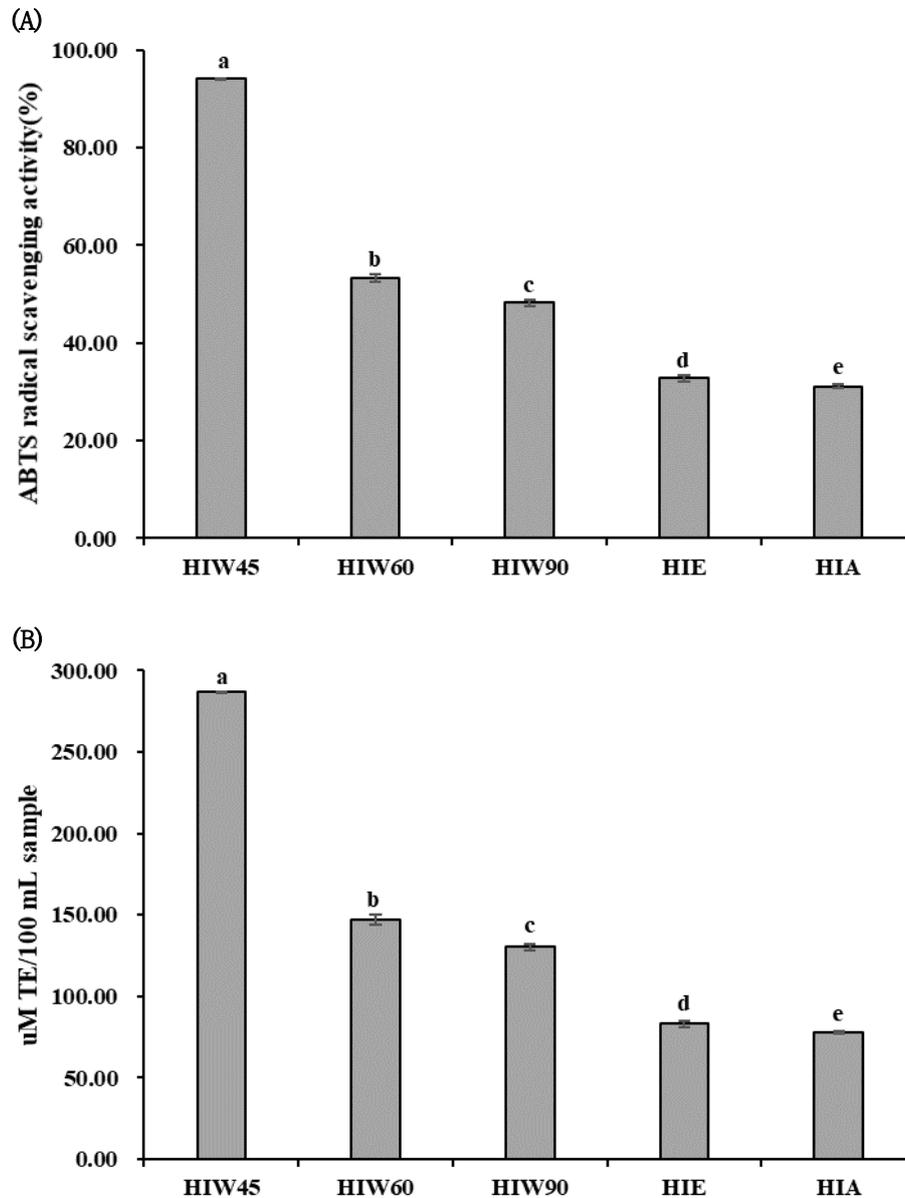


Fig. 4. ABTS free radical scavenging activity (A) and uM TE/100 mL sample (B) of the extracts from *Hermetia illucens* larvae. HIW-45°C : 45°C hot water extract of *Hermetia illucens* larvae, HIW-60°C : 60°C hot water extract of *Hermetia illucens* larvae, HIW-90°C : 90°C hot water extract of *Hermetia illucens* larvae, HIE : ethanol extract of *Hermetia illucens* larvae, HIA : acetic acid extract of *Hermetia illucens* larvae. Values are expressed as mean \pm SD (n=5), values with different superscript letters are significantly different at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range test.

2.6. ABTS scavenging activity

아메리카동애등에 유충 추출물에 대하여 2,2'

azinobis - 3 - ethylbenzothiazoline - 6 - sulfonic acid (ABTS⁺) radical scavenging activity를 Re et

al.(1999)의 방법을 변형하여 측정하였다. 7 mM ABTS⁺ 용액을 2.45 mM potassium persulfate (final concentration)과 혼합하여 실온의 암소에서 12-16 시간 반응시켜 ABTS radical cation (ABTS^{•+})을 생성시킨 후, 실험 전에 PBS buffer (pH 7.4)를 이용하여 734 nm에서 흡광도 0.70 ± 0.02로 희석하여 사용하였다. 동애등에 유충 추출물을 4배 희석한 시료 10 uL에 ABTS 용액 1.0 mL을 첨가하여 30 ℃ 암소에서 6분 반응시킨 후, UV-Vis spectrophotometer (Libra S70, Biochrom, UK)를 이용하여 734 nm에서 흡광도를 측정하였고, 시료의 ABTS radical scavenging activity (%)는 아래의 식에 따라 계산하였다. 시료와 동일한 조건에서 trolox를 표준물질로 사용하여 standard curve를 작성하였고, 시료와 동일한 항산화력을 나타내는 trolox의 농도를 계산하여 uM TE (Trolox equivalents)/100 mL로 나타내었다.

$$\begin{aligned} & \text{ABTS scavenging activity (\%)} \\ &= \frac{(ABS_{Control} - ABS_{Sample})}{ABS_{Control}} \times 100 \end{aligned}$$

2.7. Ferric reducing antioxidant power (FRAP) activity

아메리카동애등에 유충 추출물의 FRAP에 의한 환원력 실험은 Benzie and Strain(1996)의 방법을 변형하여 측정하였다. FRAP reagent는 300 mM sodium acetate buffer (pH 3.6) 25 mL와 40 mM HCl로 용해한 10 mM TPTZ (2, 4, 6-tripyridyl-s-triazine) solution 2.5 mL, 20 mM FeCl₃·6H₂O solution 2.5 mL을 10:1:1(v/v/v) 비율로 혼합하여 제조하였으며, 실험 전에 37℃에서 10분 이상 반응하여 준비하였다. FRAP reagent 900 uL에 시료 30 uL와 deionized water 90 uL를 혼합하여 37℃에서 30분간 암소에서 반응시킨 후, UV-Vis spectrophotometer(Libra S70, Biochrom, UK)를 이용하여 594 nm에서 흡광도를 측정하였다. 각 시료의 항산화력은 trolox와 FeSO₄·7H₂O를 표준물질로 사용하여 standard curve를 작성하였고, mM TE(Trolox equivalents) / 100 mL과 uM FeSO₄·7H₂O / 100 mL로 나타내었다.

2.8. 통계분석

모든 실험은 5회 이상 반복실험을 수행하였으며, 결과값은 SPSS statistics (ver. 27, IBM Co., Armonk, NY, USA)를 사용하였다. 통계적 유의성 검증은 원배치분산분석 (One Way ANOVA)을 이용하였고, 사후검증으로 Duncan's multiple range test ($p < 0.05$)를 실시하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. Total polyphenol content (TPC)

본 연구에서는 아메리카동애등에 유충을 추출 용매 및 추출 온도를 달리한 5가지 조건으로 추출물을 제조하여 분석하였으며, 추출물의 TPC는 Fig. 1에 나타내었다. TPC는 HIW-45℃는 93.14 ± 0.95 mg GAE/100 mL, HIW-60℃는 35.76 ± 0.52 mg GAE/100 mL, HIW-90℃는 32.82 ± 0.41 mg GAE/100 mL, HIE는 23.21 ± 0.16 mg GAE/100 mL, HIA는 30.65 ± 0.19 mg GAE/100 mL임을 확인하였다. TPC는 추출 용매 및 추출 온도에 따라 유의적인 차이를 나타내었으며, 에탄올 및 산 추출보다 열수 추출 방법이 효과적인 조건임을 확인하였다. Yeo et al.(2014)은 짚레꽃의 에탄올 추출물보다 열수 추출물에서 더 높은 TPC가 확인하였음을 보고하고 있으므로, 이는 본 연구 결과와 유사하였다. Polyphenol compound는 식물에 존재하는 2차 대사산물로서 수산기(-OH)를 가지고 있으므로 free radical과 결합하여 free radical을 제거하는 항산화제로 작용하며, phenolic acid, flavonoid, lignin, stilbene 등이 있다. 이들은 체내에서 대사과정 중에 발생하는 유해한 과산화물질을 제거하는 항산화제로서 작용하여 항암 및 항균, 각종 질환 예방, 염증 및 노화 예방과 같은 다양한 생리활성을 나타내며, TPC가 증가할수록 생리활성이 증가한다고 알려져 있어 항산화 활성의 간접적인 지표로 활용될 수 있다고 보고되고 있다 (Blosis, 1958; Loizzo et al., 2013; Choi and Chung, 2019). 따라서 아메리카동애등에 유충에서 항산화 활성의 간접적인 지표로 활용될 수 있는 TPC 추출을 위한 최적 조건은 45℃ 열수 추출 방법임을 확인하였다.

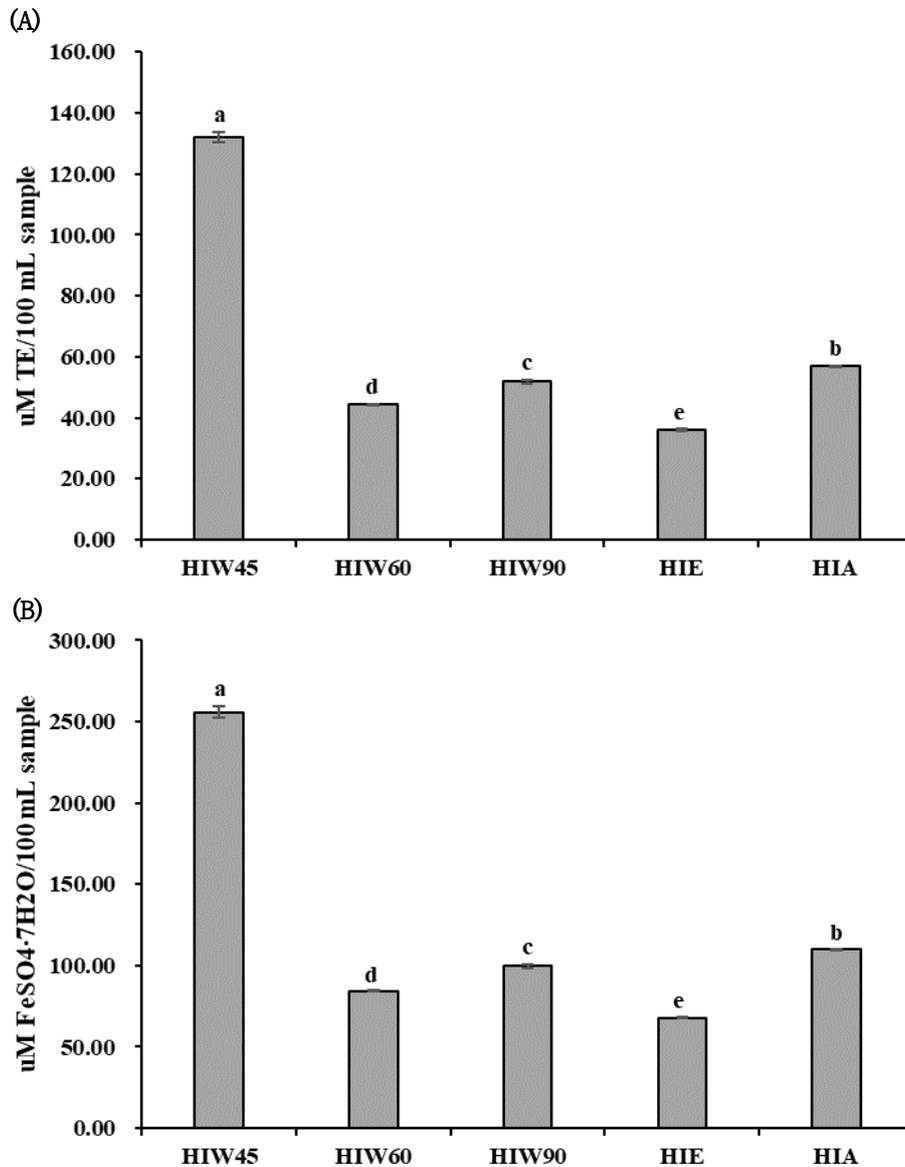


Fig. 5. uM TE/100 mL FRAP activity (A) and uM FeSO₄·7H₂O/100 mL FRAP activity (B) of the extracts from *Hermetia illucens* larvae. HIW-45°C : 45°C hot water extract of *Hermetia illucens* larvae, HIW-60°C : 60°C hot water extract of *Hermetia illucens* larvae, HIW-90°C : 90°C hot water extract of *Hermetia illucens* larvae, HIE : ethanol extract of *Hermetia illucens* larvae, HIA : acetic acid extract of *Hermetia illucens* larvae. Values are expressed as mean \pm SD (n=5), values with different superscript letters are significantly different at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range test.

3.2. Total flavonoid content (TFC)

본 연구에서는 아메리카동애등에 유충 추출물의 TFC를 분석하였고, 그 결과는 Fig. 2에 나타내었다.

TFC는 열수 추출물인 HIW-45°C는 17.64 ± 0.64 mg QE/100 mL, HIW-60°C는 8.79 ± 0.74 mg QE/100 mL, HIW-90°C는 72.71 ± 1.62 mg QE/100 mL,

HIE는 39.13 ± 2.38 mg QE/100 mL, HIA는 3.05 ± 0.96 mg QE/100 mL임을 확인하였다. Flavonoid는 식물에서 만들어진 polyphenol compound 중 하나로 C6-C3-C6을 기본골격으로 하며, 노란색 혹은 담황색을 나타낸다(Hertog et al., 1993). 이들은 phenolic hydroxyl 기가 존재하므로 free radical scavenging activity를 통하여 항산화 활성을 가지며(Beecher, 2003), anthocyanin, flavonol, flavanone, flavone, isoflavone 등과 같은 flavonoids, ellagic acid과 같은 non-flavonoids로 분류된다(Kim et al., 2013). 아메리카동애등에 유충 추출물의 TFC는 TPC와 동일하게 추출 용매 및 추출 온도에 따라 유의적인 차이가 있음을 확인하였으며, TFC 최적 추출 조건과는 달리 TPC 추출을 위한 최적 조건은 HIE임을 확인하였다. 이와 관련된 연구로 비단꿀은 열수 추출보다 70% 에탄올 추출이 더 높은 TFC를 가짐을 보고하였으며(Kwon et al., 2016), 개뽕썩은 열수 또는 100% 에탄올 추출 보다 40% 에탄올 추출이 더 높은 TFC를 가짐을 보고하였다(Kim et al., 2020). 따라서 flavonoid계 물질은 화학구조에 따라 추출 용매에 용해되는 정도가 다르므로(Middleton and Kandaswami, 1992), 시료에 함유된 물질에 따라 최적 추출 용매가 다르므로 target 물질에 대한 최적 조건을 조사하여 추출 조건으로 설정하여야 할 것으로 사료된다.

3.3. 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl(DPPH) radical scavenging activity

아메리카동애등에 유충 추출물의 항산화 활성을 확인하기 위해 DPPH radical scavenging activity를 측정된 결과는 Fig. 3에 나타내었다. 아메리카동애등에 유충 추출물의 DPPH radical scavenging activity는 HIW-45°C (36.30%) > HIA (22.21%) > HIE (13.26%) > HIW-90°C (8.49%) > HIW-60°C (6.04%) 순으로 나타났으며, 추출물의 농도가 증가함에 따라 전자공여능 또한 농도의존적으로 증가하는 것을 확인하였다. Free radical은 인체의 단백질, 지질과 반응하여 노화 및 염증의 원인 물질로 알려져 있으며, melanocyte의 손상으로 melanin을 생성한다고 보고되고 있다(Cho et al., 2010). 따라서 아메리카동애등에 유충 추출물의 free radical 발생에 의한 melanin 생성 억제 효능을 조사하기에 앞서 항산화 활성 평가(DPPH, ABTS, FRAP)를 수행하였다. DPPH radical scavenging

activity는 항산화 물질이 짙은 보라색을 띠고 있는 free radical인 DPPH를 소거시킴으로서 노란색으로 탈색되는 원리를 이용한 항산화 활성 측정 방법으로, 온도 및, pH에 매우 민감하다는 단점이 있지만 비교적 항산화능을 빠르게 평가할 수 있다는 장점이 있어 다양한 기능성 소재의 항산화 물질을 탐색하는데 널리 이용되고 있다(Kim et al., 2015). 일반적으로 TPC가 높으면 DPPH radical scavenging activity가 높다는 상관관계가 보고되고 있으나(Gheldof and Engeseth, 2002), 본 연구에서는 TPC와 DPPH radical scavenging activity 간에는 뚜렷한 상관관계를 확인할 수 없었다. 이는 아메리카동애등에 유충의 추출 온도 및 용매에 따라 용해되는 TPC와 TFC의 종류에 차이가 있어 항산화 활성에 차이를 보이는 것으로 사료된다.

3.4. ABTS radical scavenging activity

아메리카동애등에 유충 추출물의 ABTS radical scavenging activity를 측정된 결과는 Fig. 4에 나타내었다. 아메리카동애등에 유충 추출물을 deionized water를 이용하여 10 배 희석하여 ABTS radical scavenging activity를 측정하였을 경우 HIW-45°C (65.40%) > HIW-60°C (27.81%) > HIW-90°C (23.30%) > HIA (18.42%) > HIE (15.48%) 순으로 나타났으며, 추출물의 농도가 증가함에 따라 ABTS radical scavenging activity도 농도의존적으로 증가함을 확인하였다. ABTS radical scavenging activity는 ABTS diammonium salt와 potassium persulfate의 반응에 의해 생성된 ABTS cation이 항산화 물질에 의해 제거되면서 청록색에서 연한 녹색으로 탈색되는 특성을 이용하여 항산화능을 측정하는 방법으로(Kim et al., 2009), 인체 내에서 생성되는 radical을 대체하여 간접적으로 항산화능을 측정하는 방법이다. 이는 친수성 및 친유성 물질의 항산화 활성을 측정하기 위해 사용되는 방법으로 DPPH radical scavenging activity와 비교하였을 경우, 항산화능이 더 민감하게 측정 가능한 것으로 보고되고 있다(Loizzo et al., 2013). 본 연구에서도 기존에 보고된 바와 같이, 동일한 농도의 아메리카동애등에 유충 추출물의 항산화능을 비교한 결과, DPPH radical scavenging activity에 비해 ABTS radical scavenging activity가 유의적으로 높은 항산화능을 보임을 확인하였다. 이는 앞서 서술한 바와 같이 DPPH

radical scavenging activity는 주로 소수성 물질의 항산화능을 측정, ABTS radical scavenging activity는 친수성 및 소수성 물질 모두의 항산화능을 측정하는 원리가 적용됨으로서 아메리카동애등에 유충 추출물의 항산화 물질이 free radical 종류에 따라 소거 활성에 차이를 보임으로 항산화능의 차이가 발생하는 것으로 사료된다(Kim et al., 2002).

3.5. Ferric reducing antioxidant power(FRAP) activity

아메리카동애등에 유충 추출물의 FRAP activity를 측정하는 결과는 Fig. 5에 나타내었다. 아메리카동애등에 유충 추출물의 FRAP activity는 DPPH, ABTS radical scavenging activity와 동일하게 HIW-45°C에서 가장 높은 항산화 활성이 확인되었으며, HIW-45°C (255.87 μM $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}/100 \text{ mL}$) > HIA (109.88 μM $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}/100 \text{ mL}$) > HIW-90°C (99.73 μM $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}/100 \text{ mL}$) > HIW-60°C (84.51 μM $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}/100 \text{ mL}$) > HIE (68.05 μM $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}/100 \text{ mL}$) 순으로 확인되었다. FRAP activity는 직접적으로 free radical을 소거하여 항산화능을 측정하는 DPPH, ABTS radical scavenging activity와는 다르게 항산화물질이 pH 3.6에서 Fe^{3+} -TPTZ complex를 푸른색의 Fe^{2+} -TPTZ complex로 환원시키는 원리를 이용하여 환원력을 측정하는 방법이다(Benzie and Strain, 1996). 본 연구에서는 FRAP 뿐 아니라, DPPH, ABTS radical scavenging activity 모두 열수추출물에서 공통적으로 매우 높은 항산화 활성이 확인되었다. 이와 관련된 연구로 아메리카동애등에 번데기 물 추출물에서 가장 높은 FRAP activity가 확인되었으며(Park et al., 2014), 메뚜기류 추출물에서도 물 추출물에서 가장 높은 FRAP activity가 확인되었으므로(Park et al., 2006) 본 연구결과와 동일한 경향을 확인하였다. 아메리카동애등에 유충 추출물의 용매에 따라 환원력에 차이를 보이는 것은 앞서 서술한 바와 같이 추출 용매의 종류와 추출 온도에 따라 기인하는 것으로 사료된다. 그리고 아메리카동애등에 유충에서 항산화 물질을 추출하기 위한 최적 조건이 구축된다면, 상당한 수준의 항산화능을 확인할 수 있을 것으로 예상되며 이는 아메리카동애등에 유충 추출물이 천연 항산화제로서 이용할 수 있는 가능성이 있을 것으로 예상된다.

4. 결론

최근 곤충을 미래 자원으로 활용하기 위하여 많은 연구가 진행되고 있으며, 그 중 아메리카동애등에는 단백질 및 무기물의 함량이 우수하여 사료 원료로써 사용가능성이 높을 것으로 평가되어지고 있다. 본 연구에서는 아메리카동애등에 유충의 열수 추출물(HIW-45°C, HIW-60°C, HIW-90°C), 에탄올 추출물(HIE), 산 추출물(HIA)을 제조하여, TPC, TFC, 항산화 활성(DPPH, ABTS radical scavenging activity, FRAP activity)을 조사하였다. 그 결과, HIW-45°C가 천연 항산화제 소재로 알려진 TPC 존재로 인하여 가장 우수한 라디칼 소거능과 환원력을 가짐으로써 항산화 활성을 가지는 것으로 확인되었다. 따라서 본 연구의 결과는 아메리카동애등에 유충의 열수 추출물(HIW-45°C)을 천연 항산화 소재로서 활용할 수 있는 기초자료로 사용가능 할 것으로 예상되며, 추후 추출물의 유용성분의 분리정제를 위하여 추출 용매 및 추출 온도의 최적화에 대한 연구가 필요할 것으로 사료된다.

감사의 글

본 연구는 농촌진흥청 연구사업(연구개발과제명: 동애등에를 이용한 과채류 부산물 분해 및 유충 사료화, PJ015960)의 지원에 의해 이루어진 것입니다.

REFERENCES

- Alvarez, D., Wikinson, K. A., Treihou, M., Téné, N., Castillo, D., Sauvain, M., 2019, Prospecting peptides isolated from black soldier fly (Diptera: stratiomyidae) with antimicrobial activity against *Helicobacter pylori* (Campylobacterales: Helicobacteraceae), J. Insect Sci., 19, 1-5.
- Beecher, G. R., 2003, Overview of dietary flavonoids: nomenclature, occurrence and intake, J. Nutr., 133, 3248-3254.
- Benzie, I. F. F., Strain, J. J., 1996, The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": The FRAP assay, Anal. Biochem., 239, 70-76.
- Blois, M. S., 1958, Antioxidant determinations by the use of a stable free radical, Nature, 181, 1199-1200.
- Branen, A. L., 1975., Toxicology and biochemistry of butylated hydroxyanisole and butylated

- hydroxytoluene, J. Am. Oil Chem. Soc., 52, 59-63.
- Byun, E. B., Kim, M. J., Kim, S. J., Oh, N. S., Park, S. H., Kim, W. S., Byun, E. H., 2020, Antioxidant activity and neuroprotective effects of ethanol extracts from the core of *Diospyros kaki*, Korean J. Food Sci. Technol., 52, 60-66.
- Cho, H. E., Choi, Y. J., Cho, E. K., 2010., Antioxidant and nitrite scavenging activity and α -glucosidase inhibitory effect of water extract from *Schizandra chinensis Baillon*, J. Korean Soc. Food Sci. Nutr., 39, 481-486.
- Choi, I. H., Park, K. H., Shoi, S. U., Jung, Y. W., Kim, S., Park, C. Y., Chung, T. H., 2022, Effects of dietary *Ptecticus tenebrifer* on the fecal microbiomes of Bichon fries, J. Environ. Sci. Int., 31, 535-542.
- Choi, I. H., Shoi, S. U., Jeong, Y. W., Park, K. H., Kim, T. H., Park, K. W., Chung, T. H., 2022, Effects of dietary *Ptecticus tenebrifer* powder and canned mixtures on protein digestibility by different breeds of companion dogs, J. Environ. Sci. Int., 31, 285-289.
- Choi, J. H., Chung, S. K., 2019, Antioxidant and antimicrobial activities of polyphenols isolated from unripe apples (*Malus pumila* cv. Hongro), Korean J. Food Preserv., 26, 690-696.
- Choi, Y. H., Yoon, S. Y., Jeon, S. M., Lee, J. Y. Oh, S. M., Lee, S. H., Kim, J. S., 2019, Effects of different levels of *Hermetia Illucens* on growth performance and nutrient digestibility in weaning pigs, Journal of the Korea Academia-Industrial cooperation Society, 20, 255-261.
- Firmansyah, M., Abduh, M. Y., 2019, Production of protein hydrolysate containing antioxidant activity from *Hermetia illucens*, Heliyon, e02005.
- Folin, D., Denis, W., 1912, On phosphotungstic phosphomolybdic compounds as color reagents, J. Biol. Chem., 12, 239-243.
- Gheldof, N., Engeseth, N. J., 2002, Antioxidants capacity of honeys from various flora sources based on the determination of oxygen radical absorbance capacity and inhibition of vitro lipoprotein oxidation in human serum samples, J. Agric. Food Chem., 50, 3050-3055.
- Hertog, M. G. L., Hollman, P. C. H., van de Putte, B., 1993, Content of potentially anticarcinogenic flavonoids of tea infusions, wines, and fruit juices, J. Agri. Food Chem., 41, 1242-1246.
- Jun, H. I., Kim, Y. A., Kim, Y. S., 2014, Antioxidant activities of *Rubus coreanus* Miqel and *Morus alba* L. fruits, J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr., 43, 381-388.
- Kim, D. H., Moon, Y. S., Son, J. H., 2015, Verification of anti-oxidative activity of *Aruncusdioicus*, a native plant of Ulleungdo, J. Plant Biol., 42, 55-59.
- Kim, D. O., Lee, K. W., Lee, H. J., Lee, C. Y., 2002, Vitamin C equivalent antioxidant capacity (VCEAC) of phenolic phytochemicals, J. Agric. Food Chem., 50, 3713-3717.
- Kim, J. G., Cho, Y. C., Choi, J. Y., Kim, W. T., Jeong, G. S., Park, K. H., Hwang, S. J., 2008, Ecology of the black soldier fly, *Hermetia illucens* (diptera: stratmyidae) in Korea. Korean J. Appl. Entomol., 47, 337-343.
- Kim, J. H., Yoon, S. J., Lee, K. H., Kwon, H. J., Chun, S. S., Kim, T. W., Cho, Y. J., 2005, Screening of biological activities of the extracts from basil (*Ocimum basilicum* L.), Appl. Biol. Chem., 48, 173-177.
- Kim, K. C., Kim, J. S., 2020, Effect of varying ethanol concentrations on the extraction properties and physiological activity of *Artemisia annua* L., Korean J. Food Sci. Technol., 52, 130-137.
- Kim, M. W., 2013, Effect of sea buckthorn leaves on hepatic enzyme levels in streptozotocin induced diabetic rats, J. Korean Soc. Food Sci. Nutr., 42, 40-45.
- Kim, S. C., Kwon, H. S., Kim, C. H., Kim, H. S., Lee, C. Y., Cho, S. J., 2016, Comparison of antioxidant activities of pileus and stipe from white beech mushroom (*Hypsizygus marmoreus*), J. Life Sci., 26, 928-935.
- Kim, S. C., Ryu, H. M., Jung, S. M., Lee, Y. H., Kim, H. S., Kim, J. O., Cho, Y. U., Cho, S. J., 2013, Antioxidant and tyrosinase inhibitory activity of *Hypsizygus marmorus* (brown cultivar) methanol extracts, J. Mushroom Sci. Prod., 11, 254- 260.
- Kim, S. H., Bae, C. H., Yun, J. H., Sim, J., Han, H. S., 2019, Evaluation of black soldier fly meal as a dietary animal protein source replacing fish meal in Korean catfish *Silurus asotus*, J. Kor. Soc. Fish Mar. Edu., 31, 1495-1502.
- Kim, S. K., Choi, Y. R., Park, P. J., Choi, J. H., Moon, S. H., 2000, Purification and characterization of antioxidative peptides from enzymatic hydrolysate of cod teiset protein, Korean J. Fish Aquat. Sci. 33, 198-204.
- Kim, T. H., Choi, I. H., Chung, T. H., 2019, Effect of *Ptecticus tenebrifer* extract on the growth of juvenile *Litopenaeus vannamei* and water quality, J. Environ. Sci. Int., 28, 1-6.
- Kim, Y. E., Yang, J. W., Lee, C. H., Kwon, E. K., 2009, ABTS radical scavenging and anti-tumor effects of *Tricholoma matsutake* sing. (Pine Mushroom), J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr., 38, 555-560.
- Kwon, Y. R., Lee, H. R., Hwang, S. H., Kwon, O. J., Youn, K. S., 2016, Antioxidant activities and physiological

- properties of *Euphorbia humifusa* extracts prepared using different solvents, Korean J. Food Preserv., 23, 252-258.
- Lee, J. H., Lee, S. R., 1994, Some physiological activity of phenolic substances in plant foods, Korean J. Food Sci. Technol., 26, 317-323.
- Loizzo, M. R., Bonesi, M., Di Lecce, G., Boselli, E., Tundis, R., Pugliese, A., Menichini, F., Frega, N. G., 2013, Phenolics, aroma profile, and in vitro antioxidant activity of Italian dessert passito wine from Saracena (Italy), J. Food Sci., 78, C703-708.
- MAFRA (Ministry of Agriculture, Food and Rural Affairs), 2021, The investigation of insects industry 2021, Retrieved from, <https://www.mafra.go.kr/bbs/mafra/65/330865/artclView.do> on Aug 02.
- Middleton, Jr. E., Kandaswami, C., 1992, Effects of flavonoids on immune and inflammatory cell functions, Biochem. Pharmacol., 43, 1167-1179.
- Park, C. H., 2016, Studies on evaluation of functional feed for animal companions using extract or enzymatic hydrolysate of *Tenebrio molitor* larvae (Mealworm), M.D. Dissertation, Hanllym University, Gangwon-do, Republic of Korea.
- Park, J. Y., Heo, J. C., Woo, S. U., Yun, C. Y., Kang, S. W., Kwang, J. S., Lee, S. H., 2006, Anti-inflammatory and cellular protective effects on hydrogen peroxide-induced cytotoxicity of grasshopper extracts., Korean J. Food Preserv., 13, 296-802.
- Park, J. Y., Kim, S. Y., Koo, B., Kim, E., Kim, Y. S., Park, K., 2022, Whitening improvement effect of *Hermetia illucens* larvae extracts., J. Environ. Sci. Int., 31, 883-890.
- Park, J. Y., Kwak, K. W., Choi, J. Y., Lee, S. E., Kim, Y. S., Koo, B., Kim, E., Park, K., Kim, S. Y., 2021, Ethanol Extract of *Hermetia illucens* larvae Inhibits adipogenesis in 3T3-L1 adipocytes, J. Life Sci., 31, 1094-1999.
- Park, K. H., Choi, J. Y., Nam, S. H., Kim, S. H., Kwak, K. W., Lee, S. H., Nho, S. K., 2014, Antioxidant activities of black soldier fly, *Hermetia illucens*, J. Seric. Entomol. Sci., 52, 142-146.
- Osawa, T., 1994, Novel natural antioxidants for utilization in food and biological systems, In Postharvest Biochemistry of plant Food-Materials in the Tropics, Uritani, I., Garcia, V. V., Mendoza, E. M. Eds., Japan Scientific Societies Press, Tokyo, Japan, 241-251.
- Pyo, S. J., Won, J., Kang, D. G., Sohn, H. Y., 2020, Antithrombotic activity of *Hermetia illucens* (Black soldier fly), J. Life Sci., 30, 386-393.
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., Rice-Evans, C., 1999, Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay, Free Radical Bio Med., 26, 1231-1237.
- Singleton, V. L., Orthofer, R., Lamuela-Raventos, R. M., 1999, Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. Methods Enzymol., 299, 152-178.
- Vargas-Abúndez, A. J., Randazzo, B., Foddai, M., Sanchini, L., Truzzi, C., Giorgini, E., Olivotto, I., 2019, Insect meal based diets for clownfish: Biometric, histological, spectroscopic, biochemical and molecular implications, Aquaculture, 498, 1-11.
- Wang, Q., Kuang, H., Su, Y., Sun, Y., Feng, J., Guo, R., Chan, K., 2013, Naturally derived anti-inflammatory compounds from Chinese medicinal plants, J. Ethnopharmacol. 146, 9-39.
- Yeo, J. S., Chun, S. S., Choi, J. H., 2014, Antioxidant activities of solvent extracts from *Rosa multiflora*, J. Life Sci., 24, 1217-1223.
- Zhishen, J., Mengcheng, T., Jianming, W., 1999, The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals, Food Chem. 64, 555-559.

-
- Researcher. Ji-Yeong Park
Industrial Insect and Sericulture Division, Department of Agricultural Biology, National Institute of Agricultural Sciences, RDA
jjiyeong1211@korea.kr
 - Researcher. Bon-Woo Koo
Industrial Insect and Sericulture Division, Department of Agricultural Biology, National Institute of Agricultural Sciences, RDA
bonwoo9@korea.kr
 - Researcher. Yong-Soon Kim
Industrial Insect and Sericulture Division, Department of Agricultural Biology, National Institute of Agricultural Sciences, RDA
kaiko0214@korea.kr
 - Researcher. Kwan-Ho Park
Industrial Insect and Sericulture Division, Department of Agricultural Biology, National Institute of Agricultural Sciences, RDA
nicegano@korea.kr