

보안 과제 (), 일반 과제(O) / 공개(O), 비공개() 발간등록번호(O)

유용농생명자원산업화기술개발사업 2022년도 최종보고서

발 간 등 록 번 호

11-1543000-004383-01

마 껍질 활용 주름 개선 고부가가치 안티에이징 화장품 소재 개발

2023. 06. 15.

주관연구기관 / 주식회사 엔에프씨

협동연구기관 / 경북대학교, 가톨릭대학교

농 립 축 산 식 품 부
(전문기관)농림식품기술기획평가원

제출문

제 출 문

농림축산식품부 장관 귀하

본 보고서를 “마 껍질 활용 주름 개선 고부가가치 안티에이징 화장품 소재 개발”(개발
기간 : 2021.04. ~ 2022.12.)과제의 최종보고서로 제출합니다.

2023.06.15.

주관연구기관명 : 주식회사 엔에프씨 (대표자) 유우영 (인)
공동연구기관명 : 경북대학교 산학협력단 (대표자) 공성호 (인)
공동연구기관명 : 가톨릭대학교 산학협력단 (대표자) 조석구 (인)



주관연구책임자 : 홍우진
공동연구책임자 : 한동엽
공동연구책임자 : 강남주

국가연구개발사업의 관리 등에 관한 규정 제18조에 따라 보고서 열람에 동의 합니다.

최종보고서							보안등급			
							일반[], 보안[]			
중앙행정기관명	농림축산식품부			사업명	사업명		유용농생명자원산업화 기술개발사업			
전문기관명 (해당 시 작성)	농림식품기술기획평가원				내역사업명 (해당 시 작성)		유용농생명자원산업화 기술개발사업			
공고번호	제 농축 2021-24호			총괄연구개발 식별번호 (해당 시 작성)						
				연구개발과제번호		121049-2				
기술분류	국가과학기술 표준분류	LC0321	50%	LA0905	30%	LA0904	20%			
	농림식품과학기술분류	CA0105	50%	AC0299	30%	RA0203	20%			
총괄연구개발명 (해당 시 작성)	국문									
	영문									
연구개발과제명	국문		마 겹질 활용 주름 개선 고부가가치 안티에이징 화장품 소재 개발							
	영문		Development of high value-added anti-ageing cosmetic material for wrinkle improvement using yam peel							
주관연구개발기관	기관명	㈜엔에프씨			사업자등록번호		131-86-37479			
	주소	(우)21999/인천시 연수구 갯벌로 145번길 15-8			법인등록번호		120111-0608755			
연구책임자	성명		홍우진		직위		연구소장			
	연락처	직장전화						휴대전화		
		전자우편						국가연구자번호		
연구개발기간	전체		2021. 04. 01 - 2022. 12. 31(1년 9개월)							
	단계 (해당 시 작성)	1단계	2021. 04. 01 - 2021. 12. 31(9개월)							
		n단계	2022. 01. 01 - 2022. 12. 31(1년)							
연구개발비 (단위: 천원)	정부지원 연구개발비	기관부담 연구개발비	그 외 기관 등의 지원금				합계		연구개발비 외 지원금	
	현금	현금	현물	현금	현물	현금	현물	현금		현물
총계	525,000		54,050	0	0	0	0	525,000	54,050	579,050
1단계	1년차	225,000		25,300	0	0	0	225,000	25,300	250,300
	2년차	300,000		28,750	0	0	0	300,000	28,750	328,750
공동연구개발기관 등 (해당 시 작성)	기관명	책임자	직위	휴대전화	전자우편	비고				
			역할	기관유형						
공동연구개발기관	경북대학교	한동엽	부교수			공동	대학			
	가톨릭대학교	강남주	교수			공동	대학			
연구개발담당자 실무담당자	성명		소수정		직위		차장			
	연락처	직장전화						휴대전화		
전자우편						국가연구자번호				

이 최종보고서에 기재된 내용이 사실임을 확인하며, 만약 사실이 아닌 경우 관련 법령 및 규정에 따라 제재처분 등의 불이익도 감수하겠습니다.

2023년 02월 03일

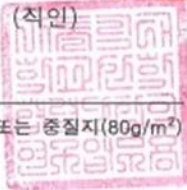
연구책임자: 홍우진



주관연구개발기관의 장: 유우영

공동연구개발기관의 장: 경북대학교 산학협력단

공동연구개발기관의 장: 가톨릭대학교 산학협력단



농림축산식품부장관·농림식품기술기획평가원장 귀하

210mm×297mm[(백상지(80g/m²) 또는 중질지(80g/m²)]

< 요약 문 >

※ 요약문은 5쪽 이내로 작성합니다.

사업명		유용농생명자원산업화기술개발 사업		총괄연구개발 식 별번호 (해당 시 작성)					
내역사업명 (해당 시 작성)				연구개발과제번호					
기술 분류	국가과학기술 표준분류	LC0321	50 %	LA0905	30 %	LA0904	20 %		
	농림식품 과학기술분류	CA0105	50 %	AC0299	30 %	RA0203	20 %		
총괄연구개발명 (해당 시 작성)									
연구개발과제명		국문 : 마 껍질 활용 주름 개선 고부가가치 안티에이징 화장품 소재 개발 영문 : Development of high value-added functional cosmetic material for wrinkle improvement using yam peel							
전체 연구개발기간		2021. 04. 01 - 2022. 12. 31(01 년 09 개월)							
총 연구개발비		총 589,200 천원 (정부지원연구개발비:525,000천원,기관부담연구개발비:64,200천원 (현금:3,900천원, 현물:60,300천원))							
연구개발단계		기초[] 응용[<input checked="" type="checkbox"/>] 개발[] 기타(위 3가지에 해당되지 않는 경우)[]		기술성숙도 (해당 시 기재)		착수시점 기준(3 단 계) 종료시점 목표(6 단 계)			
연구개발과제 유형 (해당 시 작성)		자유응모(농축산 부산물 활용 분야)							
연구개발과제 특성 (해당 시 작성)									
연구개발 목표 및 내용		최종 목표		마 껍질을 활용한 피부 노화 개선 고부가가치 안티에이징 화장품 소재 개발					
		전체 내용		○ 마껍질 활용 기능성 향장 소재의 원료 표준화 ○ 마껍질 추출물 및 유효성분의 항노화 기능성 평가 ○ 마껍질 소재의 안전성 검증 ○ 원료 대량 전처리 공정 개발 ○ 마껍질 추출물 활용 제형 개발 ○ 마껍질 활용 기능성 향장 소재의 제조법 표준화 ○ 마껍질 추출물 및 유효성분의 항노화 효능 관련 작용기전 규명 ○ 마껍질 추출물 적용 시제품 개발 및 주름개선 효능·효과 검증 (임상)					
		1년차		목표		○ 마껍질 활용 기능성 향장 소재의 원료 표준화 ○ 마껍질 추출물 및 유효성분의 항노화 기능성 평가 ○ 마껍질 소재의 안전성 검증 ○ 원료 대량 전처리 공정 개발 ○ 마껍질 추출물 활용 제형 개발			
				내용		○ 마껍질 활용 기능성 향장 소재의 원료 표준화 <ul style="list-style-type: none"> • 기능성 물질 함량 기준 원료 선별(마 품종) • 기능성 물질 동시분석법 개발 및 유효성 검증 • 마껍질 원물 저장법(냉장, 냉동, 상온, 습도 등) • 건조법 최적화 (자연건조, 열풍, 동결건조 등) • 수세법 최적화 (수세 시간, 등) : 회분 및 중금속 함량 기준 			

			<ul style="list-style-type: none"> ○ 마껍질 소재의 안전성 검증 <ul style="list-style-type: none"> • 중금속, 병원균 등 검출 여부 확인 • 옥살산 저감화 및 검출 여부 확인 ○ 기능성 향장 소재의 제형 개발 <ul style="list-style-type: none"> • 부형제, 제형 조합 시험 및 최적화 • 원료 추출물과의 혼합 시험 ○ 마껍질 추출물 및 유효성분의 항노화 기능성 평가 <ul style="list-style-type: none"> • 자외선 세포 독성에 대한 보호 효능 평가 • 시험관내 분석법에 의한 항산화 효과 평가 • 피부 세포 내 흡수율 평가 • 피부노화 관련 기질분해 단백질들 (MMPs, collagenase)의 활성화 및 발현 억제 효능 측정
	2년차	목표	<ul style="list-style-type: none"> ○ 마껍질 활용 기능성 향장 소재의 제조법 표준화 ○ 마껍질 추출물 및 유효성분의 항노화 효능 관련 작용기전 규명 ○ 마껍질 추출물 적용 시제품 개발 및 주름개선 효능·효과 검증 (임상)
		내용	<ul style="list-style-type: none"> ○ 마껍질 활용 기능성 향장 소재의 제조법 표준화 <ul style="list-style-type: none"> • 추출(용매, 온도, 압력, 시간, 추출 방식)법 개발 및 표준화 • 추출물 농축법 표준화(용매, 온도, 압력, 농축방식) • 혼합 및 제형화 • 지표성분 및 기능성 기준 최적화된 제조법 확립 • 제조법 개발에 필요한 Lab-scale 시험 및 지표성분 분석 ○ 시제품 생산 <ul style="list-style-type: none"> • 화장품 소재 시제품 생산 • 화장품 요구 규격 설정 및 안정성(유통기한, 포장)평가, 물성 평가 • 주름 개선 화장품 인체 적용 효능 평가 ○ 마껍질 추출물 및 유효성분의 항노화 효능 관련 작용기전 규명 <ul style="list-style-type: none"> • 피부노화 촉진관련 단백질들의 활성화 및 발현 저해 효능 평가 • Binding assay, modeling study를 이용한 표적단백질과의 결합 양상 규명 • 인공피부를 이용한 항노화 효능 평가 ○ 마껍질 활용 기능성 향장 소재의 제조법 표준화 지원 <ul style="list-style-type: none"> • 주관기관(NFC)의 제조법 최적화에 필요한 기능성 검증 결과 제공

연구개발성과	<ul style="list-style-type: none"> ○ 지식재산권 3건 완료 ○ 기술이전 1건 ○ 학술대회 발표 5건 완료 ○ 학술논문 <ul style="list-style-type: none"> • SCI급 2건 게재 완료, 2건 심사중 • 비SCI급 1건 게재 완료 ○ 인력양성 <ul style="list-style-type: none"> • 학사급 인력양성 2인
--------	---

	<ul style="list-style-type: none"> • 석사급 인력양성 4인 ○ 고용창출 22인 ○ 홍보실적 <ul style="list-style-type: none"> • 중앙전문지 홍보 1건 • 기술발표회 발표 1건
--	---

연구개발성과 활용계획 및 기대 효과	<p>1) 연구개발성과의 활용방안</p> <ul style="list-style-type: none"> ○ 개발소재의 권리화를 위해 산업재산권 (특허 및 실용실안 등) 취득. ○ 개발된 피부 주름 및 미백 개선 기능성 소재는 식약처로부터 기능성 화장품 (원료 및 기능성 성분) 인증 추진. ○ 국내·외 화장품 산업체로 기술 및 특허권을 이전하여 이윤창출. ○ 1차 산업은 물론, 이를 활용할 수 있는 혁신적 부가가치 산업을 창출. ○ 지식재산권이 확보 된 신소재의 기능을 증명하는 연구 결과물들을 세계적으로 권위 있는 과학저널에 발표, 그 외에 학회, 언론 등을 통해 대중에게 고급지식 전달. ○ 기존에 형성해 둔 산업체들과의 협력관계를 활용하여, 이들 산업체들의 주력 상품들을 바탕으로 한 맞춤형 미용개선 기능성 화장품 신상품 개발. <p>2) 연구개발성과의 기대효과</p> <p>(1) 기술적 측면</p> <ul style="list-style-type: none"> ○ 천연물 유래 미용 기능성 신소재와 미용 관련 단백질과의 구조적 관계 규명. <ul style="list-style-type: none"> - 분자생물학, 구조생물학, 컴퓨터모델링, 화학유전체학 등 다양한 학문분야를 접목하여 기존의 효능증명 연구를 탈피 천연물 유래 미용 기능성 신소재와 미용 관련 단백질의 구조적 관계를 밝힘. - 천연물 유래 미용 기능성 소재의 유용생리활성 및 효능을 과학적으로 입증하고, 이의 생물학적 미용 관련 표적을 탐색하여 소재에 대한 원천 정보 확보. ○ 다양한 고부가가치 미용 제품 개발 및 산업화 기반 기술 구축. ○ 고부가가치 천연 미용 기능성 소재는 타 학문 분야에서도 응용이 가능하며, 향후 의약품 신소재로서도 활용가치가 큼. ○ 글로벌 시장에서 천연물 미용 유래 기능성 소재 개발의 국가 경쟁력을 선점하여 관련 기술 및 제품의 수출을 강화. <p>(2) 경제적·산업적 측면</p> <ul style="list-style-type: none"> ○ 농가 및 유통업체의 폐기 부산물 판매를 통한 비용 절감, 수익 증대 ○ 미용 기능성 제품 출시를 통한 안동 마의 브랜드 가치 제고 ○ 안전하고 효능이 뛰어난 천연물 유래 주름 및 미백 개선 기능성 소재의 발굴 및 개발은 기존의 기능성 소재의 수입을 대체하고 관련 제품의 수출 증가를 기대 할 수 있음. ○ 국내화장품 시장은 4.5 조원이며 세계화장품 시장은 151조원으로 노화 및 미백에 대한 효능과 그 정확한 작용기작이 규명되는 소재가 개발될 경우 국내 내수 및 수출에 대한 기여도는 매우 높을 것으로 기대됨. ○ 세계적으로 대규모 시장을 형성하고 있는 화장품 산업의 발전을 도모하고, 우리나라의 전통 천연물 과학을 세계화하며, 미용 기능성 소재의 수출 산업화에 일조함. ○ 기존의 국내 실험실들은 뛰어난 연구력을 갖추고 있음에도 불구하고, 학문적 연구에만 중점을 두고 있어, 국내 산업체가 뛰어난 상품화 및 제형 기술을 가지고 있음에도 불구하고, 연구 결과물들이 제대로 활용되지 못함. 본 연구과제를 통하여 다양한 미용 기능성 소재의 산업적 발전을 기대할 수 있음.
---------------------------	--

	○ 기업의 신사업 확장을 통한 고용 창출.											
연구개발성과의 비공개여부 및 사유												
연구개발성과의 등록·기탁 건수	논문	특허	보고서 원문	연구 시설 ·장비	기술 요약 정보	소프트 웨어	표준	생명자원		화합물	신품종	
								생명 정보	생물 자원		정보	실물
연구시설·장비 종합정보시스템 등록 현황	구입 기관	연구시설 ·장비명	규격 (모델명)	수량	구입 연월일	구입가격 (천원)	구입처 (전화)	비고 (설치장소)	ZEUS 등록번호			
국문핵심어 (5개 이내)	마껍질		주름 개선		향장소재		농산부산물		코스메티컬			
영문핵심어 (5개 이내)	Yam peel		Anti-wrinkle		Cosmetic materials		Agricultural by-products		Cosmeceuticals			

< 목 차 >

1. 연구개발과제의 개요	1
2. 연구개발과제의 수행 과정 및 수행내용	7
3. 연구개발과제의 수행 결과 및 목표 달성 정도	42
4. 목표 미달 시 원인분석(해당 시 작성)	52
5. 연구개발성과 및 관련 분야에 대한 기여 정도	53
6. 연구개발성과의 관리 및 활용 계획	53
별첨 자료 (참고 문헌 등)	

1. 연구개발과제의 개요

1) 연구개발 필요성

(1) 기능성 화장품 소재로서의 마(yam)와 가공부산물 마껍질

○ *Dioscorea*, Yam 이라고도 불리는 마는 다년생 덩굴식물로서, 생약명으로는 산약(山藥)이라고도 불리며, 흔히 뿌리라고 알려진 지하부의 덩이줄기를 식용 또는 약용으로 활용함. 1980년대까지는 약용으로만 사용되다가, 위장기관의 건강 개선과 소화력 증진에 도움을 준다는 점이 알려져 최근에는 건강식품으로의 수요가 증가함.



그림 1. 마와 관련된 식품 및 관련기사

- 마는 전 세계적으로 600여 종이 존재하며 주로 열대, 아열대 지방과 한국, 중국, 일본에 분포함. *Dioscorea batatas* Dence(참마)는 우리나라에서 가장 많이 재배되는 종으로 주로 안동, 영주, 진양 등지에서 재배됨. 2021년 통계청 자료 기준(특용작물 생산현황)으로 마(산약)의 전국 생산량은 8,075톤이며, 이 중 경북 지역 생산량은 6,336톤(전국 생산량의 78%)임. 경북지역에서도 안동시의 비중이 절대적으로 높으며 안동 산약 특구 지정 등 지자체 지원과 재배환경이 우수함. 재배 뿐 아니라 가공된 식품 생산과 유통 인프라도 안동지역에 집중되어 기능성 원료 개발에 중요한 원료 표준화 측면에서 안동 지역의 마를 활용하는 것이 매우 유리함.
- 동양에서 전통적으로 약재로 사용되어온 마는 다량의 전분질, 1~1.5%의 단백질, 1%의 지질, 미량의 미네랄 및 비타민을 포함하고 있으며 polyphenol, allantoin, mucin, diosgenin 등 다양한 생리활성 물질을 포함하고 있음. 선행 연구에 의하면 마는 항산화, 항진균, 항염증, 콜레스테롤 저하, 항비만 및 배변 증대 활성, 위궤양 예방 기능, 피부보습 등의 효능을 가진다고 알려졌으며 산화방지제, 수렴제, 헤어컨디셔닝제, 피부컨디셔닝제(유연제)의 역할을 위해 천연/유기농 화장품의 원료로 사용되고 있음. 1)
- 한편, 마의 사용부위인 덩이줄기에는 소화를 돕는 뮤신 성분, 미네랄, 사포닌 성분 등이 풍부하여 식품으로의 수요가 많으나, 저장성이 좋지 않아 생마보다는 껍질을 벗기고 속살을 건조하여 마가루 형태로 유통하거나 2차가공품을 생산하는 비율이 높으며, 이 과정에서 마껍질은 별다른 활용처 없이 폐기됨. 폐기되는 마껍질의 비율은 가공에 활용하는 마 속살의 최대 20% 가량이며 부산물로 배출됨. 1인 가구 수의 증가, 편이성을 추구하는 식문화의 발달로 생마보다는 껍질을 벗겨 진공포장한 마의 소비가 증가하는 등 생산 및 유통단계에서 부산물인 마 껍질의 폐기량이 더 많아짐.

1) Evaluation of Antimicrobial, Antithrombin, and Antioxidant Activity of *Dioscorea batatas* Decne.. Kim Jee-In Microbiology and Biotechnology Letters2009:133-139.

- 그러나, 선행연구들에 의하면 마 전체의 20%를 차지하는 마 껍질에 allantoin, flavonoid, phenolic compound 와 같은 생리활성 물질이 더 많이 존재함. 2)
- 마 속 보다 마 껍질에 많이 존재하는 천연 생리활성 물질 중 allantoin은 항노화, 보습, 피부 보호 효능이 입증되어 화장품 원료 중 대표적인 피부컨디셔닝제로 널리 사용되고 있음. 3) 또한 약리적으로 널리 사용되고 항염증, 항종양, 항진균, 항산화 효과가 있다고 알려진 saponin(dioscin, gracillin, protodioscin)도 마 속 보다 마 껍질에 더 많이 함유되어 있다는 연구결과가 있음. 4)
- 마 추출물을 이용한 화장품 소재가 상용화되어 있으나 주로 mucin과 같은 보습성이 있는 단백질을 주된 기능성분으로 하며, 마 껍질이 아닌, 가식부위인 마 속살을 원료로 제조함. 본 과제를 통해 개발하고자 하는 소재는 가공부산물인 마껍질에만 집중적으로 분포하는 batatasin 화합물을 유효성분으로 하며, 이에 대한 피부 생리활성에 관한 연구가 이루어지지 않았음. 기존의 마 추출물 화장품과 사용 부위, 유효 성분, 기능이 차별화된 소재 개발을 목표로 함.

(2) 선행연구 및 연구의 필요성

○ 선행연구

- 본 사업팀의 한동업 교수 연구진은 마 껍질은 마 속살에 비해 항산화효과가 훨씬 뛰어나며, 그 차이는 마 속살에는 항산화 유효성분인 페난트렌(PHE 1, PHE 2, PHE 3)이 거의 없지만, 마 껍질에 폴리페놀성분인 batatasin 화합물이 집중적으로 분포하는 것에 기인함을 규명함(2019년, 식품과학분야 상위 7% 학술지 Antioxidants 에 게재).

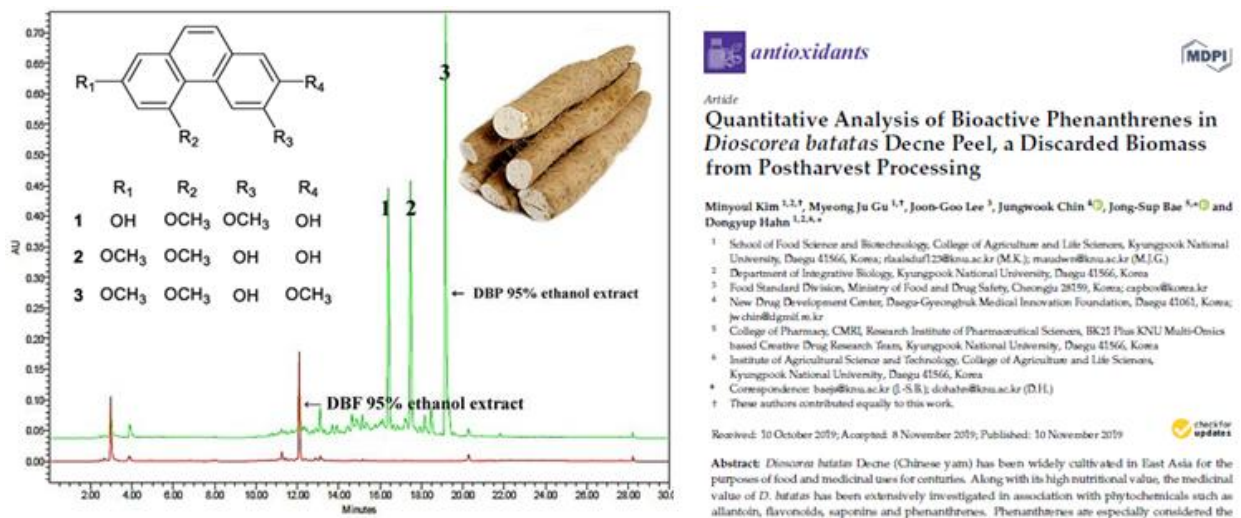


그림 2. Antioxidants에 게재된 논문 및 batatasin 분석 자료

- [마 껍질 추출물 분석 결과] 또한, 마 껍질 에탄올 추출물을 reverse phase preparative HPLC를 활용한 분리 등을 통하여 3가지 batatasin 계열 화합물을 분리하였음.

2) Antioxidant and Antitumor Activities of the Extracts from Chinese Yam (*Dioscorea opposita Thunb*) Flesh and Peel and the Effective Compounds. Yuanxue Liu et al. 2016
 3) Quantitative Analysis of Allantoin and Allantonic Acid in in Yam tuber, mucilage, skin and bulbil of the *Dioscorea* species. Yi-Chung Fu et al.
 4) Determination of steroidal saponins in different organs of yam (*Dioscorea pseudojaponica* Yamamoto) Jau-Tien Lin et al. 2008.

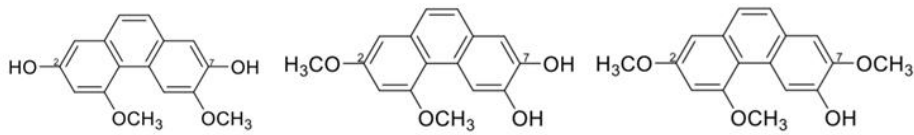


그림 3. 마 껍질에서 추출한 batatasin 화합물 구조

- Annonaceae, Aristolochiaceae, Cannabaceae, Combretaceae, Euphorbiaceae, Juncaceae, Lauraceae, Malpighiaceae, Orchidaceae 과 식물에서 유래한 비슷한 계열의 폴리페놀화합물들의 생리활성 연구가 되어있긴 하지만 항염증, 항암 연구에 국한되어 있음. 또한, 기존 마 껍질 유래 생리활성 물질들과 달리 batatasin 화합물에 대한 피부 주름 및 보습 기능성에 대한 연구는 거의 이루어지지 않았기 때문에, 버려지는 부산물을 활용한 고부가가치 화장품 원료 개발이라는 장점과 더불어 새로운 국내산 천연 화장품 원료의 개발의 기회로 볼 수 있음.
- **본 사업팀의 강남주 교수 연구진**은 최근, 국내산 마(*Dioscorea Batatas Dence*) 껍질에서 발굴된 유효성분인 batatasin 을 이용하여 피부 주름, 보습 및 미백 개선 효능을 스크리닝 하였음.
- **[항노화 효능 결과]** Batatasin 화합물을 human fibroblast cell에 처리한 결과 자외선 (UVB) 조사 시 감소하는 콜라겐 합성 전구물질인 **Pro-collagen** 발현이 증가됨을 확인하였음. 또한 *in vitro* 상에서 노화 촉진 관련 유전자인 **MMP-1**의 활성을 농도 의존적으로 감소시킴을 확인하였음. 그 중에서도 특히 화합물 2 의 효능이 가장 높게 나타남을 확인하였음.

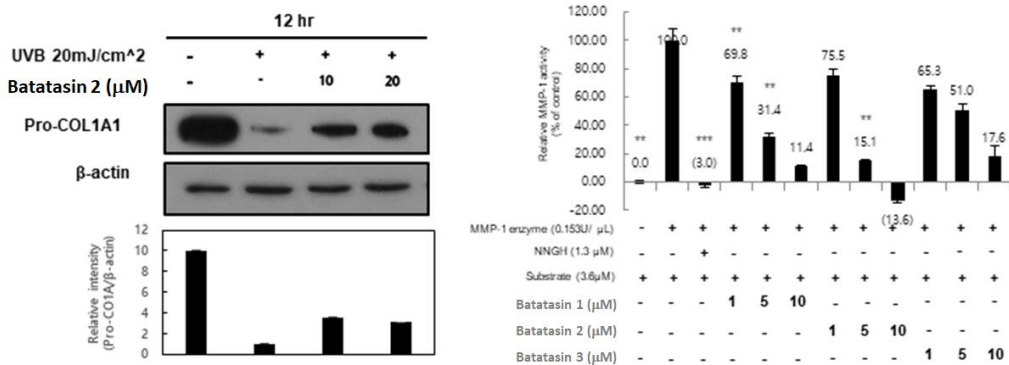


그림 4. 국내산 마 껍질 추출물 성분인 batatasin 화합물의 피부 노화 억제 효능 평가

- **[보습효능 결과]** 화합물 2, 화합물 3을 세포 독성이 없는 농도 범위 내에서 human keratinocyte cell에 처리하여 피부보습 효능과 관련된 HAS-2 유전자 발현을 측정 한 결과 두 성분 모두 농도 의존적으로 **HAS-2**의 발현이 증가하였음.

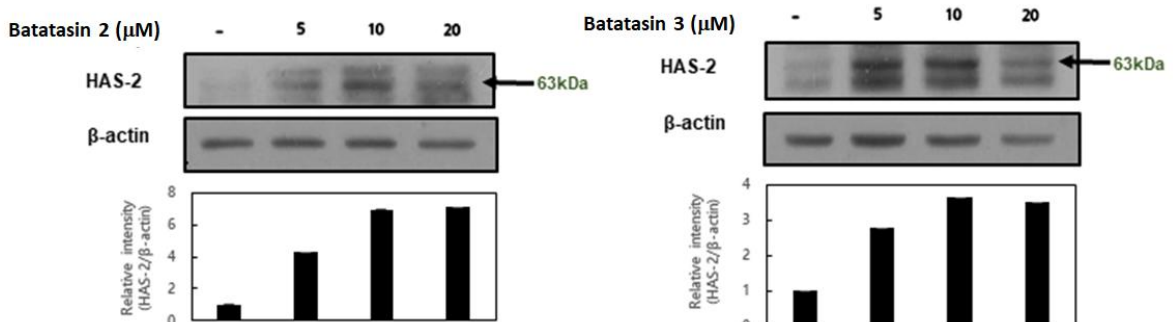


그림 5. 국내산 마 껍질 추출물 성분인 batatasin 화합물의 피부 보습 효능 평가

- [미백효능 결과] B16F10 cell에 batatasin 화합물을 처리하여 피부색에 관여하는 멜라닌 색소 생성 억제 효능을 측정한 결과 미백 효능은 없는 것으로 나타났음.

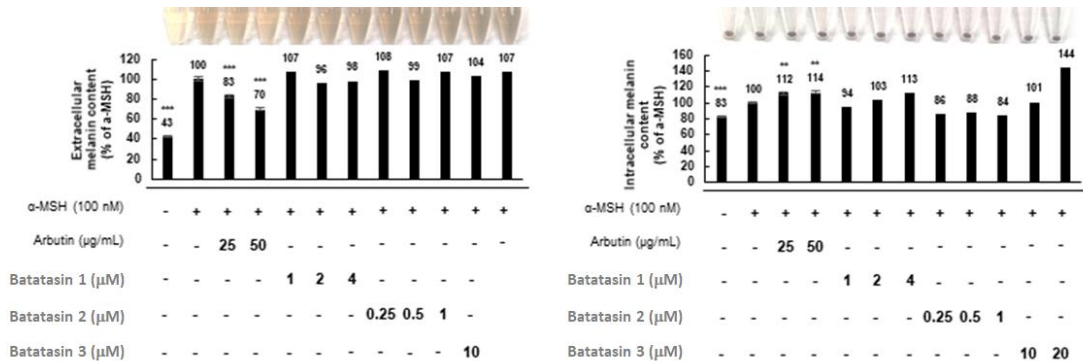


그림 6. 국내산 마 껍질 추출물 성분인 batatasin 화합물들의 피부 미백 효능 평가

- 결과적으로, 국내산 마 껍질 추출물 유래 batatasin 화합물들은 피부 세포주와 *in vitro* 상에서 항노화 기능이 가장 크고, 피부 보습 기능 또한 있는 것으로 나타났음(피부 미백 개선 효능은 없음). 특히, 화합물 2의 항노화 활성이 가장 큰 것으로 볼 수 있음. 위의 스크리닝 결과들을 통해 국내산 마 껍질 유래 피부 주름 억제 신규 유효성분으로서의 가능성을 제시함.

○ 연구의 필요성

- 화장품 분야에서 제품의 생산 공정은 세계수준에 비슷하게 다가가고 있는 실정이지만 기능성 소재 부분과 피부의약품 소재 부분의 기술력과 경쟁력은 선진국에 비해 상당히 뒤떨어져 있으며 대부분 수입에 의존하고 있는 실정으로 국가경쟁력을 위해서라도 기술 수준을 상승시키는 것이 시급하다고 판단됨.
- 화장품 분야는 기타 바이오산업과 마찬가지로 소재 및 원재료의 특성에 절대적으로 좌우되므로 우수한 소재 발굴 및 원재료 확보는 산업 전체의 성공의 척도와 바로 직결되어 있음.
- 따라서, 국내 식물자원을 이용한 피부 생리활성 연구를 통하여 고부가가치 기능성 화장품 소재를 발굴함으로써 미래 화장품시장의 성장 동력 확보에 기여하는 것이 바람직 함.
- 기존 화장품 원료로 사용되는 마 추출물은 가식부인 덩이줄기에 함유된 diosgenin, allantoin 등의 성분에만 국한되어 피부 노화방지제 혹은 피부컨디셔닝을 목적으로 화장품에 첨가되어왔음. 하지만 환경 친화적 제조과정의 중시, 국내외 법규 변화에 따라 해외 의존도가 높은 생물자원 대체의 필요성이 대두되면서, 친환경적이고 마 부산물 연구개발 후 화장품 원료 절감의 이득을 볼 수 있는 마 껍질의 활용 필요성도 높아지고 있음.
- 따라서, 본 과제를 통해 폐기되는 부산물인 마 껍질 유래 주름 개선 유효성분을 발굴함으로써 원료물질의 국산화 및 가격 경쟁력과 화장품 제형화에 있어서의 문제점 또한 개선 가능할 수 있을 것이라 생각됨.

2) 연구개발 목표 및 내용

(1) 연구개발과제의 최종 목표

연차	목표	
	정성	정량
1차년도	<ul style="list-style-type: none"> ○ 마껍질 활용 기능성 향장 소재의 원료 표준화 ○ 마껍질 추출물 및 유효성분의 항노화 기능성 평가 ○ 마껍질 소재의 안전성 검증 ○ 원료 대량 전처리 공정 개발 ○ 마껍질 추출물 활용 제형 개발 	<ul style="list-style-type: none"> ○ 기능성 화장품 소재 원료 표준화 1건 ○ 학술논문 2건 ○ 특허출원 1건
2차년도	<ul style="list-style-type: none"> ○ 마껍질 활용 기능성 향장 소재의 제조법 표준화 ○ 마껍질 추출물 및 유효성분의 항노화 효능 관련 작용기전 규명 ○ 마껍질 추출물 적용 시제품 개발 및 주름개선 효능·효과 검증 (임상) 	<ul style="list-style-type: none"> ○ 기능성 화장품 소재 제조법 표준화 1건 ○ 시제품 개발 2건(화장품소재 1건, 주름개선 화장품 1건) ○ 학술논문 2건 ○ 특허출원 2건, 특허 등록 1건
최종	마 껍질을 활용한 주름 개선 고부가가치 기능성 화장품 소재 개발	

(2) 연구개발과제의 내용

참여기관	연구내용	
표준화 연구팀 (경북대 한동엽)	1차 년도	<ul style="list-style-type: none"> ○ 마껍질 활용 기능성 향장 소재의 원료 표준화 <ul style="list-style-type: none"> • 기능성 물질 함량 기준 원료 선별(마 품종) • 기능성 물질 동시분석법 개발 및 유효성 검증 ○ 마껍질 소재의 안전성 검증 <ul style="list-style-type: none"> • 중금속, 병원균 등 검출 여부 확인 • 옥살산 저감화 및 검출 여부 확인
	2차 년도	<ul style="list-style-type: none"> ○ 마껍질 활용 기능성 향장 소재의 제조법 표준화 지원 <ul style="list-style-type: none"> • 추출(용매, 온도, 압력, 시간, 추출 방식)법 개발 및 표준화 • 추출물 농축법 표준화(잔류용매, 온도, 압력, 농축방식) • 주관기관(NFC)의 제조법 개발에 필요한 Lab-scale 시험 자료 제공 및 지표성분 분석 자료 제공
기능성 검증팀 (경북대 강남주)	1차 년도	<ul style="list-style-type: none"> ○ 마껍질 추출물 및 유효성분의 항노화 기능성 평가 <ul style="list-style-type: none"> • 자외선 세포 독성에 대한 방어 효과 평가 • 시험관내 분석법에 의한 항산화 효과 평가 • 피부 세포 내 흡수율 평가 • 피부노화 관련 기질분해 단백질들 (MMPs, collagenase)의 활성 및 발현 억제 효능 측정
	2차 년도	<ul style="list-style-type: none"> ○ 마껍질 추출물 및 유효성분의 항노화 효능 관련 작용기전 규명 <ul style="list-style-type: none"> • 피부노화 촉진관련 단백질들의 활성 및 발현 저해 효능 평가 • Binding assay, modeling study를 이용한 표적단백질과의 결합 양상 규명 • 인공피부를 이용한 항노화 효능 평가 ○ 마껍질 활용 기능성 향장 소재의 제조법 표준화 지원 <ul style="list-style-type: none"> • 주관기관(NFC)의 제조법 최적화에 필요한 기능성 검증 결과 제공
	1차	○ 마껍질 원료 전처리법 최적화 및 향장 소재 규격화

시제품 개발팀 (쥬엔에프씨)	1차 년도	<ul style="list-style-type: none"> • 마감질 원물 저장법(냉장, 냉동, 상온, 습도 등) 최적화 • 건조법 최적화 (자연건조, 열풍, 동결건조 등) • 수세법 최적화 (수세 시간, 등) : 회분 및 중금속 함량 기준 ○ 기능성 향장 소재의 제형 개발 <ul style="list-style-type: none"> • 원료 추출물과의 혼합 시험 • 최적 제형 레시피 개발
	2차 년도	○ 마감질 활용 기능성 향장 소재의 제조법 확립 <ul style="list-style-type: none"> • 혼합 및 제형화 • 지표성분 확인 및 함량 비교로 최적화된 제조법 확립 ○ 시제품 생산 <ul style="list-style-type: none"> • 화장품 소재 시제품 생산 • 화장품 요구 규격 설정 및 안정성(유통기한, 포장)평가, 물성 평가 • 주름 개선 화장품 인체 적용 효능 평가

2. 연구개발과제의 수행 과정 및 수행 내용

1) 마깍질 원료 전처리법 최적화 및 향장 소재 규격화

(1) 마깍질 원물 저장법 최적화

○ 개요

- 마는 가을(9월-11월)에 수확하여 저온 창고에서 연중 보관하면서 유통하거나 수확한 마를 세척한 후에 즉시 껍질을 벗겨 속을 건조한 후 분말화하여 2차가공 또는 유통하는 경우가 많음. 껍질은 그동안 대개 폐기하였으므로 기능성 소재로서의 활용을 위해서는 품질을 유지하기 위해 가공 이전까지 보관하는 방법에 관한 연구가 필요함. 마깍질의 기능성 발현에서 가장 중요한 점은 기능성 물질이 보관 기간 중 변질되지 않으면서 보관 기간과 관계없이 함량 변화가 크지 않으면서 에너지 소비가 적은 방법을 찾는 것이 중요함. 본 연구에서는 마깍질 원물은 건조시켜서 수분활성도를 조절하는 것이 가장 중요한 변질 요인으로 고려하여서 저장방법은 건조 후 냉장, 냉동 또는 상온에서 보관하는 방법을 고려하고자 함. 본 연구에서는 냉장(4℃), 냉동(-18℃), 상온(20℃) 조건에서 시간이 지남에 따라 유효성분이 소실되는 추이를 관찰하여 최적의 저장 온도를 설정하고자 함.

○ 연구방법

- 열풍건조한 참마 껍질을 냉장(4℃), 냉동(-18℃), 상온(20℃) 조건에서 보관했을 때, 시간이 지남에 따라 유효성분 함량에 어떤 변화가 생겼는지 확인함. 냉장보관의 경우 4℃의 냉장실, 냉동보관의 경우 -18℃의 냉동실에서 보관했으며 상온보관의 경우 20℃ 실험실 암소에 보관함. 세 조건 모두 21일간 보관하고, 7일마다 1 g씩을 취한 후 95% 에탄올 20 ml로 이용하여 추출, 농축한 뒤, 3개의 반복 시료를 제조하여 경북대학교 표준화 팀에서 개발한 HPLC 분석법으로 정량분석을 진행함.

○ 보관방법과 기간에 따른 유효성분 분석 결과

- 보관 7일 차의 경우 상온보관의 세 유효성분 함량이 다른 보관법에 비해 10%가량 높았음. 이는 냉동과 냉장보관 중 참마 껍질에 수분이 증가하여 가장 수분 함량이 적은 상온보관이 원물 대비 추출 함량이 가장 높았을 것으로 추측됨. 상온보관의 경우 시간이 지나면서 유효성분 1의 함량은 조금씩 늘었으나, 유효성분 2와 3의 함량은 21일 차에 11%, 6% 가량 감소하였으며, 반복 실험에 따른 편차가 커짐. 냉장보관의 경우 반복 실험에 따른 편차가 크게 관찰됨. 14일 차가 7일 차에 비해 유효성분 함량이 모두 증가하고, 21일 차에는 소폭 감소함. 냉동보관의 경우 예상대로 세 보관방법 중 보관 날짜에 따른 변화가 가장 적고 안정된 결과를 보였으며 반복 실험에 따른 편차도 가장 작았음. 이를 토대로 열풍 건조된 참마 껍질을 냉동보관 했을 때, 유효성분의 소실이 가장 적을 것이라 판단됨.

표1. 보관 방법에 따른 마검질 유효성분의 함량 변화

마검질 원물 1g당 유효성분 함량 (µg)				
보관방법	보관 기간 (일)	유효성분1	유효성분2	유효성분3
상온보관	7	422.30 ± 1.78	242.74 ± 1.05	400.08 ± 3.93
	14	433.82 ± 21.09	225.10 ± 11.15	384.45 ± 19.06
	21	438.65 ± 9.49	216.54 ± 11.85	375.37 ± 15.39
냉장보관	7	371.99 ± 1.63	227.63 ± 0.55	378.74 ± 1.52
	14	432.25 ± 25.71	239.75 ± 14.20	400.15 ± 24.00
	21	431.34 ± 10.47	232.76 ± 13.64	390.15 ± 23.65
냉동보관	7	385.21 ± 0.58	204.04 ± 0.53	362.61 ± 1.24
	14	385.25 ± 9.53	216.58 ± 5.15	365.49 ± 8.63
	21	393.11 ± 3.15	222.35 ± 3.70	360.25 ± 7.40

(2) 건조법 최적화 (자연건조, 열풍, 동결건조 등)

○ 개요

- 식물 추출물을 이용한 기능성 소재 제조에서 원료 추출에 앞서 제조에 적합한 형태로 만들거나 추출의 효율을 높이기 위해 전처리 과정을 거침. 전처리 과정은 주로 원물 수세와 건조 과정이 있고 필요에 따라 파쇄하거나 추출 효율을 높이기 위해 열처리 또는 다른 화학 공정을 거치기도 함. 이중 건조 과정은 원물의 무게를 줄여 유통 과정에서 효율을 높이고, 수분 함량을 낮추어 수분활성도가 낮게 유지되도록 하여 원물의 보관 중 미생물 또는 생화학적 변질을 방지하여 품질을 유지하는데 매우 중요한 공정임. 일반적으로 건조 시간과 설비도입 및 설비운영비 측면에서 열풍건조법이 효율적이므로 가장 많이 사용하나, 기능성 소재 제조 측면에서 기능성 물질의 열안정성을 고려해야 하므로 자연건조법 또는 동결건조를 수행하기도 함. 동결건조법은 열에 취약한 기능성 성분을 건조과정에서 손실 없이 건조해야 할 경우 불가피하게 도입할 수 있으나, 설비도입과 설비운영비가 많이 드는데 비해 건조시간이 비교적 길고 대량으로 처리할 수 있는 원료의 양이 한정적임. 상온에서 건조하는 것도 열풍 건조에 비해 열에 취약한 성분을 보호할 수 있는 장점이 있으나 상온에 오래 노출되어 있는 동안 시료의 오염의 가능성이 높아지고 건조 시간이 길어져 품질 관리가 어려울 수 있음.
- 본 연구에서는 향후 대량생산 공정을 위한 건조법으로서 열풍건조를 상정하고 상온건조법, 동결건조법을 통해 건조하여 얻은 시료에 포함된 유효성분을 비교하고자 함. 동결건조나 상온건조 대비 유효성분 함량이 열풍건조 시료에서 적더라도 건조 시간과 효율을 참고하여 SOP를 만드는데 반영하고자 함. 건조시 항량에 도달하는 시간을 함께 기록하여 비교대상이 될 수 있도록 함.

○ 연구방법

- 참마 껍질을 참마로부터 박피하여 (1 kg 수득) 세 가지 조건 1) 상온 건조, 2) 열풍 건조, 3) 동결 건조 시료로 각 10 g씩 하나의 건조 조건 시료당 5개의 aliquot에 나누어 배분함. 1) 상온 건조 조건은 온도 20℃ 실험실 암소에 실리카겔을 흡습제로 넣은 데시케이터에 두고 수분이 평형에 도달할 때까지 건조하였으며, 2) 열풍 건조 조건은 건조 오븐에서 65 ℃ 조건에

두고 건조하였고, 3) 동결건조 조건은 -70 °C, 5 mTorr 조건에서 건조하여 초기 1일간은 3시간 간격, 2일차부터 6시간 간격, 4일차부터 12시간 간격으로 시료 무게를 측정하여 항량에 도달하였는지 여부를 측정하여 항량에 도달한 시점에 파쇄 후 각 aliquot 들의 시료를 무작위로 혼합하고 1 g씩을 취한 후 95% 에탄올 20 ml로 이용하여 추출, 농축한 뒤, 3개의 반복시료를 제조 후 경북대학교 표준화 팀에서 개발한 HPLC 분석법으로 정량분석을 진행함.

○ 건조법에 따른 항량 도달 시간 및 유효성분 분석 결과

- 예상한 바와 같이 동결건조 시 유효성분의 함량이 30% 내외로 높은 것으로 나타났으므로 동결건조법이 가장 우수한 건조법임을 확인할 수 있었으나, 유효성분 함량에 따라 기능성 성분 자체의 차이가 크게 나는지, 제조 원가 분석 및 본 연구기관의 설비에 따라 추후 어느 공정을 SOP에 적용할지 결정하고자 함. 상온 건조법은 건조 시간이 지나치게 길어지면서 원물이 공기중에 접촉되어 있는 시간이 길어지면서 열풍건조 조건보다 유효성분의 함량 손실이 더 커지는 것으로 보임. 추후 열풍건조법의 최적 온도 조건 분석도 필요할 것으로 사료 됨.

표2. 건조법에 따른 항량 도달 시간 및 유효성분 분석 결과

마깍질 원물 1g당 유효성분 함량 (µg)				
건조조건	항량도달시간(hr)	유효성분1	유효성분2	유효성분3
상온건조	168	235.03 ± 2.69	133.36 ± 0.98	216.29 ± 1.70
열풍건조	12	369.80 ± 0.64	184.76 ± 0.58	317.10 ± 0.57
동결건조	26	564.38 ± 3.92	232.03 ± 1.47	381.99 ± 4.91

2) 마깍질 활용 기능성 향장 소재의 원료 표준화

(1) 기능성 물질(batatasin 계열 화합물) 동시분석법 개발 및 유효성 검증

○ 연구 방법

- 마 추출물의 피부 노화 개선 기능성 유효성분은 페난트렌(PHE 1, PHE 2, PHE 3) 화합물로서, 마 이외의 원천에서 흔히 발견되지는 않는 폴리페놀 성분이며 대부분 껍질에 분포하므로 지표성분으로 품종별로 다양한 유도체가 보고되어 있음. 화학 구조가 유사하므로 한 번의 분석 시행으로 여러 batatasin 유도체의 정량분석이 가능한 HPLC 분석법을 개발하고 유효성을 검증함.

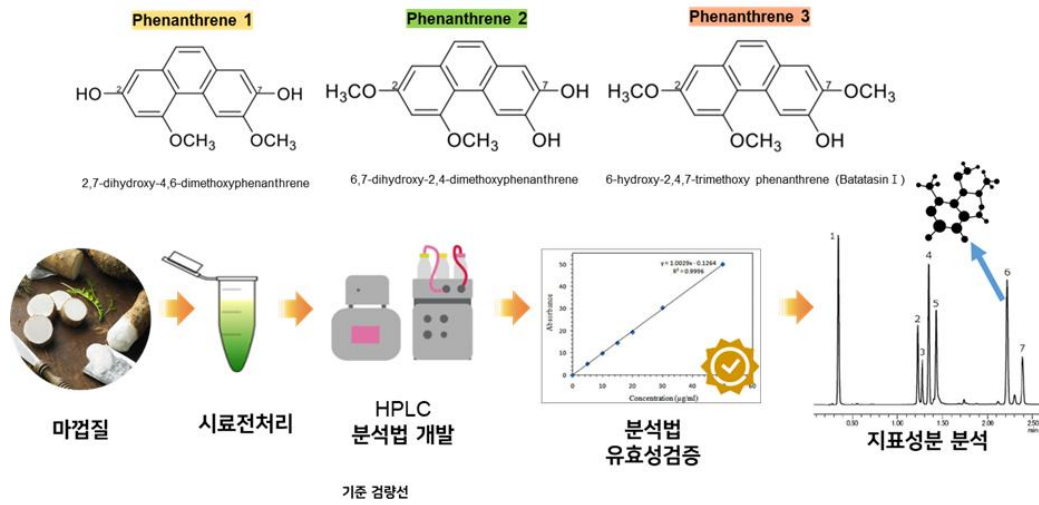


그림 7. 지표성분 분석법 개발의 개요

- 분석 표준품으로 본 연구진이 확보하고 있는 마겟질에서 분리 정제한 유효성분 페난트렌 화합물(PHE 1, PHE 2, PHE 3)들을 사용하고, 직선성, 정밀도(일내, 일간 정밀도), 정확도, 회수율, 검출한계(LOD) 및 정량한계(LOQ)를 검증

○ 기능성물질 동시분석법 개발

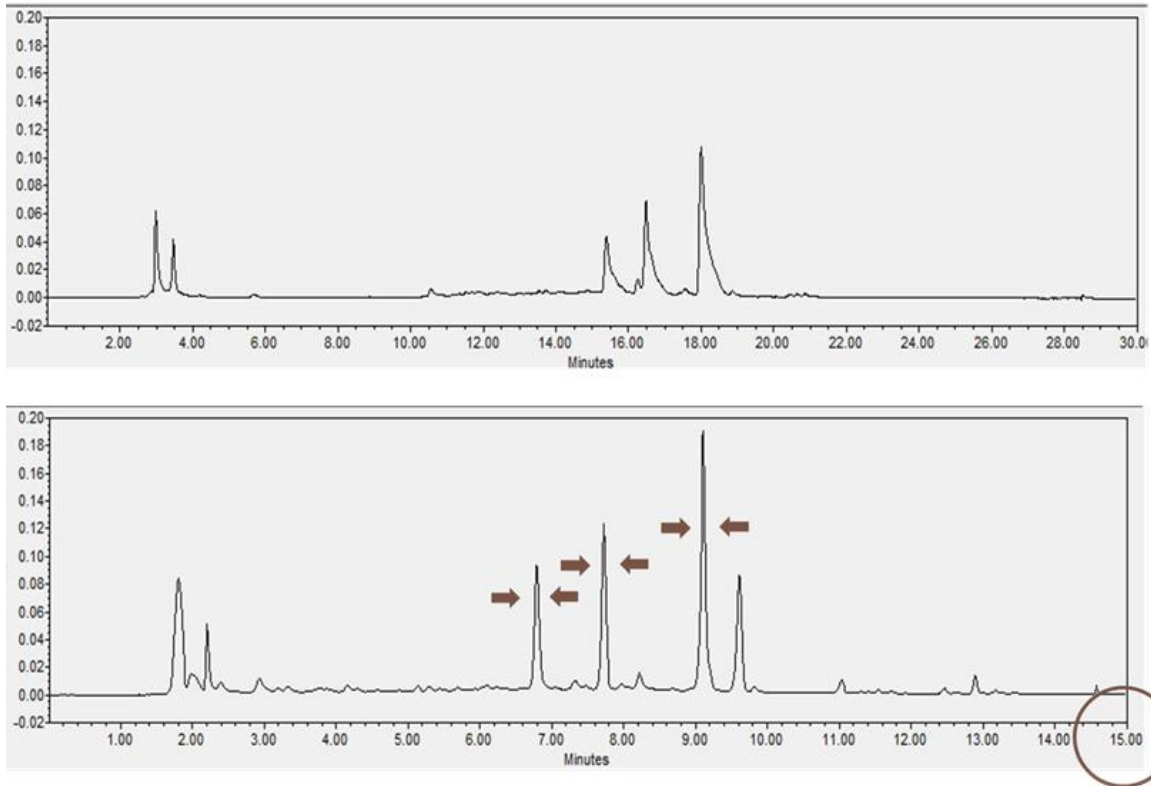


그림 8. 기존 HPLC 분석법의 크로마토그램(상단)과 개량된 분석법을 활용한 분석 크로마토그램(하단)

- 기존의 batatasin 계열 화합물의 HPLC 정량 분석법을 개량하여 정량의 정확성과 정밀성을 검증하고자 하였음. 기존에 알려진 방법보다 짧은 컬럼을 이용하여(150 mm 컬럼 사용) 분석 시간을 줄이고 각 성분의 peak들이 tailing이 적으며 peak간의 겹침이 없도록 이동상 조건을 최적화하여 그림 8.와 같이 개량하였음.
- 분석 조건은 아래 표3.와 같이 최적화 함. 기존의 방법론과 같이 UV 검출 파장은 261 nm를 사용하지만, 30분 소요되던 분석조건보다 분석 시간이 15분으로 단축되었으며 peak의 모양

과 분리능이 향상되었음. 해당조건에서 유효성분 1, 2, 3의 머무름시간은 각각 6.76, 7.69, 9.10 분으로 측정되었음.

표3. 유효성분 정량분석을 위한 HPLC 분석 조건

항목	조건
분석 기기	HPLC (Waters Alliance 2695, Waters Co., Milford, MA)
컬럼	Hector-M-C18 column (150×4.6 mm, 5µm, RS tech Corporation, Daejeon, Korea)
컬럼온도	40 °C
이동상 조건	(A) Acetonitrile and (B) 0.1% Trifluoroacetic acid in water; 0-10 min (20-80%, A), 10-12 min (100%, A), 12-15 min (20%, A).
이동상 유속	1 mL/min
검출기	Photodiode array detector (PDA) Waters 2996 (Waters Co. Milford, MA)
검출 파장	261 nm
시료주입량	10 µL
분석 시간	15 min

○ HPLC 정량분석법 유효성 검증 (선형성, 정밀성, 정확성)

· 선형성 검증 - 유효성분 1, 2, 3번 화합물을 기존에 마깝질에서 순수 분리 정제하여 수득한 후 세 시료의 농도가 100 µg/ml 이 되도록 표준용액을 제조하였음. 이후 20, 10, 5, 2.5, 1.25, 0.625의 농도로 희석하고 개발된 분석법으로 정량 분석을 실시하여 표준곡선을 그리고, 결과를 이용하여 상관계수, LOD (검출한계), LOQ (정량한계)를 산출하였으며 아래 표4.와 같음. 유효성분 1의 표준 곡선은 그림9. 과 같았으며 세 화합물 상관계수 R²이 0.99 이상의 AOAC의 분석법 개발 가이드라인 기준을 충족하였음.

표4. 유효성분 분석방법의 직선성 검증 자료

화합물	회귀 직선식	Range (µg/ml)	R ²	LOD (µg/ml)	LOQ (µg/ml)
유효성분 1	y = 87934x + 17518	0.625 - 20	0.9996	0.78	2.38
유효성분 2	y = 109235x + 19608	0.625 - 20	0.9995	0.82	2.49
유효성분 3	y = 135505x + 28552	0.625 - 20	0.9995	0.89	2.71

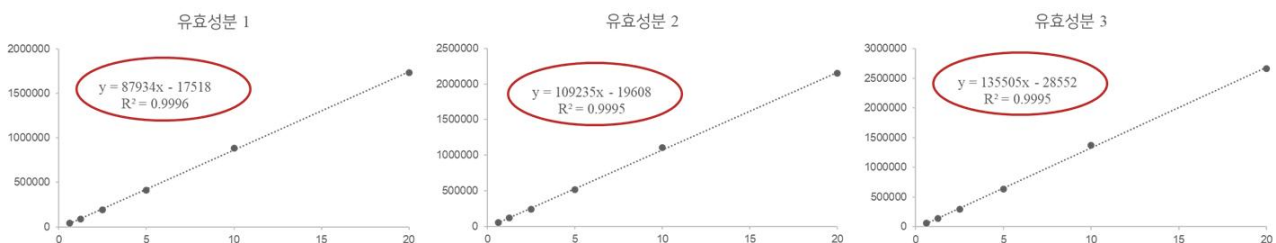


그림 9. 유효성분들의 직선성 검증을 위한 보정 곡선

· 정밀성 검증 - 정밀성 검증을 위해 intra-day precision 과 inter-day precision 시험을 진행함. 유효성분 1, 2번을 각각 10, 5, 2.5, 1.25 µg/ml의 4가지 농도로 희석하여 일내정밀성 (intra-day precision)을 하루 5반복, 일간정밀성(inter-day precision)은 5일간 1회씩 정량 분석을 진행함. 분석 결과를 이용하여 이론 농도와 실제 농도의 차이를 상대표준편차 (%RSD)로 나타냄(표5). AOAC의 분석법의 유효성 검증 기준은 10 ppm 농도에서 상대표

준편차(%RSD) 7.3 이하 또는 1 ppm 농도에서 11.3 이하를 권고하는데, 해당 분석법은 이 기준에 충족하는 정밀성이 충분한 분석법으로 판단함.

표5. 정량분석법의 일내, 일간 정밀성

시료	이론값	측정값	상대표준편차 (%, RSD)
유효성분 1	Intra-day (n=5)		
	1.25	1.18±0.02	1.55
	2.5	2.51±0.02	0.81
	5	5.11±0.02	0.47
	10	9.97±0.02	0.41
	Inter-day (n=5)		
	1.25	1.14±0.06	5.00
	2.5	2.48±0.05	1.88
	5	4.98±0.18	3.52
	10	9.85±0.16	1.66
유효성분 2	Intra-day (n=5)		
	1.25	1.18±0.02	1.31
	2.5	2.52±0.02	0.98
	5	5.09±0.04	0.75
	10	9.97±0.03	0.30
	Inter-day (n=5)		
	1.25	1.10±0.08	7.58
	2.5	2.46±0.09	3.54
	5	4.92±0.22	4.55
	10	9.77±0.23	2.39
유효성분 3	Intra-day (n=5)		
	1.25	1.20±0.01	0.89
	2.5	2.51±0.02	0.61
	5	5.09±0.03	0.57
	10	9.97±0.02	0.25
	Inter-day (n=5)		
	1.25	1.24±0.06	4.73
	2.5	2.64±0.15	5.58
	5	5.22±0.15	2.89
	10	10.31±0.44	4.23

- **정확성 검증**- 회수율 시험 (recovery test)을 통해 분석법의 정확성 검증을 실시함. 저농도의 참마겉질 95% 에탄올 추출물에 10, 5, 2.5 ppm의 스탠다드 혼합물을 내부 표준물질로서 스파이크하여 샘플을 제조하고 정량분석을 진행함. 이론 농도와 측정 농도를 계산하여 회수율 (recovery)을 이용하여 정확성을 검증함(표6). AOAC의 분석법의 유효성 검증 기준은 10 ppm 또는 1 ppm 농도에서 회수율 80-110%의 범위를 권고하는데, 해당 분석법은 이 기준에 충족하는 정확성이 충분한 분석법으로 판단함.

표6. 정량분석법의 회수율 측정을 통한 정확성 검증

시료	이론값	측정값	상대표준편차 (%, RSD)	회수율 (%)
유효성분 1				
Blank	0.37	0.37±0.00	0.98	
1.25	1.62	1.55±0.01	0.90	95.22±0.77
2.5	2.87	2.90±0.03	0.95	100.80±0.86
5	5.37	5.31±0.06	1.19	98.77±1.05
유효성분 2				
Blank	0.52	0.52±0.01	2.02	
1.25	1.77	1.68±0.01	0.46	95.07±0.40
2.5	3.02	3.03±0.04	1.25	100.34±1.13
5	5.52	5.44±0.06	1.18	98.60±1.04
유효성분 3				
Blank	0.75	0.75±0.02	2.11	
1.25	2.00	1.92±0.01	0.44	95.87±0.38
2.5	3.25	3.25±0.04	1.32	100.12±1.18
5	5.75	5.71±0.08	1.41	99.31±1.25

(2) 기능성 물질(allantoin) HPLC 정량 분석법 개발 및 유효성 검증

○ 연구 방법

- 항산화 및 보습 기능이 있어 유효성분 batatasin 계열 화합물과 상승효과가 기대되는 allantoin을 정량분석하는 HPLC 방법론을 개발하고 유효성을 검증하고자 하며, 추후 표준화된 원료의 정량에 활용
- 분석 표준품으로 표준물질로 사용한 allantoin은 Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA)에서 분석 기준물질 등급으로 구입하여 사용하였고, 직선성, 정밀도(일내, 일간 정밀도), 정확도, 회수율, 검출한계(LOD) 및 정량한계(LOQ)를 검증
- Allantoin 분석을 위해 사용되는 일반적인 방법은 HPLC를 이용하는 방법이지만, 인산칼륨 완충용액을 이동상으로 사용하는 방법을 많이 사용하여 염이 석출되거나 혼합방식에 따라 결과 값이 일정하지 않은 단점이 있음. 본 연구에서는 선행 연구들의 단점을 보완하여 완충용액의 사용 없이 HPLC를 이용하여 친수성 화합물 분리에 적합한 아민(amine) 결합 정지상 컬럼을 이용하여 마의 allantoin 의 정량분석법을 개발함.

○ 정량분석법 최적화

- 분석 조건은 아래 표7와 같이 최적화 함. 기존의 방법론과 같이 UV 검출 파장은 210 nm를 사용하였고, 기존의 방법과 달리 아미노(-NH₂)정지상 컬럼을 이용하였으며, 기존 분석법 대비 머무름시간(retention time)이 길며 이를 통해 다른 방해물질과의 분리능을 개선하고 정량분석의 수월성을 높임. 해당 분석 조건에서 allantoin의 머무름시간은 12.18분이었음.

표7. 유효성분 정량분석을 위한 HPLC 분석 조건

항목	조건
분석 기기	HPLC (Waters Alliance 2695, Waters Co., Milford, MA)
컬럼	Hector-M-Carbohydrate column (250×4.6 mm, 5µm, RS tech Corporation, Daejeon, Korea)
컬럼온도	40 °C
이동상 조건	(A) Acetonitrile and (B) Water; 95% (A) isocratic
이동상 유속	0.8 mL/min
검출기	Photodiode array detector (PDA) Waters 2996 (Waters Co. Milford, MA)
검출 파장	210 nm
시료주입량	10 µL
분석 시간	30 min

○ HPLC 정량분석법 유효성 검증 (선형성, 정밀성, 정확성)

- 선형성 검증 - Allation 기준 시약 10 mg을 칭량하여 HPLC용 water 1 mL에 녹여서 10 mg/mL 농도의 standard solution stock을 조제함. 이를 분석 조건 확립 및 유효성 검증 시험을 위해 연속적으로 시료를 희석하여 2, 1, 0.5, 0.25, 0.125, 0.0625 mg/mL 농도의 기준 시료를(400 µL) 제조하고 0.45 µm syringe filter (Advantec)로 여과하여 HPLC 분석에 사용함. 개발된 분석법으로 정량 분석을 실시하여 표준곡선을 그리고, 결과를 이용하여 상관 계수, LOD (검출한계), LOQ (정량한계)를 산출하였으며 아래 표8.와 같음. 유효성분 1의 표준 곡선은 그림10. 과 같았으며 세 화합물 상관계수 R²이 0.99 이상의 AOAC의 분석법 개발 가이드라인 기준을 충족하였음.

표8. Allantoin 정량분석 조건

화합물	Regression equation	Range (mg/ml)	R ²	LOD (mg/ml)	LOQ (mg/ml)
Allatoin	y = 9288217.052x - 41154.16252	0.0625 - 2	0.9999	0.0229	0.0229

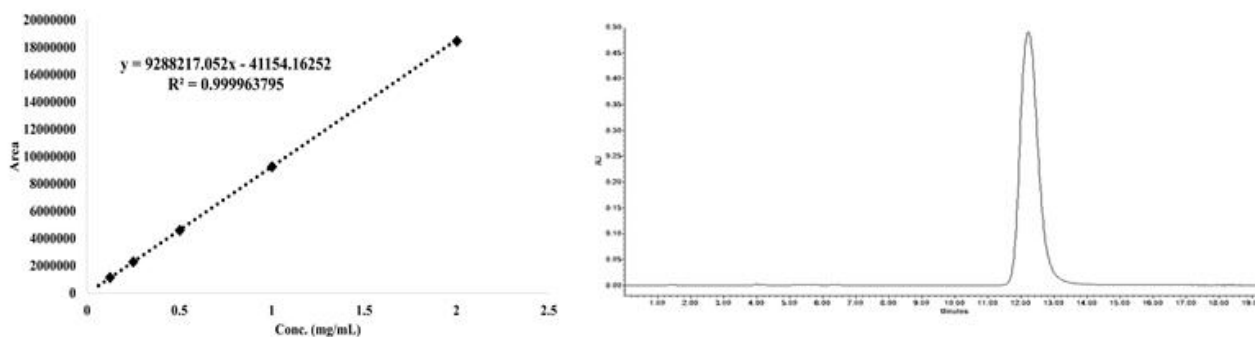


그림 10. Allantoin의 표준 정량 곡선과 HPLC 크로마토그램

- 정밀성 및 정확성 검증 - 정밀성 검증을 위해 intra-day precision 과 inter-day precision 시험을 진행함. Allantoin을 각각 2, 1, 0.5, 0.25, 0.125, 0.0625 mg/mL 농도로 희석하여 일내

정밀성(intra-day precision)을 하루 3반복, 정량분석을 진행함. 분석 결과를 이용하여 이론 농도와 실제 농도의 차이를 상대표준편차(RSD)로 나타냄(표9). 정확도는 96.0-99.5%로 나타났고, RSD는 0.52-2.50%로 나타나 식품의약품안전평가원의 가이드라인 기준치인 5% 이하를 만족하였음.

표9. Allantoin 정량분석법의 정확도 및 정밀도

시료	스파이크 농도 (mg/mL)	정확도 (%)	정밀도 (RSD%) ¹⁾
Allantoin	0.0625	96.0±1.18	1.47
	0.125	96.0±2.40	2.50
	0.25	96.0±0.95	0.99
	0.5	98.0±0.51	0.52
	1	98.0±0.56	0.57
	2	99.5±0.90	0.90

(3) 기능성 물질 함량 기준 원료 선별(마 품종)

○연구 방법

- 마는 덩이줄기 모양, 잎의 모양 등에 따라 장마, 단마, 둥근마, 부채마, 도꼬로마 등으로 분류되며 주로 11월 경 수확하여 저온창고에 연중 보관하여 유통함. 수확 시기별로 다른 시료를 구하기 어려우므로 품종별 껍질의 유효성분 함량을 측정하는 것으로 원료 표준화를 위한 분석을 수행하였음. 참마, 장마, 둥근마는 경북 안동시 북후면의 마 농장(태산농장)에서 재배하고 2020년 11월에 수확하고 4℃에서 보관해온 상품을 5월에 구입하여 사용하였고, 단풍마는 경남 남해지역에서 2021년 4월에 채취하여 4℃에서 보관해온 상품을 사용하였음. 건조된 마껍질 각 1 g씩을 과쇄하여 95% 에탄올을 이용하여 추출한 후, 농축하여 얻은 추출물을 대상으로 앞서 개발한 HPLC 정량분석법을 이용해 분석을 수행함.



그림 11. 품종에 따른 마의 형태

○ 분석 결과

표10. 품종별 마껍질의 유효성분 함량

마껍질 유효성분 (PHE 1, PHE 2, PHE 3) 함량 (µg/g, 원물 중량 기준)			
품종	유효성분 1	유효성분 2	유효성분 3
참마	77.35 ± 1.48	46.65 ± 1.14	97.19 ± 1.90
장마	107.92 ± 2.99	166.99 ± 5.24	419.73 ± 12.02
단풍마	173.69 ± 3.60	-	-
둥근마	9.79 ± 0.65	4.24 ± 0.12	-

- 분석결과는 표10.와 같으며, 장마의 유효성분 함량이 1, 2, 3번 물질 모두에서 높았으며, 원료 수급과 단가 측면에서 고려하여 추후 최종 결정할 계획임. 단풍마와 둥근마는 각각 수급의 수월성, 단가, 지표성분 함량 등을 고려하여 추후 제품화를 위한 원료 표준화에서 고려하지 않을 계획임.
- 원료공급을 위해 경북산림자원개발원과 협의하여 수급 수월성과 단가를 고려하여 표준화된 원료 품종을 선택하고자 함.

3) 마껍질 소재의 안전성 검증

(1) 중금속 검출 여부 확인

○ 개요

- 식품의약품안전처에서 고시한 화장품 안전기준 등에 관한 규정의 제 4장 유통화장품 안전관리 기준의 제 6조(유통화장품의 안전관리 기준)에 따르면, 화장품을 제조하면서 의도하지 않은 중금속들에 대하여 다음 기준 이하의 기준을 제시하고 있음.
 - 납(Pb) : 점토를 원료로 사용한 분말제품은 50µg/g이하, 그 밖의 제품은 20µg/g이하
 - 비소(As): 10µg/g이하
 - 카드뮴(Cd): 5µg/g이하
 - 수은(Hg): 1µg/g이하
- 이 외에 니켈, 안티몬, 디옥산, 메탄올, 포름알데히드, 프탈레이트류 등에 관한 기준도 있으며, 본 연구에서는 마껍질 원물에 중금속이 존재 하는지 여부, 정량 등을 수행하여 안전성 지표로 활용하고자 하였음

○ 연구방법

- 시료로는 참마를 수세하고 탈피하여 얻은 껍질을 65°C조건에서 열풍건조한 시료를 파쇄하여 측정함.
- 납 / 카드뮴 / 비소 : 식품의 기준 및 규격 제 8.일반시험법 9.식품 중 유해물질시험법 9.1.2 납(Pb) /9.1.3 카드뮴(Cd)/ 9.1.4 비소(As) 가. 시험용액의 조제 1) 습식분해법 나) 마이크로웨이브법에 따라 시험용액을 조제하고 ICP-MS로 정량함. 시료 일정량(0.1~0.5 g)을 Microwave digestion system에 넣고 질산 등으로 처리하여 분해하고, 최소량으로 휘산-농축한 후 메스플라스크 등에 옮겨 일정량으로 하여 시험용액으로 함. 이 시험용액을 ICPMS(NexION 300D, PerkinElmer, Shelton, CT, USA)로 납, 카드뮴 및 비소 함량을 각각 측정하고, 이때 각각의 표준용액으로 얻은 검량선을 이용하여 정량함.
- 수은 : 식품의 기준 및 규격 제 8.일반시험법 9. 식품 중 유해물질 9.1 중금속 9.1.6 수은에 따라 수은자동분석기로 정량함. 규질화한 검체 30mg을 준비하여 샘플 도가니에 넣고 전용

시약인 MHT 및 BHT 시약을 번갈아 넣어준 다음, 수은자동분석기 MA-3000(Nippon Instruments Corporation, Tokyo, Japan)로 분석함.

○ 측정 결과

- 분석 결과 건조 참마 껍질에서 중금속의 수치는 매우 낮은 함량을 보여서 원료 자체가 완제품에서 중금속의 위험성을 높일 위험성은 없는 것으로 판단할 수 있으므로 중금속 함량의 저감을 위한 별도의 공정 관리방법을 표준화 과정에 필요하지 않을 것으로 판단함. 토양과 접촉하는 껍질 부분을 활용하므로 주요 유해 중금속의 함량을 측정하여 원료 안전성을 입증하고자 하였으며 주요 중금속의 함량이 다른 원료들과 희석됨을 고려하면 매우 미미한 수준으로 안전성이 높은 원료로 판단함.

표11. 마 껍질 원물의 중금속 위해요소 분석 결과

시험항목	결과	식약처 기준(완제품)
납(Pb)	0.191 µg/g	20 µg/g
카드뮴(Cd)	0.056 µg/g	5 µg/g
수은(Hg)	0.003 µg/g	1 µg/g
비소(As)	0.181 µg/g	10 µg/g

(2) 미생물 위험인자 분석

○ 개요

- 마껍질 원물은 화장품 완제품은 아니지만 잠재적인 완성 제품 제조 시 잠재적 미생물 오염원이 될 수 있으며, 특히 원물이 식물의 지하부이므로 토양 미생물이 원물에 잔류할 가능성이 있음. 추후 사용자에게 감염 문제를 일으킬 수 있는 포도상구균과 대장균이 없는지도 검증할 필요성이 있음.

○ 연구방법

- 시료로는 참마를 수세하고 탈피하여 얻은 껍질을 65°C조건에서 열풍건조한 시료를 과쇄하여 측정함.
- 일반세균 수 :식품기준 및 규격 제8. 일반시험법 4. 미생물시험법 4.5 세균수 4.5.1 일반세균수 가. 표준 평판법에 따라 시험함. 균일하게 혼합한 시료 25 g에 멸균생리식염수를 225 mL를 가해서 균질화한 후 10배 희석법으로 단계별로 희석하여 plate count agar 배지에 접종하여 37°C에서 48시간 배양한 후 발생한 집락수를 측정함.
- 대장균: 식품기준 및 규격 제8. 일반시험법 4. 미생물시험법 4.8 대장균 4.8.1 정성시험 가. 한도시험에 따라 시험함. 채취된 검체의 일정량(25 g)을 균질화하고 여기에 멸균생리식염수를 225mL가해서 일정량으로 한 다음, 이 시험용액 1mL를 EC 배지 10mL씩 3개에 가하여 44±1°C에서 24시간 배양 후 확인함.
- 황색포도상구균: 식품기준 및 규격 제8. 일반시험법 4. 미생물시험법 4.12 황색포도상구균 4.12.1 정성 시험법에 따라 시험함. 균질화한 검체 25g을 취하여 9배의 10% NaCl 첨가한 Tryptic Soy Broth에 가한 후 35°C에서 24시간 증균 배양한 다음, 이 증균배양액을 난황침가 만니톨 식염한천배지 또는 Baird-Parker 한천평판배지에 접종하여 35°C에서 24시간 배양하여 분리된 균을 확인함.
- 진균 수: 식품기준 및 규격 제8. 일반시험법 4. 미생물시험법 4.10 진균수(효모 및 사상균수)

에 따라 시험함. 채취된 검체의 일정량(25 g)을 균질화하고 여기에 멸균생리식염수를 225 mL를 가해서 일정량으로 한 시험용액과 각 단계 희석액 1 mL씩을 멸균 페트리접시 2 개 이상씩에서 무균적으로 취하고 포테이토 텍스트로오즈 한천배지를 분주하여 냉각 응고시킨 뒤 중첩하여 25°C에서 5~7일 배양한 후 발생한 집락수를 측정함

○ **측정결과**

- 인체 감염 위험 요소가 될 수 있는 대장균과 황색포도상구균은 검출되지 않아 큰 위해 요소가 있는 소재는 아닌 것으로 판단되나, 진균수, 일반 세균수에서는 어느 정도의 숫자가 검출되었음. 일반적으로 에탄올을 이용한 추출을 진행할 경우 세균수가 문제가 될 수 있는 않을 것으로 판단하며, 최종 제품에서의 미생물 지표들을 2년차에 점검할 계획임. 녹농균은 원물 단계에서 검사하지 않고 최종제품에서 관찰되는지 여부로 위험도를 판단하고자 함.

표12. 마깍질의 미생물 위해요소 분석 결과

시험항목	결과
대장균	음성
황색포도상구균	음성
진균수	50 /g
일반세균수	8700 /g

(3) 옥살산 검출 여부 확인

○ **개요**

- 마깍질에 피부의 약한 부위가 접촉할 때 간혹 사람에게 따라 가려움증을 일으키는 경우가 있는데 옥살산칼슘(Calcium oxalate) 성분이 이러한 반응을 일으키는 것으로 알려짐. 총 옥살레이트 분석을 통해 민감성 피부에 바를 시 생길 수 있는 위해 요소를 예상하고 차단하고자 하였음.

○ **연구방법**

- 참마를 흐르는 물에 충분히 씻은 후 껍질을 벗겨내고 증류수에 3시간 동안 침지시킨 후 65°C 조건에서 열풍건조한 시료를 파쇄하여 측정함. 시료 1 g에 2 N HCl 20 mL을 가하고 균질기로 16,000 rpm에서 1분간 균질화 시킴. 2 N HCl 10 mL을 사용하여 균질기에 남아 있는 시료를 깨끗이 씻어 준 다음 여액을 합하여 80°C에서 shaking water bath를 이용하여 100 rpm에서 15분간 교반함. 교반된 시료를 냉각시켜 Whatman filter paper (8 µm, No. 2, Whatman, Maidstone, UK)로 여과 한 후 100 mL 메스플라스크에 옮기고, 2 N HCl을 사용하여 100 mL로 정용하여 분석시료를 제조함. 분석시료는 0.45 µm membrane filter(Sartorius AG, Göttingen, Germany)로 여과하고 증류수로 10배 희석한 후 HPLC를 이용하여 총옥살레이트 함량을 분석함. 칼럼은 aminex HPX-87H ion exclusion column(300 mm×7.8 mm i.d., Bio-Rad, Hercules, CA, USA)과 micro-Guard Cation H cartridge(30 mm×4.6 mm, Bio-Rad)를 사용하였고, 이동상은 0.008 N sulphuric 용액을 0.6 mL/min의 유속으로 흘리고 20 µL 분석시료를 주입하여 분석함.

○ **측정결과**

- 본 연구에서 수행한 측정을 통해서도 마깍질 시료로부터 옥살레이트가 검출되지 않았음. 추

후 제품을 활용한 인체적용 시험 시, 가려움증이나 발진과 같은 이상 반응은 없는지 면밀히 검토하고자 함.

4) 마깍질 활용 가능성 향장 소재의 제조법 표준화

(1) 추출법 개발 및 표준화

○ 개요

- 전년도에 원료에 대한 표준화를 진행하고, 시료에 포함된 기능성분(PHE 1, PHE 2, PHE 3)의 분석법을 최적화하였음. 최적 추출법 개발을 위해 전년도에 개발한 페난트렌(PHE 1, PHE 2, PHE 3) 분석법을 사용하였으며 분석 조건은 아래와 같으며(표13), 모든 추출물의 수율 평가에 이 방법을 사용하여 기능성분 3종의 분석을 진행하였음. 모든 정량분석은 같은 시료를 3반복 측정하여 평균값과 표준편차를 구하였음.

표13. 유효성분 정량분석을 위한 HPLC 분석 조건

항목	조건
분석 기기	HPLC (Waters Alliance 2695, Waters Co., Milford, MA)
컬럼	Hector-M-C18 column (150×4.6 mm, 5µm, RS tech Corporation, Daejeon, Korea)
컬럼온도	40 °C
이동상 조건	(A) Acetonitrile and (B) 0.1% Trifluoroacetic acid in water; 0-10 min (20-80%, A), 10-12 min (100%, A), 12-15 min (20%, A).
이동상 유속	1 mL/min
검출기	Photodiode array detector (PDA) Waters 2996 (Waters Co. Milford, MA)
검출 파장	261 nm
시료주입량	10 µL
분석 시간	15 min

- 추출법은 추출 공정 이전의 전처리(스팀 열처리, 효소 처리 등), 추출 용매(EtOH 비율), 추출 방법(초음파 추출 여부, 용매 비율, 추출 온도 등)에 관하여 연구를 수행하였음(그림 12).

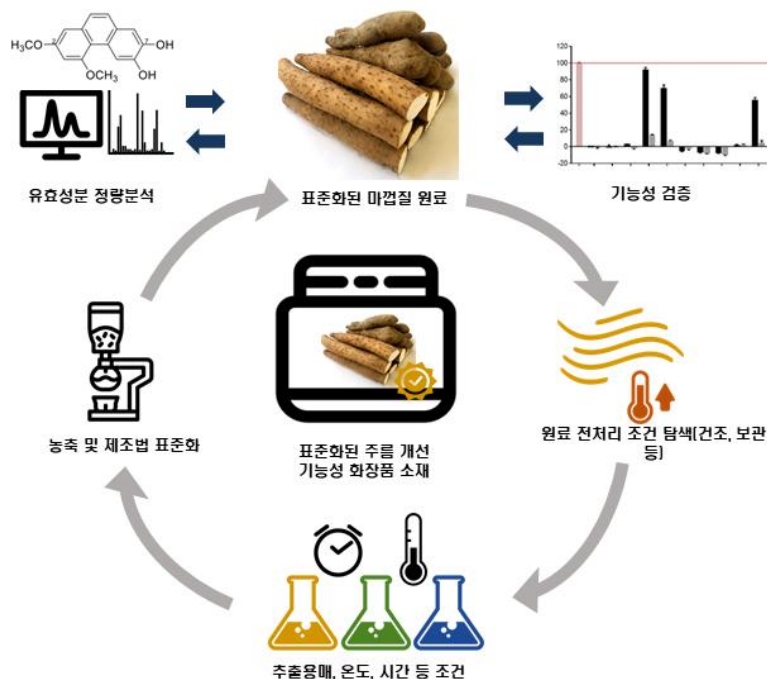


그림 12. 추출법 최적화 연구의 개요

- 추출법은 단위 시료당 추출되는 추출물의 양, 추출물에 포함된 기능성분 3종의 함량을 측정 하였음. 추출 효율의 평가는 조추출물의 절대량으로 평가하지 않고 추출물에 함유된 기능성분의 양과 조추출물의 양으로부터 마겍질 원물 1 g 당 추출된 기능성분 3종의 절대량을 추산하여 수행하였음.
- 일부 추출 공정은 주관기관에서 실제 공정에서 생산단가, 공정 최적화의 어려움, 시설 한계 등의 이유로 협의 하에 공동기관(경북대)에서도 시험 추출에 적용하지 않거나, 시험한 내용을 시제품 생산 공정 개발에 적용하지 않았음.

○ 추출 용매별 유효성분 (PHE 1, PHE 2, PHE 3) 추출 효율 확인

- 본 과제를 통해 도출하고자 하는 소재는 화장품에 활용할 예정이므로 안전기준, 소비자들의 선호도 등의 이유로 주관기관의 의견을 청취하여 EtOH 이외의 다른 용매들(EtOAc, MeOH, hexane, acetone 등)은 배제하였으며 EtOH과 물의 비율만을 고려하여 연구를 수행하였음.
- 건조된 마겍질 4개의 플라스크에 각각 10 g 시료를 파쇄하여 넣은 후 30%, 50%, 70%, 95% EtOH 각 400 ml을 이용하여 추출을 진행함. 상온(25℃)에서 2시간 동안 sonicator에 넣고 추출을 수행하였으며 회전증발농축기를 이용하여 농축 후 동결건조하여 수분을 완전히 제거하여 무게 및 추출 수율 확인함. 각각 MeOH에 10 mg/ml이 되도록 용해시킨 뒤 필터하여 HPLC를 이용한 정량분석을 진행하였음. 각 용매조건에서 수득한 조추출물의 양과 수율은 표14와 같으며 정량분석을 통해 각 용매 조건에서 기대되는 원물 1 g 당 유효성분의 함량은 표15와 같음.

표14. 각 용매 조건에서 수득한 마겍질 10g 당 추출물의 양과 수율

마 겍질 Ethanol extract yield				
	EtOH30%	EtOH 50%	EtOH 70%	EtOH 95%
Mass (g)	2.2 g	1.9 g	1.32 g	0.77 g
Yield (w/w, %)	22 %	19 %	13.2 %	7.7 %

표15. 마겍질 원물 1g 당 기대되는 유효성분의 추출량

마겍질 원물 1g당 유효성분 (PHE 1, PHE 2, PHE 3) 함량 (µg)			
Samples	PHE 1	PHE 2	PHE 3
EtOH 30%	2.49 ± 0.04	11.03 ± 0.02	21.96 ± 0.09
EtOH 50%	36.33 ± 0.37	49.18 ± 0.39	80.03 ± 0.06
EtOH 70%	25.27 ± 0.17	28.85 ± 0.35	41.72 ± 0.18
EtOH 95%	69.77 ± 0.04	91.04 ± 0.12	130.68 ± 0.04

- 위 결과로부터 EtOH의 함량이 낮을수록, 즉 용매에서 물의 비율이 높을수록 조추출량은 높으나 원물 1 g에서 얻을 수 있는 기능성분의 양이 줄어드는 양상을 확인하였음. EtOH 50% 조건과 70% 조건에서 추출된 추출물에서는 유효성분의 비율 자체는 큰 차이가 없었으나, 조추출물의 양의 차이가 있었고 이에 따라 50% 조건에서 더 많은 양의 유효성분이 추출됨을

확인하였음. 본 과제를 통해 개선하고자 하는 추출물의 형태가 절대량이 많은 것을 요구하는 것이 아니라 절대량은 적더라도 추출되는 기능성분의 절대량이 중요하므로 EtOH의 함량을 높이는 방향이 가장 중요하므로 EtOH 95% 용매를 추출에 활용하는 것이 적절할 것으로 판단하였음.

○ 추출 방법별 유효성분 (PHE 1, PHE 2, PHE 3) 추출 효율 확인

- 건조된 마깍질 1 g을 파쇄하여 원물대비 추출 용매의 비율, 추출 온도, 소니케이션 여부의 세가지 조건을 이용해 추출 효율을 비교하였음. 추출 온도는 70℃와 상온(25℃), 추출 용매의 비율은 원물 대비 1 : 20, 1 : 40 두 조건으로 진행하였으며, 추출용매는 앞서 도출한 결과대로 95% EtOH를 활용하였고 원물 시료는 참마를 이용함. 각 조건에 따라 회전증발농축기를 이용하여 농축 후 동결건조하여 수분과 용매를 완전히 제거한 후 무게 및 추출 수율 확인하였으며, 각각 시료에 MeOH로 추출물 기준 10 mg/ml이 되도록 용해시킨 뒤 필터하여 정량 분석 진행한 후 정량 분석 결과를 역산하여 마깍질 원물 1 g 당 유효성분의 함량을 추산하였으며 그 결과는 아래 표16와 같음.

표16. 추출 방법에 따른 마깍질 원물 1g 추출되는 유효성분의 함량

마깍질 원물 1g당 유효성분 (PHE 1, PHE 2, PHE 3) 함량 (µg)					
추출 온도	용매:시료 비율(v/w)	Sonication 여부	PHE 1	PHE 2	PHE 3
상온	20:1	X	55.89 ± 0.05	42.87 ± 0.06	58.37 ± 0.05
상온	40:1	X	72.19 ± 0.06	55.37 ± 0.08	75.39 ± 0.06
상온	20:1	O	74.95 ± 0.37	71.55 ± 0.35	107.04 ± 0.57
상온	40:1	O	81.95 ± 0.16	83.59 ± 0.06	126.99 ± 0.15
70℃	20:1	X	99.34 ± 0.18	131.00 ± 0.10	184.32 ± 0.24
70℃	40:1	X	61.03 ± 0.20	73.82 ± 0.17	107.05 ± 0.24
70℃	20:1	O	70.77 ± 0.10	73.75 ± 0.04	105.41 ± 0.06
70℃	40:1	O	42.00 ± 0.46	43.17 ± 0.04	65.45 ± 0.10

- 위 결과로부터 높은 온도(70℃)에서 용매의 비율은 원물대비 20배(질량 대비 부피, 1 g 원물 당 20 ml 용매 사용) 초음파처리를 하지 않은 시료에서 유효성분 추출량이 가장 높은 것으로 추산되었음. 이를 기반으로 추출 공정을 만드는 것을 가이드라인으로 활용하고자 하였음. 이는 그림 13와 같이 표현될 수 있음.

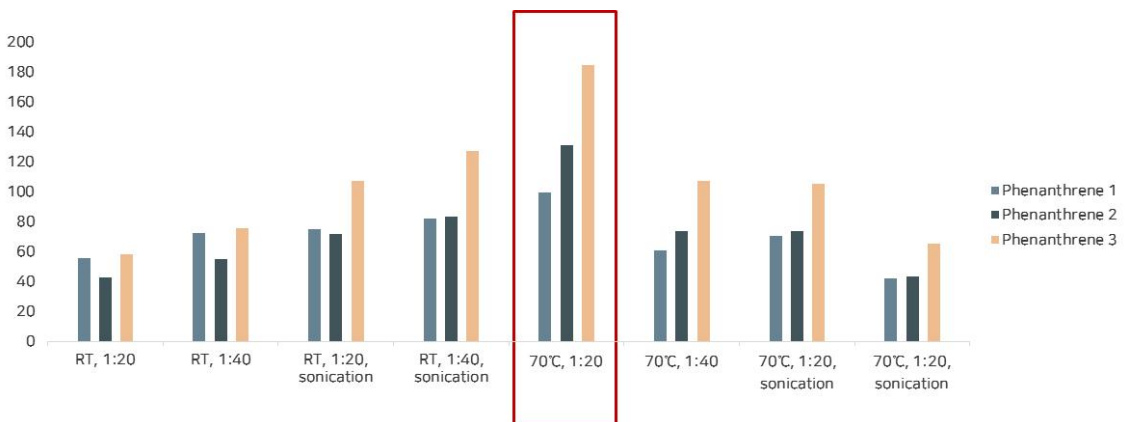


그림 13. 추출 방법에 따른 마깍질 원물 1g 추출되는 유효성분의 함량

○ 추출 효율 개선을 위한 전처리법 연구(스팀 열처리, 효소처리)

- 마깍질은 섬유질 함량이 높은 식물세포 조직이므로 단단한 섬유질 조직을 연화시킨 후 추출할 때 유효성분 함량이 더 높은 추출물을 수득하는 것을 기대할 수 있으므로 조직을 연화시키는 측면에서 autoclave로 스팀 열처리를 한 후 추출 효율의 개선을 확인하거나, 식품이나 바이오소재 대량 생산 공정에서 사용 가능하고 비교적 사용조건이 까다롭지 않은 가수분해 효소 4종(Viscozyme®, AMG, Fungamyl®,VinoTaste®)을 이용하여 전처리한 후 추출을 시도하였음.
- 참마깍질을 autoclave를 이용해서 고온으로 스팀 열처리(121℃, 30분 처리)를 한 뒤 열풍건조로 건조함. 열처리 후 건조된 참마 깍질 1 g을 20 ml 95% 에탄올과 70℃ 조건에서 환류 추출을 진행함. 이후 회전증발농축기를 이용하여 농축 후 동결건조하여 무게 및 추출 수율 확인하였으며 각각 시료에 MeOH로 추출물 기준 10 mg/ml이 되도록 용해시킨 뒤 필터하여 정량분석 진행한 후 정량 분석 결과를 역산하여 마깍질 원물 1 g 당 유효성분의 함량을 추산하였고 스팀 처리하지 않은 시료 대비 유효성분 3종의 함량을 상대적으로 비교하였음.

표17. 스팀 가열처리한 마깍질의 유효성분 추출 개선 효과

스팀 열처리 마깍질의 유효성분 (PHE 1, PHE 2, PHE 3) 함량 개선 효과		
PHE 1	PHE 2	PHE 3
23.7 %	89.8 %	108 %

- 표17에서 보듯, 참마깍질을 스팀 열처리를 수행하면 3종의 유효성분 모두 추출 효율이 개선되는 효과가 있었으므로 스팀 열처리가 가능하다면 공정에 적용하는 것이 필요할 것으로 사료됨. 이는 식물 세포 조직이 스팀 열처리에 의해 연화되어 상대적으로 용매가 조직에 침투하는 효과가 높아지는 것으로 추정하며, 각 물질별 추출 효율이 다르게 증가하는 것은 열처리 과정에서 다소간 물질의 손실이 있기도 하며 물질별로 다른 내열성의 차이에서 기인하는 것으로 추정함.
- 65℃에서 열풍건조하고 분쇄한 참마와 장마 10 g 시료에 각각 Viscozyme, AMG, Fungamyl, Vinotaste 4종의 효소로 가수분해 반응을 수행하여 마깍질 섬유질의 분해 내지 연화를 유도하였음. 버퍼로는 sodium acetate 버퍼 (pH 5) 100 ml 의 조건에서 반응을 진행하였으며, 95℃ 조건에서 10분 열처리 후 50도 까지 식혀준 뒤 효소 반응을 수행하였음. 50℃에서 2시간동안 반응한 뒤, 90℃로 온도를 올려서 효소를 비활성화 시켜 반응을 종결하였음. 동일한 버퍼에서 효소를 넣지 않고 똑같은 열처리를 수행한 대조군을 추가하였음. 동결건조를 진행한 후, 참마 깍질 1 g을 20 ml 95% EtOH 및 70℃ 추출 온도 조건에서 환류 추출을 진행함. 회전증발농축기를 이용하여 농축 후 동결건조하여 수분과 용매를 완전히 제거한 후 무게 및 추출 수율 확인하였으며, 각각 시료에 MeOH로 추출물 기준 10 mg/ml이 되도록 용해시킨 뒤 필터하여 정량분석 진행한 후 정량 분석 결과를 역산하여 마깍질 원물 1 g 당 유효성분의 함량을 추산하였으며 그 결과는 아래 표18와 같음.

표18. 효소처리에 따른 마깍질의 유효성분 추출 효율

마깍질 원물 1g당 유효성분 함량 (µg)				
시료	효소	PHE 1	PHE 2	PHE 3
참마	미처리	63.16 ± 0.11	88.03 ± 0.87	158.56 ± 0.67
	Viscozyme®	33.28 ± 0.49	51.48 ± 0.07	77.86 ± 1.61
	AMG	50.45 ± 0.11	85.65 ± 0.93	144.57 ± 0.46
	Fungamyl®	40.20 ± 0.09	77.21 ± 0.10	124.30 ± 2.09
	VinoTaste®	23.42 ± 0.49	43.31 ± 0.09	75.29 ± 0.96
장마	미처리	24.90 ± 0.05	72.20 ± 0.45	250.38 ± 0.05
	Viscozyme®	24.37 ± 1.46	64.84 ± 0.20	226.92 ± 1.06
	AMG	34.19 ± 1.30	89.94 ± 0.84	291.26 ± 1.34
	Fungamyl®	22.17 ± 0.91	54.83 ± 0.48	215.88 ± 1.41
	VinoTaste®	29.04 ± 0.19	78.90 ± 0.72	250.56 ± 0.14

- 세포조직의 섬유질을 가수분해하여 추출 용매가 더 쉽게 침투하고 추출효율이 높아질 것으로 기대한 것과 달리 추출효율의 증대는 미미하거나 오히려 떨어지는 현상을 보여서 이를 대량생산 공정에 적용하는 것은 불가능할 것으로 판단하였음.

○ 최적화된 추출법

- 최적 추출법 탐색을 위한 실험실 스케일의 연구에서는 다음과 같은 조건에서 가장 높은 효율의 유효성분 추출이 가능한 것으로 결정되었으며, 이를 토대로 주관기관에서 생산설비를 이용한 추출법 개량 연구를 수행하였고 공동기관(경북대)에서 유효성분 분석을 지원하였음.
- 참마 혹은 장마를 121°C에서 20분간 스팀 가열한 뒤 건조 및 파쇄하고 1 g 원물 당 20 ml 수준의 95% EtOH용매를 사용하여 70°C에서 환류추출을 진행했을 때 가장 좋은 추출 효율을 보임

5) 마 깍질 추출물 및 유효성분의 항 노화 기능성 평가

○ 세포독성평가

- 마깍질 추출물 및 유효성분의 항 노화 기능성을 평가하기 전, 샘플을 피부 각질세포와 피부 진피세포에 각각 처리 후 세포 생존률에 미치는 영향을 MTT assay 방법으로 분석하였음 [그림 14 및 그림 15].

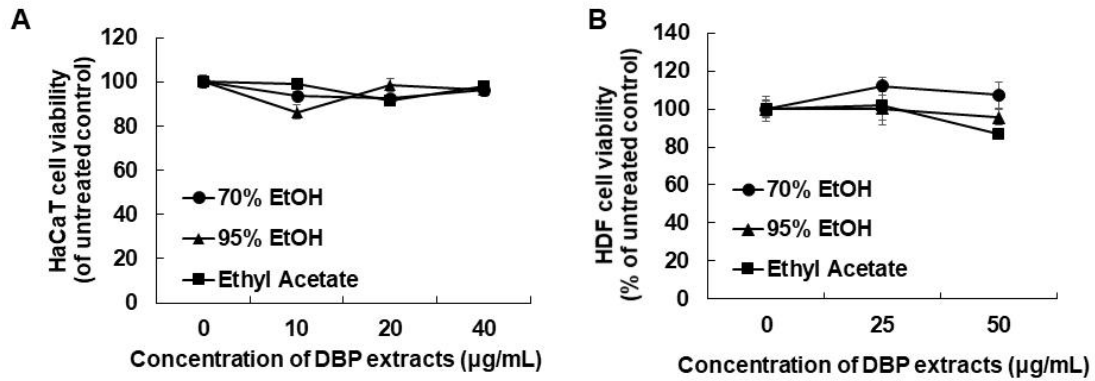


그림 14. 마갑질 추출물의 각질세포(A) 및 진피세포(B)에 미치는 독성 평가

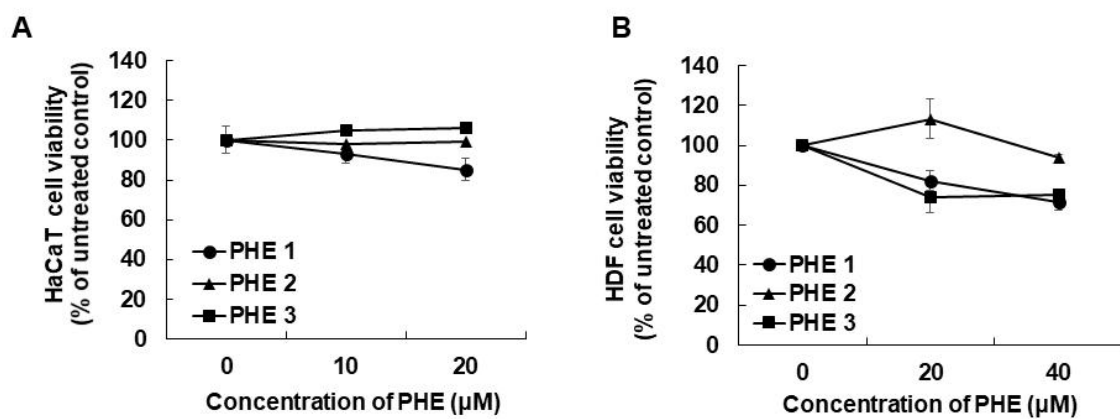


그림 15. 마갑질 유효성분의 각질세포(A) 및 진피세포(B)에 미치는 독성 평가

○ 자외선 세포 독성에 대한 방어 효과 평가

- 자외선 조사 시 생성되는 ROS에 의해 유발되는 피부세포 독성 보호 효과를 피부각질세포에서 MTT assay 방법으로 분석하였음. 마갑질 추출물 및 유효성분은 농도가 증가함에 따라 자외선으로 인해 감소한 세포 생존률을 증가시켰음 [그림 16].

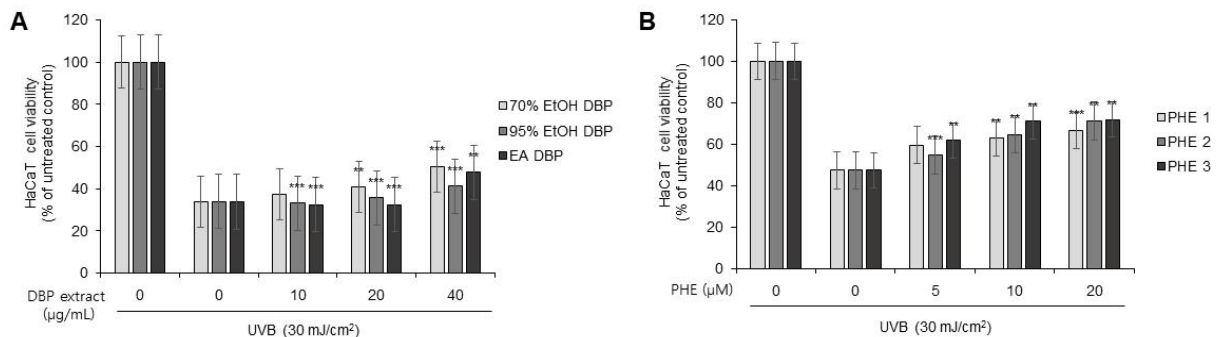


그림 16. 마갑질 추출물(A) 및 유효성분(B)의 자외선으로 인한 세포 독성 방어 효과

○ 시험관내 분석법에 의한 항산화 효과 평가

- 추출물 및 유효성분의 자유라디칼(free radical) 소거능을 확인하기 위해 ABTS 라디칼 소거능과 DPPH 라디칼 소거능을 평가함. 각 추출물의 농도와 상응하는 자유 라디칼 소거능을 비타민 C 등가 항산화능(VCEAC)과 비교함. 마갑질 95% 에탄올 용매 추출물(95% EtOH

DBP)과 마깍질 에틸 아세테이트 용매 분획물(EA DBP)의 ABTS 라디칼 소거능과 DPPH 라디칼 소거능을 각각 평가한 결과, 모두 농도가 증가함에 따라 비타민 C 등가 항산화능이 증가함을 확인하였음 [그림 17]. ABTS 라디칼 소거능 실험에서 마깍질 추출물은 10 $\mu\text{g/mL}$ 과 20 $\mu\text{g/mL}$ 농도에서 모두 비타민C 농도 1 $\mu\text{g/mL}$ 과 상응하는 활성을 보여주었음. 또한 DPPH 라디칼 소거능 실험에서 마깍질 95% 에탄올 용매 추출물(95% EtOH DBP)은 20 $\mu\text{g/mL}$ 농도에서 비타민C 1 $\mu\text{g/mL}$ 의 농도와 상응하는 활성을 보여주었음. 선행문헌에 따르면, 이는 클로로겐산(Chlorogenic acid)과 유사한 활성임(*J. Agric. Food Chem.* 2002, 50, 3713-3717).

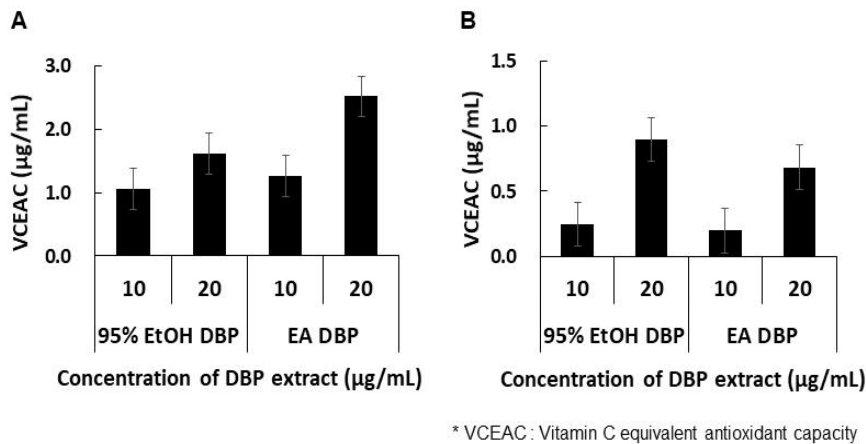


그림 17. 마깍질 추출물의 ABTS radical 소거능(A)과 DPPH radical 소거능(B)

- 마깍질 유효성분 세가지(PHE 1, PHE 2, PHE 3)의 ABTS 라디칼 소거능과 DPPH 라디칼 소거능을 각각 평가한 결과, 유효성분1 > 유효성분2 > 유효성분 3 의 순서대로 비타민 C 등가 항산화능이 높음을 확인하였음[그림 18]. 이들 유효성분들은 카테킨(Catechin) 과 유사한 활성을 보여주었으며, 마깍질 추출물의 활성과 상응하는 클로로겐산(Chlorogenic acid)보다 높은 활성임(*J. Agric. Food Chem.* 2002, 50, 3713-3717).

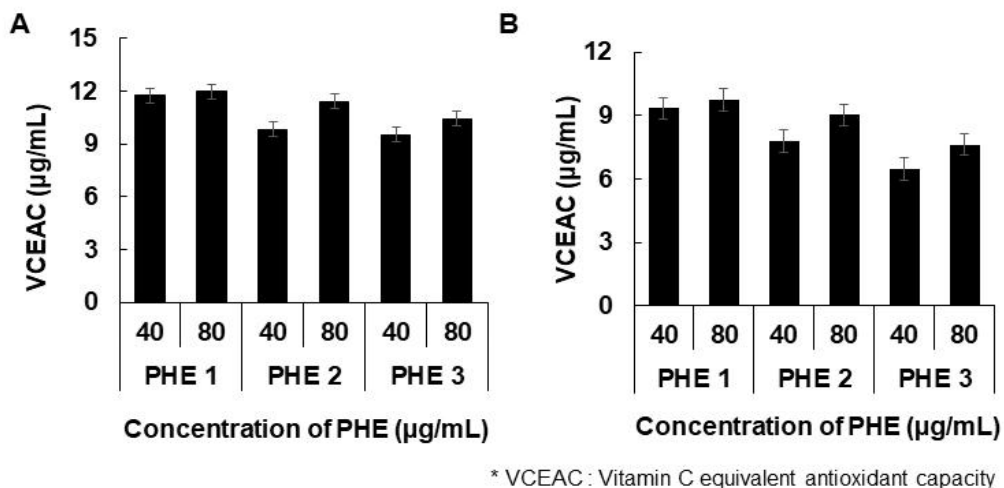


그림 18. 마깍질 유효성분의 ABTS radical 소거능(A)과 DPPH radical 소거능(B)

○ 피부 세포 내 흡수율 평가(시험법 변경)

- 마 깍질 유효성분의 표피투과도를 측정하기 위해 형광물질(FITC)을 유효성분과 결합시켜 진피 흡수율을 측정할 예정이었으나 유효성분 구조가 형광 물질과의 결합이 어려운 점, 형광 결합 의뢰 업체 선정의 어려움 등으로 인해 변경된 시험법으로 흡수율을 평가하였음.

진피 세포를 배양하여 유효성분을 8ppm 농도로 처리하였고, 1시간 경과 후 세포용해물과 배지를 수거하여 HPLC (High-performance liquid chromatography)를 사용하여 분석하였음. 10ppm의 표준물질과 비교하였을 때[그림 19], 유효성분이 검출되지 않은 배지(culture media)와는 반대로 세포용해물(cell lysate)에서 유효성분 세가지(PHE 1, PHE 2, PHE 3)가 모두 검출됨을 확인하였음[그림 20].

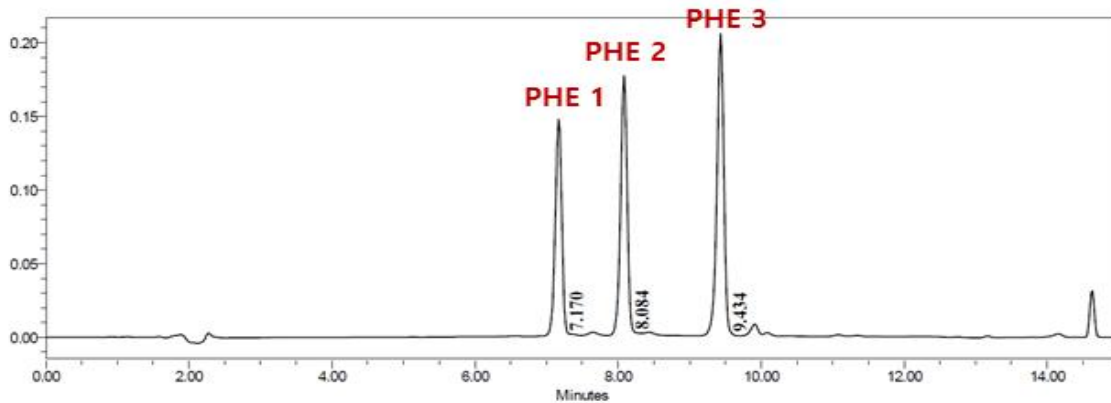


그림 19. 마갑질 유효성분의 표준물질(standard)의 피크와 머무름 시간

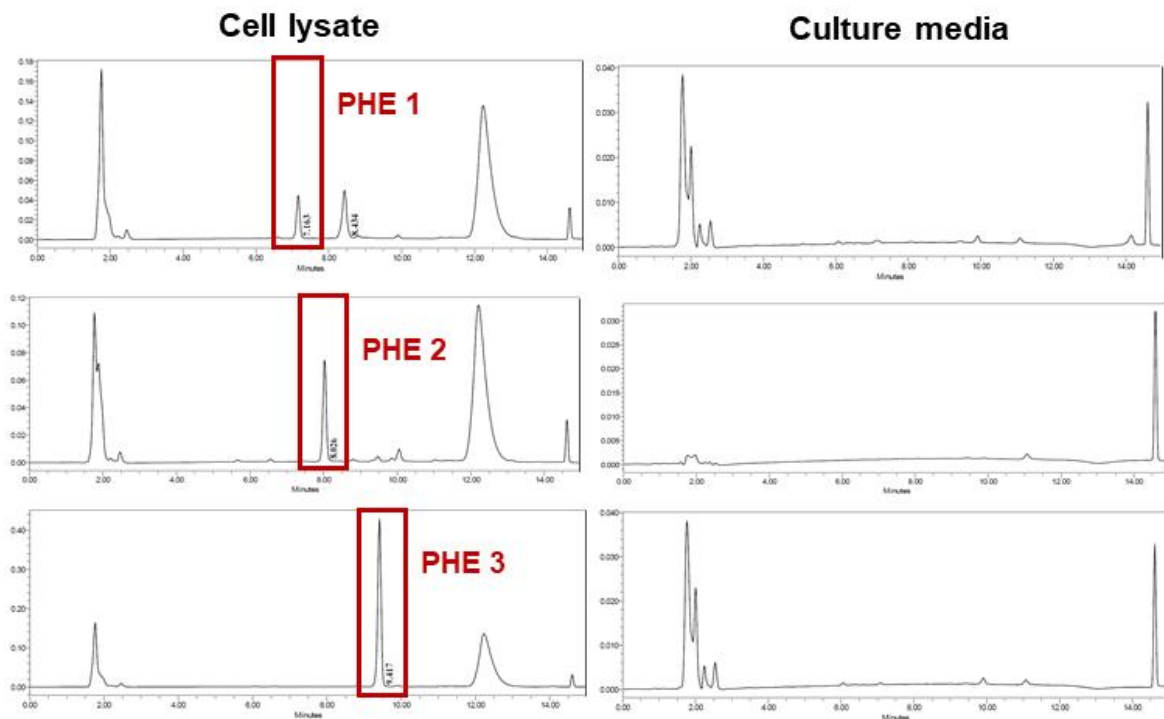


그림 20. HPLC 분석을 통한 마갑질 유효성분의 진피세포 투과 여부 확인

○ 피부노화 관련 기질분해 단백질(MMP-1)의 활성 및 발현 억제 효능 측정

- 마갑질 추출물 및 유효성분들을 자외선과 함께 처리하여 진피세포에서 콜라겐 분해효소인 MMP-1 발현 억제 여부를 Western Blot을 통해 측정하였음. 마 갑질 추출물은 자외선으로 인해 유도된 MMP-1의 발현을 감소시키는 경향을 보였으며, 마갑질 70% 에탄올 용매 추출물(70% EtOH DBP)과 마갑질 에틸 아세테이트 용매 분획물(EA DBP)에서 효과가 있었음 [그림 21A].마갑질 유효성분 세가지(PHE 1, PHE 2, PHE3)는 자외선으로 인해 유도된 MMP-1의 발현을 상당히 감소시키는 효과가 있었음[그림 21B].

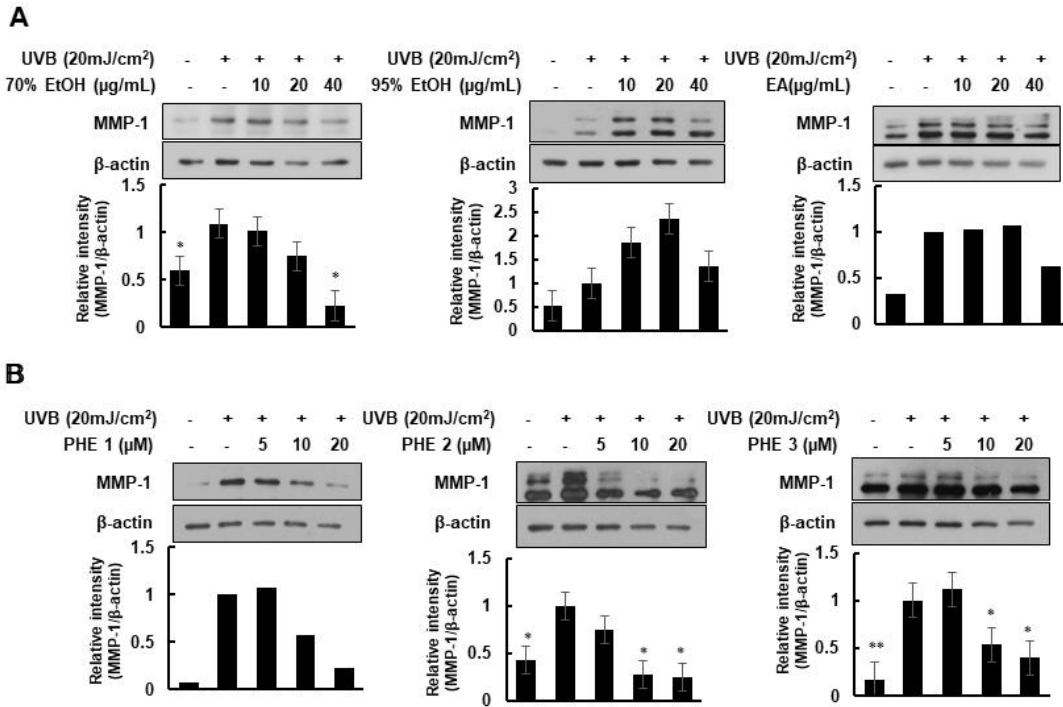


그림 21. 마갑질 추출물(A) 및 유효성분(B)의 콜라겐분해효소(MMP-1) 발현 억제 효과

- 또한 마갑질 추출물 및 유효성분들의 시험관 내에서 MMP-1 활성 억제 여부를 시험관 내에서 MMP-1 activity assay를 통해 측정하였음. 마 갑질 추출물[그림 22A]과 유효성분 세가지[그림 22B]은 모두 MMP-1의 활성을 상당히 감소시키는 효과가 있었음.

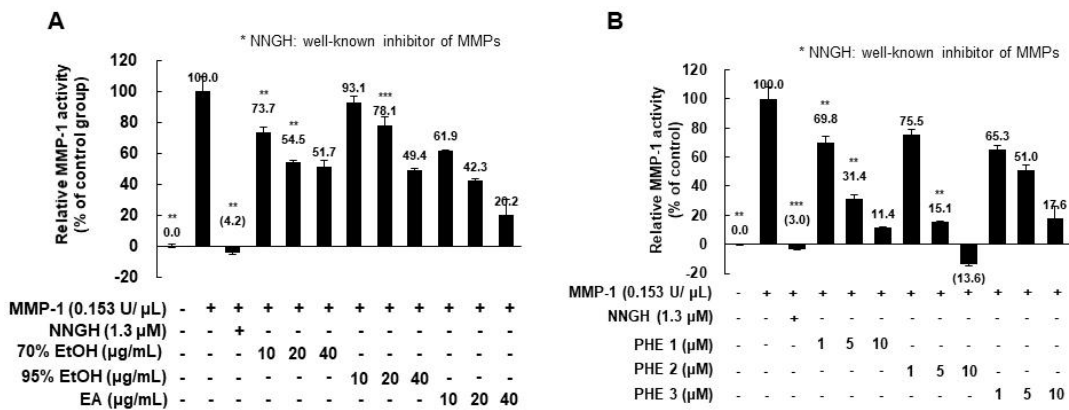


그림 22. 마갑질 추출물(A) 및 유효성분(B)의 콜라겐분해효소(MMP-1) 발현 억제 효과

6) 마 갑질 추출물 및 유효성분의 항노화 효능 관련 작용기전 규명 및 기능성 검증 ○ 피부노화 촉진 관련 단백질들의 활성 및 발현 저해 효능 평가

- PHE 2가 항노화 표적단백질인 MMP-1의 발현에 영향을 미치는 MAPKs 단백질들의 인산화를 억제하는지 여부를 Dot Blot assay를 통해 확인하였음[그림 23]. 그 결과 MMP-1의 상위 시그널의 주요 단백질인 Akt, p38, JNK, RSK 등의 단백질 인산화가 억제되는 것을 확인함.
- 또한, PHE 2가 MMP-1 단백질 활성을 직접적으로 억제하는지 여부를 kinase assay를 이용해 1차년도에 이미 측정을 완료하였음[그림 21B].

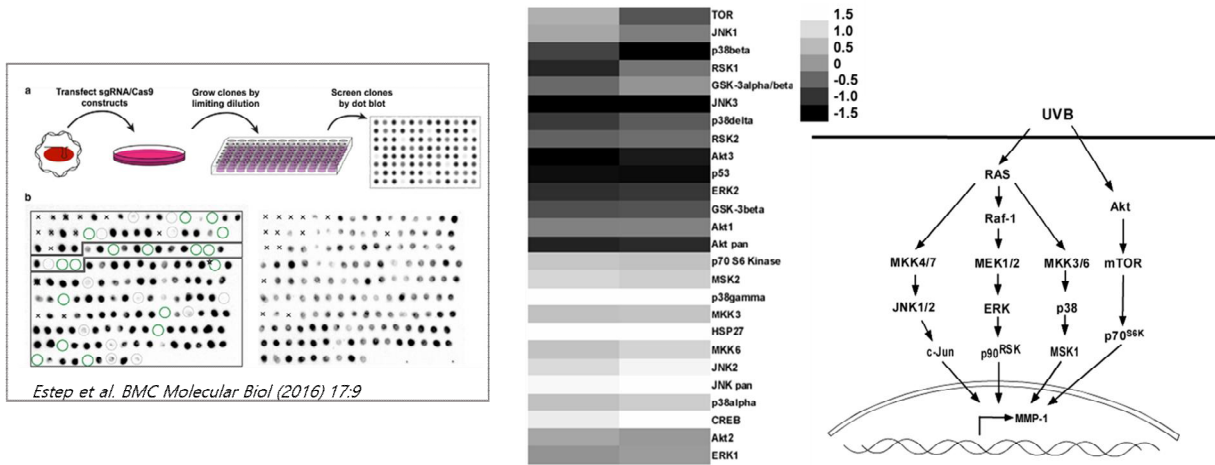


그림 23. 마갑질 유효성분의 피부노화 촉진 관련 단백질들의 활성 및 발현 저해 효능 평가

○ Binding assay, modeling study를 이용한 표적단백질과의 결합 양상 규명

- 항노화 표적단백질(MMP-1)과 마갑질 유효성분(PHE 1, PHE 2, PHE3)의 결합 여부를 bead based binding assay를 이용하여 확인함. MMP-1은 크게 3개 도메인(프로도메인, 카탈리틱 도메인, 헤모펙신도메인)으로 구성된 기질 금속 단백질 효소임. 따라서, 각기 다른 3개 도메인의 시퀀스를 바탕으로 재조합 단백질을 제조하였으며, 이를 이용하여 유효성분들(PHE 1, PHE 2, PHE3)과 MMP-1의 각각의 도메인의 결합 유무를 확인함. 실험 결과, PHE 1, 2, 3는 MMP-1 효소 활성화와 직접적으로 연관된 카탈리틱도메인에만 특이적으로 결합하는 것을 확인하였고, 이는 마갑질 유효성분이 항노화 소재로서의 활용 가능성이 높다는 것을 확인한 중요한 결과라 할 수 있겠음[그림 24A, 24B].
- 항노화 표적단백질인 MMP-1 촉매 부위와 PHE 2(MMP-1 활성 억제도가 가장 높음)의 결합 친화도(Binding affinity)를 Microscale Thermophoresis(MST)를 이용하여 확인함[그림 24C]. 또한, 실험계획에는 없었으나 추가 실험으로 PHE 2가 MMP-1 이외의 다른 MMPs도 저해하는지 여부를 확인하기 위해 10가지 이상의 MMPs 활성 억제 여부를 비교 확인 중임 [추가실험 중]. 이러한 추가 실험이 완료된다면 PHE 2이 MMP-1 특이성 높은 소재인지 확인 가능함.

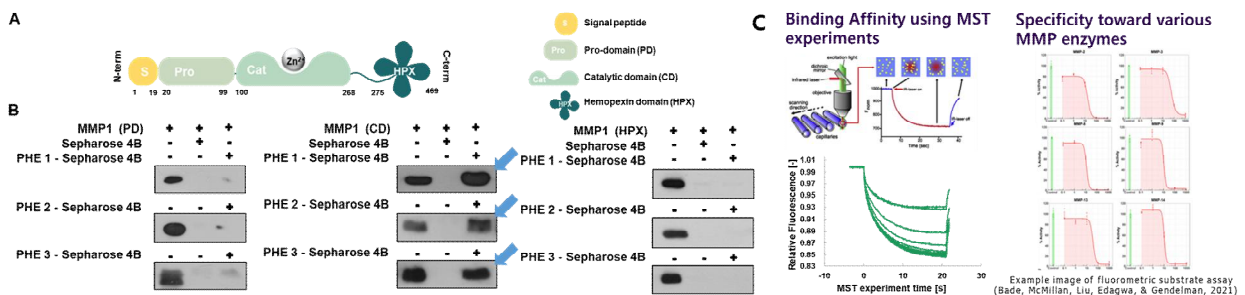


그림 24. 마갑질 유래 유효성분의 항노화 표적단백질(MMP-1)과의 결합 양상 규명

○ 인공피부를 이용한 항노화 효능 평가

- 삼차원 배양피부모델(Neoderm-ED)을 이용하여, 마갑질 유래 유효성분의 재생탄력 효능을 분석함. 피부탄력과 연관된 기저막 단백질인 collagen type IV, 세포 증식 마커인 ki-67, collagen 분해효소인 MMP-1 발현을 토대로 실험 결과를 종합 분석함. UVB 처리에 의한 MMP-1의 발현이 뚜렷하게 증가하여 UVB 처리에 대한 실험의 신뢰도를 확인한 후 실험을

진행함. UVB 처리 음성대조군과 비교 했을때, collagen type IV 발현은 시험물질 처리 시 증가하였으며, MMP-1의 발현은 감소됨[그림 25]. 따라서, 마კ뽁질 유래 유효성분의 탄력재생 효능이 있을 것으로 생각됨.

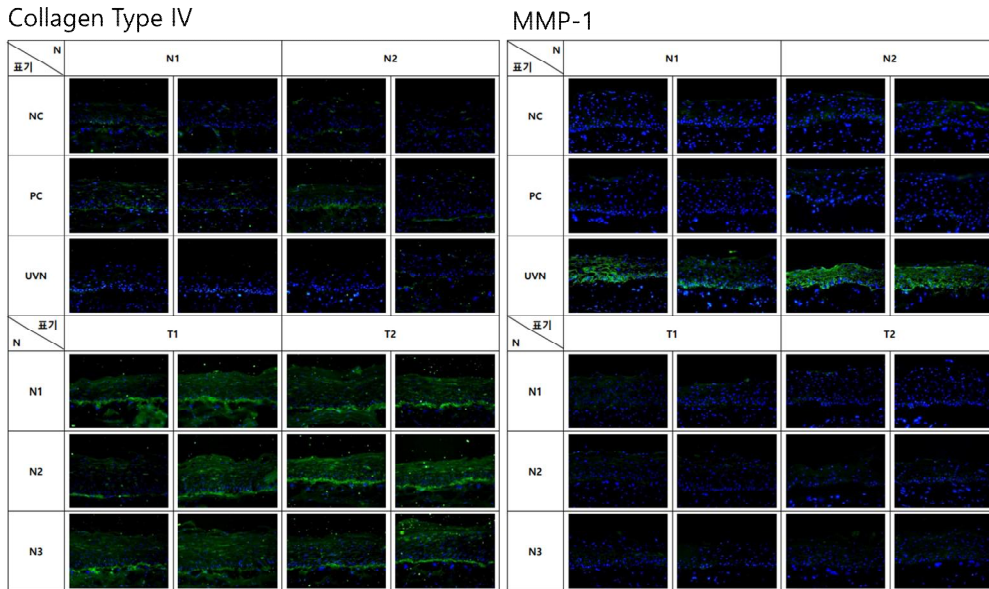


그림 25. 인공피부를 이용한 마კ뽁질 유효성분의 탄력재생 효능 평가 (Collagen type IV, MMP-1 발현 분석)

○ 주관기관(NFC)의 제조법 최적화에 필요한 기능성 검증 결과 제공

- 인간 피부 표피세포인 HaCaT cell에서, 화장품 제형화 과정에서 첨가되는 시료를 주관기관 (NFC)로부터 제공받아, 이의 UVB 자극으로 인한 피부 손상 회복 효과를 확인하는 실험을 진행함[그림 26]. HaCaT cell에 시료를 처리한 후(20, 40 µg/mL 농도), 20 mJ/cm² 강도로 UVB를 조사하여 Type I collagen의 주요 성분인 Pro-COL1A1 단백질 발현량을 증가 여부를 Western Blot으로 확인함. 그 결과, UVB를 조사 시 Pro-COL1A1 단백질 발현량이 현저히 감소되었고[lane2], 이는 시료 처리 농도 40 µg/mL에서 현저히 회복됨을 확인함[lane 4].

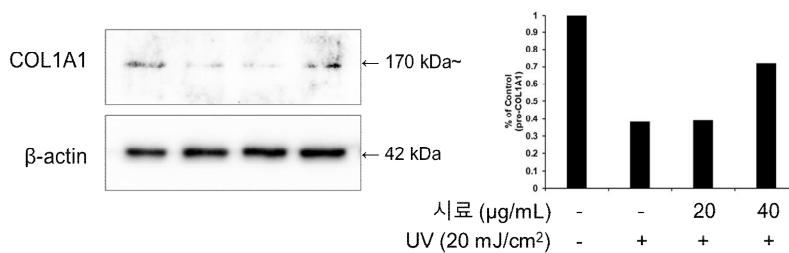


그림 26. 제조법 최적화를 위한 제형화 시료의 항노화 기능성 검증

7) 기능성 향장 소재의 제형 개발

(1) 최적 제형 레시피 개발

○ 안티에이징 크림에 적합한 사용감과 안정적인 제형 개발

- 안정적인 유화 시스템 개발을 위해 유화제 조성별로 테스트를 진행하고 최적 유화제 조성 설정
- 경도 형성과 사용감 조절을 위해 점증제 조합 테스트를 진행하여 최적 조성 설정
 - 유화제 3%, 보습제 10~15%, 에몰리언트 16% 조성비로 베이스 처방 설계
 - 보습감, 발림 및 퍼짐성, 오일감, 사용 끈적임 및 경도 등 물성 확인
 - 2주간 각 조건별 안정도 확인

(2) 원료 추출물과의 혼합 시험

○ 마깍질 추출물 제형 혼합 시험

- 제형 레시피 실험을 통해 얻어진 최적 제형에 마 깍질 추출물을 혼합하기 위해 용해도 실험을 진행함
- 정제수에 마깍질 추출물을 혼합할 경우, 분산만 되고 용해는 되지 않음. 가운 시, 엉김 발생
- 에탄올과 혼합할 경우, 실온에서 서서히 용해되며, 가운 시 엉김 없이 빠르게 용해됨
- 마깍질 추출물 제형 적용시 제형의 성상 및 물성은 양호, 조건별 장기 안정도 지속 관찰 예정
- 마깍질 추출물 제형 적용시 유화 입자가 일부 불균일하게 되어, 고른 유화 입자를 얻기 위해 2차년도 추가 베이스 처방 개선 진행 예정

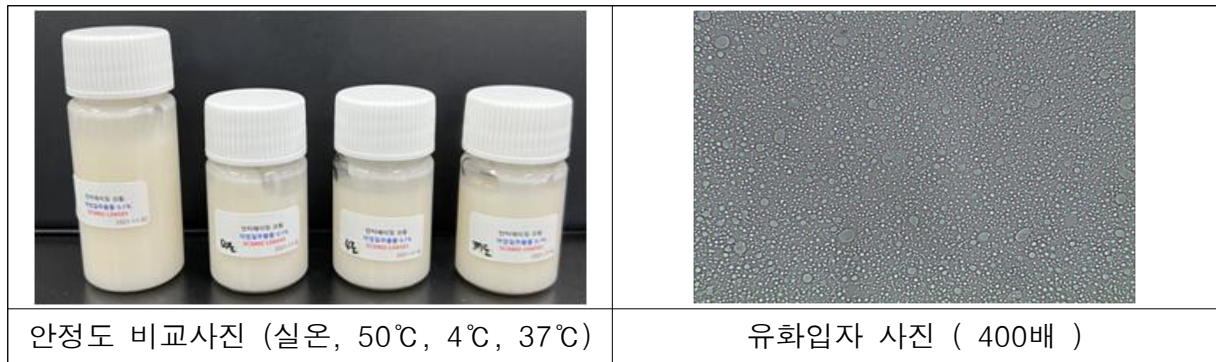


그림 27. 마깍질 추출물 제형 혼합 안정성 시험

○ 향산화 제형 안정도 비교 실험

- 최적 베이스 처방 제형에 일반적으로 향산화 효과가 있다고 알려진 원료나 마깍질 추출물을 첨가하여 경도, 분리, 변색 및 변취 등 상태 변화를 확인

표19. 베이스 첨가 후 상태 변화 결과

첨가 원료	바쿠치올	글라이코실루핀	애플페놀	마깍질 추출물
상태	경도 양호 고온 분리 없음 변취 발생	유화상태 불량 고온 분리 변색	경도 높음 고온 분리 변색	경도 양호 고온 안정 변색, 변취 없음

- 바쿠치올, 글루이콜실루핀, 애플페놀 등 의 원료 적용 테스트를 통해 분리, 변색, 변취 등 제형 변화가 발생하였으나 마깍질 추출물은 상태 변화가 없었음

(3) 마깍질 활용 기능성 향장 소재의 제형 방부시스템 확립


○ 제형의 방부력 확인

- 일반적으로 화장품에 사용중인 1,2-헥산다이올, 에틸헥실글리세린을 제외하고, 천연방부제 Lactobacillus Ferment 원료만 사용하여 방부력 확인.

표20. Lactobacillus Ferment 함량과 pH의 영향을 고려하여 4가지 샘플 시험 결과

	함량(%)	pH
A	1.5	5.5
B	2	5.5
C	2.5	5.5
D	2	7.5

BEYOND ASIAN HUB, TOWARD GLOBAL WORLD



우 13810 경기도 과천시 교육원로 98(중앙동)
 TEL (02)2164-0011 FAX (02)2634-1008
 성적서번호 : TBK-2021-006523
 대표자 : 유우영
 업체명 : (주)엔에프씨
 주소 : 인천 연수구 갯벌로145번길 15-8 (송도동, (주)엔에프씨)
 시료명 : 마 껍질 링클케어 크림 B

접수일자 : 2021년 09월 27일
 시험완료일자 : 2021년 11월 05일

TEST REPORT

시험결과

시험항목	단위	시료구분	결과치	시험방법
보존력시험(<i>E. coli</i>)	Log reduction	7일 후	> 4.61	ISO 11930 : 2019
보존력시험(<i>E. coli</i>)	Log reduction	14일 후	> 4.61	ISO 11930 : 2019
보존력시험(<i>E. coli</i>)	Log reduction	28일 후	> 4.61	ISO 11930 : 2019
보존력시험(<i>S. aureus</i>)	Log reduction	7일 후	4.24	ISO 11930 : 2019
보존력시험(<i>S. aureus</i>)	Log reduction	14일 후	> 4.54	ISO 11930 : 2019
보존력시험(<i>S. aureus</i>)	Log reduction	28일 후	> 4.54	ISO 11930 : 2019
보존력시험(<i>P. aeruginosa</i>)	Log reduction	7일 후	> 4.40	ISO 11930 : 2019
보존력시험(<i>P. aeruginosa</i>)	Log reduction	14일 후	> 4.40	ISO 11930 : 2019
보존력시험(<i>P. aeruginosa</i>)	Log reduction	28일 후	> 4.40	ISO 11930 : 2019
보존력시험(<i>C. albicans</i>)	Log reduction	7일 후	-	ISO 11930 : 2019
보존력시험(<i>C. albicans</i>)	Log reduction	14일 후	-	ISO 11930 : 2019
보존력시험(<i>C. albicans</i>)	Log reduction	28일 후	-	ISO 11930 : 2019
보존력시험(<i>A. brasiliensis</i>)	Log reduction	14일 후	2.56	ISO 11930 : 2019
보존력시험(<i>A. brasiliensis</i>)	Log reduction	28일 후	> 3.51	ISO 11930 : 2019

그림 28. 천연방부제 제형 방부 실험 결과

- 시험 결과, A~D 모두 Candida(진균)가 사멸되지 않아 방부력이 부적합하다고 판단됨.
- A의 경우, E. Coli도 사멸되지 않음
- 2차년도 추가 실험을 통해 방부시스템이 양호한 제형 개발 예정

8) 마껍질 활용 가능성 향장 소재의 스케일업 제조법 확립

(1) 혼합 및 제형화

○ 방부 시스템 개발

- 1차년도에 적용했던 천연방부제인 Lactobacillus Ferment의 경우, 원료 자체의 방부력 효능에 문제가 발견되어 더 이상 진행하지 않음.
- 기존에 사용하던 시스템인 1,2-헥산다이올 적용

○ 변색 억제 시스템 개발

- 제형에 마껍질추출물 고함량 적용 시 변색, 변취 발생하여 변색방지제 적용 실험 실시
 - 변색 방지효과 : Tinogard Q > Sodium Sulfite > Hydroxyacetophenone > Cibafast H Liquid > Tinogard TT
 - Sodium Sulfite의 경우, 제형에 적용 시 점도 저하됨
 - Tinogard Q 0.5% + Sodium Sulfite 0.5% 적용 시, 고온 변색 및 변취 억제력이 가장 우수하지만, 변색방지제의 함량이 너무 높음
- 마껍질추출물 전처리 및 제형 적용방법 변경을 통한 변색 억제 시스템 개발
 - 리포솜 처리 시 변색, 변취 억제력이 향상된다는 자료들을 토대로, 마껍질추출물을 음이온 계면활성제를 이용하여 라멜라 액정처리해 변색 억제력 확인
 - 라멜라 액정처리된 마껍질추출물을 보습제 15~20%, 에몰리언트 15~20%, 유화제 3~5%로 구성된 크림 베이스에 투입 후 고압유화 방식으로 혼합 시 라멜라 액정 유지력이 좋고, 장기 보관에 의한 변색, 변취도 억제되는 것을 확인함

· 해당 내용으로 특허 출원 (제10-2022-0160035호)


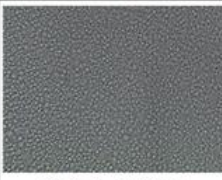

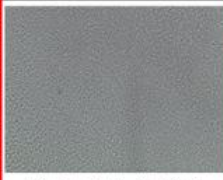

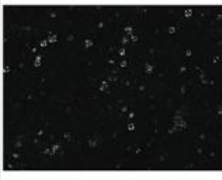










구분	#77-A	#76-A	#77-B	#76-B
유화 입자 (x400)	 약간 큰 유화입자 균일도 떨어짐	 약간 큰 유화입자 균일함	 작고 조밀한 유화입자 균일함	 작고 조밀한 유화입자 균일함
편광 확인 (x100)	 라멜라 액정 거의없음	 라멜라 액정 약간 있음	 라멜라 액정 많음	 라멜라 액정 매우 많음
구 분	#77-A	#76-A	#77-B	#76-B
실험 직후	 유백색	 유백색	 유백색	 유백색
50°C에서 1개월 보관 후	 갈색으로 변색	 엷은 갈색으로 변색	 약간 변색	 변화 없음

그림 29. 음이온 계면활성제를 이용한 변색 방지시험

(2) 지표성분 확인 및 함량 비교로 최적화된 제조법 확립

○ 개요

- 마კ뽀질을 활용한 기능성 향장 소재 제조 시 실험실 스케일 연구에서 가장 좋은 유효성분의 추출이 가능한 조건으로 참마 혹은 장마를 이용하여 121°C에서 20분간 스팀 가열한 뒤 건조, 파쇄 후 20배 용량의 95% 에탄올로 환류추출을 하는 것을 확인하였음. 이를 바탕으로 하여 기능성 화장품 소재로의 대용량 생산이 가능하게 하고자 확대된 스케일에서의 최적 추출 제조법을 확립하고자 함. 본 연구에서는 증가된 스케일에서의 경제성과 재현성 및 제형에서의 용해도를 가장 중요하게 고려하여 건조 조건, 추출 조건, 정제 조건 등의 변화를 통해 지표성분의 함량을 비교, 최적화된 제조법을 확립하고자 함.

○ 용매 비율별 유효성분(PHE 1, PHE 2, PHE 3) 추출 효율 확인

- Lap-scale 추출 조건에서 대용량 추출로 변경 시 재현성 여부 확인을 위해 원물 대비 1 : 10, 1 : 20, 1 : 30 조건으로 추출을 진행함. 추출 조건은 99.9% 에탄올, 70°C, 1000W, 28KHz, 2시간으로 진행함. 각 조건에 따라 rotary evaporator를 사용해 감압 농축하여 분석용 시료를 만들어 경북대학교 측에 분석 요청함. 그 결과는 아래 표와 같음.

표21. 용매 비율별(10배, 20배, 30배) 추출물 내 유효성분 (PHE 1, PHE 2, PHE 3) 함량 비교

	추출 조건	PHE 1	PHE 2	PHE 3	Total
1	Volume 10배	5.53 $\mu\text{g}/\text{mg}$	3.49 $\mu\text{g}/\text{mg}$	7.23 $\mu\text{g}/\text{mg}$	16.25 $\mu\text{g}/\text{mg}$
2	Volume 20배	7.20 $\mu\text{g}/\text{mg}$	3.97 $\mu\text{g}/\text{mg}$	8.02 $\mu\text{g}/\text{mg}$	19.19 $\mu\text{g}/\text{mg}$
3	Volume 30배	5.85 $\mu\text{g}/\text{mg}$	3.14 $\mu\text{g}/\text{mg}$	6.02 $\mu\text{g}/\text{mg}$	15.01 $\mu\text{g}/\text{mg}$

- 용매조건 비교에서 20배의 용매를 첨가한 구간에서 total 19.19 $\mu\text{g}/\text{mg}$ 으로 가장 좋은 유효성분 (PHE 1, PHE 2, PHE 3) 추출 효율을 확인할 수 있었음.

표22. 용매 비율별(20배, 50배) 추출물 내 유효성분 (PHE 1, PHE 2, PHE 3) 함량 비교 (추가 실험)

	추출 조건	PHE 1	PHE 2	PHE 3	Total
1	Volume 20배	3.66 $\mu\text{g}/\text{mg}$	2.54 $\mu\text{g}/\text{mg}$	6.22 $\mu\text{g}/\text{mg}$	12.42 $\mu\text{g}/\text{mg}$
2	Volume 50배	2.48 $\mu\text{g}/\text{mg}$	1.76 $\mu\text{g}/\text{mg}$	4.36 $\mu\text{g}/\text{mg}$	8.60 $\mu\text{g}/\text{mg}$

- 추가적으로 최초 대용량 추출 조건이었던 용매 50배 첨가 조건과의 비교를 진행한 실험 결과에서도 원물 대비 20배의 용매를 첨가한 조건이 가장 효율적인 조건임을 확인함.

○ 용해도를 이용한 유효성분 (PHE 1, PHE 2, PHE 3) 정제 효율 확인

- 마껍질 추출물 내 유효성분 (PHE 1, PHE 2, PHE 3) 함량을 증대시키기 위해 구입한 건조 마껍질에 99.9% 에탄올을 1 : 50의 비율로 첨가하여 추출을 진행함. 추출물을 여과하여 마껍질 잔류물을 제거하고 대형 감압농축기를 사용하여 감압 농축을 진행함. 농축물 무게의 10배 분량의 99.9% 에탄올로 농축물을 용해하고 감압 필터를 통해 용해되지 않는 잔류물을 제거, 잔류물은 증류수를 첨가하여 회수하였음. 에탄올 용해물과 증류수 용해물을 일부 농축하여 경북대학교 측에 유효성분 (PHE 1, PHE 2, PHE 3) 함량 분석을 요청함.

표23. 용해 시 사용하는 용매 조건별 유효성분 (PHE 1, PHE 2, PHE 3) 함량 비교

	용해 용매 조건	PHE 1	PHE 2	PHE 3	Total
1	에탄올 용해	5.23 $\mu\text{g}/\text{mg}$	5.42 $\mu\text{g}/\text{mg}$	15.09 $\mu\text{g}/\text{mg}$	25.74 $\mu\text{g}/\text{mg}$
2	증류수 용해	0.52 $\mu\text{g}/\text{mg}$	0.45 $\mu\text{g}/\text{mg}$	0.61 $\mu\text{g}/\text{mg}$	1.58 $\mu\text{g}/\text{mg}$

- 위 결과를 통해 추출물의 농축 완료 후 회수하는 과정에서 첨가하는 용매 조건에 따라 유효성분 (PHE 1, PHE 2, PHE 3)의 용해도에 차이가 발생함을 확인함
- 증류수를 이용한 구간에서는 유효성분 (PHE 1, PHE 2, PHE 3)이 거의 검출되지 않았으나 에탄올을 이용하여 회수를 진행한 구간에서 월등히 높은 유효성분 (PHE 1, PHE 2, PHE 3)의 함량을 확인함

○ 탈랍 공정 추가를 통한 정제 효율 확인

- 마껍질 농축물의 회수 과정에서 사용되는 용매 조건에 따른 유효성분 (PHE 1, PHE 2, PHE 3)의 회수율 차이를 확인함. 에탄올 용해물 내의 유효성분 (PHE 1, PHE 2, PHE 3) 순도를 더욱 향상시키고자 왁스층을 제거하는 방법으로 탈랍 공정을 추가함. 농축물을 에탄올로 용

해하여 회수 후 50℃의 water bath에서 30분간 정치함. 가온된 용해물을 -80℃에서 3일 이상 정치하고 차가운 상태에서 감압 여과하여 왁스층을 제거함. 제거된 왁스층은 그림과 같으며 여과된 탈랍물과 왁스층을 각각 유효성분 (PHE 1, PHE 2, PHE 3) 분석을 요청한 결과 아래 표와 같음.

표24. 탈랍 공정 적용 후 유효성분 (PHE 1, PHE 2, PHE 3) 함량 비교

	탈랍 공정물	PHE 1	PHE 2	PHE 3	Total
1	에탄올 용해 (Winterization 공정 진행 전 시료)	5.23 $\mu\text{g}/\text{mg}$	5.42 $\mu\text{g}/\text{mg}$	15.09 $\mu\text{g}/\text{mg}$	25.74 $\mu\text{g}/\text{mg}$
2	필터 후 여액	7.67 $\mu\text{g}/\text{mg}$	7.93 $\mu\text{g}/\text{mg}$	20.14 $\mu\text{g}/\text{mg}$	35.74 $\mu\text{g}/\text{mg}$
3	왁스층	0.45 $\mu\text{g}/\text{mg}$	0.49 $\mu\text{g}/\text{mg}$	0.78 $\mu\text{g}/\text{mg}$	1.72 $\mu\text{g}/\text{mg}$

- 탈랍 공정에서 얻어지는 여액과 왁스층에서 유효성분 (PHE 1, PHE 2, PHE 3)의 함량은 필터된 여액에서 확연히 높은 유효성분 (PHE 1, PHE 2, PHE 3) 함량을 확인함.
- 에탄올 용해물을 이용하여 탈랍 공정의 추가 진행 시 공정 진행 전의 농축물에 비해 유효성분 (PHE 1, PHE 2, PHE 3)의 함량이 약 2배로 증대된 것을 확인할 수 있음.

○ 유효성분 (PHE 1, PHE 2, PHE 3) 제조 시 단가 경쟁을 위한 최적 생산 조건 확인 시험

- 유효성분 (PHE 1, PHE 2, PHE 3)은 마껍질 부분에서 추출이 가능한 성분으로 가장 높은 추출 효율을 위해선 마 속 부분이 잘 제거된 껍질만을 사용하는 것이 좋을 것으로 전제하여 비교 실험을 진행함. 상품 마를 구매하여 직접 껍질을 제거하여 건조하는 것, 껍질과 속을 포함하고 편으로 썰어 건조하는 것, 깎둑썰기하여 건조하는 것, 건조를 진행하지 않은 것으로 나누고 건조가 완료된 마껍질을 구매하여 함께 추출을 진행함. 추출 후 감압 농축하여 얻은 농축물을 에탄올로 용해 후 탈랍공정을 진행, 얻어진 탈랍물을 활용하여 유효성분 (PHE 1, PHE 2, PHE 3)의 함량을 비교 분석 요청함.

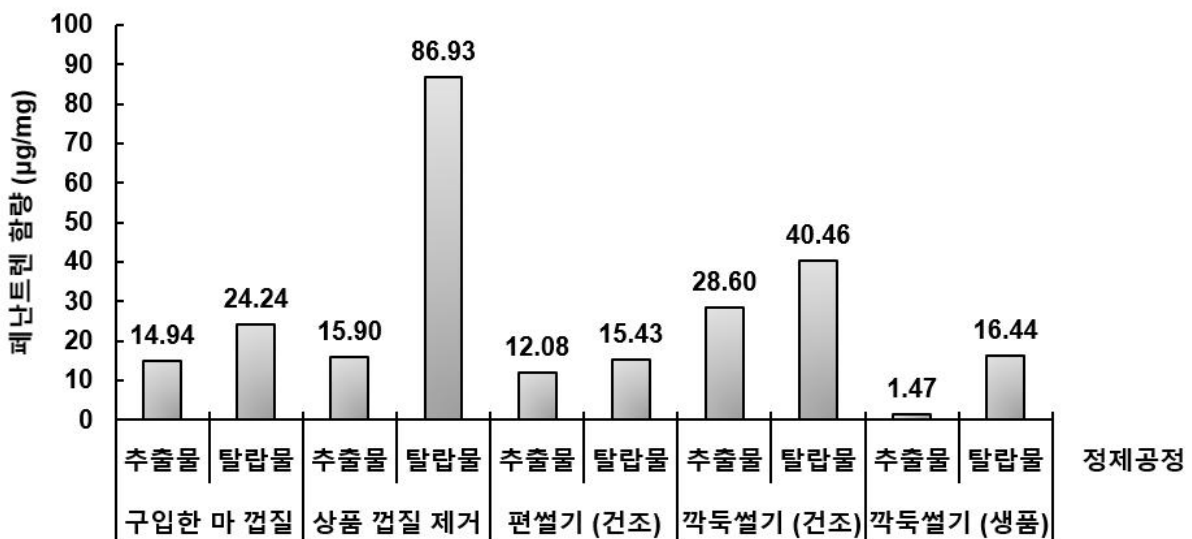


그림 30. 추출 원물 조건별 탈랍공정 적용 후 유효성분 (PHE 1, PHE 2, PHE 3) 함량 변화

- 추출물과 탈랍물 내의 유효성분 (PHE 1, PHE 2, PHE 3) 함량 비교를 통해 가장 좋은 원물의 형태는 상품 마를 구매하여 직접 껍질을 제거, 건조하는 것임을 확인할 수 있었음.

페난트렌 1g 제조비용

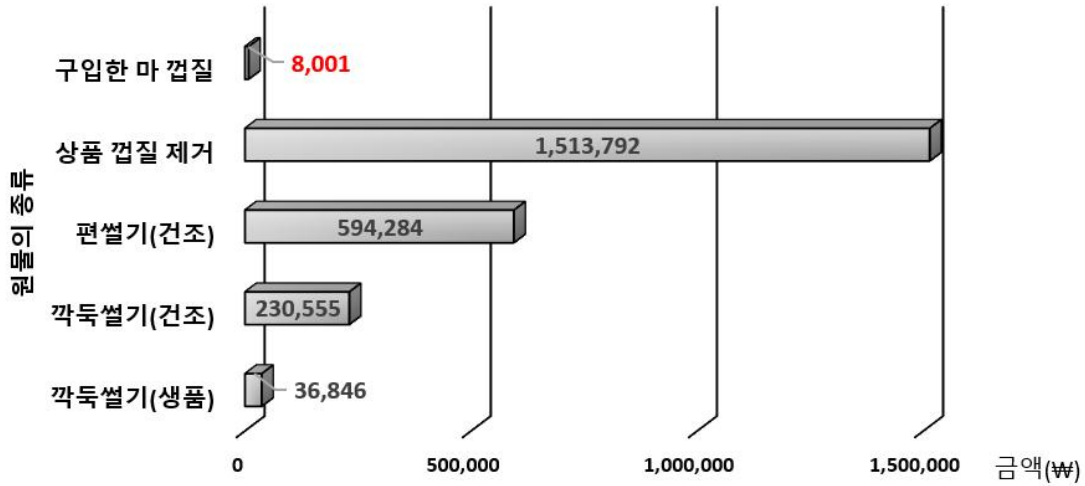


그림 31. 추출 원물 조건별 유효성분 (PHE 1, PHE 2, PHE 3) 정제물 제조 단가 비교

- 그러나, 동일한 양의 유효성분 (PHE 1, PHE 2, PHE 3)을 얻기 위해 필요한 원물의 양과 단가를 계산해 볼 때 경제적으로 가장 효율적인 원물의 형태는 건조가 완료된 마껍질을 구매하여 추출, 탈랍 등의 공정을 진행하는 것임을 확인함.
- 사용한 마와 마껍질의 경우 2021년도 10월 경 수확하여 연중 보관하면서 유통하거나 수확한 마를 세척 후 껍질을 벗겨 건조 후 판매하는 것을 구매하여 실험 진행함.

○ 탈색 공정 추가를 통한 유효성분 (PHE 1, PHE 2, PHE 3) 정제 효율 확인

- 유효성분 (PHE 1, PHE 2, PHE 3)의 정제 효율을 더욱 증대시키기 위해 탈랍 공정이 완료된 탈랍물에 탈색 공정을 추가적으로 진행함. 탈랍이 완료된 농축물에 에탄올을 가해 용해 후 활성탄을 패킹한 부호너갈때기에 여과하여 탈색을 진행함. 각 공정별 시료를 농축하여 경북대학교 측에 의뢰하여 유효성분 (PHE 1, PHE 2, PHE 3)의 함량을 분석함.

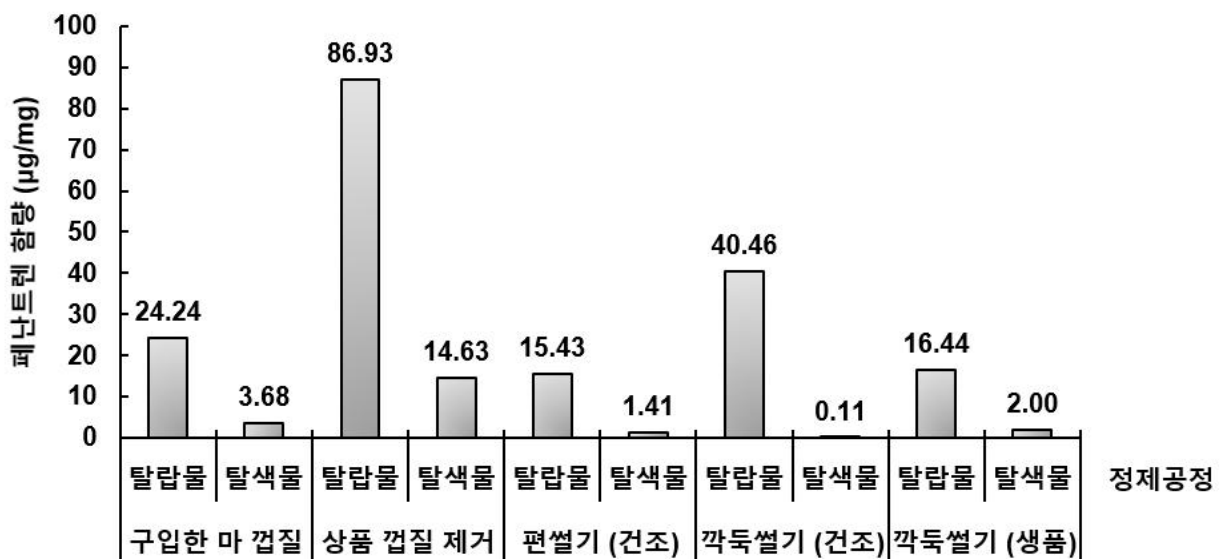


그림 32. 탈색공정 적용 후 유효성분 (PHE 1, PHE 2, PHE 3) 함량 변화

- 탈랍 공정을 통하여 순도가 높아진 각 농축물을 탈색 공정을 진행한 결과 모든 구간에서 탈색이후 유효성분 (PHE 1, PHE 2, PHE 3)의 함량이 급격하게 감소된 것을 확인할 수 있었음.
- 탈색 공정 과정에서 유효성분 (PHE 1, PHE 2, PHE 3)이 활성탄에 흡착, 제거된 것으로 사료되어 탈색 공정은 진행하지 않는 것으로 결정함.

○ 열수 공정 추가를 통한 유효성분 (PHE 1, PHE 2, PHE 3) 추출 수율 극대화 시험

- 추출 후 얻어진 농축물을 에탄올과 증류수로 용해하여 유효성분 (PHE 1, PHE 2, PHE 3)의 함량을 비교한 시험을 통해 유효성분 (PHE 1, PHE 2, PHE 3)의 추출은 에탄올 층에 주로 일어나는 것을 확인함. 이를 활용하여 유효성분 (PHE 1, PHE 2, PHE 3) 이외의 유효성분들을 우선 제거하여 추출물 내의 유효성분 (PHE 1, PHE 2, PHE 3) 성분을 극대화할 방법으로 초음파 추출 공정 전 열수 추출 공정을 추가하여 진행함. 분쇄한 마깍질을 증류수를 이용하여 1시간 동안 열수 추출 후 배보자기로 필터하여 회수한 찌꺼기에 에탄올을 가해 초음파 추출을 진행함. 얻어진 추출물은 필터, 농축의 과정을 거쳐 탈랍 공정을 진행함. 탈랍물을 50% 에탄올로 용해하여 핵산으로 분획을 진행함. 각 공정별로 얻어지는 결과물을 농축하여 유효성분 (PHE 1, PHE 2, PHE 3) 함량 분석을 진행함.

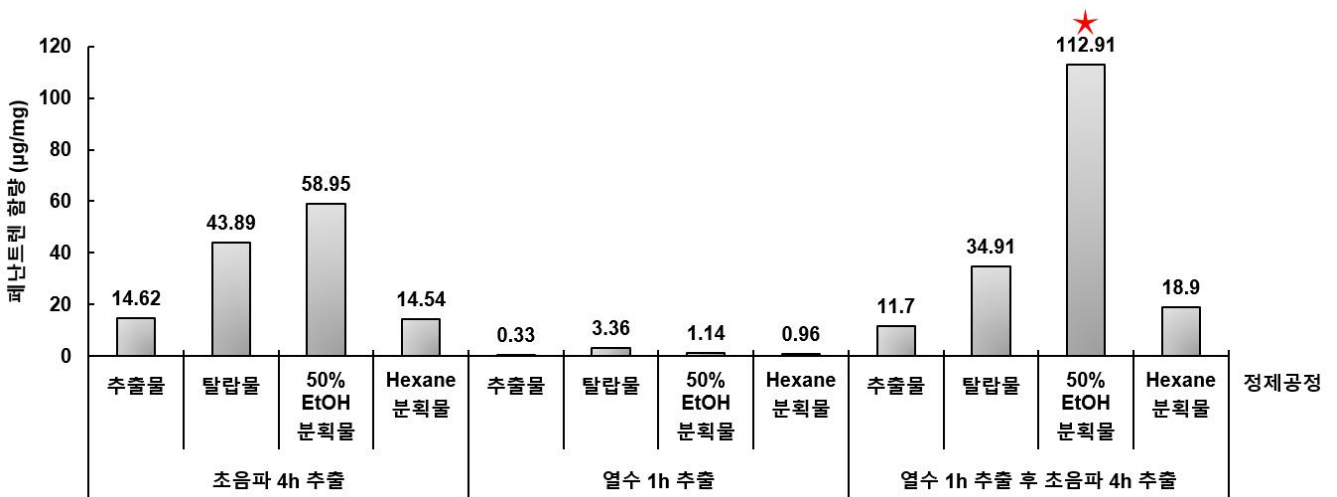


그림 33. 열수추출 공정 적용 후 유효성분 (PHE 1, PHE 2, PHE 3) 함량 변화

- 초음파 추출만을 진행하는 경우 핵산 공정까지 전체 진행하였을 때 유효성분 (PHE 1, PHE 2, PHE 3)의 함량이 약 3배 가량으로 증대되는 것을 확인 할 수 있었으며, 열수 추출은 전 공정 결과물에서 유효성분 (PHE 1, PHE 2, PHE 3)의 함량이 거의 없는 것으로 확인 할 수 있었음.
- 열수 추출과 초음파 추출을 함께 진행한 실험 결과는 추출 단계만을 비교할 때엔 유효성분 (PHE 1, PHE 2, PHE 3)의 함량이 초음파 추출만 진행한 구간에 비해 더 낮은 것으로 확인 되었으나, 핵산 분획까지 전 공정을 진행하였을 때 추출물 내 유효성분 (PHE 1, PHE 2, PHE 3)의 함량이 월등히 높아진 것을 확인할 수 있었음.
- 핵산 분획 공정에서 용매에 따른 유효성분 (PHE 1, PHE 2, PHE 3)의 함량은 추출 방법과 관계없이 모든 결과에서 50% 에탄올을 사용한 구간에서 높은 함량의 확인할 수 있었음.

○ 최적 생산 조건 확립

- 건조된 참마껍질을 파쇄하여 1차적으로 열수 추출을 진행 후 1 g 원물 당 20 ml 수준의 99.9% 에탄올 용매를 사용하여 초음파 추출을 진행함. 추출물을 필터 후 농축하여 얻어진 여액을 에탄올로 용해하여 탈랍을 수행하고, 50% 에탄올을 사용하여 분획을 진행하여 가장 높은 유효성분 (PHE 1, PHE 2, PHE 3) 함량인 향장 소재를 얻을 수 있음.



그림 34. Scale-up 최적 생산 조건 모식도

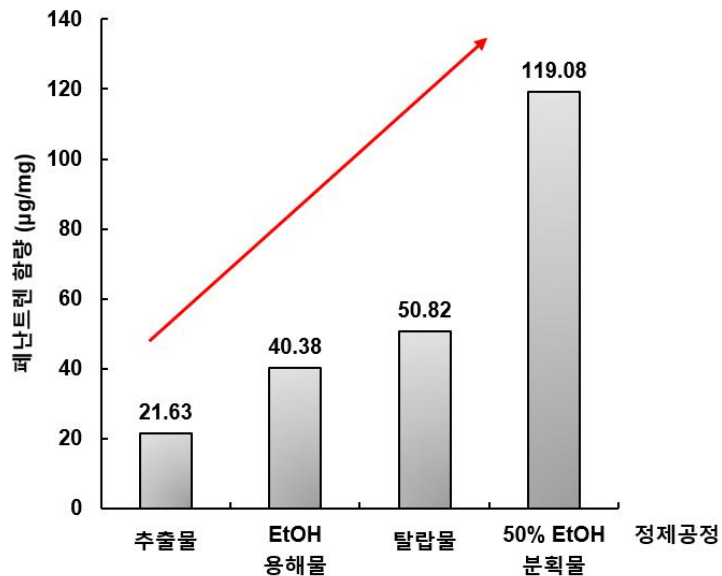


그림 35. 최적 조건으로 스케일업하여 생산된 유효성분 (PHE 1, PHE 2, PHE 3)의 공정별 함량 변화

9) 마깍질 활용 기능성 향장 소재를 활용한 시제품 생산

(1) 화장품 소재 시제품 생산

- 마깍질 추출 유효성분 (PHE 1, PHE 2, PHE 3)을 함유한 기능성 화장품 소재 시제품 개발



그림 36. 마 깍질 추출 유효성분을 함유한 기능성 화장품 소재 시제품

- 특허 (제 10-2022-0160035호) 내용 적용된 처방으로 시제품 생산 및 안정도 관찰 중
 - 마깍질 추출물 50% 솔루션 5% 함유
 - 추후 출시 예정



그림 37. 마 깍질 활용 기능성 향장 소재를 활용한 시제품

(2) 화장품 요구 규격 설정 및 안정성 평가, 물성 평가

○ 개요

- 본 과제를 통해 도출하고자 하는 기능성 소재의 최종 제품 형태는 진액, 분말과 같은 형태가 아닌 소비자가 피부에 바르는 화장품의 형태이므로, 기능성 소재 이외의 부형제 등과 섞여서 상온에서 제조, 유통될 것으로 예상함. 따라서 기능성 소재가 실제 제품의 제형과 섞인 혼합물 상태에서 기능성 물질의 안정성(stability)이 충분한지 검증이 필요함. 마깍질 추출물을 크림 형태의 화장품 제형과 혼합한 후 시간에 따라 유효성분의 함량을 측정하여 실제로 크림 제형에서 추출물이 안정성을 갖는지 평가하였음.

○ 실험방법

- 마껍질 원물 100 g을 99% EtOH 용매 2L에 상온에서 2시간동안 초음파 추출하여 추출물을 수득하고 여과하여 농축함. 수득한 농축 추출물을 75% EtOH 용매에 3.3% 농도가 되도록 희석하고 희석액을 전체 제형의 1.5%가 되도록 혼합하고 균질화 하여 제형을 완성함.
- 제형 1 g을 수득하고 99% EtOH 용매 20 ml로 추출한 후 원심분리, 시린지 필터를 거쳐서 여과한 여액을 완전히 건조시킨 후 0.5 ml MeOH에 용해시킨 후 유효성분 분석방법에 따라 정량분석을 수행하였음.
- 제형을 제조한 직후, 1주(7일), 2주, 4주, 6주, 8주차에 각각 4℃와 50 ℃환경에 보관했다가 유효성분의 함량을 측정하였음.

○ 결과

- 표 B와 같이 온도가 낮은 조건이나 높은 조건이나 8주간의 모니터링 결과 유효성분의 함량이 크게 차이나지 않았으며 제품화하더라도 유통 안정성에 문제 없을 것으로 판단하였음.

표25. 마껍질 추출물 유효성분의 제형에서의 함량 변화(4℃와 50 ℃ 조건)

마껍질 제형 100 g당 유효성분 (PHE 1, PHE 2, PHE 3) 함량 (µg) 4℃ 조건				마껍질 제형 100 g당 유효성분 (PHE 1, PHE 2, PHE 3) 함량 (µg) 50℃조건			
주차	PHE 1	PHE 2	PHE 3	주차	PHE 1	PHE 2	PHE 3
0	0.76	0.73	1.04	0	0.77	0.75	1.05
1	0.75	0.73	1.03	1	0.75	0.74	1.05
2	0.75	0.73	1.03	2	0.75	0.73	1.03
4	0.73	0.72	1.03	4	0.74	0.71	1.02
6	0.73	0.72	1.03	6	0.74	0.71	1.01
8	0.74	0.71	0.99	8	0.72	0.70	1.00

○ 마껍질 크림 A 외 4종의 피부접촉에 의한 피부 일차 자극 평가에 대한 인체적용시험

- 보습제 15~20%, 에몰리언트 15~20%, 유화제 3~5%로 구성된 동일 베이스에 마껍질추출물 함량별 5가지 샘플(무첨가, 115ppm, 230ppm, 500ppm, 1,000ppm)에 대해 일차자극 테스트 실시 (임상기관 : 한국피부과학연구원)

인체적용시험 결과보고서 요약문

시험제목	마갑질 크림 A 외 4종의 피부첨포에 의한 피부 일차 자극 평가에 대한 인체적용시험
시험기관	한국피부과학연구원 서울특별시 송파구 법원로11길 25, 에이동 6층(문정동, 에이치비지니스파크)
의뢰기관	(주)엔에프씨
시험책임자	이학박사 안인숙
시험담당자	피부과 전문의 신원웅, 권승빈, 홍일, 권유정, 김윤, 조민지, 신수정, 권희민, 강지윤, 홍수경, 김현경, 유서연, 박소연
시험기간	2022년 7월 29일(시험개시일) - 2022년 8월 26일(시험종료일) (시험개시일 : 시험책임자가 시험계획서에 서명한 날/시험종료일 : 시험책임자가 최종보고서에 서명한 날)
시험기간 (축정기간)	2022년 8월 8일(피시험자1차방문일) - 2022년 8월 11일(범문종료일)
피시험자 선정기준	피시험자 선정기준에 부합하고 제외기준에 해당되지 않는 20세 이상의 성인 남녀
최종 시험 완료한 피시험자 연령 및 인원	26~65세의 성인 남녀 30명 (평균 50.83 / 표준편차 10.01)
시험물질명	마갑질 크림 A(시험물질 #1) 마갑질 크림 B(시험물질 #2) 마갑질 크림 C(시험물질 #3) 마갑질 크림 D(시험물질 #4) 마갑질 크림 E(시험물질 #5)
시험방법	피시험자 30명을 대상으로 Finn Chamber를 이용하여 피부첨포시험을 실시하였다. 피시험자의 등 부위를 70% 에탄올로 닦아내고 건조시킨 다음, 시험물질 20 μl를 직경 8 mm의 Finn Chamber에 적하하고 시험부위에 부착하여 고정하였다. 첩포는 24시간 동안 부착하였고, 첩포 제거 후 30분, 24시간, 48시간 경과 후 피부과 전문의에 의하여 국제접촉피부염연구회(International Contact Dermatitis Research Group: ICDRG)의 판정기준에 따라 자극 정도를 관찰하였다.
시험결과	(주)엔에프씨에서 의뢰한 마갑질 크림 A 외 4종을 24시간 동안 피부에 첩포하고, 첩포 제거 후 30분, 24시간, 48시간 경과 후의 시험부위에서 나타난 피부반응을 국제접촉피부염연구회의 판정기준에 따라 자극 정도를 분류하고 결과 판정표에 따라 평균 피부반응도(Mean score)를 구하였다. 마갑질 크림 A는 첩포 제거 후 30분, 24시간, 48시간 경과 후에 자극이 관찰되지 않았다. 평균 피부반응도는 0.00으로 판정기준에 따라 무자극으로 판정되었다. 마갑질 크림 B는 첩포 제거 후 30분, 24시간, 48시간 경과 후에 자극이 관찰되지 않았다. 평균 피부반응도는 0.00으로 판정기준에 따라 무자극으로 판정되었다. 마갑질 크림 C는 첩포 제거 후 30분, 24시간, 48시간 경과 후에 자극이 관찰되지 않았다. 평균 피부반응도는 0.00으로 판정기준에 따라 무자극으로 판정되었다. 마갑질 크림 D는 첩포 제거 후 30분, 24시간, 48시간 경과 후에 자극이 관찰되지 않았다. 평균 피부반응도는 0.00으로 판정기준에 따라 무자극으로 판정되었다. 마갑질 크림 E는 첩포 제거 후 30분, 24시간, 48시간 경과 후에 자극이 관찰되지 않았다. 평균 피부반응도는 0.00으로 판정기준에 따라 무자극으로 판정되었다.
시험결과	(주)엔에프씨에서 의뢰한 마갑질 크림 A 외 4종의 피부첨포에 의한 피부 일차 자극 평가에 대한 인체적용시험 결과, 판정기준에 따라 무자극으로 도출되어 저자극 제품군에 속하는 것으로 판단된다.

그림 38. 피부첨포에 의한 피부 일차 자극 평가에 대한 인체적용시험 결과

- 시험결과 마갑질 크림 A 외 4종에 대한 피부 일차 자극 시험에서 피부 첩포 제거 후 30분, 24시간, 48시간 모두에서 자극이 없음이 확인됨.
- 따라서 인체적용시험 결과, 판정 기준에 따라 무자극으로 도출되어 저자극 제품 군에 속하는 것으로 판명됨.

(3) 주름 개선 화장품 인체 적용 효능 평가

○ ‘엔에프씨 안티링클 크림’의 눈가주름 개선에 대한 인체적용시험

- 보습제 15~20%, 에몰리언트 15~20%, 유효제 3~5%로 구성된 동일 베이스에 마갑질추출물 유무에 따른 주름개선 효과 확인 (임상기관 : 한국피부과학연구원)
- 시험 결과, 마갑질 추출물을 함유한 크림의 경우, 눈가 주름개선에 도움을 주는 것으로 확인됨

1. ANTERA 3D에 의한 눈가주름 분석 사진

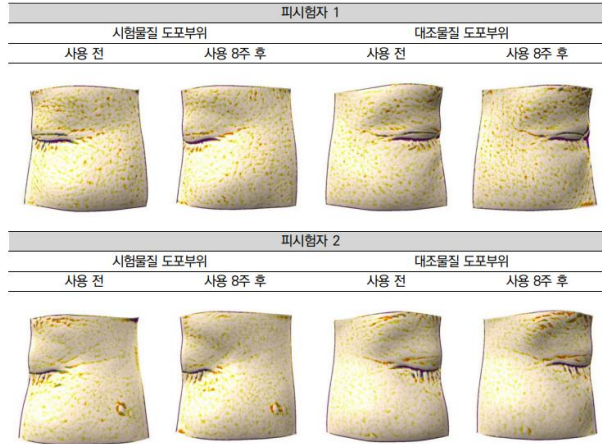


그림 39. ANTERA 3D를 통해 확인한 눈가주름 분석 사진

인체적용시험 결과보고서 요약문

시험제목	'엔에프씨 안티링클 크림'의 눈가주름 개선에 대한 인체적용시험		
시험기관	한국피부과학연구원 서울특별시 송파구 법원로11길 25, 에이동 6층(문정동, 에이치비지니스파크)		
의뢰기관	주식회사 엔에프씨		
시험책임자	이학박사 안인숙		
시험담당자	권승빈, 홍일, 권유정, 김윤, 조민지, 신수정, 권희민, 강지윤, 홍수경, 김현경, 박소연		
시험물질명	엔에프씨 안티링클 크림(시험물질) 엔에프씨 안티링클 크림(대조물질)		
시험기간	2022년 8월 25일(시험개시일) ~ 2022년 11월 11일(시험종료일) (시험개시일 : 시험책임자가 시험계획서에 서명한 날/시험종료일 : 시험책임자가 최종보고서에 서명한 날)		
시험기간 (축정기간)	2022년 9월 2일(피시험자1차방문일) ~ 2022년 10월 28일(축정종료일)		
피시험자 선정기준	피시험자 선정기준에 부합하고 제외기준에 해당되지 않는 30~59세의 성인 여성		
최종 시험 완료한 피시험자 연령 및 인원	37~59세 성인 여성 22명 (평균 50.32 / 표준편차 4.96)		
시험방법	치료사용법	시험기간인 8주 동안 1일 2회 아침, 저녁 세안 후 왼쪽 안면부위에는 시험물질인 '엔에프씨 안티링클 크림'을, 오른쪽 안면부위에는 대조물질인 '엔에프씨 안티링클 크림' 동일한 양을 고르게 펴 발라 흡수시켰다.	
	평가방법	한국피부과학연구원 표준작업지침서(SOP)에 따라 진행되었으며, 모든 절차는 신뢰성 보증업무 담당자가 점검하였음 1. 기기측정 1) ANTERA 3D에 의한 눈가주름 개선 평가 2. 피부이상반응 평가 3. 설문조사	
시험결과	1. ANTERA 3D를 이용한 눈가주름 평가 결과 피부의 주름을 나타내는 Wrinkle small 값이 시험물질 사용 전과 비교하여 시험물질 도포부위에서 2주 사용 후 5.01%, 4주 사용 후 8.37%, 8주 사용 후 12.42%, 대조물질 도포부위에서 2주 사용 후 1.91%, 4주 사용 후 4.18%, 8주 사용 후 6.11% 감소되어 시험물질 도포부위가 대조물질 도포부위와 비교하여 눈가주름이 개선됨을 나타내었다($p < .01$). 2. 시험기간 동안 피시험자로부터 피부이상반응은 관찰되지 않았다.		
결론	주식회사 엔에프씨에서 의뢰한 '엔에프씨 안티링클 크림'은 눈가주름 개선에 도움을 주는 제품으로 판단된다.		

그림 40. 눈가주름 개선에 대한 인체적용시험 결과

3. 연구개발과제의 수행 결과 및 목표 달성 정도

1) 연구수행 결과

(1) 정성적 연구개발성과

- 마껍질 원료 저장법 및 건조법 최적화
 - 기능성 화장품 소재 원료 및 제조 표준화를 위한 유효성분 분석법 개발 및 유효성 검증
 - HPLC분석법을 통한 마 품종, 원물 보관법, 건조 방법 등의 원료 표준화
 - 마껍질의 중금속, 미생물 등 위해요소 검증
 - 마껍질 추출물 및 유효성분의 항 노화 기능성 평가
 - 기능성 향장소재 최적 제형 레시피 개발 및 방부시스템 확립
 - 마껍질 활용 기능성 향장 소재의 추출 및 농축 제조법 표준화
 - 마껍질 추출물 및 유효성분의 효능 평가를 통한 항노화 효능 관련 작용기전 규명
 - 인공피부를 이용한 항노화 효능 평가
 - 화장품 소재 시제품 생산
 - 화장품 규격 설정 및 안정성, 물성 평가
 - 주름 개선 화장품 인체 적용 효능 평가
-

(2) 정량적 연구개발성과(해당 시 작성하며, 연구개발과제의 특성에 따라 수정이 가능합니다)

- 지식재산권
 - 특허출원: 1건 완료
 - 출원번호: 10-2021-0135999
 - 발명 명칭: 장마 추출물 또는 페난트렌 화합물을 유효성분으로 포함하는 피부 노화 예방 또는 개선용 조성물 {Composition comprising Dioscorea batatas DECNE extracts or phenanthrene compounds for preventing or improving skin aging}
 - 출원일: 2021년 10월 13일

 - 지식재산권
 - 특허출원: 1건 완료
 - 출원번호: 10-2022-0160035
 - 발명 명칭: 음이온 계면활성제를 사용하여 안정화된 마껍질추출물을 함유하는 화장료 조성물 및 이의 제조방법 {Cosmetic composition containing extract of shell of dioscorea polystachya stabilized by using anionic surfactants and preparing method thereof}
 - 출원일: 2022년 11월 25일

 - 지식재산권
 - 특허출원: 1건 완료
 - 출원번호: 10-2023-0020959
 - 발명 명칭: 마 속 식물 껍질 또는 이로부터 유래한 페난트렌 화합물을 유효성분으로 포함하는 피부 보습용 조성물 {Composition for skin moisturizing comprising genus Dioscorea peel or phenanthrene compounds derived from the same}
 - 출원일: 2023년 02년 16일

 - 기술실시
 - 기술명 : 노하우기술이전계약서
 - 실시기관: 경북대학교 산학협력단
 - 기술실시권: 통상실시권
 - 기술실시일: 2023년 01월 10일

 - 학술대회발표
-

-
- 발표명: The Beneficial Effects of *Dioscorea Batatas* DECNE Peel Extract on Skin Health
 - 학술대회명: 2021 KFN International Symposium and Annual Meeting
 - 일시: 2021년 10월 28일
- 학술대회발표
 - 발표명: Quantitative analysis of three types of phenanthrenes and method validation for the development of an optimized extraction method from genus *Dioscorea* peels
 - 학술대회명: 2021 KFN International Symposium and Annual Meeting
 - 일시: 2021년 10월 28일
- 학술대회발표
 - 발표명: Anti-Skin Aging Effect of *Dioscorea Batatas* Decne Peel Extract on Ultraviolet-Irradiated Human Dermal Fibroblast Cells
 - 학술대회명: 2022 KoSFoST Korean Society of Food Science and Technology
 - 일시: 2022년 07월 06일
- 학술대회발표
 - 발표명: Development of the standardized method for bioactive phenanthrenes extraction from *Dioscorea* sp. Peel
 - 학술대회명: 2022 한국식품과학회 정기학술대회
 - 일시: 2022년 7월 8일
- 학술대회발표
 - 발표명: Optimal extraction method for high phenanthrene detection in *Dioscorea* sp. peels by enzymatic treatments
 - 학술대회명: 2022 한국생약학회 정기학술대회
 - 일시: 2022년 11월 3일
- 학술논문 (비SCI)
 - 논문명: 아미노 결합 정지상 HPLC 컬럼을 이용한 마 껍질의 allantoin 함량 분석
 - 저널명: 한국식품위생안전성학회지 (Journal of the Food Hygiene and Safety)
 - 출판일: 2021/08/30
- 학술논문 (SCI)
 - 논문명: Development and Validation of Quantitative Analysis Method for Phenanthrenes in Peels of the *Dioscorea* Genus
 - 저널명: Journal of Microbiology and Biotechnology
 - 출판일: 2022/08/28
- 학술논문 (SCI)
 - 논문명: Quantification of Allantoin in Yams (*Dioscorea* sp.) Using a ¹HNMRSpectroscopicMethod
 - 저널명: Journal of Microbiology and Biotechnology
 - 출판일: 2023/05/28
- 학술논문 (SCI)
 - 논문명: Evaluation of Dermatologic Biological Activities of *Dioscorea batatas* Decne peel extract
 - 저널명: Journal of the Science of Food and Agriculture (JSFA)
 - 출판일: 심사중
- 학술논문 (SCI)
 - 논문명: Humulone promotes collagen synthesis by activating the TGF-β/Smad signaling pathway in the human dermal fibroblast
 - 저널명: Journal of Microbiology and Biotechnology
 - 출판일: 심사중
-

- 인력양성
 - 학사급 인력 2인
 - 석사급 인력 4인

- 고용창출
 - 22명 고용완료

- 홍보실적
 - 중앙전문지 홍보 1건
 - 기술발표회 발표 1건

< 정량적 연구개발성과표 >

(단위 : 건, 천원)

성과지표명			연도	2021	2022	계	가중치 (%)
전담기관 등록·기탁 지표 ¹⁾		목표(단계별)					
		실적(누적)					
		목표(단계별)					
		실적(누적)					
연구개발과제 특성 반영 지표 ²⁾	주름개선 화장품 소재 원료 표준화	목표(연차별)	1	-	1	25	
		실적(누적)	1		1	25	
	주름개선 화장품 소재 제조법 표준화	목표(연차별)	-	1	1	25	
		실적(누적)	-	1	1	25	
	시제품 개발	목표(연차별)	-	2	2	25	
		실적(누적)	-	2	2	25	
	마감질 추출물 함유 화장품의 인체적용 주름개선 검증 공인시험 보고서	목표(연차별)	-	1	1	25	
		실적(누적)	-	1	1	25	
	계	목표(연차별)		1	4	5	100
		실적(누적)		1	4	5	100

< 연구개발성과 성능지표 >

평가 항목 (주요성능 ¹⁾)	단위	전체 항목에서 차지하는 비중 ²⁾ (%)	세계 최고		연구개발 전 국내 성능수준	연구개발 목표치		목표설정 근거	
			보유국/보유기관	성능수준	성능수준	2021년	2022년		
1	마검질 추출물 의 중급속 함량	건	5	해당사항없음	-	-	3	-	공인시험기관
2	마검질 추출물 의 지표성 분 함량	건	20	해당사항없음	-	-	5	3	자체 평가
3	마검질 추출물 및 유효성 분의 항노화 기능성 평가	건	20	해당사항없음	-	-	4	-	식품의약품안 전처 기능성화장품 항노화 효능 평가 가이드라인 (in vitro 실험) 시험법
4	마검질 추출물 및 유효성 분의 항노화 효능 관련 작용기 전 규명	건	15	해당사항없음	-	-	-	3	실험실 자체 평가
5	마검질 추출물 함유 화장품 주름개 선 검증	건	20	해당사항없음	-	-	0	1	공인시험기관
6	마검질 함유 화장품 시제품 개발	건	20	해당사항없음	-	-	0	2	주관기관(NF C) 자체

* 1) 정밀도, 인장강도, 내충격성, 작동전압, 응답시간 등 기술적 성능판단기준이 되는 것을 의미합니다.

* 2) 비중은 각 구성성능 사양의 최종목표에 대한 상대적 중요도를 말하며 합계는 100%이어야 합니다.

(3) 세부 정량적 연구개발성과(해당되는 항목만 선택하여 작성하되, 증빙자료를 별도 첨부해야 합니다)

[과학적 성과]

논문(국내외 전문 학술지) 게재

번호	논문명	학술지명	주저자명	호	국명	발행기관	SCIE 여부 (SCIE/비SCIE)	게재일	등록번호 (ISSN)	기여율
1	아미노 결합 정지상 HPLC 컬럼을 이용한 마 껍질의 allantoin 함량 분석	한국식품 위생안전 성학회지	이미정	4	대한민국	한국식품위 생안전성학 회	비SCIE	2021.08.30	1229-1153	100%
2	Development and Validation of Quantitative Analysis Method for Phenanthrenes in Peels of the Dioscorea Genus	Journal of Microbiology and Biotechnology	김훈성, 가오타오 구엔	32(8)	대한민국	한국미생물 생명공학회	SCIE	2022.08.28	1017-7825	100%
3	Quantification of Allantoin in Yams (<i>Dioscorea</i> sp.) Using a ¹ H NMR Spectroscopic Method	Journal of Microbiology and Biotechnology	가오타오 구엔	33(2)	대한민국	한국미생물 생명공학회	SCIE	2023.05.28	1017-7825	100%
4	Evaluation of Dermatologic Biological Activities of Dioscorea batatas Decne peel extract	Journal of the Science of Food and Agriculture	김유현		미국	Wiley	SCI	심사중	1097-0010	100
5	Humulone promotes collagen synthesis by activating the TGF-β/Smad signaling pathway in the human dermal fibroblast	Journal of Cellular Biochemistry	이유림		미국	Wiley	SCI	심사중	0730-2312	100

국내 및 국제 학술회의 발표

번호	회의 명칭	발표자	발표 일시	장소	국명
1	한국식품영양과학회 정기학술대회	김훈성	2021. 10. 28	부산 벅스코	대한민국
2	한국식품영양과학회 정기학술대회	김유현	2021. 10. 28	부산 벅스코	대한민국
3	KoSFoST Korean Society of Food Science and Technology	이태환	2022.07.06	부산 벅스코	대한민국
4	한국식품과학회 정기학술대회	여채은	2022. 07. 08	부산 벅스코	대한민국
5	한국생약학회 정기학술대회	여채은	2022. 11. 03	이화여자대학교 ECC	대한민국

기술 요약 정보

연도	기술명	요약 내용	기술 완성도	등록 번호	활용 여부	미활용사유	연구개발기관 외 활용여부	허용방식

보고서 원문

연도	보고서 구분	발간일	등록 번호

생명자원(생물자원, 생명정보)/화합물

번호	생명자원(생물자원, 생명정보)/화합물 명	등록/기탁 번호	등록/기탁 기관	발생 연도

[기술적 성과]

지식재산권(특허, 실용신안, 의장, 디자인, 상표, 규격, 신제품, 프로그램)

번호	지식재산권 등 명칭 (건별 각각 기재)	국명	출원				등록			기여율	활용 여부
			출원인	출원일	출원 번호	등록 번호	등록인	등록일	등록 번호		
1	장마 추출물 또는 페난트렌 화합물을 유효성분으로 포함하는 피부 노화 예방 또는 개선용 조성물	대한민국	경북대학교 산학협력단	2021.10.13	10-2021-0135999					100	
2	음이온 계면활성제를 사용하여 안정화된 마검질추출물을 함유하는 화장료 조성물 및 이의 제조방법	대한민국	주식회사 엔에프씨	2022.11.25	10-2022-0160035					100	
3	마 속 식물 껍질 또는 이로부터 유래한 페난트렌 화합물을 유효성분으로 포함하는 피부 보습용 조성물	대한민국	경북대학교 산학협력단/가톨릭대학교 산학협력단	2023.02.16	10.2023.0020959					100	

○ 지식재산권 활용 유형

※ 활용의 경우 현재 활용 유형에 √ 표시, 미활용의 경우 향후 활용 예정 유형에 √ 표시합니다(최대 3개 중복선택 가능).

번호	제품화	방어	전용실시	통상실시	무상실시	매매/양도	상호실시	담보대출	투자	기타

저작권(소프트웨어, 서적 등)

번호	저작권명	창작일	저작자명	등록일	등록 번호	저작권자명	기여율

신기술 지정

번호	명칭	출원일	고시일	보호 기간	지정 번호

기술 및 제품 인증

번호	인증 분야	인증 기관	인증 내용		인증 획득일	국가명
			인증명	인증 번호		

표준화

○ 국내표준

번호	인증구분 ¹⁾	인증여부 ²⁾	표준명	표준인증기구명	제안주체	표준종류 ³⁾	제안/인증일자

- * 1) 한국산업규격(KS) 표준, 단체규격 등에서 해당하는 사항을 기재합니다.
- * 2) 제안 또는 인증 중 해당하는 사항을 기재합니다.
- * 3) 신규 또는 개정 중 해당하는 사항을 기재합니다.

○ 국제표준

번호	표준화단계구분 ¹⁾	표준명	표준기구명 ²⁾	표준분과명	의장단 활동여부	표준특허 추진여부	표준개발 방식 ³⁾	제안자	표준화 번호	제안일자

- * 1) 국제표준 단계 중 신규 작업항목 제안(NP), 국제표준초안(WD), 위원회안(CD), 국제표준안(DIS), 최종국제표준안(FDIS), 국제표준(IS) 중 해당하는 사항을 기재합니다.
- * 2) 국제표준화기구(ISO), 국제전기기술위원회(IEC), 공동기술위원회1(JTC1) 중 해당하는 사항을 기재합니다.
- * 3) 국제표준(IS), 기술시방서(TS), 기술보고서(TR), 공개활용규격(PAS), 기타 중 해당하는 사항을 기재합니다.

[경제적 성과]

시제품 제작

번호	시제품명	출시/제작일	제작 업체명	설치 장소	이용 분야	사업화 소요 기간	인증기관 (해당 시)	인증일 (해당 시)
PA0417-AL0001	마검질 추출물	/2023.04.17.	(주)엔에프씨	경북 안동시 풍산읍 산업단지 2길 5	화장품 원료	12개월		
SC0496-GW7601	마검질 안티링클 크림	/2022.10.04.	(주)엔에프씨	인천광역시 연수구 갯벌로 145번길 15-8	화장품 완제	24개월		

기술 실시(이전)

번호	기술 이전 유형	기술 실시 계약명	기술 실시 대상 기관	기술 실시 발생일	기술료 (해당 연도 발생액)	누적 징수 현황
1	통상실시권	노하우기술이전계약서	경북대학교 산학협력단	2022.12.29.	1,000,000	1,000,000

- * 내부 자금, 신용 대출, 담보 대출, 투자 유치, 기타 등

사업화 투자실적

번호	추가 연구개발 투자	설비 투자	기타 투자	합계	투자 자금 성격*

□ 사업화 현황

번호	사업화 방식 ¹⁾	사업화 형태 ²⁾	지역 ³⁾	사업화명	내용	업체명	매출액		매출 발생 연도	기술 수명
							국내 (천원)	국외 (달러)		

- * 1) 기술이전 또는 자기실시
- * 2) 신제품 개발, 기존 제품 개선, 신공정 개발, 기존 공정 개선 등
- * 3) 국내 또는 국외

□ 매출 실적(누적)

사업화명	발생 연도	매출액		합계	산정 방법
		국내(천원)	국외(달러)		
합계					

□ 사업화 계획 및 무역 수지 개선 효과

성과		마감질 추출물 활용 원료 소재 개발 및 화장품 적용			
사업화 계획	사업화 소요기간(년)	1년			
	소요예산(천원)	100,000			
	예상 매출규모(천원)	현재까지	3년 후	5년 후	
		-	40,000	80,000	
	시장 점유율	단위(%)	현재까지	3년 후	5년 후
			국내	0.0002%	0.0004%
국외			0.000005%	0.00001%	
향후 관련기술, 제품을 응용한 타 모델, 제품 개발계획		크림, 에센스류 등으로 추가 계획 중			
무역 수지 개선 효과(천원)	수입대체(내수)	현재	3년 후	5년 후	
		0	0	0	
	수출	0	10,000	20,000	

□ 고용 창출

순번	사업화명	사업화 업체	고용창출 인원(명)		합계
			2021년	2022년	
1		엔에프씨	1	21	22
합계			1	21	22

□ 고용 효과

구분		고용 효과(명)	
고용 효과	개발 전	연구인력	
		생산인력	
	개발 후	연구인력	
		생산인력	

□ 비용 절감(누적)

순번	사업화명	발생연도	산정 방법	비용 절감액(천원)
합계				

□ 경제적 파급 효과

(단위: 천원/년)

구분	사업화명	수입 대체	수출 증대	매출 증대	생산성 향상	고용 창출 (인력 양성 수)	기타
해당 연도							
기대 목표							

□ 산업 지원(기술지도)

순번	내용	기간	참석 대상	장소	인원

□ 기술 무역

(단위: 천원)

번호	계약 연월	계약 기술명	계약 업체명	계약업체 국가	기 징수액	총 계약액	해당 연도 징수액	향후 예정액	수출/ 수입

[사회적 성과]

□ 법령 반영

번호	구분 (법률/시행령)	활용 구분 (제정/개정)	명 칭	해당 조항	시행일	관리 부처	제정/개정 내용

□ 정책활용 내용

번호	구분 (제안/채택)	정책명	관련 기관 (담당 부서)	활용 연도	채택 내용

□ 설계 기준/설명서(시방서)/지침/안내서에 반영

번호	구분 (설계 기준/설명서/지침/안내서)	활용 구분 (신규/개선)	설계 기준/설명서/ 지침/안내서 명칭	반영일	반영 내용

□ 전문 연구 인력 양성

번호	분류	기준 연도	현황										
			학위별				성별		지역별				
			박사	석사	학사	기타	남	여	수도권	충청권	영남권	호남권	기타
1		2021		3	2		2	3			5		
2		2022	박사	석사	학사	기타	남	여	수도권	충청권	영남권	호남권	기타
				1			1				1		

□ 산업 기술 인력 양성

번호	프로그램명	프로그램 내용	교육 기관	교육 개최 횟수	총 교육 시간	총 교육 인원

□ 다른 국가연구개발사업에의 활용

번호	중앙행정기관명	사업명	연구개발과제명	연구책임자	연구개발비

□ 국제화 협력성과

번호	구분 (유치/파견)	기간	국가	학위	전공	내용

□ 홍보 실적

번호	홍보 유형	매체명	제목	홍보일
1	중앙전문지	머니투데이	엔에프씨, 대마에서 고순도 CBD 추출 특허 출원	2022.12.06.
2	기술발표회	2022년 농식품 R&D 경북지역 거점기술 유망기술 발표회	마 껍질 활용 주름 개선 고부가가치 기능성 화장품 소재	2022.12.08.

□ 포상 및 수상 실적

번호	종류	포상명	포상 내용	포상 대상	포상일	포상 기관

[인프라 성과]

□ 연구시설·장비

구축기관	연구시설/ 연구장비명	규격 (모델명)	개발여부 (○/×)	연구시설·장비 종합정보시스템* 등록여부	연구시설·장비 종합정보시스템* 등록번호	구축일자 (YY.MM.DD)	구축비용 (천원)	비고 (설치 장소)

* 「과학기술기본법 시행령」 제42조제4항제2호에 따른 연구시설·장비 종합정보시스템을 의미합니다.

[그 밖의 성과](해당 시 작성합니다)

(4) 계획하지 않은 성과 및 관련 분야 기여사항(해당 시 작성합니다)

2) 목표 달성 수준

추진 목표	달성 내용	달성도(%)
○ 특허출원 3건	○ 특허출원 3건	○ 100%
○ 특허등록 1건	○ 특허등록 0건	○ 0%
○ 기술이전 1건	○ 기술이전 1건	○ 100%
○ 고용창출 1명	○ 고용창출 22명	○ 2,200%
○ 학술논문 5건	○ 학술논문 3건	○ 60%
○ 학술발표 4건	○ 학술발표 5건	○ 125%
○ 인력양성 6명	○ 인력양성 6명	○ 100%
○ 홍보전시 1건	○ 홍보전시 2건	○ 200%

4. 목표 미달 시 원인분석

1) 목표 미달 원인(사유) 자체분석 내용

○ 특허 등록 1건 미달

: 1차년도에 출원된 특허가 2차년도에 등록 될 것으로 예상하였으나, 심사진행이 예상보다 늦어져 등록이 지연되고 있음. 과제 종료 후 2023년 내에 등록될 예정.

○ 논문 2건 미달

: 본 연구 총 연구 기간은 1년 9개월로 연구 기간 동안 발생 된 결과물들로 논문을 최종 publication 하는데까지 다소 시간이 촉박하였음. 현재 SCI 논문 2편이 심사 중으로 2023년에 논문 게재 가능함.

2) 자체 보완활동

○ 특허 등록 1건 미달

: 특허 등록 절차가 차질없이 진행될 수 있도록 추후 자료 보완 요청에 충실히 대응할 것임.

○ 논문 2건 미달

: 현재 SCI논문 2편 심사중으로, 2023년 내에 과제 목표 달성하는데 문제 없음.

3) 연구개발 과정의 성실성

○ 2,3개월 간격으로 각 기관 책임자 및 실무자가 모여 비대면 회의 및 대면회의를 진행하고 과제 진행 상황 확인 및 보완할 부분에 관한 토의를 통해 문제점을 개선함

○ 사업계획서에 작성된 목표 달성을 위해 일정에 맞게 연구를 진행하고 결과를 도출함

○ 연구개발 기간이 짧아 목표 성과 달성에 딜레이는 있으나 2023년 1분기 내 최종 목표를 달성할 것으로 예상됨

5. 연구개발성과의 관련 분야에 대한 기여 정도

(단위 : 백만원, %)


총괄과제명	세부과제명	기관명	유형	총 연구개발비 (A)	정부지원 연구개발비 (B)	정부지원 연구개발비 비율 (C=B/A)	성과 유형	기술기여도	
								산정 근거	비율
마კ뽁질 활용 주름 개선 고부가가치 안티에이징 화장품 소재 개발	마კ뽁질 활용 주름 개선 고부가가치 안티에이징 화장품 소재 개발	엔에프씨	중소기업 (영리)	254.2	190	64.2	신규 소재개발	①-①	75
계				254.2	190	64.2	-	-	75

6. 연구개발성과의 관리 및 활용 계획

- 과제를 통해 개발된 마კ뽁질 원료의 화장품 소재 적용을 위해 경북대에서 추출 및 분석 노하우기술을 이전 받아 제품을 개발하고자 함

기술실시 계약	실시권 유형	기술료
노하우기술이전	통상실시권	정액기술료 /1,000,000원

- 마 썩질 1kg에서 바타타신 10%가 함유된 추출물 1g을 생산할 수 있음. 타 천연물 추출물 과 가격 경쟁력 확보를 위해서는 현재보다 약 1/5정도로 단가를 낮추어야함으로 마 썩질 구매 관련 농가 및 기관과 계약을 통해 마 썩질 구매 단가를 낮추고자함
- 제품의 원료인 마썩질의 표준화된 품질관리와 안정적 수급을 위해 경상북도산림자원개발 원 및 안동 지역에서 연간 가공량 기준 10톤 이상의 마를 가공하는 업체들과 협의 중이며, 채취시기(11월-12월), 품종(참마), 건조법(열풍건조), 보관법(냉장보관) 등을 제시하여 이를 준수한 원료를 연간 1톤 이상 수급받을 계획임. 제품의 품질 관리를 위해 유효성분 함량 자체 기준을 설정하였으며, 지속적으로 모니터링하고자 함.
- 기능성화장품 비고시 성분으로 등록을 위해, 기능성 화장품 심사 규정[식품의약품안전처 고시 제 2021- 55호]의 “주성분 규격”, “기준 및 시험방법”, “안전성, 유효성 또는 기능을 입증하는 자료” 등과 같은 필요 추가 연구 검토 및 진행을 통해 피부 주름 개선 비고시 기능성화장품 성분으로 등록을 위해 노력하고자 함.

기술료 징수 및 사용현황 보고서							
(단위 : 원)							
연구개발과제 현황	사업명	유용농생명자원산업화기술개발사업		연구과제번호	121049-2		
	연구과제명	마 겹질 활용 주름 개선 고부가가치 안티에이징 화장품 소재 개발					
	연구개발기관명	주식회사 엔에프씨	연구책임자	홍우진	참여기업명	경북대학교산학협력단/가톨릭대학교산학협력단	
	연구협약일	2021.04.01	연구기간	2021.04.01. - 2022.12.31			
	연구개발비	정부지원연구개발비	기관부담연구개발비	기타 ()	계		
	525,000,000	54,050,000(현물)		579,050,000			
기술실시계약 및 성과활용 현황	계약(활용)명	노하우기술이전계약서					
	계약(활용)일	2022.12.29	실시(활용)기간	2022.12.29. - 2023.03.28			
	지재권 종류	노하우	실시권 유형	통상실시권			
	* 지재권이 특허(출원, 등록)인 경우	명 칭					
		번호					
	실시(활용)기관	기관명	엔에프씨	기관유형	중소기업		
		주 소	인천 연수구 갯벌로 145번길 15-8	대 표 자	유우영		
사업자번호		131-86-37479	전화번호				
부서(담당자)			e-mail				
징수 기술료	구 분	징수년도	징수금액	사용금액	잔 액		
	지년년도 징수						
		소 계					
	당해년도 징수	2023	1,000,000	-	1,000,000		
	계		1,000,000	-	1,000,000		
당해년도 징수 기술료 사용실적	구 분			사 용 금 액			
	- 연구개발과제 참여연구원 보상금			100분의 90이상 사용			
	- 기술이전·사업화 및 지식재산권 출원·등록·유지			나머지 금액			
	- 성과 활용에 기여한 직원 등에 대한 보상금						
- 연구개발 재투자 및 기관운영 경비							
<p>「농림축산식품연구개발사업 운영규정」 제33조제4항에 따라 위와 같이 기술료 사용실적을 보고합니다. 2023년 01월 26일</p> <p style="text-align: center;">연구개발기관 엔에프씨의 대표 </p> <p style="text-align: center;">농림식품기술기획평가원장 귀하</p>							

○ 시장진입

- 개발된 시제품을 활용한 소재 및 완제품의 온·오프라인 홍보, 마케팅 진행
- 국내 뷰티 박람회 참가 및 주관기관 거래처 홍보

○ 국내·외 판로 확보

- 부처(중기청 등), 기술혁신기관(TP 등)의 지원사업 등을 활용한 판로 확보
- 국내·외 전시회 참가 및 기존 거래처(LG생활건강, 코스맥스, 한국콜마, 동국제약 등) 및 해외지사 영업망 활용

○ 사업화 계획

- 마 겹질 추출물을 활용한 화장품 소재 및 완제품의 예상 매출

(단위: 천원)

구분	'23년	'24년	'25년	계
소재	10,000	50,000	100,000	160,000
완제품	-	100,000	300,000	400,000
총	10,000	150,000	400,000	560,000

1) 연구개발성과의 활용방안

- 개발소재의 권리화를 위해 산업재산권 (특허 및 실용실안 등) 취득.
- 개발된 피부 주름 및 미백 개선 기능성 소재는 식약처로부터 기능성 화장품 (원료 및 기능성 성분) 인증 추진.
- 국내·외 화장품 산업체로 기술 및 특허권을 이전하여 이윤창출.
- 1차 산업은 물론, 이를 활용할 수 있는 혁신적 부가가치 산업을 창출.
- 지식재산권이 확보 된 신소재의 기능을 증명하는 연구 결과물들을 세계적으로 권위 있는 과학저널에 발표, 그 외에 학회, 언론 등을 통해 대중에게 고급지식 전달.
- 기존에 형성해 둔 산업체들과의 협력관계를 활용하여, 이들 산업체들의 주력 상품들을 바탕으로 한 맞춤형 미용개선 기능성 화장품 신상품 개발.

2) 연구개발성과의 기대효과

(1) 기술적 측면

- 천연물 유래 미용 기능성 신소재와 미용 관련 단백질과의 구조적 관계 규명.
 - 분자생물학, 구조생물학, 컴퓨터모델링, 화학유전체학 등 다양한 학문분야를 접목하여 기존의 효능증명 연구를 탈피 천연물 유래 미용 기능성 신소재와 미용 관련 단백질의 구조적 관계를 밝힘.
 - 천연물 유래 미용 기능성 소재의 유용생리활성 및 효능을 과학적으로 입증하고, 이의 생물학적 미용 관련 표적을 탐색하여 소재에 대한 원천 정보 확보.
- 다양한 고부가가치 미용 제품 개발 및 산업화 기반 기술 구축.
- 고부가가치 천연 미용 기능성 소재는 타 학문 분야에서도 응용이 가능하며, 향후 의약품 신소재로서도 활용가치가 큼.
- 글로벌 시장에서 천연물 미용 유래 기능성 소재 개발의 국가 경쟁력을 선점하여 관련 기술 및 제품의 수출을 강화.

(2) 경제적·산업적 측면

- 농가 및 유통업체의 폐기 부산물 판매를 통한 비용 절감, 수익 증대
- 미용 기능성 제품 출시를 통한 안동 마의 브랜드 가치 제고
- 안전하고 효능이 뛰어난 천연물 유래 주름 및 미백 개선 기능성 소재의 발굴 및 개발은 기존의 기능성 소재의 수입을 대체하고 관련 제품의 수출 증가를 기대 할 수 있음.
- 국내화장품 시장은 4.5 조원이며 세계화장품 시장은 151조원으로 노화 및 미백에 대한 효능과 그 정확한 작용기작이 규명되는 소재가 개발될 경우 국내 내수 및 수출에 대한 기여도는 매우 높을 것으로 기대됨.
- 세계적으로 대규모 시장을 형성하고 있는 화장품 산업의 발전을 도모하고, 우리나라의 전통 천연물 과학을 세계화하며, 미용 기능성 소재의 수출 산업화에 일조함.

- 기존의 국내 실험실들은 뛰어난 연구력을 갖추고 있음에도 불구하고, 학문적 연구에만 중점을 두고 있어, 국내 산업체가 뛰어난 상품화 및 제형 기술을 가지고 있음에도 불구하고, 연구 결과물들이 제대로 활용되지 못함. 본 연구과제를 통하여 다양한 미용 기능성 소재의 산업적 발전을 기대할 수 있음.
- 기업의 신사업 확장을 통한 고용 창출.

< 연구개발성과 활용계획표 >

구분(정량 및 정성적 성과 항목)		연구개발 종료 후 5년 이내				
		2023	2024	2025	2026	2027
국외논문	SCIE	1				
	비SCIE					
국내논문	SCIE					
	비SCIE					
특허출원	국내					
	국외					
특허등록	국내	1				
	국외					
인력양성	학사					
	석사					
	박사					
사업화	시제품개발					
	상품출시	1				
	기술이전					
	공정개발					
	매출액(단위 : 천원)	10,000	150,000	400,000	600,000	800,000
	기술료(단위 : 천원)	40	750	2,400	4,800	8,000
비임상시험 실시						
임상시험 실시 (IND 승인)	의약품	1상				
		2상				
		3상				
	의료기기					
진료지침개발						
신의료기술개발						
성과홍보						
포상 및 수상실적						
정성적 성과 주요 내용						

< 별첨 자료 >

중앙행정기관 요구사항	별첨 자료
1.	1) 자체평가의견서 2) 연구성과 활용계획서
2.	1) 2)