

RS-2021
-IP1210
12

보안 과제(), 일반 과제(O) / 공개(O), 비공개() 발간등록번호(O)
고부가가치식품기술개발사업 2023년도 최종보고서

발간등록번호

11-1543000-004605-01

기능성
원료의
일반
식품
적용
확대를
위한
연구

2024

농림식품기술기획평가원
농림축산식품부

기능성 원료의 일반 식품 적용확대를 위한 연구

2024.06.12

주관연구기관 / CJ제일제당(주)
공동연구기관 / 한양대학교 산학협력단
/ (주)네오크레마
/ 인테이크(주)

농림축산식품부
(전문기관)농림식품기술기획평가원

제 출 문

농림축산식품부 장관 귀하

본 보고서를 “기능성 원료의 일반식품 적용확대를 위한 연구”(개발기간 : 2021.4.1. ~ 2023. 12.31)과제의 최종보고서로 제출합니다.

납본일자 2024.06.12.

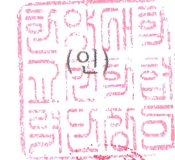
주관연구기관명 : CJ제일제당(주)

강신호



공동연구기관명 : 한양대학교 산학협력단

변중무



(주)네오크레마

한기수



인테크(주)

한복엽



주관연구책임자 : 신동주

공동연구책임자 : 이현규, 한기수, 김정훈

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

최종보고서							보안등급									
							일반[√], 보안[]									
중앙행정기관명		농림축산식품부		사업명		고부가가치식품기술개발사업										
전문기관명 (해당 시 작성)		농림식품기술기획평가원		내역사업명 (해당 시 작성)		미래대응식품기술개발										
공고번호		농축2021-19호		총괄연구개발 식별번호 (해당 시 작성)												
				연구개발과제번호		RS-2021-IP121012										
기술분류	국가과학기술 표준분류	LB1801	45%	LB1706	30%	LB1707	25%									
	농림식품과학기술분류	PA0201	45%	PA0103	30%	PA0105	25%									
총괄연구개발명 (해당 시 작성)		국문														
		영문														
연구개발과제명		국문		기능성 원료의 일반식품 적용확대를 위한 연구												
		영문		Research on the application of functional ingredients to general food												
주관연구개발기관		기관명		CJ제일제당(주)		사업자등록번호										
		주소		서울특별시 중구 동호로 330		법인등록번호										
연구책임자		성명		신동주		직위		부장								
		연락처		직장전화 전자우편		휴대전화										
						국가연구자번호										
연구개발기간		전체		2021. 04. 01 - 2023. 12. 31(2년 9개월)												
		단계 (해당 시 작성)		1단계		2021. 04. 01 - 2022. 12. 31(1년 9개월)										
				2단계		2023. 01. 01 - 2023. 12. 31(1년 0개월)										
연구개발비 (단위: 천원)		정부지원 연구개발비		기관부담 연구개발비		그 외 기관 등의 지원금 지방자치단체 기타()		합계		연구비 외 지원금						
		현금		현금		현물		현금		현물	합계					
총계		550,000		23,000		172,000		-		-		573,000	172,000	745,000		
1단계		1년차		150,000		7,000		44,000		-		-		157,000	44,000	201,000
		2년차		200,000		6,000		66,000		-		-		206,000	66,000	272,000
2단계		1년차		200,000		10,000		62,000		-		-		210,000	62,000	272,000
공동연구개발기관 등 (해당 시 작성)		기관명		책임자		직위		휴대전화		전자우편		비고 역할		기관유형		
공동연구개발기관		한양대학교 산학협력단		이현규		교수								대학		
		(주)네오크레마		한기수		대표이사								중소기업		
		인테크(주)		김정훈		연구소장								중소기업		
연구개발담당자 실무담당자		성명		김은서		직위								부장		
		연락처		직장전화 전자우편		휴대전화								국가연구자번호		

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

2024년 6월 12일

연구책임자: 신동주

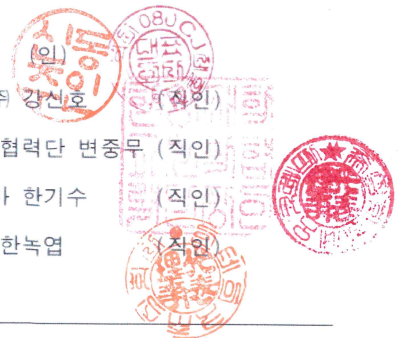
주관연구개발기관의 장: CJ제일제당(주) 강신호 (직인)

공동연구개발기관의 장: 한양대학교 산학협력단 변중무 (직인)

공동연구개발기원의 장: (주)네오크레마 한기수 (직인)

공동연구개발기원의 장: 인테크(주) 한복엽 (직인)

농림축산식품부장관·농림식품기술기획평가원장 귀하



< 요약 문 >

사업명		고부가가치식품기술개발사업		총괄연구개발 식별번호 (해당 시 작성)			
내역사업명 (해당 시 작성)		미래대응 식품[메디푸드 분야]		연구개발과제번호		121012-3	
기술 분류	국가과학기술 표준분류	LB1801	45%	LB1706	30%	LB1707	25%
	농림식품 과학기술분류	PA0201	45%	PA0103	30%	PA0105	25%
총괄연구개발명 (해당 시 작성)							
연구개발과제명		기능성 원료의 일반식품 적용확대를 위한 연구					
전체 연구개발기간		2년 9개월					
총 연구개발비		총 745,000 천원 (정부지원연구개발비: 550,000 천원, 기관부담연구개발비: 195,000 천원)					
연구개발단계		기초[] 응용[] 개발[√] 기타(위 3가지에 해당되지 않는 경우)[]		기술성숙도 (해당 시 기재)		착수시점 기준(8) 종료시점 목표(9)	
연구개발과제 유형 (해당 시 작성)							
연구개발과제 특성 (해당 시 작성)							
연구개발 목표 및 내용	최종 목표		<ul style="list-style-type: none"> ○ 최종목표: 일반식품의 기능성 원료적용 확대를 위한 제형화 등 응용 기술 개발 및 제품화 ○ 세부목표 <ol style="list-style-type: none"> 1) 기능성 원료 특성 연구를 통한 일반식품 적용 문제점 및 연구개발 방향 도출 : 최초 고시 29종 및 건강기능식품 원료의 특성 연구 - 29건 이상 2) 기능성 원료의 일반식품 적용 특성 연구를 통한 문제점 및 연구개발 방향 도출 - 6건 이상 3) 일반식품 적용성이 향상된 기능성 원료 개발 - 3건 이상 4) 기능성 원료 적용을 위한 일반식품 제조공정 개발 - 6건 이상 5) 개발된 기술을 적용한 식품 개발 - 6건 이상 				
	전체 내용		<ul style="list-style-type: none"> ○ 기능성 원료 고유 특성 및 일반식품 적용 특성 분석 ○ 기능성 원료 일반식품 적용성(용해도/안정성) 증진 기술 개발 ○ 일반식품 적용성이 증진된 기능성 원료 개발 ○ 기능성 원료의 일반식품 적용 제조공정 개발 ○ 기능성 원료를 적용한 제품 개발 				
	1단계	목표	○ 기능성 원료 특성 분석 및 일반식품 적용성 증진 기술 개발				
		내용	<ul style="list-style-type: none"> ○ 기능성 원료 고유 특성 분석 및 데이터 구축 ○ 일반식품 적용 시 기능성 원료 특성 평가 ○ 기능성 원료의 일반식품 적용성(용해도/안정성) 증진 기술 개발 ○ 일반식품 적용성이 증진된 pilot scale 기능성 원료 개발 				
2단계	목표	○ 개발 기술이 적용된 기능성 원료의 식품 제조공정 및 제품 개발					
	내용	<ul style="list-style-type: none"> ○ 기능성 원료의 일반식품 적용성 증진 기술 최적조건 확립 및 pilot scale 제조공정 개발 ○ 기능성 원료를 적용한 제품 개발 					

연구개발성과	<p>○ 1차년도: 기능성 원료의 특성 분석을 통한 문제점 및 연구개발 방향을 도출하였음. 최초 고시 29종의 건강기능식품 원료의 특성 연구를 진행하였고, 일반식품 적용에 따른 원료 특성 및 데이터를 구축하였음.</p> <p>○ 2차년도: 일반식품 적용성이 향상된 기능성 원료를 개발하기 위하여, 프로폴리스, 강황추출물, 유산균, 클로렐라를 선정하여 연구개발을 진행하였고 이와 관련한 특허 2건을 출원하였음. 또한 액상 타입의 제품 3건, 분말타입의 제품 1건을 출시하였음. 또한 학술지 논문 1건 게재를 완료하였으며, 학술대회 발표 1건 완료하였음.</p> <p>○ 3차년도: 일반식품 적용성이 향상된 기능성 원료의 대량 생산공정을 설정하고 기술을 최적화 하였음. 프로폴리스, 스피루리나, 강황추출물, 유산균에 관한 추가 연구를 통하여 특허 2건을 출원하였음. 또한 액상 타입의 제품 3건을 출시하였음. 또한 학술지 논문 2건 게재를 완료하였으며, 학술대회 발표 1건 완료하였음.</p>
--------	---

연구개발성과 활용계획 및 기대 효과	<p>○ 활용계획</p> <ul style="list-style-type: none"> - 기능성 원료 특성 연구 및 일반식품 적용성이 향상된 소재 개발 - 기능성 원료를 함유한 일반식품을 개발 및 제품 출시 <p>○ 기대 효과</p> <ul style="list-style-type: none"> - 기능성 원료가 적용된 제품 개발을 통해 소비자 선택지 증가 및 프리미엄 가공식품 시장 활성화 - 고령 인구의 증가 및 삶의 질에 대한 소비자 관심 증가에 부응하는 고부가가치 식품 신시장 창출
---------------------	---

연구개발성과의 비공개여부 및 사유

연구개발성과의 등록·기탁 건수	논문	특허	보고서 원문	연구 시설·장비	기술 요약 정보	소프트웨어	표준	생명자원		화합물	신제품	
								생명 정보	생물 자원		정보	실물
	3	4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

연구시설·장비 종합정보시스템 등록 현황	구입기관	연구시설·장비명	규격 (모델명)	수량	구입 연월일	구입가격 (천원)	구입처 (전화)	비고 (설치장소)	ZEUS 등록번호
	-	-	-	-	-	-	-	-	-

국문핵심어 (5개 이내)	기능성 표시 식품	일반식품	제조공정 개발	기능성 소재	캡슐화
영문핵심어 (5개 이내)	health claim food	general food	development of manufacturing process	functional ingredient	encapsulation

< 목 차 >

1. 연구개발과제의 개요
 2. 연구개발과제의 수행 과정 및 수행내용
 3. 연구개발과제의 수행 결과 및 목표 달성 정도
 4. 연구개발성과 및 관련 분야에 대한 기여 정도
 5. 연구개발성과의 관리 및 활용 계획
 6. 참고문헌
- ※ 별첨 자료
- 1) 자체평가의견서
 - 2) 연구성과 활용계획서
 - 3) 연구부정행위 예방 확인서

1. 연구개발과제의 개요

1) 연구개발의 개요

- 2020년 12월 29일, 일반식품 기능성 표시제도가 시행되면서 일반식품이 과학적 근거를 갖춘 기능성 원료를 함유한 경우 자율 심의를 통한 기능성 표시가 가능해졌음. 이를 통해 건강기능식품보다 더 접근성이 높은 기능성 식품을 소비자에게 제공할 수 있음
- 일반식품의 기능성 표시 확대를 위한 일반식품 제형에 적합한 기능성 원료 안정화, 용해도 증진 등 응용 기술을 개발하여 각 식품 제형에 적합한 공정 연구를 통한 제품 개발을 추진 하고자 함

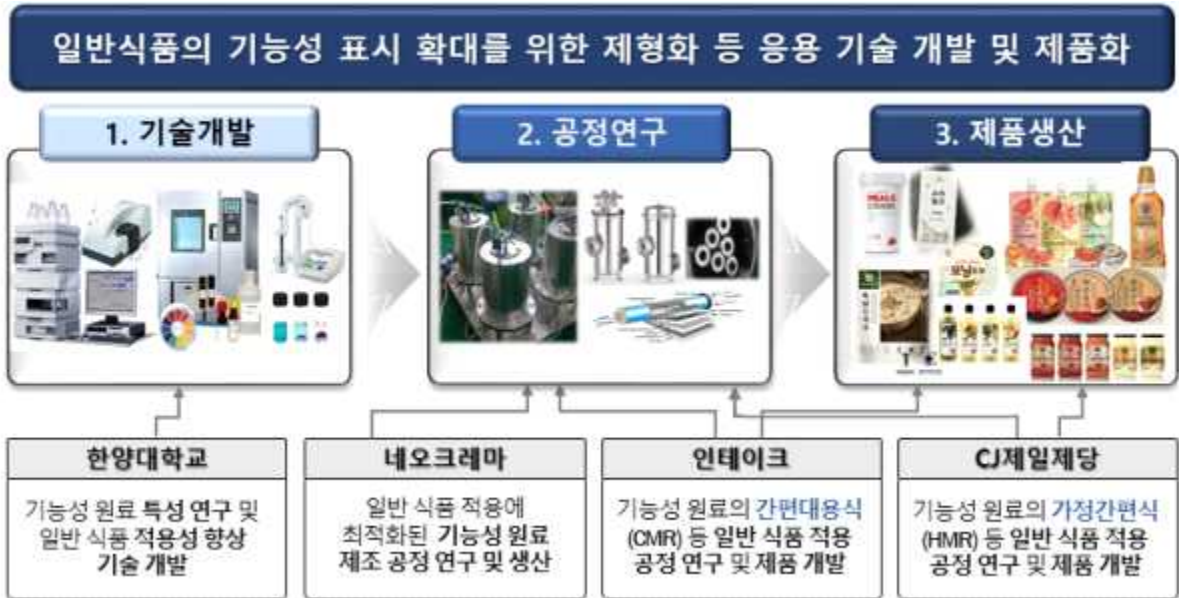


그림 1. 연구개발의 총괄적 개요

2) 연구개발의 배경 및 필요성

(1) 건강기능식품 시장현황 및 한계점

- 2020년 세계 건강기능식품 시장 규모는 전년 대비 5.9% 성장한 1,516억 달러(166조 9,800억 원)로 전망되고 있으며 한국건강기능식품협회는 2022년 국내 건강기능식품 시장 규모를 6조 1,429억원으로 추산하였음
- 2020년은 전 세계를 강타한 COVID-19 사태로 면역력 증진에 도움을 주는 건강기능식품에 대한 소비자 관심이 높아진 해이며 국내 건강기능식품의 생산 실적은 전년도 대비 10% 이상이 증가하였음. 우리나라는 2026년 초고령 사회로 진입할 것을 고려하면, 질병 예방 차원에서 건강기능식품 시장은 지속적으로 성장할 것으로 예상됨

Health Functional Food Market Size in Korea

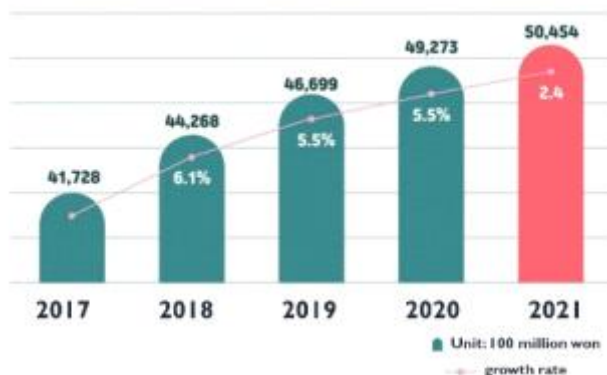


그림 2. 국내 건강기능식품의 판매 추이(억 원)

- 하지만, 건강기능식품은 현재 83여종의 고시형 원료 외에는 인체임상을 비롯한 다양한 연구 결과의 제시를 통해 개별인정을 받아야 하기 때문에, 그 절차가 매우 번거롭고 많은 비용이 드는 단점이 있으며, 최근까지 그 제형이 정제, 캡슐, 분말, 과립, 환, 액상 등으로 제한되어 의약품과 매우 유사하게 관리되어 왔음
- 일본은 2015년 4월부터 기능성표시식품제도가 시행되어 1년 후 3.33배 증가, 2020년 기준 약 3조원의 시장을 형성하였음. 일본시장에서는 음료, 발효유, 캔디, 스낵, HMR, 통조림 등의 다양한 형태의 가공식품에 기능성 원료를 적용하여 제품을 출시하였음. 일본 제품의 사례를 참고하여 다양한 제형의 제품 개발이 가능할 것으로 사료됨.



그림 3. 일본 기능성표시 식품 시장 규모 및 제품 현황

- 일본의 사례를 참고하여 특정보건용 식품과 기능성 표시 식품의 매출 비율을 고려하면, 단기적으로 기능성 표시 식품 시장은 국내 6조원 건강기능식품 시장의 약 10%, 6천억원을 형성할 수 있을 것으로 예상 됨.

(2) 일반식품의 기능성 표시제도 고시

- 식품의약품안전처에서는 제품에 함유된 영양성분이나 원재료가 신체조직과 기능의 증진에 도움을 줄 수 있다는 내용(부당한 표시 또는 광고로 보지 아니하는 식품 등의 기능성 표시 또는 광고에 관한 규정)을 2020년 12월 제정 고시하였음

(3) 기능성 표시를 할 수 있는 식품의 요건

- 기능성을 나타내는 원재료 또는 성분을 사용한 식품 등의 경우, 시험절차와 방법은 [건강기능식품의 기준 및 규격] 또는 [건강기능식품 기능성 원료 및 기준·규격 인정에 관한 규정]에 따라야 함
- 식품 등에 함유된 기능성 원료 또는 성분의 함량은 건강기능식품 1일 섭취기준량의 30% 이상을 충족하고 최대 함량기준을 초과하지 않아야 함. 또한 유통기한까지 유지되어야 하며, 제조일 또는 수입일 기준으로 매 6개월 마다 표시량 기준에 적합하여야 함
- 식품 등에 사용된 기능성 원료 또는 성분은 [건강기능식품에 관한 법률] 제4조 및 같은 법 제22조에 따른 우수건강기능식품제조기준 적용업소에서 제조·가공된 것이어야 함
- [식품위생법] 제48조제3항에 따라 식품안전관리인증기준적용업소로 인증 받은 업소 또는 [축산물 위생관리법] 제9조제3항에 따라 축산물 안전관리인증업소로 인증 받은 업소에서 제조·가공되어야 함

(4) 일반식품 적용 기능성 원료의 특성 연구의 필요성

- 기능성 원료는 낮은 용해도로 일반식품에 적용이 어려울 수 있으며, 일반식품 내에 존재하는 수분, 산소 등에 대한 불안정성으로 기능성분(active compound)의 활성 저하가 발생할 수 있음. 또한, 맛과 물성에 영향을 끼쳐 제품의 소비자 기호도를 떨어뜨릴 수 있으므로 산업적 이용에 제한적임
- 예를 들어 강황의 주성분인 커큐민과 천연 수지 물질인 프로폴리스는 지용성 물질로

수용도가 낮아 식품 응용에 제한적임

- 프락토올리고당은 열 및 pH에 불안정하며, 홍국의 모나콜린 K는 40℃ 이상에서 분해되고 안정성이 떨어져 기능성 활용에 어려움이 있음
- 식이섬유 강화식품은 수용성 및 불용성 식이섬유를 모두 포함하였을 때 가장 이상적인 제품을 제조할 수 있으나 불용성 식이섬유는 물성에 영향을 주기 때문에 식품에 적용이 어렵다는 단점이 있어 현재 시중에 판매되는 대부분의 식이섬유 강화식품에는 불용성 식이섬유를 포함하는 제품이 부족한 실정임
- 따라서, 이러한 문제들을 해결하기 위해 식품의약품안전처의 최초 고시 29종 기능성 원료 및 건강기능식품 원료의 특성 연구가 필요함

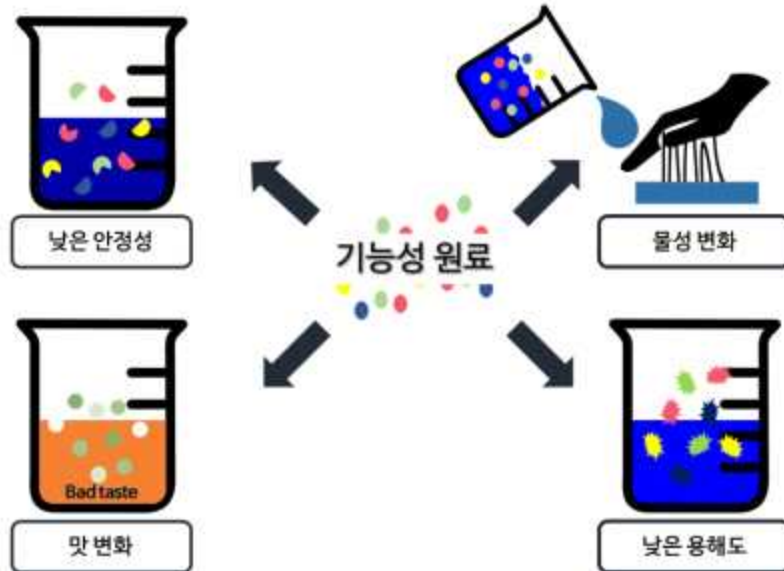


그림 4. 기능성 원료 식품 적용의 문제점

(5) 기능성 원료의 일반식품 적용성(용해도/안정성) 증진 기술 개발의 필요성

- 캡슐화(encapsulation)기술은 기능성 원료의 식품 용해도를 증진시키며 외부 환경으로부터 보호한다는 장점이 있음. 또한, 수용액 내에서 분산된 난용성 물질의 응집과 침전을 효과적으로 억제하기 위해 기존에 사용되었던 안정제 농도를 감소시킬 수 있음. 그러나 국내 식품산업 전반에 있어서 캡슐화 기술 응용 식품의 상용화는 아직까지는 초기 단계에 머물러 있음
- 캡슐의 종류는 파티클(particle), 에멀전(emulsion), 리포솜(liposome) 등이 있으며 캡슐화 방법은 식품산업에서의 장단점이 명확하기 때문에 각 기능성 원료 및 개선 목적에 적합한 캡슐화 방법 선정이 필요함
- 또한, 피복물질의 용해도, 안정성, 유화력 등은 캡슐 제조 과정에서 중요한 요인임. 용도에 적절하게 활용하기 위하여 다양한 피복물질을 이용한 캡슐화 연구가 필요함

표 1. 기능성 원료 캡슐화 시 이용되는 주요 피복물질 특징

피복물질	특징
Chitosan	천연 유래 소재, 용해도 및 안정성 증진
Hyaluronic acid	천연 유래 소재, 용해도 증진
Xanthan gum	안정성 증진, 유화성
Locust bean gum	친수성, 중성과 알칼리성에서 높은 안정성
Sodium alginate	열 안정성 증진
Whey protein isolate	천연 유래 소재, 높은 유화력, 친수성
Sodium dodecyl sulfate	안정성 증진, 계면 활성제
Alginate	천연 유래 소재, 방출 조절 효과, 포집효율 증가
Arabic gum	천연 유래 소재, 높은 유화력, 방출 조절 효과
Poly-glutamic acid	천연 유래 소재, 안정성 증진, 친수성, 높은 생분해성

- 또한, 캡슐 사이즈 감소에 따라 표면적이 증가하여 용해도와 안정성이 증진된다는 연구 결과가 있음. 따라서 기능성 원료의 식품 적용성 증진을 위해 용해도 및 안정성 뿐만 아니라 캡슐 사이즈에 따른 연구도 요구됨

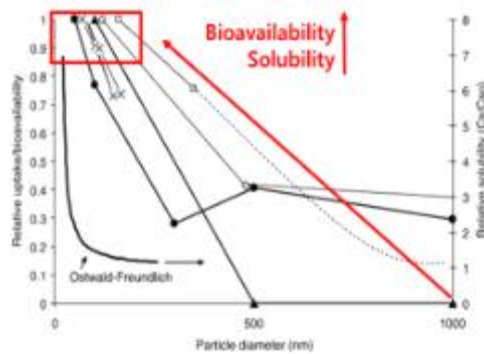


그림 5. 전달체의 크기 감소에 따른 용해도 증진

(6) 일반식품의 기능성 표시를 위한 제형연구, 제조공정연구 등 응용 기술 개발 필요

- 2019년 건강기능식품 소비자 실태 및 시장 구조 조사(BFN 보고서)에 따르면, 액상/음료 제형의 건강기능식품이 전체 제형의 약 39%에 이르고 있으며, 이는 국내 소비자들이 액상/음료 타입의 건강기능식품을 선호한다는 것을 시사하고 있음

표 2. 국내 건강기능식품의 제형별 시장 구조

건강기능식품 형태별 시장	구입자 수 (복수 응답)	구입자 구성비	시장 규모 (6대 도시)	금액 구성비
단위	명	%	금액(억 원)	%
Total	551	100.0	19,994	100.0
액상/음료형태	215	39.0	7,852	39.4
정제형	318	57.7	6,627	33.2
연질캡슐	120	21.8	2,203	11.0
젤리, 카라멜	36	6.5	1,112	5.6
분말형/과립형	35	6.4	1,010	5.1
하드캡슐	31	5.6	553	2.8
환	14	2.5	505	2.5
기타	5	0.9	80	0.4

- 캡슐이나 정제와 달리 액상/음료 제형의 경우 기호성을 가진 건강식품으로 인지되기 때문에, 그 시장의 규모가 의약품 제형과 비교할 수 없이 큼
- 지용성 기능성 소재인 CoQ10은 사업화 초기에는 다양한 제품에 적용되지 못하고 캡슐과 같은 의약품 제형의 제품만이 출시되어 큰 시장을 형성하지 못하였음. 하지만 CoQ10의 가용화를 통해 응용 분야가 액상/음료 등으로 확장됨에 따라 미국과 일본에서 각각 2조원과 4천억원이라는 경이적인 판매고를 올린 바 있음
- 국내에서도 최근 한국야쿠르트는 기존 발효유 제품인 쿠퍼스에 개별인정원료인 헛개

나무를 적용한 건강기능식품을 출시하여 시장의 큰 호응을 얻었으며, 이와 함께 헛개 나무가 차류, 음료, 녹즙 등 다양한 제품에 적용되면서 그 수요가 폭발적으로 증가하였음. 이는 제형 변화를 통해 기존 시장을 확대할 수 있을 뿐 아니라, 대중의 인지도가 형성된 기능성 원료 역시 다양한 기능성 식품에 적용되어 그 수요가 새로이 창출될 수 있다는 것을 시사하고 있음

- 기능성 원료를 일반식품에 적용할 때에는 각기 다른 제형에 따라 기능성분의 안정성, 식품의 맛, 물성 등에 미치는 영향이 상이할 수 있기에 최적화된 제조공정을 확보하는 연구가 필요함

(7) 기능성 표시 일반식품의 다양성 확대 연구 필요성

- 소비자의 다양한 니즈를 충족시키기 어려웠던 이전과는 달리 2011년 법 개정을 통해 건강기능식품의 제형을 기존에서 벗어나 보다 다양한 형태로 허용하였으며, 다양한 소비자의 니즈를 충족시키며 형태와 색상, 맛, 식감을 고려한 다양한 제품들의 출시가 요망됨



그림 6. 기능성 식품 제형 및 종류 다양화

- 기능성 표시 일반식품 출시를 위해서는 식품 유형별로 각 영양성분의 함량 기준에 적합하여야함. CJ 더비비고 제품의 기능성 표시 가능 여부 검토 결과, 총 12개 제품 중 7개 제품의 경우 기능성 원료 추가를 통해 즉시 표시가 가능함. 이외에도 나트륨 함량 조절을 통해 다양한 기능성 표시 일반 제품 출시가 가능하다고 판단되어 이에 대한 구체적인 연구가 요구됨

표 3. CJ 더비비고 제품의 기능성 표시 가능 여부

브랜드	제품명	제품용량 (나트륨함량)	섭취기준량 (제품유형)	섭취기준량 당 나트륨 함량	기능여부
더비비고	들깨소고기죽	350 g (400 mg)	1식 (즉석조리식품)	400 mg	○
	문어미역죽	350 g (350 mg)		350 mg	○
	전복가자미미역국	550 g (1,150 mg)		1,150 mg	×
	수삼갈비탕	500 g (870 mg)		870 mg	×
	뿌리아채죽	350 g (480 mg)		480 mg	×
	전복삼계죽	350 g (440 mg)		440 mg	×
	영양오리백숙	700 g (850 mg)		240 g (식육추출가공 품)	291.4 mg
	도가니탕	500 g (910 mg)	436.8 mg		×
	두부청국장	200 g (660 mg)	50 g (소스)	165 mg	○
	버섯불고기	180 g (480 mg)		133.3 mg	○
우엉소고기	200 g (470 mg)	117.5 mg		○	
차돌우렁강된장	200 g (700 mg)	175 mg		○	

2. 연구개발과제의 수행 과정 및 수행 내용

■ 주관연구기관 (CJ제일제당)

1) 일반식품 적용을 위한 기능성 원료 특성 분석 및 데이터 구축

○ 식품등에 사용할 수 있는 기능성

- (고시형) [건강기능식품의 기준 및 규격]의 고시형 원료 중 다음의 29개에 해당하는 기능성.

표 1. 일반식품에 사용 가능한 고시형 원료

사용할 수 있는 고시형 원료	
원료명	①인삼, ②홍삼, ③클로렐라, ④스피루리나, ⑤프로폴리스 추출물, ⑥구아바잎 추출물, ⑦바나나잎 추출물, ⑧EPA 및 DHA 함유유지, ⑨매실추출물, ⑩구아검/구아검가수분해물, ⑪난소화성말토덱스트린, ⑫대두식이섬유, ⑬목이버섯식이섬유, ⑭밀식이섬유, ⑮보리식이섬유, ⑯옥수수겨식이섬유, ⑰이눌린/치커리추출물, ⑱차전자피식이섬유, ⑲호로파종자식이섬유, ⑳알로에 겔, ㉑프락토올리고당, ㉒프로바이오틱스, ㉓홍국, ㉔대두단백, ㉕폴리감마 글루탐산, ㉖마늘, ㉗라피노스, ㉘분말한천, ㉙유단백가수분해물

- (개별인정형) [건강기능식품 기능성 원료 및 기준·규격 인정에 관한 규정] 제10조 제1항에 따라 인정받은 기능성 원료 중 식품의약품안전처장이 일반식품에 사용할 수 있다고 인정한 기능성. 기능성 원료의 제조자 또는 수입자가 고시 별지 서식의 기능성을 나타내는 원재료의 일반식품 사용신청서를 작성하여 식품의약품안전처에 신청 후 식품의약품안전처장으로부터 식품에 사용할 수 있다고 인정받아야 함(그림 1 의사결정도)

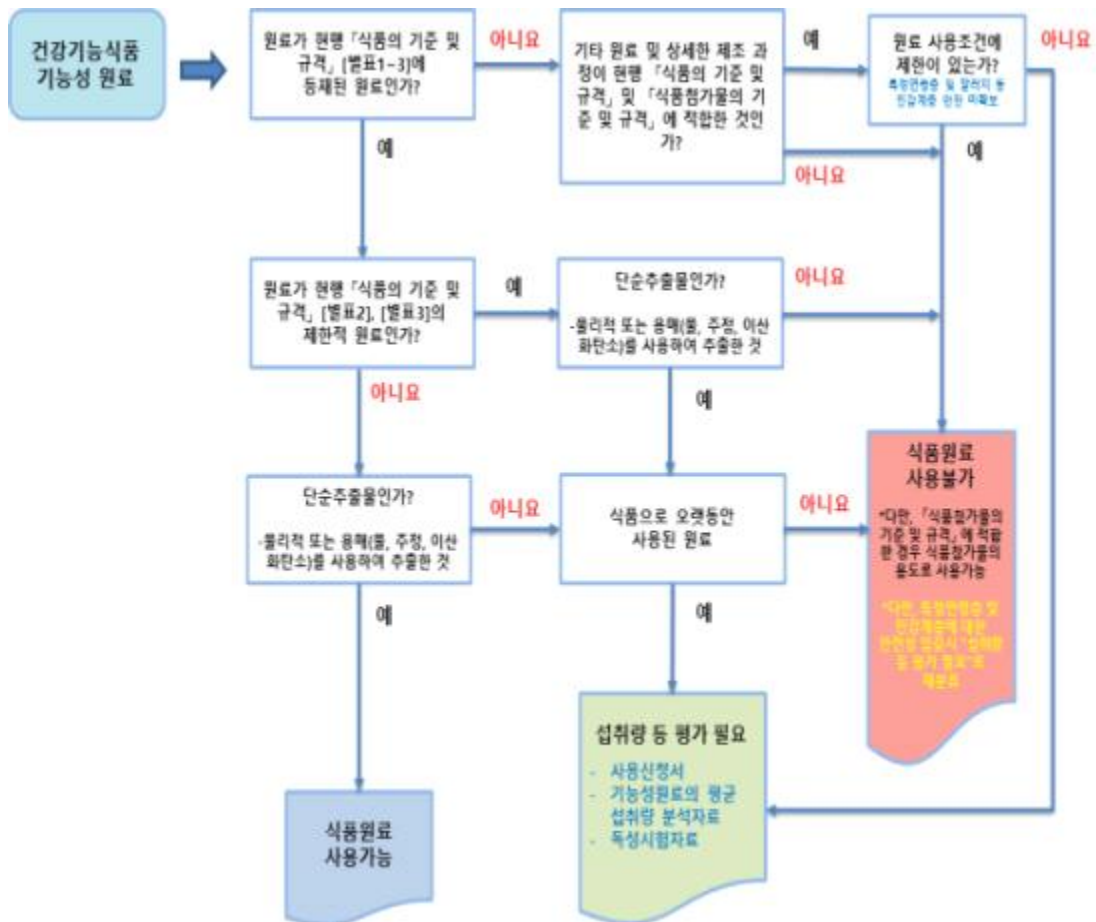


그림 1. 개별인정형 원료의 일반식품 사용 여부 판단 의사결정도

- (실증) [식품등의 표시 또는 광고 실증에 관한 규정] 제4조제3호 중 인체적용시험 또는 인체적용시험 결과에 대한 정성적 문헌고찰(체계적 고찰, SR: Systematic Review)을 통해 과학적 자료로 입증한 기능성

- CJ제일제당 보유 개별인정형 원료 8건의 일반식품 사용 신청 허가 획득
 - CJ제일제당이 보유 개별인정형 원료 10건을 일반식품 사용 신청을 진행하였으며, 의사결정도에 따라 카제인가수분해물 1건 사용불가, 발효생성아미노산복합물 1건 선취량 등 추가 검토 필요를 제외하 총 8건의 사용 허가 결과를 확보하였음.

기능성을 나타내는 원재료의 일반식품 사용 가능 여부 판단 결과(정정)

□ 신청사항

- 업체명 : 씨제이제일제당(주)
- 소재지 : 서울 중구 동호로 330(쌍림동)
- 기능성 원료 현황 및 검토 결과

기능성 원재료	인정번호	기능성 내용	검토 결과
발효생성아미노산 복합물	제2010-21호	지구성 운동 시 피로개선에 도움을 줄 수 있음	선취량 등 추가 검토 필요
보이차 추출물	제2009-17호	혈중 콜레스테롤 개선에 도움을 줄 수 있음	일반식품 사용 가능
카제인가수분해물	제2006-19호	혈압이 걱정되시는 분에게 도움을 줄 수 있음	일반식품 사용 불가능
플레우스 포스폴리 추출물 Forslean	제2009-47호	체지방 감소에 도움을 줄 수 있음	일반식품 사용 가능
크랜베리 추출물	제2011-39호	요도에 유해균 흡착 억제로 요로 건강에 도움을 줄 수 있음	일반식품 사용 가능
타가토스	제2011-37호	식후 혈당조절에 도움을 줄 수 있음	일반식품 사용 가능
호박씨추출물 등 복합물	제2011-15호	방광의 배뇨기능 개선에 도움을 줄 수 있음	일반식품 사용 가능
호프추출물	제2009-25호	호프추출물은 관절 건강에 도움을 줄 수 있음	일반식품 사용 가능
C1식물성유지 디글리세라이드(DG)	제2009-21호	이 제품은 Diacylglyceride를 함유하고 있어 다른 식용유와 비교하였을 때 식후 혈중 중성지방과 체지방 증가가 적을 수 있음	일반식품 사용 가능
Collative 콜라겐펩타이드	제2012-24호	피부 보습에 도움을 줄 수 있음	일반식품 사용 가능

그림 2. 일반식품에 사용가능한 개별인정형 원료

- 기능성 표시 적용 범위
 - 고시에서 정한 기능성을 나타내는 원료 또는 성분을 사용하고 요건을 준수한 식품,

축산물, 식품첨가물은 기능성 표시 가능

- 다만, 어린이·임산부 등 건강 민감계층 대상 식품, 당·나트륨 등 과잉섭취가 우려되는 식품 등은 기능성 표시를 할 수 없음.

표 2. 기능성 표시 제외 식품

순번	기능성 표시 제외 식품
1	[식품의 기준 및 규격]에서 정한 주류 및 특수의료용도등 식품
2	고시 별표1의 영양성분 함량 기준에 적합하지 않은 식품등
3	36개월 이하 영유아를 섭취대상으로 하는 식품등 및 “어린이”, “아동” 또는 이와 유사한 표현이나 이미지를 사용하여 [아동복지법] 제3조제1호에 따른 아동이 섭취하는 것으로 표시 또는 광고한 식품등. 다만, [어린이 식생활안전관리 특별법] 제14조제1항에 따라 품질인증을 받은 어린이 기호식품은 제외
4	임산부 또는 수유중인 여성을 대상으로 한 식품등(임신 계획용 표방 식품등 포함)
5	정제, 캡슐, 과립 또는 분말(이 경우 바로 섭취하는 스틱, 포 형태에 한함), 액상(이 경우 스프레이형·앰플형 및 이와 유사한 형태, 인삼·홍삼에 대한 기능성을 나타낸 농축액·100ml 이하 파우치 형태에 한함)

2) 일반식품 적용을 위한 기능성 원료 특성

- 식품등에 사용할 수 있는 기능성 원료의 제조 기준 및 규격
 - 기능성 원료의 제조 기준 및 규격 요약

표 3. 기능성 원료의 제조 기준 및 규격

지표성분	원료명	원료의 제조 기준 및 규격
진세노사이드	인삼	- 인삼을 그대로 분말화하거나 수분을 제거한 후 분말화하여 제조 - 인삼을 물이나 주정으로 추출하여 여과하거나, 여과한 후 농축 또는 식용미생물로 발효하여 제조 - 진세노사이드 Rg1과 Rb1을 합하여 0.8 mg/g 이상 함유하고 있어야 함
진세노사이드	홍삼	- 홍삼을 분말화하여 제조 - 홍삼을 물이나 주정으로 추출하여 여과하거나, 여과한 후 농축 또는 식용미생물로 발효하여 제조 - 진세노사이드 Rg1, Rb1 및 Rg3를 합하여 2.5 mg/g 이상 함유하고 있어야 함
총염록소	클로렐라	- 클로렐라속 조류를 인공적으로 배양하고 건조하여 제조 - 총염록소를 10 mg/g 이상 함유하고 있어야 함
총염록소	스피루리나	- 스피루리나속 조류를 인공적으로 배양하고 건조하여 제조 - 총염록소를 5 mg/g 이상 함유하고 있어야 함
코로솔산	바나바잎 추출물	- 바나바의 잎을 주정으로 추출하고 여과, 농축하여 제조 - 코로솔산(Corosolic acid)으로서 9 mg/g 이상 함유
총플라보노이드	프로폴리스 추출물	- 꿀벌이 식물에서 채취한 수지에 자신의 분비물을 혼합하여 만들 프로폴리스에서 왁스를 제거하고 물, 주정 또는 이산화탄소(초임계추출)로 추출하여 제조 - 총 플라보노이드를 10 mg/g이상 함유. 파라-쿠마르산 및 게피산이 확인되어야 함
총폴리페놀	구아바잎 추출물	- 구아바잎을 열수 추출하고 여과, 농축하여 제조 - 총 폴리페놀이 250 mg/g 이상 함유

EPA/DHA	EPA-DHA (오메가 3 지방산)	<ul style="list-style-type: none"> - 식용 가능한 어류 및 조류, 바닷물범에서 가열, 압착, 핵산 또는 이산화탄소(초임계추출)를 이용하여 유지를 추출한 후 여과하거나, 추출한 유지를 에스테르화 공정을 통해 제조 - EPA와 DHA의 합으로서 식용 가능한 어류 유래 원료는 180 mg/g 이상, 바닷물범 유래 원료는 120 mg/g 이상, 조류 유래 원료는 300 mg/g 이상 함유되어야 함
구연산	매실 추출물	<ul style="list-style-type: none"> - 매실을 열수로 추출한 후 여과, 농축하여 제조 - 구연산이 300 mg/g 이상 함유되어 있어야 함
당류	라피노스	<ul style="list-style-type: none"> - 사탕무의 뿌리에서 당밀을 추출한 후 규조토를 이용하여 여과. 여과물을 이온크로마토그래피(Na) 후 증발 농축, 주정으로 조결정화하여 분리, 용해, 규조토 여과, 주정으로 결정화, 분리, 감압건조, 분쇄하여 제조 - 라피노스 980 mg/g 이상 함유
올리고당	프락토올리고당	<ul style="list-style-type: none"> - 설당을 녹여 당액을 만든 후 전이효소 또는 전이효소를 가진 미생물을 사용하여 제조 - 이눌린(inulin)을 효소로 가수분해하여 제조 - 프락토올리고당을 410 mg/g 이상 함유
총다당체	알로에겔	<ul style="list-style-type: none"> - 알로에 베라의 잎의 외피를 제거한 후 겔 부분을 분리하여 건조, 분말화하여 제조 - 고형분 중 총 다당체를 30 mg/g 이상 함유
다당류	구아검, 구아검 가수분해물	<ul style="list-style-type: none"> - 구아의 종자 배유부분을 분쇄하거나 열수로 추출하여 고분자 다당류인 갈락토만난을 얻을 수 있도록 제조. 갈락토만난을 가수분해하여 제조 - 식이섬유를 660 mg/g 이상 함유
	난소화성 말토덱스트린	<ul style="list-style-type: none"> - 옥수수전분을 가열하여 얻은 베타덱스트린을 α-amylase 및 amyloglucosidase로 효소분해하고 정제한 덱스트린 중에 난소화성 성분을 분획하여 제조 - 식이섬유를 850 mg/g 이상 함유 (액상은 580 mg/g)
식이섬유	대두 식이섬유	<ul style="list-style-type: none"> - 대두를 탈지, 탈단백 등의 방법으로 처리하여 식이섬유를 분리하여 제조 - 식이섬유를 600 mg/g 이상 함유
	목이버섯 식이섬유	<ul style="list-style-type: none"> - 목이버섯을 건조, 분말화하여 제조 - 식이섬유를 450 mg/g 이상 함유
	밀 식이섬유	<ul style="list-style-type: none"> - 밀가루 제조과정 중 부산물에서 식이섬유를 분리하여 제조. 밀의 외피 또는 줄기를 세정, 건조, 분쇄시켜 제조 - 식이섬유를 700 mg/g 이상 함유
	보리 식이섬유	<ul style="list-style-type: none"> - 보리를 탈지, 탈단백 방법으로 처리하여 제조. 보리의 외피 또는 낱알을 건조하여 제조 - 식이섬유를 500 mg/g 이상 함유
	옥수수겨 식이섬유	<ul style="list-style-type: none"> - 옥수수겨를 분쇄하여 제조 - 식이섬유를 800 mg/g 이상 함유
	이눌린, 치커리 추출물	<ul style="list-style-type: none"> - 치커리 또는 기타 국화과 식물의 뿌리를 열수로 추출, 정제하여 제조 - 식이섬유를 800 mg/g 이상 함유
	차전자피 식이섬유	<ul style="list-style-type: none"> - 차전자 껍질을 분쇄하여 제조 - 식이섬유를 790 mg/g 이상 함유
	호로파종자 식이섬유	<ul style="list-style-type: none"> - 호로파 종자를 분쇄하거나 탈지하여 제조

		- 식이섬유를 450 mg/g 이상 함유
	분말한천	- 우뭇가사리를 1~2% 가성소다 용액으로 70℃, 1시간 동안 처리하고, 정제수로 수세(pH 9~10)하여, 산처리(황산으로 pH 6.5~7.5가 되게 중화)하여 1회 세정하고 자숙(90~100℃, 2시간) 후 추출, 퍼라이트 또는 규조토로 여과, 응고, 탈수, 세절, 건조, 분쇄하여 제조 - 총 식이섬유 80.0% 이상 함유
카제인	유단백 가수분해물	- 탈지우유를 원심분리하여 카제인(Casein)을 분리하고 알칼리화하여 트립신으로 가수분해(40~50℃, pH 7.5~9.0), 산성화하여 90℃ 1.5분 동안 열처리한 후 분무건조(180~200℃, 공기주입)하여 제조 - 알파에스1카제인을 18 mg/g 이상 함유
단백질	대두단백	- 대두를 탈지한 후 단백질을 분리, 정제하여 제조. 대두를 물에 침지하여 분쇄 후 단백질을 분리, 정제하여 제조 - 조단백질을 건조물 기준으로 400 mg/g 이상 함유. 다이드제인 및 제니스테인이 확인되어야 함
알리인	마늘	- 마늘 구근의 원재료에서 비가식 부분을 제거한 후 동결건조하고 분말화하여 제조 - 알리인(Allicin)으로서 10 mg/g이상 함유
글루탐산	폴리감마글루탐산	- 고초균을 배양하고 여과하거나 칼륨, 칼슘, 나트륨, 마그네슘의 염을 단독 또는 복합으로 충분히 중화한 후 결정화하여 식용에 적합 - 폴리감마글루탐산을 700 mg/g 이상 함유
유산균	프로바이오틱스	- 허가된 Lactobacillus, Lactococcus, Enterococcus, Streptococcus, Bifidobacterium 미생물을 배지 및 보호제로 배양, 건조하여 제조. - 생균을 100,000,000 CFU/g 이상 함유
모나콜린K	홍국	- 쌀에 홍국균을 접종하여 고체발효시킨 후 분말화하여 제조 - 총 모나콜린 K를 0.5 mg/g 이상 함유

3) 수용성 커큐민 함유 울금 음료 제품 개발

- 기능성 원료가 포함된 음료 제품의 제조 공정 개발
 - 수용성 커큐민을 적용한 음료 제품의 제조 공정 개발
 - 불용성 성분인 커큐민을 수용화한 기능성 원료를 일반 산성(pH 4 내외)음료 제품에 적용할 수 있는 제조 공정 개발 진행
- 수용성 커큐민이 함유된 음료 제품의 성상
 - 진한 노란색 액상으로 고유의 색상과 향미를 가지며 이미, 이취가 없음
- 수용성 커큐민이 함유된 음료 제품의 제조 방법 요약
 - 기준 및 규격에 적합한 원료를 확인 구입
 - 울금을 추출기에 투입한 후 24배의 정제수를 가하여 95±5℃에서 추출액이 1Brix가 될 때까지 추출
 - 혼합탱크에 울금추출액과 부원료를 배합비율대로 투입하고 20분간 혼합
 - 혼합액을 95±5℃에서 30초간 살균한 후 자동충진기에서 충전/밀봉
 - 기준 및 규격에 따라 시험하여 적합여부를 확인한 후 포장/출하

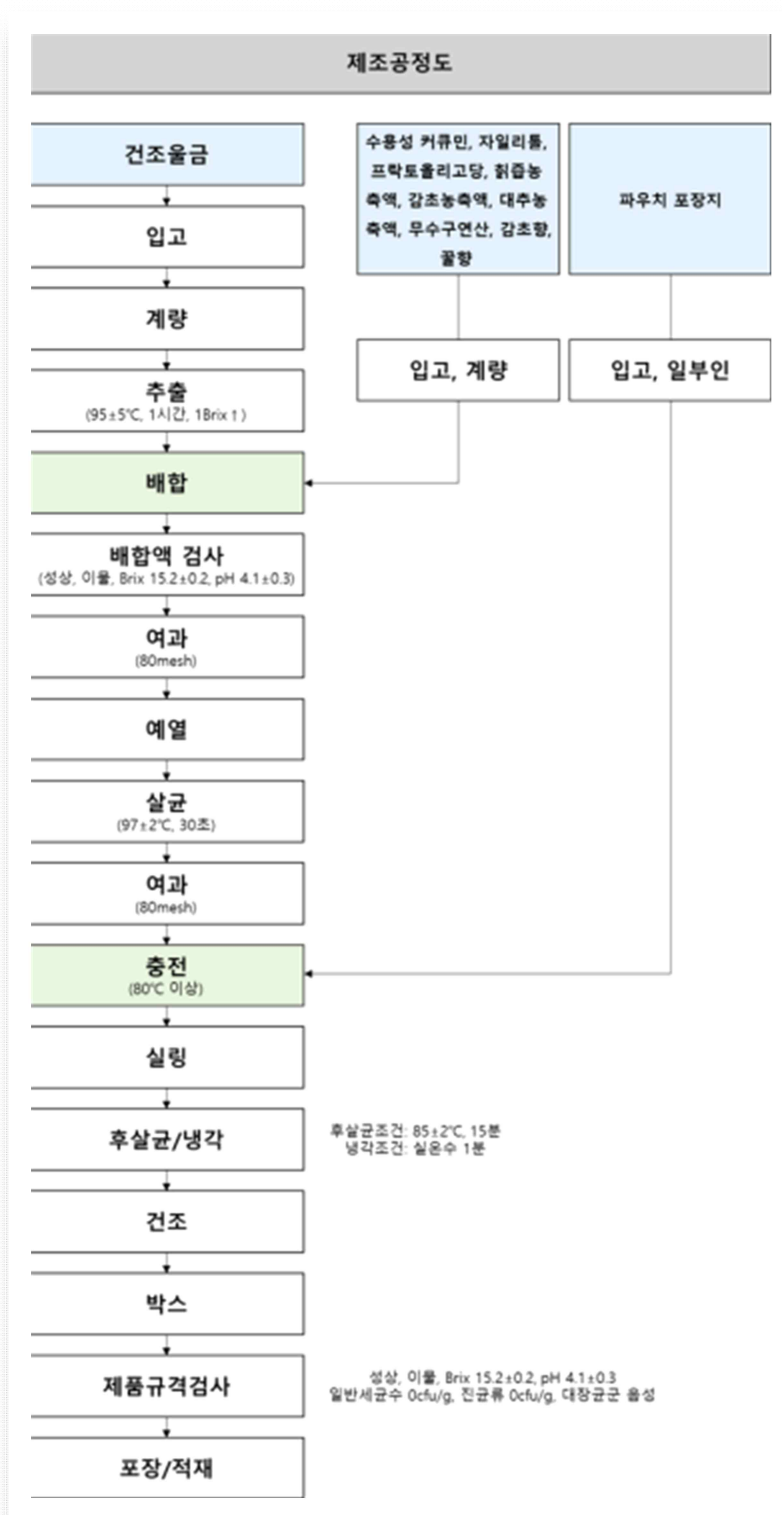


그림 3. 커큐민 함유 음료의 제조공정도

- 수용성 커큐민이 함유된 음료 제품의 품질지표 개발
 - 성상 및 관능: 진한 노란색 액상으로 고유의 색상과 향미를 가지는 제품
 - 일반세균수: 1ml 당 100이하
 - 대장균군: 음성
 - Brix: 15.2 ± 0.2
 - pH: 4.1 ± 0.3
 - 산도: 0.18 ± 0.03
- 수용성 커큐민이 함유된 음료 제품의 기능성분(Curcumin) 분석

- KFDA 식품의약품안전평가원 한약재평가 기술과학화 연구 DB (<http://www.herbdb.co.kr>)의 Curcumin 분석법을 참고하여 분석법을 설정하였음.
- STD(Curcumin, ACROS 21858-0100, 98%) 농도는 6.25, 12.5, 25, 50, 100 ug/ml로 하여 MeOH로 용해하였음
- 용매 [A]는 0.1% Acetic acid, [B]는 0.1% Acetic acid in ACN으로 HPLC 조건은 아래와 같음

HPLC	Column		Detector	Flow rate	Injection	Run time	Temp.	Mobile phase			Bisdemethoxy curcuma	Demethoxy curcuma RT (min)	Curcuma	압력
	(mm)	[A]						[B]						
Agilent 1100	Luna C18	(4.6x250, 5um)	424nm (UV)	1 mL/min	30 ul	45 min	40°C	0	67	33	22.0	22.7	23.4	160
								10	69	40				
								28	38	70				
								40	38	70				
								45	67	33				
								45	67	33				

그림 3. 커큐민 함량 분석을 위한 HPLC 조건

- 표준품 분석 결과 아래와 같은 Peak 결과를 확보하였음

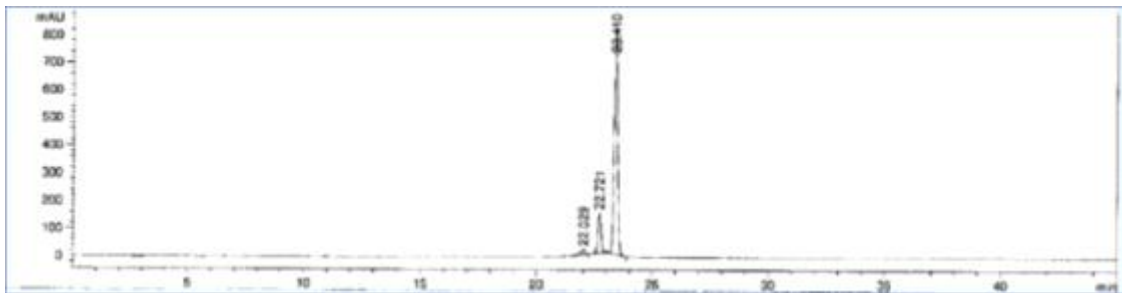


그림 4. 커큐민 함량 분석 HPLC 결과

- 농도별로 측정된 표준품의 Peak area를 계산하여 1차 방정식을 도출하였음

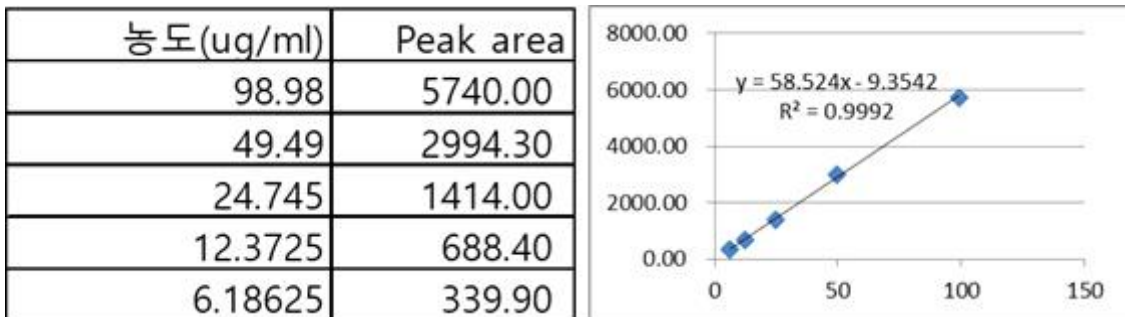


그림 5. 커큐민 함량 분석을 위한 표준품 분석 결과

○ 제조공정에 따른 커큐민의 함량 변화 확인

- 커큐민 음료의 1회 섭취량은 40ml이고, 배합량은 0.5%로 설정하였음. 수용성 커큐민 기능성 원료의 규격은 커큐민 함량 12%임을 확인하였음. 이를 바탕으로 투입한 커큐민 함량은 제품 1회 섭취 40ml 당 24mg임
- 상기 제조 공정을 통한 제품 시생산 후 제품의 커큐민 함량을 측정하였고, 초기, 중기 본생산 제품의 커큐민 함량은 18.20mg, 17.19mg, 18.26mg임을 확인하였음. 이는 표시량 24mg 대비 70% 수준으로 향후 제품 출시 시 투입량을 1.5배 가량 증가시켜야 함을 확인하였음

	Area	Conc. (ug/ml)	Curcumin (mg)	표시량대비 (%)
초기	2786.80	45.5	18.20	75.82
말기	2629.10	43.0	17.19	71.62
본생산	2796.80	45.6	18.26	76.08

그림 6. 커큐민 함유 음료 제품 생산 후 커큐민 분석 결과

○ 온도별 저장에 따른 커큐민의 함량 변화 확인

- 제조한 커큐민 음료 제품을 4, 25, 35, 45°C에 보관하며 커큐민의 함량을 측정하였음. 각 온도별로 12주간 보관하며 커큐민 함량을 분석한 결과, 17~19mg으로 투입량의 70% 이상을 유지하는 것을 확인할 수 있었음.

	Area	Conc. (ug/ml)	Curcumin (mg)	표시량대비 (%)
1주 4°C	2841.20	46.4	18.54	77.26
1주 25°C	2725.10	44.5	17.80	74.18
1주 35°C	2713.40	44.3	17.73	73.86
1주 45°C	2686.90	43.9	17.56	73.16
2주 4°C	2652.90	43.4	17.34	72.25
2주 25°C	2691.80	44.0	17.59	73.29
2주 35°C	2768.20	45.2	18.08	75.32
2주 45°C	2764.80	45.1	18.06	75.23
4주 4°C	2724.20	44.5	17.80	74.15
4주 25°C	2706.40	44.2	17.68	73.68
4주 35°C	2726.90	44.5	17.81	74.22
4주 45°C	2714.30	44.3	17.73	73.89
6주 4°C	2927.80	47.7	19.10	79.57
6주 25°C	2920.10	47.6	19.05	79.36
6주 35°C	2919.40	47.6	19.04	79.34
6주 45°C	2872.60	46.9	18.74	78.10
8주 4°C	2817.90	46.0	18.39	76.64
8주 25°C	2865.20	46.7	18.70	77.90
8주 35°C	2777.10	45.3	18.13	75.56
8주 45°C	2739.30	44.7	17.89	74.55
10주 4°C	2757.30	45.0	18.01	75.03
10주 25°C	2755.90	45.0	18.00	75.00
10주 35°C	2776.60	45.3	18.13	75.55
10주 45°C	2755.10	45.0	17.99	74.97
12주 4°C	2813.00	45.9	18.36	76.51
12주 25°C	2817.40	46.0	18.39	76.63
12주 35°C	2777.30	45.3	18.14	75.56
12주 45°C	2737.60	44.7	17.88	74.51

그림 7. 온도별 커큐민 안정성 분석 결과

4) 주요 기능성 원료의 일반식품 적용성 Lab Scale 평가

○ (터핀류)인삼의 성상 및 특성 확인

- 원료 성상은 아래와 같이 짙은 갈색의 농축액이며, 1%로 정제수에 용해시 잘 용해되는 것을 확인하였음.

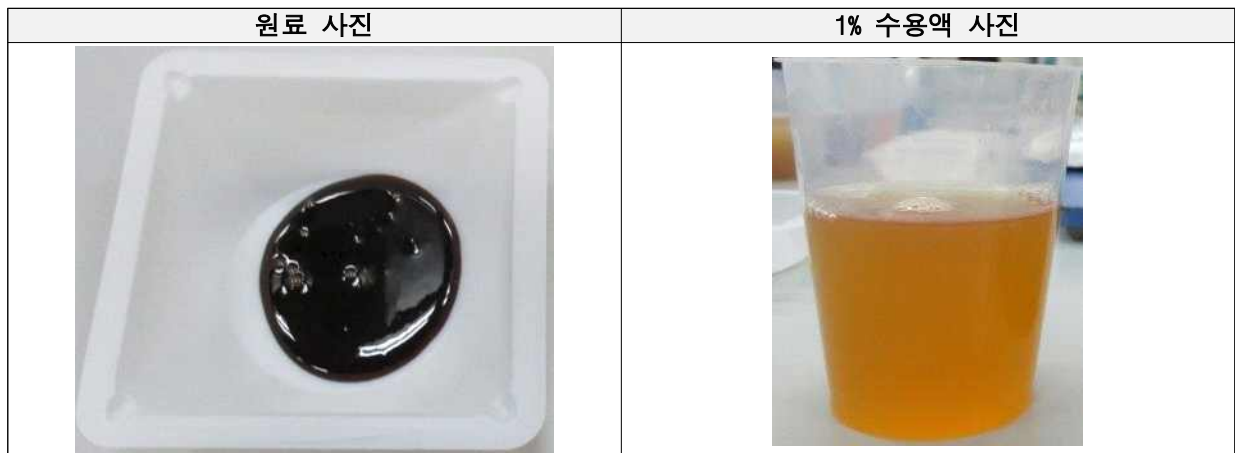


그림 8. 인삼 농축액 및 정제수 용해 사진

○ (터핀류)홍삼의 성상 및 특성 확인

- 원료 성상은 아래와 같이 짙은 갈색의 농축액이며, 1%로 정제수에 용해시 잘 용해되는 것을 확인하였음. 인삼농축액보다 조금 더 짙은 색을 띠

원료 사진	1% 수용액 사진
	

그림 9. 홍삼 농축액 및 정제수 용해 사진

○ (터핀류)클로렐라의 성상 및 특성 확인

- 클로렐라 분말의 단백질 함량은 60% 이상, Chlorophyll 함량은 1800mg% 이상, 수분 함량은 5% 이하임.
- 원료 성상은 아래와 같이 짙은 녹색의 분말이며, 1%로 정제수에 용해시 분말이 분산되는 것을 확인하였음.

원료 사진	1% 수용액 사진
	

그림 10. 클로렐라 분말 및 정제수 용해 사진

○ (터핀류)바나바잎 추출물의 성상 및 특성 확인

- 바나바잎 추출물의 Corosolic acid 함량 규격은 9~13 mg/g(1% 내외)임.
- 바나바잎 추출물은 60% 주정추출을 통해 제조하므로, 물에 용해시 불용성 성분의 존재를 확인할 수 있음

원료 사진	1% 수용액 사진
-------	-----------



그림 11. 바나바잎 추출 분말 및 정제수 용해 사진

○ (페놀류)프로폴리스 추출물의 성상 및 특성 확인

- 프로폴리스 추출물의 Total Flavonoids 함량 규격은 8% 이상, 수분함량은 5% 이하임.
- 프로폴리스 추출물은 아래 사진과 같이 물에 용해시 불용성 성분의 존재를 확인할 수 있었음. 이를 해결하기 위한 원료 수준에서의 캡슐화 기술 개발, 제품 수준에서의 분산 및 유화 기술 개발이 필요함을 확인하였음.

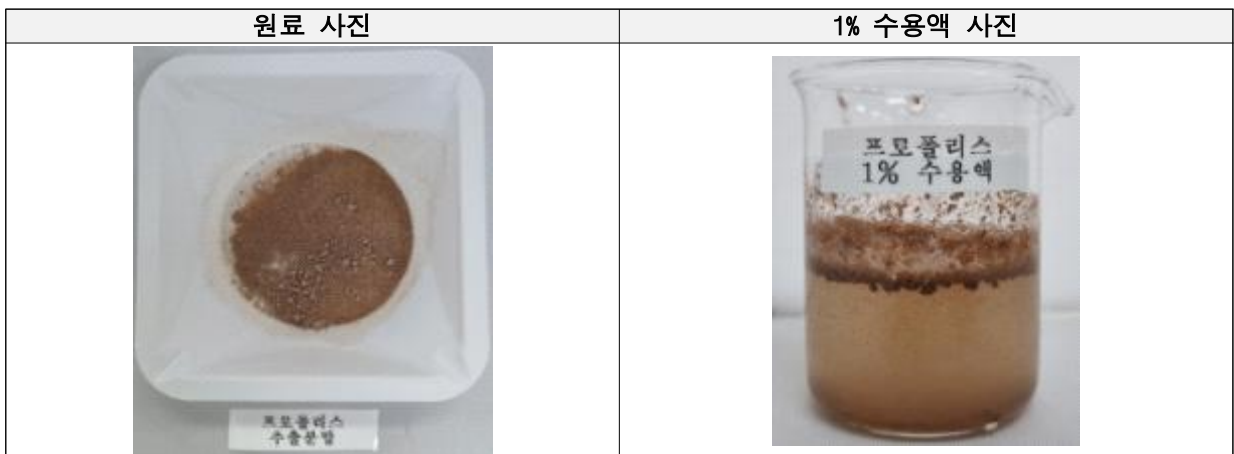


그림 12. 프로폴리스 추출 분말 및 정제수 용해 사진

○ (페놀류)구아바잎 추출물의 성상 및 특성 확인

- 구아바잎 추출물의 Polyphenols 함량 규격은 24~45% (w/w)임. 정제수에서의 용해도는 50%이상이며, 1% 솔루션의 pH는 4.0~7.0임
- 원료성상은 아래와 같이 갈색이며, 물에 용해시 잘 녹는 것을 확인할 수 있었음



그림 13. 구아바잎 추출 분말 및 정제수 용해 사진

- (지방산 및 지질류)EPA-DHA 함유 유지의 성상 및 특성 확인
 - EPA-DHA 함유 유지는 EPA와 DHA의 합으로 60% 이상임.
 - EPA-DHA 함유 유지는 기름 성분으로 아래와 같이 물과 분리되는 것을 확인할 수 있었으며, 특유의 비린 어취가 나는 것을 알 수 있었음.



그림 14. EPA-DHA 함유 유지 및 정제수 용해 사진

- (당 및 탄수화물)알로에겔의 성상 및 특성 확인
 - 원료 성상은 아래와 같이 분말상이며, 1%로 정제수에 용해시 잘 용해되는 것을 확인하였음.



그림 15. 알로에겔 분말 및 정제수 용해 사진

- (다당류)난소화성 말토덱스트린의 성상 및 특성 확인
 - 난소화성 말토덱스트린의 식이섬유 함량 규격은 89% 이상, 수분함량은 6% 이하, pH는 3.5~5.5임.
 - 원료 성상은 아래와 같이 분말상이며, 1%로 정제수에 용해시 잘 용해되는 것을 확인하였음.



그림 16. 난소화성 말토덱스트린 분말 및 정제수 용해 사진

○ (다당류, 식이섬유)밀식이섬유의 성상 및 특성 확인

- 밀식이섬유의 식이섬유 함량 규격은 92~98%, 수분함량은 7.5% 이하, pH는 5~8임.
- 원료 성상은 아래와 같이 분말상이며, 1%로 정제수에 용해시 잘 용해되는 것을 확인하였음.



그림 17. 밀식이섬유 및 정제수 용해 사진

○ (다당류, 식이섬유)이눌린, 치커리추출물의 성상 및 특성 확인

- 이눌린의 식이섬유 함량 규격은 99% 이상, 수분함량은 5% 이하, pH는 5~7임
- 원료의 성상은 아래와 같은 분말상이며, 1% 수용액은 투명한 것을 확인할 수 있음. 밀식이섬유보다 더 낮은 수분함량으로, 유산균 등과 같이 분말 제품에 사용시 더욱 좋은 안정성을 유지할 수 있으며, 수용액 또한 Clear type으로 제품 적용성이 더욱 좋음을 확인할 수 있었음.



그림 18. 이눌린 및 정제수 용해 사진

○ (다당류)차전자피 식이섬유의 성상 및 특성 확인

- 차전자피 식이섬유의 식이섬유 함량 규격은 85% 이상, 수분함량은 10% 이하임.
- 원료 성상은 아래와 같이 분말상이며, 1%로 정제수에 용해시 잘 용해되는 것을 확인하였음.

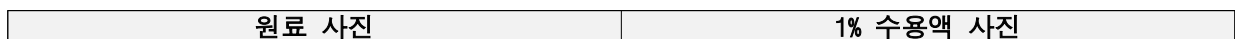




그림 19. 차전자피 식이섬유 및 정제수 용해 사진

○ (미생물 대사산물)홍국의 성장 및 특성 확인

- 홍국의 Monacolin K 함량 규격은 1 mg/g 이상(1% 이상), 수분함량은 10% 이하 임.
- 원료 성상은 아래와 같이 붉은색의 분말상이며, 1% 수용액의 경우 붉은 불투명 용액이 되는 것을 확인할 수 있었음

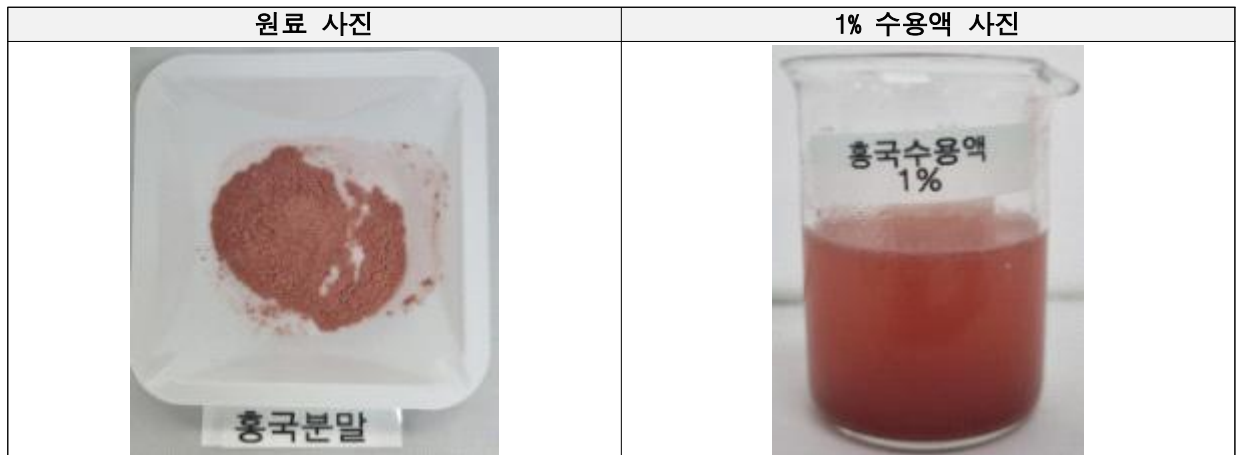


그림 20. 홍국 분말 및 정제수 용해 사진

5) 열안정성이 향상된 유산균 코팅 분말 제조

○ 칼슘-알긴산 비드로 포집된 유산균 제조 기술 개발의 배경

- 유산균은 섭취 후 장내에서 생존하며 다양한 생리 활동을 통해 장 건강 등 인체에 유익한 작용을 할 수 있음. 하지만 많은 균들은 산소에 대한 민감성, pH 변화에 의한 사멸, 복잡한 영양 요구성 등의 특성에 의해 배양에서 인체 장내에 도달할 때까지 생존력을 유지하는데 많은 어려움이 있음. 이를 해결하기 위해 유산균이 위산 및 담즙산에서 생존율을 높일 수 있도록, 유산균 배양 후 코팅을 통해 그 생존율을 높이고 있음.
- 코팅 방법 중에는 알긴산 사출(extrusion) 후 칼슘이온에 의한 교차 결합을 이용한 캡슐화 방식이 우수한 것으로 알려져 있으며, 캡슐화 제조 공정은 크게 비드(bead) 제조 단계와 건조(분말화) 단계로 나눌 수 있음.
- 살아있는 유산균은 온도의 증가에 의해 사멸되므로, 동결건조는 유산균의 저장기간 동안 세포의 활성을 유지시킬 수 있는 가장 효과적인 방법임. 동결건조를 통해 유산균의 저장 및 유통을 크게 개선할 수 있지만, 일반적으로 동결건조 공정에 의해 유산균의 생존율이 크게 감소함. 많은 연구를 통해 동결건조에 의한 세포 손상을 줄이기 위해 skim milk, saccharides, nitrogen compounds와 같은 다양한 동결보호제를 첨가하여 생존율을 개선하고 있음.

- 하지만, 알긴산 사출(extrusion)을 통한 캡슐화 방법은 칼슘 이온이 포함된 경화 공정이 포함되어, 상대적으로 제조 수율이 감소하는 문제점을 가지고 있어 상업적으로 대량 생산하는 것에 어려움이 있음.

○ 칼슘-알긴산 비드로 포집된 유산균 제조 기술 개발 내용

- 유산균의 배양
 - : 락토바실러스 플란타룸 CJLP133 균주를 MRS 액체 배지(Difco, USA)에, 37 °C에서 10시간 동안 배양하였음. 배양액의 유산균은 약 8.68×10^9 CFU/mL의 균수를 확인하였음. MRS 배지 성분은 다음과 같이 Proteose Peptone 10g, Beef Extract 10g, Yeast Extract 5g, Dextrose 20g, Polysorbate 80 1g, Ammonium Citrate 2g, Sodium Acetate 5g, Magnesium Sulfate 0.1g, Manganese Sulfate 0.05g, Dipotassium Phosphate 2g 혼합하여 1L 가수 및 수용화하여 멸균하였음.
- 유산균을 포함하는 Sodium alginate solution 제조
 - : 유산균을 배양한 배양액을 10분간 원심분리하여 상등액을 버리고 Pellet을 확보하였음. 확보한 균체는 멸균된 Alginate solution과 1:2의 비율(w/w)로 30분간 교반하여 안정화 시킴.
- 유산균을 포함하는 Ca-alginate bead 제조
 - : 주사기를 이용하여 CaCl_2 solution에 drop하여 Ca-alginate bead를 제조하였다. 이후, 1시간동안 침지하여 Na^+ 이온이 Ca^{2+} 이온으로 치환되면서 alginate가 망상 구조를 형성하여 캡슐화가 진행되도록 하였음.
- Ca-alginate bead의 동결건조
 - : 유산균을 포함하는 Ca-alginate bead는 급속동결 후 동결건조기를 이용하여 건조하였음. 동결건조는 50시간 동안 -20°C 에서 30°C 까지 상승시키며 진행하였음.

○ 칼슘-알긴산 비드로 포집된 유산균 제조 기술 개발 결과

- CaCl_2 만으로 구성된 CaCl_2 solution을 사용한 Alginate Bead 제조수율 및 생존율 조사
 - : CaCl_2 로만 구성된 CaCl_2 solution에 유산균 Pellet과 혼합한 Alginate solution을 떨어뜨려 Bead를 제조하였다. Bead 제조수율은 58.17%, 동결건조 후 최종 생존율은 7.38%로 매우 낮은 것을 확인 할 수 있었음. 이는 건조과정에서 보호 효과를 주어야 하는 Alginate solution의 동결보호제가 CaCl_2 에서 Drop 후 1시간 동안 경화되는 공정을 거치며 동결보호 성분이 희석되어 발생한 것으로 판단 됨.

표 4. 단독 CaCl_2 Solution Ca-alginate bead의 제조 수율 및 동결건조 생존율

실시에 2.3 (CaCl_2 단독)	L.plantarum alginatesolution	Ca-alginate bead 제조수율 (before drying)	Ca-alginate bead 생존율 (After Freezing drying)
Visible cells (cfu/g)	1.00.E+11	6.07.E+10	8.65.E+10
Sol or Bead (g)	210.0	201.4	17.9
Total cells (cfu)	2.10.E+13	1.22.E+13	1.55.E+12
Survival ratio (%)	-	58.17	7.38

- Maltodextrin 첨가 CaCl_2 solution의 Alginate Bead 제조수율 및 생존율 조사
 - : 유산균 제조시 부형제 및 동결보호 효과가 알려진 Maltodextrin이 25% 첨가된 CaCl_2 solution에 유산균 Pellet과 혼합한 Alginate solution을 떨어뜨려 Bead를 제조하였음. Bead 제조수율은 89.29%, 동결건조 후 최종 생존율은 19.33%으로 향상된 것을 확인하였음. Alginate solution과 유사한 농도인 25%의 Maltodextrin으로 인해 Ca-alginate bead 제조 수율이 크게 향상되었고, 그에 따른 동결건조 생존율도 개선된 것을 확인할 수 있었음.

표 5. Maltodextrin 첨가된 CaCl₂ Solution Ca-alginate bead의 제조 수율 및 동결건조 생존율

실시에 2.4 (CaCl ₂ +Maltodextrin)	L.plantarum alginatesolution	Ca-alginate bead 제조수율 (before drying)	Ca-alginate bead 생존율 (After Freezing drying)
Visible cells (cfu/g)	1.00.E+11	9.05.E+10	8.52.E+10
Sol or Bead (g)	210.0	207.2	47.7
Total cells (cfu)	2.10.E+13	1.88.E+13	4.06.E+12
Survival ratio (%)	-	89.29	19.33

- Trehalose 첨가 CaCl₂ solution의 Alginate Bead 제조수율 및 생존율 조사
: 수분에 의한 손상을 예방하여 동결보호 효과가 알려진 Trehalose가 25% 첨가된 CaCl₂ solution에 유산균 Pellet과 혼합한 Alginate solution을 떨어뜨려 Bead를 제조하였음. Bead 제조수율은 97.01%, 동결건조 후 최종 생존율은 45.75%으로 그 결과가 더욱 개선된 것을 확인할 수 있었음.

표 6. Trehalose가 첨가된 CaCl₂ Solution Ca-alginate bead의 제조 수율 및 동결건조 생존율

실시에 2.5 (CaCl ₂ +Trehalose)	L.plantarum alginatesolution	Ca-alginate bead (before drying)	Ca-alginate bead (After Freezing drying)
Visible cells (cfu/g)	1.00.E+11	9.88.E+10	2.03.E+11
Sol or Bead (g)	210.0	206.1	47.4
Total cells (cfu)	2.10.E+13	2.04.E+13	9.61.E+12
Survival ratio (%)	-	97.01	45.75

- 당류 및 단백질이 첨가된 Alginate solution 및 CaCl₂solution의 제조
: Alginate solution은 아래표와 같이 혼합 후 멸균하여 준비하였음. CaCl₂ solution은 가장 효과가 좋았던 CaCl₂ 10g, Trehalose 250g, 증류수 740g를 혼합 후 멸균하여 준비하였음. Ca-alginate bead의 동결건조 생존율을 높이기 위해, 동결보호 효과가 알려진 당류 및 단백질류를 Alginate solution에 추가하여 제조하였음. 대표적으로 많이 사용하는 단백질류의 동결보호제는 Skim milk가 있음. 하지만, Alginate solution에 Skim milk를 첨가할 경우, Skim milk의 칼슘성분이 Alginate와 먼저 반응하여 경화되는 것을 확인할 수 있었음. 이러한 이유로 CaCl₂ solution에 Drop 했을 때 Bead가 제대로 생성되지 않는 것을 확인하여 실험군에서 제거하였음. 실험을 위해 Alginate solution의 고형분 함량은 22%로 제조하였으나, 흐름성(점성)이 유지되는 20~30% 수준에서 각 성분들을 가감할 수 있을 것으로 판단됨.

표 7. Alginate solution 및 CaCl₂ solution의 배합비

구분	Sorbitol	Sucrose	Soypeptone
Alginate Solution 배합비	Sodium alginate 20g	Sodium alginate 20g	Sodium alginate 20g
	Trehalose 70g	Trehalose 70g	Trehalose 70g
	Sucrose 70g	Sorbitol 70g	Soypeptone 70g
	Maltodextrin 60g	Maltodextrin 60g	Maltodextrin 60g
증류수 780g	증류수 780g	증류수 780g	
CaCl ₂ solution 배합비	CaCl ₂ 10g, Trehalose250g, 증류수 740g		

- Alginate solution에 Sucrose가 추가된 Alginate Bead의 제조수율 및 생존율 조사
: 유산균 Pellet과 혼합한 Sucrose 첨가 Alginate solution을 CaCl₂ solution에 떨어뜨려 Bead를 제조하였음. Bead 제조수율은 94.86%, 동결건조 후 최종 생존율은

50.52%로 상위 결과와 유사한 수준의 결과를 보여주었음.

표 8. Sucrose 첨가된 Alginate Solution Ca-alginate bead의 제조 수율 및 동결건조 생존율

Sucrose	L.plantarum alginatesolution	Ca-alginate bead (before drying)	Ca-alginate bead (After Freezing drying)
Visible cells (cfu/g)	8.90.E+10	1.05.E+11	1.86.E+11
Sol or Bead (g)	210.0	168.8	50.8
Total cells (cfu)	1.87.E+13	1.77.E+13	9.44.E+12
Survival ratio (%)	-	94.86	50.52

- Alginate solution에 Sorbitol이 추가된 Alginate Bead의 제조수율 및 생존율 조사 : 유산균 Pellet과 혼합한 Sorbitol 첨가 Alginate solution을 CaCl₂ solution에 떨어뜨려 Bead를 제조하였음. Bead 제조수율은 91.42%, 동결건조 후 최종 생존율은 68.31%로 조금 더 개선된 수준의 결과를 보여주었음.

표 9. Sorbitol 첨가된 Alginate Solution Ca-alginate bead의 제조 수율 및 동결건조 생존율

Sorbitol	L.plantarum alginatesolution	Ca-alginate bead (before drying)	Ca-alginate bead (After Freezing drying)
Visible cells (cfu/g)	8.90.E+10	1.02.E+11	2.58.E+11
Sol or Bead (g)	210.0	167.5	49.5
Total cells (cfu)	1.87.E+13	1.71.E+13	1.28.E+13
Survival ratio (%)	-	91.42	68.31

- Alginate solution에 Soypeptone이 추가된 Alginate Bead의 제조수율 및 생존율 조사 : 유산균 Pellet과 혼합한 Soypeptone 첨가 Alginate solution을 CaCl₂ solution에 떨어뜨려 Bead를 제조하였음. Bead 제조수율은 98.72%, 동결건조 후 최종 생존율은 86.32%로 매우 개선된 수준의 결과를 보여주었음. 이와 같이 Alginate solution의 조성을 Trehalose와 soypeptone을 혼합하여 Ca-alginate bead 제조시 유산균의 동결건조 보호 효과가 극대화 됨을 확인할 수 있었음.

표 10. Soypeptone 첨가 Alginate Solution Ca-alginate bead의 제조 수율 및 동결건조 생존율

Soypeptone	L.plantarum alginatesolution	Ca-alginate bead (before drying)	Ca-alginate bead (After Freezing drying)
Visible cells (cfu/g)	1.00.E+11	1.10.E+11	3.80.E+11
Sol or Bead (g)	210.0	188.5	47.7
Total cells (cfu)	2.10.E+13	2.07.E+13	1.81.E+13
Survival ratio (%)	-	98.72	86.32

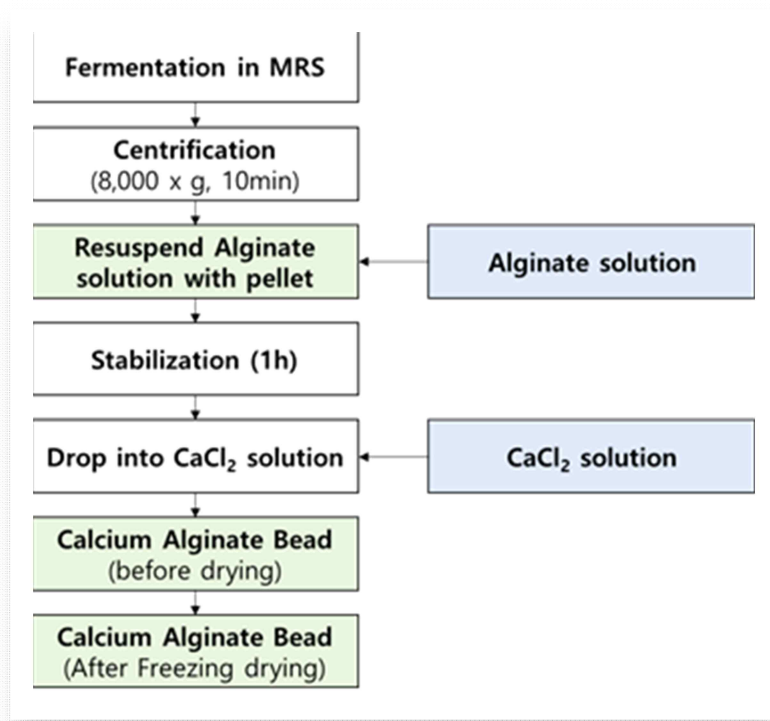


그림 21. Calcium Alginate Bead 제조 공정

○ 칼슘-알긴산 비드로 포집된 유산균 제조 기술 개발 성과

- 본 개발에서 제시한 알긴산 비드 제조 방법을 통해 유산균의 제조 수율 및 생존율이 획기적으로 향상된 알긴산 비드를 제조할 수 있음.
- 단순 동결보호제와 혼합하여 제조한 대조군과 Alginate, CaCl₂solution을 이용하여 제조한 Bead의 고온안정성을 비교하였다. 40°C에서 12주간 보관하였을 때, 대조군의 경우 1.674log가 감소하였으나, Bead의 경우 1.027log가 감소하여 고온안정성이 향상된 것을 확인할 수 있었음.

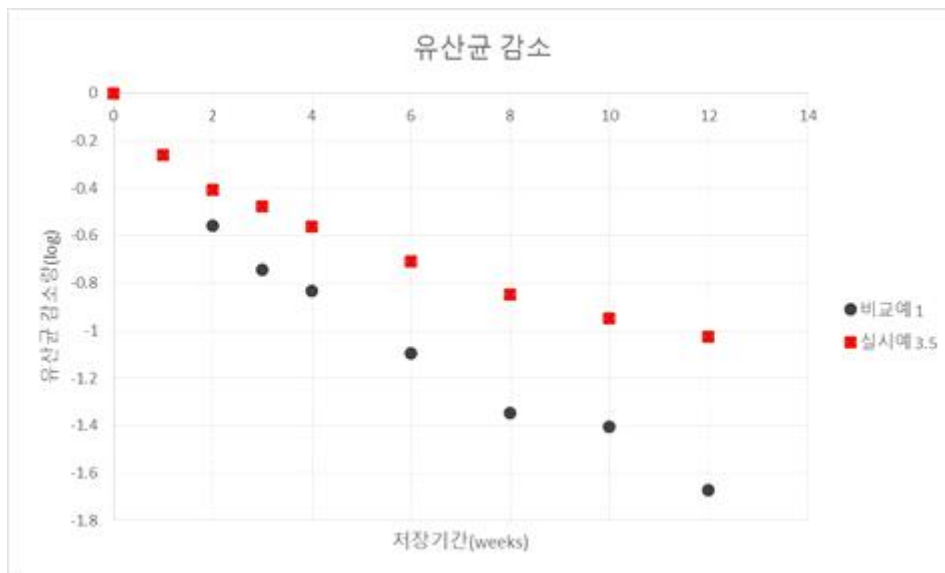


그림 22. 고온 장기 보관에 따른 유산균 감소량 변화

- 본 개발에서 제시한 알긴산 비드 제조 방법을 통해 내산성 및 내담즙성이 향상된 유산균분말을 제조할 수 있음.
- 단순 동결보호제와 혼합하여 제조한 대조군과 Alginate, CaCl₂ solution을 이용하

여 제조한 Bead를 위장관 모사(SSDP, simulated stomach duodenum passage)에 따른 내산성 및 내담즙성 실험을 통한 생존율을 비교하였음. 내산성 실험을 위해 MRS broth에 5N 염산(HCl)을 첨가하여 pH3의 Acidic MRS broth를 제조하였음. 내담즙성 실험을 위해서는 10% Oxgall solution 과 인공담즙액 Buffer를 제조하였음. 유산균 생존율 비교를 위해 Acidic MRS에 대조군의 분말과, Alginate bead를 넣고 37°C에서 1시간동안 반응하였음. 이후 10% Oxgall solution과 Buffer를 추가하여 pH를 7로 보정 후 2시간 동안 반응시킨 후 샘플링하여 유산균의 생존율을 확인하였음. 실험결과 대조군의 유산균은 0.37%의 생존율을 보였고, Ca-alginate bead는 34.01%의 생존율을 보여 내산성 및 내담즙성이 크게 향상된 것을 확인할 수 있었음.

표 11. Ca-Alginate bead 제조를 통한 SSDP 비교실험

	초기균수(cfu/g)	테스트결과(cfu/g)	생존율(%)
비교예 1	2.45.E+11	9.02.E+08	0.37
실시에 3.5	1.14.E+11	3.93.E+10	34.01

- 본 연구개발 결과에 대한 특허 출원을 완료 하였음.

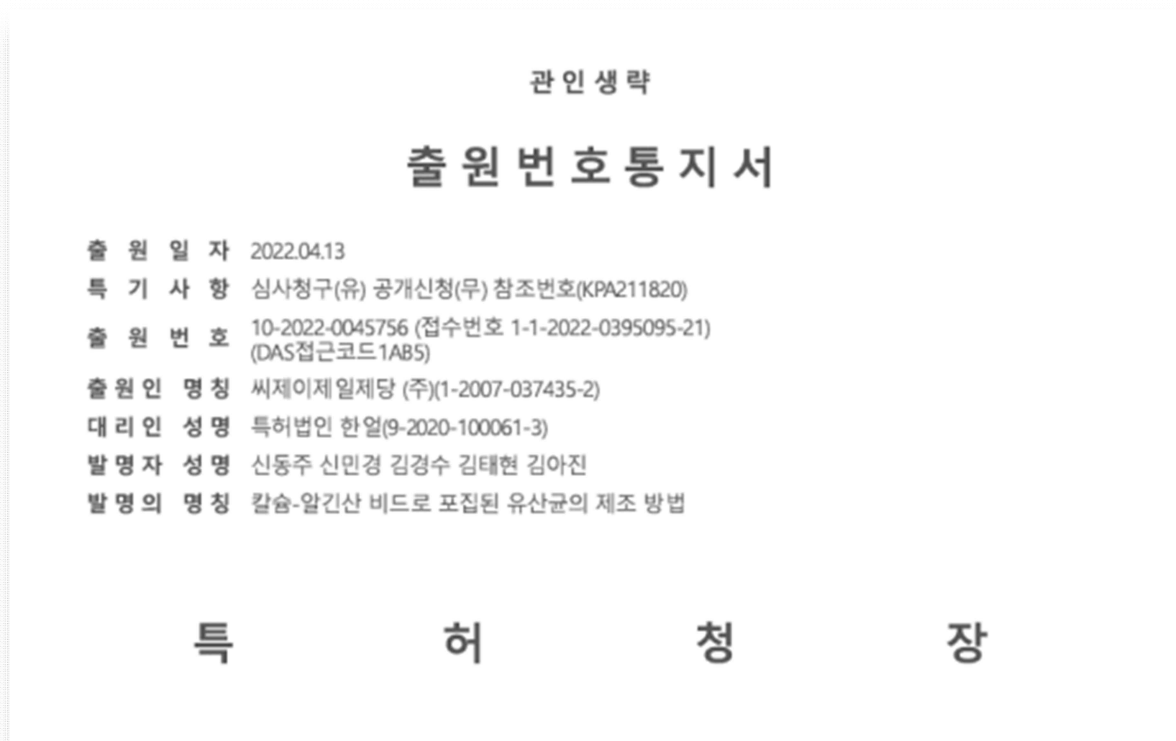


그림 23. 특허 출원번호 통지서

- 본 연구개발 결과에 대한 논문 게재를 완료 하였음.

Journal name: Journal of Food Measurement and Characterization

Title: Effects of different cryoprotectants on the viability of microencapsulated Lactobacillus plantarum CJLP133 during long-term storage

Impact factor: 3.006



Effects of different cryoprotectants on the viability of microencapsulated *Lactobacillus plantarum* CJLP133 during long-term storage

Dong Joo Shin^{1,2} · Enkhtsatsral Elbegbayar³ · Youjin Baek³ · Eun Woo Jeong³ · Kwang Yeon Lee³ · Kimoon Kang² · Ki Won Lee¹ · Hyeon Gyu Lee³

Received: 20 October 2022 / Accepted: 19 February 2023
© The Author(s), under exclusive licence to Springer Science+Business Media, LLC, part of Springer Nature 2023, corrected publication 2023

Abstract

The present study aimed to identify the efficient cryoprotectants formulations on the survival of *Lactobacillus plantarum* CJLP133 microencapsulated in calcium alginate during freeze-drying. Trehalose, maltodextrin, sorbitol, sucrose, and soy peptone were selected to develop optimal formulations of cryoprotectants that were added to the calcium alginate microencapsulation using extrusion technology. The soy peptone after being combined with trehalose and maltodextrin was determined to have the highest cell viability than other combinations of sucrose and sorbitol during freeze-drying after microencapsulation ($p < 0.05$). After storage for 12 weeks at 40 °C, the viability of microencapsulated *L. plantarum* was reduced by 1.03 log CFU mL⁻¹, while free cell viability was reduced by 1.68 log CFU mL⁻¹. Additionally, microencapsulated cells with cryoprotectants were resistant to simulated stomach–duodenum passage (SSDP) in vitro model, compared to free cells ($p < 0.05$). This study highlighted that soy peptone was the most suitable cryoprotectant with trehalose and that the addition of maltodextrin during freeze-drying after microencapsulation of *L. plantarum* conferred enhanced survival during long-term storage at high temperatures and under adverse SSDP conditions.

Keywords Microencapsulation · *Lactobacillus plantarum* · Freeze-drying · Cryoprotectants

Introduction

According to the WHO/FAO, probiotics are defined as “living microorganisms, which confer a health benefit on the host when provided in sufficient numbers” Health and Bacteria [1]. Functional probiotics should be viable, tolerant to bile and gastric fluids, able to survive in the gastrointestinal tract, and able to adhere to and colonize gut epithelial cells

[2]. Probiotic cells require storage for prolonged periods before manufacture and ingestion [3]. Encapsulation is one of the most effective techniques for protecting bacterial cells against stresses, such as heat, humidity, extreme pH, and harmful substances, and it has been considered for improving the resistance of probiotics within food products to the stresses encountered during processing, storage, and especially passage through the intestinal tract [4].

Freeze-drying is currently used as a preservation method for preventing encapsulated probiotics from perishing during long-term storage, and it is useful in terms of contamination prevention, storage, transportation, and economic efficiency. However, probiotics are sensitive to the stresses that can be encountered during freeze-drying, which can lead to reduced viability [5]. Cryoprotective agents, including nitrogen sources such as amino acids, saccharides, sugars such as trehalose, sucrose, and lactose, and alcohols, such as sorbitol and mannitol, are frequently added to reduce cell damage during freeze-drying. Trehalose has been found to be an effective at promoting pressure resistance during the

Dong Joo Shin, Enkhtsatsral Elbegbayar contributed equally to this work.

✉ Hyeon Gyu Lee
hyeonlee@hanyang.ac.kr

¹ Department of Agricultural Biotechnology, Seoul National University, 08526 Seoul, Republic of Korea

² Food Research Institute, CJ Cheiljedang, 16495 Suwon, Korea

³ Department of Food and Nutrition, Hanyang University, 222 Wangsimni-ro, Seongdong-gu, 133-791 Seoul, Korea

Published online: 04 March 2023

Springer

그림 24. 출판된 논문 표지

6) 구아바잎 추출물 함유 음료의 지표성분 안정성 평가 진행

○ 구아바잎 추출물 함유 차음료 제품의 개요

- 구아바 차음료의 주원료는 구아바(*Psidium guajava*)의 잎을 열수 추출하고 여과, 농축하여 제조함. 일일 섭취량은 총 폴리페놀로서 120mg/day이며 기능성 내용은 “식후 혈당 상승 억제에 도움을 줄 수 있음” 임
- 구아바차음료를 제조하기 위해 구아바잎 추출물, 정제수, 트레할로스, 싸이클로덱스트린, 파이오렌지, 탄산수소나트륨, 혼합차향을 배합하였음.

○ 구아바잎 추출물 함유 차음료 제품의 유통기한 설정시험 진행

- 구아바 차음료를 살균하여 PET병에 넣고, 4°C, 20°C, 40°C에서 보관하면서 총폴리페놀 함량을 3개월간 보관하며 결과 값을 회귀분석 하였음.
- 보관 온도별 폴리페놀 함량은 아래 표와 같음.

표 12. 온도별 폴리페놀 저장 안정성 결과

storagetemp.(°C)	storageperiode (Day)	함량 (mg/430mL)
4°C	0	111.2
	27	109.8
	62	109.0
	90	108.1
20°C	0	111.2
	27	106.3
	62	102.1
	90	101.3
40°C	0	111.2
	27	103.6
	62	98.5
	90	96.5

- 보관 온도별 폴리페놀 함량을 그래프 그리면 아래와 같음.

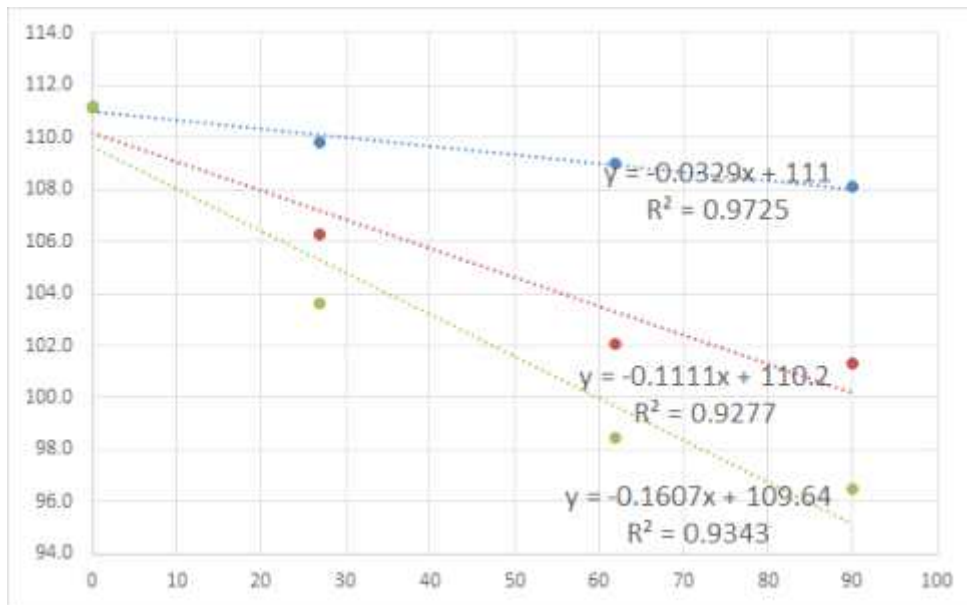


그림 25. 보관 온도별 폴리페놀 함량 변화

- 유통기한 산정을 위한 온도와 반응속도 상수의 관계식은 아래와 같음.

온도(°C)	온도(T)	1/T	반응속도상수(K)	LnK	R (기체상수)	r2 (결정계수)	Ea(Kcal/mole) = Slope*R [LnK = -(Ea/R)(1/T) + LnA]
4	277	0.00361	0.0329	-3.41447	1.987	0.896	-7516.62
20	293	0.003413	0.1111	-2.19743			
40	313	0.003195	0.1607	-1.82815			

그림 26. 폴리페놀의 온도와 반응속도 상수 관계식

- 추세선 방정식을 유통온도별 반응속도상수를 적용하여 연간 변화량을 계산

온도	유통일수	1/T	LnK	K	연간변화량(일)
10	152	0.003534	-2.962644	0.051682	7.855674
15	30	0.003472	-2.730576	0.065182	1.955452
20	61	0.003413	-2.506428	0.081559	4.975101
25	61	0.003356	-2.289802	0.101287	6.178477
30	61	0.003300	-2.080325	0.124890	7.618264
				합	28.582967

그림 27. 폴리페놀의 연간변화량

- 연간변화량을 적용한 예상 유통기한 계산하였음. 총폴리페놀 초기값이 120mg 인 구아바차음료의 경우, 품질 하한 규격(80%)인 96mg 이하로 될 때까지 약 6.4개월이 소요 됨. 안전계수 30% 적용시 4.9개월의 유통기한을 예상할 수 있음.

출고기준	출고함량	최초함량	품질 하한 규격(80%)	차이	연간변화량	예산유통기한(일)	예산유통기한(개월)	안전계수 /1.3
120	96-144	111.2	96.0000	15.2000	28.5830	194.10	6.4701	4.9770

그림 28. 폴리페놀 함유 음료의 유통기한 산출

7) 고춧가루를 함유한 유산균 발효음료 개발

○ 고춧가루를 함유한 유산균 발효음료의 개요

- 고춧가루를 함유한 우리나라의 전통 발효식품으로는 김치가 있음. 김치의 건강 기능성은 항산화, 암예방, 항비만, 면역 증가 등이 알려져 있으며, 이러한 기능성의 주요 매커니즘 중 한가지는 발효 중 증가하는 여러 대사체와 유산균으로 알려져 있음.
- 당사는 면역증강 기능이 알려진 균주(CJLP243)을 활용하여 김치의 주요 성분 중 한가지인 고춧가루를 발효하여 유산균 발효 음료를 개발하였음.
- 주요 제조 공정으로는 원료투입->살균->종균 접종->발효->냉각->충전/밀봉임.
- 초기 유산균수를 법적기준인 1×10^6 cfu/ml을 1000배이상 상회하는 1.9×10^9 cfu/ml의 유산균을 확보하였음. 이는 일반적으로 사용하는 화학배지(MRS) 1.0×10^9 cfu/ml 수준으로 천연 원료를 사용하여 이와 동등한 수준의 유산균수를 확보하였음.

○ 고춧가루를 함유한 유산균 발효음료의 유통기한 설정실험진행

- 유산균 발효음료를 PP재질의 포장지에 충전하고 10℃, 15℃에서 보관하면서 유산균 수 함량을 측정하였음.
- 보관 온도별 유산균수는 아래 표와 같음.

표 13. 온도별 유산균 저장 안정성 결과

storagetemp.(°C)	storageperiode (Weeks)	균수 (cfu/ml)
10°C	0	1.9 x 10 ⁹
	1	9.8 x 10 ⁸
	2	5.0 x 10 ⁸
	3	5.7 x 10 ⁸
	4	5.2 x 10 ⁸
	5	4.7 x 10 ⁸
	6	4.5 x 10 ⁸
15°C	0	1.9 x 10 ⁹
	1	7.0 x 10 ⁸
	2	6.1 x 10 ⁸
	3	4.3 x 10 ⁸
	4	3.2 x 10 ⁸
	5	3.7 x 10 ⁸
	6	2.5 x 10 ⁸

- 유산균수를 검사한 결과, 제조 직후 및 저장기간, 저장온도에서 모두 법적 규격인 1x10⁶ cfu/ml 이상의 유산균수를 확인하였으며, 자가품질규격인 2x10⁸ cfu/ml 이상을 유지하는 것을 확인하였음.
- 안정성 실험에서 가장 변화가 큰 유산균수를 기준으로 유산균 발효음료의 유통기한을 산출하였음. 목표유통기한인 32일의 1.3배인 42일까지 보관하여 확인한 결과, 유산균수의 자가품질규격인 2x10⁸ cfu/ml 이상을 만족하고, 일반세균의 증식추이가 없으며, 위해미생물이 검출되지 않았음.
- 유산균 발효액 및 시럽을 통한 유산균 발효음료의 제조 공정은 아래그림과 같음

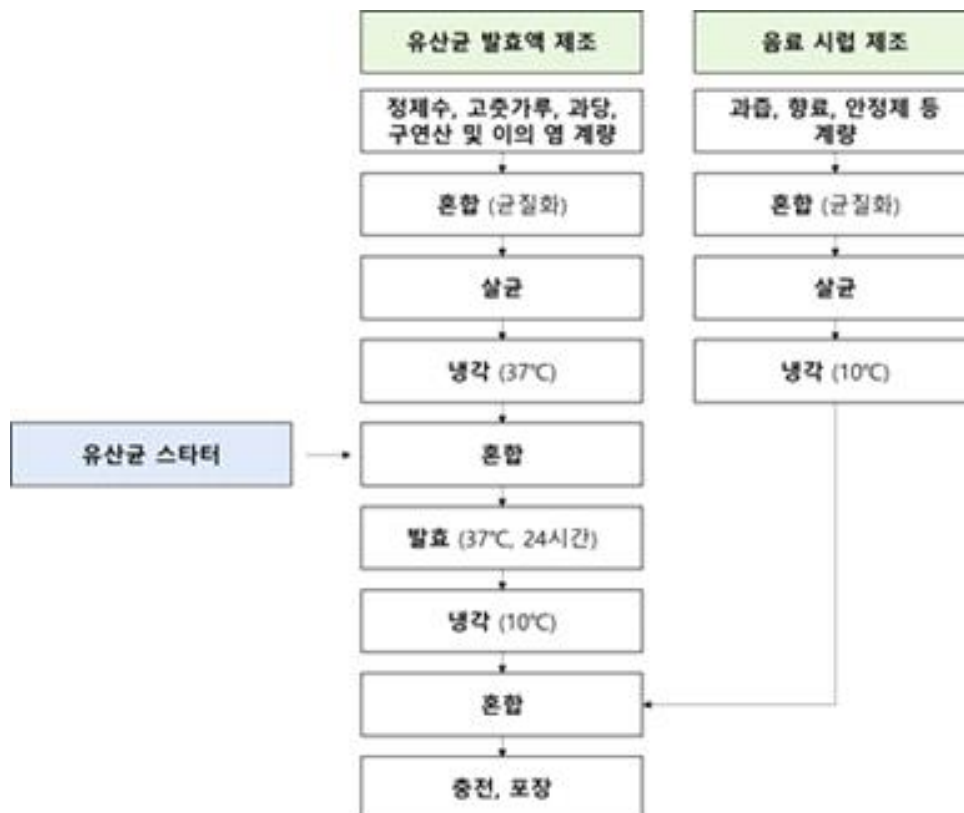


그림 29. 유산균 발효 음료의 제조 공정도

- 유산균 발효음료 및 함께 섭취가능한 시럽 제품의 품목제조신고를 완료하였음.



식품·식품첨가물 품목제조보고서

보고인	성명 이대열	생년월일 1961년 04월 26일		
	주소 충청남도 천안시 서북구 월봉4로 120-16 (봉황동, 동봉동성리마을)	전화번호 휴대전화		
영양소	영칭(상호) (주)우리에프엔비	영양등록번호 20120472008		
	소재지 충청남도 청양군 청남면 막골길 7			
제품정보	식품의 유형	유산균음료	품목제조보고번호	2012047200843
	제품명	프로바이오틱스 키베이스		
	유통기한	제조일로부터 32일까지		
	품질유지기한	제조일로부터 32일까지		
	원재료명 또는 성분명 및 배합비율	덧장예 기재		
	용도 용법	덧장예 기재		
	보관방법 및 포장재질	덧장예 기재		
	포장방법 및 포장단위	덧장예 기재		
	성상	병공사의 특성으로 고유의 색택을 가지고 이미, 이취, 이물이 없어야 한다.		
	식품의 특성	■ 고열량·저열량 식품 해당 여부 []예 []아니오 [0]해당 없음 ■ 영,유아를 섭취대상으로 표시 판매하는 식품 해당 여부 []예 [0]아니오 ■ 고정천화식품으로 표시해 판매하는 식품의 해당 여부 []영양성분 조절제품 []경도 조절제품 []질도조절 제품 [0]해당없음 ■ 기능성표시식품의 해당 여부 []예 [0]아니오 ■ 살균·멸균 제품의 해당 여부 [0]비살균 []살균 []멸균		
기타				

「식품위생법」 제37조 제5항 및 같은 법 시행규칙 제45조 제1항에 따라 식품 (식품첨가물) 품목제조 사항을 보고합니다.

2022년 05월 23일
보고인 이대열

충청남도 청양군수 귀하

품목보고번호 : 2012047200843

처리부서	인원행사실	처리자성명	황동실	처리일자	2022년 05월 24일
------	-------	-------	-----	------	---------------

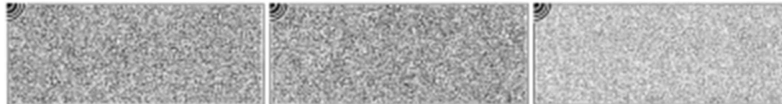


그림 30. 유산균 발효 음료의 품목제조신고서

○ 초미세 고춧가루를 활용한 유산균 발효액 제조방법 개발

- 초미세 고춧가루를 유효성분으로 포함하는 유산균 발효액을 개발하였음. 평균 입경 10~50 um의 소미세 고춧가루를 사용하였을 때, 일반 고춧가루보다 높은 유산균수를 얻을 수 있었음.

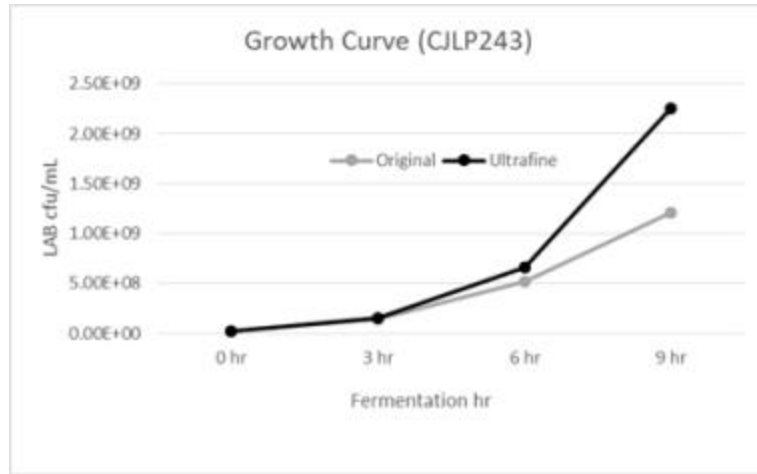


그림 31. 고춧가루 분말 크기에 따른 유산균 발효 차이

- 본 연구개발 결과에 대한 특허 출원을 완료 하였음.

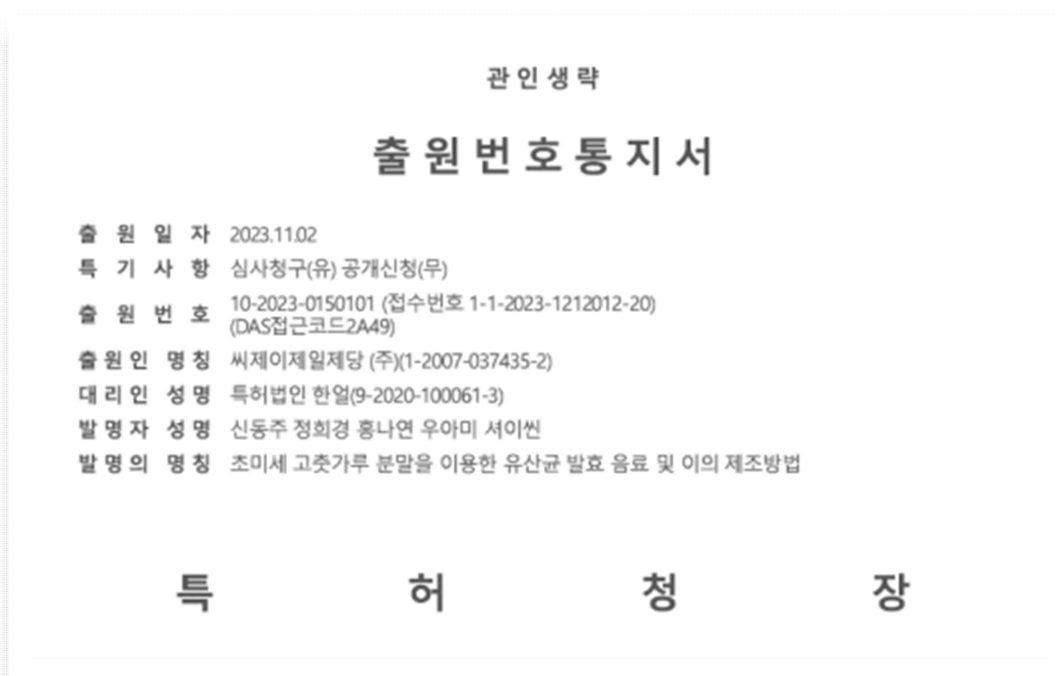


그림 32. 유산균 발효 음료의 특허 출원번호통지서

○ 초미세 고춧가루를 활용한 유산균 음료의 소비자 반응 확인

- 고춧가루를 유효성분으로 포함하는 유산균 발효 음료를 제조하여 소비자 조사를 수행하였음
- 176명의 소비자 조사결과, 한병에 3,500원에 책정된 가격은 다소 비싸다고 응답하였음. 50억 유산균 함유, 천연 원료, 작고 가벼운 shot 형태, 높은 생존력을 보유한 식물 유래 유산균 순서로 선호도를 보였음.
- 남성보다는 여성이 선호도를 보였으며, 배변 기능이 개선되었음에 대한 의견이 있었음. 다만 음료에 존재하는 김치맛은 비선호 요인으로 나타났음. 반면 매운맛은 선호 요인으로 나타났으므로 추후 이를 조절할 필요가 있음.

■ 제1협동기관(한양대학교)

[1차년도] 기능성 원료 고유 특성(용해도 및 안정성) 분석 및 데이터 구축

- 1) 기능성 원료 용해도 분석 및 평가체계 확립
- 2) 기능성 원료 안정성 분석 및 평가체계 확립

[2차년도] 캡슐화를 통한 기능성 원료의 일반식품 적용성 증진 기술 개발

- 1) 용해도 증진을 위한 다양한 캡슐(파티클, 에멀전 등) 제조 및 특성 분석
- 2) 안정성 증진을 위한 다양한 캡슐(파티클, 에멀전 등) 제조 및 특성 분석
- 3) 용해도 및 안정성 증진을 위한 캡슐화 방법 선정

[3차년도] 기능성 원료의 일반식품 적용성 증진 기술 최적화

- 1) 선정된 캡슐화 방법의 제조조건(피복물질, 기기조건 등) 분석
- 2) 캡슐 사이즈에 따른 용해도 및 안정성 분석
- 3) 용해도 및 안정성이 극대화된 최적 캡슐 제조조건 확립

1) 기능성 원료 고유 특성(용해도 및 안정성) 분석 및 데이터 구축

(1) 기능성 원료의 용해도 및 안정성 분석 및 평가체계 확립

○ 29종 기능성 원료의 개선점 문헌조사

- 기능성 원료별 용해도 및 안정성(열 및 pH)에 관한 논문 71편을 분석하여 원료별 개선점을 파악함(표1).

표1. 29종 기능성 원료의 개선점(용해도 및 안정성)

지표성분 구분	지표성분	원료명	지표성분 용해도	안정성	
				열	pH
터핀류	진세노사이드	인삼	■	■	■
	진세노사이드	홍삼	■	■	■
	총염록소	클로렐라	■	■	■
	총염록소	스피루리나	■	■	▲
	코로솔산	바나바잎 추출물	■	●	■
페놀류	총플라보노이드	프로폴리스 추출물	■	■	■
	총폴리페놀	구아바잎 추출물	■	■	▲
지방산 및 지질류	EPA/DHA	EPA-DHA (오메가 3 지방산)	■	●	●
유기산	구연산	매실 추출물	●	●	●
당 및 탄수화물	당류	라피노스	●	●	●
	올리고당	프락토올리고당	●	▲	■
	총다당체	알로에겔	●	■	■
다당류	다당류	구아검, 구아검 가수분해물	●	▲	●
		난소화성 말토덱스트린	●	●	●
	식이섬유	대두 식이섬유	■	■	●
		목이버섯 식이섬유	■	●	●
		밀 식이섬유	■	●	●
		보리 식이섬유	■	●	●
		옥수수겨 식이섬유	■	■	●
이눌린, 치커리 추출물	●	●	▲		

		차전자피 식이섬유	●	●	●
		호로파종자 식이섬유	●	●	▲
		분말한천	▲	●	▲
아미노산 및 단백질류	카제인	유단백 가수분해물	●	■	▲
	단백질	대두단백	■	■	■
아미노산 시스테인 유도체	알리인	마늘	●	●	▲
폴리펩타이드	글루탐산	폴리감마글루탐산	●	●	■
발효 미생물류	유산균	프로바이오틱스	■	■	■
미생물 대사산물	모나콜린K	홍국	■	■	■

※ 용해도/안정성 (●: 고, ▲: 중, ■: 저)

○ 기능성 원료의 용해도 분석 및 평가체계

- 기능성 원료의 용해도를 평가한 논문 24편을 조사한 결과, 수용액 상에 분산시켜 육안으로 확인하고 상층액을 취한 후 정량분석법(15편) 및 건조중량법(9편)을 사용함.
- 정량분석법은 HPLC-UV, TPC, TFC 등의 방법을 사용하며 건강기능식품공전과 논문을 바탕으로 각 기능성 원료별 정량분석법을 정리 및 선정함(표2). 건조중량법은 105℃의 dry oven에서 상압건조하여 건조 중량을 측정하는 방법임. 건조중량법은 열에 불안정한 성분과 휘발성분을 다량 함유한 기능성 원료에 적용이 어려워 본 연구에서는 정량분석법으로 용해도를 분석하고자 함.

○ 기능성 원료의 안정성 분석 및 평가체계

- 기능성 원료의 안정성을 평가한 논문 56편을 조사한 결과, 저장 안정성(29편), 열 안정성(17편), pH 안정성(12편), 산화 안정성(10편), 광 안정성(7편)을 평가함. 모든 안정성 평가 시 기능성 원료 분석은 정량분석법을 이용함. 정량분석법은 용해도 분석방법에서 사용한 표2와 동일함.
- 저장 안정성은 4, 25, 37℃ 등에서 1일~3달간 저장한 후 기능성 원료의 잔존율 및 활성을 평가하였음.
- 열 안정성은 dry oven, water bath, incubator에서 열을 가하여 기능성 원료의 잔존율 및 활성을 평가하는 방법과 DTA(differential thermal analysis), DSC(differential scanning calorimetry), TGA(thermogravimetric analysis) 등의 열 분석 기기를 사용하여 온도를 변화시킬 때 나타나는 열 용량, 엔탈피, 중량의 변화를 분석하는 방법이 주로 사용됨.

표2. 29종 기능성 원료 정량분석법

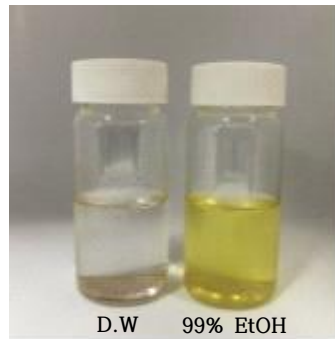
지표성분 구분	지표성분	원료명	정량분석법
터핀류	진세노사이드	인삼	HPLC-UV
	진세노사이드	홍삼	HPLC-UV
	총엽록소	클로렐라	Total chlorophyll content
	총엽록소	스피루리나	Total chlorophyll content
	코로솔산	바나바잎 추출물	HPLC-UV
페놀류	총플라보노이드	프로폴리스 추출물	Total flavonoid content
	총폴리페놀	구아바잎 추출물	Total polyphenol content

지방산 및 지질류	EPA/DHA	EPA-DHA(오메가 3 지방산)	GC-FID, MS
유기산	구연산	매실 추출물	HPLC-UV
당 및 탄수화물	당류	라피노스	HPLC-RI
	올리고당	프락토올리고당	HPLC-RI, ELSD
	총다당체	알로에겔	페놀-황산법
다당류	다당류	구아검, 구아검 가수분해물	HPLC-RI
		난소화성 말토덱스트린	HPLC-RI
	식이섬유	대두 식이섬유	효소중량법
		목이버섯 식이섬유	효소중량법
		밀 식이섬유	효소중량법
		보리 식이섬유	효소중량법
		옥수수겨 식이섬유	효소중량법
		이눌린, 치커리 추출물	효소중량법
		차전자피 식이섬유	효소중량법
		호로파종자 식이섬유	효소중량법
분말한천	효소중량법		
아미노산 및 단백질류	카제인	유단백 가수분해물	Kjeldahl, BCA assay
	단백질	대두단백	Kjeldahl
아미노산 시스테인 유도체	알리인	마늘	HPLC-UV
폴리펩타이드	글루탐산	폴리감마글루탐산	HPLC-FLD
발효 미생물류	유산균	프로바이오틱스	표준한천평판배양법, RT-PCR
미생물 대사산물	모나콜린K	홍국	HPLC-UV

○ 기능성 원료의 용해도/안정성 분석

- 용해도/안정성 분석방법의 실효성 여부를 검증하기 위해 29종 원료 중 프로폴리스 추출물, 프로바이오틱스, 스피루리나, 구아바잎 추출물에 대한 lab-test를 진행함.
- 프로폴리스 추출물을 증류수와 99% 에탄올에 분산시킨 후 상층액을 취하여 정량분석법을 통해 용해도를 분석함(그림 1). 정량분석법은 표2에 따라 프로폴리스 추출물의 기능성분인 총 플라보노이드 함량을 측정함. 총 플라보노이드 함량은 프로폴리스 추출물과 2% 염화알루미늄을 1:1 비율로 혼합하여 실온에서 10분간 반응시킨 후 microplate reader (Bio Tek Instrument, Winooski, VT, USA)를 이용하여 415 nm 파장에서 흡광도를 측정함. 0-250 µg/mL 농도의 퀘르세틴 용액으로 표준 곡선을 작성하여 총 플라보노이드 함량을 나타내었음.
- 증류수에서는 99% 에탄올에서와 다르게 잘 분산되지 않고 가라앉았으며 증류수에서 총 플라보노이드 함량은 5.43 ± 0.32 mg QUE/g, 99% 에탄올에서는 98.39 ± 6.21 mg QUE/g으로 물에 대한 용해도가 유의적으로 낮았음($p < 0.01$).

(A)



(B)

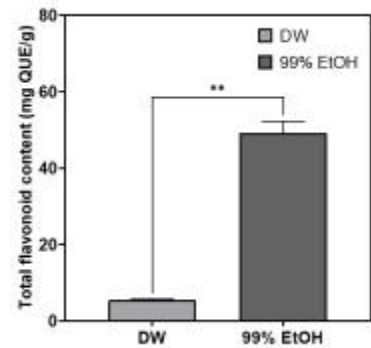
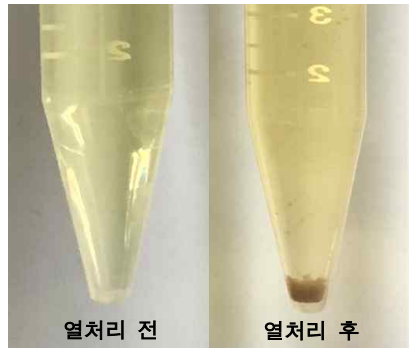


그림 1. 프로폴리스 추출물 용해도 분석. (A) 용매에 따른 상태 (B) 총 플라보노이드 함량

** indicates a significant difference by student's t-test ($p < 0.01$). DW, distilled water; EtOH, ethanol.

- 프로폴리스 추출물을 항온수조 (Daihan Labtech, Korea)에서 90°C, 시간대별(1, 2, 3, 4시간)로 열처리하여 안정성을 분석함(그림 2). 총 플라보노이드 함량 분석 방법은 위와 동일함. 열처리 2시간 경과 후부터 고형성분이 용출되었으며 용액이 탁해지고 갈변하였고, 4시간 경과 후 총 플라보노이드 함량 잔존율이 감소하였음($p < 0.05$).

(A)



(B)

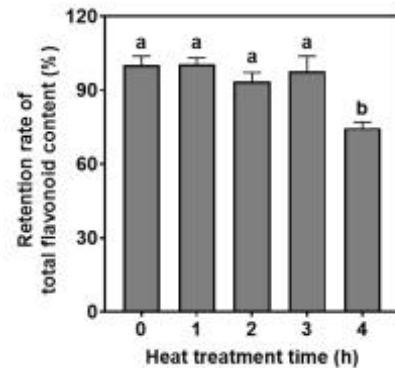


그림 2. 프로폴리스 추출물 열 안정성 분석. (A) 열처리 전후 상태 (B) 총 플라보노이드 함량 잔존율

^{a-b}) Values followed by the different letters are significantly different by Duncan's multiple range test ($p < 0.05$).

- 프로폴리스 추출물은 문헌 조사한 바와 같이 수용액 상에 용해도가 매우 낮으며 열에 불안정함. 또한, 프로폴리스 추출물의 특성(용해도 및 안정성)을 분석할 때 사용할 수 있는 정량분석법의 실효성을 검증하였음.
- 프로바이오틱스를 phosphate buffered saline (PBS)에 분산 후 항온수조에서 50, 63, 72°C로 열처리하여 안정성을 분석함(그림 3). 정량분석법인 표준한천평판배양법을 통해 총 생균수로 나타냄. 50°C에서 열처리 1분 경과 후 총 생균수가 감소하였음($p < 0.05$).

(A)

(B)

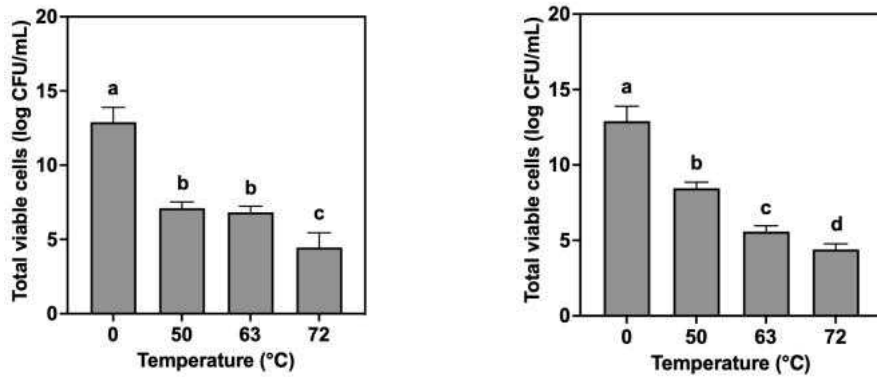


그림 3. 프로바이오틱스 열처리 시간에 따른 총 생균수. (A) 1분 (B) 2분

^{a-d)} Values followed by the different letters are significantly different by Duncan's multiple range test ($p < 0.05$).

- 프로바이오틱스는 문헌 조사한 바와 같이 열에 불안정함. 또한, 프로바이오틱스의 특성(안정성)을 분석할 때 사용할 수 있는 정량분석법의 실효성을 검증하였음.
- 스피루리나를 항온수조에서 80°C, 시간대별(1, 2, 4시간)로 열처리하여 정량분석법을 통해 안정성을 분석함(그림 4). 정량분석법은 표2에 따라 스피루리나의 기능성분인 총 엽록소 함량을 측정함. 총 엽록소 함량은 스피루리나와 85% 아세톤을 혼합하여 4°C에서 24시간 동안 보관함. 3000rpm에서 15분 동안 원심분리하여 microplate reader를 이용하여 642, 660 nm 파장에서 상층액의 흡광도를 측정함. 열처리 1시간 경과 후 총 엽록소 함량이 감소하였으며($p < 0.05$) 2시간 후에는 60%, 4시간 후에는 44%로 감소하였음($p < 0.05$).

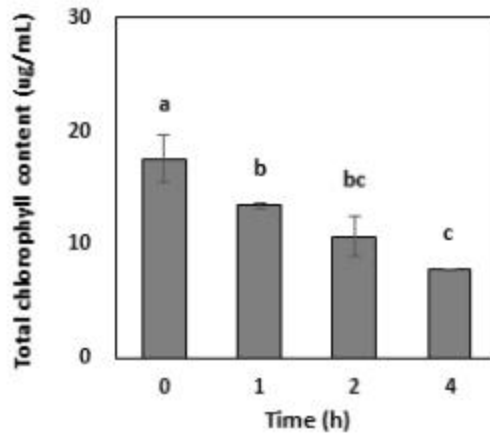


그림 4. 스피루리나의 열처리 시간에 따른 총 엽록소 함량.

^{a-c)} Values followed by the different letters are significantly different by Duncan's multiple range test ($p < 0.05$).

- 스피루리나는 문헌 조사한 바와 같이 열에 불안정함. 또한, 스피루리나의 특성(안정성)을 분석할 때 사용할 수 있는 정량분석법의 실효성을 검증하였음.
- 구아바잎 추출물을 증류수와 99% 에탄올에 분산시킨 후 상층액을 취하여 정량분석법을 통해 용해도를 분석함(그림 5). 정량분석법은 표2에 따라 구아바잎 추출물의 기능성분인 총 폴리페놀 함량을 측정함. 총 폴리페놀 함량은 구아바잎 추출물과 2% 탄산나트륨 및 50% 폴린-시오칼투 용액을 실온에서 8분간 반응시킨 후 microplate reader를 이용하여 750 nm 파장에서 흡광도를 측정함. 0-1,000 $\mu\text{g/mL}$ 농도의 갈산으로 표준 곡선을 작성하여 총 폴리페놀 함량을 나타내었음.
- 증류수에서는 99% 에탄올에서와 다르게 잘 분산되었으며 증류수에서 총 폴리페놀 함량은 $44.13 \pm 2.48 \text{ mg GAE/g}$, 99% 에탄올에서는 $25.93 \pm 4.09 \text{ mg GAE/g}$ 으로 물에 대한 용해도가 유의적으로 높았음($p < 0.01$).

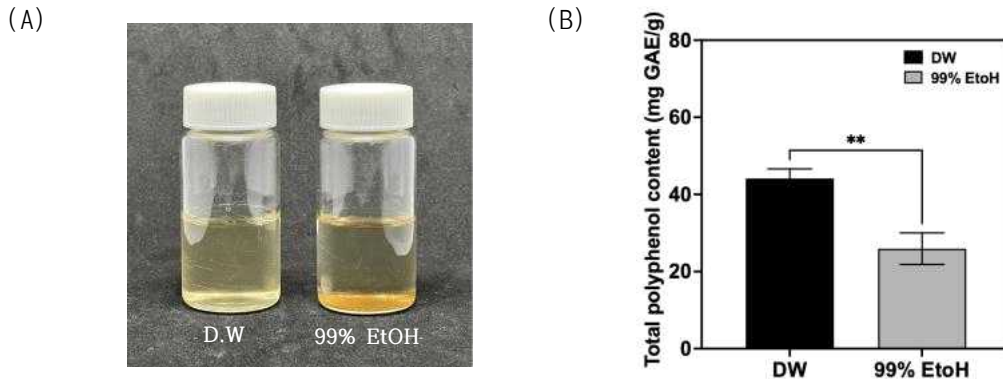


그림 5. 구아바잎 추출물 용해도 분석. (A) 용매에 따른 상태 (B) 총 폴리페놀 함량

** indicates a significant difference by student's t-test ($p < 0.01$). DW, distilled water; EtOH, ethanol.

- 구아바잎 추출물을 항온수조에서 90°C, 24시간 열처리하여 안정성을 분석함(그림 6). 총 폴리페놀 함량 분석 방법은 위와 동일함. 열처리 12시간 경과 후 총 폴리페놀 함량 잔존율이 감소하였음($p < 0.05$).

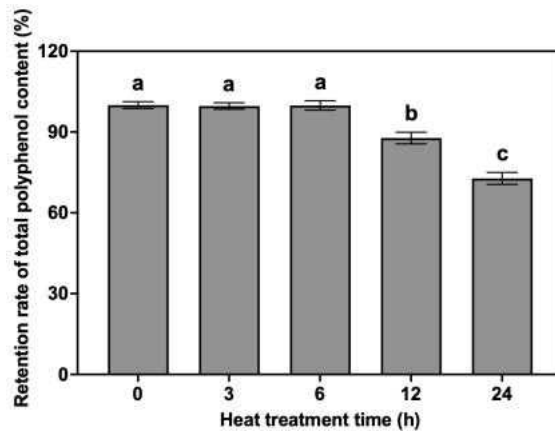


그림 6. 구아바잎 추출물의 열처리 시간에 따른 총 폴리페놀 함량 잔존율.

^{a-c)} Values followed by the different letters are significantly different by Duncan's multiple range test ($p < 0.05$).

- 구아바잎 추출물은 수용액 상에 용해도가 높으며 문헌 조사한 바와 같이 열에 불안정함. 또한, 구아바잎 추출물의 특성(용해도 및 안정성)을 분석할 때 사용할 수 있는 정량분석법의 실효성을 검증하였음.

2) 캡슐화를 통한 기능성 원료의 일반식품 적용성 증진 기술 개발

(1) 프로폴리스 추출물

① 용해도 및 안정성 증진을 위한 다양한 캡슐 제조 및 특성 분석

○ 프로폴리스 추출물 포집 나노파티클 제조

- 프로폴리스 추출물 포집 나노파티클은 키토산과 히알루론산 사이의 이온 겔화 방법을 이용하여 제조함. 키토산 용액에 프로폴리스 추출물을 충분히 분산시킨 후 교반(1,000 rpm)하면서 히알루론산 용액을 dropwise로 떨어뜨려 나노파티클을 제조함.
- 프로폴리스 추출물 포집 나노파티클을 키토산과 히알루론산의 질량비별로 캡슐의 특성을 분석함(표3). 4:6을 제외한 비율에서 다분산지수가 약 0.3으로 고른 입자 크기를 나타냄. 4:7의 비율에서 4:9의 비율보다 제타 전위가 유의적으로 증가함($p < 0.05$). 따라서 4:7의 비율을 최적 제조조건으로 선정함.

표3. 키토산과 히알루론산의 질량 비율에 따른 나노파티클의 입자 특성

CS:HA (w/w)	Size (nm)	PDI	Zeta potential (mV)
4:6	357.5 ± 14.1 ^b	0.412 ± 0.010 ^a	25.1 ± 1.3 ^a

4:7	378.3 ± 6.1 ^a	0.309 ± 0.018 ^b	24.3 ± 2.6 ^a
4:8	377.8 ± 11.1 ^a	0.261 ± 0.048 ^b	22.3 ± 0.5 ^{ab}
4:9	360.5 ± 6.8 ^{ab}	0.173 ± 0.019 ^c	21.0 ± 0.7 ^b

Data are expressed as mean ± SD. ^{a-c}) Values followed by the different letters are significantly different by Duncan's multiple range test ($p < 0.05$). PDI, polydispersity index, CS, chitosan; HA, hyaluronic acid.

○ 프로폴리스 추출물 포집 나노리포좀 제조

- 프로폴리스 추출물 포집 나노리포좀은 포스파티딜콜린, 콜레스테롤의 막수화방법을 통해 제조함. 회전감압농축기(EYELA, Tokyo, Japan)로 포스파티딜콜린, 콜레스테롤, 프로폴리스 추출물 혼합 용액 내 유기용매를 증발시켜 막을 제조한 후, 동일한 부피의 증류수를 첨가하여 수화시킴. 크기를 감소시키고 균일한 입자를 형성하기 위해서 초음파 처리기(VC505, Vibracell Sonics, Newton, USA)로 초음파 처리하여 리포좀을 제조함. 예비실험을 통해 초음파 처리 시간 4분으로 선정하였으며 포스파티딜콜린과 콜레스테롤의 비율 2:1, 6:1, 10:1 (w/w)에 따라 나노리포좀을 제조함.
- 프로폴리스 추출물 포집 나노리포좀을 포스파티딜콜린과 콜레스테롤의 질량비별로 캡슐의 특성을 분석함(표4). 2:1을 제외한 비율에서 다분산지수가 약 0.3으로 고른 입자 크기를 나타냄. 6:1과 10:1의 질량비에 따른 유의적 차이는 없었음. 따라서 적은 양의 포스파티딜콜린으로도 나노리포좀 제조가 가능한 6:1을 최적 제조 조건으로 선정함.

표4. 포스파티딜콜린과 콜레스테롤의 질량비에 따른 나노리포좀의 입자 특성

PC:CHOL (w/w)	Size (nm)	PDI	Zeta potential (mV)
2:1	112.0 ± 0.5	0.375 ± 0.014 ^a	-63.1 ± 1.1 ^b
6:1	112.0 ± 4.1	0.213 ± 0.014 ^b	-54.5 ± 4.8 ^a
10:1	111.0 ± 3.9	0.224 ± 0.010 ^b	-58.0 ± 5.1 ^{ab}

Data are expressed as mean ± SD. ^{a-b}) Values followed by the different letters are significantly different by Duncan's multiple range test ($p < 0.05$). PDI, polydispersity index; PC, L-phosphatidylcholine; CHOL, cholesterol.

○ 나노파티클 및 나노리포좀 형태학적 특성 분석

- 나노파티클과 나노리포좀을 주사전자현미경(Verios G4UC, FEI, Hillsboro, OR, USA) 측정하여 입자의 균일성을 형태학적으로 관측함(그림 7). 나노파티클은 결정형으로, 나노리포좀은 매끄러운 형태의 구형으로 나타났음.

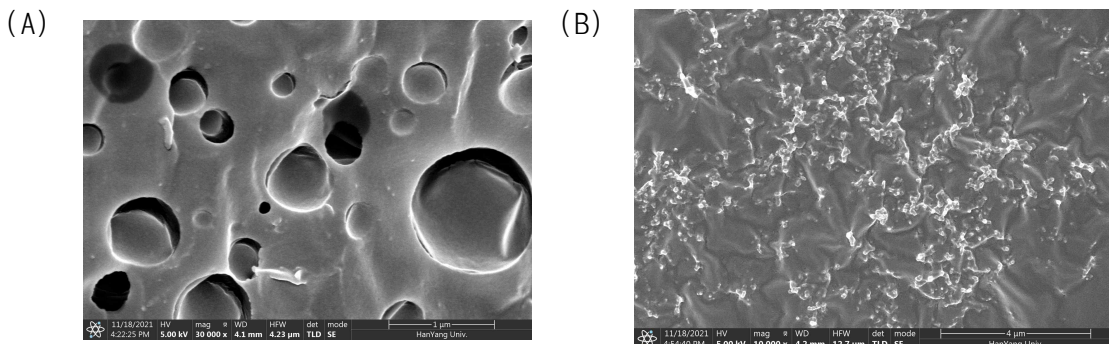


그림 7. 프로폴리스 추출물 포집 캡슐의 형태학적 특성. (A) 나노파티클 (B) 나노리포좀

○ 나노파티클 및 나노리포좀 포집효율 분석

- 나노파티클 및 나노리포좀 분산 용액을 amicon tube (MWC0, 50kDa, Millipore, Billerica, MA, USA)에 넣어 4,000xg, 4°C에서 30분 동안 원심분리하였음. 이후 여과액의 총 플라보노이드 함량을 측정하였음. 아래와 같은 식을 사용하여 포집효율(entrapment efficiency, EE)을 계산함.

$$EE (\%) = \{(\text{total amount of flavonoid} - \text{free amount of flavonoid}) / \text{total amount of flavonoid}\} \times 100$$

- 위 계산식을 통해 도출한 나노파티클, 나노리포솜의 포집효율(%)은 각각 84.6 ± 0.4 , $91.6 \pm 2.1\%$ 으로 나노리포솜이 나노파티클에 비해 유의적으로 더 높게 나타남($p < 0.05$).

② 용해도 및 안정성 증진을 위한 최적 캡슐화 방법 선정

○ 나노파티클 및 나노리포솜의 용해도 분석

- 나노파티클 및 나노리포솜 재분산 용액을 3,000xg, 4°C에서 10분 동안 원심분리함. 이후 상층액을 0.45 μm cellulose acetate filter로 여과한 후, 총 플라보노이드 함량을 측정함(그림 8).
- 나노파티클 및 나노리포솜의 용해도 분석한 결과, 나노파티클 및 나노리포솜의 용해도는 증류수에 용해된 프로폴리스 추출물에 비해 각각 2.43배, 6.03배 증진됨. 나노리포솜이 나노파티클에 비해 용해도가 유의적으로 증진되었음($p < 0.05$).

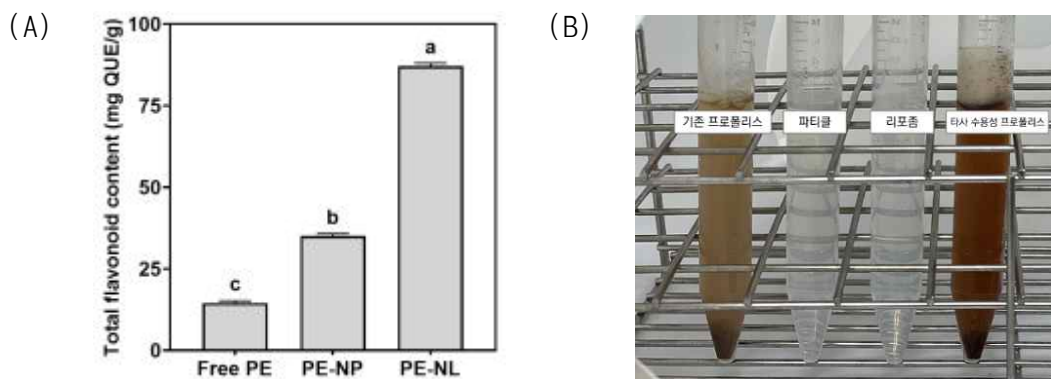


그림 8. 프로폴리스 추출물 포집 파티클과 리포솜의 용해도 비교.

^{a-c)} Values followed by the different letters are significantly different by Duncan's multiple range test ($p < 0.05$). PE, propolis extract; PE-NP, propolis extract-loaded nanoparticle; PE-NL, propolis extract-loaded nanoliposome.

○ 나노파티클 및 나노리포솜의 pH 안정성 분석

- Free, 나노파티클, 나노리포솜을 pH를 3, 4, 5, 6, 7로 조정한 버퍼에 분산함. 아세트나트륨을 사용하여 캡슐을 용해한 후 캡슐 내에 함유된 총 플라보노이드 함량을 측정함(그림 9).
- 모든 pH 범위(3-7)에서 나노리포솜, 나노파티클, 추출물 순으로 총 플라보노이드 함량이 유의적으로 높았음($p < 0.05$).

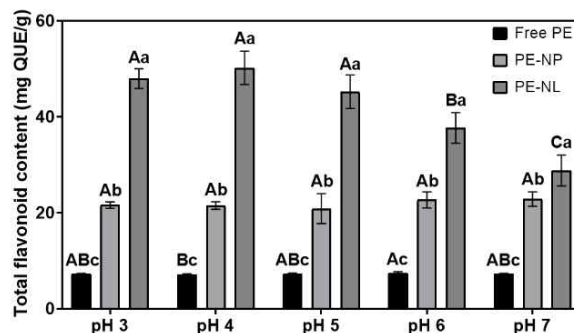


그림 9. pH 조건에 따른 나노파티클, 나노리포솜의 총 플라보노이드 함량.

^{A-C)} Different uppercase letters indicate significant differences between pH values within the same treatment.

^{a-c)} Different lowercase letters indicate significant differences between different treatments within the same pH value by Duncan's multiple range test ($p < 0.05$). PE, propolis extract; PE-NP, propolis extract-loaded nanoparticle; PE-NL, propolis extract-loaded nanoliposome.

○ 나노파티클 및 나노리포솜의 저장 안정성 분석

- Free, 나노파티클, 나노리포솜을 30, 50°C에서 4주 동안 저장하며 일주일 간격으로 프로폴리스 추출물의 기능성분인 총 플라보노이드 함량을 정량 분석하고 0주차

의 함량을 기준으로 잔존율을 나타냄(그림 10).

- 4주간의 저장 후 모든 온도에서 나노파티클 및 나노리포솜은 30°C에서 3주, 50°C에서 2주 동안 저장한 이후부터 추출물에 비해 총 플라보노이드 함량 잔존율이 유의적으로 높았으며($p < 0.05$) 두 전달체 간 유의적 차이는 없었음.

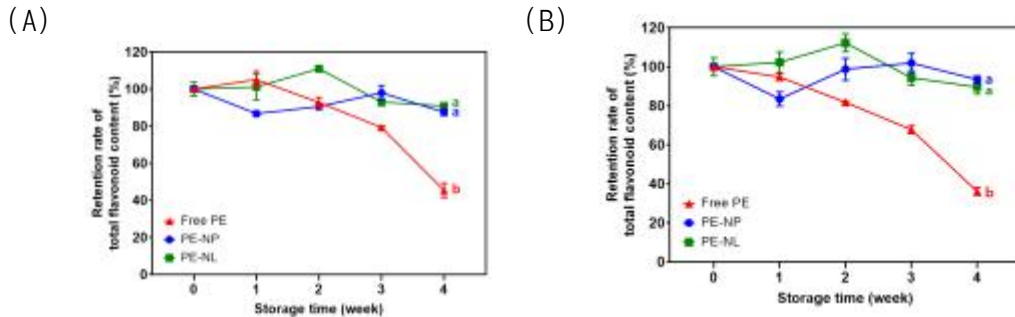


그림 10. 저장기간 및 저장온도에 따른 추출물, 나노파티클, 나노리포솜의 총 플라보노이드 함량 잔존율 비교. (A) 30°C, (B) 50°C

^{a-b)} Values followed by the different letters are significantly different by Duncan's multiple range test ($p < 0.05$). PE, propolis extract; PE-NP, propolis extract-loaded nanoparticle; PE-NL, propolis extract-loaded nanoliposome.

○ 용해도 및 안정성 증진을 위한 캡슐화 방법 선정

- 나노파티클과 나노리포솜 모두 free에 비해 용해도, pH 안정성, 저장 안정성이 증진하였음. 캡슐화 방법에 따른 이화학적 특성(사이즈, 다분산지수, 제타전위, 포집효율), 용해도 및 안정성 평가 결과를 비교한 결과 나노리포솜이 이화학적 특성, 용해도, pH 안정성이 우수하며 저장 안정성은 두 전달체 간의 유의적인 차이가 없었음. 따라서 프로폴리스 추출물의 용해도 및 안정성 증진을 위한 최적 캡슐화 방법으로 나노리포솜을 선정함.

(2) 프로바이오틱스(*Lactobacillus rhamnosus* GG)

① 안정성 증진을 위한 다양한 캡슐 제조 및 특성 분석

○ 프로바이오틱스 포집 알지네이트 비드 제조

- 프로바이오틱스 *Lactobacillus rhamnosus* (LGG) 균주를 MRS액체 배지(Difco, USA) 37°C에서 18시간 내지 24시간 배양함. 24시간 배양한 LGG 균주의 배양액의 균수는 $13.72 \log \text{CFU/mL}$ 로 나타남. 배양액을 4,000 rpm, 5°C에서 15분 동안 원심분리하여 상등액을 버리고 균 펠렛을 수거하여 실험에 이용함.
- 프로바이오틱스 포집 알지네이트 비드는 칼슘과 알지네이트 사이의 이온 겔화 방법을 이용하여 제조함. 알지네이트 용액을 고압멸균한 후 프로바이오틱스 현탁액과 혼합함. 주사기를 통해 칼슘 용액에 주입한 후 30분 동안 경화시키고 펌프 용액으로 세척하여 비드를 제조함.

○ 프로바이오틱스 포집 마이크로캡슐 제조

- 프로바이오틱스 포집 마이크로캡슐은 아라빅검(GA)과 분리유청단백(SPI) 용액 사이의 코아세르베이션 방법을 이용하여 제조함. GA(2.5% (w/v)) 및 SPI(2.5% (w/v)) 용액은 각각 GA 및 SPI 분말을 증류수에 200 rpm, 실온에서 1시간 동안 교반하면서 분산시킴. GA 용액의 pH는 6.8, SPI 용액의 pH는 8.0으로 유지하였음. GA 및 SPI 용액은 완전한 수화를 위해 4°C에서 24시간 보관함. SPI 및 GA 용액을 1:1 비율로 혼합한 뒤 프로바이오틱스 현탁액을 첨가하고 pH를 4로 조정함. 실온에서 12시간 보관하여 분리시킨 후 하층액을 수집함. 0.1 M PBS (pH 4.0)으로 2회 세척하여 마이크로캡슐을 제조함.
- 건조보호제인 말토덱스트린(10% (w/v))과 프로바이오틱스 포집 마이크로캡슐 및 free cells ($9.547 \log \text{CFU/mL}$)을 각각 1:1 비율로 혼합하여 air let 120°C, outlet 67°C 조건에서 B-295 Inert Loop 액세서리 (Büchi Switzerland, Flawil, Switzerland)에 결합된 Büchi B-290 Mini Spray-Dryer를 사용하여 분무 건조함. 마이크로캡슐 건조 분말의 포집효율(%)은 $83.0 \pm 2.1\%$ 로 나타남.

○ 알지네이트 비드 및 마이크로캡슐 포집효율 분석

- 알지네이트 비드 및 마이크로캡슐 건조 분말 0.1 g과 시트르산 나트륨 용액 10 mL를 혼합한 후 900 rpm으로 1시간 동안 원심분리하여 프로바이오틱스를 방출시킴. 방출된 프로바이오틱스 희석용액을 37°C에서 MRS 한천배지에 배양 후, 콜로니 수를 측정함. 아래와 같은 식을 사용하여 포집효율을 계산함.

$$EE (\%) = \{ \text{방출된 프로바이오틱스} / \text{첨가한 프로바이오틱스} \} \times 100$$

- 알지네이트 비드 및 마이크로캡슐의 포집효율(%)을 분석한 결과, 각각 85.3 ± 1.5 , $85.5 \pm 0.7\%$ 로 나타남.

② 안정성 증진을 위한 최적 캡슐화 방법 선정

○ 알지네이트 비드 및 마이크로캡슐의 열 안정성 분석

- 프로바이오틱스 포집 알지네이트 비드를 PBS에 분산 후 항온수조에 63, 72°C로 1, 2분 열처리하여 정량분석법인 표준한천평판배양법을 통해 총 생균수를 측정함 (그림 11).
- 프로바이오틱스 포집 알지네이트 비드의 열 안정성을 분석한 결과, 모든 온도 및 시간에서 프로바이오틱스보다 총 생균수가 유의적으로 높았음($p < 0.05$).
- Free cells, 프로바이오틱스 포집 마이크로캡슐 건조 분말 및 free cells 건조 분말을 PBS (pH 4)에 분산 후 항온수조에 40°C로 0, 18, 24, 36, 48시간, 50°C로 0, 1, 2, 3, 5, 10분, 60°C로 0, 1, 2, 3분 열처리하여 정량분석법인 표준한천평판배양법을 통해 총 생균수를 측정함(그림 12).
- 프로바이오틱스 포집 마이크로캡슐의 열 안정성을 분석한 결과, 모든 온도 및 시간에서 프로바이오틱스보다 총 생균수가 유의적으로 높았음($p < 0.05$).

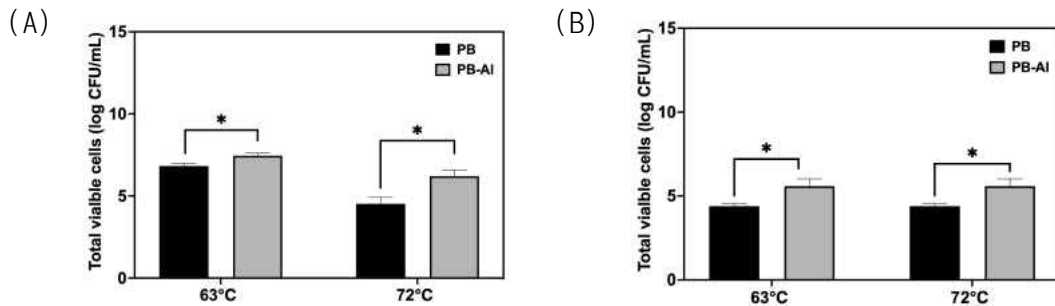


그림 11. 열처리 조건에 따른 프로바이오틱스 포집 비드 열 안정성 분석. (A) 1분 (B) 2분
*) indicates a significant difference by student's t-test ($p < 0.05$). PB, probiotics; PB-AL, probiotics-loaded alginate bead.

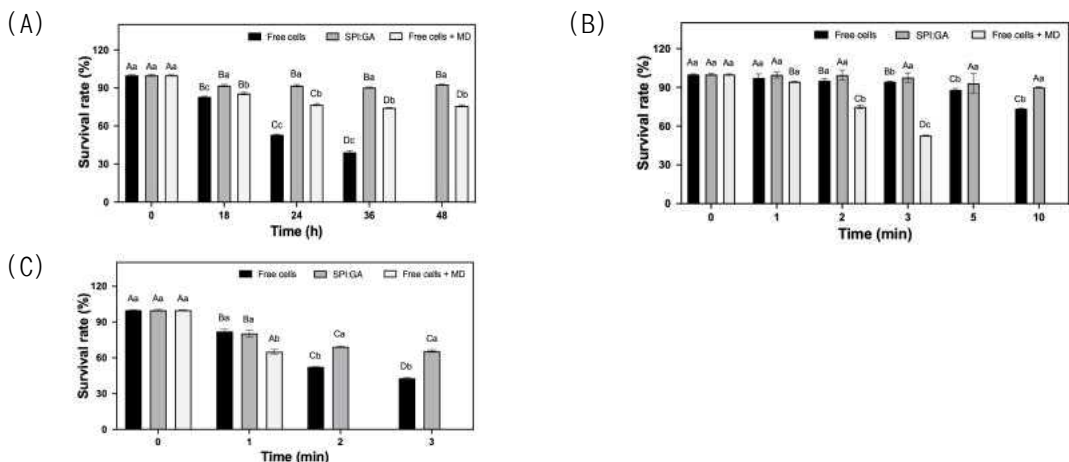


그림 12. 열처리 조건에 따른 프로바이오틱스 포집 마이크로캡슐 열 안정성 분석. (A) 40°C, (B) 50°C, (C) 60°C

A-C) Different uppercase letters indicate significant differences between survival rate (%) within the same treatment. a-c) Different lowercase letters indicate significant differences between different treatments within the same time by Duncan's multiple range test ($p < 0.05$). Free cells, 캡슐화하지 않은 프로바이오틱스; SPI:GA, 프로바이오틱스 포집 마이크로캡슐 건조분말, Free cells + MD ; free cells 건조분말.

○ 알지네이트 비드 및 마이크로캡슐의 pH 안정성 분석

- 프로바이오틱스 포집 알지네이트 비드를 PBS에 분산하여 비드로부터 프로바이오틱스를 방출시킨 다음 pH 3으로 조정한 후 3시간 반응시켜 총 생균수를 측정함(그림 13).
- 프로바이오틱스와 알지네이트 비드의 pH 3에서의 3시간 후 생존율(%)은 각각 57.6 ± 1.2 , $71.6 \pm 4.3\%$ 으로 알지네이트 비드의 생존율은 프로바이오틱스보다 유의적으로 높았음($p < 0.05$).
- 프로바이오틱스 포집 마이크로캡슐을 PBS에 분산하여 마이크로캡슐로부터 프로바이오틱스를 방출시킨 다음 pH 3, 4, 6으로 조정한 후 12, 24시간 반응시켜 총 생균수를 측정함(그림 14).
- 프로바이오틱스 포집 마이크로캡슐의 pH 안정성을 분석한 결과, pH 3, 4에서 12, 24시간 후 총 생균 수는 free보다 마이크로캡슐이 유의적으로 높았음($p < 0.05$). pH 6에서 12시간 후 총 생균 수는 free보다 마이크로캡슐이 유의적으로 높았으나 24시간 후 총 생균 수는 유의적인 차이는 없었음.

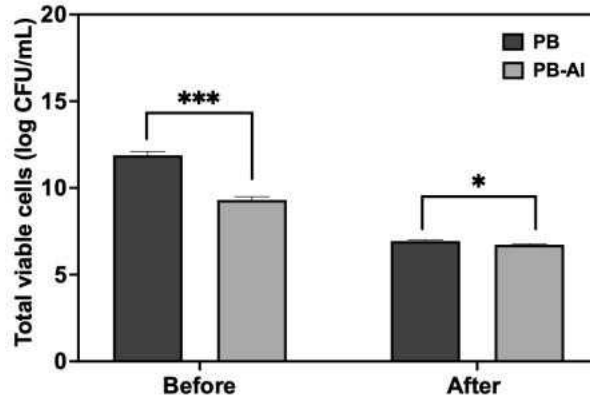


그림 13. pH 3에서 프로바이오틱스, 알지네이트 비드의 pH 안정성 분석.

***) indicates a significant difference by student's t-test ($p < 0.001$), *) indicates a significant difference by student's t-test ($p < 0.05$). PB, probiotics; PB-AL, probiotics-loaded alginate bead.

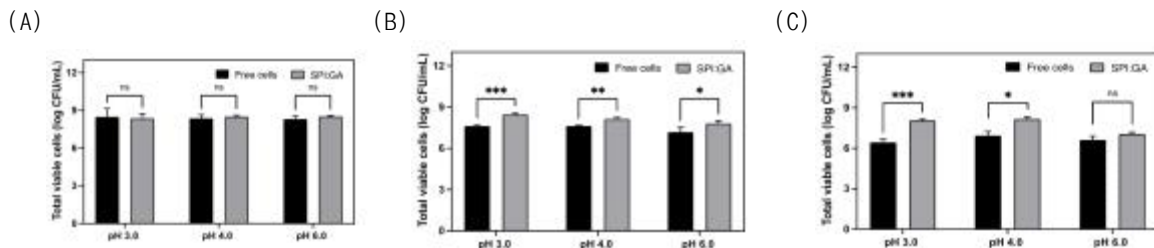


그림 14. pH 조건 및 시간에 따른 프로바이오틱스 포집 마이크로캡슐의 pH 안정성 분석.

(A) 0시간 (B) 12시간 (C) 24시간

***) indicates a significant difference by student's t-test ($p < 0.001$). **) indicates a significant difference by student's t-test ($p < 0.01$). *) indicates a significant difference by student's t-test ($p < 0.05$). Free cells, 캡슐화하지 않은 프로바이오틱스; SPI:GA, 프로바이오틱스 포집 마이크로캡슐.

○ 프로바이오틱스 포집 분리유청단백 코팅 알지네이트 비드 제조

- 프로바이오틱스 포집 분리유청단백 코팅 알지네이트 비드는 분리유청단백(WPI) 용액과 알지네이트, 칼슘 사이의 이온 겔화 방법을 이용하여 제조함. WPI(11% (w/v)) 용액은 pH 7로 조정 및 78°C에서 30분 열처리하여 4°C에서 24시간 동안 수화시킨 후 프로바이오틱스 현탁액을 첨가함. 주사기를 통해 35°C에서 준비된 아세테이트 버퍼(0.5 M, pH 4.6, 0.08% tween 20 첨가) 용액에 주입하여 3시간 동안 경화시키고 알지네이트

트 용액(pH 4.6)에 재현탁한 후 24시간 동안 보관함. 주사기를 통해 칼슘 용액(0.2 M)에 주입하여 15분 동안 경화시키고 열처리한 WPI(1% (w/v), pH 2.6) 용액에 재현탁한 후 24시간 동안 보관함. 주사기를 통해 칼슘 용액(0.2M)에 주입하여 15분 동안 경화시켜 비드를 제조함.

○ 다양한 WPI 이용 분리유청단백 코팅 알지네이트 비드 형태학적 특성 분석

- 분리유청단백 코팅 알지네이트 비드에 WPI가 미치는 영향을 평가하기 위해 Fonterra (WPI895) 분리유청단백, PRObev 90 분리유청단백 및 Hemier 분리유청단백을 첨가하여 분리유청단백 코팅 알지네이트 비드를 제조함. WPI의 종류별로 비드의 형태학적 특성을 평가함.
- Fonterra 분리유청단백 11% (w/v) 첨가 시 아세테이트 버퍼 용액에서 경화 후 얇은 비드의 형태를 나타냄(그림 15A). PRObev 90 분리유청단백 11% (w/v) 첨가 시 pH 조정 및 가열 후 단단한 겔을 형성하여 비드를 제조할 수 없었음. 비율을 낮춰 9% (w/v) 첨가 시 적당한 겔을 형성하여 해당 조건으로 비드를 제조함(그림 15B, C). Hemier 분리유청단백 11% (w/v) 첨가 시 아세테이트 버퍼 용액에서 경화되지 않아 비드를 제조할 수 없어 이후 실험을 진행하지 않음.

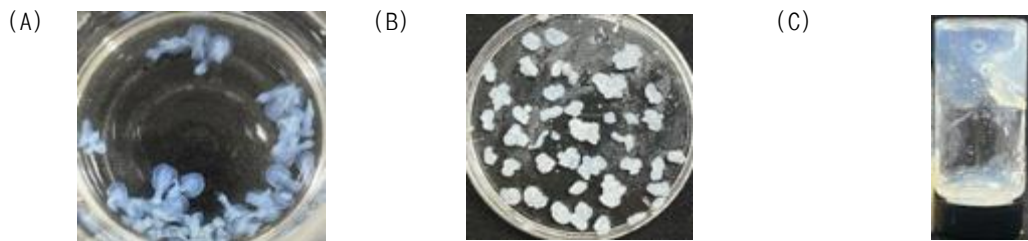


그림 15. WPI 종류에 따른 분리유청단백 코팅 알지네이트 비드의 형태학적 특성. (A) Fonterra 분리유청단백 첨가 알지네이트 비드 (B) PRObev 90 분리유청단백 첨가 알지네이트 비드 (C) PRObev 90 분리유청단백 pH 조정 및 가열 후 겔 형성

② 분리유청단백 코팅 알지네이트 비드의 안정성 분석

○ 분리유청단백 코팅 알지네이트 비드의 열 안정성 분석

- 분리유청단백 코팅 알지네이트 비드를 PBS (pH 2.6)에 분산 후 항온수조에 66°C로 10분 열처리하여 4°C에서 2주 동안 저장하며 일주일 간격으로 정량분석법인 표준한천평판배양법을 통해 총 생균수를 측정하고 0주차의 생균수를 기준으로 생존율을 나타냄(그림 16A).
- 1주 동안 저장 후 Fonterra 분리유청단백 첨가 알지네이트 비드 및 PRObev 90 분리유청단백 첨가 알지네이트 비드의 생존율은 유의적 차이가 없었음. 2주 동안 저장 후 Fonterra 분리유청단백 첨가 알지네이트 비드는 유의적 차이가 없었으나 PRObev 90 분리유청단백 첨가 알지네이트 비드는 1.5 log CFU/mL 감소하였음(그림 16B).

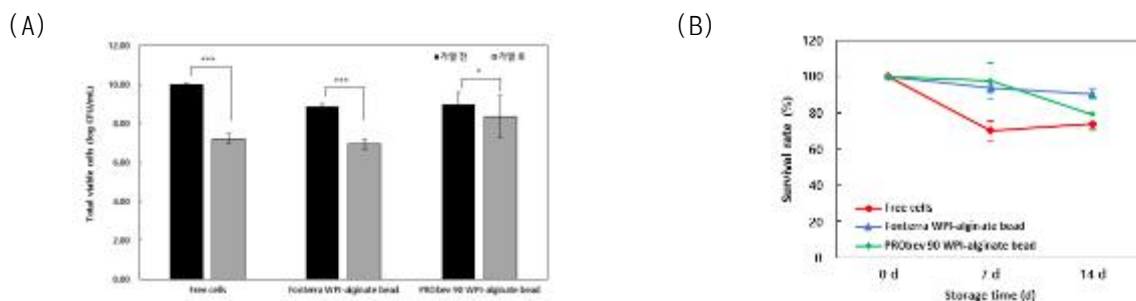


그림 16. WPI 종류에 따른 분리유청단백 코팅 알지네이트 비드의 열 안정성 분석.

(A) 열처리 전, 후 생존율 (B) 열처리 후 저장기간에 따른 생존율

***) indicates a significant difference by student's t-test ($p < 0.001$). *) indicates a significant difference by student's t-test ($p < 0.05$). Free cells, 캡슐화하지 않은 프로바이오틱스.

○ 분리유청단백 코팅 알지네이트 비드의 pH 안정성 분석

- 분리유청단백 코팅 알지네이트 비드를 PBS (pH 2.6)에 분산 후 4°C에서 2주 동안 저장하며 일주일 간격으로 정량분석법인 표준한천평판배양법을 통해 총 생균수를 측정하고 0주차의 생균수를 기준으로 생존율을 나타냄(그림 17).
- 모든 비드의 pH 안정성은 free에 비해 증진되었으며, Fonterra 분리유청단백 첨가 알지네이트 비드, 알지네이트 비드, PRObev 90 분리유청단백 첨가 알지네이트 비드 순으로 나타남.

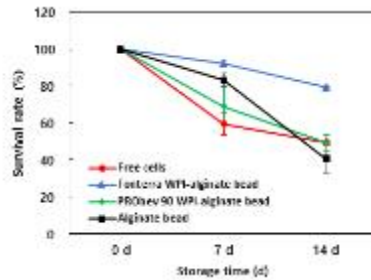


그림 17. WPI 종류에 따른 분리유청단백 코팅 알지네이트 비드의 pH 안정성 분석.

○ 안정성 증진을 위한 캡슐화 방법 선정

- 비드와 마이크로캡슐 모두 free에 비해 열 안정성, pH 안정성이 증진하였음. 캡슐화 방법에 따른 안정성 평가 결과를 비교한 결과 마이크로캡슐이 열 안정성, pH 안정성이 우수하였음. 따라서 프로바이오틱스의 안정성 증진을 위한 **최적 캡슐화 방법**으로 마이크로캡슐을 선정함.

(3) 스피루리나

① 안정성 증진을 위한 다양한 캡슐 제조 및 특성 분석

○ 스피루리나 포집 고내부상 피커링 에멀전 제조

- 베타시토스테롤 파티클은 anti-solvent method를 이용하여 제조됨. 베타시토스테롤 0.708 g을 100% 에탄올 200 mL와 혼합하여 45°C에서 10분간 초음파 처리를 진행한 후 증류수 140 mL를 첨가하여 1시간 동안 교반함. 40°C에서 1시간 동안 회전감압농축을 진행하여 초저온 냉장고(-80°C)에 보관한 후 동결건조를 진행함.
- 스피루리나 포집 고내부상 피커링 에멀전은 베타시토스테롤 파티클을 유화제로 사용함. 유상은 옥수수유에 베타시토스테롤 파티클을 충분히 분산시켜 제조하였으며, 수상은 증류수에 스피루리나 분말을 충분히 분산시켜 제조함. 유상과 수상을 혼합하여 균질화(12,500 rpm, 2분)시킨 후 물 분율이 75%가 될 때까지 수상을 추가로 첨가하면서 균질화(12,500 rpm, 3분)를 진행하여 고내부상 피커링 에멀전을 제조함.

○ 다양한 겔화제 이용 고내부상 피커링 에멀전 안정성 분석

- 안정적인 스피루리나 포집 고내부상 피커링 에멀전을 제조하기 위해 수상에 겔화제(카파 카라기난, 아라빅검, 키토산)를 첨가함. 겔화제의 종류별로 에멀전의 안정성(상분리)을 평가함(그림 18).

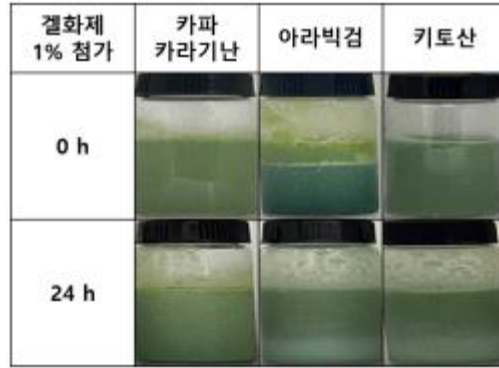


그림 18. 수상 겔화제 종류에 따른 고내부상 피커링 에멀전 안정성 평가.

○ 안정성 증진을 위한 캡슐화 방법 선정

- 수상 겔화제 종류에 따른 고내부상 피커링 에멀전의 안정성(상분리)을 비교한 결과 아라빅검 및 키토산 첨가 고내부상 피커링 에멀전은 24시간 후 상분리가 일어났으며, 카파 카라기난 첨가 고내부상 피커링 에멀전이 상분리가 일어나지 않음. 따라서 스피루리나 포집 고내부상 피커링 에멀전의 안정성 증진을 위한 최적 캡슐화 방법으로 카파 카라기난 1% (w/w) 첨가를 선정함.

(4) 구아바잎 추출물

① 안정성 증진을 위한 다양한 캡슐 제조 및 특성 분석

○ 구아바잎 추출물 포집 나노파티클 제조

- 구아바잎 추출물 포집 나노파티클은 키토산과 아라빅검 사이의 이온 겔화 방법을 이용하여 제조함. 키토산 용액에 구아바잎 추출물을 분산시킨 후 교반(1,000 rpm)하면서 아라빅검 용액을 dropwise로 떨어뜨려 나노파티클을 제조함. 키토산과 아라빅검의 농도별 (키토산: 0.4, 0.6 mg/mL, 아라빅검: 0.25, 0.50, 0.75 mg/mL)로 제조함.
- 구아바잎 추출물 포집 나노파티클을 키토산과 아라빅검의 농도별로 캡슐의 특성을 분석함(표5). 키토산 0.6 mg/mL, 아라빅검 0.25 mg/mL를 제외한 모든 농도에서 다분산지수가 0.3 이하로 고른 입자 크기를 나타냄.

표5. 키토산과 아라빅검의 농도에 따른 나노파티클의 입자 특성

CS (mg/mL)	AG (mg/mL)	Size (nm)	PDI	Zeta potential (mV)
0.4	0.25	108.3 ± 4.3 ^d	0.279 ± 0.017 ^b	48.9 ± 3.3 ^c
	0.50	117.0 ± 2.3 ^c	0.233 ± 0.009 ^{cd}	47.5 ± 2.4 ^c
	0.75	133.4 ± 0.6 ^b	0.222 ± 0.009 ^d	49.3 ± 2.3 ^{bc}
0.6	0.25	120.2 ± 1.0 ^c	0.383 ± 0.014 ^a	53.8 ± 2.2 ^a
	0.50	136.6 ± 2.8 ^b	0.288 ± 0.033 ^b	47.3 ± 1.5 ^c
	0.75	160.9 ± 3.7 ^a	0.257 ± 0.010 ^{bc}	53.1 ± 0.7 ^{ab}

Data are expressed as mean ± SD. ^{a-d} Values followed by the different letters are significantly different by Duncan's multiple range test ($p < 0.05$). CS, chitosan; AG, arabic gum; PDI, polydispersity index.

○ 구아바잎 추출물 포집 나노리포솜 제조

- 구아바잎 추출물 포집 나노리포솜은 포스파티딜콜린과 콜레스테롤의 막수화방법을 통해 제조함. 회전감압농축기로 포스파티딜콜린과 콜레스테롤 혼합 용액 내 유기용매를 증발시켜 막을 제조한 후, 동일한 부피의 구아바잎 추출물 용액을 첨가하여 수화시킴. 크기를 감소시키고 균일한 입자를 형성하기 위해서 초음파 처리기로 초음파 처리하였으며 포스파티딜콜린과 콜레스테롤의 비율 2:1, 6:1, 10:1 (w/w)에 따라 나노리포솜을 제조함.
- 구아바잎 추출물 포집 나노리포솜을 포스파티딜콜린과 콜레스테롤의 질량비별로 캡슐의 특성을 분석함(표6). 질량비 6:1과 10:1에서 다분산지수가 0.3 이하, 제타

전위의 절댓값이 30 mV 이상을 나타냄.

표6. 포스파티딜콜린과 콜레스테롤의 비율에 따른 나노리포좀의 입자 특성

PC:CHOL (w/w)	Size (nm)	PDI	Zeta potential (mV)
2:1	163.7 ± 12.9 ^a	0.425 ± 0.016 ^a	-56.6 ± 1.9 ^a
6:1	110.8 ± 1.4 ^b	0.297 ± 0.020 ^b	-65.0 ± 2.0 ^b
10:1	102.2 ± 1.4 ^b	0.274 ± 0.003 ^b	-62.9 ± 1.4 ^b

Data are expressed as mean ± SD. ^{a-b}) Values followed by the different letters are significantly different by Duncan's multiple range test ($p < 0.05$). PDI, polydispersity index; PC, L-phosphatidylcholine; CHOL, cholesterol.

○ 안정성 증진을 위한 다양한 첨가물 적용

- 구아바잎 추출물에 다당류, 유기산, 당을 첨가함. 다당류는 잔탄검 및 하이메톡시 펙틴을 0.1% (w/v) 첨가하여 제조함. 유기산은 시트르산 및 갈산을 0.05% (w/v) 첨가하여 제조함. 당은 갈락토오스 및 스테비아를 0.5% (w/v) 첨가하여 제조함.

○ 나노파티클 및 나노리포좀 포집효율 분석

- 나노파티클 및 나노리포좀 분산 용액을 아세토니트릴을 사용하여 캡슐을 용해한 후 17,000 rpm, 4°C에서 10분 동안 원심분리함. 이후 상층액을 취하여 총 폴리페놀 함량을 측정함. 아래와 같은 식을 사용하여 포집효율을 계산함.

$$EE (\%) = \{(\text{total amount of polyphenol} - \text{free amount of polyphenol}) / \text{total amount of polyphenol}\} \times 100$$

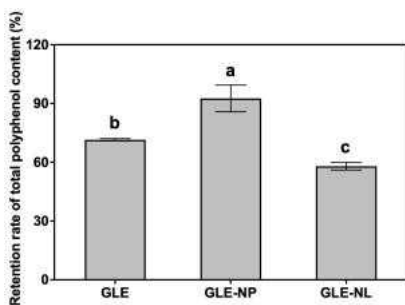
- 나노파티클 및 나노리포좀의 포집효율(%)을 분석한 결과, 각각 72.4 ± 1.2, 52.2 ± 0.9%로 나노파티클이 나노리포좀에 비해 유의적으로 더 높게 나타남($p < 0.05$).

② 안정성 증진을 위한 최적 캡슐화 방법 선정

○ 나노파티클, 나노리포좀 및 다양한 첨가물의 열 안정성 분석

- Free, 나노파티클, 나노리포좀 및 다당류, 유기산, 당 첨가 추출물을 90°C에서 24 시간 동안 열처리하여 구아바잎 추출물의 기능성분인 총 폴리페놀 함량을 정량 분석하고 0시간의 함량을 기준으로 잔존율을 나타냄(그림 19).
- 나노리포좀은 free에 비해 총 폴리페놀 잔존율이 낮았으며 나노파티클의 총 폴리페놀 잔존율은 추출물에 비해 유의적으로 높았음($p < 0.05$).
- 다당류, 유기산, 당 첨가 추출물의 총 폴리페놀 잔존율은 free에 비해 유의적으로 높았음($p < 0.05$).

(A)



(B)

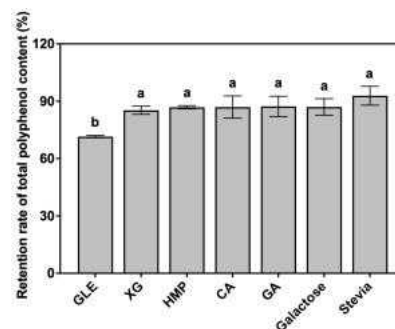


그림 19. 열처리에 따른 (A) 나노파티클, 나노리포좀의 총 폴리페놀 잔존율 (B) 다당류, 유기산, 당 첨가 추출물의 총 폴리페놀 잔존율.

^{a-c}) Values followed by the different letters are significantly different by Duncan's multiple range test ($p < 0.05$).

GLE, guava leaf extract; GLE-NP, guava leaf extract-loaded nanoparticle; GLE-NL, guava leaf extract-loaded nanoliposome; XG, xanthan gum; HMP, high methoxyl pectin; CA, citric acid; GA, gallic acid

○ 안정성 증진을 위한 캡슐화 방법 선정

- 나노파티클은 구아바잎 추출물에 비해 열 안정성이 증진하였음. 캡슐화 방법에

다른 이화학적 특성(사이즈, 다분산지수, 제타전위, 포집효율), 안정성 평가 결과를 비교한 결과 나노파티클이 우수함. 다당류, 유기산, 당 첨가만으로도 구아바잎 추출물의 안정성이 증진되어 이후 실험은 진행하지 않음.

(5) 전곡립 식이섬유(벼, 보리, 밀, 및 메밀)

① 용해도 증진을 위한 효소처리 및 특성 분석

○ 효소처리 전곡립 식이섬유 제조 및 특성평가

- 캡슐화 기술 이외에 효소 처리를 통한 전곡립 식이섬유의 용해도 변화를 평가함. 벼, 보리, 밀, 및 메밀 전곡립에 cellulase 및 xylanase를 농도별 1, 5, 10% (w/w)로 처리함. cellulase 처리는 건조된 전곡립에 acetate 버퍼를 1:3 (w/v) 비율로 첨가한 후 cellulase를 농도별로 첨가 후 교반하여 항온수조 안에서 2시간 반응시킴. 혼합물을 원심분리한 후 하층액을 취하여 건조함. Xylanase 처리는 건조물에 증류수를 1:3 (w/v) 비율로 첨가한 후 xylanase를 농도별로 첨가함.
- 정량분석법은 식이섬유의 기능성분인 총 식이섬유 함량을 효소-중량법을 통해 측정함. 총 식이섬유 함량은 식이섬유와 MES-Tris 버퍼를 혼합 후 heat-stable α -amylase와 반응시킨 후 amyloglucosidase를 첨가하여 건조함. 건조 후 회분량을 정량하여 총 식이섬유 함량은 불용성, 수용성 식이섬유 함량의 합으로 산출함.
- 모든 효소처리 전곡립 식이섬유의 수용성 식이섬유 함량은 효소 처리하지 않은 전곡립 식이섬유보다 높았음(그림 20). 또한, xylanase 처리가 cellulase 처리에 비해 총 식이섬유 함량이 높았음.

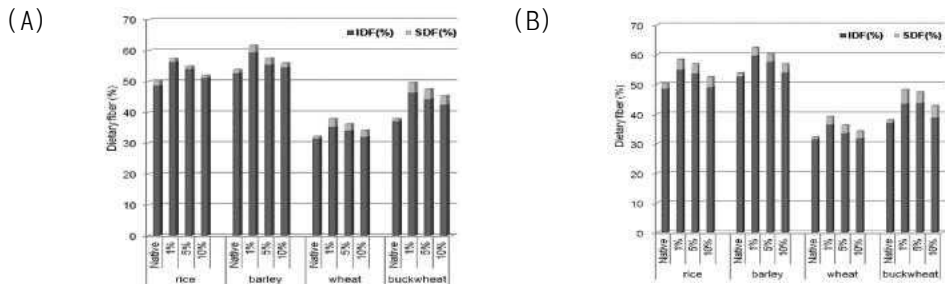


그림 20. 효소종류 및 농도에 따른 전곡립 식이섬유 총 식이섬유 함량.

(A) cellulase 처리 (B) xylanase 처리

IDF, insoluble dietary fiber; SDF, soluble dietary fiber.

② 기능성 원료의 일반식품 적용성 lab scale 평가

○ 효소처리 전곡립 식이섬유의 식품 적용

- 예비실험을 통해 10% xylanase 효소처리 보리 식이섬유를 선정함. 밀가루 대체율별 1, 2, 3% (w/w)로 스펀지 케이크에 첨가하여 총 폴리페놀 함량 및 항산화 활성을 분석함(그림 21).
- 동결건조한 케이크 시료는 메탄올과 2시간 동안 반응시키고 8,000xg에서 15분 원심분리 후 상층액을 여과함.
- 총 폴리페놀 함량은 케이크 시료와 7% 탄산나트륨 및 0.2N 폴린-시오칼투 용액을 실온에서 15분간 반응시킨 후 분광광도계(Biomate 3S, Thermo Scientific)를 이용하여 765 nm 파장에서 흡광도를 측정함. 갈산으로 표준 곡선을 작성하여 총 폴리페놀 함량을 나타내었음.
- DPPH 라디칼 소거활성은 케이크 시료와 0.2 mM DPPH 용액을 혼합하고 교반 후 상온에서 20분간 반응하여 분광광도계를 이용하여 517 nm 파장에서 흡광도를 측정함. ABTS 라디칼 소거활성은 7 mM ABTS와 2.45 mM 과황산칼륨을 1:1 비율로 혼합하여 제조한 ABTS 용액과 케이크 시료를 혼합하고 상온에서 15 분간 반응하여 분광광도계를 이용하여 734 nm 파장에서 흡광도를 측정함. DPPH 및 ABTS 라디칼 소거활성은 트롤록스로 표준 곡선을 작성하여 항산화 활성을 나타내었음.

- 효소처리 보리 식이섬유 케이크의 총 폴리페놀 함량은 1%를 제외한 모든 비율에서 대조군 및 보리 식이섬유 케이크보다 유의적으로 높았으며, 항산화 활성은 대체율이 증가함에 따라 대조군과 효소처리 하지 않은 보리 식이섬유 케이크에 비해 유의적으로 증가하였음($p < 0.05$).

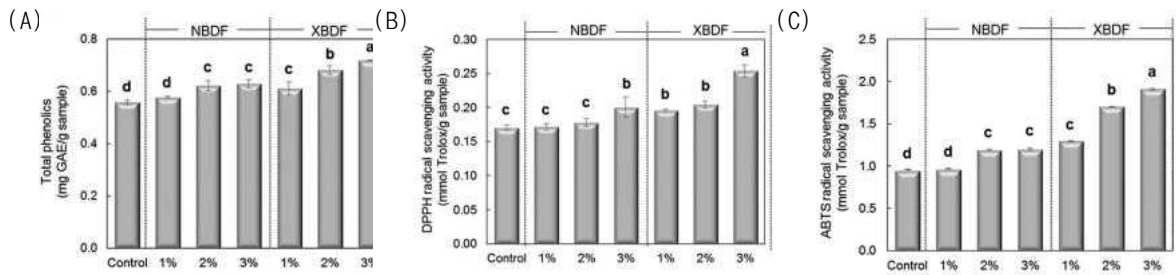


그림 21. 효소처리 보리 식이섬유 첨가 비율별 케이크의 총 폴리페놀 함량 및 항산화 활성.

(A) 총 폴리페놀 함량 (B) DPPH 라디칼 소거 활성 (C) ABTS 라디칼 소거 활성

^{a-d}) Values followed by the different letters are significantly different by Duncan's multiple range test ($p < 0.05$).

Control, sponge cake without native barely dietary fiber; NBDF, sponge cake with native barely dietary fiber; XBDF, sponge cake with xylanase treated-barely dietary fiber.

3) 기능성 원료의 일반식품 적용성 증진 기술 최적화

(1) 프로폴리스 추출물

① 선정된 캡슐화 방법의 제조조건(피복물질, 기기조건 등) 분석

○ 피복물질에 따른 나노리포솜 제조

- 프로폴리스 추출물 포집 나노리포솜은 스테롤 종류(콜레스테롤, 베타시토스테롤, 감마오리자놀)와 키토올리고당 코팅 여부에 따라 캡슐의 제조조건을 달리하여 제조한 후 캡슐의 특성(입자 크기, 다분산지수, 제타전위, 포집효율)을 분석함(표7).
- PE-BC와 PE-GC가 PE-CC에 비해 크기가 유의적으로 크게 나타남($p < 0.05$). 스테롤의 종류와 관계없이 다분산지수가 0.3 이하, 제타전위의 절댓값이 30 mV 이상, 포집효율은 90% 이상을 나타냄. 키토올리고당 코팅 후 입자 크기, 제타전위, 포집효율이 유의적으로 증가하였으며 다분산지수는 유의적으로 감소함($p < 0.05$).

표7. 스테롤 종류 및 키토올리고당 코팅에 따른 나노리포솜의 입자 특성

Formulations	Size (nm)	PDI	Zeta potential (mV)	Entrapment efficiency (%)
PE-C	110.2 ± 2.0 ^c	0.226 ± 0.013 ^a	-57.9 ± 4.3 ^b	92.79 ± 0.07 ^{bc}
PE-B	107.2 ± 2.0 ^c	0.261 ± 0.031 ^a	-58.8 ± 8.8 ^b	92.96 ± 0.33 ^b
PE-G	106.8 ± 2.4 ^c	0.270 ± 0.008 ^a	-54.6 ± 2.7 ^b	92.20 ± 0.58 ^c
PE-CC	149.7 ± 6.3 ^b	0.151 ± 0.018 ^b	40.9 ± 0.7 ^a	93.72 ± 0.38 ^a
PE-BC	160.5 ± 3.5 ^a	0.153 ± 0.043 ^b	39.5 ± 0.6 ^a	93.72 ± 0.25 ^a
PE-GC	160.9 ± 6.3 ^a	0.162 ± 0.010 ^b	41.3 ± 1.9 ^a	93.68 ± 0.07 ^a

Data are expressed as mean ± SD. ^{a-c}) Values followed by the different letters are significantly different by Duncan's multiple range test ($p < 0.05$). PDI, polydispersity index; PE, propolis extract; PE-C, PE-loaded cholesterol incorporated uncoated liposome; PE-B, PE-loaded β -sitosterol incorporated uncoated liposome; PE-G, PE-loaded γ -oryzanol incorporated uncoated liposome; COS, chitooligosaccharides; PE-CC, PE-loaded cholesterol incorporated COS-coated liposome; PE-BC, PE-loaded β -sitosterol incorporated COS-coated liposome; PE-GC, PE-loaded γ -oryzanol incorporated COS-coated liposome.

○ 피복물질에 따른 나노리포솜 형태학적 특성 분석

- 나노리포솜을 2% (w/w) 인텡스텐산으로 염색 후 투과전자현미경(JEM 2100F, JEOL, Tokyo, Japan) 측정하여 입자의 형태학적 특성을 분석함(그림 22). 스테롤 종류와

관계없이 매끄러운 구형으로 나타났음. 키토올리고당 코팅 후 입자 크기 증가가 관찰됨.

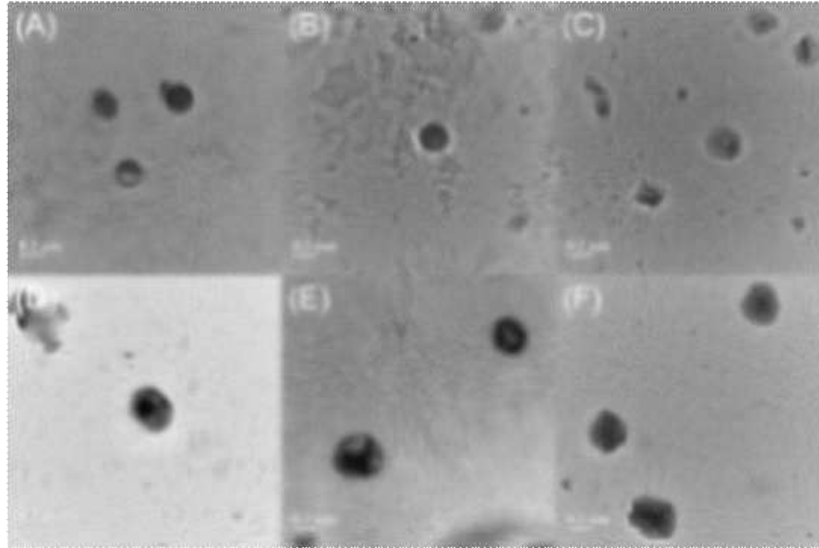


그림 22. 스테롤 종류 및 키토올리고당 코팅에 따른 나노리포솜의 형태학적 특성.

(A) PE-C (B) PE-B (C) PE-G (D) PE-CC (E) PE-BC (F) PE-GC

PE, propolis extract; PE-C, PE-loaded cholesterol incorporated uncoated liposome; PE-B, PE-loaded β -sitosterol incorporated uncoated liposome; PE-G, PE-loaded γ -oryzanol incorporated uncoated liposome; COS, chitoooligosaccharides; PE-CC, PE-loaded cholesterol incorporated COS-coated liposome; PE-BC, PE-loaded β -sitosterol incorporated COS-coated liposome; PE-GC, PE-loaded γ -oryzanol incorporated COS-coated liposome.

○ 피복물질에 따른 나노리포솜 용해도 분석

- 스테롤 종류 및 키토올리고당 코팅에 따른 나노리포솜의 용해도를 총 플라보노이드 함량을 측정하여 분석함(그림 23).
- 모든 리포솜의 용해도는 free에 비해 유의적으로 증진되었음($p < 0.05$). 키토올리고당 코팅 전 용해도는 PE-G, PE-C, PE-B 순으로 나타났으며 키토올리고당 코팅 후 용해도는 유의적으로 감소하였음($p < 0.05$).

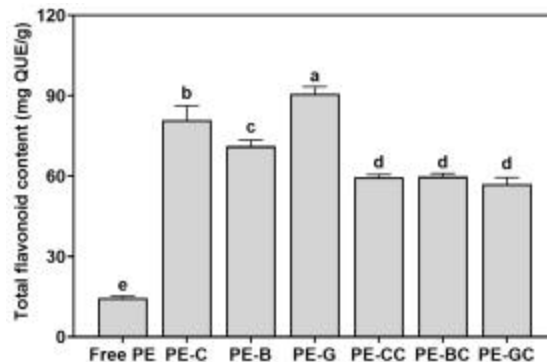


그림 23. 스테롤 종류 및 키토올리고당 코팅에 따른 나노리포솜의 용해도 분석.

^{a-e)} Values followed by the different letters are significantly different by Duncan's multiple range test ($p < 0.05$). PE, propolis extract; PE-C, PE-loaded cholesterol incorporated uncoated liposome; PE-B, PE-loaded β -sitosterol incorporated uncoated liposome; PE-G, PE-loaded γ -oryzanol incorporated uncoated liposome; COS, chitoooligosaccharides; PE-CC, PE-loaded cholesterol incorporated COS-coated liposome; PE-BC, PE-loaded β -sitosterol incorporated COS-coated liposome; PE-GC, PE-loaded γ -oryzanol incorporated COS-coated liposome.

○ 피복물질에 따른 나노리포솜 저장 안정성 분석

- 스테롤 종류 및 키토올리고당 코팅에 따른 나노리포솜을 4, 30, 45°C에서 6주 동안 저장하며 일주일 간격으로 프로폴리스 추출물의 기능성분인 총 플라보노이드 함량을 정량 분석하고 1차 반응 속도식에 대입하여 반감기($t_{1/2}$), 반응상수(k)를 분석함(표8).
- 모든 리포솜의 저장안정성은 free에 비해 증진되었음. 키토올리고당 코팅 전 나노리포솜의 저장안정성은 PE-G, PE-C, PE-B 순이며, 키토올리고당 코팅 후 저장안정

성이 증진되어 PE-GC, PE-CC, PE-BC 순으로 나타남.

표8. 피복물질에 따른 저장 안정성 분석

Formulations	T (°C)	k (day ⁻¹)	t _{1/2} (day)	R ²
Free PE	4	0.0152	45.60	0.9559
	30	0.0282	24.58	0.9350
	45	0.0379	18.29	0.9551
PE-C	4	0.0063	110.02	0.9769
	30	0.0076	91.20	0.9570
	45	0.0114	60.80	0.9727
PE-B	4	0.0066	105.02	0.9566
	30	0.0079	87.74	0.9114
	45	0.0118	58.74	0.9187
PE-G	4	0.0051	135.91	0.9199
	30	0.0073	94.95	0.9006
	45	0.0116	59.75	0.9514
PE-CC	4	0.0045	154.03	0.9869
	30	0.0071	97.63	0.9695
	45	0.0083	83.51	0.9827
PE-BC	4	0.0060	115.52	0.9568
	30	0.0072	96.27	0.9387
	45	0.0089	77.88	0.9747
PE-GC	4	0.0044	157.53	0.9369
	30	0.0069	100.46	0.9981
	45	0.0081	85.57	0.9227

PE, propolis extract; PE-C, PE-loaded cholesterol incorporated uncoated liposome; PE-B, PE-loaded β -sitosterol incorporated uncoated liposome; PE-G, PE-loaded γ -oryzanol incorporated uncoated liposome; COS, chitooligosaccharides; PE-CC, PE-loaded cholesterol incorporated COS-coated liposome; PE-BC, PE-loaded β -sitosterol incorporated COS-coated liposome; PE-GC, PE-loaded γ -oryzanol incorporated COS-coated liposome.

○ 피복물질에 따른 나노리포솜 열 안정성 분석

- 스테롤 종류 및 키토올리고당 코팅에 따른 나노리포솜을 90°C에서 2, 4, 6, 12시간 동안 열처리한 후 프로폴리스 추출물의 주요 활성인 항산화능을 측정함(그림 24).
- 프로폴리스 추출물은 열처리 2시간 후, PE-C, PE-B, PE-CC는 열처리 4시간 후 유의적인 활성 감소가 나타났으며 ($p < 0.05$) PE-BC, PE-G, PE-GC는 유의적인 감소가 나타나지 않았음.

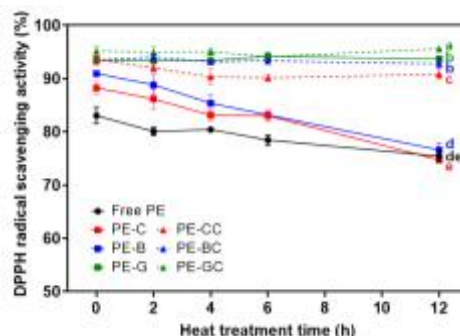


그림 24. 스테롤 종류 및 키토올리고당 코팅에 따른 나노리포솜의 열 안정성 분석.

^{a-e)} Values followed by the different letters are significantly different by Duncan's multiple range test ($p < 0.05$). PE, propolis extract; PE-C, PE-loaded cholesterol incorporated uncoated liposome; PE-B, PE-loaded β -sitosterol incorporated uncoated liposome; PE-G, PE-loaded γ -oryzanol incorporated uncoated liposome; COS, chitooligosaccharides; PE-CC, PE-loaded cholesterol incorporated COS-coated liposome; PE-BC, PE-loaded β -sitosterol incorporated COS-coated liposome; PE-GC, PE-loaded γ -oryzanol incorporated COS-coated liposome.

② 캡슐 사이즈에 따른 용해도 및 안정성 분석

○ 캡슐 사이즈에 따른 나노리포솜 제조

- 감마오리자놀 이용 및 키토올리고당 코팅 리포솜(PE-GC)의 초음파 처리 시간(0, 30, 240초)을 달리하여 캡슐 사이즈에 따른 캡슐의 특성(입자 크기, 다분산지수, 제타

전위)을 분석함(표9).

표9. 캡슐 사이즈에 따른 PE-GC의 입자 특성

Formulations	Size (nm)	PDI	Zeta potential (mV)
PE-GC-0	555.3 ± 5.7 ^a	0.395 ± 0.035 ^a	35.6 ± 1.0 ^c
PE-GC-30	190.0 ± 1.5 ^b	0.187 ± 0.007 ^b	38.2 ± 0.4 ^b
PE-GC-240	160.9 ± 6.3 ^c	0.162 ± 0.010 ^b	41.3 ± 1.9 ^a

Data are expressed as mean ± SD. ^{a-c)} Values followed by the different letters are significantly different by Duncan's multiple range test ($p < 0.05$). PDI, polydispersity index; PE, propolis extract; COS, chitooligosaccharides; PE-GC, PE-loaded γ -oryzanol incorporated COS-coated liposome.

○ 캡슐 사이즈에 따른 나노리포솜 용해도 및 열 안정성 분석

- 캡슐 사이즈에 따른 캡슐의 용해도 및 안정성을 분석함(그림 25). 열 안정성은 나노리포솜을 90°C에서 6시간 동안 열처리 후 프로폴리스 추출물의 주요 활성인 항산화능을 나타내어 분석함.
- 사이즈가 감소함에 따라 용해도가 유의적으로 증가함 ($p < 0.05$). 캡슐 사이즈와 관계없이 모든 입자에서 열처리에 따른 유의적인 활성 저하가 나타나지 않음.

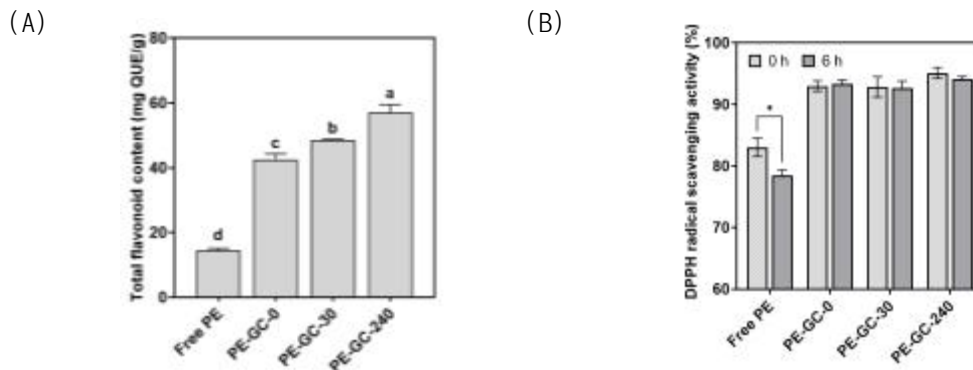


그림 25. 캡슐 사이즈에 따른 (A) 용해도 및 (B) 열 안정성 분석.

^{a-d)} Values followed by the different letters are significantly different by Duncan's multiple range test ($p < 0.05$). *) indicates a significant difference by student's t-test ($p < 0.05$). PE, propolis extract; PE-GC, PE-loaded γ -oryzanol incorporated COS-coated liposome.

③ 용해도 및 안정성이 극대화된 최적 캡슐 제조조건 확립

○ 반응표면분석법을 통한 나노리포솜의 최적 제조조건 확립

- 용해도 및 열 안정성 증진이 뛰어난 PE-GC 제조조건을 최적화를 위하여 반응표면분석을 이용하여 최적 제조 조건을 분석함.
- 초음파 처리 시간과 키토올리고당 농도를 독립변수, 용해도와 열 안정성을 종속변수로 설정하고 중심합성계획법에 따라 실험을 설계함(표10). 열 안정성은 90°C에서 6시간 동안 열처리 후 프로폴리스 추출물의 주요 활성인 항산화능을 측정하여 분석함.
- 독립변수 수준은 예비실험을 바탕으로 초음파 처리 시간(0~4분), 키토올리고당 농도(0.4~1.2 mg/mL)로 설정함.

표10. 중심복합계획 및 PE-GC의 용해도 및 열 안정성

Run No.	Conditions X ₁	X ₂	Solubility (mg QUE/g)	Thermal stability (%)
1	1	0.6	38.35	85.81
2	1	1.0	54.05	95.07
3	3	0.6	43.50	89.11
4	3	1.0	56.55	95.36
5	2	0.8	43.42	93.35
6	2	0.8	46.00	94.81
7	2	0.4	37.63	59.25
8	2	1.2	57.03	96.72
9	0	0.8	42.54	93.34
10	4	0.8	56.95	94.62

X₁: 초음파 처리 시간(분), X₂: 키토올리고당 농도(mg/mL)

- 모든 실험군에서 R²는 0.9 이상, p-value가 0.05 이하로 모델 적합성이 인정됨(표 11).

표11. 초음파 처리 시간과 키토올리고당 농도에 따른 PE-GC의 용해도 및 열 안정성 예측 모델 방정식

Responses	Predicted model equation	R ²	p-value
Solubility (mg QUE/g)	$Y = 25.02 + 1.09X_1 + 12.88X_2 + 1.15X_1^2 - 3.32X_1X_2 + 13.70X_2^2$	0.9440	0.01
Thermal stability (%)	$Y = -8.71 + 3.99X_1 + 209.89X_2 - 0.12X_1^2 - 3.76X_1X_2 - 102.93X_2^2$	0.9236	0.02

X₁: 초음파 처리 시간(분), X₂: 키토올리고당 농도(mg/mL)

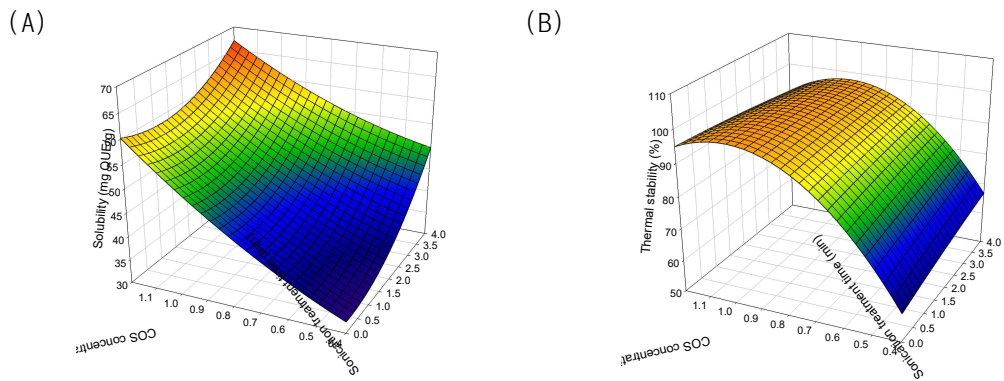


그림 26. 초음파 처리 시간과 키토올리고당 농도에 따른 PE-GC의 (A) 용해도 및 (B) 열 안정성 반응 표면도.

- 반응표면분석법 결과, 초음파 처리 시간과 키토올리고당 농도가 증가할수록 용해도와 열 안정성이 증가하는 경향을 보임(그림 26). 용해도와 열 안정성을 최대로 하는 최적 초음파 처리 시간과 키토올리고당 농도는 각각 3.9분, 1.1 mg/mL로 산출됨(그림 27).
- 이차다항식에 대입하여 도출한 용해도, 열 안정성 예측값은 각각 63.28 mg QUE/g와 95.27%, 실측값은 각각 63.15 ± 1.19 mg QUE/g, 94.83 ± 0.72%로 나타나 예측값과 실측값이 부합함을 확인함.

Run No.	Conditions		Encapsulation efficiency (%)
	X ₁	X ₂	
1	1.25	1.5	97.59
2	1.25	3	81.17
3	3.75	1.5	86.65
4	3.75	3.0	98.22
5	2.5	2.5	89.40
6	2.5	2.5	88.24
7	2.5	0.5	0.00
8	2.5	3.5	86.46
9	0	2.5	90.52
10	5	2.5	87.38

X₁: SPI 농도(0-5%(w/v)), X₂: GA 농도(0.5-3.5%(w/v))

- 모든 실험군에서 R²는 0.8 이상, p-value가 0.05 이하로 모델 적합성이 인정됨(표13).

표13. SPI 및 GA 농도에 따른 프로바이오틱스 포집 마이크로캡슐의 포집효율 예측 모델 방정식

Responses	Predicted model equation	R ²	p-value
Encapsulation efficiency (%)	$Y = -20.105 - 5.24X_1 + 103.47X_2 - 1.26X_1^2 - 4.67X_1X_2 - 23.33X_2^2$	0.8550	<0.0001

X₁: SPI 농도(0-5%(w/v)), X₂: GA 농도(0.5-3.5%(w/v))

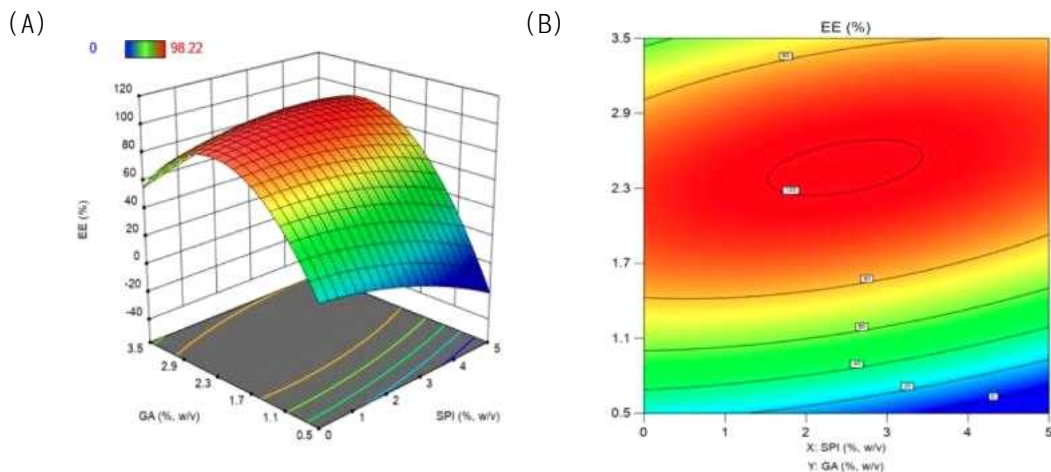


그림 29. SPI 및 GA 농도에 따른 프로바이오틱스 포집 마이크로캡슐의 포집효율. (A) 반응 표면도 및 (B) 등고선도

- 반응표면분석법 결과, SPI와 GA의 비율에 따라 포집효율의 차이를 나타냄(그림 29A). 포집효율을 최대화 하는 최적 SPI 및 GA 농도는 각각 3.2% (w/v), 2.6% (w/v)로 산출됨(그림 29B).
- 이차다항식에 대입하여 도출한 포집효율의 예측값은 각각 100%, 실측값은 100.52 ± 0.46%로 나타나 예측값과 실측값이 부합함을 확인함.

(3) 스피루리나

① 선정된 캡슐화 방법의 제조조건(피복물질, 기기조건 등) 분석

○ 유화제 농도에 따른 고내부상 피커링 에멀전 제조

- 스피루리나 포집 고내부상 피커링 에멀전은 유화제인 베타시토스테롤 파티클의 농도(1.0-3.5% (w/w))에 따라 캡슐의 제조조건을 달리하여 제조함. 유화제 농도 별

캡슐의 형태학적 특성을 분석함.

- 스피루리나 포집 고내부상 피커링 에멀전은 모든 농도에서 안정한 겔을 형성한 것을 확인함(그림 30).
- 베타시토스테롤 파티클의 농도가 증가할수록 액적의 수가 증가하였으며, 인접한 액적은 밀접하게 배열되거나 겹쳐져 관찰됨(그림 31).

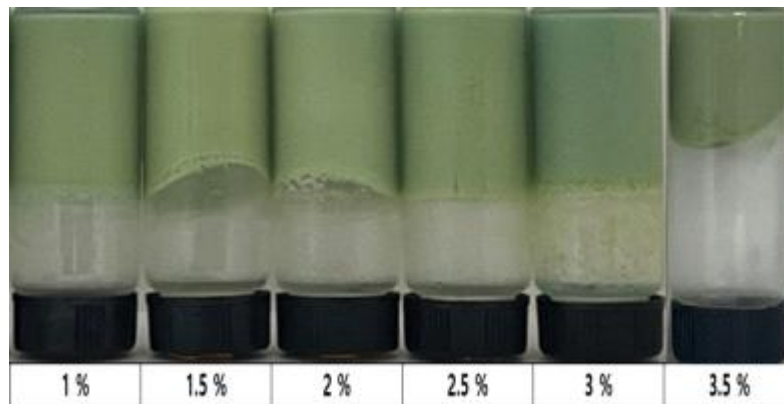


그림 30. 베타시토스테롤 파티클 농도에 따른 에멀전 제조.

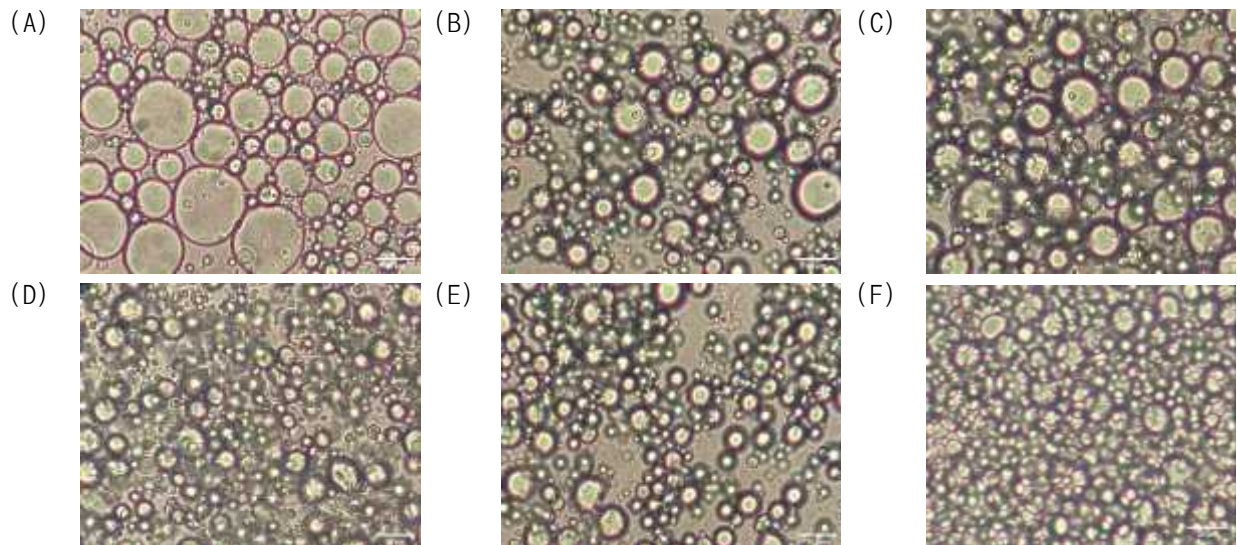


그림 31. 베타시토스테롤 파티클 농도에 따른 에멀전의 형태학적 특성 분석.

(A) 1.0% (B) 1.5% (C) 2.0% (D) 2.5% (E) 3.0% (F) 3.5%

○ 유화제 농도에 따른 고내부상 피커링 에멀전 입자 특성 분석

- 고내부상 피커링 에멀전의 입자 특성은 베타시토스테롤 파티클의 농도 별 액적 크기와 포집효율을 분석함(표 14).
- 액적 크기는 광학현미경을 이용하여 40배 비율로 촬영한 후 ImageJ 소프트웨어 (National Institute of Health, Bethesda, MD, USA)으로 200개 이상의 액적의 너비를 측정하여 액적 지름을 계산함.
- 포집효율은 총 엽록소 함량을 측정하여 표준곡선을 통해 스피루리나 농도를 계산하여 나타냄. 총 엽록소 함량은 에멀전 1 mL를 85% 아세톤 4 mL에 넣어 혼합하여 4°C에서 하루 동안 보관하였음. 이후 3,000xg에서 15분 동안 원심분리하였음. 상층액을 취하여 642 및 660 nm 파장에서 흡광도를 측정하여 아래와 같은 식을 사용하여 계산함.

$$\text{총 엽록소 함량} (\mu\text{m/mL}) = 7.12 \times E(660 \text{ nm}) + 1.68 \times E(642 \text{ nm})$$

$$E(660 \text{ nm}): \text{OD } 660 \text{ nm}, E(642 \text{ nm}): \text{OD } 642 \text{ nm}$$

$$EE (\%) = \{(\text{initial spirulina concentration} - \text{unencapsulated spirulina concentration}) / \text{initial spirulina concentration}\} \times 100$$

- 베타시토스테롤 파티클의 농도가 증가할수록 에멀전 액적 크기가 유의적으로 감소함($p < 0.05$).
- 위 계산식을 통해 도출한 고내부상 피커링 에멀전의 포집효율(%)은 모두 90% 이상이었음.

표14. 베타시토스테롤 파티클 농도에 따른 고내부상 피커링 에멀전의 입자 특성

Beta-sitosterol particle (w/v %)	Diameter (μm)	Entrapment efficiency (%)
1.0	13.9 \pm 7.2	105.1 \pm 1.1 ^a
1.5	11.7 \pm 3.6	97.5 \pm 1.7 ^{bc}
2.0	10.0 \pm 2.0	100.6 \pm 3.3 ^{ab}
2.5	7.8 \pm 0.7	93.1 \pm 2.0 ^c
3.0	6.3 \pm 0.8	95.1 \pm 1.5 ^{bc}
3.5	3.6 \pm 1.0	107.4 \pm 0.8 ^a

Data are expressed as mean \pm SD. ^{a-c)} Values followed by the different letters are significantly different by Duncan's multiple range test ($p < 0.05$).

○ 유화제 농도에 따른 고내부상 피커링 에멀전 열 안정성 분석

- 유화제 농도 별 고내부상 피커링 에멀전을 80℃에서 60, 120분 동안 열처리하여 스피루리나의 기능성분인 총 엽록소 함량을 정량 분석하고 0시간의 함량을 기준으로 잔존율(%)을 나타냄(그림 32).
- 모든 에멀전의 열 안정성은 free에 비해 증가하였음. 모든 열처리 시간에서 베타시토스테롤 파티클의 농도가 증가할수록 더 높은 총 엽록소 함량 잔존율을 나타냈으며, 3-3.5% 첨가 시 열처리 2시간 후 총 엽록소 함량 잔존율에 유의적인 감소가 나타나지 않았음.

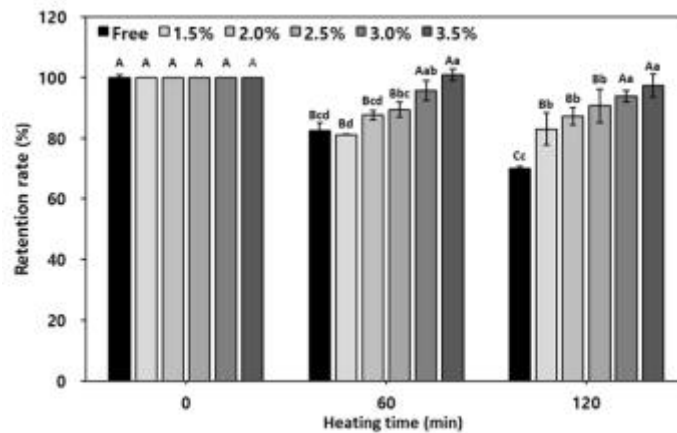


그림 32. 열처리 시간에 따른 베타시토스테롤 파티클 농도 별 고내부상 피커링 에멀전의 총 엽록소 함량 잔존율.

^{A-C)} Different uppercase letters indicate significant differences by heating time (min) within the same amount of beta-sitosterol particle by Duncan's multiple range test ($p < 0.05$). ^{a-c)} Different lowercase letters indicate significant differences by different amount of beta-sitosterol particle within the same heating time by Duncan's multiple range test ($p < 0.05$).

② 안정성이 극대화된 최적 캡슐 제조조건 확립

○ 반응표면분석법을 통한 고내부상 피커링 에멀전의 최적 제조조건 확립

- 열 안정성 증진이 뛰어난 베타시토스테롤 파티클 및 카파 카라기난 이용 고내부상 피커링 에멀전 제조조건을 최적화를 위하여 반응표면분석을 이용하여 최적 제조 조건을 분석함.
- 베타시토스테롤 파티클 농도와 카파카라기난의 농도를 독립변수, 열 안정성을 종속 변수로 설정하고 중심합성계획법에 따라 실험을 설계함(표15). 열 안정성은 80℃에

서 120분 동안 열처리 후 스피루리나의 기능성분인 총 엽록소 함량을 정량 분석하고 0시간의 함량을 기준으로 잔존율(%)을 측정하여 분석함.

- 독립변수 수준은 예비실험을 바탕으로 베타시토스테롤 파티클 농도(1.5~3.5 % (w/w)), 카파 카라기난 농도(0.4~1.2 % (w/w))로 설정함.

표15. 중심복합계획 및 고내부상 피커링 에멀전의 열 안정성

Run No.	Conditions		Retention rate (%)
	X ₁	X ₂	
1	2	0.6	92.87
2	2	1.0	84.57
3	3	0.6	79.89
4	3	1.0	90.10
5	2.5	0.8	95.58
6	2.5	0.8	91.54
7	2.5	0.4	85.19
8	2.5	1.2	99.61
9	1.5	0.8	29.33
10	3.5	0.8	79.89

X₁: 베타시토스테롤 파티클 농도(1.5~3.5%(w/v)), X₂: 카파 카라기난 농도(0.4~1.2%(w/v))

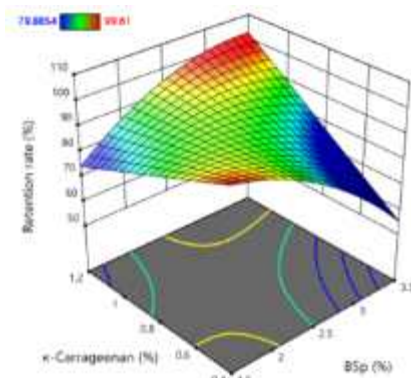
- 모든 실험군에서 R²는 0.8 이상, p-value가 0.05 이하로 모델 적합성이 인정됨(표13).

표16. 유화제 및 겔화제 농도에 따른 스피루리나 포집 고내부상 피커링 에멀전의 열 안정성 예측 모델 방정식

Responses	Predicted model equation	R ²	p-value
Retention rate (%)	$Y = 91.18 - 4.39X_1 + 5.12X_2 - 7.76X_1^2 + 18.50X_1X_2 + 0.0303X_2^2$	0.8024	<0.05

X₁: 베타시토스테롤 파티클 농도(1.5~3.5%(w/v)), X₂: 카파 카라기난 농도(0.4~1.2%(w/v))

(A)



(B)

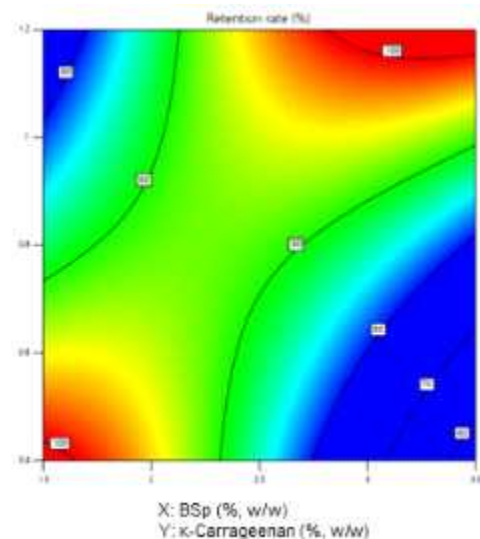


그림 29. 베타시토스테롤 파티클(BSp) 및 카파 카라기난(κ-Carrageenan) 농도에 따른 스피루리나 포집 고내부상 피커링 에멀전의 열 안정성.

(A) 반응 표면도 및 (B) 등고선도

- 반응표면분석법 결과, 베타시토스테롤 파티클과 카파 카라기난의 농도에 따라 총 엽록

소 함량의 잔존율이 달라져 열 안정성의 차이를 나타냄(그림 29A). 총 엽록소 함량 잔존율을 최대로 하는 최적 베타시토스테롤 파티클 및 카파 카라기난 농도는 각각 **3.16% (w/w)**, **1.16% (w/w)**로 산출됨(그림 29B).

- 이차다항식에 대입하여 도출한 총 엽록소 함량 잔존율의 예측값은 100%이며, 실측값은 $99.12 \pm 2.43\%$ 로 나타나 **예측값과 실측값이 부합함을 확인함.**

■ 제2협동기관 (네오크레마)

가. 기능성 원료 국내 및 해외 시장 조사

1) 국내 기능성 원료의 시장 동향

- 국내 건강기능식품 시장 동향에 대하여 시장 규모, 원료 별 판매 실적 추이, 국내 수입품목 현황 등을 조사하여 국내 기능성 원료에 대한 시장을 파악 하였음. 2020년 국내 건강기능식품 총 매출액은 3조 3,254억원으로 전년 대비 12.7%가 증가하였고, 코로나19로 인하여 많은 사람들이 건강에 대한 관심도가 증가하면서 건강기능식품을 찾고 건강기능식품의 섭취가 대중화되면서 인터넷, 약국, 드럭스 스토어 등에도 제품군들을 쉽게 구매할 수 있어 건강기능식품 시장이 더욱 크게 성장하고 있음.
- 건강기능식품 상위 5개 품목의 매출액 비중이 전체의 80.6%이며, 상위 10개 품목의 매출액 비중은 88.8%로 매출액으로 보아 건강기능식품 기능성 및 원료 대한 편중이 심한 것을 알 수 있다. 상위 5개의 기능성 원료 품목 중 1위는 홍삼제품으로 점유율이 26.4%(5,988억 원)이었으며, 2위는 프로바이오틱스(3,168억 원), 비타민 무기질, EPA와 DHA 함유 유지 순으로 2019년과 동일하게 판매 순위를 기록하였으나, 기능성에 대한 매출에서는 2019년과 2020년에 다른 양상이 보여지고있음.
- 2019년에는 기억력개선, 혈행개선, 피로개선 면역 기능 개선의 기능성이 판매 매출액이 높았으나, 2020년에는 면역 기능 개선, 혈행기능개선, 기억력 개선, 항산화 순으로 변화하고 있음.

표 1. 건강기능식품 기능성별 매출추이 (단위:억 원,%)

기능성 항목	2019년		2020년	
	매출액(억원)	비율(%)	매출액(억 원)	비율(%)
계	88,308	100	93,800	100
면역 기능 개선	11,319	12.8	12,509	13.3
혈행 개선	11,925	13.5	12,363	13.2
기억력 개선	12,667	14.3	12,126	12.9
항산화	11,230	12.7	11,585	12.4
피로 개선	11,779	13.3	11,569	12.3
갱년기 여성 건강	10,780	12.2	11,002	11.7
장 건강	6,948	7.9	7,950	8.5
눈 건강	1,760	2.0	2,540	2.7
혈중 중성지방 개선	1,298	1.5	1,631	1.7
체지방 감소	1,232	1.4	1,482	1.6
피부 건강	1,04	1.2	1,418	1.5
간 건강	1,457	1.6	1,288	1.4
칼슘 흡수 촉진	463	0.5	1,100	1.2

출처 : 식품의약품안전처

- 수입되는 건강기능식품의 금액 또한 2020년 기준으로 9억 1,213만 달러로 전년에 비해 15.9%가 증가하였으며 수입국은 미국이 전체 50.9%를 차지하였고 그 뒤로는 캐나다, 독일, 인도였으며 수입되는 건강기능식품의 품목은 복합영양소, 프로바이오틱스, 영양소·복합 기능성 제품, EPA 및 DHA 함유 유지, 단백질 순으로 나타나고 있음.

- 이를 바탕으로 기능성 식품원료들 중 일반식품에 적용할 수 있으며 기능성을 표시할 수 있는 원료와 현재 시장에서 많은 사람들에게 관심이 있는 상위 5개의 기능성 성분(면역 기능 개선, 혈행 개선, 기억력 개선, 항산화, 피로개선)에 대하여 기능성 성분 및 섭취 기준량에 따른 기능성 표시에 관하여 조사를 하였음.

표 2. 식품 등에 사용 할 수 있는 기능성 원료 및 기능성 표시, 섭취 기준량

기능성 원재료	지표성분	기능성 내용	1일 섭취 기준량
인삼	진세노사이드	면역력 증진, 피로 개선에 도움을 줄 수 있음	진세노사이드로 Rg1과 Rb1의 합계로서 3~80mg
		뼈건강에 도움을 줄 수 있음	진세노사이드로 Rg1과 Rb1의 합계로서 25mg
홍삼	진세노사이드	면역력 증진, 피로 개선에 도움을 줄 수 있음	진세노사이드로 Rg1과 Rb1의 합계로서 3~80mg
		혈소판 응집억제를 통한 혈액 흐름 항산화에 도움을 줄 수 있음	진세노사이드로 Rg1과 Rb1의 합계로서 2.4~80mg
클로렐라	총 엽록소	갱년기 여성의 건강에 도움을 줄 수 있음	진세노사이드로 Rg1과 Rb1의 합계로서 25~80mg
		피부건강 · 항산화에 도움을 줄 수 있음	총 엽록소로서 8~150mg
스피루리나	총 엽록소	면역력 증진 · 혈중 콜레스테롤 개선에 도움을 줄 수 있음	총 엽록소로서 125~150mg
		피부건강 · 항산화에 도움을 줄 수 있음	총 엽록소로서 8~150mg
프로폴리스추출물	총 플라보노이드	혈중 콜레스테롤 개선에 도움을 줄 수 있음	총 엽록소로서 40~150mg
		항산화 · 구강에서의 항균작용에 도움을 줄 수 있음	총 플라보노이드로서 16~17mg
EPA 및 DHA 함유유지	EPA와 DHA의 합	혈중 중성지질 개선 · 혈행 개선에 도움을 줄 수 있음	EPA와 DHA의 합으로서 0.5~2g
		건조한 눈을 개선하여 눈 건강에 도움을 줄 수 있음	EPA와 DHA의 합으로서 0.6~1g
매실 추출물	구연산	피로 개선에 도움을 줄 수 있음	구연산으로서 1~1.3g
구아검/구아검 가수 분해물	식이섬유	혈중 콜레스테롤 개선 · 식후 혈당상승 억제 · 배변활동 원활에 도움을 줄 수 있음	구아검/구아검가수분해물 식이섬유로서 9.9~27g
		장내 유익균 증식에 도움을 줄 수 있음	구아검/구아검가수분해물 식이섬유로서 4.6~27g
난소화성말토덱스트린	식이섬유	식후 혈당상승 억제에 도움을 줄 수 있음	난소화성말토덱스트린 식이섬유로 11.9~30g(액상 원료는 11.6~44g)
		혈중 중성지질 개선에 도움을 줄 수 있음	난소화성말토덱스트린 식이섬유로 12.7~30g(액상 원료는 12.7~44g)
		배변활동 원활에 도움을 줄 수 있음	난소화성말토덱스트린 식이섬유

			로 2.5~30g(액상 원료는 2.3~44g)
대두식이섬유	식이섬유	혈중 콜레스테롤 개선 · 배변활동 원화에 도움을 줄 수 있음	대두 식이섬유로서 20~60g
		식후 혈당상승 억제에 도움을 줄 수 있음	대두 식이섬유로서 10~60g
옥수수겨식이섬유	식이섬유	혈중콜레스테롤 개선 · 식후 혈당상승 억제에 도움을 줄 수 있음	옥수수겨 식이섬유로서 10g
이눌린/치커리추출물	식이섬유	혈중 콜레스테롤 개선, 식후 혈당상승 억제에 도움을 줄 수 있음	이눌린/치커리추출물 식이섬유로서 7.2~20g
		배변활동 원화에 도움을 줄 수 있음	이눌린/치커리추출물식이섬유로서 6.4~20g
차전자피식이섬유	식이섬유	혈중 콜레스테롤 개선에 도움을 줄 수 있음	차전자피 식이섬유로서 5.5g 이상
		배변활동 원화에 도움을 줄 수 있음	차전자피 식이섬유로서 3.9g 이상
알로에 겔	총 다당체	피부건강 · 장건강 · 면역력 증진에 도움을 줄 수 있음	총다당체 함량으로서 100~420mg
홍국	총 모나콜린K	혈중 콜레스테롤 개선에 도움을 줄 수 있음	총 모나콜린 K로서 4~8mg
대두단백	단백질	혈중 콜레스테롤 개선에 도움을 줄 수 있음	대두단백으로서 15g 이상
마늘	알리인	혈중 콜레스테롤 개선에 도움을 줄 수 있음	마늘분말로서 0.6~1.0g

출처 : 식품의약품안전처

2) 해외 기능성 원료의 시장 동향

- 2019년 세계 보충제(Supplement) 매출액은 약 1,424억 달러이며, 2018년 대비 5.1% 성장률을 보였음. 보충제 시장 중 비타민, 미네랄이 약 38.5%를 나타내며 시장 점유율 1등을 차지하고 있고 그 뒤로는 스포츠 보충제, 식이 대체 보충제, 기타 보충제 등이 차지하였음. 또한 세계 보충제 시장에서 미국은 시장 점유율이 34.2%로 1위를 차지하였으며, 이어서 중국이 14.8%, 서유럽이 12.5% 차지하고 있는 것으로 나타내고 있음.

표 3. 연도별 세계 보충제 시장규모

(단위 : 백만달러, %)

구분		2016	2017	2018	2019
Vitamin, Minerals	매출액	48,131	50,578	52,786	54,804
	성장률	4.6%	5.1%	4.4%	3.8%
Herbs, Botanicals	매출액	31,056	33,184	35,153	36,941
	성장률	6.3%	6.8%	5.9%	5.1%
Sprots Nutrtn, Meal replacements, Homeopathic Supplements, Specialty Supplements	매출액	42,058	44,599	47,628	50,730
	성장률	6.4%	6.0%	6.8%	6.5%

계	매출액	121,245	128,361	135,567	142,475
---	-----	---------	---------	---------	---------

출처 : New Hope Netwrok - Global supplement Business Report

- 2020년에는 COVID-19로 인하여 면역력을 강화하는 다양한 건강기능식품의 판매가 세계적으로 증가하였으며, 아직 치료제나 치료법이 없기 때문에 면역 체계를 강화하기 위한 많은 건강기능식품을 소비를 하고 있으며, 운동을 하면서 영양가 있는 식품을 섭취하고 면역기능을 향상하는 건강기능식품의 섭취가 늘어나면서 미국에서만 관련 건강기능식품에 대한 매출이 52.2% 증가하여 52억 달러에 이를 것으로 추정되고 있음.
- 미국의 경우 2020년에 COVID-19에 여파로 연간 매출액이 전년 대비 12.1%의 큰 성장을 보인 것으로 추정하며, 미국에서도 꾸준히 단백질 및 Sports Nutrition 등이 세계 보충제 시장을 주도하면서 시장이 계속 성장하였고, COVID-19로 인하여 면역에 관련된 시장이 더 커지고 있음.
- 중국의 경우 2016년 9.3%의 큰 성장률을 보인 이후 2019년 4.9%까지 성장률은 떨어졌으며 COVID-19에 대한 비효율적인 대응으로 미국이나 호주, 뉴질랜드와 같이 효율적으로 대응하지 못한 국가에 비해 보충제 판매액이 급증하지 않을 것으로 보 전반적으로 세계적으로 비타민 미네랄 등의 기본적인 영양소에 효과에 대한 기대감이 줄어들면서 시장은 감소하였고, COVID-19로 인하여 면역과 건강에 직접적으로 연관된 스포츠, 면역 등의 시장이 더욱 성장할 것으로 예상됨.
- 이러한 자료를 바탕으로 현재 국내외 시장에서 건강에 대한 관심이 높아지고 있는 면역, 항산화, 혈행 개선 등의 관련된 기능성 원료들을 이용하여 다양한 형태의 기능성 제품을 진행하는 것이 다양한 소비자의 니즈를 충족시킬 수 있으며, 나아가 신규 시장 창출을 위해, 기능성을 가진 식품으로서의 형태와 색상, 맛, 식감 등을 고려한 다양한 형태의 제품들 출시가 요망됨.
- 다만 현재 국내시장에서 많은 사람들이 관심이 많고 알고 있는 기능성 원료들 중에 원료의 특성 한계점으로 인하여 제품의 다양화가 어려워 제형의 다양성이 어려운 부분이 있음.
- 수용화가 되지 않아 액상 및 다른 제형에 적용하기 힘든 기능성 원료를 제조가공 방법을 조사하는 중에 많은 업체들이 자사가 가지고 있는 나노파티클(마이크로인캡슐) 공정을 많이 이용하고 있었으며, 이에 나노파티클(마이크로인캡슐, 나노 분산)을 적용하여 원료의 한계점을 해결하고 제품화를 할 수 있게 진행 하였음.

나. 용해도 및 안정성 증진을 위한 다양한 캡슐 선행 pilot 생산

1) 원료의 분산화

- 상이 다른 두 용액을 혼합할 때 한쪽 액체가 미세한 입자를 형성하여 다른 액체 속에 분산 되어 있는 기술인 유화를 많이 사용하고 있으며, 유화를 위하여 용도에 맞는 유화제의 선택이 중요하였음.
- 유화는 물과 기름을 혼합하는 방법중의 하나로서 화장품, 의약품, 식품, 농약, 도료, 접착제 및 그 밖에 많은 공업 분야에서 널리 이용되고 있기 때문에 우리 일상 생활과 밀접한 관계를 갖고 있으나, 열역학적으로 불안정해서 시간이 경과 함에 따라 상 분리가 일어나는 문제가 발생할 수 있음.

에멀전은 서로 섞이지 않는 성분을 일정한 비율로 다른 액체에 분산되어 있는 형태로, 일반적으로 계면활성제에 조합에 이용되는 HLB(hydrophilic-lipophile balance, 친수성-친유성 밸런스) 값을 응용하여, HLB 값이 10 이상이면 친수성 성질이 강하여 o/w형 에멀전 형성에 사용되며, HLB 값이 10 이하이면 소수성 성질인 w/o형 에멀전 형성에 사용됨 등을 고려하여, 물리적 성질을 이용해 친수성과 친유성 정도를 비교하여 가공 방법을 선정하고자 하였음.

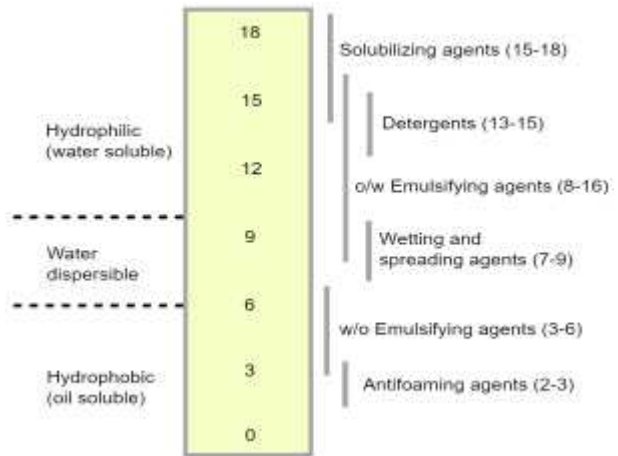


그림 1. hydrophilic-lipophile balance scale

일반적으로 HLB값이 낮을수록 점도가 높고, 유화 입자는 작고 조밀한 경향을 나타내며, 원심분리 후에도 안정한 경향을 나타냄.

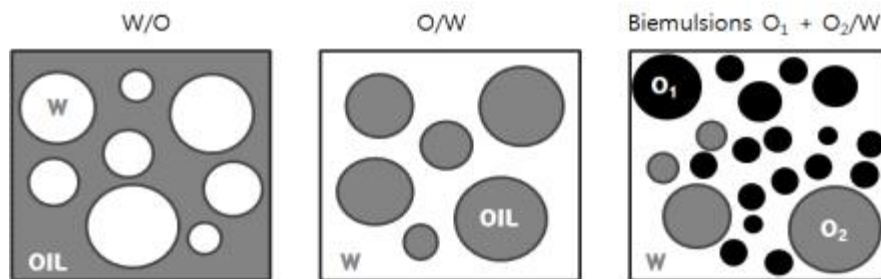


그림 2. 유화의 종류

- 이런 문제를 해결하기 위해 작은 입자의 나노파티클이 주목받고 있으며, 현재 추출물의 용해도 증진에 관련하여 많은 업체들이 나노파티클(마이크로인캡슐레이션, 나노분산)화의 제조공정을 이용하여 기능성 원료의 적용 한계점을 개선하여 다양한 제형에 적용할 수 있도록 제품화를 하고 있음. 마이크로인캡슐레이션의 제조 방법은 나노파티클을 만든 후 부형제를 이용하여 파티클을 부유하게 하여 수분산성을 개선할수 있는 공정임.
- 본 공정은 크게 6가지 공정으로 진행되며, ① 원료들을 계량하여, ② 1h 이상 혼합가공을 통해 물리적으로 분산 혼합을 시키고 난 후 ③ 1차 혼합된 주원료와 부원료를 물과 함께 호모믹서를 이용하여 물속에서 안정적으로 분산될 수 있도록 2차 혼합을 진행하며, ④ 분쇄: 나노가공 공정을 진행하는데 입경 0.3~1mm 지르코니아 볼을 가공원료에 5배 정도를 투입하여 주원료를 작게 분쇄하여 입자크기를 평균 850nm로 가공 ⑤ 분쇄된 입자를 유화제로 코팅하며 입자끼리 달라붙는 현상을 방지 ⑥ 여과 필터를 통해 액상을 필터를 진행,액상 필터 작업 후 ⑦ 살균공정(12 5℃ 10분) 후 제품화를 진행하는 방법으로 적용 하였음.

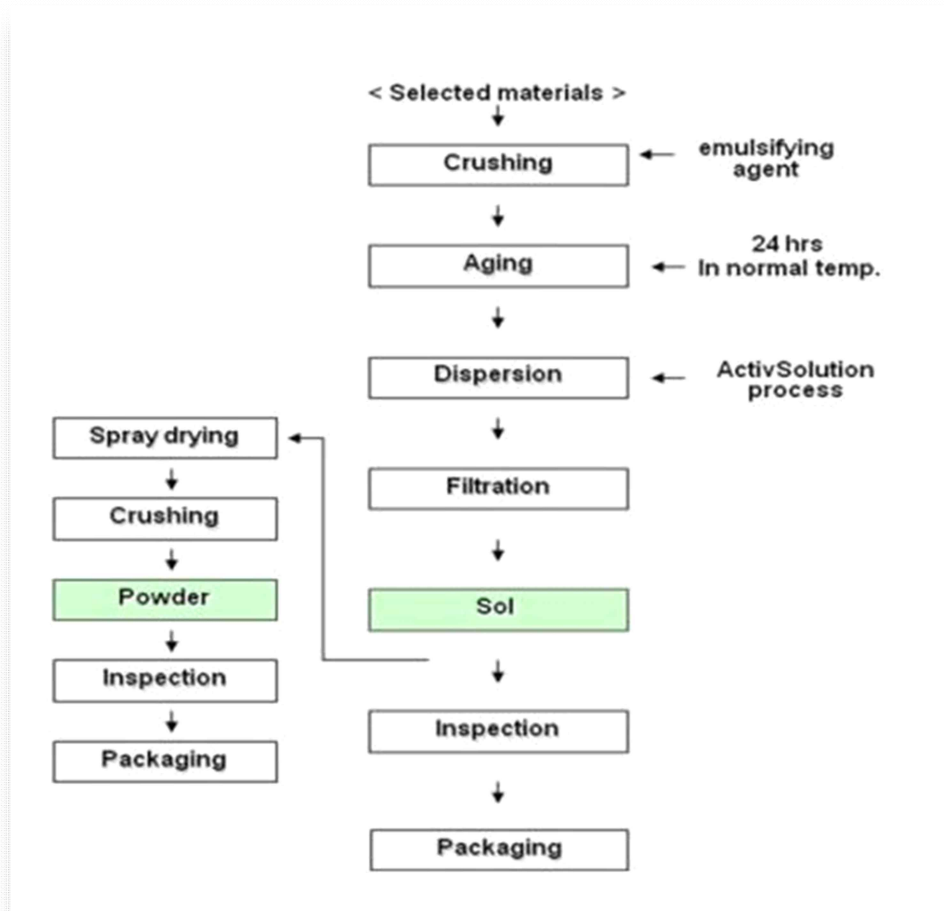


그림 3. 마이크로인캡슐레이션 제조공정도모식도



그림 4. 수용성커큐민 제조공정

- 예비 실험으로 대표적 지용성물질인 강황추출물을 이용하여 마이크로인캡슐레이션의 제조방법을 적용해 제품의 안정성 실험을 진행하였음.
- 제품을 각각 0.1%, 1%, 10%, 원액을 이용하여 Autoclave를 이용하여 124℃에서 21분동안 열을 가하였고, 이를 확인하였을 때 열에 의한 차이가 발생하지 않아 열에 대한 안정성을 확인하였으며, 원심분리기를 이용하여 3,000rpm에서 60분을 진행하였을 때 층 분리 현상이 일어나지 않음을 확인함.

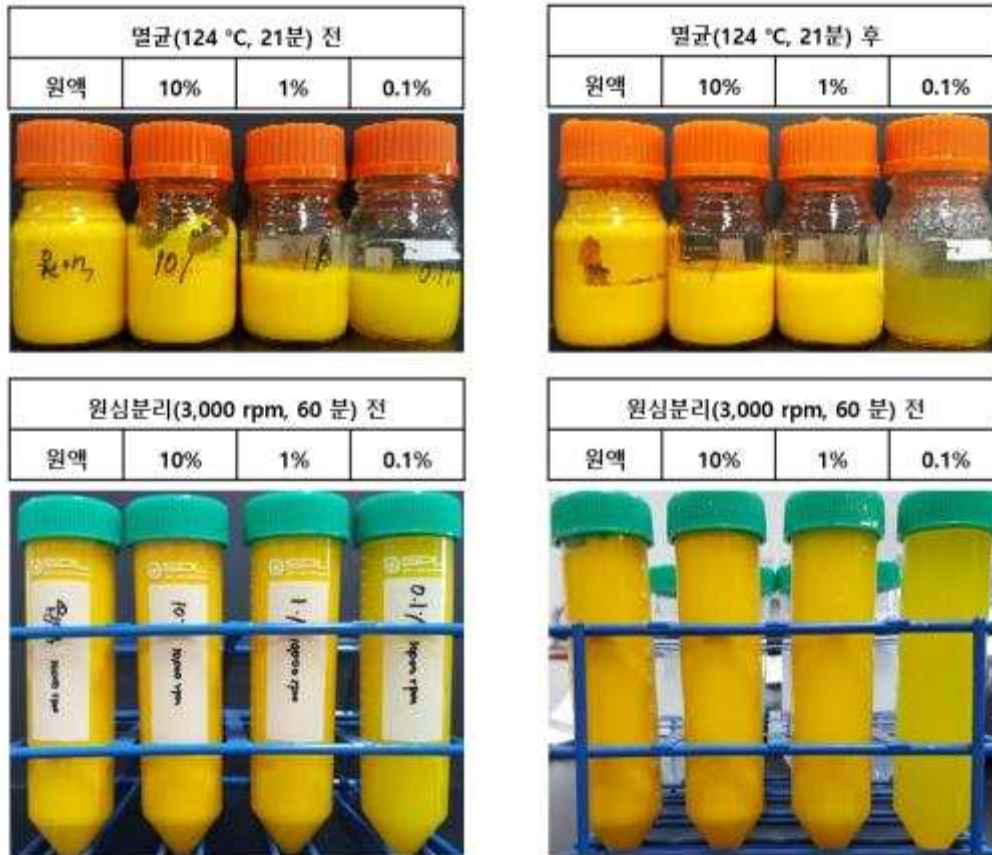


그림 5. 마이크로인캡슐레이션 멸균 및 원심분리에 대한 안정성 확인

- 본 제조공정으로 생산된 강황추출물의 지표물질인 커큐민을 분석하여 기능성분의 안정성을 비교하였음.

□ 분석방법

- 표준용액의 제조

: 순도가 보증된 Curcumin, Desmethoxycurcumin, Bisdsmethoxycurcumin (순도 99.9%, 99.4%, 99.9%)을 1000mg/kg이 되도록 이동상으로 녹인다. 이 용액을 각각 200mg/kg, 100mg/kg, 50mg/kg, 25mg/kg, 10mg/kg이 되도록 이동상으로 희석하여 표준용액으로 사용하고 검량선을 긋는다.

- 시험용액의 제조

- ① 100mL메스플라스크에 시료를 정밀히 칭량(검량선안에 들어오도록)하여 무게를 측정한다.
- ② 이동상을 2/3가량 채워 10분간 초음파 처리 후 이동상을 이용하여 100mL로 정용한다.
- ③ 0.22um 멤브레인 필터로 여과 후 바이알에 담아 시험용액으로 사용한다.

- 분석조건(HPLC)

분석기기	HPLC-UVD		
Column	Capcellpak C18, 5um 250mm × 4.6mm		
Mobile Phase	1mg/mL Citric acid in water : Tetrahydrofuran (60:40)		
Column TC	30~35°C	Detection	420nm

Stop time	40min	Flow Rate	1 mL/min
Injec Vol	10 µL		

- 계산

Curcumin, Desmethoxycurcumin, Bisdemethoxycurcumin 각각의 함량을 구한 후 이들의 총합을 계산한다.

$$\text{개별성분 함량(mg/g)} = C \times \frac{a \times b \times p}{s}$$

C : 시험용액중 표준액의 농도

a : 시험용액의 전량(ml)

b : 희석배수

p : 표준품의 순도

s: 시료 채취량(g)

- 분석결과

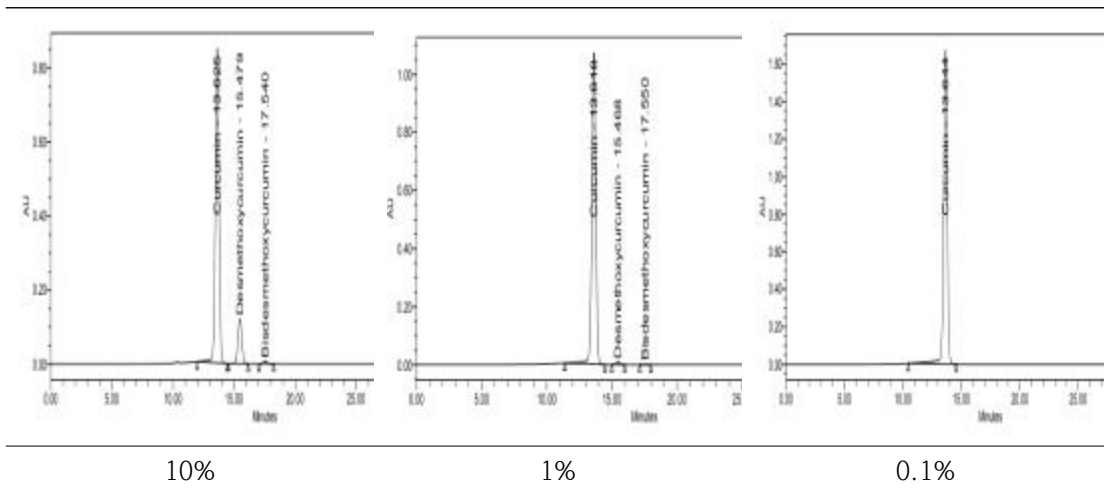


그림 6. 수용성커큐민의 HPLC 분석결과

- 분석결과 강황추출물의 지표성분인 커큐민이 10%,1%,0.1% 모두 파괴되거나 손실되지 않고 검출됨을 확인 할 수 있었으며, 지용성이며, 안정성이 확인된 소재의 경우 본 예비공정을 활용하여, 다른 기능성 원료에 적용하고자 하였음.

다) Pilot 생산 캡슐의 용해도 및 안정성 평가

- 국내 및 해외의 시장조사를 통하여 불용성인 건강기능식품원료를 수용화를 하였을 시 국내시장에서 가능성을 가지고 있는 원료를 나노파티클화를 통한 공정으로 소재화를 진행하였음.

- 코로나 확산 이후로 소비자의 관심이 면역, 항균, 항산화 등에 대한 관심이 증가하였고, 프로폴리스 시장이 작년 시장대비 114.9% 증가하였고 시장 방향성과 적합하여 고시형 원료인 프로폴리스를 이용하여 나노파티클 테스트를 진행하였음.

(1)프로폴리스

- 프로폴리스 원료 선택에 앞서 원산지 별 생리활성성분을 확인하였으며 원산지에 따라 프로폴리스 내 기능성 성분에 대한 비율 및 함량이 다른 것을 확인하였으며, 원료 수급이 어렵지 원활하며, 브라질 등의 비해 생리활성성분을 다양하게 가지고 있는 호주산 프로폴리스를 선정 하였음.

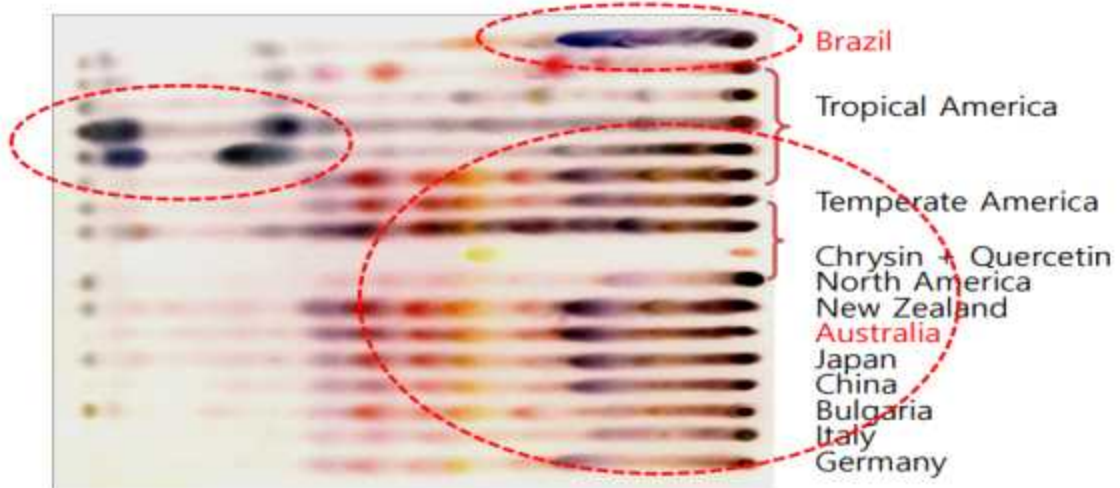


그림 7. 원산지별 생리활성물질비교

- 원산지가 같은 호주산의 제조사별 프로폴리스의 국내 건강기능식품 규격을 확인 후 원료 선정을 진행하였음.
- 기존 선행연구였던 강황추출물을 토대로 부형제 및 프로폴리스를 함량을 조절하였고 부형제등을 검토하여 테스트를 진행하였음.
- 6단계로서 ① 원료지를 계량하여, ② 1h 이상 혼합 가공을 통해 물리적으로 분산 혼합을 시키고 난 후 ③ 1차 혼합 된 주원료와 부원료를 물과 함께 호모믹서를 이용하여 물속에서 안정적으로 분산될 수 있도록 2차 혼합을 진행하며, ④ 분쇄: 나노가공 공정을 진행하는데 입경 0.3~1mm 지르코니아 볼을 가공원료에 5배 정도를 투입하여 주원료를 작게 분쇄하여 입자크기를 평균 850nm로 가공 ⑤ 분쇄된 입자를 유화제로 코팅하며 입자끼리 달라붙는 현상을 방지 ⑥ 여과 필터를 통해 액상을 필터를 진행, 액상 필터 작업 후 ⑦ 살균공정(95℃ 5분) 후 제품화를 진행하는 방법으로 적용하였음.

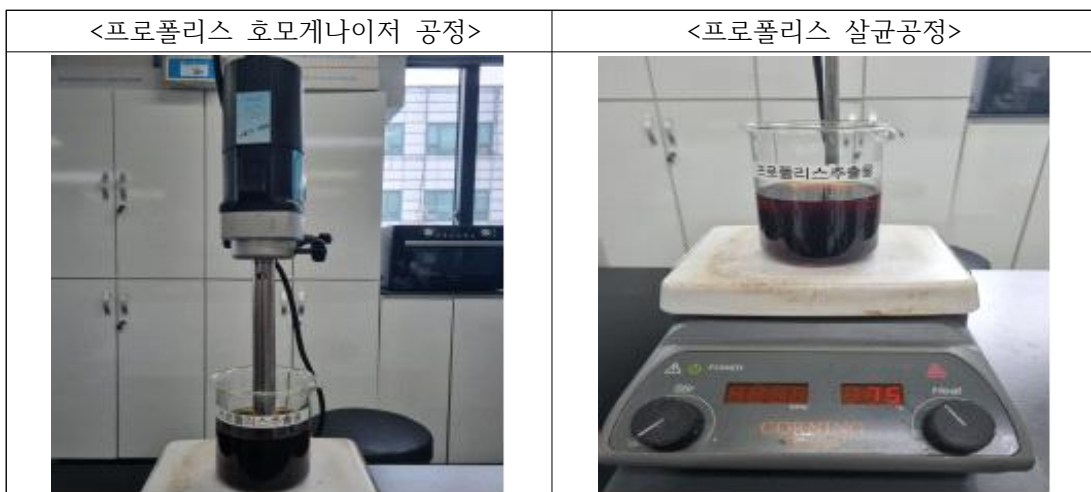


그림 8. 수용성프로폴리스 제조공정

- 제조 후 건강기능식품 규격함량에 적합 유무를 확인하기 위해 총 플라보노이드 함량 10mg/g 이상, 파라(p)-쿠마르산, 계피산에 대하여 공인분석을 진행하여 적합

유무를 확인하였음.

시험·검사 항목 및 결과						시험·검사 항목 및 결과					
시험·검사 항목	시험·검사 기준	시험·검사 결과	판정	단서조항	비고	시험·검사 항목	시험·검사 기준	시험·검사 결과	판정	단서조항	비고
성상	이미, 이취가 없고 고유 향미가 있는 갈색의 분말	적합	적합			성상	고유의 향미가 있고 이미, 이취가 없는 어두운 갈색의 액상	적합	적합		
총 플라보노이드(mg/g)	표시량 이상	57.1	적합	원료성	표시량 : 50 mg / g	총 플라보노이드(mg/g)	표시량 이상	10.1 mg / g	적합	원료성	표시량 : 10 mg / g
파라(p)쿠마르산	확인	확인	적합			파라(p)쿠마르산	확인	확인	적합		
계피산	확인	확인	적합			계피산	확인	확인	적합		
납(mg/kg)	5.0이하	0.1	적합			납(mg/kg)	5.0이하	0.0	적합		
카드뮴(mg/kg)	0.30이하	0.0	적합			카드뮴(mg/kg)	0.30이하	0.0	적합		
디에틸렌글리콜(μg/g)	불검출	불검출	적합			디에틸렌글리콜(μg/g)	불검출	불검출	적합		
테트라사이클린(mg/kg)	불검출	불검출	적합			테트라사이클린(mg/kg)	불검출	불검출	적합		
클로르테트라사이클린(mg/kg)	불검출	불검출	적합			클로르테트라사이클린(mg/kg)	불검출	불검출	적합		
대장균군	음성	음성	적합			대장균군	음성	음성	적합		
						세균수(1mL당)	1000이하	0	적합		

<호주산프로폴리스 외부기관분석 결과>

<가용화프로폴리스 외부기관분석결과>

- 원료가 가지고 있는 고유의 향과 맛으로 1% 농도로 용액을 제조하여 살균 하였고 공정 후에도 성상의 변화가 없는 것을 확인하였으며, 소재의 제품화 테스트를 위해 탄산음료 및 스틱젤리에 적용하여 샘플을 제작하였음

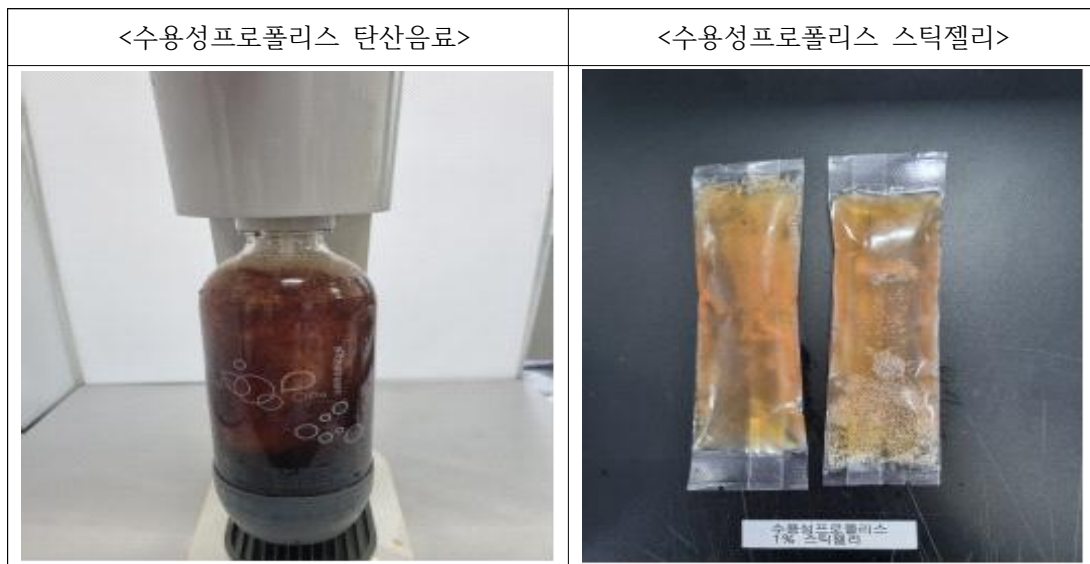


그림 9. 수용성프로폴리스 적용 완제품 예시

- 샘플을 제작 후 프로폴리스의 적용에 대한 제품의 안정성을 확인하기 위해 상온에 5개월 보관 후 탄산제품의 미생물검사를 실시하였으며 침전 유무 등을 확인하였음. 탄산음료의 경우 프로폴리스의 침전현상이 발생하지 않았으며 미생물도 검출되지 않았으며, 스틱젤리 또한 미생물검사 이액현상에 대하여 확인 결과 문제 없음을 확인하였음.

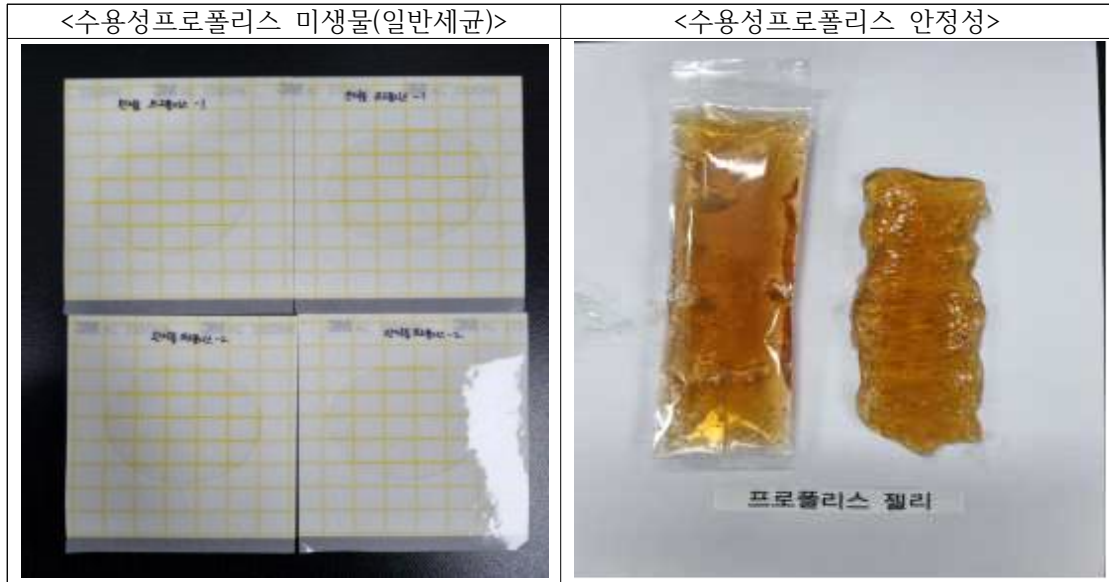


그림 10. 수용성클로렐라 안정성 확인

(2)클로렐라

- 기능성 소재로써 클로렐라는 다양한 기능성 내용표기가 가능하며, 섭취시 용량에 따라 나눌 수 있음.

표 4. 건강기능식품공전에 따른 클로렐라의 기능성내용

섭취 기능성분(mg)	기능성내용
8~150 mg	피부건강 · 항산화에 도움을 줄 수 있음.
125~150 mg	면역력 증진에 도움을 줄 수 있는 기능성이 있음. 혈중 콜레스테롤 개선에 도움을 줄 수 있는 기능성이 있음.

- 코로나 이후 관심이 높아진 면역력, 항산화, 피부 건강 등에 대한 클레임을 가지고 있으며, 예전 피자 등 마케팅으로도 많이 사용되어 소비자들 접근성이 다소 쉬운 점과 클로렐라의 제품화가 다양하지 못한 점을 고려하여 소재화 원료로써 클로렐라 원물의 경우 엽록소 함량이 20mg/g 이상인 건강기능식품 원료를 선정하여 사용하였음.

LABORATORY REPORT			
ITEM	ANALYTICAL METHOD	RESULT	
		Specifications	Lot No.1905301
Color	Visual	GREEN	GREEN
Odor	Organoleptic	FINE	FINE
Taste	Organoleptic	FINE	FINE
Crude Protein	A.O.A.C.	60% min.	63.86%
Ash	A.O.A.C.	8% max.	5.57%
Moisture	Kett's infra-red moisture meter	5.0% max.	3.30%
Chlorophyll	J.I.S.	1800mg% min.	2417
Pheophorbide	J.I.S.	80 mg% max.	27
Total bact. Count	A.O.A.C.	<1*10 ⁴ CFU/G	<3000
Coliform bact.	A.O.A.C.	Negative	Negative
CGF	A.O.A.C.	1.80 Unit min.	1.82
Fe	C.N.S.	50 mg%	Complied
Pb	A.O.A.C.	< 3.0 ppm	Complied
Hg	A.O.A.C.	< 0.5 ppm	Complied
Cd	A.O.A.C.	< 1.0 ppm	Complied
As	A.O.A.C.	< 1.0 ppm	Complied
Manufacturer Date: May 30,2019		Expiry Date: May 30,2022	

그림 11. 클로렐라 원물 성적서

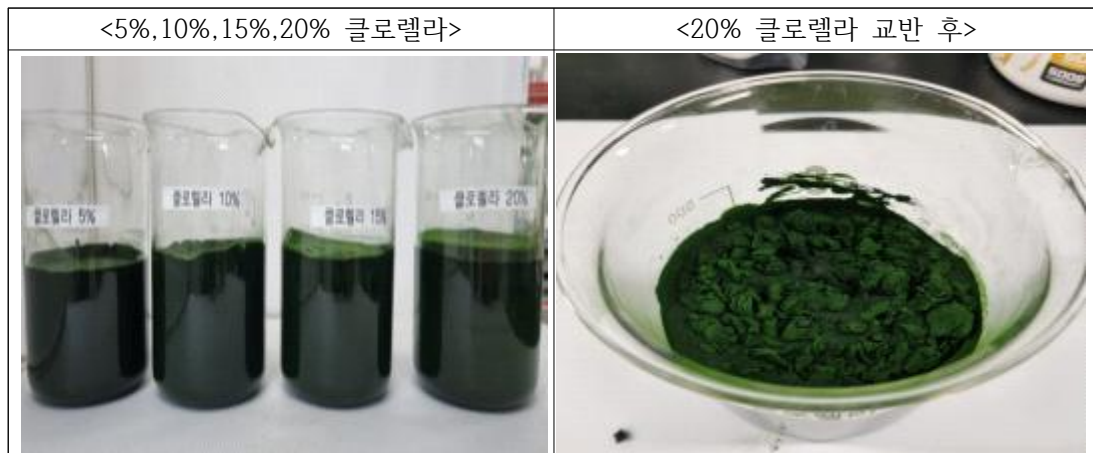


그림 12. 클로렐라 용해도사진

- 클로렐라분말을 정제수에 분산시키기 위하여 증량대비로하여 각 5%, 10%, 15%, 20% 넣고 교반을 진행하였으며, 교반기는 150 rpm로 20분간 진행하였으나, 클로렐라 20%에서는 교반이 진행되지 않으며, 클로렐라원말이 서로 엉기면서 교반이 원활히 이루어지지 않아, 소재화에서는 20%는 제외하고 5%, 10%, 15%만 테스트를 진행하였음.
- 5%, 10%, 15%의 클로렐라의 나노파티클 시 수용화내 균질화를 위해 가용화에 적합한 글리세린과 안정성 증가를 위하여 다당체를 이용하였음.



그림 13. 가용화 안정성 증진을 위한 다당체비교

- 다당체로써는 아라비아검, 가티검, 잔탄검 등의 검류를 사용하여 비교하였으며, 검류를 사용하여 비교 결과 검류를 처방하고 혼합 중 15% 클로렐라에서도 시간이 지날수록 원료들끼리 서로 엉기는 현상이 발생하여, 안정성이 떨어져 10%의 수용액으로 안정성 및 테스트를 진행하였음.
- 검류 글리세린과 혼합한 가티검의 안정성이 높게 평가되어 가티검으로 부형제를 설정하였고 기본 유화제와 검류의 부형제 설정 한 후 수용성 클로렐라에 대한 제조공정을 설정하였음 제조공정은 6단계로서 ① 원료지을 계량하여, ② 2h 이상 혼합 가공을 통해 물리적으로 분산 혼합을 시키고 난 후 ③ 1차 혼합 된 주원료와 부원료를 물과 함께 호모믹서를 이용하여 물속에서 안정적으로 분쇄와 분산이 될 수 있도록 4h 2차 혼합을 진행하며, ④ 분쇄: 나노가공 공정을 진행하는데 입경 0.3~1mm 지르코니아 볼을 가공원료에 5배 정도를 투입하여 주원료를 작게 분쇄하여 입자크기를 평균 600~800nm로 가공하며 rpm은 60~100으로 설정하여 4h 동안 분쇄를 한다, ⑤ 분쇄된 입자를 유화제로 코팅하며 입자끼리 달라붙는 현상을 방지 ⑥ 여과 필터를 통해 액상을 필터를 진행, 액상 필터 작업 후 ⑦ 살균공정(60℃ 30분) 후 포장까지 하여 제품화를 진행하는 방법으로 적용하여 테스트를 진행하였음.

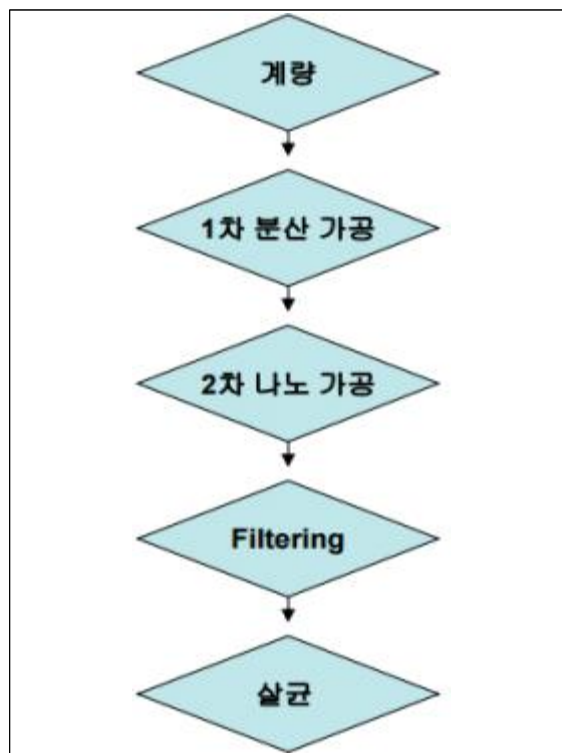


그림 14. 수용성클로렐라 제조공정도



그림 15. 수용성클로렐라 제조과정

- 10% 수용액 클로렐라의 분쇄 후 살균공정을 거친 후에는 클로렐라의 성상이 조금 더 연한 초록색으로 바뀌었음. 이에 클로렐라 분말과 10% 클로렐라 수용액의 함량 분석과 입자에 대한 파티클사이즈 분석을 진행하였음.

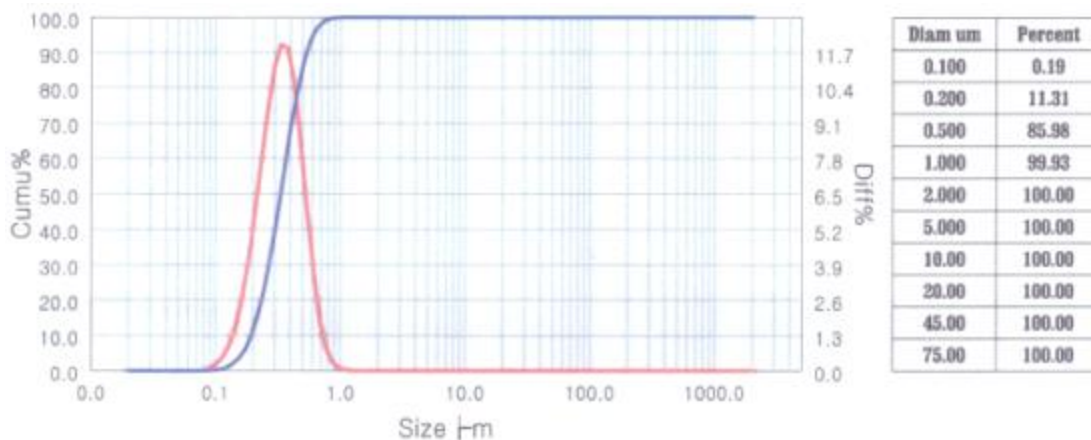


그림 16. 수용성클로렐라 입도 분석 결과

- 수용성클로렐라의 입도분석결과 평균 입자사이즈의 분포도가 700~800 nm 사이에 많이 분포하여 있어 수용성클로렐라의 평균 입도는 750 nm 로 확인하였음. 10% 수용성 클로렐라에 엽록소 함량은 살균 및 공정으로 인한 변화가 없었으며, 방치 시에도 층 분리 등의 현상이 발생하지 않았음. 이에 음료 타입 또는 젤리 등의 적용하여 안정성을 확인하고 있음.
- 음료 및 젤리 등에 클로렐라(엽록소) 대한 2.4 mg 이상 처방하여 피부 건강, 항산화 내용을 표현을 가능하게 하여 샘플을 제작하였음. 샘플 제작 시 10% 수용성클로렐라를 중량대비 12g 처방을 하여 기능성 표시를 할 수 있는 함량에 맞춰 제조하였음. 이후 제품을 방치를 조건 별로 다르게 방치 및 보관하여 클로렐라에 대한 안정성을 확인하고 있음.
- 2차년에 진행하였던 마이크로인캡슐레이션을 통한 나노 입도를 가진 클로렐라를 이용하여 젤리 및 음료 제품에 항산화 및 피부건강에 대한 클레임을 표현하기 위해 2.4mg 이상 적용하여 안정성 테스트를 진행하였고 안정성 테스트 결과 적용 제품

에 대한 안정성은 확보가 되었으나, 클로렐라의 특유의 이취와 성상으로 인하여 회사 내부 인원을 통한 관능평가 확인 결과, 패널들의 전반적인 의견이 적용 제품에 대한 상품성이 떨어지는 것을 확인하였음.

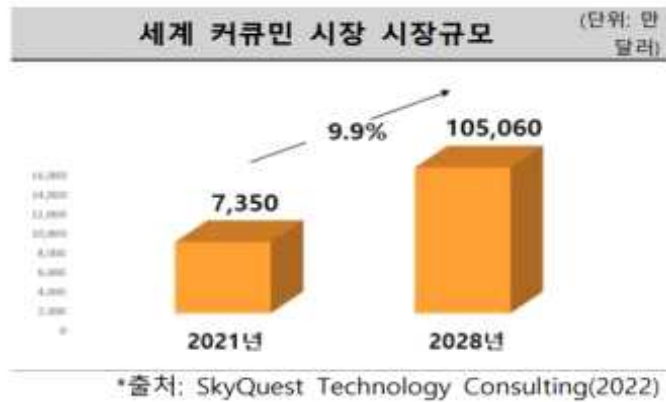


그림 17. 세계 커큐민 시장 규모 자료

- 위의 결과를 토대로 제품 적용 시 시장에서 관심이 있는 원료로 재선정하였으며 현재 고시형 건강기능식품원료는 아니지만 소비자들이 많이 알고 있고 현재 건강기능식품원료 중 시장에서 가장 관심이 많은 부분인 면역력 개선, 항산화 등의 효과에 대한 논문을 다수 가지고 있는 커큐민을 선택하였음.
- 또한 커큐민은 현재 고시형 건강기능식품원료로 등록되지 않았지만 커큐민의 원물인 강황이 2023년 강황추출물로서 개별인정형으로 등록되었음.
- 그리고 현재 출시되고 있는 제품들을 확인한 결과 현재 시장에서 커큐민은 다른 건강기능식품이나 일반식품의 부원료로도 많이 사용되고 있음. 또한 커큐민 광고한 제품의 판매가 시장에서 꾸준히 이뤄지고 있는형태 커큐민 원료의 특성인 불용성의 이유로 균질화 등의 되지 못하여 일부 제품군들에 적용하기 어려운 점이 있음. 커큐민을 적용 할 수 없는 부분을 개선하기 위해 수용성커큐민을 진행하기로 하였으며 이에 2차년에 진행했던 커큐민에 대한 예비 실험과 수용성 클로렐라 및 프로폴리스에 적용에 이용 된 선행 연구기술을 바탕으로 커큐민도 마찬가지로 원료의 수분산성에 대한 안정성을 확인하기 위해 커큐민 함량 등을 조정하여 테스트를 진행하였고 테스트 적용 시 아라비아검, 글리세린 등의 유화제 및 부형제를 사용하여 수분산성의 안정성을 증가시켰음
- 또한, 커큐민 함량에 따른 안정성을 확인하기 위해 커큐민의 함량을 각 5%, 12%, 20% 다르게 하여 안정성을 확인을 하였으며 확인 결과 커큐민의 수분산성에 대한 안정성이 확인 된 범위는 5%~ 12% 함량에서 안정성이 확인되었음. 함량이 20%인 경우 수분산성의 안정성이 떨어져 커큐민이 하단에 침전 되는 것을 확인하였음. 또한 커큐민 함량이 10%보다 아래인 경우 제품에 예상 처방량이 많아 제품 적용 시에 어려울 것으로 사료되어 커큐민 함량 12%에 맞춘 배합비를 설정하여 시생산을 진행하였음.

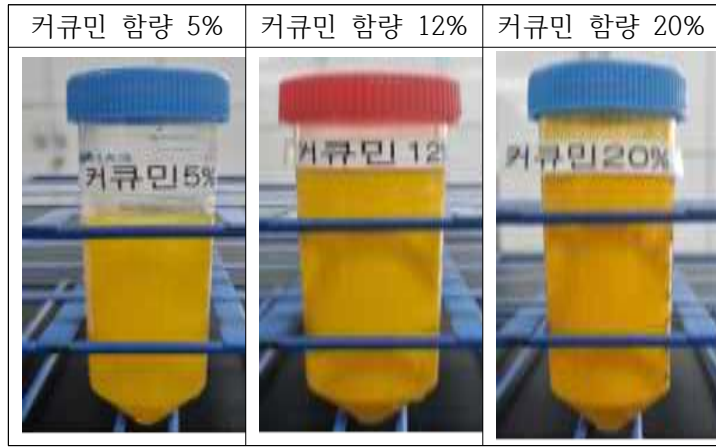


그림 18. 커큐민 함량 별 안정성 확인

- 수용성 클로렐라 시생산과 수용성 커큐민 실험을 진행했을 때 유사한 공정인 ① 원료를 계량하여, ② 1h 이상 100 rpm의 속도로 1차 혼합 가공을 통해 물리적으로 분산 혼합을 시키고 난 후 ③ 1차 혼합 된 원료를 호모믹서를 이용하여 물속에서 안정적으로 분쇄와 분산이 될 수 있도록 2h이상 200rpm의 속도로 2차 혼합을 진행 하며, ④ 분쇄: 나노가공 공정을 진행하는데 입경 0.3~1mm 지르코니아 볼을 가공원료에 5배 정도를 투입하여 주원료를 작게 분쇄하여 입자크기를 나노 사이즈에 맞게 가공하며 rpm은 150으로 설정하여 12h 동안 분쇄를 한다. ⑤ 분쇄된 입자를 유화제로 코팅하며 입자끼리 달라붙는 현상을 방지 ⑥ 여과 필터를 통해 액상을 필터를 진행, 액상 필터 작업 후 ⑦ 살균공정(60℃ 30분) 후 포장까지 하여 제품화 제조공정을 설정하고 이에 따라 수용성커큐민 시생산을 진행하였음
- 시생산 된 커큐민을 이용하여 일반 시중에 판매되고 있는 제품들의 유형 중 원료 특성으로인하여 적용하지 못했던 액상, 스틱젤리, 구미젤리 등에 수용성 커큐민을 적용하여 제품 적용 시에도 커큐민에 대한 안정성과 균질성, 제품 품질 문제 등이 문제가 없는지 확인을 하기 위한 샘플을 제조하여 안정성 실험을 진행하였음.



그림 19. 수용성커큐민 적용 실험

- 수용성 커큐민을 첨가한 스틱젤리, 구미, 음료의 성상 및 안정성을 확인한 결과 성상의 경우 커큐민의 원료의 특성으로 인하여 진한 노란색의 색상을 띄게 되는 문

제점이 있었지만 이 문제는 과일 등의 컨셉으로 해결방안을 생각하였으며 안전성 및 균질성을 확인 위하여 커큐민의 함량을 공인분석 한 결과 이론치의 커큐민 함량과 공인분석의 결과 차이가 없어 스틱젤리 및 액상 등에서 침전, 균질성, 안정성 등의 문제점이 발견되지 않아 일반 식품 유형에 적용 가능성을 확인하였음.

- 이러한 완제품 적용 실험을 통해 수용성 커큐민 적용에 대한 안정성을 확인한 결과를 토대로 시생산 된 커큐민 기준으로 품질 기준규격을 설정하였고, 커큐민의 품질규격을 설정하기 위해 대해 미생물 검사, 커큐민 함량, 입도 분석을 진행하였음. 분석결과 커큐민함량은 12% 이상, 커큐민의 입도크기는 330 nm로 측정되었으며, 미생물검사 또한 음성으로 분석되어 이를 바탕으로 수용성커큐민의 품질규격을 설정하였고, 제조 공정에 맞춰 수용성커큐민의 품목제조신고를 신청하였으며 시생산 된 제품으로 다시 한번 품질 규격을 확인하면서 이에 따른 수용성커큐민의 제조공정과 품질규격을 확립하였음.



시험 성적서

Test Report

성적서번호 : 제 2309S0144 호
접수번호 : 2309S0144
의뢰일자 : 2023-09-11

- 의뢰자 : 최동규
- 기관명 : (주)나온스
- 주소 : 경기 화성시 남양읍 현대기아로 195-11 (주)나온스
- 연락처 : --
- 시료설명 : 커큐민 함량 12% 액상제품
- 시험 기간 : 2023-09-13 ~ 2023-09-18
- 시험 방법 및 분석장비 : 한국과학기술연구원 자체 방법 / HPLC
- 시험 결과 : 결과 별첨




작성자 성명: 차주완	기술책임자 성명: 차주완
--	--

가) 본 성적서의 시험결과에 의뢰자가 제시한 시료에만 한정됩니다.
 나) 본 시험성적서는 광고, 선전, 홍보 및 법적쟁송의 수단으로 사용할 수 없습니다.
 다) 본 성적서 진위확인이 필요한 경우, Tel02-958-4949로 연락주시면 확인하여 드립니다.



2023. 09. 18.

한국과학기술연구원 특성분석-데이터센터장 

한국과학기술연구원 특성분석-데이터센터
 주소: 서울특별시 성북구 화랑로 14길5 (우)02792 전화: 02-958-5959,4949 홈페이지: <http://aac.kist.re.kr>

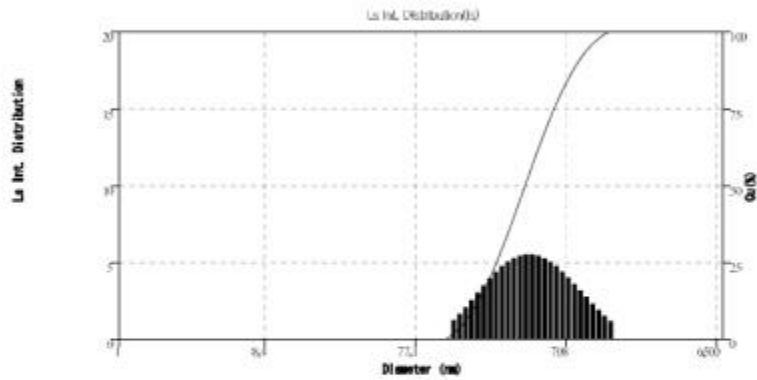
성적서번호 : 2309S0144

	시험 결과			
시료명(구분)	단위	시험항목 및 시험결과		비고
액티브솔루션C	wt%	Curcumin	13.12	

<< Analysis Result of Size Distribution >>

La Int. Distribution			(7/31/24)
User : (P)182	GroupNo : 1,252	Repeat Num : 1(1/1)	
Date : 2023/09/22	Data Name : 1821252182C		
Time : 8:41:08	Comment :		

ELSD 5/24.1 / 1.82)



//Histogram Peak(Contri.)//			//Analysis Result of Cumulant (Conventional Method)//		
La Int.(%)			Diameter (d)	: 330.6	(nm)
Peak	Apex(nm)	±Std	Polydispersity (p.w.)	: 2.965e-001	
1	476.5	± 275.7	Diffusion Const. (D)	: 1.4002e+000	(cm ² /sec)
2			// Measurement Condition //		
3			Temperature	: 25.0	(deg.)
4			Solvent Name	: Water	
5			Refractive Index	: 1.3383	
Average	476.5	± 275.7	Viscosity	: 0.8902	(cP)
Residual	: 5.400e-005	(Good)	Scattering Intensity	: 10045 (40-35.33%)	

그림 22. 수용성 커큐민 입도 분석 결과



수용성커큐민 한글표시사항

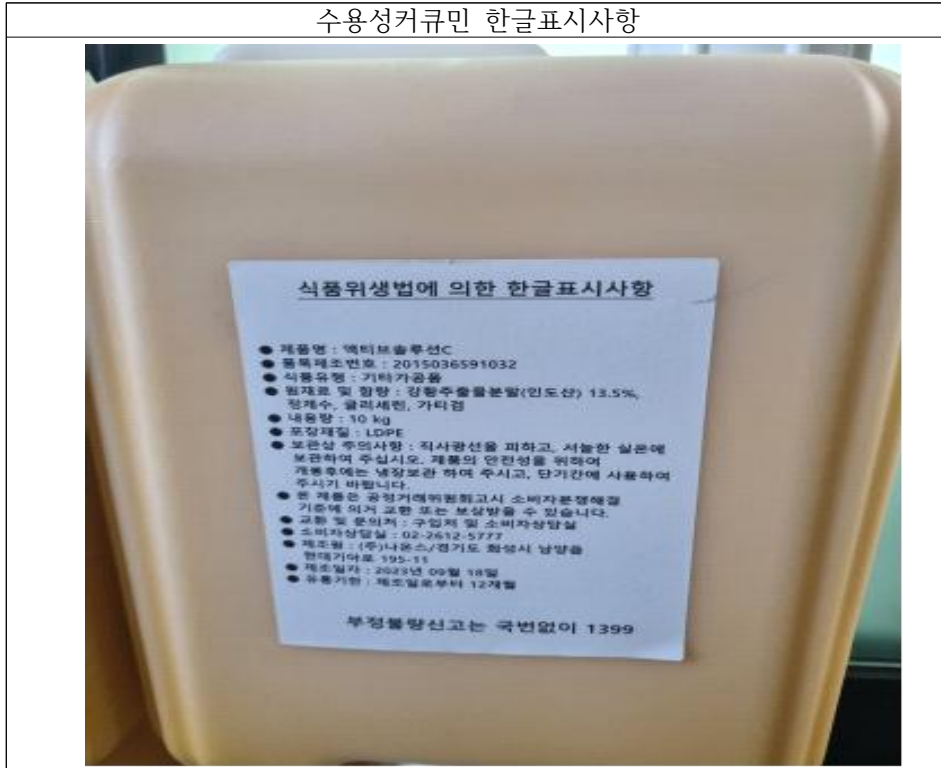


그림 23. 수용성 커큐민 성상 및 표시사항

- 이러한 수용성 커큐민을 이용하여 마케팅을 위한 수용성 커큐민 브로셔 및 제품 적용 사례, 안정성 데이터 등을 완제품화를 위한 마케팅 자료를 만들어 시장에서 경쟁력을 가진 수용성 커큐민의 판매 계획을 준비하고 있음.

neoQmin[®]이란?

neoQmin[®]은 수(水) 분산성을 높은 curcumin 제형으로 흡수가 빠르고 실험도록 설계되었습니다. neoQmin[®]은 마이크로캡슐화 기술을 기반으로 만들어지며 다양한 분포제형에 사용될 수 있으며 안전성은 확인되었습니다.

Curcumin이란?

Curcumin은 다양한 식물에서 발견되는 밝은 노란색 화합물이며, 그것은 전차 (Zingiberaceae)의 열대인 식물(Curcuma longa)의 주요 curcuminoid이며, Curcumin은 주로 보충제, 화장품, 식품 및 식품 포장에 사용됩니다.

Micro-encapsulation 기술

마이크로 캡슐화 (micro-encapsulation)는 작은 입자 또는 작은 분방들이 코팅으로 둘러싸여있어 많은 유용한 특성을 가진 작은 캡슐을 제공하는 과정이며, 일반적으로 식물 성분, 효소, 세포 또는 기타 물질을 마이크로 미터 크기 이하로 혼합하는 데 사용됩니다.



그림 1. Micro-encapsulation 프로세스

neoQmin[®] 장점

1. 확인된 안전성
2. 높은 수 분산성
3. curcumin의 더 빠른 흡수
4. 긴 보호와 같은 높은 생리 활성 가능

안정성 평가

neoQmin[®]의 안전성은 다음의 독성 시험을 통해 이미 확인되었습니다.

- 단일 연구 독성 시험
- 소독 시험의 경구 투여
- 면역계 수치 검사
- 돌연변이 검사

높은 수(水) 분산성

마이크로 캡슐화 기술을 기반으로 하는 neoQmin[®]은 다른 curcumin 제형에 비해 훨씬 우수한 수(水) 분산성을 보였습니다.



그림 2. 수 분산성 비교
(1) 일반형, (2) 수용성 커큐민, (3) neoQmin[®]

neoQmin[®]의 흡수율 평가

(1) non-reverted sac캡슐 이용한 in vitro 흡수율 평가



그림 3. 흡수율 평가
Sac (MW 105)와 Sac (MW 400)의 비가환된 농도 (MCC): 일반 커큐민, (neoQmin): neoQmin[®]
축척 / Y-axis: Food % 2018.3410: 410-417

그림 24. 수용성 커큐민 마케팅 브로셔

- 그리고 “기능성원료의 일반식품 적용을 위한 연구” 과제를 통해 개발 된 수용성 커큐민에 대하여 마케팅 활용에 이용 및 회사의 지적재산권을 보호를 위한 “수분 산성 및 안정성이 개선된 커큐민 조성물 및 이의 제조방법” 에 관하여 특허출원을 진행하였음.
- 수용성 커큐민의 관한 특허와 지속적인 연구 및 개발을 통한 수용성 커큐민의 다양한 제형 적용 사례 및 마케팅에 활용할 수 있는 데이터 등을 만들어 더욱 더 경쟁력을 가진 제품을 만들고 위의 과제에서 개발 기술을 바탕으로 점진적으로 기능성 원료의 일반식품 적용에 대한 방안을 지속적으로 연구하면서 일반식품 제형에 사용하기 어려운 기능성 원료를 일반 식품에 사용 할 수 있도록 다양한 기능성 원료 소재에 적용할 예정임.

출원 번호 통지서

출원 일자 2023.10.11
특기사항 심사청구(유) 공개신청(무)
출원 번호 10-2023-0134787 (접수번호 1-1-2023-1110037-02)
(DAS접근코드8C05)
출원인 명칭 (주)네오크레마(1-2008-039713-8)
대리인 성명 벽가람(9-2007-000606-8)
발명자 성명 한기수 김나리 조민호
발명의 명칭 수분산성 및 안정성이 개선된 커큐민 조성물 및 이의 제조방법

특 허 청 장

<< 안내 >>

1. 귀하의 출원은 위와 같이 정상적으로 접수되었으며, 이후의 심사 진행상황은 출원번호를 이용하여 특허로 홈페이지(www.patent.go.kr)에서 확인하실 수 있습니다.
2. 출원에 따른 수수료는 접수일로부터 다음날까지 통보된 납입영수증에 성명, 납부자번호 등을 기재하여 가까운 은행 또는 우체국에 납부하여야 합니다.
※ 납부자번호 : 0131(기관코드) + 접수번호
3. 귀하의 주소, 연락처 등의 변경사항이 있을 경우, 즉시 [특허고객번호 정보변경(경장), 정정신고서]를 제출하여야 출원 이후의 각종 통지서를 정상적으로 받을 수 있습니다.
4. 기타 심사 절차(제도)에 관한 사항은 특허청 홈페이지를 참고하시거나 특허고객상담센터(☎ 1544-8080)에 문의하여 주시기 바랍니다.
※ 심사제도 안내 : <https://www.kipo.go.kr> 지식재산제도

그림 25. 특허 출원 통지서

■ 제3협동기관 (인테이크)

1) 기능성 원료 29종 규격 및 공급가능 규격 비교

○ 29종 기능성 원료의 기능성 및 섭취량 정리

- 기능성 원료별 규격, 공급 업체, 1일 섭취량 조사 및 정리 (표1).

표1. 29종 기능성 원료의 기능성 원료 제반 정보

순번	공급업체	기능성 원료 또는 성분	기능성 내용	1일 섭취량 기준
1		인삼	면역력 증진·피로 개선·뼈건강 개선에 도움을 줄 수 있음	●진세노사이드 Rg1과 Rb1의 합계로서 3~80mg
2		홍삼	면역력 증진·피로개선·혈소판 응집억제를 통한 혈액흐름·항산화·갱년기 여성의 건강에 도움을 줄 수 있음	●면역력 증진·피로개선에 도움을 줄 수 있음: 진세노사이드 Rg1, Rb1 및 Rg3의 합계로서 3~80 mg ●혈소판 응집억제를 통한 혈액흐름·항산화에 도움을 줄 수 있음: 진세노사이드 Rg1, Rb1 및 Rg3의 합계로서 2.4~80 mg ●갱년기 여성의 건강에 도움을 줄 수 있음: 진세노사이드 Rg1, Rb1 및 Rg3의 합계로서 25~80 mg
3		클로렐라	피부건강·항산화·면역력 증진·혈중 콜레스테롤 개선에 도움을 줄 수 있음	●피부건강·항산화에 도움을 줄 수 있음: 총 엽록소로서 8~150 mg ●면역력 증진·혈중 콜레스테롤 개선에 도움을 줄 수 있음: 총 엽록소로서 125~150 mg
4		스피루리나	피부건강·항산화·혈중 콜레스테롤 개선에 도움을 줄 수 있음	●피부건강·항산화에 도움을 줄 수 있음: 총 엽록소로서 8~150 mg ●혈중 콜레스테롤 개선에 도움을 줄 수 있음: 총 엽록소로서 40~150 mg
5		프로폴리스 추출물	항산화·구강에서의 항균작용에 도움을 줄 수 있음 ※구강 항균작용은 구강에 직접 접촉할 수 있는 형태	●총 플라보노이드로서 16~17 mg
6		구아바잎 추출물	식후 혈당상승 억제에 도움을 줄 수 있음	●총 폴리페놀로서 120 mg
7		바나바잎 추출물	식후 혈당상승 억제에 도움을 줄 수 있음	●코로솔산으로서 0.45~1.3 mg
8		EPA 및 DHA 함유 유지	혈중 중성지질 개선·혈행 개선·건조한 눈을 개선하여 눈 건강에 도움을 줄 수 있음	●혈중 중성지질 개선·혈행 개선에 도움을 줄 수 있음: EPA와 DHA의 합으로서 0.5~2 g ●건조한 눈을 개선하여 눈 건강에 도움을 줄 수 있음: EPA와 DHA의 합으로서 0.6~1 g
9		매실추출물	피로 개선에 도움을 줄 수 있음	●구연산으로서 1~1.3 g
10		NAG	관절 및 연골 건강 피부보습에 도움을 줄 수 있음	●관절 및 연골건강에 도움을 줄 수 있음: N-아세틸글루코사민으로서 0.5~1g ●피부보습에 도움을 줄 수 있음 : N아세틸글루코사민으로서 1g
10		구아검/구아	혈중 콜레스테롤 개선·식후 혈	●혈중 콜레스테롤 개선·식후 혈

순번	공급업체	기능성 원료 또는 성분	기능성 내용	1일 섭취량 기준
		검가수분해물	당상승 억제·장내 유익균 증식·배변활동 원활에 도움을 줄 수 있음	당상승 억제·배변활동 원활에 도움을 줄 수 있음: 구아검/구아검가수분해물로서 9.9~27 g ●장내 유익균 증식에 도움을 줄 수 있음:구아검/구아검가수분해물로서 4.6~27 g
11		난소화성말토덱스트린	식후 혈당상승 억제·혈중 중성지방 개선·배변활동 원활에 도움을 줄 수 있음	●식후혈당 상승 억제에 도움을 줄 수 있음 난소화성말토덱스트린 식이섬유로서 11.9~30g(액상원료는 11.6~44g) ●혈중 중성지방 개선에 도움을 줄 수 있음 : 난소화성말토덱스트린 식이섬유로서12.7~30g(액상원료는 12.7~44g) ●배변활동에 원활한 도움을 줄 수 있음 : 난소화성말토덱스트린 식이섬유로서 2.5~30g(액상원료는 2.3~44g)
12		대두식이섬유	혈중 콜레스테롤 개선·식후 혈당상승 억제·배변활동 원활에 도움을 줄 수 있음	●혈중 콜레스테롤 개선·배변활동 원활에 도움을 줄 수 있음: 대두 식이섬유로서 20~60 g ●식후 혈당상승 억제에 도움을 줄 수 있음: 대두 식이섬유로서 10~60 g
13		목이버섯식이섬유	배변활동 원활에 도움을 줄 수 있음	●목이버섯식이섬유로서 12 g
14		밀식이섬유	식후 혈당상승 억제·배변활동 원활에 도움을 줄 수 있음	●식후 혈당상승 억제에 도움을 줄 수 있음: 밀 식이섬유로서 6~36 g ●배변활동 원활에 도움을 줄 수 있음: 밀식이섬유로서 36 g
15		보리식이섬유	배변활동 원활에 도움을 줄 수 있음	●보리 식이섬유로서 20~25 g
16		옥수수겨식이섬유	혈중 콜레스테롤 개선·식후 혈당상승 억제에 도움을 줄 수 있음	●옥수수겨식이섬유로서 10 g
17		이눌린/치커리추출물	혈중 콜레스테롤 개선, 식후 혈당상승 억제·배변활동 원활에 도움을 줄 수 있음	●혈중 콜레스테롤 개선·식후 혈당상승 억제에 도움을 줄 수 있음 : 이눌린/치커리추출물:식이섬유로서 7.2~20g ●배변활동 원활에 도움을 줄 수 있음:이눌린/치커리추출물식이섬유로서 6.4~20g
18		차전자피식이섬유	혈중 콜레스테롤 개선·배변활동 원활에 도움을 줄 수 있음	●혈중 콜레스테롤 개선에 도움을 줄 수 있음: 차전자피 식이섬유로서 5.5 g 이상 ●배변활동 원활에 도움을 줄 수 있음: 차전자피 식이섬유로서 3.9 g 이상
19		호로파종자식이섬유	식후 혈당상승 억제에 도움을 줄 수 있음	●호로파종자 식이섬유로서 12~50 g
20		알로에 겔	피부건강·장건강·면역력 증진에 도움을 줄 수 있음	●총다당체 함량으로서 100~420 mg
21		프락토올리고당	장내 유익균 증식 및 배변활동 원활에 도움을 줄 수 있음	●프락토올리고당으로서 3~8 g
22		프로바이오틱스	유산균 증식 및 유해균 억제·배변활동 원활·장건강에 도움을 줄 수 있음	●100,000,000~10,000,000,000 CFU
23		홍국	혈중 콜레스테롤 개선에 도움을	●총 모나콜린 K로서 4~8 mg

순번	공급업체	기능성 원료 또는 성분	기능성 내용	1일 섭취량 기준
			줄 수 있음	
24		대두단백	혈중 콜레스테롤 개선에 도움을 줄 수 있음	● 대두단백으로서 15g 이상
25	●	폴리감마글루탐산	체내 칼슘흡수 촉진에 도움을 줄 수 있음	● 폴리감마글루탐산으로서 60~70 mg
26	●	마늘	혈중 콜레스테롤 개선에 도움을 줄 수 있음	● 마늘 분말로서 0.6~1.0
27	●	라피노스	장내 유익균의 증식과 유해균의 억제 도움을 줄 수 있음, 배변활동을 원활히 하는데 도움을 줄 수 있음	● 라피노스로서 3~ 5g
28		분말한천	배변활동에 도움을 줄 수 있음	● 분말한천으로서 2~5 g (총 식이섬유로서 1.6~4.0 g)
29		유단백가수분해물	스트레스로 인한 긴장 완화에 도움을 줄 수 있음	● 유단백가수분해물로서 150 mg (알파에스1카제인(αS1-casein) (f91-1 00)으로서 2.7~4.1 mg)

※ 공급 및 제조업체 (●: 네오크레마, ▲: 삼양사, ■: 대상)

○ 기능성 원료 도입 일반 식품 관련 정책 팔로우 업(21년 8월 기준)

- 36건의 개별 인정형 원료 추가적으로 검토중
- 23년 국가클러스터내 기능성 원료 은행 사업 추진하여 기능성 원료의 생산 보급 지원
- 기능성 원료 성분 이외 타 원재료에서 기인하는 성분의 경우 각각 구분해 표시 EX) '대두식이섬유 00g(식이섬유 00g)' 으로 따로 표시
- 발효유에 대한 장건간, 위건강 기능성(24년까지 유효, 이후 실증 필요)
- 상한선에 대한 섭취 기준 존재
- 2024년까지 숙취 해소 기능성 원료 도입
- 1개당 광고 가능한 원료 및 기능의 개수에는 제한이 없음
- 별도의 활자크기 등의 규격은 제정하지 않음(표시기준 준용)
- 안정성을 위해 GMP설비 생산된 원료 공급의 내용은 변하지 않을 예정

○ 해외 일반식품 기능성 원료 도입 시장 조사(표 2)

- 미국, 유럽의 사례조사 결과 일본의 경우가 가장 유사한 것으로 파악
- 일본은 한국과 유사하게 식품을 특정보건용식품, 영양기능식품, 기능성표시식품으로 구분하여 운영하고 있으며, 기능성 표시 일반 식품은 일본의 기능성표시식품과 유사
- 일본의 온라인상에서 최근 판매되고 있는 제품 중 건강 기능성 표시를 하고 있는 제품을 유형과 원료에 따라 조사 진행(SNS, 일본 아마존, 포탈 사이트 등)
- 완료 데이터 기반으로 한국에 도입 가능 여부 파악(29종 원료 사용, 허용 제품 형태)

표2. 일본 시장 기능성 도입 일반식품 사례

유형	제품명	기능성 원료	식약처 지정 29종 원료 여부
HMR	FANCL レトルト食後の血糖値や中性脂肪が気になる方のごはん	난소화성 펩트린 (식이섬유)	○

HMR	ふるさと納税 機能性 玄うどん	난소화성 텍스트린 (식이 섬유)	O
HMR	DHCカラダ対策ファイバー・イン・カレー W (ダブル)	난소화성 텍스트린 (식이 섬유)	O
HMR	粒こんにゃくのヘルシーリゾット	난소화성 텍스트린 (식이 섬유)	O
HMR	細切りざるうどん	난소화성 텍스트린 (식이 섬유)	O
HMR	大トロいわしフィレ	DHA 260mg, EPA 600mg	O
HMR	美穀菜 しっかり満足トマトスープ	난소화성 텍스트린 (식이 섬유) 5g	O
HMR	DONBURI (ドンブリ) 亭中華丼	난소화성 텍스트린 (식이 섬유) 5g	O
발효유	ルテイン のむヨーグルト レモン	루테인 6mg	X
발효유	ヤクルト 400 LT	L.카세이 YIT 9029(시로타주) 400 억개	X
분말	おからパウダー プレーン+ (プラス)	블랙 진저 유래 폴리 메 톡시 플라본 12mg	X
분말	すっきり ちこり茶	치커리 유래 이눌린 5.2g	X
분말	matsukiyo LAB 飲む体脂肪サポートアサイースムージー	취의 꽃 유래 이소 플라본	X
분말	matsukiyo LAB 機能性ソイプロテインスムージー	로즈힙 유래 티리로사이드	X
분말	ディーエイチシー カラダ対策茶W 20日分 20包	난소화성 텍스트린 (식이 섬유)	O
분말	小林製薬 毎日たっぷりとれるイージーファイバー 280 g	난소화성 텍스트린 (식이 섬유)	O
분말	からだにユグレナ Green Powder スティック 30本入	클로렐라	O
분말	FANCL ケール健康茶	난소화성 텍스트린 (식이 섬유)	O
분말	DHCカラダ対策茶W	난소화성 텍스트린 5g	X
소시지	ニッスイ EPA + DHA ソーセージ	EPA 및 DHA 함유 유지	O
스낵	マイクポップコーン プラスファイバーうすしお味	난소화성 텍스트린 (식이 섬유)	O

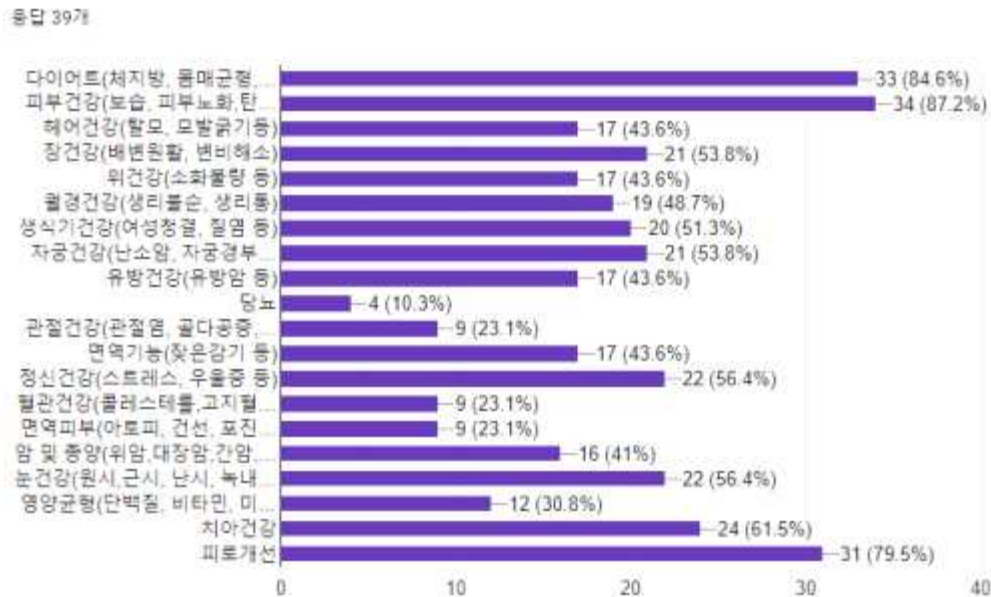
어육소시지	毎日これ1本EPA (イーピーエー) + DHA (ディーエイチエー) ソーセージ50	DHA 400mg, EPA 650mg	O
음료	マンナン GO	난소화성 텍스트린 (식이섭유)	O
음료	株式会社 機能性食品開発研究所 甦る約束	흑마늘 추출물, 인삼 추출물 (환원 전분 당화물, 인삼 추출물)	△
음료	森永 おいしい 青汁	난소화성 텍스트린 (식이섭유)	O
음료	サントリー伊右衛門プラス おいしい糖質対策, サントリー黒烏龍茶	난소화성 텍스트린 (식이섭유)	O
음료	ゴマペブ茶	참깨펩타이드(고마펩타이드) 0.16mg	X
음료	梅 Cool(クール)	매실 유래 구연산 2,700mg	O
음료	アサヒ「ウィルキンソンタンサン」エクストラ レモン	난소화성 텍스트린 (식이섭유) 5g	O
젤리	たらみ おいしい蒟蒻ゼリー PREMIUM+ ぶどう&マスカット	난소화성 텍스트린 (식이섭유)	O
젤리	サントリー ふる肌蒟蒻アロエ&白ぶどうゼリー	알로에 겔	O
젤리	味覚糖 機能性表示食品 リセットうめグミ	매실 추출물 (구연산)	O
주류	キリン カラダ FREE (カラダフリー)	난소화성 텍스트린 (식이섭유)	O
초콜렛	LIBERA(리베라) <ミルク>	난소화성 텍스트린 (식이섭유) 5g	O
캔디	糖質90%オフのど飴	이눌린	O
탄산 음료	アサヒ スタイルバランス グレープフルーツサワーテイスト	난소화성 텍스트린 (식이섭유)	O
통조림	35%減塩 中性脂肪を低下させる DHA+EPA860mg 含有 国産 さばみそ煮	EPA 및 DHA 함유 유지	O
페이스트	お年賀 ギフト 桃屋のいつもいきいき 30日分	마늘 추출물	△
환	富士フィルム メタバリアEX 40粒	사라시노루 1.0mg,	

		난소화성 텍스트린 (식이 섬유) 760mg, 에피 gallate 의 모노 글루코 실 루틴 1.8mg	O(난소화성 말토텍스트린)
환	ファンケル カロリミット 20回分 60粒	뽕잎 이미노슈가 : 1.75mg 키토산 : 100mg, 茶花사포닌 : 085mg	X

○ 도입대상 일반식품 제형 및 기능성 선정

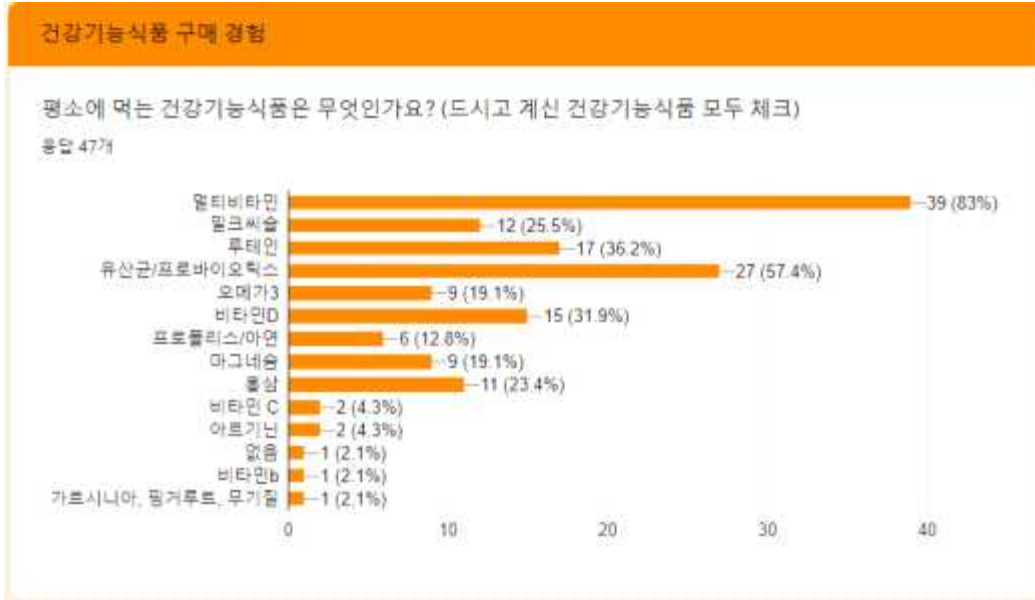
- 당기관의 소비자를 대상으로 한 소비자 조사를 통하여 건강기능성에 대한 소비자 필요 정보 취합.
- 20~30대 여성 대상 건강관련 고민 요소(39명 기준, 복수 응답 가능)(그림1.)를 파악하였을 때, 피부건강(34명), 다이어트(33명), 피로개선(31명), 눈건강(22명), 정신 건강(22명), 치아건강(24명), 장건강(21명), 생식기 건강(21명) 등이 관심을 많이 가지고 있는 건강 이슈로 파악.

그림 1. 20~30대 여성 39명 대상 관심 건강 기능성 소비자 조사



- 당사의 건강기능성 제품을 1회 이상 구매한 소비자를 대상으로, 평소에 자주 먹는 건강 기능성 원료(50명 기준, 그림 2.)에 대하여 진행된 소비자 조사의 결과, 응답자의 대부분(39명, 89%)이 멀티비타민을 기본적인 건강 기능성 원료로 생각하여 섭취하며, 유산균(27명, 58%) 또한 필수적으로 섭취해야하는 기능성으로 인식되고 있음을 확인. 루테인과 비타민D, 홍삼과 밀크시슬에 대한 응답도 높게 나왔는데, 이는 눈건강과 피로, 면역력에 대한 기능성에 대해 필요를 느낀다고 판단.
- 위의 두 소비자 조사를 통해 피로, 장건강 및 피부건강, 눈건강, 면역력등에 대한 소비자의 선호가 높은 것을 확인할 수 있으며, 다이어트의 경우는 일반적으로 건강 기능성보다는 미용과 관련된 이슈로 판단한다는 점을 알 수 있음. 또한, 여성 건강에 대한 기능성 원료는 상당히 한정적으로, 일반 식품에 적용가능한 것은 **피부건강, 피로개선, 눈건강, 장건강**에 대한 기능성 원료로 집중하여 제품 개발하는 것이 선호됨.

그림 2. 20~50대 소비자 47명 대상 주요 소비 건강 기능성 원료



- 당사 고객 대상으로 한 선호제형으로는 죽, 단백질 파우더, 음료(과채가공품 및 탄산), 스낵류(통밀쿠키, 과자류 등)가 선호되는 제형으로 응답되었으며, 기능성 원료의 가공적성을 고려하여, 젤리의 형태(곤약젤리), 탄삼음료(스파클링), 파우치형 죽(모닝죽) 등의 제품이 기능성 원료의 가공적성에 적합할 것으로 판단.

그림 3. 기능성 도입 일반 기능성 식품 예시(매실추출물/알로에겔+곤약젤리)



2) 일반식품 적용성 증진된 기능성 원료 개발

○ 기능성 원료 활용 일반 식품 적용 테스트

- 기능성 원료를 제품에 활용했을 때, 변화되는 물성과 제품의 변화를 확인함. 다양한 원료를 시험하였으나, 맛과 관능의 변화가 크고, 유통기한 내에 목표로 하는 기능성이 유지되지 않는 이슈가 있어, 실험의 결과 가열과 냉각, 가공공정에 따른 변화가 상대적으로 적은 프락토올리고당과 구아바잎추출물을 활용하여 실험을 진행.
- 실험의 대상 품목은 기존의 식품이 아닌 새로운 카테고리의 제품을 테스트하는데 활용하여, 제품의 컨셉과 기능성이 시너지를 극대화할 수 있는 식물성 대체육 제품과 밀가루를 대신할 수 있는 그란 바나나 파우더에 적용함

그림 4. 기능성 도입 일반 식품 대상 제품(그린바나나 파우더)



- 구아바잎 추출물의 경우 파우더 제형으로 개발되어 있으면서, 다른 기능성 원료에 비하여 소량만 사용함으로써, 기능성을 표시할 수 있다는 장점이 있으며, 식후 혈당상승 억제에 도움을 줄 수 있는 기능성이 보고되어있음. 따라서, 제품으로 활용하기에는 파우더 형태의 제품이 가장 적합할 것이라고 판단.
- 그린바나나 경우 파우더 제형으로 제품이 개발 가능하며, 수분을 잘 흡수하며, RS2형 저항전부와 식이섬유가 많아서 소화가 잘되지 않는 전분류로서 기름을 흡수하고 잡는 기능이 강하여, 같은 음식이라도 관능적으로 기름이 덜 느껴지게 만들어 줄 수 있다는 장점이 있어, 해당 기능성 제품에 적용하기에 적합하다고 판단함.
- 기능성 원료인 구아바 잎 추출물(식후 혈당 상승 억제에 도움을 줄 수 있음)과 GI 지수가 낮은 전분 소재인 그린바나나를 활용하여, **식후 혈당 상승의 억제에 도움을 줄 수 있는 밀가루 대체 소재**를 개발하는 것을 목표로 함.

그림 5. 기능성 도입 일반 식품 대상 개발 배합비 테스트



- 기능성 원료를 활용하여 개발한 프리믹스 제품을 활용하여 다양한 시제품을 개발함으로써, 기능성 원료 투입으로 인한 물성의 변화를 확인하였으며, 베이커리 제품에 적용결과 기존의 일반식품과 기능성 성분을 포함한 제품의 물성 및 관능 차이가 크지 않음을 확인.

그림 6. 기능성 도입 일반 식품 대상 개발 시제품(개발 활용-파운드 케익/부침개)



- 제품 개발 시 기능성 원료에 영향을 줄 수 있는 가열과 냉각 등을 최소화 하는 공정을 설계하여 시제품을 개발함.(계량>투입>혼합 순의 단순한 공정 설계) 이를 통해 제품화를 진행하였으며, 판매 및 22년 연내에 출시되어 마케팅과 함께 판매를 진행하였음.
- 구매자의 반응은 그린바나나라는 특이소재가 주는 기능과 밀가루 글루텐이 없다는 점이 소구되는 것을 확인할 수 있었고, 소비자 후기 분석을 통해 한국 소비자에게는 글루텐이 가지는 알려지 반응과 복부팽만감이 부정적으로 작용하여 이를 피하고자 하는 필요가 있는 것을 발견하였음. 특히, 단순 과학적인 측면보다는 밀가루가 몸에 해롭고, 그 해로운 원인이 글루텐임으로 피해야한다는 인과가 명확하지 않은 반응을 하는 것을 확인할 수 있었음. 글루텐 프리 기능성 제품을 개발할 때는 단순 기능 이상으로, 건강에 대한 부분이 반영된다는 점을 고려하여 제품화가 필요할 것.
- 기능성 원료를 활용하여 개발한 프리믹스 제품을 활용하여 다양한 시제품을 개발함으로써, 기능성 원료 투입으로 인한 물성의 변화를 확인하였으며, 베이커리 제품에 적용결과 기존의 일반식품과 기능성 성분을 포함한 제품의 물성 및 관능 차이가

그림 8. 당류 저감 기능성 일반식품 물성 관련 비교



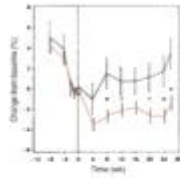
- 해당 연구 개발을 통하여 당류가 저감된 저칼로리 소스를 다종 개발하였으며, 이 중 2종을 제품화 진행하여 판매를 진행하였다.

그림 9. 당류 저감 기능성 일반식품 열량 비교

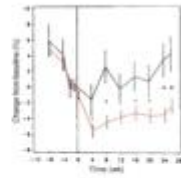


- 또한, 단순 당류 저감이 아닌 기능성을 가지고 있는 일반식품으로 L-아르기닌, 곡물 효소, 글루타치온, 비타민 C, 콜라겐, 히알루론산, 밀크세라마이드 등의 다양한 기능성 물질에 대한 연구를 진행하였으며 상온에서 유통기한 내에 품질의 확보가 가능하여, 이를 제품화 하여 판매를 진행하였다.

그림 10. 기능성 차전자피의 적용을 위한 기능성 확인 문헌 탐색



총 콜레스테롤 감소 ▼

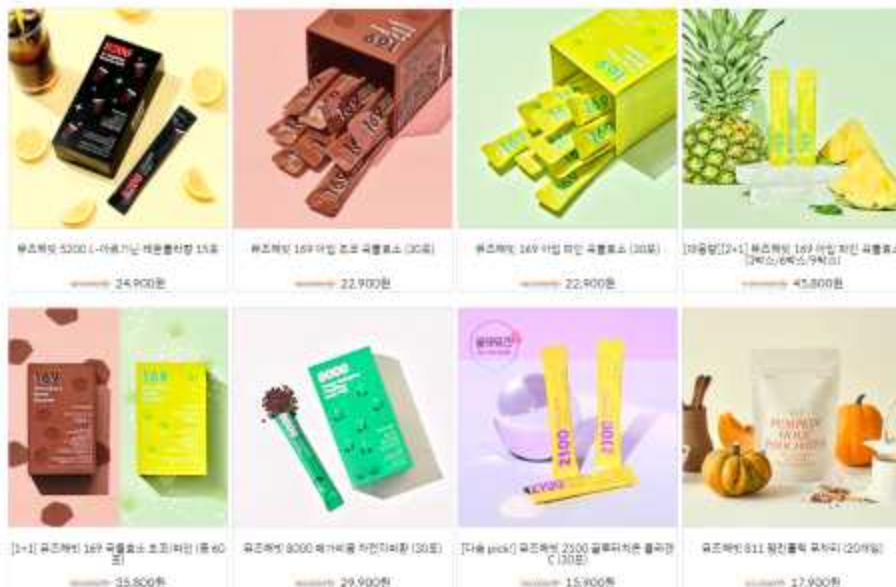


LDL 콜레스테롤 감소 ▼

[시험기간: 28일]
 [대상: 혈중 콜레스테롤 수치가 경계 위험 수준인 사람]
 출처: The American Journal of Clinical Nutrition 2000; 71:1433-8

- 제품의 경우 다양한 기능성이 유지되며 좋은 판매 데이터를 확보 하였고, 이를 바탕으로 소셜 미디어를 활용하여 다양하게 홍보하며 판로를 확장하고 있다.

그림 11. 위탁기관 기능성 일반식품 및 건강기능성 식품 일부



3. 연구개발과제의 수행 결과 및 목표 달성 정도

1) 연구수행 결과

(1) 정성적 연구개발성과

구분	세부과제명	정성적 연구개발 성과
[주관] CJ 제일제당	<p><1차년도></p> <ul style="list-style-type: none"> - 일반식품 적용 시 기능성 원료 특성(용해도/안정성/맛/물성) 분석 - 기능성 원료의 개선점에 따른 그룹화 및 데이터 구축 - 일반식품 제형 원료 배합 기술 개발 	<p><1차년도></p> <ul style="list-style-type: none"> - 기능성 원료의 일반식품 적용을 위한 수용성 테스트 및 냄새, 맛 테스트 진행 완료 - 일반식품에 적용하기 위한 기능성 원료의 간이 수용화 테스트를 통해 개선이 필요한 원료 확인. 향후 추가 연구를 통한 개선 후 적용성 증가 확인 예정 - 기능성 원료를 음료 형태의 제품에 적용하여 기능성분 안정성 확인 및 유통기한 테스트 진행 완료
	<p><2차년도></p> <ul style="list-style-type: none"> - 일반식품 적용을 위한 기능성 원료 선정 - 기능성 원료의 일반식품 적용성 Lab Scale 평가 - 기능성 원료의 일반식품 적용성 Pilot Scale 평가 	<p><2차년도></p> <ul style="list-style-type: none"> - 일반식품 적용을 위한 기능성 원료로 유산균, 구아바잎 추출물을 선정하였음 - 일반 식품 적용성 Lab Scale 평가를 위해 유산균은 분말 형태의 식품에 적용 후 유통기한을 확인하였으며, 구아바잎 추출물은 차음료에 적용 후 유통기한을 확인하였음 - 일반 식품 적용성 Pilot Scale 평가를 위해 실제 제품화 후 유통기한 설정 실험을 진행하여 안정성을 확인하였음
	<p><3 차년도></p> <ul style="list-style-type: none"> - 기능성 원료 적용 일반식품 제품 개발 - 기능성 원료 적용 일반식품 유통기한 설정 - 기능성 원료 적용 일반식품 기호도 조사 	<p><3차년도></p> <ul style="list-style-type: none"> - 기능성 원료(유산균, 구아바잎 등)가 적용된 음료 제품 개발을 완료하였음 - 기능성 원료를 적용한 제품 개발 후 기능성 원료의 안정성을 측정하여 유통기한 설정을 완료하였음 - 기능성 원료 적용 후 관능 평가를 진행하여 개발 제품의 기호도 조사를 완료하였음. 기존 유사 유형 제품 대비 소비자 관능평가 동등 수준 확보하였으며, 유통기한 설정실험 결과에 반영하였음
[제 1 협동] 한양대학교	<p><1차년도></p> <ul style="list-style-type: none"> - 기능성 원료 용해도 분석 및 평가체계 확립 - 기능성 원료 안정성 분석 및 평가체계 확립 	<p><1차년도></p> <ul style="list-style-type: none"> - 기능성 원료 29종의 용해도 분석 및 개선점 파악 완료. 기능성 원료 29종의 용해도 평가체계 확립 완료 - 기능성 원료 29종의 안정성 분석 및 개선점 파악 완료. 기능성 원료 29종의 안정성 평가체계 확립 완료

	<p><2차년도></p> <ul style="list-style-type: none"> - 용해도 증진을 위한 다양한 캡슐(파티클, 에멀전 등) 제조 및 특성 분석 - 안정성 증진을 위한 다양한 캡슐(파티클, 에멀전 등) 제조 및 특성 분석 - 용해도 및 안정성 증진을 위한 캡슐화 방법 선정 	<p><2차년도></p> <ul style="list-style-type: none"> - 프로폴리스 추출물 포집 캡슐 (나노파티클, 나노리포솜) 제조 및 용해도 분석 완료 - 프로폴리스 추출물 포집 캡슐 (나노파티클, 나노리포솜) 제조 및 안정성 분석 완료. 프로바이오틱스 포집 캡슐 (알지네이트 비드, 마이크로캡슐) 제조 및 안정성 분석 완료. 스피루리나 포집 캡슐 (다양한 다당류 첨가 고내부상 피커링 에멀전) 제조 및 안정성 분석 완료. 구아바잎 추출물 포집 캡슐 (나노파티클, 나노리포솜) 제조 및 안정성 분석 완료 - 프로폴리스 추출물 포집 캡슐의 용해도 및 안정성을 고려하여 나노리포솜 선정 완료. 프로바이오틱스 포집 캡슐의 안정성을 고려하여 마이크로캡슐 선정 완료. 스피루리나 포집 캡슐의 안정성을 고려하여 카라기난 첨가 고내부상 피커링 에멀전 선정 완료
	<p><3차년도></p> <ul style="list-style-type: none"> - 선정된 캡슐화 방법의 제조조건(피복물질, 기기조건 등) 분석 - 캡슐 사이즈에 따른 용해도 및 안정성 분석 - 용해도 및 안정성이 극대화된 최적 캡슐 제조조건 확립 	<p><3차년도></p> <ul style="list-style-type: none"> - 프로폴리스 추출물 포집 나노리포솜의 스테롤 종류 및 초음파 처리 시간에 따른 용해도 및 안정성 분석 완료. 프로바이오틱스 포집 캡슐의 포집물질 및 피복물질 (대두분리단백, 아라빅검)의 비율에 따른 포집효율 분석 완료. 스피루리나 포집 고내부상 피커링 에멀전의 유화제 농도에 따른 안정성 분석 완료 - 프로폴리스 추출물 포집 나노리포솜의 사이즈에 따른 안정성 분석 완료 - 프로폴리스 추출물 포집 나노리포솜의 사이즈 및 피복물질 농도에 따른 용해도 및 안정성이 극대화된 최적 조건 확립 완료. 프로바이오틱스 포집 캡슐의 피복물질 비율에 따른 포집효율이 극대화된 최적 조건 확립 완료 확립 완료
<p>[제 2 협동] 네오크레마</p>	<p><1차년도></p> <ul style="list-style-type: none"> - 기능성 원료 국내 및 해외 시장 조사 - 해외 경쟁사 비교 조사 및 제조 설비 보완 분석 	<p><1차년도></p> <ul style="list-style-type: none"> - 기능성 원료의 시장동향은 Covid 바이러스로 인하여 1.면역, 2.혈행, 3.항산화, 4. 피로회복 등의 기능성 원료들 시장이 성장하였으며 Covid로 인하여 시장의 확대 확인 - 경쟁사들은 크게 4가지의 나노화의 방법 이용. 1.에멀전화, 2.리포솜화,

		<p>3.나노입자, 4.나노분말, 각각의 사용 되는 장비는 다르며 평균적으로 나노입자 및 에멀전을 만든 후 분산방법을 초음파분산, 호모게나이저, 고압분산유화 장비를 이용. 원료 특성에 맞춰 시생산 테스트 후 설비 검토 및 보완</p>
	<p><2차년도></p> <ul style="list-style-type: none"> - 용해도 및 안정성 증진을 위한 다양한 캡슐 제조 pilot 생산 - Pilot 생산 캡슐의 용해도 및 안정성 평가 	<p><2차년도></p> <ul style="list-style-type: none"> - 시장 소비자의 관심이 면역 및 항산화 등에 대한 관심의 증가로 관련 기능성을 가진 건강기능식품 원료 중 프로폴리스와 클로렐라를 용해도 증진 및 다양한 제품에 적용을 하기 위해 나노파티클 공정을 통해 평균 입자가 750nm인 수용성프로폴리스 및 클로렐라를 pilot 제품을 생산하였음 - 수용성프로폴리스의 용해도 및 안정성을 확인하기 위해 기능성 표시식품의 필요하며, 필요량만큼 처방하여 탄산음료와 스틱젤리를 제작하였음. 보관 후 미생물 검사 및 이액현상을 확인하였으나 안정성을 확인함. 수용성클로렐라 기능성표시식품의 함량만큼 처방하여 안정성에 대하여 확인하고 있음
	<p><3차년도></p> <ul style="list-style-type: none"> - 용해도 및 안정성이 극대화된 최적 캡슐 제조공정 확립 - 기능성 원료 품목제조보고 및 품질관리기준 확립 	<p><3차년도></p> <ul style="list-style-type: none"> - 클로렐라와 프로폴리스의 경우 원료의 고유의 특성으로 인하여 완제품 적용에 어려움이 있어 시장성을 가진 신규 원료인 커큐민을 선정했고 2차년에 적용했던 기술을 커큐민에 적용하여 수용성 커큐민을 개발하였고 개발한 커큐민을 시생산 하여 완제품 및 원료 안정성 확인을 하였으며 확인 결과 원료 및 시제품의 안정성에 문제가 없어 외부 공인 분석 및 내부 분석을 통해 품질규격을 확립함 - 수용성 커큐민의 지속적인 연구와 개발을 위해 “수분산성이 안정된 커큐민 조성물 및 제조방법” 에 대한 특허를 출원하였고 완제품의 적용했던 사례 등을 토대로 완제품 소개 브로셔를 만들어 지속적으로 경쟁력을 가진 수용성 커큐민으로 판매 예정이며 적용했던 기술을 통하여 원료 특성으로 인하여 적용이 어려운 기능성 원료를 위의 기술을 접목하여 다양한 제형에 사용할 수 있는 기능성 원료를 개발 예정임

[제 3 협동] 인테이크	<p><1차년도></p> <ul style="list-style-type: none"> - 기능성 원료의 공급사별 규격 비교 - 해외 일반식품 기능성 원료 도입 시장 조사 - 도입 대상 일반식품 제형 및 기능성 선정 - 분말제형 제품 개발 	<p><1차년도></p> <ul style="list-style-type: none"> - 기능성 원료 취급업체 취합, 각 업체별 취급리스트 확보, 업체별 기능성원료 규격 확인, 기능성 원료 소비자 선호도 평가 진행 - 해외 시장 조사를 위한 타겟 시장 조사, 일본 시장을 타겟으로 선정하여 제품군 및 판매 지표 조사 - 자사 고객 대상으로 고객별로 선호하는 기능성 및 일반식품 선호도 평가 조사 진행 - 기능성 원료(구아바잎 추출물)을 활용하여, 식후 혈당 상승 억제에 도움이 되는 분말 형태 제형의 일반 식품을 개발함. 베이스가 되는 원료로는 저항전분과 식이섬유가 많은 그린바나나 원료를 활용하여 일반적으로 사용되는 밀가루 원료를 대체하는 용도로 글루텐 프리제품으로 개발하였으며, 베이커리 및 제품에 적용시 기존 밀가루를 활용 한 제품과 관능 및 물성 상의 차이가 없음을 확인함. 이를 활용하여 기능성 신규 원료를 활용한 제품 공정 및 제품 개발
	<p><2차년도></p> <ul style="list-style-type: none"> - 기능성 원료 적용 Lab scale 제품 맛/물성 변화 연구 - 일반식품 적용 시 맛/물성 변화 최소화 공정 탐색 - 액상제형 제품 개발 	<p><2차년도></p> <ul style="list-style-type: none"> - 기능성 원료(프락토 올리고당, 구아바 잎 추출물등)을 활용하여 시제품을 개발하였을 때 맛과 물성이 관능적으로 어떻게 변하는지 문헌 분석, 내부 관능평가 진행 - 제품을 일반식품에 적용했을 때의 맛과 물성의 변화를 최소화 하기 위하여 기존 공정에 적용 및 공정 추가 및 제외를 통한 제품화 진행 - 기능성 원료(알룰로스, 효소처리 스테비아)를 활용하여 액상 제형 제품에 적용하였으며, 상대적으로 점도가 높아지는 이슈가 있어 소스의 물성에 적합할 것으로 예상되어 시제품을 개발
	<p><3차년도></p> <ul style="list-style-type: none"> - 기능성 원료 적용 일반식품 개발 	<p><3차년도></p> <ul style="list-style-type: none"> - 기능성 원료를 적용한 일반식품 개발을 진행하여, 1차년도에 개발된 그린바나나 및 구아바잎 추출물을 활용한 밀가루 대체식품 개발, 2차년도에는 설탕을 대체하는 대체당류 활용 제품 개발 하였음. 그 외에 식이섬유를 활용한 식물성 대체육류, 효소 식품 기타가공품 등으로 다양한 원료를 활용한 일반식품을

	<ul style="list-style-type: none"> - 기능성 원료 적용 일반식품 유통기한 확보 - 기능성 원료 적용 일반식품 소비자 기호도 조사 	<p>개발</p> <ul style="list-style-type: none"> - 기능성 원료 중 유통기한에 따른 스펙변경이 적은 소재를 선택하여 제품에 적용하여 수분함량을 낮춘 분말형태 제품을 만듦으로써, 원료의 스펙과 기능성이 유지되는 유통기한을 확보, 수분이 높은 경우는 농도 또한 높은 형태의 소스로 개발하여 유통기한을 확보 - 당사 본사물에 판매하여, 제품에 대한 기호도를 조사하였으며 제품 후기를 분석하여 기존의 제품보다 기능성을 가진 제품을 선호하는 것을 확인할 수 있었음. 다만, 새로운 기능성이 적용된 제품의 경우 기존의 제품과 다른 부분 때문에 소비자가 쉽게 선택하지 못하는 이슈가 존재하여 허들을 넘을 유인이 필요
--	---	---

(2) 정량적 연구개발성과

○ 특허출원 4건

- 칼슘-알긴산 비드로 포집된 유산균의 제조 방법, 2022.04 출원
- 프로폴리스 추출물을 함유하는 나노복합체 및 이의 용도, 2022.08 출원
- 수분산성 및 안정성이 개선된 커큐민 조성물 및 이의 제조방법, 2023.10 출원
- 초미세 고춧가루 분말을 이용한 유산균 발효 음료 및 이의 제조방법, 2023.11 출원

○ 제품화 7건

- 프로바이오틱스키베이스, 2022.05 품목제조 신고
- 생강강황 베이스, 2022.05 품목제조 신고
- 시트러스체리 베이스, 2022.05 품목제조 신고
- 이노센트 글루텐프리 그린바나나 분말, 2022.10 품목제조 신고
- 저칼로리 스위트머스터드, 2023.03 품목제조 신고
- 저칼로리 식물성 불닭소스, 2023.03 품목제조 신고
- 액티브솔루션C, 2023.09 품목제조 신고

○ 고용창출 2건

- 네오크레마 이해민, 2021.04 채용
- 인테이크 김서울, 2021.04 채용

○ 논문게재 3건

- Physicochemical characterization and their food applications of enzyme treated whole grain dietary fibers, Korean Journal of Food Science and Technology, 2022.10 게재
- Effects of different cryoprotectants on the viability of microencapsulated Lactobacillus plantarum CJLP133 during long-term storage, Journal of Food Measurement and Characterization(IF:3.4), 2023.03 게재
- Development of propolis extract-loaded nanoparticles with chitosan and hyaluronic acid for improving solubility and stability. LWT - Food Science and Technology(IF:6.056), 2023.05 게재

○ 학술발표 2건

- 2022 KFN International Symposium and Annual Meeting. 2022.10 제주
- 2023 KoSFoST International Symposium and Annual Meeting. 2023.06 제주

○ 인력양성 2명

- 한양대학교 김도희, 2023.02, 석사졸업
- 한양대학교 안크차츨랄, 2024.02, 박사졸업예정

< 정량적 연구개발성과표 >

(단위 : 건, 천원)

성과지표명			연도	1단계 (2021~2022)	2단계 (2023)	계	가중치 (%)
전담기관 등록·기탁 지표	특허출원	목표(단계별)	1	2	3	30	
		실적(누적)	2	2	4		
	논문	목표(단계별)	-	2	2	-	
		실적(누적)	1	2	3		
	학술발표	목표(단계별)	1	1	2	15	
		실적(누적)	1	1	2		
연구개발과제 특성 반영 지표	제품화	목표(단계별)	1	2	3	35	
		실적(누적)	1	6	7		
	매출액	목표(단계별)	-	300,000	30,000	5	
		실적(누적)	-	2,400	2,400		
	고용창출	목표(단계별)	-	-	-	5	
		실적(누적)	2	-	2		
	인력양성	목표(단계별)	1	1	2	10	
		실적(누적)	1	1	2		
	계						100

(3) 세부 정량적 연구개발성과

[과학적 성과]

□ 논문(국내외 전문 학술지) 게재

번호	논문명	학술지명	주저자명	호	국명	발행기관	SCIE 여부 (SCIE/비SCIE)	게재일	등록번호 (ISSN)	기여율
1	Physicochemical characterization and their food applications of enzyme treated whole grain dietary fibers	Korean Journal of Food Science and Technology	Ji Eun Yoon	54(5)	Republic of Korea	Korean Society of Food Science and Technology	비SCIE	2022.10.31	0367-6293	100
2	Effects of different cryoprotectants on the viability of microencapsulated Lactobacillus plantarum CJLP133 during long-term storage	Journal of Food Measurement and Characterization	Shin Dong Joo	17	United States of America	Springer Science + Business Media	SCIE (IF: 3.006)	2023.3.4	2193-4126	100
3	Development of propolis extract-loaded nanoparticles with chitosan and hyaluronic acid for improving solubility and stability	LWT - Food Science and Technology	Do Hee Kim	181	Netherlands	ELSEVIER	SCIE (IF:6.056)	2023.5.1	0023-6438	100

□ 국내 및 국제 학술회의 발표

번호	회의 명칭	발표자	발표 일시	장소	국명
1	2022 KFN International Symposium and Annual Meeting	Hyeon Gyu Lee	2022.10.20	ICC JEJU, Jeju island, Korea	Republic of Korea
2	2023 KoSFoST International Symposium and Annual Meeting	Hyeon Gyu Lee	2023.6.28	ICC JEJU, Jeju island, Korea	Republic of Korea

[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	칼슘-알긴산 비드로 포집된 유산균의 제조 방법	대한민국	씨제이제 일제당 주식회사	2022.04 .13	10-2022 -004575 6					100	
2	프로폴리스 추출물을 함유하는 나노복합체 및 이의 용도	대한민국	한양대학 교 산학협력 단	2022.08 .04	10-2022 -009706 9					100	
3	수분산성 및 안정성이 개선된 커뮤민 조성물 및 이의 제조방법	대한민국	(주)네오 크레마	2023.10 .11	10-2023 -013478 7					100	
4	초미세 고춧가루 분말을 이용한 유산균 발효 음료 및 이의 제조방법	대한민국	씨제이제 일제당 주식회사	2023.11 .02	10-2023 -015010 1					100	

□ 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	자기실시	신제품 개발	국내	신제품 출시	이노센트 글루텐프리 그린바나나 분말	인테이크(주)	-	-	-	-
2	자기실시	신제품 개발	국내	신제품 출시	프로바이오틱스키베 이스	씨제이제일제당(주)	-	-	-	-
3	자기실시	신제품 개발	국내	신제품 출시	생강강황 베이스	씨제이제일제당(주)	-	-	-	-
4	자기실시	신제품 개발	국내	신제품 출시	시트러스체리 베이스	씨제이제일제당(주)	-	-	-	-
5	자기실시	신제품 개발	국내	신제품 출시	저칼로리 스위트머스터드	인테이크	-	-	-	-
6	자기실시	신제품 개발	국내	신제품 출시	저칼로리 식물성 불닭소스	인테이크	-	-	-	-
7	자기실시	신제품 개발	국내	신제품 출시	액티브솔루션C	(주)네오크레마	-	-	-	-

- * 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)		
이노센트 글루텐프리 그린바나나 분말	2023	2,432	0	2,432	내부SCM프로그램
합계					

□ 고용 창출

순번	사업화명	사업화 업체	고용창출 인원(명)		합계
			2021년	-년	
1	신규채용	(주)네오크레마	1	-	1
2	신규채용	인테이크(주)	1	-	1
합계			2	-	2

□ 전문 연구 인력 양성

번호	분류	기준 연도	현황										
			학위별				성별		지역별				
			박사	석사	학사	기타	남	여	수도권	충청권	영남권	호남권	기타
1	졸업자수	2022		1				1	1				
2	졸업자수	2023	1					1	1				

□ 홍보 실적

번호	홍보 유형	매체명	제목	홍보일
1	중앙전문지	스타트업엔	베러먼데이커피, CJ 제일제당과 김치 유래 유산균을 활용한 “웰니스샷” 출시	2022.07.11
2	지방일간지	부산제일경제	베러먼데이커피-CJ 제일제당 ‘협업한’ 건강 음료 2종 출시	2022.07.13
3	중앙일간지	아시아투데이	인테이크, ‘이노센트 저칼로리 식물성 소스’ 2종 출시	2023.05.04

[그 밖의 성과]

해당사항 없음

(4) 계획하지 않은 성과 및 관련 분야 기여사항

해당사항 없음

2) 목표 달성 수준

추진 목표	달성 내용	달성도(%)
<p><1차년도></p> <ul style="list-style-type: none"> ○ 일반식품 적용 시 기능성 원료 특성 분석 및 데이터 구축 ○ 기능성 원료 고유 특성(용해도/안정성) 분석 및 데이터 구축 ○ 국내 및 해외 시장에 판매되는 소재 확인 및 비교 조사 ○ 공급사별 기능성 원료 규격 분석 및 기능성 원료의 소비자 선호도 평가 	<p><1차년도></p> <ul style="list-style-type: none"> ○ 일반식품 적용에 따른 기능성 원료의 특성을 분석하고 데이터화 완료 ○ 기능성 원료 29종의 용해도 및 안정성을 분석하고 평가체계를 구축함 ○ 코로나로 인하여 현 소비자들의 관심은 면역, 항균 항산화 등에 관심이 생겼으며 시장에서 관심도도 많이 올라가고 있음. 현 국내외에 관심이 많은 면역, 항균, 항산화 기능성을 가진 기능성 원료를 선택 ○ 국내 건기식 원료사의 기능성 원료의 규격에 대한 조사를 진행하였으며, 내부 설문과 소비자 대상 설문을 통하여 선호도 평가를 진행함 	<ul style="list-style-type: none"> ○ 100% ○ 100% ○ 100% ○ 100%
<p><2차년도></p> <ul style="list-style-type: none"> ○ 기능성 원료 타겟 선정 및 일반식품 적용성 Lab, Pilot scale 평가 	<p><2차년도></p> <ul style="list-style-type: none"> ○ 커큐민, 유산균, 구아바잎추출물의 기능성 원료 타겟을 선정하여 일반식품 적용 후 안정성 평가를 진행하여 Lab, Pilot scale 평가를 완료 	<ul style="list-style-type: none"> ○ 100%

○ 캡슐화를 통한 기능성 원료의 일반식품 적용성 증진 기술 개발	○ 프로폴리스 추출물, 구아바잎 추출물, 프로바이오틱스 포집 캡슐을 제조하고 특성을 분석하여 용해도 및 안정성을 증진을 극대화하기 위한 캡슐화 방법을 선정함	○ 100%
○ 일반식품 적용성이 증진된 기능성 원료 Pilot scale 생산 연구	○ 선정된 건기식 원료인 프로폴리스의 나노파티클화공정을 통한 수용성 프로폴리스, 클로렐라 pilot 생산. 수용성프로폴리스에 대하여 탄산제품 및 스틱젤리의 적용하여 용해도 및 안정성 확인	○ 100%
○ 맛/물성 등의 특성 변화가 최소화되는 제조공정 연구	○ 선호도 평가의 결과에 따른 맛/물성 등의 특성 변화를 최소화 할 수 있는 제조공정을 연구하여 시제품 개발에 적용하였음	○ 100%
<3차년도>	<3차년도>	○ 100%
○ 기능성 원료를 적용한 일반식품 개발	○ 기능성 원료를 적용한 일반식품 개발을 완료하였음. 프로폴리스 추출물, 커큐민, 클로렐라, 구아바잎 추출물, 프로바이오틱스 등의 기능성 원료를 활용하여 음료, 젤리, 분말 형태의 제품 개발을 완료하였음.	○ 100%
○ 기능성 원료의 일반식품 적용성 증진 기술 최적화	○ 프로폴리스 추출물, 프로바이오틱스, 스피루리나 포집 캡슐을 제조하고 제조조건을 분석하여 용해도 및 안정성이 극대화된 최적 캡슐 제조조건을 확립함. 수분산성이 안정된 커큐민의 인캡슐레이션 제조 공정도를 확립하였으며, 생산 된 수용성 커큐민을 일반식품 적용하였을 때에도 커큐민 및 함량 등에 대한 안정성을 확인하였음. 시생산 된 수용성커큐민의 커큐민 함량 분석, 미생물 검사, 입도 분석 등을 공인분석하여 품질규격을 설정하였으며 이와 제조 공정을 바탕으로 품목제조보고 신고를 하였음	○ 100%
○ 일반식품 적용성 증가 기능성 원료 생산 공정 최적화 및 대량 생산	○ 확립된 제조공정으로 커큐민의 생산을 확인하였으며 생산 된 커큐민의 판매 등을 위하여 적용 사례 등을 실험하였으며 특허출원 및 브로셔 등을 만들어 지속적인 생산을 준비하고 있음.	

4. 연구개발성과의 관련 분야에 대한 기여 정도

- 프로폴리스 추출물, 프로바이오틱스, 스피루리나, 구아바잎 추출물을 포집한 캡슐 제조를 통해 용해도 및 안정성 증진하였으며, 가공식품 원료로 활용될 수 있는 기틀을 마련함.
- 캡슐화 기술을 통해 프로폴리스 추출물, 프로바이오틱스, 스피루리나, 구아바잎 추출물의 용해도 및 안정성을 증진시켰으며 연구 결과를 국내외 저널에 게재 및 특허 출원하여 국내 기능성 원료 및 식품 분야의 우수성을 나타내는데 기여함.
- 수용성 커큐민, 프로폴리스 추출물, 구아바잎 추출물, 프로바이오틱스를 포집한 캡슐 제조를 통해 용해도 및 안정성 증진하였으며, 가공식품 원료로 활용될 수 있는 기틀을 마련함.
- 본 연구를 통한 기능성 원료 29종 외에도 추후 인정되는 고시형 및 개별인정형 원료에도 적용 가능할 것이라 기대됨.

(단위 : 백만원, %)

총괄과제명	세부과제명		기관명	유형	총 연구개발비 (A)	정부지원 연구개발비 (B)	정부지원 연구개발비 비율 (C=B/A)	성과 유형	기술 기여도	
									산정 근거	비율
기능성 원료의 일반식품 적용확대를 위한 연구	A-1	기능성 원료 활용 일반식품 적용 공정 연구 및 제품 개발	CJ제일제당(주)	대기업 (영리)	221	110	0.498	신규 기술개발	2-①	10.12 %
	A-2	기능성 원료 특성 연구 및 일반식품 적용성 증진 기술 개발	한양대학교	대학 (비영리)	220	220	1.000	신규 기술개발	해당 없음	-
	A-3	기능성 원료 개발 및 생산	(주)네오크레마	중소기업 (영리)	152	111	0.730	신규 기술개발	1-①	73.03 %
	A4	기능성 원료 활용 일반식품 적용 공정 연구 및 제품 개발	인테크(주)	중소기업 (영리)	152	111	0.730	신규 기술개발	2-①	10.09 %
계					745	552	-	-	-	-

과제명	기능성 원료 활용 일반식품 적용 공정 연구 및 제품 개발		
기관명	CJ제일제당(주)	연구책임자	신동주
구분	해당기술 예상 매출 기여액(b)	기능성 원료 적용 제품군 예상 매출액(a)	해당기술/제품군 매출액 비율(b/a)
금액(원)	20,330,640	100,000,000	20.33 %

관련 근거

농림식품기술기획평가원 가이드라인에 따른 기술기여도 계산,

- (매출액 기준) 기술료 산정 시 매출액은 제품A에 대한 매출액 적용
- (기술기여도) 제품A2에 대한 총 연구개발비와 정부지원연구개발비를 감안하여 기술기여도 산정

정부지원연구개발비

$$\text{기술기여도} = \frac{\text{정부지원연구개발비}}{\text{총 연구개발비(정부지원연구개발비+기관부담연구개발비(현금+현물))}}$$

※. 소비자가 5,000원 제품을 20,000개 판매하여 예상 매출 1억원 가정하였으며, 소비자가, 원재료비 비율 등은 제조 현황에 따라 변경될 수 있음.

1. 유통 납품가 계산

- 대형마트의 평균 유통마진을 34.4% ¹⁾ 적용하면, 소비자가 5,000원 제품의 **유통납품가는 3,280원**

2. 제조원가 계산

- 식품업계의 평균 매출총이익(GP)는 20.3% ²⁾ 이고, (매출총이익) = (유통납품가 - 제조원가) / (소비자가)이므로 **제조원가는 2,265원**

3. 해당 기술이 적용된 제품의 매출기여액 계산

- 매출기여액 = (제조원가) x (원재료비 비율) x (해당기술 적용 원료비 비율, 60% 적용), 약 **1,016원**
(기능성 원료의 경우 수입 비중이 높고, 수입원료 이용 식품산업의 제조원가에서 원재료비 비중은 74.8% ³⁾, 원재료비 중에서 기능성 원료재료비의 비중은 60%로 가정)

4. 전체 매출 중 매출기여액 계산

- 매출기여액 = (매출액) x (매출기여율), 20,330,640원

5. 기술기여도 계산

- 기술기여도 = (예상 매출기여액 / 예상 매출액) x (정부지원연구개발비 / 총연구개발비), **10%**

1) 한국소비자단체협의회, [대형마트 유통마진 분석 및 개선방안 토론회 자료집](#)

2) 신유진 외, [식품제조업의 산업집중도가 개별기업의 수익성에 미치는 영향 분석](#), 농촌경제, 제38권 제2호: 49-70

3) 김상호 외, [원재료 수입가격 상승의 가공식품 물가 영향](#), KREI 농정포커스, 제209호

과제명	기능성 원료 활용 일반 식품 적용 공정 연구 및 제품 개발		
기관명	인테크(주)	연구책임자	김정훈
구 분	해당기술 예상 매출 기여액(b)	기능성 원료 적용 제품군 예상 매출액(a)	해당기술/제품군 매출액 비율(b/a)
금액(원)	13,820,000	100,000,000	13.82 %

관련 근거

농림식품기술기획평가원 가이드라인에 따른 기술기여도 계산,

- ① **연구개발한 기능성 원료가 적용된** 제품군의 매출액 산정이 가능할 것으로 예상 됨
- (매출액 기준) 기술료 산정 시 매출액은 **연구개발한 기능성 원료가 적용된 제품군**에 대한 매출액 적용
 - (기술기여도) **연구개발한 기능성 원료가 적용된** 제품군의 매출액에서 해당 기술개발과제의 매출액 기여율과 제품군에 대한 총 연구개발비 등을 감안하여 기술기여도 산정

$$\text{기술기여도} = \frac{\text{해당기술(예상 매출기여액)}}{\text{제품군(100,000,000)}} \times \frac{\text{정부지원연구개발비}}{\text{총 연구개발비}}$$

※. 소비자가 5,000원 제품을 20,000개 판매하여 예상 매출 1억원 가정하였으며, 소비자가, 원재료비 비율 등은 제조 현황에 따라 변경될 수 있음.

1. 유통 납품가 계산

- 대형마트의 평균 유통마진을 34.4% ¹⁾ 적용하면, 소비자가 5,000원 제품의 **유통납품가는 3,280원**

2. 제조원가 계산

- 식품업계의 평균 매출총이익(GP)는 20.3% ²⁾ 이고, (매출총이익) = (유통납품가 - 제조원가) / (소비자가)이므로 **제조원가는 2,265원**

3. 해당 기술이 적용된 제품의 매출기여액 계산

- 매출기여액 = (제조원가) x (원재료비 비율) x (해당기술 적용 원료비 비율, 40.8% 적용), 약 **691원**
(기능성 원료의 경우 수입 비중이 높고, 수입원료 이용 식품산업의 제조원가에서 원재료비 비중은 74.8% ³⁾, 원재료비 중에서 기능성 원료재료비의 비중은 40.8%로 가정)

4. 전체 매출 중 매출기여액 계산

- 총매출기여액 = (총매출액) x (매출기여율), 13,820,000 원

5. 기술기여도 계산

- 기술기여도 = (예상 매출기여액 / 예상 매출액) x (정부지원연구개발비 / 총연구개발비), **10.09%**

1) 한국소비자단체협의회, [대형마트 유통마진 분석 및 개선방안 토론회 자료집](#)

2) 신유진 외, [식품제조업의 산업집중도가 개별기업의 수익성에 미치는 영향 분석](#), 농촌경제, 제38권 제2호: 49-70

3) 김상호 외, [원재료 수입가격 상승의 가공식품 물가 영향](#), KREI 농정포커스, 제209호

5. 연구개발성과의 관리 및 활용 계획

- 국내 식품 산업 전반에 있어서 캡슐화 기술 응용 식품의 상용화는 초기 단계에 머물러 있어 본 연구를 통해 기능성 원료의 캡슐화 기술을 구축하여 일반식품 적용성을 향상시킬 수 있을 것으로 예상됨.
- 본 연구를 통해 개발된 캡슐화 기술은 기능성 원료 29종 외에도 추후 인정되는 고시형 및 개별인정형 원료에도 적용 할 수 있음.
- 기능성 원료를 함유한 식품 개발 기술을 산업체에서 활용 가능하며, 일반적인 건강기능식품의 형태인 정제, 캡슐 등이 아닌 음료 및 일반식품에 적용할 수 있음. 이를 통해 기능성 식품 시장을 다양한 제품 카테고리로 확장시킬 수 있음. 차별화된 제품 개발을 통해 소비자가 선택할 수 있는 제품을 증가시키며, 기능성 원료의 섭취 편의성을 향상시킬 수 있음
- 수용성 커큐민, 프로폴리스 추출물, 구아바잎 추출물, 프로바이오틱스의 용해도 및 안정성 증진 연구결과를 국내외 저널에 게재 완료하였으며 관련 연구를 지속하여 추가 특허 및 논문 출판을 진행할 예정임.

< 연구개발성과 활용계획표 >

구분(정량 및 정성적 성과 항목)		연구개발 종료 후 5년 이내				
		2024	2025	2026	2027	2028
국외논문	SCIE	-	1	-	-	-
	비SCIE					
특허출원	국내	-	1	-	-	-
	국외					
특허등록	국내	-	1	1	1	2
	국외					
사업화	시제품개발	1	2	2	2	2
	상품출시	-	2	2	2	2
	공정개발	1	2	2	2	2
	매출액(단위 : 천원)	3,000	300,000	300,000	300,000	300,000
	기술료(단위 : 천원)	30	3,000	3,000	3,000	3,000

6. 참고문헌

- Agarry, I. E., Wang, Z., Cai, T., Kan, J., & Chen, K. (2022). Chlorophyll | 루 encapsulation by complex coacervation and vibration nozzle technology: Characterization and stability study. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 78, 103017.
- Araseki, M., Yamamoto, K., & Miyashita, K. (2002). Oxidative stability of polyunsaturated fatty acid in phosphatidylcholine liposomes. *Bioscience, biotechnology, and biochemistry*, 66(12), 2573-2577.
- Bi, H., Xu, Y., Fan, F., & Sun, X. (2022). Effect of drying methods on *Lactobacillus rhamnosus* GG microcapsules prepared using the complex coacervation method. *Journal of Food Science*, 87(3), 1282-1291.
- Cheng, C., Gao, H., McClements, D. J., Zeng, H., Ma, L., Zou, L., Miao J., Wu, X., Tan, J., Liang, R., ... & Liu, W. (2022). Impact of polysaccharide mixtures on the formation, stability and EGCG loading of water-in-oil high internal phase emulsions. *Food Chemistry*, 372, 131225.
- González-Ferrero, C., Irache, J. M., & González-Navarro, C. J. (2018). Soybean protein-based microparticles for oral delivery of probiotics with improved stability during storage and gut resistance. *Food chemistry*, 239, 879-888.

- Gulzar, S., & Benjakul, S. (2020). Characteristics and storage stability of nanoliposomes loaded with shrimp oil as affected by ultrasonication and microfluidization. *Food Chemistry*, 310, 125916.
- Kainama, H., Fatmawati, S., Santoso, M., Papilaya, P. M., & Ersam, T. (2020). The relationship of free radical scavenging and total phenolic and flavonoid contents of *Garcinia lasoar* PAM. *Pharmaceutical Chemistry Journal*, 53, 1151-1157.
- Kim, S., Cho, E., Yoo, J., Cho, E., Choi, S. J., Son, S. M., ... & Chae, H. J. (2010). β -CD-mediated encapsulation enhanced stability and solubility of astaxanthin. *Journal of the Korean Society for Applied Biological Chemistry*, 53, 559-565.
- Lan, M., Zheng, J., Huang, C., Wang, Y., Hu, W., Lu, S., Liu, F., & Ou, S. (2022). Water-in-oil Pickering emulsions stabilized by microcrystalline phytosterols in oil: Fabrication mechanism and application as a salt release system. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 70(17), 5408-5416.
- Lee, M. C., Tan, C., Ravanfar, R., & Abbaspourrad, A. (2019). Ultrastable water-in-oil high internal phase emulsions featuring interfacial and biphasic network stabilization. *ACS applied materials & interfaces*, 11(29), 26433-26441.
- Lee, J., Wi, G., & Choi, M. J. (2023). The rheological properties and stability of gelled emulsions applying to κ -carrageenan and methyl cellulose as an animal fat replacement. *Food Hydrocolloids*, 136, 108243.
- Morsy, M. K., Morsy, O. M., Abdelmonem, M. A., & Elsabagh, R. (2022). Anthocyanin-colored microencapsulation effects on survival rate of *Lactobacillus rhamnosus* GG, color stability, and sensory parameters in strawberry nectar model. *Food and Bioprocess Technology*, 15(2), 352-367.
- Moumita, S., Goderska, K., Johnson, E. M., Das, B., Indira, D., Yadav, R., ... & Jayabalan, R. (2017). Evaluation of the viability of free and encapsulated lactic acid bacteria using in-vitro gastro intestinal model and survivability studies of synbiotic microcapsules in dry food matrix during storage. *LWT*, 77, 460-467.
- Ramli, N. A., Ali, N., & Hamzah, S. (2019). Indo-Malayan Stingless Bees' Propolis Extract-Loaded Chitosomes: Characterization and Storage Stability Evaluation. *International Journal of Recent Technology and Engineering*, 7(6), 560-567.
- Rasti, B., Jinap, S., Mozafari, M. R., & Yazid, A. M. (2012). Comparative study of the oxidative and physical stability of liposomal and nanoliposomal polyunsaturated fatty acids prepared with conventional and Mozafari methods. *Food chemistry*, 135(4), 2761-2770.

주 의

1. 이 보고서는 농림축산식품부에서 시행한 고부가가치식품기술연구개발사업의 연구보고서입니다.
2. 이 보고서 내용을 발표하는 때에는 반드시 농림축산식품부에서 시행한 고부가가치식품기술연구개발사업의 연구결과임을 밝혀야 합니다.
3. 국가과학기술 기밀 유지에 필요한 내용은 대외적으로 발표 또는 공개하여서는 안 됩니다.