



**농식품연구성과후속지원사업 창업,벤처지원 공모  
바우처과제 사업 제1차 연도 최종 보고서**(건고딕 13p)



11-154  
3000-0  
02870-  
01

발간등록번호

(건고딕31p)

**과제명 농식품연구성과후속지원사업  
창업,벤처지원 RnD 바우처과제  
최종보고서**

2019 . .

(건고딕15p)

**(별색바탕 : C50, M20, Y59, K0)**

**주관연구기관 / 안동팜핏  
협동연구기관 / 안동시농업  
기술센터**

(건고딕 15.5p)

과제명  
한약재포함  
음용구강청  
결제와한약  
재부산물활  
용약취제거  
제품개발

최종  
보고  
서

(건고딕 14p)

**2019**

(건고딕13p)

**농림축산식품부**

농림식품기술기획평가원

**농림축산식품부**

(전문기관) 농림식품기술기획평가원

<제출문>

## 제 출 문

농림축산식품부 장관 귀하

본 보고서를 “한약재포함 음용구강청결제와 한약제부산물 활용 약취제거제품개발”(개발기간 : 2018.04.01 ~ 2019.04.29)과제의 최종보고서로 제출합니다.

2019. 07. 23.

주관연구기관명 : 안동팜핏 (대표자) 김기현 (인)  
협동연구기관명 : (대표자) (인)  
참여기관명 : 안동시 농협기술센터 (대표자) 김기훈 (인)

주관연구책임자 : 김기현  
협동연구책임자 :  
참여기관책임자 : 강병욱

국가연구개발사업의 관리 등에 관한 규정 제18조에 따라 보고서 열람에 동의합니다.

<보고서 요약서>

보고서 요약서

과제고유번호	818015-1	해 당 단 계 연 구 기 간	2018.04.01.~2 019.04.29.	단 계 구 분	(해당단계)/ (총 단 계 )
연구사업명	단 위 사 업	농식품기술개발사업			
	사 업 명	농식품연구성과후속지원사업 창업,벤처지원 RnD 바우처사업			
연구과제명	대 과 제 명	(해당 없음)			
	세부 과제명	한약재포함 음용구강청결제와 한양재부산물활용 약취제거제품개발			
연구책임자	김기현	해당단계 참여연구원 수	총: 1 명 내부:   명 외부: 1 명	해당단계 연구개발비	정부:70,000천원 민간:    천원 계:70,000천원
		총 연구기간 참여연구원 수	총: 1 명 내부:   명 외부: 1 명	총 연구개발비	정부:70,000천원 민간:    천원 계:70,000천원
연구기관명 및 소속부서명	안동 팜핏			참여기업명	
국제공동연구	상대국명:			상대국 연구기관명:	
위탁연구	연구기관명: 안동시 농업기술센터			연구책임자: 강병욱	

※ 국내외의 기술개발 현황은 연구개발계획서에 기재한 내용으로 같음

연구개발성과의 보안등급 및 사유	
-------------------------	--

9대 성과 등록·기탁번호

구분	논문	특허	보고서 원문	연구시설 ·장비	기술요약 정보	소프트 웨어	화합물	생명자원		신품종	
								생명 정보	생물 자원	정보	실물
등록·기탁 번호											

국가과학기술종합정보시스템에 등록된 연구시설·장비 현황

구입기관	연구시설· 장비명	규격 (모델명)	수량	구입연월일	구입가격 (천원)	구입처 (전화)	비고 (설치장소)	NTIS 등록번호

요약(연구개발성과를 중심으로 개조식으로 작성하되, 500자 이내로 작성합니다)

보고서 면수

<요약문>

<p>연구의 목적 및 내용</p>	<p>국산 한약재를 이용한 음용가능 구강청결제 및 탈취제 개발 및 제품화</p>				
<p>연구개발성과</p>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. 시제품 2건 완성               <ol style="list-style-type: none"> <li>1) 제품개발시 사용되는 후박추출물에 대한 유효성분 추출조건 확보</li> <li>2) 추출조건내에서 다음과 같은 성능지표인 총산도, 잔류농약, 지표물질의 함량 분석을 완료하여 시제품 2건 완성</li> </ol> </li> <li>2. 성분지표분석               <ol style="list-style-type: none"> <li>1) 제품개발시 사용되는 후박추출물에 대한 항염증 효능분석완료 - 제품의 유효성평가를 위해, RAW 264.7 세포에 염증을 유발하고, 천연물을 처리후 효능평가, 분자생물학적 바이오마커 분석 (iNOS, n IL-1 beta, Cox-2) 등을 통해 효능성 확보</li> <li>2) 후박추출물에 대한 항균효능 분석완료 - 미생물배양 증식조건하에서 후박추출물 처리의 효능평가</li> </ol> </li> <li>3. 매출 성과 확보</li> <li>4. 지적소유권확보 - 시제품 및 상품화 연구, 천연 한약재 조건 확립, 포장 및 디자인 개발, 특허출원</li> <li>5. 박람회 참가</li> </ol>				
<p>연구개발성과의 활용계획 (기대효과)</p>	<ol style="list-style-type: none"> <li>① 현장적용 방안               <ul style="list-style-type: none"> <li>○ 온, 오프라인 쇼핑몰을 통해 마케팅 진행 계획임.</li> <li>- G마켓, 옥션, 식품박람회 등 참여로 판로개척</li> <li>○ 중국시장성은 구매의사가 확보된 기업에 시제품을 평가하고 직거래 방식의 목표를 가지고 있음</li> <li>○ 위탁공장 과 직거래 장터가 확보되어 제품판매를 수행가능함</li> </ul> </li> <li>② 제품화 방안: 기존제품과는 차별화된 음용가능 구강케어 제품, 부산물활용 약취제거제개발 - 구강케어 제품은 한약재의 조건을 확립 후 음용가능한 제품으로 생산(천연 한약재 감압 추출 방법) - 이후 만들어진 부산물은 파우더형태의 제형으로 생산</li> <li>③ 본 연구수행시 신속한 사업화나 기술이전 가능</li> <li>④ 후속연구 및 경제적 효과               <ul style="list-style-type: none"> <li>○ 단순 의약재료로만 사용되고 있는 국산 한약재를 구강청결제로 개발함으로써 각종 한약재의 소비 촉진으로 한약재 시장의 경제 활성화 기대와 더불어 농가소득 기대</li> <li>○ 중국시장진출목표 제품으로 충분한 시장성이 있으며, 국가경제발전에 기여</li> </ul> </li> </ol>				
<p>국문핵심어 (5개 이내)</p>	<p>무화학성분</p>	<p>한약재</p>	<p>구강청결제</p>	<p>약취제거제</p>	<p>시제품</p>

<본문목차>

< 목 차 >

- 1. 연구개발과제의 개요 .....
- 2. 연구수행 내용 및 결과 .....
- 3. 목표 달성도 및 관련 분야 기여도 .....
- 4. 연구결과의 활용 계획 등 .....
- 붙임. 참고 문헌 .....

<별첨> 주관연구기관의 자체평가의견서

<뒷면지>

주 의

- 1. 이 보고서는 농림축산식품부에서 시행한 농식품연구성과후속지원사업 창업,벤처지원 RnD 바우처과제 연구보고서입니다.
- 2. 이 보고서 내용을 발표하는 때에는 반드시 농림축산식품부에서 시행한 식품연구성과후속 지원사업 창업,벤처지원 RnD 바우처과제사업의 연구 결과임을 밝혀야 합니다.
- 3. 국가과학기술 기밀유지에 필요한 내용은 대외적으로 발표 또는 공개하여서는 아니됩니다.

# 1. 연구개발과제의 개요

## 1-1. 연구개발 목적

- 본 연구는 위축되고 있는 내 한약재시장을 활성화하고 농가소득을 증대시킬 수 있는 방안을 마련하고자 하는 목적달성을 위해 수행하고자 하는 연구
- 국산 한약재를 이용한 음용가능 구강케어 및 탈취제 개발 및 제품화
- 국산 한약재를 이용 제품개발시 부산물을 활용한 약취제거 관련 제품 개발
- 개발제품의 국내외 판매망구축

## 1-2. 연구개발의 필요성

- 아시아권 한국, 중국, 일본은 빠른 산업화로 인해서 황사, 미세먼지 등으로 대기오염이 심각하게 사회적 이슈로 대두되고 있고, 대기오염에 대한 인체 치료 및 인체질병방지 산업으로 구강청결제와 관련된 산업이 성장하고 추세임
- 국민건강과 늘어나는 의료비를 차원에서 연구개발이 필요한 실정임
- 화학성분의 위해성이 논란이 되고 있고, 이를 해결하고자 하는 제품개발이 필요함
- 늘어가는 향기사업에 대응하는 것으로 분료, 약취 등에 대한 환경오염을 제어하는 제품의 개발 시급한 실정임

## 1-3. 연구개발 범위



<그림 1. 연구개발 범위>

○ 연구개발 목표와 주요 내용 :

- ① 시제품 1: 천연한약재를 사용하여 음용이 가능한 구강케어 제품
- ② 시제품 2: 연구개발 과정에서 남은 한약재 부산물을 활용하여 탈취제와 같은 악취제거제품 개발

○ 연구개발 범위 :

○ 주관연구기관(안동팜핏) :

- 시제품 및 상품화 연구, 천연 한약재 조건 확립, 포장 및 디자인 개발, 논문 및 특허출원

① 제품개발시 사용되는 후박추출물에 대한 항염증 효능분석완료

- 제품의 유효성평가를 위해, RAW 264.7 세포에 염증을 유발하고, 천연물을 처리후 효능평가
- 분자생물학적 바이오마커 분석 (iNOS, IL-1 beta, Cox-2) 등을 통해 효능성 확보

② 후박추출물에 대한 항균효능 분석완료

- 미생물배양 증식조건하에서 후박추출물 처리의 효능평가

○ 협동연구기관(안동시 농업기술센터 약용작물과 ) :

- 구강청결제 제형화 작업, 추출 조건 확립, 한약재 기능성 분석

① 제품개발시 사용되는 후박추출물에 대한 유효성분 추출조건 확립

② 추출조건내에서 다음과 같은 성능지표인 총산도, 잔류농약, 지표물질의 함량 분석

주요 성능지표	단위	최종 개발목표	측정기관
1. 총산도	%	6%	바이오식의약연구센터
2. 잔류농약	ppm	무검출	바이오식의약연구센터
4. magnolol	mg/kg	0.34	수행기관 자체 측정
5. honokiol	mg/kg	0.45	수행기관 자체 측정

## 2. 연구수행 내용 및 결과

### 가. 선행연구 내용 및 결과

○ 일반인을 대상으로 10~50대의 각 연령층 별 10명씩 50명을 상대로 구취측정기를 통해 평가하였음

- 설문지 내용은 구강청결제를 사용 전 후로 설문조사를 하여 평가하였음
- 구취측정기의 레벨단위는 1~5 이고, 숫자가 낮을수록 구취가 낮다는 것이고, 높을수록 구취가 높다는 것을 기록하였음
- 착안점으로 사용감, 편리성, 안정감, 구취측정 전, 후로 나뉘어 조사완료 하였음



○ 연구개발 추진체계

연구개발과제		총 참여 연구원
과제명	한약재포함 음용구강청결제 와 한약재부산물활용 약취제거제품개발	주관연구책임자 김기현

기관별 참여 현황		
구분	연구기관수	참여연구원수
대기업		
중견기업		
중소기업	1	2
대학		
국공립(연)	1	1
출연(연)		
기타		

주관연구기관명	협동연구기관명
한약재포함 음용구강청결제 와 한약재부산물활용 약취제거제품개발 연구책임자명 김기현	한약재포함 음용구강청결제 와 한약재부산물활용 약취제거제품개발 연구책임자명 강병욱
담당기술개발내용	담당기술개발내용
시제품 및 상품화 연구, 천연 한약재 조건 확립, 포장 및 디자인 개발,	구강청결제 제형화 작업, 추출 조건 확립 추출물의 유효성평가

○ 추진일정

- ① 전문가활용, 정보수집 : 관련전문가 자문위원 위촉( 건국대학교, 동국대학교)
- ② 기관협조방안 : 경북바이오산업연구원 공동연구 수행
- ③ 추진체계 : 기반기술기초시험완성, 기관협조와 공동/위탁 연구기관연구를 통해 제품화 완료

연구 및 실용화내용	추진 일정(월)												비고	
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12		
추출 조건 확립	■	■	■											
천연 한약재 조건 확립			■	■	■									
구강청결제 제형화 작업				■	■	■								
한약재 기능성 분석				■	■	■	■	■	■	■				
포장 및 디자인 개발							■	■	■	■				
시제품 및 상품화 연구								■	■	■	■	■		
논문 및 특허 출원									■	■	■	■	■	

## 다. 연구개발성과

### ○ 특허 성과

- 출원번호 : 10-2019-0049993
- 출원일자 : 2019.04.29.
- 발명의 명칭 : 후박 추출물, 이의 분획물 또는 이로부터 분리된 화합물을 포함하는 염증성 질환의 예방 또는 치료용 약학 조성물

### 출원번호 통지서

출원일자 2019.04.29  
특기사항 심사청구(무) 공개신청(무)  
출원번호 10-2019-0049993 (접수번호 1-1-2019-0441233-67)  
출원인명칭 안동시(농업기술센터)(2-2000-006590-9) 외 1명  
대리인성명 김순웅(9-2006-000534-4)  
발명자성명 김기현 강병욱  
발명의명칭 후박 추출물, 이의 분획물 또는 이로부터 분리된 화합물을 포함하는 염증성 질환의 예방 또는 치료용 약학 조성물

#### <그림 4. 출원번호 통지서>

- 현재 다수의 후박 추출물을 염증성 질환 예방 및 치료 용도로 사용하는 선행기술에 관한 특허권 확보에 대해 담당 변리사와 협의를 통하여 추진 예정.

## 라. 연구결과

### ○ 기술적 성과

#### (1) 제품의 품질검사

##### (가) 잔류농약

○ 잔류농약은 농산물을 재배하는 과정에 사용된 농약이, 작물체내에 부착하여 증발이나 분해 등에 의해 감소하면서 잔류하거나 또는 화학적 변화에 의하여 다른 물질로 변화한 잔류된 농약임.

○ 잔류농약 분석은 화학 분석중에서도 mg/kg 이하의 분석 대상성분을 고감도로 검출하고 정량하는 미량 분석 분야임

##### (나) 식품 규격

#### ○ 식품내 세균

식품의 미생물 오염정도와 그 식품에 이용되고 있는 유용한 미생물의 존재를 확인하는 등의 시

험이다. 또 하나는 어떤 식품이 병원미생물에 오염되었는가의 여부를 확인하는 시험이다. 식품 위생적인 면에서는 후자를 중요시하며, 식중독 사건에서 원인식품으로 의심되는 식품에 대하여 미생물 검사를 실시한다.

#### ○타르

가공식품의 수요의 증가에 따라 식품첨가물의 사용이 증가 되고 있음. 착색료는 천연식품을 가공, 보존하는 과정에서 변색방지를 위해 사용 되고 있음. 식용 타르색소는 가공적성이 뛰어나 착색료로 많이 사용되고 있음. 현재 허용되고 있는 수용성 타르는 산성타르색소에 속함. 일반적으로 식품에서 사용되고 이는 색소의 용량은 5-100ppm임

#### (다) 시험 방법

##### ○ 잔류 농약 분석

① 분석용 검체 조제: 식품 검체를 분석용 검체로 전처리 함. 농산물 검체에서 주로 식용으로 사용 되는 가식부를 위주로 분석함

② 검체 추출 : 분석용 검체로부터 분석 대상성분을 추출하는 과정임. 각 농약별로 대상성분을 규정하는 잔류분의 정리를 참조하여 추출함.

③ 추출물의 정제 : 대상성분들에 대한 기기분석이 가능하도록 검체 추출물을 정제하는 과정임. 검체로부터 대상성분만을 선택적으로 추출하는 방법이 없으므로, 최대한 간섭물질을 효과적으로 분리 제거 하여 야함. 일반적으로 액-액 분배와 크로마토그래피법이 있음

④ 기기분석 : 분석 기기를 이용하여 추출 정제액에 함유된 대상성분을 분석하는 과정임. GC-MS/MS를 이용하여 사용 하고 칼럼은 DB-5MS를 사용함. 시료는 3ul를 넣음

##### ○ 일반 세균수

#### ① 시험조작

- 따른 시험용액 1 mL와 10배 단계 희석액 1 mL씩을 멸균 페트리접시 2매 이상씩에 무균적으로 취하여 약 43~45℃로 유지한 표준한천배지(배지 1) 약 15 mL를 무균적으로 분주하고 페트리접시 뚜껑에 부착하지 않도록 주의하면서 조용히 회전하여 좌우로 기울이면서 검체와 배지를 잘 혼합하여 응고시킴.

- 확산집락의 발생을 억제하기 위하여 다시 표준한천배지 3~5 mL를 가하여 중첩시킴. 이 경우 검체를 취하여 배지를 가할 때까지의 시간은 20분 이상 경과하여서는 아니 됨. 응고시킨 페트리접시는 뒤집어 35±1℃에서 48±2시간(시료에 따라서 30±1℃ 또는 35±1℃에서 72±3시간) 배양함. 집락수의 계산은 확산집락이 없고 1개의 평판당 15~300개의 집락을 생성한 평판을 택하여 집락수를 계산하는 것을 원칙으로 함. 검액을 가하지 아니한 동일 희석액 1 mL를 대조시험액으로 하여 시험조작의 무균여부를 확인함.

#### ② 집락수 산정

- 배양 후 생성된 집락수를 신속히 계산한다. 부득이할 경우에는 5℃에 보존시켜 24시간 이내에 산정한다. 집락수의 계산은 확산집락이 없고(전면의 1/2이하 일 때에는 지장이 없음) 1개의 평판당 15~300개의 집락을 생성한 평판을 택하여 집락수를 계산하는 것을 원칙으로 함. 전 평판에 300개 초과 집락이 발생한 경우 300에 가까운 평판에 대하여 밀집평판 측정법에 따라 계산. 전 평판에 15개 미만의 집락만을 얻었을 경우에는 가장 희석배수가 낮은 것을 측정.

### ③세균수의 기재보고

- 표준평판법에 있어서 검체 1 mL 중의 세균수를 기재 또는 보고할 경우에 그것이 어떤 제한된 것에서 발육한 집락을 측정한 수치인 것을 명확히 하기 위하여 1평판에 있어서의 집락수는 상당 희석배수로 곱하고 그 수치가 표준평판법에 있어서 1 mL 중(1 g 중)의 세균수 몇 개라고 기재보고하며 동시에 배양온도를 기록함. 숫자는 높은 단위로부터 3단계에서 반올림하여 유효숫자를 2단계로 끊어 이하를 0으로 함

### ○ 대장균규 (정량분석)

#### ① 유당배지법

- 4.3 제조법에 따른 연속한 3단계 이상의 희석시료(10, 1, 0.1 또는 1, 0.1, 0.01 또는 0.1, 0.01, 0.001)를 5개 또는 3개씩의 유당배지(배지 2)에 접종. 단, 10 mL를 접종할 때에는 두배농도 유당 배지를 사용하고 0.1 mL 이하를 접종할 필요가 있을 때에는 10배 희석단계액을 각각 1 mL 씩 사용. 가스발생 발효관 각각에 대하여 추정, 확정, 완전시험을 행하고 대장균의 유무를 확인한 다음 최확수표로부터 검체 1 mL 또는 1 g 중의 대장균수를 구함. 이때 시험용액을 가한 배지의 전부 또는 대부분에서 가스발생이 인정되거나 또 최소량을 가한 배지의 전부 또는 대부분이 가스가 발생되지 않도록 접종량과 희석도를 고려하여야 함.

### ○ 타르색소 (정성분석)

- 모사염색법에 의한 분리·정성법

#### 1) 시험법 적용범위

- 과자류, 빵 또는 떡류, 잼류, 식육 또는 알가공품, 어육가공품, 두부류 또는 묵류, 면류, 다류, 음료류, 장류 등 식품에 적용.

#### 2) 분석원리

- 식품 중의 타르색소를 추출하여 초산용액에서 양모에 색소를 착색시킨 후, 세척한 다음 양모에 착색된 색소를 암모니아수로 용출시킨 액을 시험용액으로 하여 여지크로마토그래프, 박층크로마토그래프 등으로 정성분석하는 방법.

#### 3) 장치

가) 폴리아미드 또는 실리카겔(5% 황산칼슘을 함유한 것) 박층

- 폴리아미드 또는 실리카겔G(박층크로마토그래프용)에 이소프로판올 또는 물을 가하여 잘 섞어서 호상(풀모양)으로 하여 일반적인 방법에 따라 0.25 mm의 박층을 만들고 이를 바람에 말린 다음 60~70°C(실리카겔은 110°C)에서 30분간 건조하여 사용.

나) 여지(거름종이) : 여지크로마토그래프용

#### 4) 시약 및 시액

가) 탈지양모

㉠ 법 : 백색양모 100 g을 강암모니아수 1~4 mL를 적당히 물로 희석한 용액 중에 담그고 가끔 저으면서 45℃에서 30~60분간 방치한 다음 건져내어 가볍게 짜고 다음에 희석한 암모니아수(1→100)에 잠시 방치하였다가 건져내어 처음에는 온탕, 다음에는 냉수로 씻고 가볍게 짜서 바람에 말림.

㉡ 법 : 속슬렛추출장치에서 석유 에테르로 백색양모를 충분히 탈지한 다음 에테르를 실온에서 증발시켜 물로 충분히 씻고 가볍게 짜서 바람에 말림.

#### 나) 전개용매

##### (1) 여지크로마토그래프

(가) 아세톤 : 이소아밀알코올 : 물(6 : 5 : 5)

(나) n-부탄올 : 무수에탄올 : 1% 암모니아수(6 : 2 : 3)

(다) 25% 에탄올용액 : 5% 암모니아수(1 : 1)

##### (2) 박층크로마토그래프(실리카겔 박층)

(가) 초산에틸 : 메탄올 : 28% 암모니아수(4.5 : 1 : 1 또는 3 : 1 : 1)

(나) 아밀알코올(amyI alcohol) : 에탄올 : 28% 암모니아수(10 : 10 : 1)

(다) 메틸에틸케톤 : 에틸렌글리콜모노메틸에테르 : 에탄올 : 28% 암모니아수(20 : 15 : 12 : 1)

#### 5) 시험용액의 조제

##### 가) 농산식품

- 착색의 정도에 따라 검체 20~200 g을 취하여 가능한 한 작게 부수고 다음의 한 방법에 따라 색소추출액을 만듦.

##### 나) 정제

- 색소추출액 5 mL에 1% 초산 1 mL를 가하고 탈지양모 0.1 g을 넣고 잘 흔들어 섞은 다음 수욕중에서 30분간 가온한 다음 양모를 건져내어, 양모가 염색되지 않으면 불검출로 하고, 양모가 염색되면 이 염색된 양모를 1% 암모니아용액 5 mL 중에 넣고 30분간 가온한 다음 양모를 건져내고 초산으로 중화하고 약 1%의 농도로 조제하여 시험용액으로 함.

#### 6) 시험방법

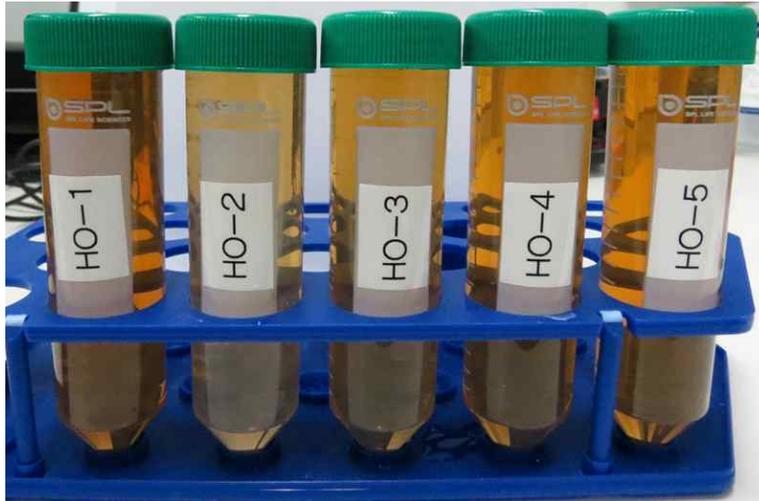
##### 가) 여지크로마토그래프

- 크로마토그래프용 여과지의 끝에서 40 mm의 곳에 연필로 줄을 긋고 그 위에 시험용액과 색소표준용액을 각각 20 mm의 간격으로 미량 피펫 또는 모세관으로 직경 약 5 mm의 원이 되게 찍고 말림. 이 여과지를 규정의 전개용매를 넣은 용기에 여과지가 기벽에 닿지 않도록 주의하여 수직으로 매달고 하단 약 10 mm를 전개용매 중에 담그고 뚜껑을 닫아 방치함. 용매가 반점에서 13~25 cm의 높이까지 상승하였을 때 여과지를 건져내어 말린 다음, 시험용액과 색소표준용액으로부터 전개된 반점의 위치와 색을 처음에 자연광, 다음에 및 자외선(약 365 nm) 조사하에서 비교 관찰함.

(라) 결과 고찰

가. 5종에 대한 검사 결과

- 5종의 의뢰 물질의 검사 결과 HO-1(후박추출물)에서 세균 및 대장균류의 관찰이 되지 않음



<그림 5. 후박추출물>

R&D  
UMUST

## 시험 성적서

제품명 : HO-1

제조일자: 2018.12.01

항목	규격	시험결과
성상	무색~미색의 색상	적합
pH	5.5~7.5	6.5
일반세균	100CFU/g이하	0
대장균군	0	0

2019.04.01

시험책임자: 이 강 파

## 시험 성적서

제품명 : HO-2

제조일자: 2018.12.01

항목	규격	시험결과
성상	무색~미색의 색상	적합
pH	5.5~7.5	7.0
일반세균	100CFU/g이하	30
대장균군	0	0

2019.04.01

시험책임자: 이 강 파

## 시험 성적서

제품명 : HO-3

제조일자: 2018.12.01

항목	규격	시험결과
성상	무색~미색의 색상	적합
pH	5.5~7.5	7.3
일반세균	100CFU/g이하	20
대장균군	0	0

2019.04.01

시험책임자: 이 강 파

## 시험 성적서

제품명 : HO-4

제조일자: 2018.12.01

항목	규격	시험결과
성상	무색~미색의 색상	적합
pH	5.5~7.5	5.6
일반세균	100CFU/g이하	50
대장균군	0	0

2019.04.01

시험책임자: 이 강 파

## 시험 성적서

제품명 : HO-5

제조일자: 2018.12.01

항목	규격	시험결과
성상	무색~미색의 색상	적합
pH	5.5~7.5	7.2
일반세균	100CFU/g이하	50
대장균군	0	0

2019.04.01

시험책임자: 이 강 파

나. 국가 인증기관내의 검사 결과

가.에서 선별된 HO-1의 물질을 공인인증기관에 의뢰하여, 잔류농약 검사 및 일반세균스, 대장균군, 성상, 타르색소의 검사를 하여 재 검증함

1) 잔류농약 검사



http://www.cheillab.com

☎ 08389 서울시 구로구 디지털로 272번지 한신IT타워 913호 전화)02-862-8666 팩스)02-868-4610

접수담당 : 이지현

ZZXXD-CPA8Q-K2BMF-RMITE

검 사 성 적 서

의뢰인	성명 / 상호	(주)유머스트알앤디	사업자등록번호	219-87-01322
	주소	서울시 광진구 농동로 120, 건국대학교 창의관 207호		
검사품목	U-H01			
접수년월일	2019.04.02	검사완료일	2019.04.18	
접수번호	19-02-SQ0053	검사목적	참고용	

검 사 결 과

검사항목	검출성분	허용기준(mg/kg)	결과(mg/kg)	검토의견
잔류농약 320종	-	-	잔류농약 320종 정량한계 미만	불검출

별첨 : 시험항목(1장)

시험책임자 : 지다혜      시험원 : 손주희

주) 상기 검사결과는 의뢰인이 당사에 제공한 시료에 대한 분석결과입니다.

2019년 04월 18일

제일분석센터 대표이사 이은미



※ 본 검사결과는 의뢰목적 이외에 광고 및 소송 등의 목적으로 사용하실 수 없으며, 그에 따른 책임은 당사와는 무관함을 알려드립니다.



## (2) 제품의 항염증성 효능평가

### (가) 항염증

- 상처, 세균 감염과 같은 자극이 체내에 들어오게되면 염증반응이 일어남. 이 염증 반응은 손상부위 회복이나 신체 방어 기전임
- 염증반응이 지속적으로 일어나게되면, 점막손상, 부종, 통증, 발적, 발열, 심혈관 질환, 기관지염 과 암과같은 질병까지 유발 될 수 있음
- 이러한 염증반응을 일으키는 세포는 대식세포 (macrophage)가 있으며, 이들은 자극체나 면역세포들에 의해 분비되는 cytokine에 의해 활성화되며 nitric oxide(NO)와 cytokine을 생성하여 생체를 방어 함
- 염증 반응을 일으키는 물질인 lipopolysaccharide(LPS)는 대식세포를 자극시키고 염증매개성 cytokine의 분비를 자극함. 특히, 염증성 cytokine인 IL-1b는 NO를 생성하게 하는 매개물질임. 이러한 염증 매개성 물질은 cyclooxygenase (COX)에 의해 NO가 생성되는데 관여함

### (나) 폐질환

- 조직의 손상이 일어나면, 염증과 치유과정을 거쳐 정상 구조와 기능을 수행함. 하지만 계속적인 손상이 일어나게 되면 조직의 섬유화가 일어나게 됨
- 폐의 염증이 발생된다면, 특발성 폐질환, 폐렴, 만성 폐쇄성 폐질환 등이 발병함
- 폐질환의 치료제로 사용되고 있는 스피리바, 심비코트등이 있음. 하지만 치료제들의 부작용이 보고되고 있고, 질병을 완전히 치료 할 수 있는 치료제가 부재한 실정임

### (다) 후박

- 후박 (학명: *Machilus thubergii*)의 기원은 한국, 중국, 일본이 있으며 공정서를 비교 한 결과 기원 식문과 라틴명의 차이가 있음
- 한국산 후박의 경우, 라틴명은 *Magoliage Cortex*이며, magnolol, honokiol의 함량이 1%이상 임
- 후박은 한의학적 효능으로 소화 관련, 장관, 평활근, 기타 중추신경 억제, 항진균, 항산화 등으로 사용 되고 있음. 현재까지도 후박의 기능의 검증하기 위한 다양한 연구들이 수행 되고 있음
- 이외의 한국산 후박을 활용한 제품이 생산된다면, 기능성을 함유한 제품을 생산하고 나아가 국내의 농가의 소득이 증대 될 것으로 사료됨
- 따라서 본 연구에서는 한국산 후박의 항염증성 효능을 LPS로 유도된 대식세포를 활용하여 확인 하였음

## (라) 시험 방법

○ 후박 추출물의 항염증 실험에 사용된 기법은 RAW 264.7 세포를 LPS 로 유도하여 염증을 강제로 유발시키고, 후박추출물에 대한 세포사멸, NO생성억제, 염증유발인자 억제에 관여하는 실험을 수행하였음

### ① 세포배양

- 항염증 실험에 사용된 세포는 마크로파지세포 (Raw 264.7)임. RAW 264.7 세포는 한국세포주 은행에서 분양 받았으며, 10% fetal bovine serum과 1% penicillin-streptomycin을 첨가한 DMEM 배지를 이용하여 5% CO<sub>2</sub>, 37°C incubator에서 계대 배양하여 사용하였음

### ② 세포 생존 확인

- 후박 추출물의 세포독성을 확인하기 위하여, Raw264.7 세포는 96 well plate에 24 시간 1x10<sup>4</sup> cells/well로 배양하였음. 이후, 각 실험 별 대조 약물과 후박추출물을 24 시간 동안 처리 하였음. 2,3-Bis-(2-Methoxy-4-Nitro-5-Sulphophenyl)-2H-Tetrazolium-5-Carboxanilide reagent를 2시간 동안 처리 후 450nm에서 O.D 값을 측정하였음. 또한, 세포의 사진은 Nikon 현미경을 이용하여 획득함

### ③ Nitric oxide (NO) 측정

- LPS는 박테리아 세포벽을 구성하는 물질로 마크로파지 세포에 처리시 과대 NO를 생성함. 따라서, 본 연구에서는 주침액이 RAW 264.7세포에서 LPS로 유도한 NO를 억제하는지 확인하였음. NO의 농도를 세포 배양액에 존재하는 NO<sub>2</sub>-를 인지하는 Griess 시약을 이용하여 검출하였음. 이를 위하여 세포는 6 well culture plate에 24 시간 동안 배양하였음. 다양한 농도의 주침액을 1시간 처리 후, LPS를 처리하였음. 24 시간 배양한 뒤 세포 배양액을 수거하고 배양액에 동량의 Griess 시약을 넣어 실온에서 반응시킴. 반응 액을 microplate reader를 이용하여 540 nm 흡광도에서 측정함. 세포로부터 생성된 NO의 양은 NaNO<sub>2</sub> 표준액의 농도를 기준으로 계산하였음

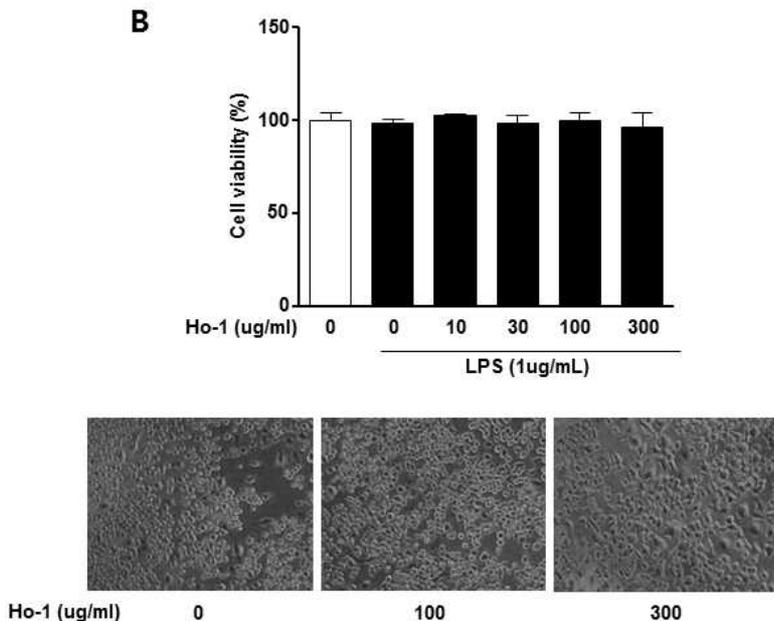
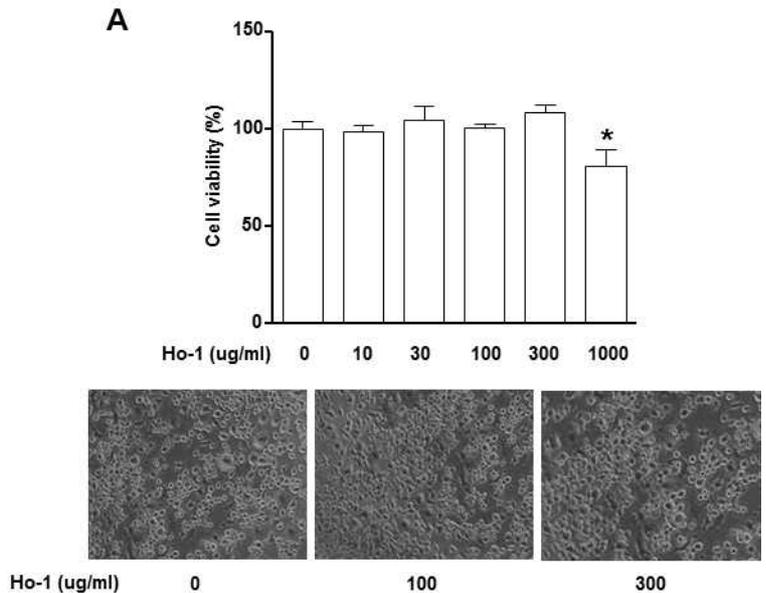
### ④ RNA 발현 확인

- RNA 발현은 Trizol 시약을 이용하여 total RNA를 추출하였다. total RNA는 1ug으로 정량하여 PreMix RT/PCR kit을 이용하여 PCR을 수행했다. 이 때 사용한 primer: iNOS (forward) 5'-ATG GCTTGCCCCIGGAAGTTTCTC-3'; iNOS (reverse) 5'-CCTCTG ATGGTGCCATCGGGCATCTG-3'; COX2 (forward) 5'-GGAGAG ACTATCAAGATAGTGATC-3'; COX2 (reverse) 5'-ATGGTCAGT AGACTTTTACAGCTC-3'; IL-1β (forward) 5'-CAGGATGAGGAC ATGAGCACC-3'; IL-1β (reverse) 5'-CTCTGCAGACTCAAACCTC CAC-3'; GAPDH (sense) 5'-GCCCATCACCATCTTCCAG-3'; GAPDH (antisense) 5'-TGAGCCCTTCCACAATGC C-3'이고, PCR은 94°C, 5 min 후에 94°C, 45 sec; 56°C, 45 sec ; 72°C, 1 min을 40 cycle 수행하고 72°C, 10 min 수행하였다. PCR 산물은 1% agarose gel로 자외선으로 관찰 하였다.

(라) 결과 및 고찰

1) 후박추출물의 세포 독성 효과

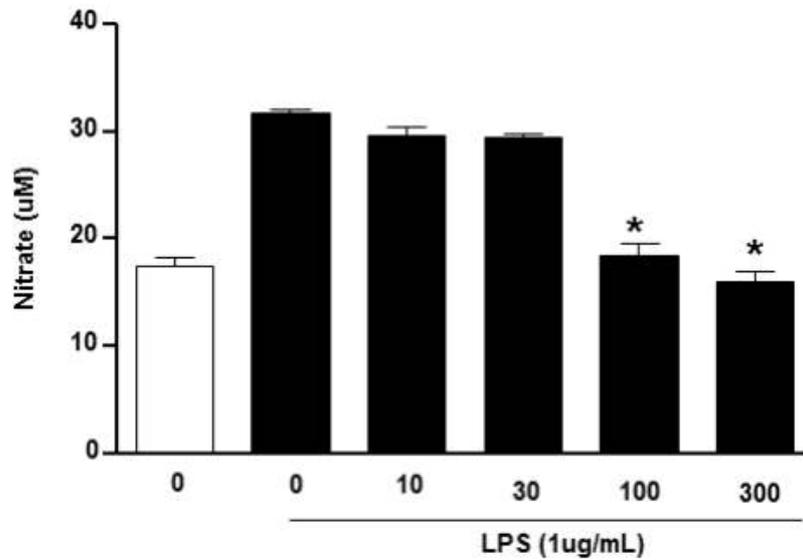
- 후박추출물을 Raw 264.7세포에 처리 한 결과, 1,000ug/ml에서 후박추출물을 처리 하지 않은 군에 비해 독성을 보임. 따라서 이후 결과에서는 독성이 없는 최대치의 농도인 300 ug/ml을 사용하여 실험을 진행함. 1ug/ml의 LPS로 유도된 세포와 후박추출물을 동시에 처리한 세포에서도 세포내의 독성이 보이지 않음



2) 후박추출물의 염증 완화 효과

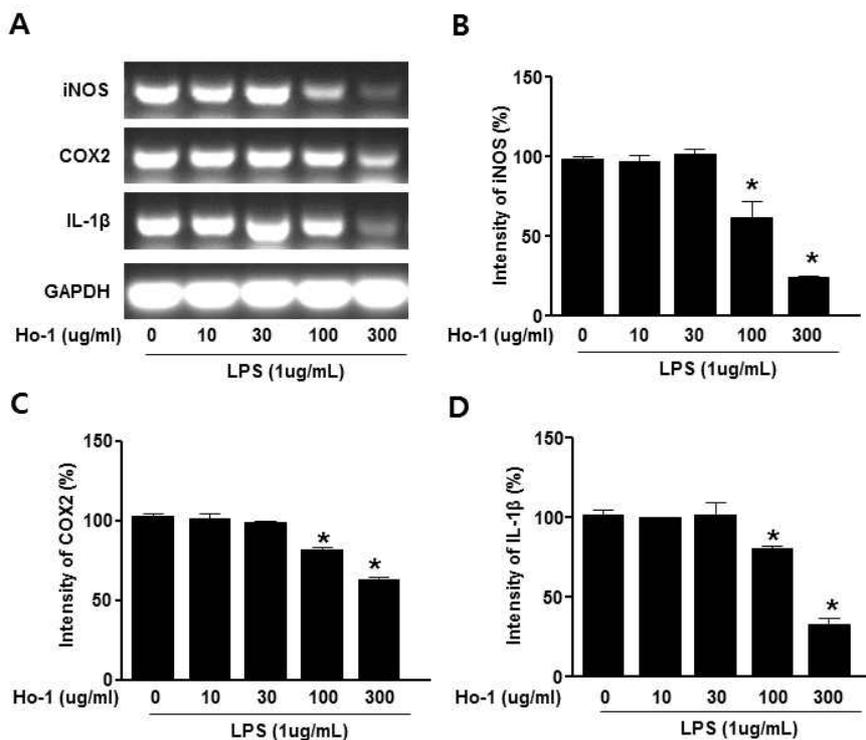
- 세포내의 여러 요인에 의해 NO가 과도하게 생성되면 만성 염증 유발 등의 문제를 일으킴. iNOS가 유도되면 NO가 과도하게 생성되고, iNOS의 발현을 증가 시키는 물질로는 LPS가 있음. LPS에 의한 Raw 264.7 대식세포에서 NO의 산물인 nitrate변화를 관찰 하였음. LPS를 처리

한 군은 LPS처리하지 않은 군에 비해 Nitrate의 생성량이 증가하였음. LPS에 의해 증가된 nitrate는 후박 추출물 100, 300 ug/ml에서 유의성 있게 억제 하였음



### 3) 후박추출물의 염증성 인자 발현 감소 효과

- 후박추출물의 NO저해 효능의 기전 및 염증성 효능을 확인하기 위해 RT-PCR을 수행함. Raw 264.7 세포에 LPS를 처리 하였을 때 iNOS, COX2, IL-1b등의 mRNA의 발현에 의해 NO의 증가와 염증의 증가가 밀접한 연관이 있음. Raw 264.7 세포에 LPS와 후박 추출물을 24시간 처리한 후 iNOS, COX2, IL-1b의 mRNA 발현을 확인하였음. LPS에 의해 유도된 iNOS, COX2, IL-1b는 100과 300ug/ml의 후박추출물에 의해 유의성 있게 억제 됨.



### 4) 추가 실험계획

- 동국대학교 창업보육센터 입주 후 모교인 동국대학교 지도교수님들과 함께 mutans,gingibalis

균과 같은 증치균에 항균 효과가 있는지를 알아볼 것.

- ○ 경제적 성과

(1) 시제품 제작

○ 사업계획서상 문제점/애로사항 연구 및 해결등

- 기존의 화학 원재료를 이용한 “스프레이방식” 구강케어 제품 → “의약외품”, 이에 폐사가 완성한 제품은 천연식품한약재를 원재료를 이용함으로 “의약외품” 외 제품유형을 위해 식약처에 위탁연구기관과 소명 및 적극어필

- 구성 천연식품한약재 中 최초 “후박”이 가지는 항염증, 항균에 대한 연구.

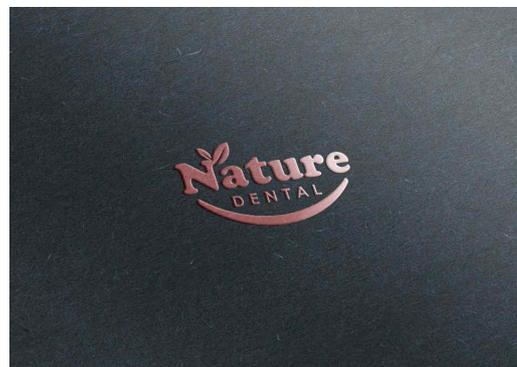
○ (성과) 계획 대비 실제로 도출된 성과

- 스프레이방식은 구강이 아닌 “생활악취제거휴대용”으로 대체(시제품, 판매를 위한 완제품은 환경부 등록요건충족을 위해 6-8개월 소요,단 원물형태 그대로는 판매가능), 구강케어제품은 수제캔디타일로 전환(완제품/품목제조보고번호 - 207 054 3394 - 1).

- “후박” 의 기능성 연구 및 결론도출(특허출원 완료 - 10 2019 0049993).



<그림 6> 최초 구상 시제품



<그림 7> 시제품 디자인



<그림. 8> 구강케어제품 시제품



<그림. 9> 스프레이 방식 시제품

## (2) 박람회 참석 및 홍보

- 박람회 등을 이용한 “검증된 천연식품한약재원재료” “수제캔디”를 적극 활용한 영업.
- 제품 출시를 통한 매출 실적
  - 시제품완성(2019.4.15.) → 제품의 효능등 분석완료(2019.4.28.) → 특허출원완료(2019.4.29.) → 창업완료 및 품목제조신고완료(2019.5.1.) → 매출10백만원달성 예정(확정일 2019.5.21./수요처:대성허브)

- (창업 및 고용창출성과) 창업 및 신규인력 고용 효과 및 실적 등
  - 창업 → 상호:안동팜핏 / 개업연월일:2019.5.1. / 사업자등록번호:510 08 55672
  - 고용 → 석사급으로 당초 계획(2019.9)보다 앞당긴 2019.8월 고용예정



<그림. 10> 박람회를 통한 시제품 홍보

### 3. 목표 달성도 및 관련 분야 기여도

#### 3-1. 목표

구분	내용
최종목표	한약재포함 음용구강청결제 와 한약재부산물활용 약취제거제품개발
세부목표	① 시제품 2건 완성 ② 성분지표분석 완료 ③ 매출 성과 확보 ④ 연구성과 논문제출 ⑤ 박람회 참가 ⑦ 지적소유권확보

#### 3-2. 목표 달성여부

연구개발성과 항목	평가방법	달성여부
1.제품 제형 개발	시제품의 2건 완성유무	달성
2.제품의 유효성분 함량 분석	식품의약품안전처의 규격에 따른 인증기관에서의 성분 분석	달성
3.시제품 완성 및 마케팅 성과	매출 유무	달성
4.지적재산권 확보	특허출원 유무 (국내 특허출원 우선 1건)	달성
5.소비자 평가 및 제품홍보안	1회 이상의 박람회 참가 유무	달성
6.SCIE급 논문	유효성평과결과에 따른 논문 submission	미흡 (현재 논문작성중임. 성능데이터를 바탕으로 2019 중 제출예정)

#### 3-3. 목표 미달성 시 원인(사유) 및 차후대책(후속연구의 필요성 등)

- 연구개발시 발생하는 지식정보에 대한 지적재산권확보
  - 지적재산 1건 (특허출원)
- 연구개발시 발생하는 부산물에 대한 약취제거제 시제품 완성을 통해 매출 창출
  - 스프레이형 1건, 수제타일 캔디형 1건 시제품 제작완료
  - 매출 10,000 천원 달성
- 연구개발 완료로 표준화된 시제품을 비즈니스모델전략을 통해 매출창출
  - 매출 10,000 천원 달성

- 구취제거제 식품 개발 관련하여 다양한 제품개발 및 현재 매출창출로 미루어볼때 산업화 가능성이 충분한것으로 보여져 SCI E 논문 성과는 필요하지 않을 것으로 봄.
- 시장조사를 통하여 캔디 외 좀 더 대중적이고 다양한 껌, 테잎형태의 제품개발을 진행예정

#### 4. 연구결과의 활용 계획 등

- 기존의 구강청결제의 제품들의 경우 거의 대부분이 화학성분이 첨가된 제품이지만, 본 연구팀이 개발한 구강청결제는 화학성분을 제거하고, 천연 한약재료를 적용하여 음용이 가능하다는 점에 차별화 됨.
- 천연물을 사용하고 추출조건 확립시 부산물이 생산되며, 부산물은 분료처리 등을 위한 악취 제거제로 제품화 가능한 점의 혁신성이 있음

#### 붙임. 참고문헌

1. 식품공전 잔류농약 분석법 실무 해설서 / 제5판/ 식품의약품안전평가원
2. 농산물 등의 유해물질 분석법 일부개정고시/ 2016.12.26./ 식품의약품안전처
3. 식품 및 식품첨가물 공전 / 식품의약품 안전처