장내 미생물 다양성을 위한 Prebiotic 소재로서의 갈색거저리 유충 발효물의 가치

이수정¹ · 권규택¹ · 정이형² · 유종상³ · 조경훈³ · 김용석⁴ · 장한수²

¹(재)베리 & 바이오식품연구소, ²전북바이오융합산업진흥원

³(주)대한사료, ⁴전북대학교 식품공학과

Study of Fermented Mealworm (*Tenebrio molitor* L.) as a Novel Prebiotic for Intestinal Microbiota

Su Jung Lee¹, Gyoo Taik Kwon¹, Yi Hyung Chung², Jong-Sang Yoo³,
Kyung-Hoon Cho³, Young-Suk Kim⁴, and Han Su Jang²

¹Berry & Biofood Research Institute, ²Jeonbuk Institute for Food-Bioindustry, ³Daehan Feed Co., Ltd.

⁴Department of Food Science and Technology, Chonbuk National University

ABSTRACT Insects are attracting worldwide attention as important future industrial resources. Insect farming attracts public attention for commercialization especially in Korea, partly because of government subsidies and also support based on the legislation of the so-called “insect industry law”. Insects have a high nutritional value and contain protein, amino acids, vitamin B, etc., and are suitable for animal feed following the natural food web. Currently, crickets and mealworms are the most widely utilized in this regard. In this study, we measured amino acid changes in fermented mealworms (*Tenebrio molitor* L.). In addition, control, positive, and fermented mealworm (FM) diets were provided to BALB/c mice for 8 weeks. There was no change in dietary and body weight during the 8 weeks. The number of lactic acid bacteria in the intestines significantly increased in the FM group. There was no change in the total number of microbiota in each group nor was there any change in the general bacteria, *E. coli*, and *E. coli* form. These results suggest that fermented mealworm can be considered as a dietary prebiotic to improve the microbiota diversity of the human intestinal environment. However, further study for human application is necessary.

Key words: fermented mealworm, microbiota, microbiome, *Firmicutes*, *Bacteroidetes*

서 론

곤충에 대한 식용은 매우 오래전부터의 일이며(Jung, 2013), 더욱이 식용곤충 시장은 매년 성장하고 있어 국가에 따라서는 곤충산업을 전략산업으로 육성하고 있기도 하다. 전 세계적으로 식용곤충의 수는 현재 약 1,900여 종으로 알려져 있으며(Min 등, 2016), 그중 약 1,700여 종의 곤충들이 식품으로 섭취되고 있다(Siemianowska 등, 2013). 최근 연구에 의하면 곤충의 다양한 영양성분으로 인해 식량자원으로서의 중요성이 부각되고 있으나 문화 및 식습관의 차이로 곤충을 식량자원으로 도입하는 데는 매우 부정적이다(Gmuer 등, 2016; Verbeke, 2015). 또한 선진국의 많은

소비자 역시 곤충을 “혐오음식”으로 인식하고 있고 소수의 사람만이 곤충을 섭취하고 있다. 수많은 식용곤충이 상업적 시장에서 소비자들에게 인정받지 못할 것으로 판단되나, 식용곤충의 영양적 가치를 무시하기에는 단백질, 지방, 미네랄 및 비타민 등의 영양소가 풍부하다(Kim 등, 2014). 특히, 식용곤충의 단백질 함량은 고기와 유사하게 약 15~22%가 포함되어 있다(Yi 등, 2013). 전 세계 인구의 증가가 단백질 공급원에 대한 수요를 증가시킴에 따라 경제적으로 유용한 가축 사육을 위한 토지의 이용은 매우 제한적이므로 동물성 단백질의 생산량이 부족할 것으로 예상된다. 따라서 식용곤충은 부족한 단백질 대체재로의 활용을 위해 대량의 사육방법들이 개발되고 있고, 우리나라도 농업 경제 활성화의 일환으로

Received 4 January 2021; Revised 30 April 2021; Accepted 3 May 2021

Corresponding author: Han Su Jang, Jeonbuk Institute for Food-Bioindustry, 111-18, Wonjangdong-gil, Deokjin-gu, Jeonju-si, Jeonbuk 54810, Korea, E-mail: jhs@jif.re.kr

Author information: Young-Suk Kim (Professor)

Copyright © 2021 by The Korean Society of Food Science and Nutrition. All rights Reserved.

This is Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

로 식용곤충 시장을 지원하고 있다.

갈색거저리 유충(밀웍, *Tenebrio molitor* L.)은 딱정벌레목 거저리과에 속하는 곤충의 유충으로 주로 파충류, 조류 또는 포유류 등의 먹이로 활용되어 왔으며 매우 경제적인 곤충으로 판단되고 있다(Park과 Jung, 2013). 갈색거저리 유충은 대두보다도 많은 필수아미노산(발린, 메티오닌, 페닐알라닌 등)을 다량 함유하고 있으며(Yi 등, 2013), 제한아미노산이 없어 양질의 단백질을 함유하고 있다(Shockley와 Dossey, 2014). 더욱이 육류에 비해 불포화지방산 함량이 높고 비타민 A와 철분 등이 비교적 풍부하다(Rumpold와 Schluter, 2013a; 2013b). 갈색거저리 유충의 영양적 가치와 더불어 갈색거저리 유충은 번데기로 변태되는 동안 외골격이 생성되며 주성분은 키틴이다(Kim 등, 2014; Song 등, 2018). 키틴은 위장관에서 유익균에 유리한 환경을 제공하는 식이섬유의 공급원으로 사용된다고 보고되고 있다(Hamed 등, 2016; Ringo 등, 2012). Prebiotics(프리바이오틱스)는 건강상의 이점을 제공하는 숙주 미생물에 의해 선택적으로 활용되는 기질로 위장관, 심장 대사, 정신 건강, 뼈 등에 긍정적인 영향을 미칠 수 있다는 보고가 있다(Gibson 등, 2017). 따라서 갈색거저리 유충의 키틴 또한 프리바이오틱스 소재로서 잠재력을 가질 수 있을 것으로 판단되어 본 연구에서는 갈색거저리 유충 발효물을 섭취시킨 후 마우스 장내 미생물 군집(microbiota)과 유전적 다양성(microbiome) 분석을 통해 갈색거저리 유충 발효물의 프리바이오틱스에 대한 가능성을 평가하고자 한다.

재료 및 방법

갈색거저리 유충 발효물 제조

갈색거저리 유충의 발효물 제조를 위해 탈지된 갈색거저리 유충(MPC, MILAE Bioresources Co., Ltd., Seoul, Korea) 원료를 121°C에서 20분 동안 멸균했으며, 원료 110 kg을 실온에서 정제수 55 L와 함께 혼합하였다. 발효에 사용된 균주인 *Aspergillus oryzae*(Suwon Fermentation Co.,

Gyeonggi, Korea)는 갈색거저리 유충 분말 중량대비 1% (1.1 kg)를 첨가하였다. 갈색거저리 유충 분말에 균 접종 시 균일하게 분포되도록 면적을 넓게 소분하여 발효를 진행하였다. 발효는 30°C에서 5일 동안 진행했으며 이후 45°C에서 하루 동안 건조하였다. 발효물은 분쇄 후 Sieve No. 16의 망을 통과시켜 분말입자 크기를 일정하게 함으로써 최종 발효물을 획득하였다.

거저리 유충 발효물의 아미노산 분석

아미노산 분석을 위하여 갈색거저리 유충 및 발효물 분말 5 g과 6 N HCl 40 mL를 둥근 플라스크에 넣고 혼합한 다음 110°C에서 24시간 동안 질소가스를 주입하여 가수분해하였다. HCl을 50°C에서 감압 농축시킨 다음 농축시료는 0.2 N sodium citrate buffer(pH 2.2) 50 mL를 넣어 희석한 뒤 여과(0.45 µm)를 실시하였다. 여과한 시료(30 µL)는 아미노산 분석기(Model L-8900, Hitachi, Naka, Japan)를 이용하여 분석하였다.

실험동물의 사육

생후 5주령의 수컷 BALB/c 마우스(Samtako, Gyeonggi, Korea)를 구입한 다음 온도(22±2°C)와 상대습도(50±5°C) 그리고 명암이 12시간 단위로 조절되는 케이지에서 약 1주일간의 적응기간을 거쳤다. 실험군마다 마우스는 평균 체중이 약 18~20 g이 되도록 각 군당 10마리씩 3개 군으로 나누어 stainless steel bottomed cage에 5마리씩 분리 사육하였다.

식이 제조

실험의 정상대조군은 AIN-76A를 사용했으며, 사료대조군은 AIN-76A에서 단백질 및 탄수화물을 줄이고 말토덱스트린을 증가시켜 갈색거저리 유충 발효물과 조성을 동일하게 제조하여 식이로 사용하였다. 실험에 사용한 사료의 조성은 Table 1에 나타내었다.

Table 1. Dietary composition

	CTL (AIN-76A)		POSI		FM ¹⁾	
	g	kcal	g	kcal	g	kcal
Casein	1,000	4,000	750	3,000	750	3,000
Methionine	15	60	15	60	15	60
Con starch	750	3,000	500	2,000	500	2,000
Sucrose	2,500	10,000	1,000	4,000	1,000	4,000
Cellulose	250	0	250	0	250	0
Con oil	250	2,250	250	2,250	250	2,250
Maltodextrin			2,000	8,000		
FM 20%					2,000	8,000
Mineral	175	0	175	0	175	0
Vitamin	50	200	50	200	50	200
Choline bitrtrate	10	0	10	0	10	0
Total	5,000	19,510	5,000	19,510	5,000	19,510

¹⁾FM: fermented mealworm.

동물 모델

동물실험에서의 실험군의 분류는 정상대조군(Control, CTL), 사료대조군(Positive, POSI), 갈색거저리 유충 발효물(Fermented mealworm, FM) 3그룹으로 8주간 식이를 공급하였다. 8주 후 실험동물을 희생하여 혈액 및 소장과 맹장을 채취하였다. 모든 동물실험 및 관리는 (재)베리&바 이오식품연구소 효능평가센터의 실험동물 윤리위원회 승인 (동물실험 허가번호: BBRI-IACUC-18003) 하에 진행되었다.

장내 미생물 군집 분석

장내 총균, 대장균, 대장균군 및 유산균을 확인하기 위해 실험 최종일에 모든 실험동물의 소장을 양방향에서 절찰한 다음 적출하고 1×phosphate buffer saline으로 10배 희석하여 2분간 혼합하였다. 이후 10배 희석액을 연속적으로(10배) 희석한 뒤 1 mL를 취하여 총균(aerobic count plate, 3M, St. Paul, MN, USA), 대장균 및 대장균군(3M Petrifilm *E. coli*/coliform count plate, 3M), 유산균(3M Petrifilm lactic acid bacteria count plate, 3M) 분석용 펠트리 필름에 도말한 다음 30~37°C에서 48시간 동안 배양하였다. 총균, 대장균, 대장균군, 유산균 수는 각각의 펠트리 필름상의 전형적인 콜로니 수를 수동으로 계수하였다.

Next generation sequencing(NGS) 분석

장내 마이크로바이옴(microbiome) 분석을 위해 맹장(cecum) 내 존재하는 분변을 이용하여 맹장 내 박테리아의 총 DNA를 추출하였다(PowerSoil DNA Isolation kit, MO BIO Laboratories Inc., Hilden, Germany). 시료의 16S rRNA V3-V4 지역을 타겟으로 하는 프라이머(forward primer 5' TCG TCG GCA GCG TCA GAT GTG TAT AAG AGA CAG CCT ACG GGN GGC WGC AG/ reverse primer 5' GTC TCG TGG GCT CGG AGA TGT GTA TAA GAG ACA GGA CTA CHV GGG TAT CTA ATC C)를 이용하여 증폭하였다. 증폭하여 정량이 끝난 시료는 MiSeq(Illumina, San Diego, CA, USA)을 이용하여 시퀀싱을 수행하였고, 시퀀싱 결과는 adapter trimming, merge paired-end reads, quality check, chimeric sequence 제거 과정을 통해 분석에 필요한 시퀀스를 획득하였다. 모든 결과는 RDP(v.2.11)를 이용하여 taxonomy profiling을 실시한 후 분석에 필요한 operational taxonomic units(OTUs, 97% identity)를 얻었다. 이후 QIIME를 이용하여 다양성 분석 및 LDA Effect Size(LEfSe)를 실시하여 그룹별 박테리아의 상대적 구성을 비교 분석하였다.

통계분석

모든 분석 자료는 평균±표준오차로 나타내었다. 실험 결과는 SPSS(SPSS Inc., version 12.0, Chicago, IL, USA)를 이용하여 $P < 0.05$ 수준에서 통계처리 하였으며 Duncan's

multiple range test 또는 t-test를 통하여 검증하였다. 장내 미생물의 microbiome 분석은 LEfSe의 Kruskal-Wallis와 Wilcoxon tests, Manna-Whitney test를 이용하여 $P < 0.05$ 에서 통계처리 하였다.

결과 및 고찰

갈색거저리 발효에 따른 아미노산 변화

갈색거저리 유충의 발효과정을 거친 뒤 아미노산의 변화를 확인하였다(Table 2). 분석된 18종의 아미노산 성분이 대부분 모두 증가하였고 발효과정을 거치면서 최소 2배에서 최대 13배까지 증가하였다. 특히 필수아미노산인 발린은 $1,361.1 \pm 0.81 \mu\text{g/g}$ 에서 $4,446.0 \pm 0.36 \mu\text{g/g}$ 으로 3.2배, 메티오닌은 $79.5 \pm 1.96 \mu\text{g/g}$ 에서 $392.4 \pm 1.18 \mu\text{g/g}$ 으로 4.9배, 페닐알라닌은 $258.5 \pm 0.84 \mu\text{g/g}$ 에서 $2,249.5 \pm 0.85 \mu\text{g/g}$ 으로 8.7배 증가하였다. 본 연구에서 확인된 결과와 마찬가지로 발효과정을 거친 갈색거저리의 아미노산 증가는 Borremans 등(2020a, 2020b)의 연구결과와 동일한 결과를 확인할 수 있었고, 갈색거저리를 데친 후 발효과정을 거치면서 아미노산과 저분자 수용성 단백질의 양이 증가하였다고 보고하였다. 본 연구에서 갈색거저리 유충이 발효과정을 통해 대부분의 아미노산 함량이 증가한 사실을 바탕으로 단백질의 구조와 양적 변화를 통해 기능적 변화에 영향을 미칠 것으로 사료된다.

소장 내 갈색거저리 유충 발효물의 prebiotic 효과

갈색거저리 유충 발효물의 microbiota 분석을 위해 갈색

Table 2. The changes of amino acid content in fermented mealworm

Amino acid ($\mu\text{g/g}$)	M ¹⁾	FM ²⁾
Glycine	290.0 ± 1.53	$3,390.0 \pm 1.23^*$
Alanine	$1,284.6 \pm 0.56$	$6,698.7 \pm 2.56^*$
Serine	346.5 ± 1.20	$4,476.5 \pm 1.51^*$
Proline	$4,293.3 \pm 0.31^*$	$2,717.8 \pm 0.65$
Valine	$1,361.1 \pm 0.81$	$4,446.0 \pm 0.36^*$
Threonine	166.6 ± 0.45	$2,622.0 \pm 0.54^*$
Leucine	388.6 ± 1.03	$5,117.7 \pm 0.91^*$
Isoleucine	611.3 ± 0.56	$3,096.0 \pm 0.56^*$
Asparagine	92.4 ± 0.58	$198.0 \pm 1.26^*$
Aspartic acid	106.4 ± 0.98	$3,626.5 \pm 1.59^*$
Lysine	515.9 ± 0.65	$2,209.5 \pm 1.96^*$
Glutamine	$1,109.6 \pm 0.49^*$	233.6 ± 1.05
Glutamic acid	$1,945.3 \pm 1.03$	$9,594.2 \pm 1.14^*$
Methionine	79.5 ± 1.96	$392.4 \pm 1.18^*$
Histidine	$723.3 \pm 0.54^*$	676.8 ± 0.98
Phenyl alanine	258.5 ± 0.84	$2,249.5 \pm 0.85^*$
Arginine	$2,479.5 \pm 0.55^*$	$1,983.6 \pm 0.77$
Tyrosine	$1,442.0 \pm 0.14$	$3,782.9 \pm 0.64^*$

¹⁾M: mealworm.

²⁾FM: fermented mealworm.

*Significantly different between M and FM according to t-test at $P < 0.05$.

Table 3. Total bacteria, *E. coli*, *E. coli* form, and lactic acid bacteria composition of small intestines of BALB/c mice fed with fermented mealworm (unit: log CFU/mL)

	TBC ¹⁾	LAB ²⁾	<i>E. coli</i>	<i>E. coli</i> forms
CTL	3.4±1.2	4.5±1.3 ^a	2.1±1.6	2.1±1.6
POSI	2.2±0.9	3.0±1.0 ^b	0.4±0.5	0.4±0.5
FM ³⁾	3.1±0.5	4.4±0.5 ^a	1.3±0.4	1.2±0.6

¹⁾TBC: total bacteria.²⁾LAB: lactic acid bacteria.³⁾FM: fermented mealworm.

Values followed by different letters (a,b) are significantly different ($P<0.05$) according to Duncan's multiple range test.

거저리 유충 발효물이 첨가된 사료를 제작하여(Table 1) 8 주 동안 마우스에게 제공하였다. 각각의 사료를 섭취시킨 그룹 간 실험동물의 사료 섭취량과 체중에는 변화가 없었다 (data not shown). 실험동물 희생 후 소장을 적출한 다음 총균, 대장균, 대장균군, 유산균 수를 확인하였다(Table 3).

총균수는 CTL 그룹에서 3.4 ± 1.2 log CFU/mL, POSI 그룹에서 2.2 ± 0.9 log CFU/mL 그리고 FM 그룹에서 3.1 ± 0.5 log CFU/mL로 측정되었고, CTL, POSI, FM 그룹 간에 유의적인 차이가 없었다. 대장균 수의 경우 CTL 그룹은 2.1 ± 1.6 log CFU/mL, POSI 그룹은 0.4 ± 0.5 log CFU/mL, FM 그룹은 1.3 ± 0.4 log CFU/mL로 대장균의 경우도 각 그룹 간에 차이가 없는 것을 확인하였다. 또한 대장균군의 경우도 마찬가지로 CTL, POSI, FM 그룹은 각각 2.1 ± 1.6

log CFU/mL, 0.4 ± 0.5 log CFU/mL, 1.2 ± 0.6 log CFU/mL로 각 그룹 간에 통계학적 유의성은 없었다. 유산균의 경우 CTL 그룹에서 4.5 ± 1.3 log CFU/mL, POSI 그룹에서 3.0 ± 1 log CFU/mL 그리고 FM 그룹에서 4.4 ± 0.5 log CFU/mL로 측정되었고, 이는 CTL 그룹과 비교했을 때 FM을 섭취시킨 그룹과 차이는 없었으나 POSI 그룹과 비교했을 때 FM의 공급은 소장 내 유산균 수를 증가시키는 것으로 확인되었다. 본 연구에서 일반 식이를 섭취시킨 마우스의 장내 미생물과 비교했을 때 갈색거저리 유충 발효물을 섭취시킨 마우스의 장내 미생물은 드라마틱한 변화를 나타내지 않았으나, 유산균 수에 영향을 미치지 않으면서 대장균과 대장균군의 수가 다소 감소하는 경향을 나타내는 것으로 미루어볼 때 갈색거저리 유충 발효물의 섭취가 유해균 감소를 통해 장내 환경개선에 도움을 줄 수 있을 것으로 사료된다.

갈색거저리 유충에는 키틴 및 키토산이 다량 존재한다고 알려져 있으며(Song 등, 2018), Hamed 등(2016)의 키틴 및 키토산이 BALB/c 마우스에서 유산균의 성장을 촉진한다는 연구 내용을 고려해볼 때 갈색거저리 유충 발효물의 키틴 및 키토산의 섭취에 따른 장내 미생물에 대한 추가 연구가 진행돼야 할 것으로 여겨진다.

NGS를 통한 microbiome 분석

갈색거저리 유충 발효물이 microbiome에 미치는 영향을 확인하기 위해 NGS 분석을 시행하였고 결과는 relative

Fig. 1. Alpha and beta diversity representation of relative abundance (%) of major bacteria in BALB/c mice small intestine distinguished by groups and feeding periods. (A) OTU (operational taxonomic unit) result, (B) alpha diversity, (C) beta diversity bacteria in the small intestine of BALB/c mice fed an experimental diet for 8 weeks. The results are expressed as mean±SE (n=10). Statistical analyses were done by t-test and Mann-Whitney test. * $P<0.05$, *** $P<0.001$ compared with CTL vs FM. CTL: AIN-76, POSI: positive, FM: fermented mealworm.

abundance(%)로 나타내었다(Fig. 1). CTL 그룹은 $2,206.10 \pm 272.24$, POSI 그룹은 $1,812.70 \pm 87.39$, FM 그룹은 $2,897.90 \pm 189.83$ 개의 박테리아를 획득하였다(Fig. 1A). Taxonomy 분석을 통해 얻은 OTU를 바탕으로 다양성 분석을 실시한 결과 alpha diversity(Fig. 1B)를 통해 FM 그룹에서 미생물 종의 다양성이 증가함을 확인하였고, beta diversity(Fig. 1C)를 통해 family 단계와 genus 단계에서 그 다양성 구성에 차이가 있음을 확인하였다. 다양성 구성에 대한 heat map 분석결과(Fig. 2), phylum 단계의 3그룹 모두에서 *Bacteroidetes*와 *Firmicutes* 균들이 큰 비율을 차지하였고 비슷한 구성을 보였다. Family 단계의 CTL 그룹에서는 *Lachnospiraceae* 및 *Porphyromonadaceae*, *Deferribacteraceae*가 많은 비율을 차지하였고, POSI 그룹에서 *Bacteroidaceae*와 *Verrucomicrobiaceae*, *Porphyromonadaceae*의 비율이 높게 나타났다. FM 그룹에서는 *Porphyromonadaceae*와 *Lachnospiraceae* 등이 높은 비율을 차지함을 확인하였다. Genus 단계에서는 CTL 그룹과 POSI 그룹의 경우 *Bacteroidetes*와 *Mucispirillum*, *Bilophila*의 비율이 높게 나타났고, FM을 섭취시킨 그룹은 *Bacteroidetes*와 *Mucispirillum*, *Barnesiella*의 비율이 높게 나타났다.

장내 미생물 불균형은 자가면역질환, 알레르기, 비만, 당

노병, 감염질환 등과 밀접한 관련이 있다고 보고된 바 있다(Kamada 등, 2013). 정상인과 비교했을 때 과민성대장증후군 환자의 microbiota는 *Firmicutes*가 증가한 반면 *Bifidobacterium*과 *Gaecalibacterium*은 현저하게 감소한다고 보고되었다(Mariat 등, 2009). *Firmicutes/Bacteroidetes* 비율은 장내 세균총의 다양성에 대한 지표로 사용되고 있으며, Ley 등(2006)은 고도비만 환자가 체중을 감량함에 따라 phylum의 *Firmicutes*와 *Bacteroidetes* 분포에 대한 연구 결과를 발표하였다. 이 연구에서 고도비만 환자는 당초 *Firmicutes*가 전체의 90%를 차지했지만 체중 감량 12주 후에는 *Firmicutes*가 소폭 감소하고 거의 존재하지 않았던 *Bacteroidetes*가 10% 증가했다고 보고하였다.

본 연구에서 *Firmicutes/Bacteroidetes* 비율 변화 분석을 위해 각 그룹의 abundance of bacteria를 확인하였다. *Bacteroidetes*는 각각 CTL 그룹이 0.311 ± 0.017 , POSI 그룹은 0.373 ± 0.005 , FM 그룹은 0.400 ± 0.016 으로 나타났으며, FM의 섭취는 CTL 그룹보다 약 28% 증가하였다(Fig. 3). *Firmicutes*는 CTL, POSI, FM 그룹에서 각각 0.349 ± 0.016 , 0.336 ± 0.006 , 0.260 ± 0.010 으로 나타났으며 FM의 섭취는 CTL 그룹보다 약 24.5% 감소하는 경향을 보였다. Kim 등(2017) 및 de Oliveira 등(2016)의 연구에 의하면 *Bacteroidetes*, *Firmicutes* 및 *Proteobacteria* 종이 전체

(A) Phylum bacteria relative abundances

(B) Family bacteria relative abundances

(C) Genus bacteria relative abundances

Fig. 2. Heat map representation of relative abundance of major bacteria in BALB/c mice small intestine distinguished by groups and feeding periods. (A) Phylum, (B) Family, (C) Genus level bacteria in the small intestine of BALB/c mice fed an experimental diet for 8 weeks. C: AIN-76A, P: positive, H: fermented mealworm.

Fig. 3. The relative abundance (%) of the major bacteria in BALB/c mice small intestines distinguished by groups. (A) *Bacteroidetes* and *Firmicutes* levels, (B) *Bacteroidetes/Firmicutes* ratio (%). The results are expressed as mean $\pm$ SE (n=10) of the relative abundance (% of total 16S rRNA) of each phylum. *#Significant differences were compared with CTL at $P<0.05$ according to t-test.

종의 90~91%를 차지한다고 보고하였다.

*Porphyromonadaceae*는 건강한 성인에서 많이 발견되는 종(Clarke 등, 2013)으로 본 연구의 분석결과 통계적 유의성은 없었다(Fig. 4A). Segata 등(2012)은 *Porphyromonadaceae*의 genus에 속한 균주인 *Barnesiella*는 항염증 작용을 보이며 항생제 내성균을 저해하는 효과가 있다고 보고하였다. 본 연구에서 *Barnesiella*는 CTL, POSI, FM 그룹 각각 0.041 ± 0.003 , 0.050 ± 0.004 , 0.086 ± 0.005 로 나타났으며 FM의 섭취는 CTL 그룹보다 약 100% 증가함을 확인하였다(Fig. 4B). *Rikenellaceae*는 장내 박테리아로 소화기관의 건강 상태를 나타내며 고지방 식이를 먹인 쥐에서 크게 증가한다고 보고되었다(Kim 등, 2012; Nagano와 Yano, 2020). *Rikenellaceae*는 CTL 그룹과 비교하여 POSI 그룹에서 감소하였고 FM 그룹에서는 증가하는 경향을 보였으나 유의적인 차이는 나타나지 않았다(Fig. 4C).

본 연구에서는 갈색거저리 유충의 발효과정을 통해 아미노산의 함량 변화를 확인하고, 발효물을 사료로 제작하여 마우스에게 8주간 섭취시켰을 때 마우스 소장 내 미생물 군집 수 변화와 microbiota 분석을 진행하였다. 갈색거저리 유충은 발효과정을 거치면서 대부분의 아미노산 함량이 증

Fig. 4. The relative abundance (%) of the major bacteria in BALB/c mice small intestines distinguished by groups. (A) *Porphyromonadaceae*, (B) *Barnesiella*, (C) *Rikenellaceae*. *Significant difference was compared with CTL at $P<0.05$ according to t-test.

가하였다. 또한 갈색거저리 유충 발효물을 마우스에게 섭취시킨 결과 마우스 장내에 존재하는 총균 및 유산균 변화에는 영향을 미치지 않으나, 대장균 및 대장균군의 유해균을 감소시키는 영향을 나타내었다. 또한 갈색거저리 유충 발효물의 섭취가 microbiome의 다양성을 증가시키며 *Bacteroidetes/Firmicutes* 비율 변화에 영향을 미치는 것으로 확인되었다. 따라서 본 연구결과에서는 갈색거저리 유충이 발효과정을 통해 발생한 아미노산들의 변화가 마우스 장내 유해균 감소를 통해 소장 내 환경개선에 긍정적 영향을 미침으로써 장내 미생물의 다양성 증가에 영향을 나타내는 것으로 판단되며, 본 논문에서는 갈색거저리 유충 발효물이 인간의 장내 환경개선을 위한 prebiotics 소재로서의 가치를 확인하는 데 그 의미가 있을 것으로 판단한다. 그러나 prebiotics 소재로서의 이용 가치를 위해서는 갈색거저리 유충 발효물의 기능적 효능 분석 및 기전 연구를 통해 추가 자료 확보가 필요할 것으로 판단된다.

요 약

곤충은 세계의 중요한 미래 산업 자원으로 주목받고 있다. 특히 한국에서 곤충은 “곤충산업법”으로 불리는 정부 지원 정책으로 대중의 관심을 모으고 있다. 곤충은 천연식품으로 단백질, 아미노산, 비타민 B 등의 영양적 가치가 높고 동물 사료에도 적합하다. 현재 귀뚜라미와 갈색거저리 유충(밀웜)이 널리 이용되고 있다. 본 연구에서는 갈색거저리 유충을 이용하여 발효과정을 거친 후 아미노산의 변화를 확인하였다. 또한 발효물을 이용한 사료를 제작하여 8주 동안 BALB/c 마우스에게 제공한 뒤 장내 미생물 분석을 시행하였다. 사료를 8주 동안 제공했을 때 체중의 변화는 없었다. 각 그룹의 장내 미생물 전체 수는 변하지 않았다. 일반세균, 대장균 및 대장균군 모두 그룹 간 어떠한 변화도 보이지 않았으나, FM 그룹에서 장내 유산균의 비율이 현저히 증가하였고 장내 미생물의 다양성을 증가시키는 것으로 확인되었다. 이러한 결과는 갈색거저리 유충 발효물이 인간의 장내 환경개선을 위한 prebiotics로서 가능성을 시사하지만, 인간에 대한 추가 적용 연구가 필요할 것으로 판단된다.

감사의 글

본 연구는 농림축산식품부의 재원으로 농림수산식품기술기획평가원의 기술사업화지원사업의 지원을 받아 이루어졌으며 이에 감사드립니다(817025-03-2-HD030).

REFERENCES

- Borremans A, Bußler S, Sagu ST, Rawel H, Schlüter OK, Van Campenhout L. Effect of blanching plus fermentation on selected functional properties of mealworm (*Tenebrio molitor*) powders. *Foods*. 2020a. 9:917. <https://doi.org/10.3390/foods9070917>
- Borremans A, Bußler S, Sagu TS, Rawel HM, Schlüter O, Van Campenhout L. Functional properties of powders produced from either or not fermented mealworm (*Tenebrio molitor*) paste. *BioRxiv*. 2020b. <https://doi.org/10.1101/2020.04.17.042556>
- Clarke SF, Murphy EF, O'Sullivan O, Ross RP, O'Toole PW, Shanahan F, et al. Targeting the microbiota to address diet-induced obesity: A time dependent challenge. *PLoS One*. 2013. 7:e65790. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0065790>
- de Oliveira FP, Mendes RH, Dobbler PT, Mai V, Pylro VS, Waugh SG, et al. Phenylketonuria and gut microbiota: A controlled study based on next-generation sequencing. *PLoS One*. 2016. 11:e0157513. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0157513>
- Gibson GR, Hutkins R, Sanders ME, Prescott SL, Reimer RA, Salminen SJ, et al. Expert consensus document: the international scientific association for probiotics and prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of prebiotics. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2017. 14:491-502.
- Gmuer A, Guth JN, Hartmann C, Siegrist M. Effects of the degree of processing of insect ingredients in snacks on expected emotional experiences and willingness to eat. *Food Qual Prefer*. 2016. 54:117-127.
- Hamed I, Ozogul F, Regenstein JM. Industrial applications of crustacean by-products (chitin, chitosan, and chitooligosaccharides): A review. *Trends Food Sci Technol*. 2016. 48:40-50.
- Jung C. Prospects of insect food commercialization: A mini review. *Korean J Soil Zool*. 2013. 17:5-8.
- Kamada N, Seo SU, Chen GY, Núñez G. Role of the gut microbiota in immunity and inflammatory disease. *Nat Rev Immunol*. 2013. 13:321-335.
- Kim KA, Gu W, Lee IA, Joh EH, Kim DH. High fat diet-induced gut microbiota exacerbates inflammation and obesity in mice via the TLR4 signaling pathway. *PLoS One*. 2012. 7:e47713. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0047713>
- Kim SA, Park SH, Lee SI, Owens CM, Ricke SC. Assessment of chicken carcass microbiome responses during processing in the presence of commercial antimicrobials using a next generation sequencing approach. *Sci Rep*. 2017. 23:43354. <https://doi.org/10.1038/srep43354>
- Kim SG, Kim JE, Oh HK, Kang SJ, Koo HY, Kim HJ, et al. Feed supplementation of yellow mealworms (*Tenebrio molitor* L.) improves blood characteristics and meat quality in broiler. *J Agric Sci Technol*. 2014. 49:9-18.
- Ley RE, Turnbaugh PJ, Klein S, Gordon JI. Microbial ecology: human gut microbes associated with obesity. *Nature*. 2006. 444:1022-1023.
- Mariat D, Firmesse O, Levenez F, Guimaraes V, Sokol H, Doré J, et al. The *Firmicutes/Bacteroidetes* ratio of the human microbiota changes with age. *BMC Microbiol*. 2009. 9:123. <https://doi.org/10.1186/1471-2180-9-123>
- Min KT, Kang MS, MJ Kim, Lee SH, Han JS, Kim AJ. Manufacture and quality evaluation of cookies prepared with mealworm (*Tenebrio molitor*) powder. *Korean J Food Nutr*. 2016. 29:12-18.
- Nagano T, Yano H. Dietary cellulose nanofiber modulates obesity and gut microbiota in high-fat-fed mice. *Bioact Carbohydr Diet Fibre*. 2020. 22:100214. <https://doi.org/10.1016/j.bcdf.2020.100214>
- Park JH, Jung C. Current status and prospects of animal feed insect industry. *Korean J Soil Zool*. 2013. 17:9-13.
- Ringo E, Zhou Z, Olsen RE, Song SK. Use of chitin and krill in aquaculture—the effect on gut microbiota and the immune system: a review. *Aquacult Nutr*. 2012. 18:117-131.
- Rumpold BA, Schlüter OK. Nutritional composition and safety aspects of edible insects. *Mol Nutr Food Res*. 2013a. 57:802-823.
- Rumpold BA, Schlüter OK. Potential and challenges of insects as an innovative source for food and feed production. *Innov Food Sci Emerg Technol*. 2013b. 17:1-11.
- Segata N, Haake SK, Mannon P, Lemon KP, Waldron L, Gevers D, et al. Composition of the adult digestive tract bacterial microbiome based on seven mouth surfaces, tonsils, throat and stool samples. *Genome Biol*. 2012. 13:R42. <https://doi.org/10.1186/gb-2012-13-6-r42>
- Shockley M, Dossey AT. Insects for human consumption. In: Morales-Ramos J, Rojas G, Shapiro-Ilan DI, editors. *Mass Production of Beneficial Organisms*. Elsevier, London, UK. 2014. p 617-652.
- Siemianowska E, Kosewska A, Aljewicz M, Skibniewska KA, Polak-Juszczak L, Jarocki A, et al. Larvae of mealworm (*Tenebrio molitor* L.) as European novel food. *Agric Sci*. 2013. 4:287-291.
- Song YS, Kim MW, Moon C, Seo DJ, Han YS, Jo YH, et al. Extraction of chitin and chitosan from larval exuvium and

- whole body of edible mealworm, *Tenebrio molitor*. Entomol Res. 2018. 48:227-233.
- Verbeke W. Profiling consumers who are ready to adopt insects as a meat substitute in a Western society. Food Qual Prefer. 2015. 39:147-155.
- Yi L, Lakemond CMM, Sagis LMC, Eisner-Schadler V, van Huis A, van Boekel MAJS. Extraction and characterization of protein fractions from five insect species. Food Chem. 2013. 141:3341-3348.