

발간등록번호

11-1543000-001422-01

무증자 자색고구마를 이용하여 장기능을  
개선 할 수 있는 식품제조

(Food manufacture to improve a function of stomach by  
using non-steamed purple sweet potato)

(주)내츄럴씨앤에프

농 립 축 산 식 품 부

# 제 출 문

농림축산식품부 장관 귀하

본 보고서를 “무증자 자색고구마를 이용하여 장기능을 개선할 수 있는 식품제조”(개발기간 : 2014.08.01.~ 202016.07.31)과제의 최종보고서로 제출합니다.

2016.10.31.

주관연구기관명 : (주)내츄럴씨엔에프 (대표자) 최재홍 (인)  
협동연구기관명 : (재)경북바이오산업연구원 (대표자) 이택관 (인)  
안동대학교산학협력단 (대표자) 권순태 (인)

주 관 연구책임자 : 최재홍  
제1협동연구책임자 : 권순열  
제2협동연구책임자 : 권기석

국가연구개발사업의 관리 등에 관한 규정 제18조에 따라 보고서 열람에 동의합니다.

## 보고서 요약서

과제고유번호	114012-02	해당 단계 연구 기간	2014.08.01.~ 2016.07.31	단계 구분	사업종료
연구사업명	중사업명	고부가가치식품기술개발사업			
	세부사업명	고부가가치식품기술개발사업			
연구과제명	대과제명	무증자 자색고구마를 이용하여 장기능을 개선할 수 있는 식품제조			
	세부과제명	무증자 자색고구마를 이용하여 장기능을 개선할 수 있는 식품제조			
연구책임자	최재홍	해당단계 참여 연구원 수	총: 11명 내부: 11명 외부:   명	해당단계 연구 개발비	정부:300,000천원 민간:100,000천원 계:400,000천원
		총연구기간 참여 연구원 수	총: 11명 내부: 11명 외부:   명	총연구개발비	정부:300,000천원 민간:100,000천원 계:400,000천원
연구기관명 및 소속부서명	(주)내츄럴씨엔에프 (재)경북바이오산업연구원 안동대학교산학협력단			참여기업명	
위탁연구	연구기관명:			연구책임자:	
자색고구마를 동결건조하여 무증자 자색고구마를 내재된 미생물에 항균력을 가진 유산균을 탐색 발효하여 GABA 기능성분 및 항비만 효능을 개선시켜 장기능을 개선할 수 있는 식품소재를 개발하여 프로바이오틱스 기능을 할 수 있는 제형을 개발함으로써 현대인에게 나타나는 생활질환 비만, 변비, 면역증진등에 효과를 가진 제품을 개발				보고서 면수	

## 국문 요약문

		코드번호	D-01			
연구의 목적 및 내용	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 장기능 개선 유산균 선별</li> <li>- 무증자 자색고구마 발효조건 확립</li> <li>- 제형 및 생산공정 확립</li> <li>- 개발제품의 영양성분 분석 및 생리활성 탐색</li> <li>- 장기능 개선용 무증자 자색고구마 프로바이오틱스 제품 개발</li> </ul>					
연구개발성과	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 발효 최적 조건 설정                             <ul style="list-style-type: none"> <li>· 미생물 분리 동정 : 자색고구마 발효를 위한 유산균 선발</li> <li>· 유산균 발효 조건 설정 : 온도, 습도, pH</li> <li>· 생물전환 효율 : GABA 함량, 생균수 측정</li> </ul> </li> <li>- 무증자 자색고구마 probiotics 의 생리활성 검증                             <ul style="list-style-type: none"> <li>· 항산화 효과</li> <li>· 항비만 효과</li> <li>· 임상동물을 이용한 배변량과 장 통과 시간에 따른 변화 조사</li> </ul> </li> <li>- 시제품제작 : 기능성을 강화하고, 휴대가 간편한 건강식품 시제품 생산</li> <li>- 제품형태 : 타겟고객의 구매욕구를 충족할 수 있는 제형(스틱형태 등)</li> <li>- 특허출원</li> <li>- 인력양성</li> <li>- 학술발표</li> </ul>					
연구개발성과의 활용계획 (기대효과)	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 장기능개선 무증자고구마 프로바이오틱스를 활용한 산업화 제품 개발 완료</li> <li>- 무증자고구마 프로바이오틱스의 장기능 개선 검증완료</li> <li>- 무증자고구마 프로바이오틱스의 항비만 검증완료</li> <li>- 우수한 유산균 확보 및 수입 유산균 대체 확보</li> <li>- 산학연 인프라를 통한 기술개발로 인적,물적자원 활용 및 비용절감 효과</li> <li>- 자색고구마의 고부가가치화로서 농가 수익 증대</li> <li>- 제품관련 일자리 창출 및 인적자원 양성</li> <li>- FTA 시장 개방에 따른 국내 농산물의 활용범위의 다각적인 확대 가능</li> </ul>					
중심어 (5개 이내)	자색고구마	발효	프로 바이오틱스	유산균	장기능개선	

## < SUMMARY >

		코드번호	D-02			
Purpose& Contents	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Screening of Lactic acid bacteria improving the intestinal functions</li> <li>- Optimization for the non-steamed fermentation of sweet purple potato</li> <li>- Optimization of formulation and production process</li> <li>- Analysis of nutritional compositions and antioxidative activities of product development</li> <li>- Development of improving the intestinal functions material by using non-steamed purple sweet potato with lactic acid bacteria</li> </ul>					
Results	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Optimization for the non-steamed fermentation                             <ul style="list-style-type: none"> <li>· Screening and identification of Microbes : Screening of Lactic acid bacteria for the sweet purple potato fermentation</li> <li>· Optimization of fermentation with Lactic acid bacteria : Temp., humidity and pH</li> <li>· Bioconverting rate : Concentration of GABA, Probiotics</li> </ul> </li> <li>- physiological activity of non-steamed sweet purple potato with Lactic acid bacteria                             <ul style="list-style-type: none"> <li>· Antioxidant activity</li> <li>· Antiobesity activity</li> <li>· Investigation of the changes fecal amount and bowel transit</li> </ul> </li> <li>- Prototype : Prototype production of high functional activity and portable health foods</li> <li>- Producttype : Formulation of customers to the purchasing needs</li> <li>- patent : Non-steam fermented purple sweet potato and a process for producing the same using lactic acid bacteria (Application No. :1020150104611)</li> <li>- Human resource development : Master 1</li> <li>- Conference : 4 articles (Best poster award : 2articles)</li> </ul>					
Expected Contribution	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Development completion of industrialization products that utilize the improved non-capital increase sweet potato probiotic intestinal function</li> <li>- Improved validation complete the function of the intestine of non-capital increase sweet potato probiotics</li> <li>- Anti-obesity verification completion of the non-capital increase sweet potato probiotics</li> <li>- Excellent and securing import lactic acid bacteria alternative securing of lactic acid bacteria</li> <li>- Human to technology development through industry-university Institute of infrastructure, to take advantage of the material resources, cost reduction effect</li> <li>- Increased revenue of farmers as a high value-added of the purple sweet potato</li> <li>- Product-related job creation and the development of human resources</li> <li>- It can be diversified expansion of the use of a range of domestic agricultural products by the FTA market opening</li> </ul>					
Keywords	purple sweet potato	Fermentatio	Probiotics	Lactobacillus	improvement of stomach function	

## < 목 차 >

1. 연구개발과제의개요 .....	1
2. 국내외 기술개발 현황 .....	3
3. 연구수행 내용 및 결과 .....	10
4. 목표달성도 및 관련분야에의 기여도 .....	64
5. 연구결과의 활용계획 등 .....	65
6. 연구과정에서 수집한 해외과학기술정보 .....	70
7. 연구개발성과의 보안등급 .....	71
8. 국가과학기술종합정보시스템에 등록된 연구시설·장비현황 .....	72
9. 연구개발과제 수행에 따른 연구실 등의 안전조치 이행실적 .....	73
10. 연구개발과제의 대표적 연구실적 .....	74
11. 기타사항 .....	75
12. 참고문헌 .....	76

## < Table of contents >

1. Introduction and The goles of the proposed Research development .....	1
2. Research development status .....	3
3. Method and Results of Research Development .....	10
4. Research goal attainment and contribution to related area .....	64
5. Plane for application of research results .....	65
6. The collected information about the related international technologies ..	70
7. Research development Security lable .....	71
8. Research facilities and equipment .....	72
9. Safety of laboratory .....	73
10. Research development Rsearch resurt .....	74
11. Others .....	75
12. References .....	76

# 제1장 연구과제 개발의 개요

## 1절. 연구개발의 목적

### 1. 연구개발의 목적

- 유산균(lactic acid bacteria)은 락트산 균 또는 젖산균이라고도 하며, 포유류의 장내에서 하여 잡균에 의한 이상발효를 방지해 정장제로도 이용되는 유용한 세균이다.
- 프로바이오틱 세균은 염증성 대장염이나 항생제로 인한 설사, 클로스트리듐 디피실리균 독성에 의한 대장염, 염증성 설사, 간성 뇌병증, 과민성 대장 증후군, 알레르기 등과 같은 몇 가지 위장관계 질환에도 도움이 되는 등 체내 면역력을 증진 시킨다.
- 단백질과 지방, 칼슘, 인 등의 소화 및 흡수를 강화시킬 때에도 프로바이오틱스가 활용되며 유당과민증을 극복에도 도움이 된다. 또한 항생제 치료를 받아 장내 정상세균총에 이상이 생겼을 때, 프로바이오틱스는 건강에 이로운 세균이 회복되는 것을 돕는다.
- 최근 유산균은 “장의건강”, “정장작용”이 인정되어 왔지만 최근 그 시장은 변화되고 있으며, 일본에서는 위궤양의원인균인 *H. pylori* 균을감소시키는 프로비오요구르트LG21(메2이지유업), 치주병원균과 충치균을억제하는 유산균LS-1을 첨가한 정제형과자 크리슈, 화분증 대응음료 인터밸런스L-92 등이 판매되고있으며, 유산균시장은 종래의정장시장에 신약기능이 인정되는 새로운 단계로 진입 함.
- 2013년 세계 프로바이오틱스 시장 규모는 220억달러(한화 약 23조원)에 달하는등 선진국에서는 프로바이오틱스를 활용한 초콜릿, 아이스크림, 치즈, 커피, 분유, 화장품등으로 제품군이 확대되고 있음.
- 고구마(*Ipomoea batatas*)는 메꽃과의 여러해살이 식물로, 온대에서 열대까지 잘 자라는 특성을 가진 뿌리작물로 척박한 환경에서도 잘 자람
- 중국, 우간다 등 117개국에서 1억 7백만 톤이 생산되나 0.2%만이 수출될 정도로 국제 무역 시장이 협소한 편이며 우리나라는 '11년 생산량이 25만5천 톤으로 '91년 이래 매년 1.9%씩 감소하고 있으나, 농가 수취가격은 7.4%씩 증가하는 추세이다. 우리나라 생고구마의 자급률은 100%에 달하나 당면, 전분 수입 등을 감안하면 실질적인 자급률은 50% 이하로 추정 됨.
- 뿌리, 줄기, 잎 등 버릴 것이 하나 없는 고구마는 영양이 탁월한 알칼리성 식품으로 항암, 항산화작용,혈중 콜레스테롤 강화 작용 등 약리적 효능을 인정받고 있음.
- 외국에서는 고구마 식품가공 기술을 개발하여 부가가치를 향상시키고 있으며, 일본의 고구마소주, 케이크 등에서 성공 사례를 찾아볼 수 있음.
- 증가되는 고구마 생산량과 소비촉진을 위한 새로운 형태의 가공식품이 필요함.
- 자색고구마는 일반고구마에 비해 항암, 항산화 능력이 뛰어난 안토시아닌 색소가 다량함유 되어 있고, 표피층 뿐만 아니라 육질전체가 진한 자색을 띠고 있으며 함량이 포도에 비해 7~8배 높은 천연기능성 색소 함유 함.
- 자색고구마의 안토시아닌 색소는 가열이나 자외선 조사, 금속이온, 유기산 등 여러 환경조건에 쉽게 변하지 않고 안정성을 유지함으로 가공적성이 우수함
- 본 연구에서는 농촌진흥청에서 개발한 신자미, 보라미, 연자미등을 이용한 무증자 자색고구마를 유산균으로 발효하여 새로운 형태의 프로바이오틱스 제품을 개발하여 농가소득 증대 및 국민건강증진, 유산균국산화, 고용 및 인적자원확보등 여러분야에 걸쳐 효과가 있을것으로 사료 됨.

## 2. 연구개발의 필요성

- 장기능개선 무증자고구마 프로바이오틱스 건강식품 개발
- 발효 원천기술 확보/유산균 DB 구축
- 국민건강증진 및 건강식품원료 국산화
- 농가소득증대 및 일자리 창출
- 고부가가치 건강식품의 해외수출
- 지역 발효식품업체 기술이전/동반성장

## 3. 연구개발 범위

- 발효 최적 조건 설정
  - 미생물 분리 동정 : 자색고구마 발효를 위한 유산균 선발
  - 유산균 발효 조건 설정 : 온도, 습도, pH
  - 생물전환 효율 : GABA 함량, 생균수 측정
- 무증자 자색고구마 probiotics 의 생리활성 검증
  - 항산화 효과
  - 항비만 효과
  - 임상동물을 이용한 배변량과 장 통과 시간에 따른 변화 조사
- 시제품제작 : 기능성을 강화하고, 휴대가 간편한 건강식품 시제품 생산
- 제품형태 : 타겟고객의 구매욕구를 충족할 수 있는 제형(스틱형태 등)
- 제품의 구성 : 건강식품 제형(분말, 세립형태 등)
- 작목반 구성 : 원료수급 및 농가소득 증대를 위한 자색고구마 작목반 구성
- 발효 클러스터 구성 : 동종업계 발효기술 이전/제휴로 고부가가치화 실현



## 제2장 국내외 기술개발 현황

### 1절. 제품 및 시장 분석

#### 1. 시장개요

- 세계적인 웰빙 트렌드의 확산과 고령화의 영향으로 건강기능식품이 포함된 Nutrition Industry의 시장규모는 고성장세를 지속하고 있음. 고령화 및 노화방지를 위해 건강기능식품을 섭취하던 때와 달리, 현재는 피부미용 및 건강/체력 증진에 있어 다양한 건강기능식품이 요구되고 있음.
- 한국건강기능식품협회 통계조사에 따르면 우리나라 사람 10명 중 5명은 건강기능식품을 섭취한 경험이 있다고 할 정도로 건강기능식품은 건강관리를 위한 생활필수품 중의 하나로 자리 잡고 있음.
- 건강기능식품이란 인체에 유용한 기능을 가진 원료나 성분을 사용하여 제조·가공한 식품으로 치료를 목적으로 하는 의약품과는 구별되고 있으며, 국민경제의 향상과 의식주 문제의 개선에 따라 건강이 인생에서 가장 중요한 가치로 여겨지고 있으며 질병의 치료가 아닌 “예방”을 위한 건강 유지와 증진을 하고자 하는 이러한 의식구조는 향후 건강기능식품의 시장전망을 밝게 해주고 있음.

#### 2. 생산 및 시장현황

##### 가. 국내 제품생산 및 시장 현황

<표> 연도별 건강기능식품 생산실적 ('04~'12)

구 분	총 생산액 (억원)	총 생산량 (톤)	내수용		수출용	
			생산액(억원)	생산량(톤)	생산액(억원)	생산량(톤)
2004	2,506	4,764	2,263	4,250	242	514
2007	7,235	10,578	6,888	10,239	346	339
2008	8,031	13,687	7,516	12,990	514	697
2009	9,598	19,885	9,184	19,293	415	592
2010	<b>10,671</b>	<b>25,361</b>	10,211	24,994	460	367
2011	<b>13,682</b>	<b>40,258</b>	<b>13,126</b>	<b>39,611</b>	<b>556</b>	<b>647</b>
2012	14,091	<b>34,599</b>	<b>13,507</b>	<b>33,735</b>	<b>584<sup>1)</sup></b>	<b>864</b>
비율(% (‘12/11))	3	-14.1	2.9	14.8	5	33.5

1) 1\$ = 1,126원(2012)

(‘12. 12. 31. 기준, 출처:식약처)

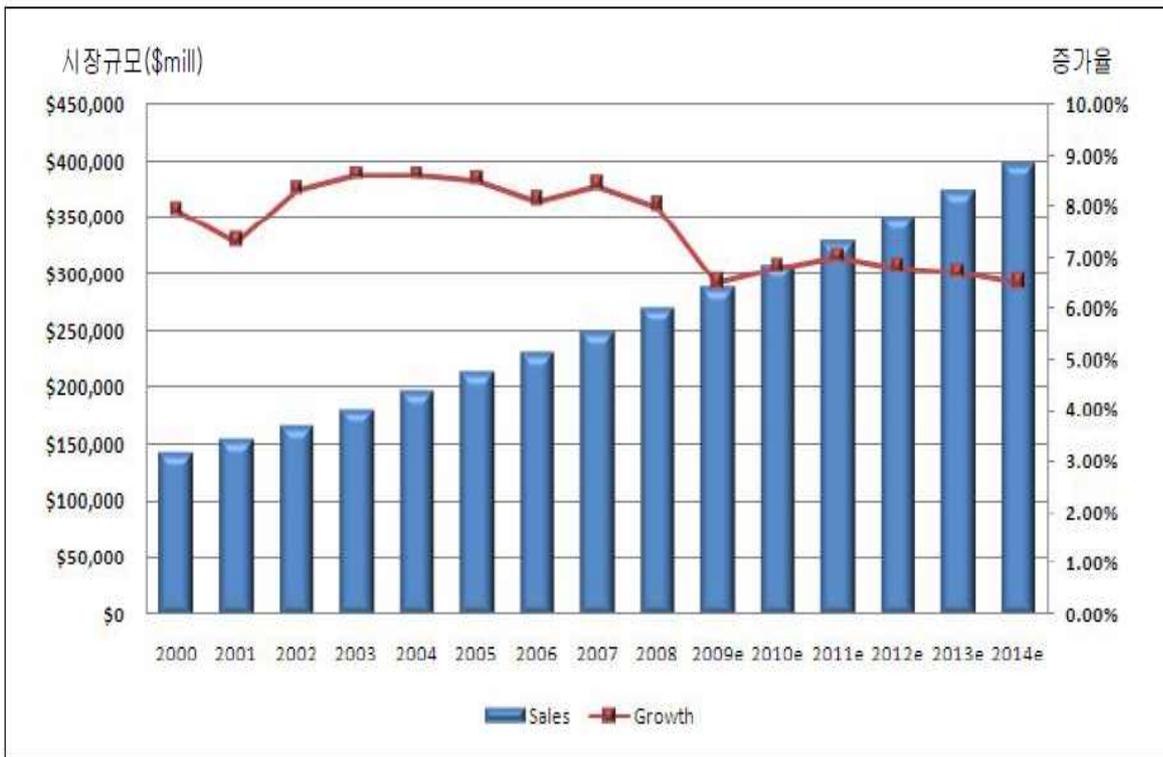
<표> 품목별 생산실적 현황(상위 10개 품목)

순위	구 분	총생산액					증가율 ("12/11,%)
		2008	2009	2010	2011	2012	
	총생산액(억원)	8,031	9,598	10,671	13,682	14,091	3.0
1	홍삼	4,184	4,995	5,817	7,191	6,484	-9.8
2	개별인정형	416	799	1,129	1,435	1,807	25.9
3	비타민·무기질	531	761	991	1,561	1,646	5.4
4	알로에	639	648	584	692	687	-0.7
5	프로바이오틱스	190	254	317	405	518	27.9
	누계(5품목)	5,960	7,457	8,838	11,284	11,142	-1.3
6	오메가-3지방산함유유지	266	334	348	509	497	-2.4
7	인삼	413	364	341	381	450	18.1
8	가르시니아카모지아 추출물)			208	207	440	112.5
9	식이섬유	1	99	117	116	168	44.8
10	감마리놀렌산	145	108	93	224	152	-32.1
	누계(10품목)	6,785	8,363	9,945	12,719	12,849	1.0
11	기타품목	1,246	1,235	726	963	1,232	27.9

(‘12. 12. 31. 기준, 출처:식약처)

나. 국외 제품생산 및 시장 현황

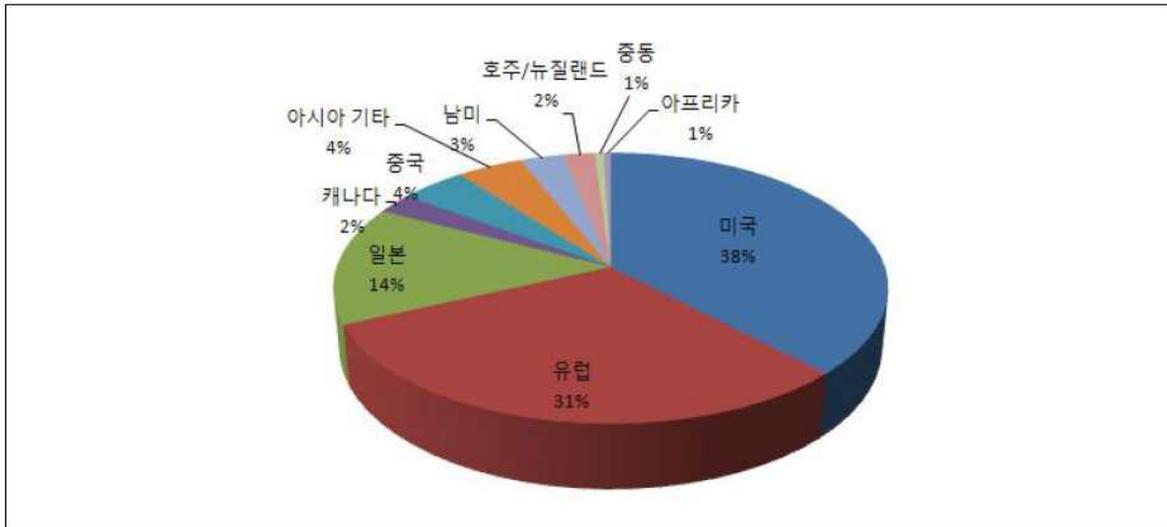
- 웰빙트렌드에 따른 소비자의 니즈 증가 및 가속화되는 고령화 등의 이유로 기능성 식품에 대한 수요는 지속적으로 증가하고 있으며, 이에 따라 성장 잠재력이 풍부한 시장으로 인식되어지고 있음.
- NBJ(Nutrition Business Journal,2010)의 보고에 따르면 2000년 1,435억불 규모였던 세계 기능성 식품 시장은 높은 성장률로 2008년 2,697억불 시장규모를 차지하였으며, 세계 기능성식품 시장은 지속적 성장으로 2014년도에는 3,973억불 시장을 형성할 것으로 전망됨.



자료: NBJ(Nutrition Business Journal), 2010

<그림> 연도별 세계 기능성 식품 시장현황

- 2008년 2,697억 세계기능성 식품 시장 중 1,017억불에 달하는 총 38%를 미국이 차지하는 것으로 나타났으며, 유럽은 31%(824억불)을 차지하는 것으로 나타남. 아시아 시장에서는 일본이 14%(382억불)로 가장 많은 비중을 차지하고 있는 것으로 나타났으며, 중국이 3%(119억불)로 그 뒤를 잇는 것으로 나타남. 미국, 유럽, 일본 등이 세계 시장의 87%를 차지함으로써 해외 기능성식품 시장은 산업화된 선진 국가를 중심으로 발달되었음을 알 수 있음.



자료: NBJ(Nutrition Business Journal), 2010

<그림> 2010년 국가별 기능성 식품 시장현황 (전체 2,697억불 규모)

#### 다. 산업 및 제품 동향 조사

- 과학의 진보가 인류의 수명연장을 가져옴에 따라 인간은 건강한 삶을 추구하였으며 이러한 소비자의 요구가 건강식품의 개발로 이어지면서 건강기능식품은 미래식품 산업의 돌파구로 부상하게 되었음. 우리나라의 경우 건강기능식품에 대한 지속적인 소비자의 수요 증대와 함께 2002년 8월 26일자로 건강기능식품에 관한 법률이 제정·공포됨에 따라 건강기능식품에 대한 비상한 관심이 쏠리고 있음.
- 또한, 국민 소득수준의 증가와 삶의 질 향상, 고령화 사회로의 진입에 따라 건강의 유지 및 증진이 무엇보다도 중요하다는 사회적 트렌드가 형성됨에 따라 건강기능식품산업은 더욱더 큰 관심을 받게 됨.
- 국내 건강기능식품의 발전은 정체기에 들어선 세계 식품 산업의 새로운 발전의 계기가 되어 세계 식품산업의 전반에 걸쳐 커다란 지각 변동을 일으켜 많은 기업에게 새로운 기회로 인식되어 식품산업체 뿐만 아니라 식품 관련 분야에 참여하고 있는 대기업, 다국적 유통업체 및 제약업체도 적극적인 시장참여 의사를 밝히고 있음.
- 특히, 우리나라 식품산업은 원재료의 80%를 수입원료에 의존하고 있으나, 건강기능식품산업은 선진기술을 바탕으로 국내 자생원료만으로 개발이 가능하므로, 국내 식품산업 구조개선 전략분야로 인식되어 관련 제도 및 국가적 지원규모가 크게 확대될 전망이다. 한편, 건강기능식품으로 촉발된 식품과 의약품의 산업간, 학문간, 시장 간의 부분적 통합 움직임이 활발히 이루어지고 있어 잠재적 시장성은 더욱 확대될 것으로 전망되고 있음.
- 건강기능식품 기능성 원료의 국산화율은 건강기능식품 제도가 처음 도입된 2004년에는 56%에 이르렀으나, 2005년 35%로 낮아졌고 2010년에는 27%, 2011년에는 29% 수준에 불과함. 2004년부터 2011년까지 식약청이 인정한 기능성 원료 388건 가운데 73%인 283건이 수입 원료였으며, 2011년 식약청으로부터 신규로 인정받은 기능성 원

료 42건 중 30건이 수입 원료로 건기식 기능성 원료 수입의존도는 심각한 실정임.

- 국내 건강기능식품의 경쟁력을 높이기 위해서 국내 자생식물의 개발을 통해 원료의 의존도를 낮춰야 하며 연구개발 투자를 통해 세계 시장에서 경쟁 가능한 건강기능식품을 사업화하는 것이 필요함.

라. 국내 건강기능식품의 업체 동향

- 국내 건강기능식품 시장의 업체동향은 한국인삼공사가 지난해에도 생산액 4천744억원을 달성하여 '04년부터 계속 1위를 유지하고 있으며, 그 뒤를 이어 ▲(주)한국야쿠르트(697억원) ▲코스맥스바이오(주)(505억원) ▲(주)마임(505억원) ▲(주)태평양제약(411억원) 순으로 나타남.
- 제조·수입·판매 업체수가 87,343개소로 '11년 대비 4.8%증가하였으며, 업종별로는 ▲제조업 2.6% ▲수입업 5.6% ▲판매업 4.7%가 증가함.
- 식약청은 고령화 사회 가속화 등으로 인해 건강기능식품의 꾸준한 성장세가 이어질 것으로 전망하고, 건강기능식품의 안전성과 기능성 관리 강화에 주력해나갈 방침이라고 밝힘.

<표> 연도별 생산실적 상위 10대 업체

(단위: 백만원)

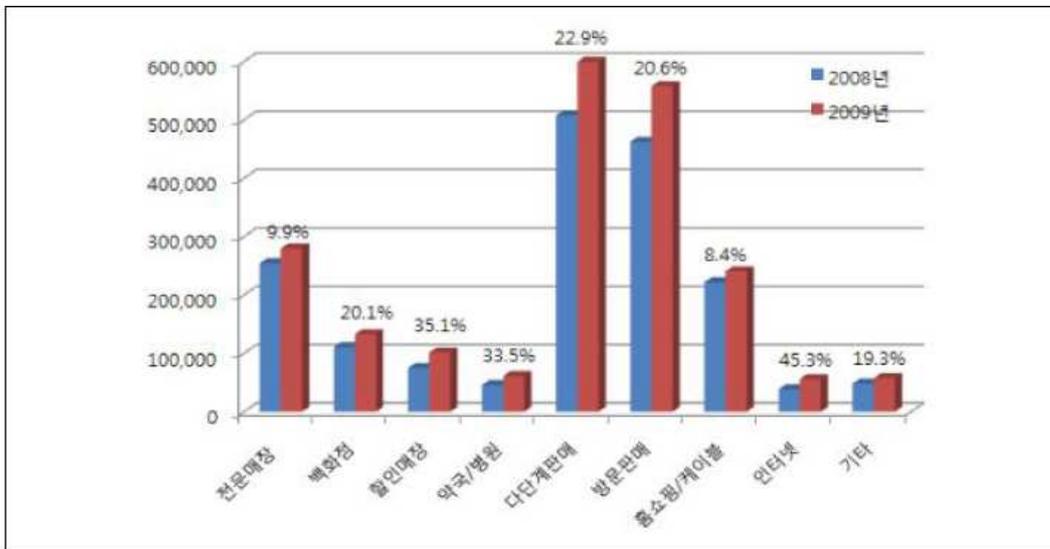
	2007년		2008년		2009년		2010년	
	업체명	금액	업체명	금액	업체명	금액	업체명	금액
1	(주)한국인삼공사	248,473	(주)한국인삼공사	31,3652	(주)한국인삼공사	366,172	(주)한국인삼공사	429,804
2	(주)마임	67,177	(주)마임	58,283	(주)마임	54,564	(주)마임	53,898
3	(주)남양	33,715	(주)남양	34,158	(주)남양	31,175	(주)한국야쿠르트	34,562
4	(주)태평양제약	22,709	(주)텍스진바이오텍	20,317	종근당건강(주)	19,763	(주)남양	30,755
5	(주)텍스진바이오텍	20,382	풀무원건강생활(주)	18,196	일진제약(주)	19,359	(주)태평양제약	24,844
6	(주)세모	16,653	(주)세모	17,732	(주)세모	19,295	(주)서홍캡셀	24,517
7	대상(주)군산공장	16,110	(주)일화	16,916	(주)텍스진바이오텍	17,488	(주)아모레퍼시픽	22,526
8	풀무원건강생활(주)	14,398	종근당건강(주)	16,121	풀무원건강생활(주)	17,247	종근당건강(주)	21,948
9	(주)서홍캡셀	13,875	일진제약(주)	15,779	(주)서홍캡셀	15,962	(주)엘바이오텍	16,843
10	일화(주)	13,392	대상(주)군산공장	14,507	(주)아모레퍼시픽	14,140	풀무원건강생활(주)	16,649

자료원 : 식품의약품안전청

- 수입실적의 경우 '10년 기준 한국암웨이 842억원으로 1위를 차지하였으며, 상위 10개 업체 중 한국암웨이, 매나테크코리아, 뉴스킨코리아, 한국허벌라이프와 같이 다단계 판매 업체가 4개 포함되어 있고, 방문판매업체인 아모레퍼시픽과 유니베라의 관계회사인 남양을 포함하면 직접판매 형태의 업체가 상위에 6개가 포함되어 있어 우리나라의 건강기능식품 유통구조를 수입실적에서 파악할 수 있음.
- 한국건강기능식품협회의 자료에 따르면, 건강기능식품 회사 매출액과 소비자 매출액

은 꾸준히 증가하는 추세를 보이고 있으며, 이는 다양한 개별인정형 제품의 등장, 다단계 판매, 방문판매와 같은 전통적인 판매방식에서 홈쇼핑, 인터넷쇼핑몰, 대형 할인매장, 전문점, 약국, 병원 등 판매유통 채널의 다변화, 대기업 및 제약회사 등의 건강기능식품시장 참여 등 다양한 변화가 일어나고 있기 때문으로 추정됨.

- 건강기능식품 유통채널별 매출액 점유율은 다단계(29.15%)와 방문판매(26.04%)가 매출액의 절반이상을 차지해 건강기능식품의 전통적 판매채널인 직접판매가 여전히 강세를 띄고 있는 것으로 나타남. 전문매장(13.06%), 홈쇼핑·케이블(11.23%), 백화점(6.21%), 할인매장(4.74%), 약국(2.67%), 인터넷(2.62%) 등이 그 뒤를 이음.
- 다단계판매와 방문판매방식의 직접판매의 시장 점유율이 가장 높은 비중을 차지하고 있지만 전년대비 성장률에 있어서는 인터넷 판매가 45.3%로 가장 높은 성장을 하였으며, 그 뒤를 할인매장(35.1%), 약국/병원(33.5%)이 잇고 있어 전통적 판매방식에서의 변화를 엿볼 수 있음.



※ 도표 안 수치는 각 채널별 증가율을 나타냄

출처 : 식품의약품안전처

<그림> 유통채널별 매출현황

- 식품의약품안전처에서 발표한 2011년 건강기능식품 유통시장 현황의 조사에 따르면, 건강기능식품을 구입하는 장소로는 ‘인터넷 쇼핑몰’은 40.1%, ‘건강기능식품 전문판매점’이 30.4%로 나타났으며, 인터넷 쇼핑몰은 ‘저렴한 가격’, 전문판매점과 약국은 각각 ‘자세한 설명’과 ‘신뢰성’이 해당 채널을 선택한 이유로 조사됨.

<표> 유통채널별 매출 현황

(단위: 백만원)

구 분		2008		2009	
		매출액	점유율	매출액	점유율
매장판매	전문매장	254,648	14.23%	279,891	13.06%
	백화점	110,779	6.19%	133,067	6.21%
	할인매장	75,167	4.20%	101,585	4.74%
	약국	42,570	2.38%	57,289	2.67%
	병원	3,240	0.18%	3,850	0.18%
	기타	23,625	1.32%	29,835	1.39%
	소계	510,029	28.5%	605,517	28.25%
직접판매	다단계판매	508,109	28.39%	624,660	29.15%
	방문판매	462,654	25.85%	558,040	26.04%
	소계	970,763	54.24%	1,182,700	55.19%
홈쇼핑/케이ابل		222,036	12.41%	240,727	11.23%
인터넷		38,654	2.16%	56,154	2.62%
기 타		48,343	2.70%	57,676	2.69%
계		1,789,825	100.00%	2,142,774	100.00%

출처 : 식품의약품안전처

마. 건강기능식품의 지속적인 성장

- 세계의 건강기능식품의 규제 및 정의는 국가마다 조금씩 다르게 적용하고 있어 이에 따라 국가 및 지역의 특성에 맞춰 건강기능식품 세계 진출을 모색해야함.
- 맞춤형·복합형 건강기능식품의 개발 및 소비층의 확대에 의한 다양한 건강기능식품 개발이 필요하게 됨에 따라 과거 표준화된 제품과 단순한 건강관리 차원에서의 건강기능식품을 넘어 면역증진, 항 당뇨, 피부개선(아토피) 등 각 연령별 특성에 맞는 다양화된 제품을 생산하는 형태로 변화할 전망이다.
- 소비자 요구에 따른 새로운 기능성 원료를 이용한 개별인정형 제품의 시장이 새롭게 부각되고 있으며, 기존에 존재하는 원료에서 벗어나 치료 효능을 가진 개별인정형 원료가 발견되면 신규시장을 창출할 수 있는 잠재적 가능성이 내재되어 있어 대기업들이 개별인정형 원료를 찾는 데 주력하고 있음.
- 또한, 발효식품을 포함해 식품산업은 4조 달러가 넘는 거대 시장으로 자동차의 2.5배에 달하며 발효식품은 대표적인 장수식품으로 식품산업 분야 중에서도 두드러진 발전을 보이고 있으며 육성해야 할 발효산업 분야는 최근 소비가 폭발적으로 늘어나고 있음.
- 고령화 사회 가속화 등으로 인해 건강기능식품의 꾸준한 성장세가 이어질 것으로 전망하고 있으며, 최근 건강에 대한 소비자들의 관심이 체중 조절과 체력 향상을 돕는 건강 증진용 제품 및 항 당뇨, 간 기능, 관절제품의 판매 확대에 연결되면서 예방 및 치료개선 제품으로 수요가 늘고 있음.

## 제3장 연구수행 내용 및 결과

### 제1절. 기초 실험연구

#### 1. 자색고구마 발효 최적 조건 설정

##### 가. 미생물 선발

- 자색고구마를 세척하여 추출후 경북바이오벤처프라자의 고유기술로 무증자로 분말화하여 사용한다.
- *Lactobacillus bulgaricus*, *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus plantarium* 등의 분리 유산균을 사용한다.
- 배지에 자색고구마분말(80mesh)을 0%(w/v), 5%, 10%, 15%, 20% 첨가하여 종균들의 생육상태 및 포자형태를 비교하여 최적 미생물을 탐색한다.

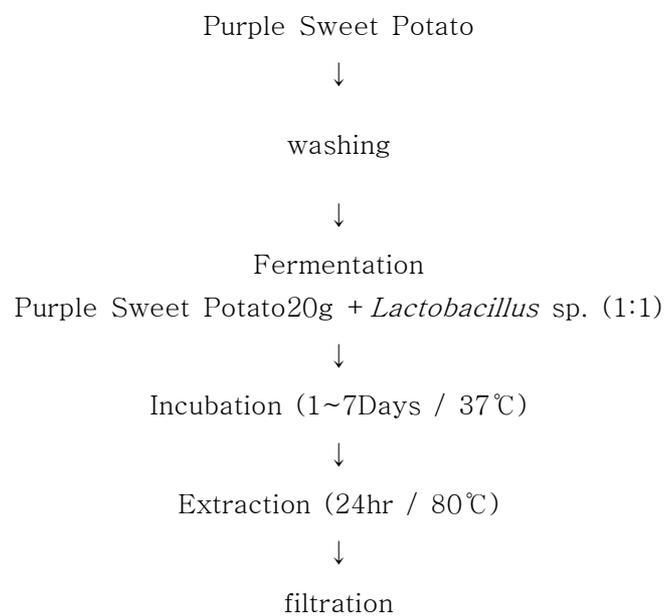
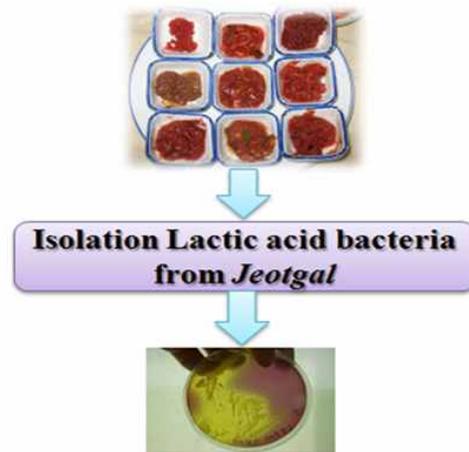
##### 나. 발효 최적 조건 탐색

- 1차 분리된 최적 미생물을 액체 배양한 후 자색고구마분말에 분리 균주 및 접종 량에 따른 발효 최적 조건을 탐색한다.
- 온도 : 25℃, 30℃, 35℃
- 습도 : 70%, 80%
- 자색고구마분말과 미생물균주의 접종비율의 최적화

##### 다. 결과

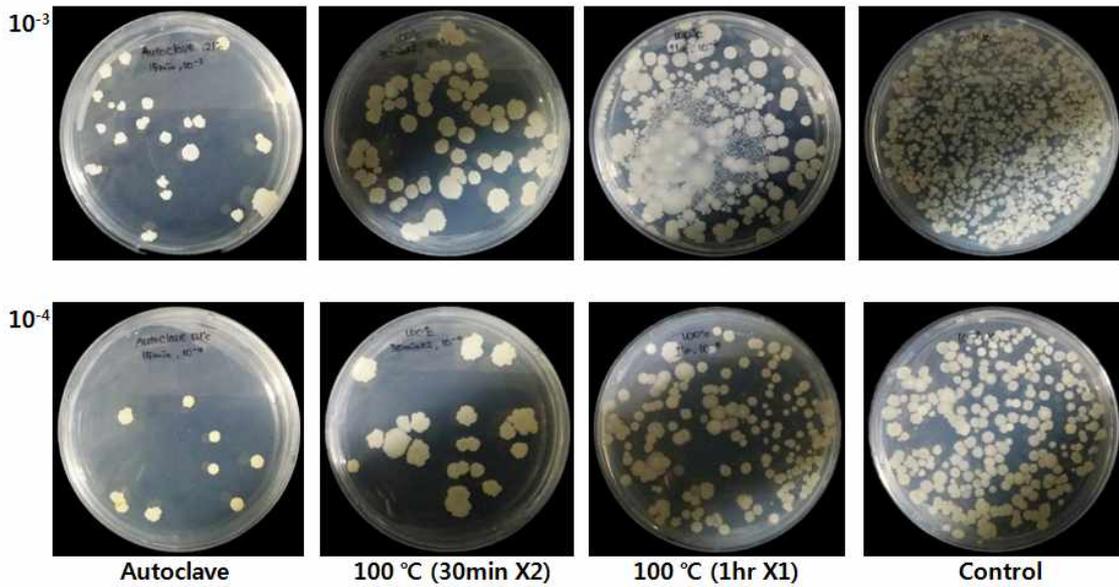
우리나라 전통 발효식품(젓갈, 김치, 장류, 장아찌, 발효액 등)에는 다양한 기능성이 함유 되어 있다고 기보고 되어지고 있으며, 최근 웰빙시대에 그 소비가 증가되고 있다. 이러한 전통발효 식품의 주된 발효 균주는 일반적으로 *Bacillus sp.*, *Lactic acid bacteria*, *Aspergillus oryzae* 등이 발효의 주축이 되어 국내 전통발효 식품의 기능성에 대한 우수성을 보이고 있다. 우리가 먹는 전통발효식품으로부터 기능성을 보이는 균주인 GRAS급을 쉽게 분리 할 수 있어 본 연구 과제에서는 무증자 발효를 위해 종균으로 사용할 수 있는 유산균을 우리나라 전통 발효식품으로부터 발효능이 우수한 균주를 분리하였다. 분리 방법은 BCP배지와 MRS 배지를 이용하여 100여종의 균주로부터 GABA생성 및 발효능, 항균활성을 조사하여 발효균주를 선별하였다. 유산균의 최적 발효 온도 조건은 37℃로 조사되어 모든 발효 공정은 37℃에서 실시하였다.

무증자 자색고구마 발효의 경우 기존 방법에 따라 분말을 이용하여 발효를 할 경우 수분조절이 어려우며, 수분에 의한 분말의 뭉침 현상으로 발효 진행되지 않고, 오염이 되는 현상을 보여 자색고구마를 깎뚫썰기를 하여, 세로 1cm미만의 크기로 정단하여 자색고구마로 발효를 실시하였다.



본 연구의 무증자 발효에 있어서 가장 문제시 될 수 있는 것은 열을 가하지 않아 발효 시 오염으로 인한 문제점이 부각될 수 있다. 그림에서 보는 바와 같이 무증자의 경우 시간이 지날수록 오염으로 인해 문제가 발생하고 유사한 오염균주가 지속적으로 발생하는 것을 볼 수 있었다. 이러한 무증자 발효의 오염에 대한 문제가 심각하여 오염에 항균력을 보이는 유산균을 발효전에 먼저 분리하여 분리된 유산균의 항균력을 이용하여 무증자 발효시 오염을 막을 수 있는 방법을 선택하여, 오염균의 증식을 억제하면서 무증자를 통한 유산균주를 선별하여, 발효에 이용하였다.

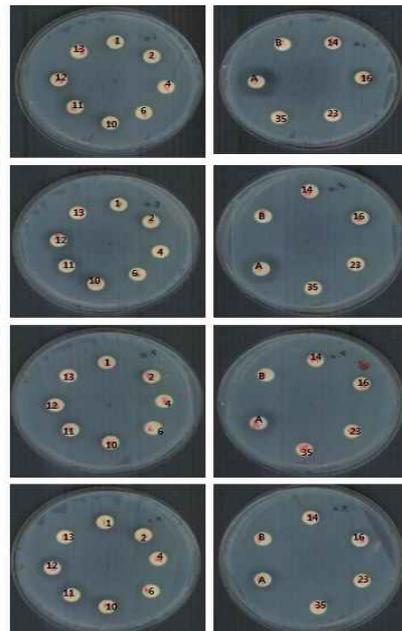
오염균주는 그림에서 보는 바와 같이 멸균처리 또는 간헐 멸균 등 다양한 멸균을 하여도 균이 증식하는 것으로 나타나 유산균을 이용한 오염균 제어가 무증자 발효에 있어 가장 큰 키포인트로 보인다.



<그림> 자색고구마 발효 시 발생하는 오염 균주

오염균의 항균력을 보이는 유산균을 선별하기 위해, 1차적으로 분리한 유산균을 발효시 오염을 유발한 균주를 분리하여 액체배양한 후 오염균의 농도를 O.D값 0.1, 0.3, 0.5, 0.7로 조정하여 유산균 배양액으로 항균활성을 보기 위해 paperdisc법을 통해 실험하였으며, 오염균에 대한 활성이 높은 유산균 그림에서와 같이 7종을 최종 선발하였으며, 이들 균주를 이용하여 무증자 발효에 사용하였다.

		0.1	0.3	0.5	0.7
1	D1-8 황고출배기	10.48	10.48	9.89	10.32
2	#59 동박하	10.68	10.77	10.41	10.98
4	AML 19-1 해남/갈치	0	0	0	0
6	La ( KCTC3171)	0	0	0	0
10	Lb ( KCCM40017)	12.74	12.67	11.11	11.56
11	AML 50-2 여수/갈치	12.87	12.94	12.12	11.58
12	AML2-1 다조해/변당이	12.45	12.46	12.1	11.62
13	AML 72	0	0	0	0
14	#45-1	9.61	9.69	0	0
16	Lb HLU59	12.65	11.46	10.06	10.26
23	Lp ( KCTC13093)	0	0	0	0
35	갈치내장젖 #34	0	0	0	0
A	술나라	17.49	14.03	13	12.69
B	KI-5A-4	0	0	0	0



<그림> 분리 유산균의 자색고구마 발효 오염균에 대한 항균 활성

발효조건에 있어서 미생물의 증식을 위해서 먹이원도 필요하지만, 수분의 함량에 따라 발효의 여부가 좌우 될 수 있다. 유산균을 이용한 자색고구마 무증자 발효를 위해 수분 조절을 30%까지 조절을 하여 발효를 실시하였으나, 오염 또는 수분의 부족으로 인해 수분조절을 유산균 배양액을 이용하여 수분을 조정하면서 발효균주의 seed로 사용하기 위해, 자색고구마 비율과 동일량인 1:1의 접종량을 선택하였다. 그 결과 1:1 처리 하였을 경우 수분 함량이 44.14%-47.50%로 조사 되었으며, 발효 후 31.04-34.43%조사 되었다.

❖ 자색고구마 발효를 위한 수분첨가시 성상비교



Moisture content				
	Contol	1:1	After 1days	발효 후
자색고구마	1.41-1.72%	44.14-47.50%	45.24-48.84%	31.04- 34.43%

균접종시 아래 표로 접종하였다.

<표> 자색고구마 발효 시 접종균수

		자색고구마 발효 시 균주의 접종CFU
1	D1-8	4.8x10 <sup>9</sup> CFU/ml
2	#59	4.2x10 <sup>9</sup> CFU/ml
10	L. b 40017	5.8x10 <sup>9</sup> CFU/ml
11	AML 50-2	5.3x10 <sup>9</sup> CFU/ml
12	AML2-1	6.1x10 <sup>9</sup> CFU/ml
16	L. b HLJ59	6.9x10 <sup>9</sup> CFU/ml
A	Sol	6.7x10 <sup>9</sup> CFU/ml
Mix		5.8x10 <sup>9</sup> CFU/ml

## 2. 자색고구마 일반성분 및 항산화 활성 평가

### 가. 연구방법

#### - 총 탄수화물 검사

phenol-sulfuric acid 방법을 이용하여 측정한다. 포도당의 농도가 0.0~ 0.1 mg/mL(100 µg/mL)인 표준용액을 제조한다. 포도당의 표준용액 1 mL에 80% phenol을 처간 후에 vortex mixer를 사용하여 잘 혼합한다. 위의 혼합물에 5 mL의 진한 황산을 첨가한 후에 골고루 섞어 준다. 수돗물을 사용하여 반응액을 온도를 낮춘 후에 spectrophotometer를 사용하여 490 nm에서 흡광도를 측정한다. 표준용액을 사용하여 얻은 흡광도를 이용하여 표준곡선을 작성한다.

#### - Total polyphenol 함량

총 폴리페놀 함량 측정은 Folin-Denis법을 일부 변형하여 측정한다. 즉, 원심분리한 상등액의 농도별 시료 50µl에 2% Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 용액 1ml을 가하고, Folin & Ciocalteu's phenol reagents 50µl를 혼합한 다음 실온에서 30분간 반응시킨 후 760 nm에서 흡광도를 측정한다. 표준물질로는 tannic acid (Sigma co., USA)를 사용하여 시료와 동일한 방법으로 분석하여 작성한 검량선으로 부터 총 폴리페놀 함량을 계산한다.

#### - Total flavonoid 함량

Total flavonoid의 함량측정은 Davis법을 변형한 방법에 따라 측정한다. 시료 400ul에 90% diethylene glycol 4 ml을 첨가하고 다시 1N NaOH 40 ul를 넣고 37°C에서 1시간 반응 후 420nm에서 흡광도를 측정. 표준물질로 rutin을 사용한다.

#### - DPPH 활성 측정

1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging activity를 조사하여 평가하기 위해 200 µM DPPH 1 ml와 시료 1ml를 혼합하여 37°C, 암소에서 30분 동안 반응시킨 후, 517nm에서의 흡광도를 측정한다. DPPH radical 소거능(%)은 식 [(control - sample)/control]×100에 의하여 산출하였다. 또한 그 대조군으로 비타민 C를 이용한다.

#### - SOD 유사활성

SOD 유사활성은 과산화수소를 전환시키는 반응을 촉매하는 pyrogallol의 생성량을 측정하여 SOD 유사활성으로 나타낸다. 시료 10ul에 pH 8.5로 Tris-HCl buffer (50mM Tris [hydroxymethyl] amino-methane + 10mM EDTA) 130ul와 7.2 mM pyrogallol 10 ul를 첨가하여 25°C에서 10분간 반응 후, 1N HCl 10 ul를 가하여 반응을 정지시킨다. 반응액 중 산화된 pyrogallol의 양은 420 nm에서 흡광도를 측정한다. SOD 유사활성은 배양액의 첨가구와 무첨가구 사이의 흡광도의 차이를 백분율 (%)로 나타낸다.

SOD-like activity = {1-(시료첨가구 흡광도/무처리구의 흡광도)} × 100

## 나. 결과

### - 총 탄수화물 검사

총탄수화물 함량을 조사 한 결과 자색고구마의 총탄수화물 함량은 80% 이상으로 조사 되었으며, 그 중 glucose 함량의 경우 62.5%로 조사되어 발효시에 보당을 첨가 하지 않고 발효에 이용이 가능하다.

### - Total polyphenol 함량

Total polyphenol 함량의 경우 분리 유산균 1, 2, 10을 이용하여 발효한 를 제외한 나머지 처리구에서 Control보다 높은 것으로 조사되었다. 유산균 A균주를 이용하여 무증자 발효한 자색고구마의 경우 Control 보다 높은 401.61 ppm으로 나타났다. 폴리페놀 함량의 경우, 대부분의 유산균을 이용한 무증자 발효구에서 발효 초기보다 발 시간이 지날수록 폴리페놀함량이 함량이 더 높게 나타남을 확인하였다. 이러한 결과는 발효에 따른 안토시안닌 물질과의 상관관계로 보여진다.

### - Total flavonoid 함량

Total flavonoid 함량은 발효를 하지 않은 Control과 대체로 유사한 결과를 나타냈으며, 대부분의 유산균을 이용하여 무증자 발효한 처리구에서 발효 후반기보다 발효 초기에 함량이 더 높게 나타나 폴리페놀함량의 변화에 따라 플라보노이드의 함량이 같이 증가하지 않는다는 것을 확인하여, 향후 발효 조건 및 발효 정지 시점을 선정하는데 참조를 하여야 할 것으로 보인다.

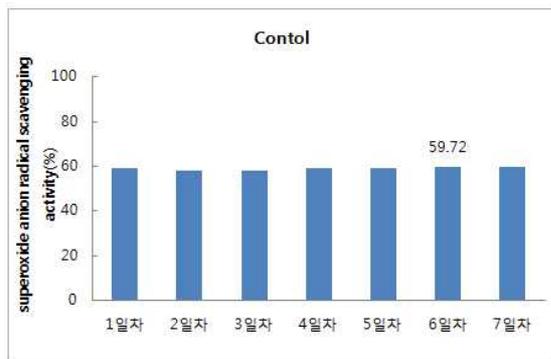
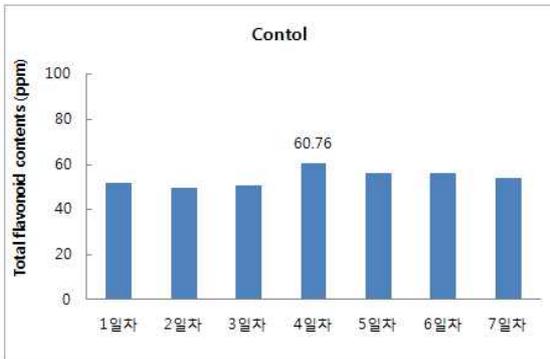
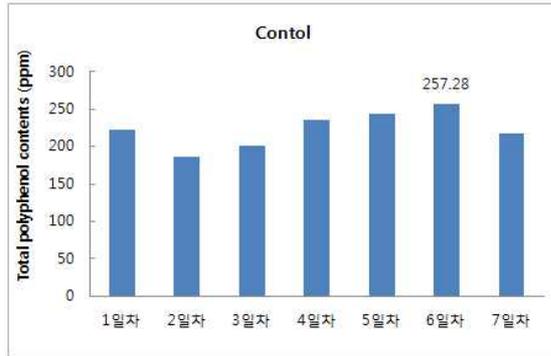
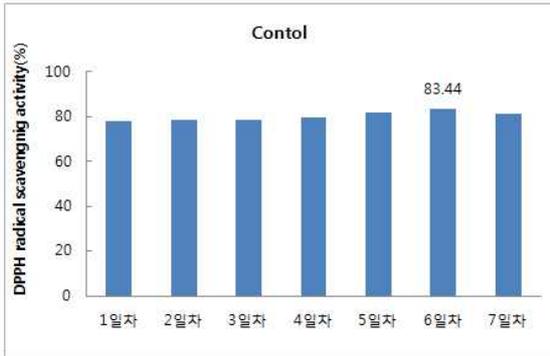
### - DPPH 활성 측정

DPPH활성의 경우, 발효를 하지 않은 Control(6일차)에서 83.44%로 가장 높은 활성을 나타냈으며, 유산균 A(6일차)균주를 이용하여 무증자 발효한 경우 82.67%로 대조구와 큰차이를 보이지 않는 것으로 조사되었다. 양성대조구인 비타민 C 50ppm의 활성인 37.04%보다 2배이상 높은 활성을 보였다.

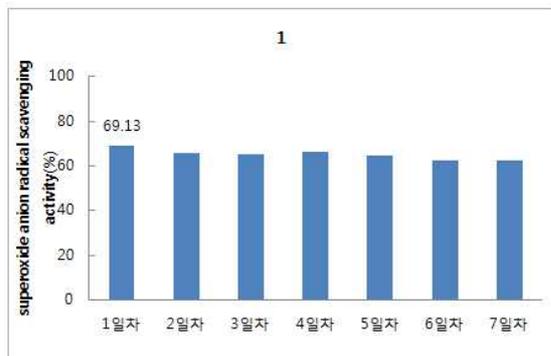
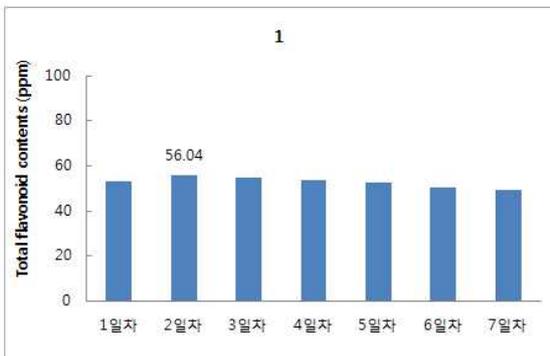
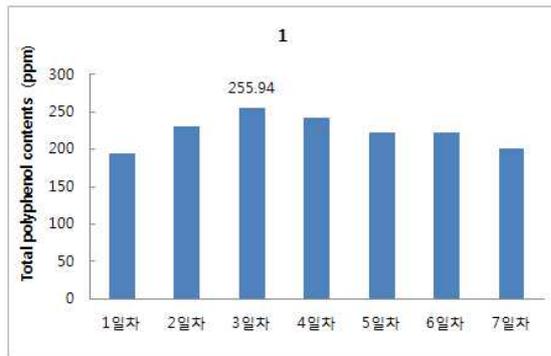
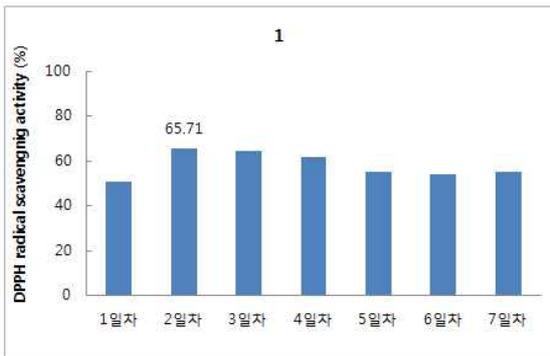
### - SOD 유사활성

SOD유사활성의 경우, 유산균 무증자 발효처리구 모두 Control의 활성 59.72%보다 높은 활성을 나타냈다. 그중 유산균 16, A, Mix 무증자 발효 처리구에서는 75%이상으로 control 보다 20%이상 높은 활성을 보였다.

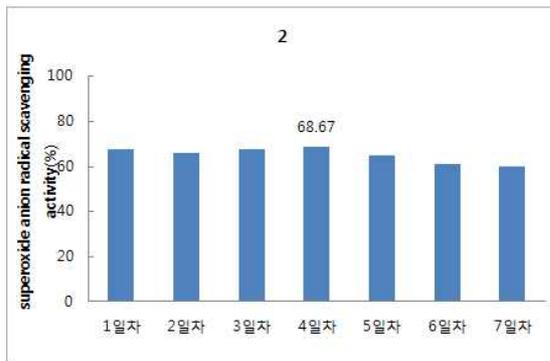
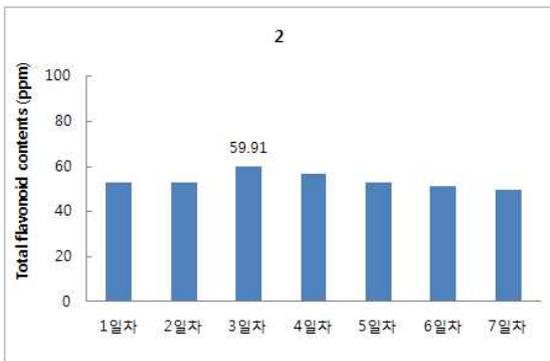
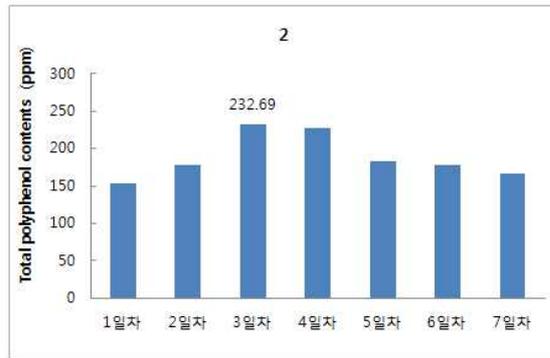
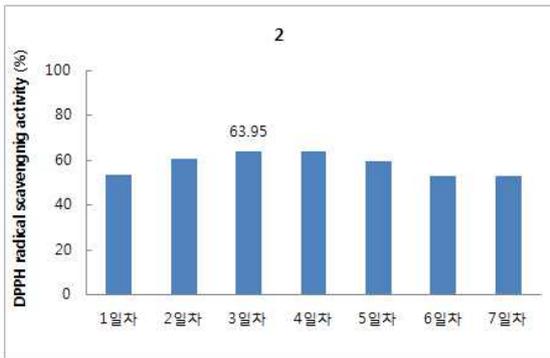
❖ 자색고구마(Control) 생리활성



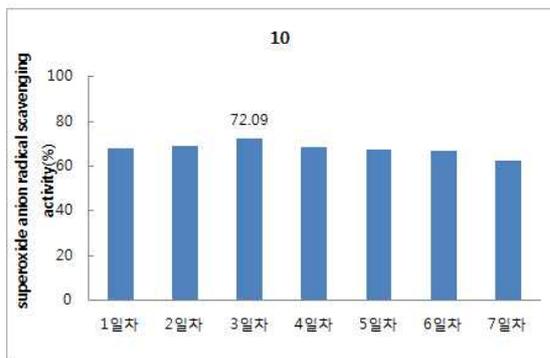
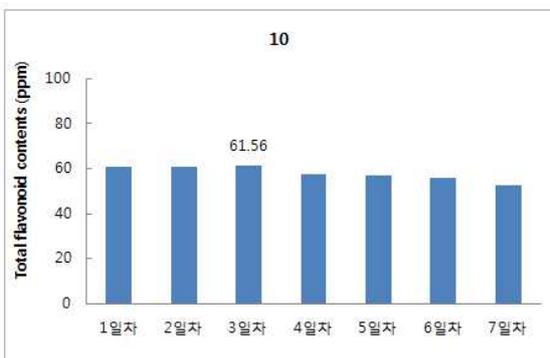
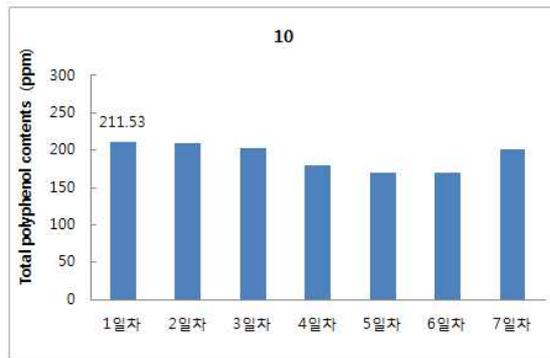
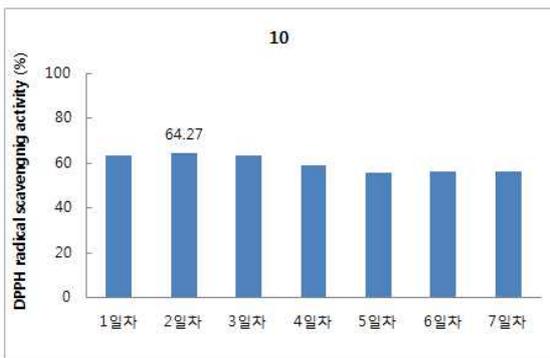
❖ 무증자 발효 자색고구마의(유산균1) 생리활성



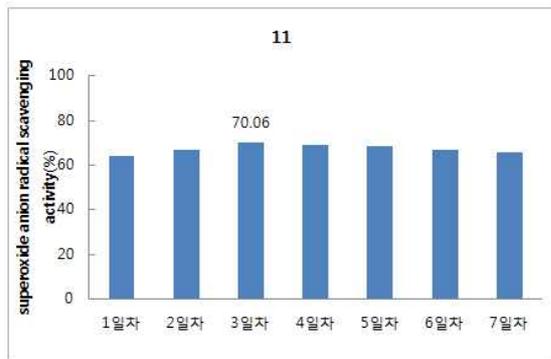
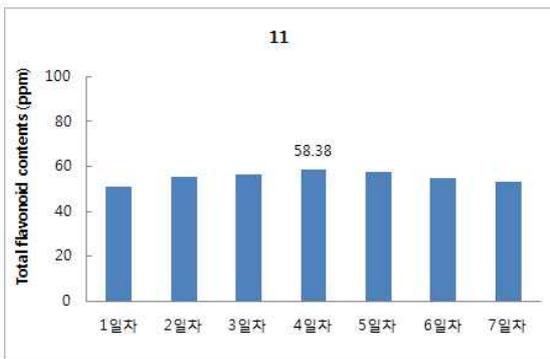
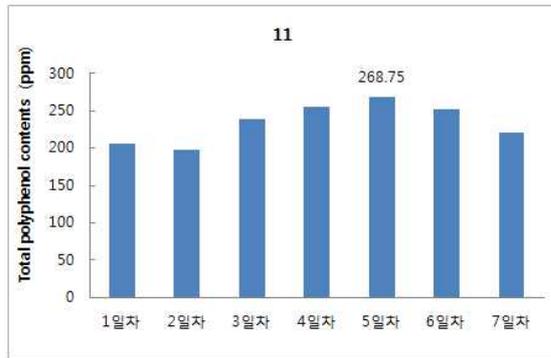
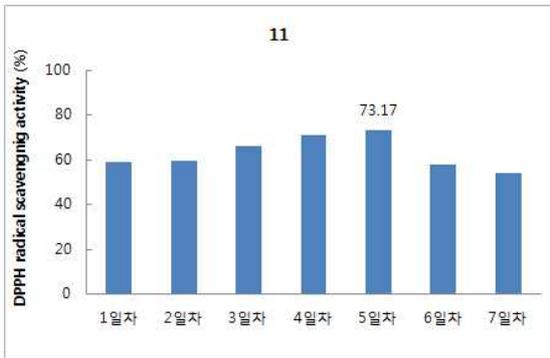
❖ 무증자 발효 자색고구마의(유산균2) 생리활성



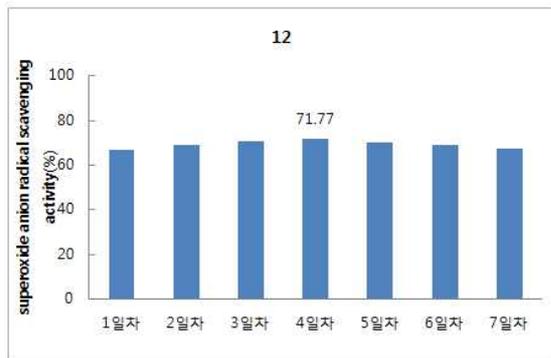
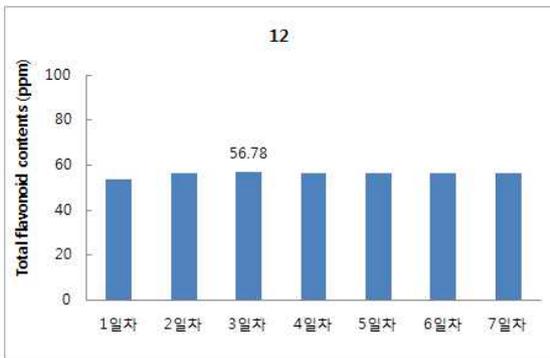
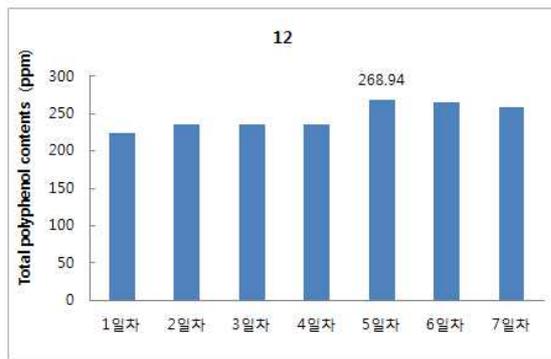
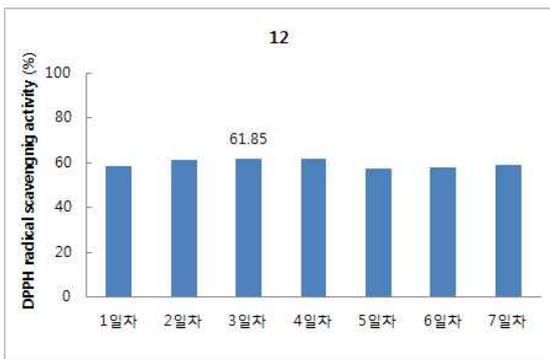
❖ 무증자 발효 자색고구마의(유산균10) 생리활성



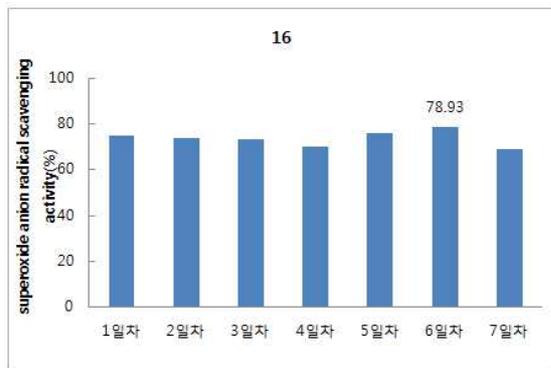
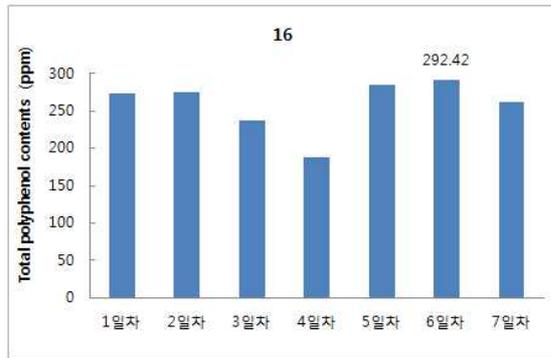
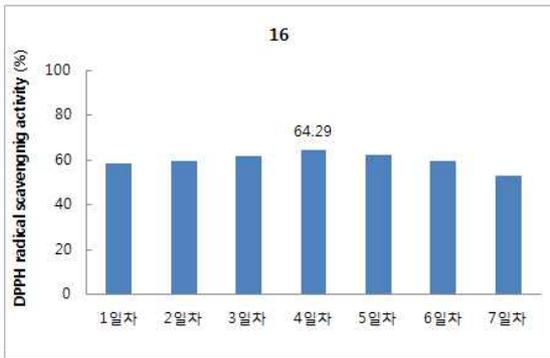
❖ 무증자 발효 자색고구마의(유산균11) 생리활성



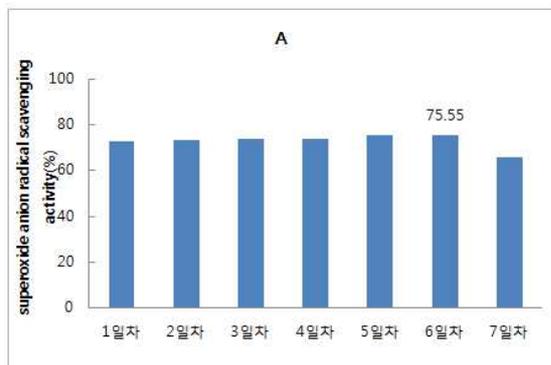
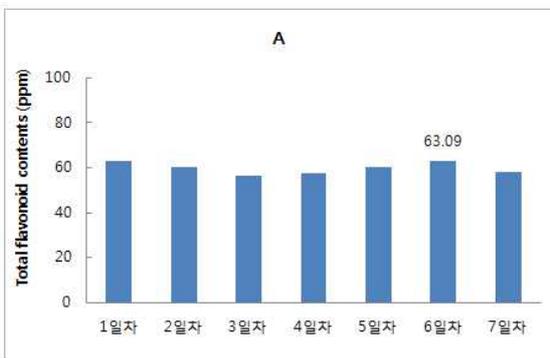
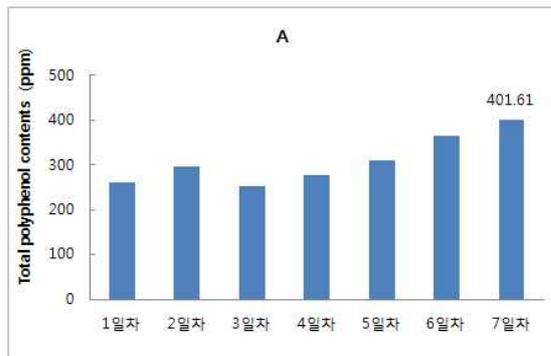
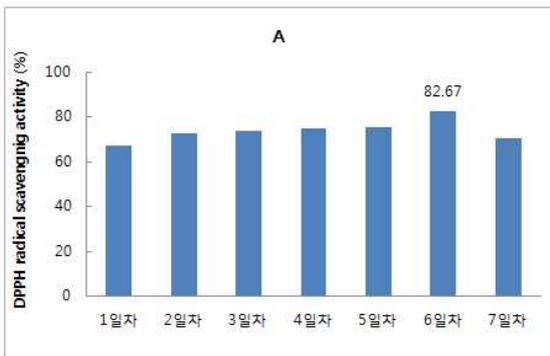
❖ 무증자 발효 자색고구마의(유산균12) 생리활성



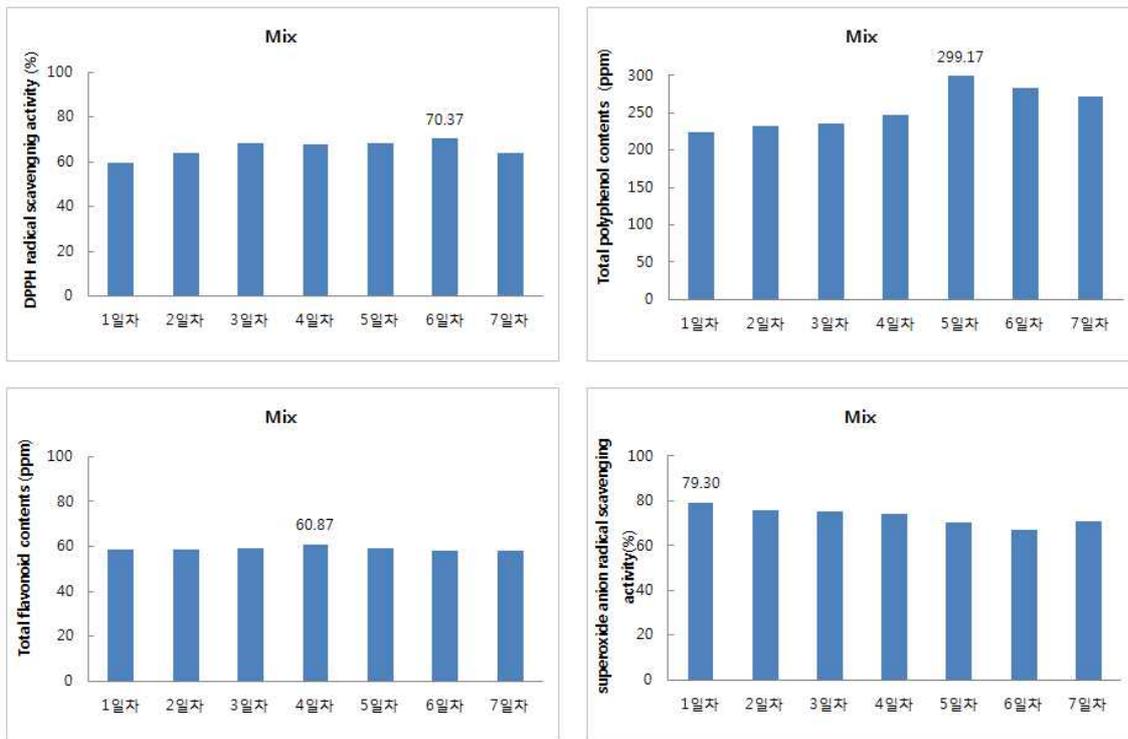
❖ 무증자 발효 자색고구마의(유산균16) 생리활성



❖ 무증자 발효 자색고구마의(유산균A) 생리활성



### ❖ 무증자 발효 자색고구마의(유산균Mix) 생리활성



<그림> 분리 유산균을 이용한 무증자 발효에 따른 생리활성 측정

이상의 분리 유산균을 이용하여 발효 균주로 최적화된 균주를 선별하기 위해 생리활성에 대해 분석한 결과 분리균주 유산균이 유의적으로 상관 관계를 보이는 것으로 조사 되었다. 총 플라보노이드의 경우 대조구 60.76mg/g, 실험구의 경우 56.04-63.09mg/g으로 큰 변화가 없는 것으로 조되었다. 하지만 총 폴리페놀의 경우 대조구 257.28 mg/g보다 A 유산균의 경우 발효 시간이 길어질수록 1.5배이상 높은 401.61mg/g으로 조사되었으며, 분리 균주들 중에서도 월등히 총 폴리페놀 함량이 높은 것으로 조사되었다. DPPH활성의 경우, 발효를 하지 않은 Control(6일차)에서 83.44%로 가장 높은 활성을 나타냈으며, 유산균 A(6일차)균주를 이용하여 무증자 발효한 경우 82.67%로 대조구와 큰차이를 보이지 않는 것으로 조사되었다. 하지만 발효 시간에 따라 다소 감소하는 경향을 보여 유산균 발효시 발효 정지 시점에 따라 시료의 활성도의 차이를 보이는 것으로 사료된다. SOD유사활성의 경우, 유산균 무증자 발효처리구 모두 Control의 활성 59.72%보다 높은 활성을 나타냈다. 그중 유산균 16, A, Mix 무증자 발효 처리구에서는 75%이상으로 control 보다 20%이상 높은 활성을 보였다. 이상의 결과로 보아 분리 균주인 A균주를 무증자 자색고구마 발효 균주로 활용하면 기능성 제품개발에 필요한 원료로 사용이 가능할 것으로 보인다.

### 3. GABA 함량 분석

#### 가. 실험방법

##### - TLC에 의한 GABA 정성 분석

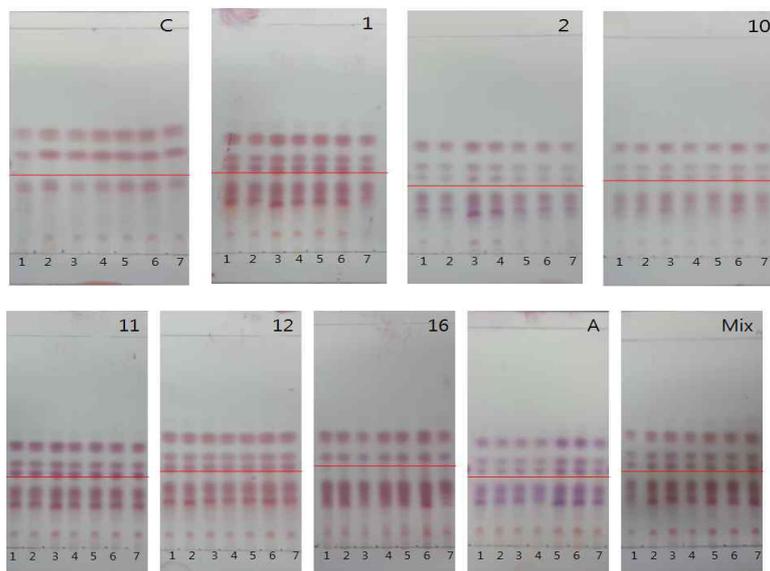
발효고구마의 GABA 정성적 분석을 위해 발효고구마 1g에 80% 에탄올 20 ml을 첨가하여 3000rpm에서 15분간 원심분리하고 그 상등액을 silicagell plate에 점적 후 n-Butanol : Acetic acid: H<sub>2</sub>O (5:3:2, V:V:V)의 용매를 사용하여 전개한 다음 ninhydrin reagent를 분무하여 발색으로 정성 분석을 한다.

##### - HPLC에 의한 GABA 정량 분석

발효고구마의 GABA 함량 측정은 HPLC 분석으로 상등액을 0.45um membrane filter로 여과하고, 시료와 0.2M Sodium bicarbonate solution (pH9.8)을 1:9로 희석한 후, 유도체화 시약인 dansyl chloride로 시료에 8.0g/L가 되게 혼합한 후 빛을 차단하여 30℃, 1시간 동안 반응시킨 후 분석한다. 분석조건은 이동상 tetrahydrofuran-methanol- 50mM pH 6.2 sodium acetate (5:75:420, V:V:V)가 혼합된 용매와 Methanol을 사용하여 gradient 조건 100:0 (0분), 60:40 (10분), 0:100(40분)으로 유속 1ml/min, 컬럼 C18 (4.6x250cm)를 사용하며, 오븐온도는 40℃, UV-detector 280nm에서 분리하고, GABA표준 용액을 제조하여 표준곡선으로 사용하여 함량을 구한다.

#### 나. 결과

- 분리 유산균을 이용하여 무증자 발효한 자색고구마를 추출물 시료는 5배로 희석하여 실험에 사용하여 GABA의 정성적 분석을 TLC를 통해 확인하였다. 그 결과 자색고구마 Control에서는 GABA를 관찰 할 수 없었으나, 유산균을 이용하여 무증자 발효 과정을 거친 자색고구마에서는 모두에서는 GABA가 관찰되었다.



<그림> 유산균 무증자 발효 자색고구마의 GABA TLC 정성 분석

#### 4. ACE-저해활성 검정

##### 가. 실험방법

- 고혈압의 원인은 renin-angiotensin system이 중요한 역할을 하는데, 여기에는 angiotensin-converting enzyme (ACE)이 관여하여 이를 확인하고자 제조된 효모발효부추효소액을 실험구로 이용하여 ACE 저해능은 Cushman과 Cheung [1971. Biochem. Phamacol.]의 방법에 준하여 다음과 같이 조사한다. 0.4 M NaCl을 함유한 0.1 M sodium borate buffer (pH 8.3)에 Hip-His-Leu 12.5 mM을 녹인용액 100  $\mu$ l, ACE 100  $\mu$ l, 시료 50  $\mu$ l를 혼합하여 37°C에서 30분간 반응시킨 후, HCl을 첨가하여 반응을 중지시킨다. 여기에 ethylacetate를 첨가하여 반응산물을 추출한 후, 완전히 건조시켰다. 건조물에 증류수를 첨가하여 229 nm에서 흡광도를 측정하며, ACE 저해율(%)은 식  $\{[(\text{control-control blank})-(\text{sample-sample blank})]/(\text{control-control blank})\} \times 100$ 에 의하여 산출한다. 사람의 고혈압은 ACE에 의해 초래하기 때문에 ACE의 활성을 저해할 수 있다면 고혈압을 예방할 수 있다.

##### 나. 결과

- 유산균을 이용하여 무증자 발효 자색고구마의 고혈압에 대한 활성을 조사하기 위한 ACE저해 활성 실험의 경우 기본적으로 생리활성이 우수하다고 판단되는 3일차를 기준으로 실험을 실시하였다. 향후 발효 최적화에도 3일을 기준으로 실시하였다. 유산균 무증자 발효 자색고구마 모두 ACE저해활성이 Control 59.64% 보다 높은 활성을 나타냈으며, 특히 유산균 11, 16, A와 Mix 무증자 발효처리구의 경우 ACE저해활성이 매우 우수한 것으로 조사되어 향후 고혈압과 관련된 기능성 식품으로의 활용이 가능할 것으로 판단되어진다.



<그림> 유산균 무증자 발효 자색고구마의 ACE저해활성

## 5. 항비만활성 검정

### 가. 실험방법

- 비만이란, 신체 에너지의 섭취와 소화의 불균형으로 발생하는 과도한 에너지가 체지방으로 축적되어 나타나는 상태로 최근 들어 전반적인 신체활동 감소, 동물성 포화지방 섭취 증가 등의 영향으로 비만 발병이 급격히 증가하고 있으며, 이러한 비만 인구의 증가는 차후 사회적, 경제적으로 심각한 문제를 야기할 가능성이 높으므로 비만을 효과적으로 관리하는 것이 중요하다. 지방조직의 성장은 크게 두가지로, 첫째 지방크기가 증가되는 것과 둘째 새로운 지방세포가 preadipocyte로부터 분화되는 것이다. 생쥐의 섬유세포에서 유래된 preadipocyte인 3T3-L1 세포는 in vitro에서 분화유도물질인 MDI를 첨가하였을 때 지방세포로 전환되는데 이 과정에서 지방세포에서 발현되는 전사인자들이 지방세포로 분화되는 과정에 발현되어 in vitro에서 일어나는 지방분화 과정과 유사한 형태를 보인다. 본 연구에서는 3T3L-1지방전구세포를 시료 추출물을 농도별 처리하여 지방세포의 분화억제 효과를 중성지방인 TG assay와 Oil Red O 염색을 통하여 세포내 지방축적의 정도를 알아보고자 한다.

### - 3T3-L1 세포에 대한 독성 분석

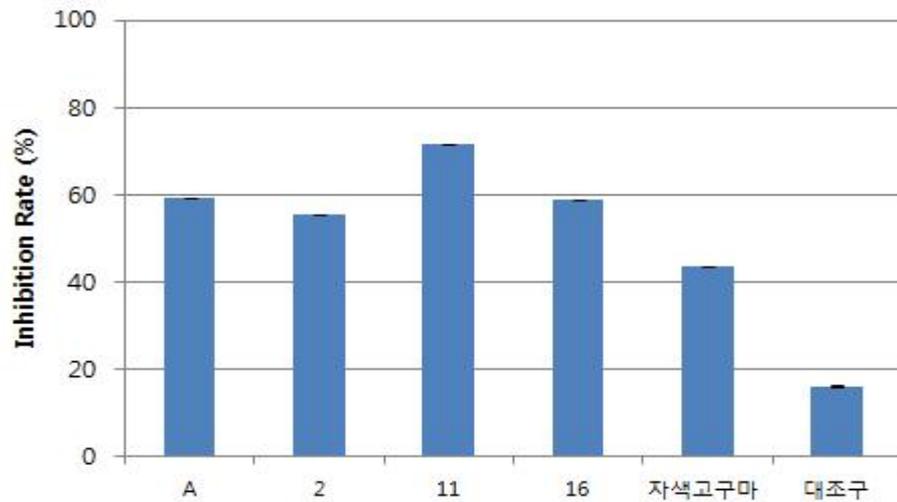
시료 추출물의 세포에 대한 독성 측정은 MTT assay방법으로 분석한다. 이는 Mitochondrial dehydrogenase에 MTS가 formazan으로 전환되는 것을 측정하는 것이다. 96well plate에  $1 \times 10^4$  cells/well의 3T3-L1세포를 각 분주하고 시료를 농도별로 18시간 처리한다. Well 당 20ul의 MTT solution을 첨가하여 37°C 5% CO<sub>2</sub> 배양기에 4시간 동안 반응시킨 후 450nm에서 흡광도의 변화를 측정하여 대조군에 대한 세포생존율을 백분율로 표시한다. 농도별 시료가 갖는 흡광도는 세포를 뺀 배지를 같은 양이 배양하여 대조군과 실험군의 흡광도를 비교하여 보정한다.

$$\text{Cell viability (\%)} = 100 - (A - B) / A \times 100$$

A: 대조군의 흡광도    B: 시료처리군의 흡광도

### 나. 결과

- 유산균 무증자 발효자색고구마 추출물의 지방 세포에 대한 독성을 조사하기 위해 5%, 10%, 20%를 설정하여 3T3-L1각각 처리하여 세포의 독성 여부를 조사한 결과 10%와 20%에서는 모두 독성을 받는 것으로 조사 되었다. 이러한 결과는 70% 에탄올 추출물로 인해 에탄올의 함량에 따라 저해활성이 나타난 것으로 보이며, 5%의 경우 대조구에서도 용매에 대한 독성이 보이지 않아 5%의 값으로 실험을 진행하였다. 또한 5%이상의 추출물을 선택한 이유는 제형화하였을 때 무증자 자색고구마 추출물의 함량을 높이기 위해 5%이상으로 실험을 실시하였으며, 향후 농도에 따른 조사를 실시할 것이다. 그 결과 유산균 11 균주를 이용한 무증자 발효 자색고구마의 경우 70%이상의 3T3-L1의 생육을 억제 하는 것으로 조사되었으며, 유산균 무증자 발효자색고구마가 전반적으로 대조구인 자색고구마 추출물보다 지방세포에 대한 저해활성이 우수한 것으로 조사되었다. 이러한 결과로 향후 유산균 무증자 발효자색고구마 추출물을 통해 다이어트 식품군 개발이 가능 할 것으로 사료된다.



<그림> 유산균 무증자 발효 자색고구마의 3T3-L1의 생육저해활성

- 3T3-L1세포를 이용한 지방세포 분화 억제 효과 분석

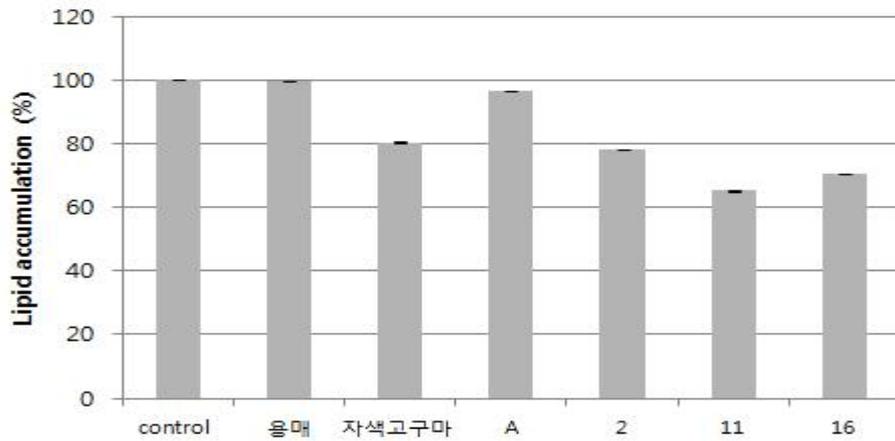
지방전구세포를 DMEM (10% FBS + 1% penicillin-streptomycin P/S)을 이용하여 37°C 5% CO<sub>2</sub> 배양기에서 배양한다. 3T3-L1 지방전구세포를 분화 유도하기 위해 6well plat의 각 well에 1.25x10<sup>5</sup> cells/well로 분주하고 2일 후 배지를 교환하여 3-4일째에 세포가 포화상태가 되게 한다. 포화상태에서 10%FBS와 MDI solution (0.5 mM 3-iso butyl-1methylxanthine, 1 uM dexamethsone, 5 ug/ml insulin)을 처리하여 분화를 유도, 이때 시료가 지방세포분화에 미치는 영향을 관찰하기 위해 무증자자색고구마 추출물을 각 농도별 처리를 한다. 분화 유도 2일 후 배지시료, 10% FBS, 1% P/S, 5ug/ml insulin이 포함된 DMEM으로 교환하고, 분화 유도 4일째부터는 2일에 한번씩 10% FBS와 1% P/S가 포함된 DMEM으로 교환하여 세포를 분화시킨다.

- Oil red O 염색과 TG정량

염색할 세포가 있는 배양용기에 세포배양액중에 TG의 정량분석에 사용하기 위해 1ml을 따로 옮기고, 나머지 세포배양액을 제거한 후 PBS로 2회 세척한다. 실온에서 10% formlin으로 60분간 고정한다. 다음 고정액을 제거한 후 다시 PBS로 3회세척한다. 지방세포 내의 염색을 위해 필터지로 여과한 Oil Red O용액으로 실온에서 60분간 처리한다. 다음 PBS로 2회 세척하면 지방구만 붉은 색으로 염색되는데 이러한 염색된 지방구를 도립현미경으로 관찰하고 사진으로 기록한다. 수거된 세포배양액은 배양액 내 중성지방의 잔류량을 측정 할 수 있는 LabAssay<sup>TM</sup> Triglyceride kit (Wako pure chemical Instruments. Ltd., Osaka, Japan)를 이용하여 분석한다.

- 결과

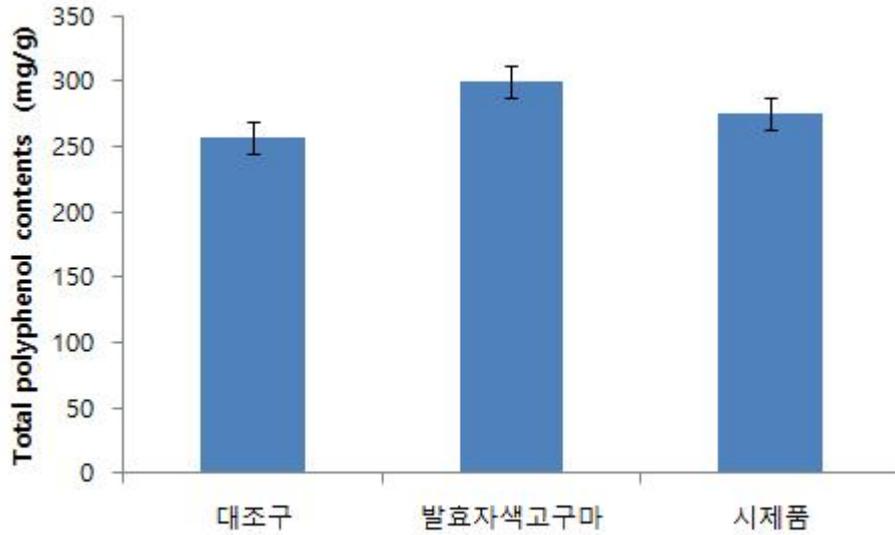
현재 3T3-L1 세포를 배양을 defferentiaion 진행중이며, postdifferentition 과정을 거쳐 인슐린 IBMS, dexamethason과 시료를 5%로 처리하여 중성지방 제어에 대한 실험결과 자색고구마 추출물이 대조구에 비해 20%의 중성지방 제어를 보였으나, 유산균 무증자 발효고구마 추출물의 경우 A 유산균을 제외하고 11번 균주의 경우 35%이상의 높은 제어율을 보이는 것으로 조사되었다.



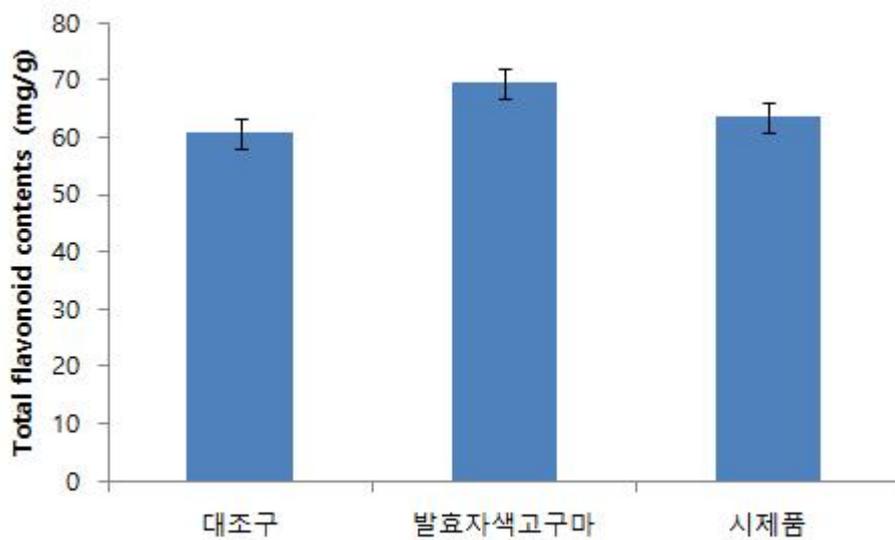
<그림> 유산균 무증자 발효 자색고구마의 중성지방 저해활성

6. 시제품을 이용한 생리활성 검증

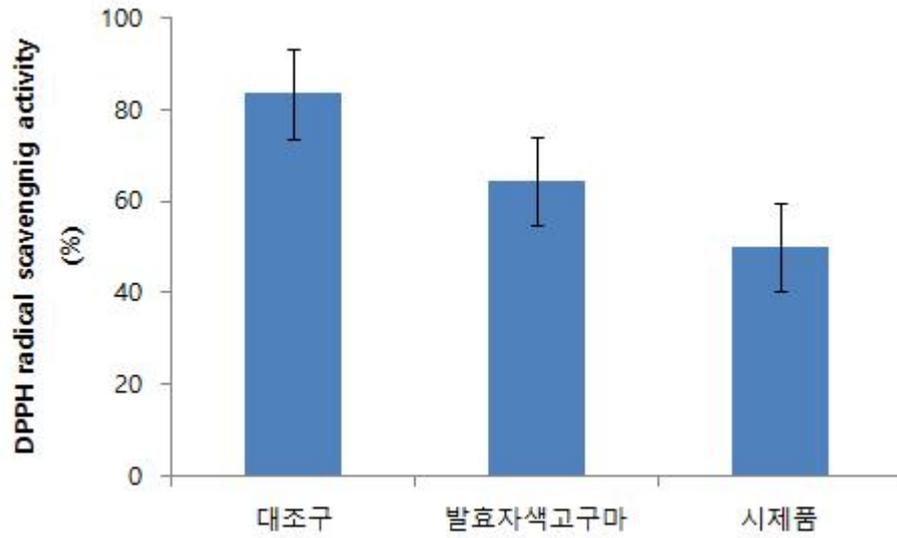
무증자 발효 자색고구마와 1차시제품을 이용하여 생리활성, 항산화활성 및 ACE저해활성을 조사한 결과 그림에서와 같이 총 폴리페놀함량은 대조구 250mg/g보다 시제품에서 20mg정도 더 증가하는 것으로 조사되었다. 총 플라보노이드 함량은 3mg/g, SOD는 20%와 ACE 저해활성은 44% 시제품이 더 좋은 것으로 조사 되었다. 이러한 결과를 바탕으로 무증자 발효 자색고구마의 경우 건강식품으로 이용 가치가 매우 높은 것으로 사료된다.



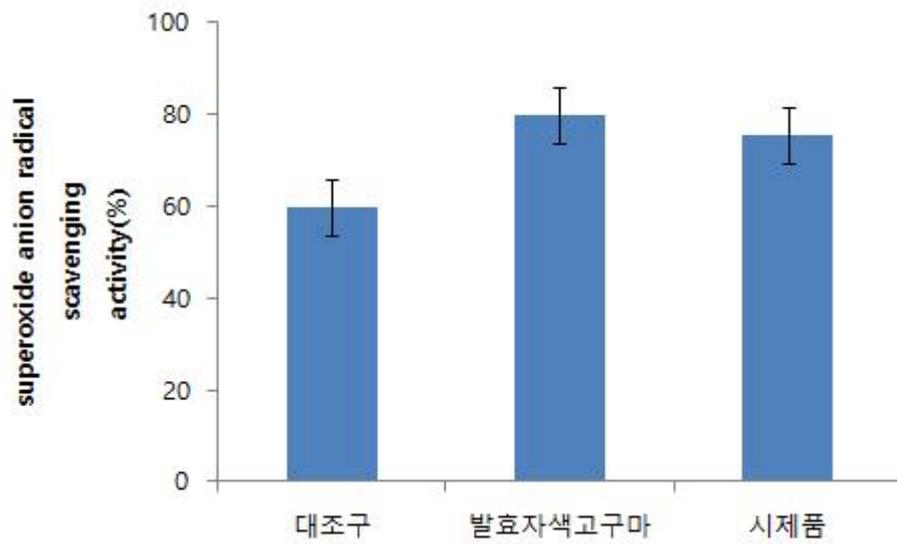
<그림> 무증자 발효자색고구마와 시제품 총폴리페놀함량



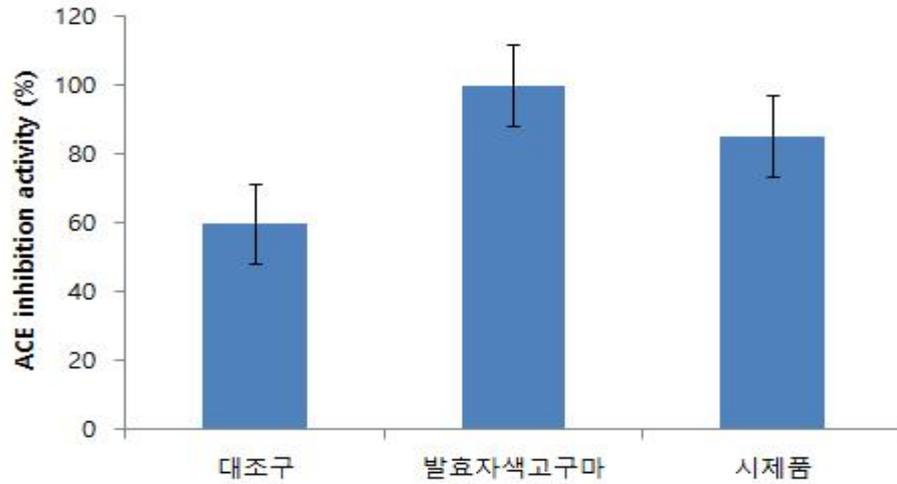
<그림> 무증자 발효자색고구마와 시제품 총플라보노이드 함량



<그림> 무증자 발효자색고구마와 시제품 DPPH저해활성

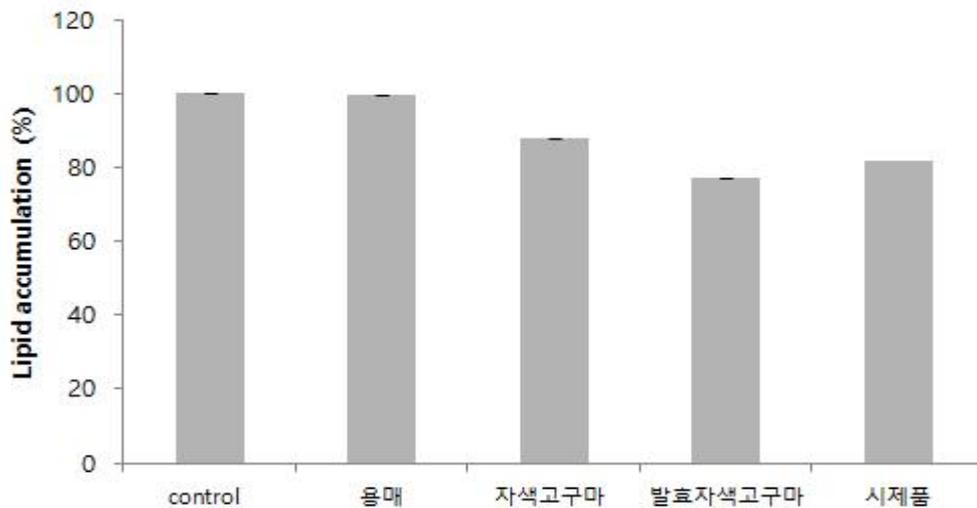


<그림> 무증자 발효자색고구마와 시제품 SOD 저해활성



<그림> 무증자 발효자색고구마와 시제품 ACE저해활성

지방세포 3T3-L1 세포를 배양을 defferentiaion 후 postdifferentiation 과정을 거쳐 인슐린 IBMS, dexamethason과 시료를 5%로 처리하여 중성지방 제어에 대한 실험결과 자색고구마 추출물이 대조구에 비해 15%의 중성지방 제어를 보였으나, 유산균 무증자 발효고구마 추출물의 경우 23%의 제어율을 보이고, 시제품의 경우 20%로 대조구 보다 높은 제어율을 보이는 것으로 조사되었다. 이러한 결과는 발효자색고구마가 지방세포분화를 억제하여 다이어트에 효과를 보일 수 있을 것으로 사료된다.



<그림> 무증자 발효자색고구마와 시제품 항비만활성

## 제2절. 동물실험연구(*in vivo*)

### 1. *in vivo* 실험

#### 가. 실험동물 사육

실험전 1주일 동안 일반 고품사료로 적응 시킨 후 대조군, 제품군, 실험군으로 5마리씩 나누어 실험에 사용한다. 총 8주간 사육을 하면서 체중의 변화는 1주에 한번씩 일정한 시간에 측정한다. 식이 섭취량은 매일 일정 시간에 공급하고 남은 식이를 측정하여 식이효율을 측정한다.

#### (1) 소화관 이동능 실험

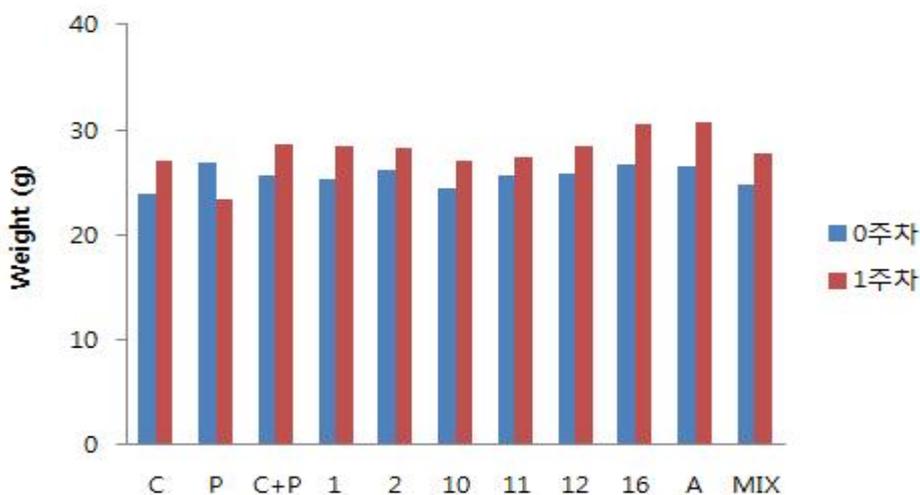
실험동물에 대조군과 실험군으로 나누어 5일동안 식이를 한 후 하루 절식을 실시한 뒤, 실험 종료일까지 지속적으로 시료를 급여하여 8주째에 carmnie red 0.5%농도로 첨가한 식이와 함께 섭취 급여시작 시간과 변으로부터 적색변이 최초 검출되는 시간까지의 시간 간격으로 소화관 이동시간을 조사한다.

#### (2) 배변개선 효과 실험

배변개선 효과 실험은 실험동물군에 대조군과 양성대조군 실험군으로 구분하여, 인위적으로 5mg/kg loperamine을 생리식염수에 녹여 1일 2회(오전 9시, 오후 6시)에 피하 투여를 하여 변비를 유발하고, 정상대조군에는 생리식염수만 투여하여 변비 유발하는 대조군에는 식수 공급, 실험군에는 제품의 농도별로 하여 실험 종료시까지 공급한다. 변은 매일 정해진 시간에 채취하여 변의 중량 및 개수를 측정으로 배변 개선 효과를 확인한다.

#### 나. 실험결과

마우스의 식이효율은 매일 1:1의 비율로 사료와 함께 식이를 하였을때 유산균무증자발효고구마의 섭취율이 매우 높은 것으로 조사되었으며, 체중의 변화를 조사한 결과(현재 안정화과정을 거쳐 1주 식이를 지난 상태임) 체중의 변화가 나타나기 시작한 것으로 조사되었다.



<그림> 마우스 체중의 변화

나. 동물실험을 통한 장기능 활성 검증

(1) 실험동물 사육

실험전 1주일 동안 일반 고형사료로 적응 시킨 후 대조군, 제품군, 실험군으로 5마리씩 나누어 실험에 사용한다. 총 8주간 사육을 하면서 체중의 변화는 1주에 한번씩 일정한 시간에 측정을 한다. 식이 섭취량은 매일 일정 시간에 공급하고 남은 식이를 측정하여 식이효율을 측정한다. 본 실험은 안동대학교 동물실험윤리위원회(승인번호 2016-1-0408-01-01)의 허가하에 진행을 하였다.

(2) 소화관 이동능 실험

실험동물에 대조군과 실험군으로 나누어 5일동안 식이를 한 후 하루 절식을 실시한 뒤, 실험 종료일까지 지속적으로 시료를 급여하여 8주째에 carmine red 0.5%농도로 첨가한 식이와 함께 섭취 급여시작 시간과 변으로부터 적색변이 최초 검출되는 시간까지의 시간 간격으로 소화관 이동시간을 조사한다.



<그림> 마우스 해부



<그림> 장관내 이동거리(A: 대조구, B: 실험구, C:유산균)

5일 동안 식이를 한 후 마우스를 해부하여 장관 이동의 거리를 조사한 결과 대조구는 10cm를 이동하는 것으로 조사 되었으며, 무증자 발효 자색고구마를 섭취한 마우스의 경우 18-20cm까지 이동 하것으로 조사되었다. 또한 유산균을 섭취한 마우스의 경우 본 실험에서는 15cm정도로 무증자 발효 자색고구마와 다소 차이를 보이는 것으로 나타났다. 이러한 결과로 보아 무증 발효 자색고구마를 섭취할 경우 장 관계 운동이 활발하게 작용하여 배변활동이 잘 되어 장 건강에 도움을 줄 것으로 보이며, 변배 개선과 다이어트에도 효과적인 것으로 사료 된다.

(3) 배변개선 효과 실험

(가) 배변개선 효과 실험

배변개선 효과 실험은 실험동물군에 대조군과 양성대조군 실험군으로 구분하여, 인위적으로 5mg/kg loperamine을 생리식염수에 녹여 1일 2회(오전 9시, 오후 6시)에 피하 투여를 하여 변비를 유발하고, 정상대조군에는 생리식염수만 투여하여 변비 유발하는 대조군에는 식수 공급, 실험군에는 제품의 농도별로 하여 실험 종료시까지 공급한다. 변은 매일 정해진 시간에 채취하여 변의 중량 및 개수를 측정으로 배변 개선 효과를 확인한다.

(나) 결과

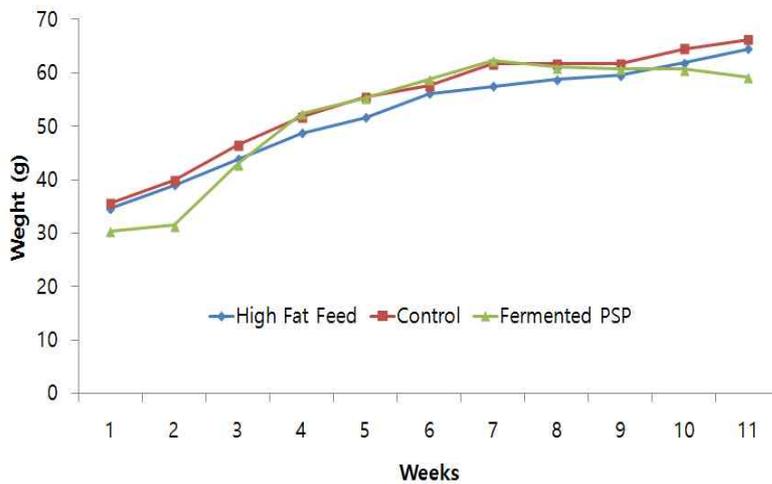
대조구 마우스의 경우 병의 개수가 2개 정도로 보이거나 무증자 발효 자색고구마의 경우 3-4개 정도로 1.5-2배 정도 배변량이 증가하는 것으로 조사 되었다. 또한 변내의 유산균 함량 조사를 위해 BCP 배지에 도말하여 확인한 결과 무증자 발효 자색고구마를 섭취한 마우스의 분변에서 10배정도의 유산균이 적은 수로 배변되는 것으로 보아 장내 유산균 수의 함량이 증가되어, 무증자발효 자색고구마를 프리바이오틱스로 이용하여 장내 정착이 잘되어 변을 통해 밖으로 배출되지 않는 것으로 사료된다. 이러한 결과는 유산균을 섭취하고도 장내 정착이 되지 않아 유산균의 효능을 보지 못하는 사람에게, 무증자 발효 자색고구마를 섭취하여, 유산균의 장관내 정착에 유용하게 작용할 수 있을 것으로 사료된다. 일반적으로 장내 미생물에 정착되는 유산균이 배변으로 통해 배출이 된다고 하지만, 배출 될 경우 대장내에는 잔류되는 균총이 적을 것으로 보인다. 시간 변화에 따라 조사한 결과 배출되는 유산균 수가 일시적으로는 증가하는 경우도 보였으나 전반적으로 대조구에서 변에서 유산균 수가 많은 것으로 조사 되었다. 하지만, 장기간 무증자 발효 자색고구마를 섭취 할 경우 프리바이오틱스의 기능으로 장내 유산균 함량을 증가 될 것으로 보인다.



<그림> 마우스 배변을 이용한 유산균수 측정(대조구, 자색고구마, 무증자발효자색고구마)

종류	균수(CFU)	×10 <sup>5</sup>	비고
일반식		10	
자색고구마		2.5	
발효자색고구마		1	

또한 장관이동에 따른 배변으로 인한 다이어트 효과를 조사하기 위해 비만 마우스를 이용하여 무증자 발효자색고구마를 11주간 섭취를 하게 한 후 조사한 결과 7주까지는 대조구, 고지방 먹이 대조구와 무증자발효 자색고구마 실험구에서 유의적으로 체중이 증가하는 것으로 조사되었지만, 시간이 지나면서 무증자발효자색고구마 실험구 마우스는 체중이 20%정도 감소하는 것으로 조사되었다. 이러한 결과는 장관내배변과 다이어트와의 상관관계가 있다는 것으로 사료되며, 이러한 결과를 바탕으로 향후 장내미생물상과 다이어트에 대한 연구를 지속적으로 하여야 할 것으로 사료된다.



<그림> 마우스 사육 시간에 따른 체중의 변화

### 제3절. 유산균 생존실험

#### 1. 유산균 내산성 실험

##### 가. 유산균의 위액 및 장액에서의 생존 여부 시험

산에 대한 유산균의 저항성은 MRS 배지의 pH를 2, 3, 5, 6, 7로 맞추고 유산균을 접종한 후 37°C에서 16시간 24시간 배양후 균수를 측정하여 균의 증식 정도를 조사한다.

##### 나. 결과

분리 유산균의 내산성을 알아보기 위하여 pH를 조정하여 안정성과 생존성을 확인하였다. pH5, 6, 7로 처리한 경우, 16시간, 24시간 경과 후의 결과는 pH를 조정하지 않은 Control의 생균수와 큰 차이를 보이지 않아 pH5~7에서는 내산성을 지녔다고 확인할 수 있었다. 이는 MRS배지 자체의 pH가 6.8인 것을 감안 할 때 유추할 수 있는 결과로 확인된다. 하지만 pH가 3으로 조정되었을 경우에는 균주 대부분이 사멸하는 것을 확인할 수 있었으며, 몇몇의 균주에서는 약 3/4정도 생균수가 사멸하여 약  $10^4$  CFU/ml 정도의 균이 살아남아있는 것을 확인하였다. pH2에서는 균이 대부분 사멸되어 pH2와 pH3의 결과의 유의성이 다소 떨어지는 것으로 판단되며, 위에서 음식과 함께 곤죽의 형태로 변할 경우 pH의 변화가 다소 높아져 균주의 생육에 큰 변화가 없을 것으로 보인다.

<표> 분리 유산균의 내산성 실험 16시간

Sample		16hr					
		Control	pH2	pH3	pH5	pH6	pH7
1	D1-8	$4.9 \times 10^{12}$			$1.0 \times 10^{12}$	$2.1 \times 10^{12}$	$4.3 \times 10^{13}$
		CFU/ml			CFU/ml	CFU/ml	CFU/ml
2	#59	$3.5 \times 10^{12}$			$2.9 \times 10^{12}$	$4.0 \times 10^{12}$	$2.1 \times 10^{13}$
		CFU/ml			CFU/ml	CFU/ml	CFU/ml
10	L.b 40017)	$8.9 \times 10^{12}$		$1.0 \times 10^4$	$3.0 \times 10^{12}$	$5.0 \times 10^{11}$	$6.0 \times 10^{11}$
		CFU/ml		CFU/ml	CFU/ml	CFU/ml	CFU/ml
11	AML 50-2	$1.3 \times 10^{13}$		$1.0 \times 10^4$	$5.4 \times 10^{11}$	$6.6 \times 10^{12}$	$6.0 \times 10^{12}$
		CFU/ml		CFU/ml	CFU/ml	CFU/ml	CFU/ml
12	AML2-1	$1.2 \times 10^{13}$			$2.2 \times 10^{11}$	$5.2 \times 10^{12}$	$4.2 \times 10^{13}$
		CFU/ml			CFU/ml	CFU/ml	CFU/ml
16	L.b HLJ59	$1.0 \times 10^{13}$			$4.7 \times 10^{12}$	$2.8 \times 10^{12}$	$5.9 \times 10^{13}$
		CFU/ml			CFU/ml	CFU/ml	CFU/ml
A	Sol	$7.7 \times 10^{12}$		$1.0 \times 10^4$	$3.0 \times 10^{12}$	$1.3 \times 10^{13}$	$4.8 \times 10^{13}$
		CFU/ml		CFU/ml	CFU/ml	CFU/ml	CFU/ml
Mix		$7.6 \times 10^{13}$			$3.9 \times 10^{12}$	$6.1 \times 10^{12}$	$6.1 \times 10^{13}$
		CFU/ml			CFU/ml	CFU/ml	CFU/ml

<표> 분리 유산균의 내산성 실험 24시간

Sample		24hr					
		Control	pH2	pH3	pH5	pH6	pH7
1	D1-8	2.4x10 <sup>12</sup>	1.0x10 <sup>3</sup>		1.0x10 <sup>11</sup>	3.0x10 <sup>11</sup>	1.1x10 <sup>13</sup>
		CFU/ml	CFU/ml		CFU/ml	CFU/ml	CFU/ml
2	#59	9.0x10 <sup>11</sup>			1.2x10 <sup>12</sup>	3.0x10 <sup>11</sup>	6.6x10 <sup>12</sup>
		CFU/ml			CFU/ml	CFU/ml	CFU/ml
10	L.b 40017)	8.2x10 <sup>12</sup>			1.3x10 <sup>12</sup>	1.3x10 <sup>11</sup>	3.0x10 <sup>11</sup>
		CFU/ml			CFU/ml	CFU/ml	CFU/ml
11	AML50-2	1.6x10 <sup>13</sup>			1.1x10 <sup>11</sup>	2.0x10 <sup>11</sup>	1.6x10 <sup>13</sup>
		CFU/ml			CFU/ml	CFU/ml	CFU/ml
12	AML2-1	4.1x10 <sup>12</sup>	2.0x10 <sup>3</sup>	3.0x10 <sup>4</sup>	9.0x10 <sup>10</sup>	1.7x10 <sup>12</sup>	3.4x10 <sup>13</sup>
		CFU/ml	CFU/ml	CFU/ml	CFU/ml	CFU/ml	CFU/ml
16	L.b HLJ59	3.3x10 <sup>12</sup>			2.5x10 <sup>12</sup>	5.0x10 <sup>11</sup>	2.3x10 <sup>13</sup>
		CFU/ml			CFU/ml	CFU/ml	CFU/ml
A	Sol	6.0x10 <sup>12</sup>			8.3x10 <sup>11</sup>	1.0x10 <sup>11</sup>	4.1x10 <sup>13</sup>
		CFU/ml			CFU/ml	CFU/ml	CFU/ml
Mix		3.3x10 <sup>12</sup>			5.3x10 <sup>11</sup>	5.0x10 <sup>11</sup>	5.9x10 <sup>13</sup>
		CFU/ml			CFU/ml	CFU/ml	CFU/ml

## 2. 유산균 담즙 실험

### 가. 담즙에 대한 유산균의 저항성 실험

MRS 배지에 0.3, 0.6 1.0%가 되게 담즙을 가하고 유산균을 접종한 후 37°C에서 16시간 24시간 배양후 균수를 측정하여 균의 증식 정도를 조사한다.

### 나. 결과

분리 유산균의 담즙에 대한 저항성을 조사하기 위해, 담즙을 처리하여 16시간 경과 후의 담즙에 대한 저항성을 확인한 결과, 담즙을 처리하지 않은 Control 보다 약  $10^{1\sim 2}$  CFU/ml 정도 생균수가 감소함을 확인할 수 있었으며, 24시간 경과 후에는 16시간 경과보다 약  $10^{1\sim 2}$  CFU/ml 정도의 생균수가 감소함을 확인할 수 있었다. 담즙의 처리 농도와 시간에 비례하여 생균수가 감소하는 경향을 나타내고 있다. 담즙 처리유무에 따라 생균수는 감소하였으나, 균주 모두 70%정도의 생존율을 나타내므로 담즙에 대한 저항성에 대해 긍정적인 결과로 판단된다.

<표> 분리 유산균의 담즙 저항성

Sample		Control		16hr			24hr	
<b>1</b>	<b>D1-8</b>	7.2x10 <sup>10</sup> CFU/ml	5.0x10 <sup>8</sup> CFU/ml	1.7x10 <sup>8</sup> CFU/ml	3.0x10 <sup>7</sup> CFU/ml	3.9x10 <sup>8</sup> CFU/ml	1.2x10 <sup>8</sup> CFU/ml	7.0x10 <sup>7</sup> CFU/ml
<b>2</b>	<b>#59</b>	2.3x10 <sup>10</sup> CFU/ml	2.4x10 <sup>8</sup> CFU/ml	2.0x10 <sup>7</sup> CFU/ml	1.0x10 <sup>7</sup> CFU/ml	1.3x10 <sup>8</sup> CFU/ml	9.0x10 <sup>7</sup> CFU/ml	6.0x10 <sup>7</sup> CFU/ml
<b>10</b>	<b>L.b 40017)</b>	9.8x10 <sup>9</sup> CFU/ml	3.8x10 <sup>8</sup> CFU/ml	3.6x10 <sup>8</sup> CFU/ml	2.2x <sup>8</sup> CFU/ml	1.2x10 <sup>8</sup> CFU/ml	9.0x10 <sup>7</sup> CFU/ml	5.0x10 <sup>7</sup> CFU/ml
<b>11</b>	<b>AML50-2</b>	1.5x10 <sup>10</sup> CFU/ml	2.4x10 <sup>8</sup> CFU/ml	2.0x10 <sup>8</sup> CFU/ml	1.1x <sup>8</sup> CFU/ml	5.0x10 <sup>7</sup> CFU/ml	2.0x10 <sup>7</sup> CFU/ml	1.0x10 <sup>7</sup> CFU/ml
<b>12</b>	<b>AML2-1</b>	9.9x10 <sup>9</sup> CFU/ml	4.0x10 <sup>8</sup> CFU/ml	2.7x10 <sup>8</sup> CFU/ml	3.0x10 <sup>7</sup> CFU/ml	3.0x10 <sup>7</sup> CFU/ml	3.0x10 <sup>7</sup> CFU/ml	1.0x10 <sup>7</sup> CFU/ml
<b>16</b>	<b>L.b HLJ59</b>	1.0x10 <sup>10</sup> CFU/ml	1.2x10 <sup>8</sup> CFU/ml	1.0x10 <sup>8</sup> CFU/ml	8.0x10 <sup>7</sup> CFU/ml	1.0x10 <sup>7</sup> CFU/ml	2.0x10 <sup>7</sup> CFU/ml	8.8x10 <sup>6</sup> CFU/ml
<b>A</b>	<b>Sol</b>	1.8x10 <sup>10</sup> CFU/ml	7.7x10 <sup>8</sup> CFU/ml	4.6x10 <sup>8</sup> CFU/ml	1.3x10 <sup>8</sup> CFU/ml	1.2x10 <sup>9</sup> CFU/ml	3.0x10 <sup>8</sup> CFU/ml	2.3x10 <sup>8</sup> CFU/ml
<b>Mix</b>		1.6x10 <sup>10</sup> CFU/ml	5.210x <sup>8</sup> CFU/ml	1.6x10 <sup>8</sup> CFU/ml	1.4x10 <sup>8</sup> CFU/ml	6.4x10 <sup>8</sup> CFU/ml	3.9x10 <sup>8</sup> CFU/ml	1.0x10 <sup>7</sup> CFU/ml

### 3. 장액에 대한 유산균의 저항성

가. 유산균을 위산장액(pH 1.2)와 소화기장액(pH 6.8)을 이용하여 3, 6시간동안 배양하고 균주의 증식 유무를 조사한다.

#### 나. 결과

분리 유산균에 장액을 처리하여 3시간, 6시간 경과 후 결과를 확인하였다. 시간에 관계없이 약 90%이상의 생존률을 나타내었으며 이에 저항성이 우수하다고 판단한다. 몇몇 균주들의 경우 소화장액에 저항을 받아 균수가 감소하기보다는 오히려 처리 시간동안 배지의 성분에 의해 생존수가 증가됨을 확인 할 수 있었다.

<표> 분리 유산균의 장액 저항성

	Sample	3hr	Control	6hr	Control
1	D1-8	4.8x10 <sup>12</sup> CFU/ml	1.1x10 <sup>12</sup> CFU/ml	1.5x10 <sup>12</sup> CFU/ml	1.3x10 <sup>12</sup> CFU/ml
2	#59	7.8x10 <sup>11</sup> CFU/ml	1.5x10 <sup>12</sup> CFU/ml	9.4x10 <sup>11</sup> CFU/ml	2.3x10 <sup>12</sup> CFU/ml
10	L.b 40017)	2.5x10 <sup>10</sup> CFU/ml	1.3x10 <sup>13</sup> CFU/ml	2.8x10 <sup>10</sup> CFU/ml	4.6x10 <sup>13</sup> CFU/ml
11	AML50-2	1.2x10 <sup>11</sup> CFU/ml	1.1x10 <sup>12</sup> CFU/ml	1.2x10 <sup>12</sup> CFU/ml	1.2x10 <sup>12</sup> CFU/ml
12	AML2-1	2.0x10 <sup>10</sup> CFU/ml	2.0x10 <sup>11</sup> CFU/ml	1.0x10 <sup>12</sup> CFU/ml	4.9x10 <sup>11</sup> CFU/ml
16	L.b HLJ59	4.9x10 <sup>11</sup> CFU/ml	1.2x10 <sup>11</sup> CFU/ml	2.2x10 <sup>12</sup> CFU/ml	2.0x10 <sup>11</sup> CFU/ml
A	Sol	4.3x10 <sup>11</sup> CFU/ml	3.2x10 <sup>12</sup> CFU/ml	1.6x10 <sup>12</sup> CFU/ml	3.8x10 <sup>12</sup> CFU/ml
Mix		9.0x10 <sup>10</sup> CFU/ml	1.6x10 <sup>12</sup> CFU/ml	8.3x10 <sup>11</sup> CFU/ml	2.2x10 <sup>12</sup> CFU/ml

#### 4. 소화효소에 대한 유산균의 저항성

가. MRS배지에 protase, lipase, amylase를 1unit/ml, 판크레아틴을 1mg/ml이 되도록 가하고 유산균을 접종 한 후 3, 6시간 동안 배양하고 균주의 증식 유무를 조사한다.

#### 나. 결과

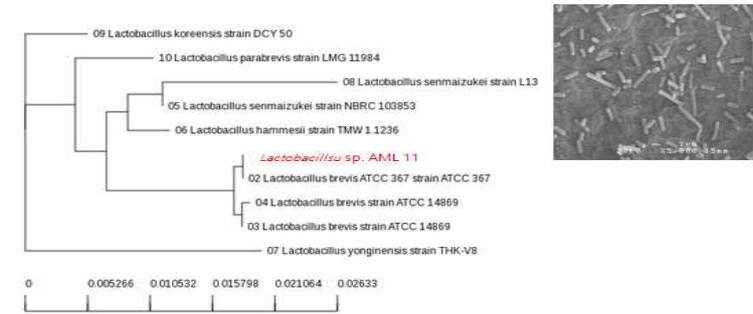
분리 유산균에 protase, lipase, amylase와 판크레아틴을 섞은 소화효소를 처리하여 3시간, 6시간 경과 후 결과를 확인하였다. 분리 유산균은 시간에 관계없이 소화효소에 대해 저항성을 보이며 약 90%이상의 생존률을 나타내었으며 이에 저항성이 있다고 판단한다. 몇몇 균주들의 경우 6시간이 경과하자 소화효소들의 저항을 받아 균수가 감소하기보다는 오히려 처리시간동안 배지의 성분에 의해 생균수가 증가됨을 확인 할 수 있었다.

<표> 분리 유산균의 소화효소에 대한 저항성

	Sample	3hr	Control	6hr	Control
1	D1-8	3.8x10 <sup>11</sup> CFU/ml	1.1x10 <sup>12</sup> CFU/ml	3.3x10 <sup>12</sup> CFU/ml	1.3x10 <sup>12</sup> CFU/ml
2	#59	8.4x10 <sup>11</sup> CFU/ml	1.5x10 <sup>12</sup> CFU/ml	3.1x10 <sup>12</sup> CFU/ml	2.3x10 <sup>12</sup> CFU/ml
10	L.b 40017)	1.3x10 <sup>12</sup> CFU/ml	1.3x10 <sup>13</sup> CFU/ml	3.0x10 <sup>11</sup> CFU/ml	4.6x10 <sup>13</sup> CFU/ml
11	AML50-2	1.1x10 <sup>12</sup> CFU/ml	1.1x10 <sup>12</sup> CFU/ml	1.2x10 <sup>11</sup> CFU/ml	1.2x10 <sup>12</sup> CFU/ml
12	AML2-1	8.1x10 <sup>11</sup> CFU/ml	2.0x10 <sup>11</sup> CFU/ml	6.4x10 <sup>12</sup> CFU/ml	4.9x10 <sup>11</sup> CFU/ml
16	L.b HLJ59	6.7x10 <sup>11</sup> CFU/ml	1.2x10 <sup>11</sup> CFU/ml	6.3x10 <sup>12</sup> CFU/ml	2.0x10 <sup>11</sup> CFU/ml
A	Sol	3.8/x10 <sup>11</sup> CFU/ml	3.2x10 <sup>12</sup> CFU/ml	2.8x10 <sup>12</sup> CFU/ml	3.8x10 <sup>12</sup> CFU/ml
Mix		5.4x10 <sup>11</sup> CFU/ml	1.6x10 <sup>12</sup> CFU/ml	6.0x10 <sup>10</sup> CFU/ml	2.2x10 <sup>12</sup> CFU/ml

5. 분리유산균 동정결과

내산성과 소화기효소에 대한 활성이 우수한 두 균주를 선발하여 최종 무증자 자색고구마 발효 균주로 AML11과 AML16을 선발하였다. 유산균 동정을 위해 16S rRNA sequencing 결과 *Lactobacillus* sp.로 동정이 되어 *Lactobacillus* sp. AML 11과 *Lactobacillus* sp. AML 16으로 명명 하였으며 두 균과의 유전자 서열이 다르게 조사되었다. 또한 두 균주 중 위산에 강한 *Lactobacillus* sp. AML 11균주를 무증자 발효 자색고구마의 발효 균주로 최종 선별하여 시제품 개발을 하였다.



```
CGGCTGACTCCGGAAGGTTATCTCACCGGCTTTGGGTGTTACAAACTCTCATG
GTGTGACGGGGGGTGTGTACAAGGCCCGGGAAAGTATTCACGGCGCATGC
TGAATCCGGATTACTAGSGATTCCAACTTCAATGTAGGCSAGTTGCGACCTACA
ATCCGAACCTGAGAAACGGCTTAAAGAGATTAGCTTAGCCCTACGACTTCGCAA
CTCGTTGTACCGTCCAATTGTAGCACGTGTGTAGCCCAAGTCTATAAGGGGCAAT
GATGATTTGACGTCAATCCCACTTCTCCGTTTGTCAACGGCACTCTCAAC
AGAGTCCGCAACTGAATGTCTGGCAAGTGAATAAAGGTTGGCGTGGTGGG
GGACTTAAACCAAACATCTCACGACACGAGCTGACGAAACCAATGCAACCACT
GTCAATCTGTCCCGAAGGGAAAGCTTATCTCTAAATGGCAGAAAGATGTC
AAAGACGTGTAAGGTTCTTCCGAGTGTGGAATTAAGCAACAATCCGACGG
CTTGTGGGGCCCCGTCAATTCCCTTGAATTTCAACTGTGGTGTACTCTCC
CCAGGCGGAGTGTCTTAAATGCTTAGCTGACAGCACTGAAAGGGCGGAAACCTC
CGAACACTTGAAGCACTCATGTGTAAGGCAATGCAACCAAGGTAATCTACTCT
GTTCCGCTAACCAAGCTTCCGAGCCTCAGCGTCAATTACAGACTAGACAGCGG
CCTTCGCCACTGGTGTCTTCCATATATCTACGATTCACCGCTACACATGG
AGTTCACGTGCTCTTCTGTGCACTCAAGTCTCCAGTTCGATTCGATTCCTCC
GGTTAAGCGGAAAGGCTTTCACATCAGACTTAAAAAACCGCTCGCTCGCTTT
ACGCCAATAAATCCGGACAAACGGTTGCCACTACGTATACCGCGGCTGTG
GGCACTGATTAAGCGGTGGCTTTCTGGTTAAATAACGCTCAACCGCTTGAACAGT
TACTCTCAAAGGTGTTCTTCTTAAACAACAGGTTTTACGAGCCGAAACCTT
CTTCACTCACGGGCAATGCTCCATCAGACTTTCGTCATTGTGGAAAGTTC
CTACTGCTGCTCCGTAAGGATTTGGGCGGTGTCGACGTCCAAATGTGGCC
GATTAACCTTGAAGGTTGGCTAGSTATACTGTTGGTGGGCTTACCTCA
CCAACTAATAACCGCGCGGATCACTCCAGAGTGAAGCGGAAAGCCAC
CTTTCAAACAAATCCATGCGGATTTTGTGTTATACGGTATAGCACTGTGTT
CCAAAGTGTATCCCGTCTTCTGGGCAAGTCCCAAGTGTGATGCAAGGTT
CGCCACTGCTTATTGTGAAATCAGTGCAAGCAAGTCAATCAAAGGAAAGCT
CGT
```



```
TAGACGGGTGACTCCGGAAGGTTATCTCACCGGCTTTGGGTGTTACAAACTCTC
ATGTTGTGACGGGGGGTGTGTACAAGGCCCGGGAAAGTATTCACGGCGCATGC
TGAATCCGGATTACTAGSGATTCCAACTTCAATGTAGGCSAGTTGCGACCTACA
ATCCGAACCTGAGAAACGGCTTAAAGAGATTAGCTTAGCCCTACGACTTCGCAA
CTCGTTGTACCGTCCAATTGTAGCACGTGTGTAGCCCAAGTCTATAAGGGGCAATG
ATTTGAGCTGATCCCACTTCTCCGTTTGTGCAACGGCACTCTCAAC
CCAACTGAATGCTGGCAACTGATAATAAGGTTGGCGTGGTGGGCACTTAA
CCCAACTCTCACGACACGAGCTGACGCAACCACTGACCACTGTCAATCTGT
CCCCGAAGGGAAGCTTATCTCTAAGATTGGCAAGAGTGCAGAGACTGTGTA
AGTTCCTCGGTAGCTTCAATTAACAACATGCTCCACCGCTGTGGCGGCTG
CCCGTCAATTCCTTTGAGTTCGAAACCTTGGCGTCTACTCCAGGGCGGAGTGT
TAATGCGTTAGCTGCAAGCACTGAAGGGGGGAAACCTCCAAACCTTAGCACTCA
TGGTTTACGGCATGGACTACGAGGATCTACTCTGTGCTACCCATGCCATCTTC
GAGCCTCAGCGTCAATTACAGACTAGACAGCCGCTTCGCCACTGGTGTCTTC
CATATACTACGCAATCCACCGTCAACAGAGTTCACGCTGCTCTCTGSCAC
TCAAAGTCCCAAGTTCGATGCACTTCTCCGTTAAGCGGAAAGGCTTACATC
AGACTTAAAAAACCGCTCGCTCGCTTACGCCCAATAAATCCGGACAAACGCT
TGCCACCTAGTATACCGCGGCTGCTGGCACGTAAGTTACCGTGGCTTCTGG
TTAAATAAGCTCAACCGTGAACAGGTTACTGCAAGGTTCTTCTTAAACAAGA
GAGTTTTACGAGCCGAAACCTTCTTCACTCACGCGGCAATGCTCCATCAGACTT
TCGTCCATTGTGGAAGATTCCCTACTGCTGCTCCGTAAGGATTTGGGGCGGTG
CTCAAGTCCAAATGTGGCGAATACCTCTCAAGTGGGTAAGTATGATGTTGTG
GTGGGCTTTACTCCCAACTAACTAATAACCGCGGGATCACTCCAGAGTGA
TAGCCGAAAGCCACTTCAAACAAAATCCATGCGGATTTGTTGTTATACGGTAT
TAGCACTGTTCGCAAGTGTATCCCGTCTTCTGGGCAAGATCCCAAGTGTGAT
CTCAAGTTCGCCACTGCTTATTGTGAAATCAGTGCAAGCAAGTCAATCAA
CGGAAAGCTCGT
```

## 제4절. GABA 실험

### 1. GABA 함량분석

#### 가. HPLC에 의한 GABA 정량 분석

발효고구마의 GABA 함량 측정은 HPLC 분석으로 상등액을 0.45um membrane filter로 여과하고, 시료와 0.2M Sodium bicarbonate solution (pH9.8)을 1:9로 희석한 후, 유도체화 시약인 dansyl chloride로 시료에 8.0g/L가 되게 혼합한 후 빛을 차단하여 30℃, 1시간 동안 반응시킨 후 분석한다. 분석조건은 이동상 tetrahydrofuran-methanol- 50mM pH 6.2 sodium acetate (5:75:420, V:V:V)가 혼합된 용매와 Methanol을 사용하여 gradient 조건 100:0 (0분), 60:40 (10분), 0:100(40분)으로 유속 1ml/min, 컬럼 C18 (4.6x250cm)를 사용하며, 오븐온도는 40℃, UV-detector 280nm에서 분리하고, GABA표준 용액을 제조하여 표준곡선으로 사용하여 함량을 구한다.

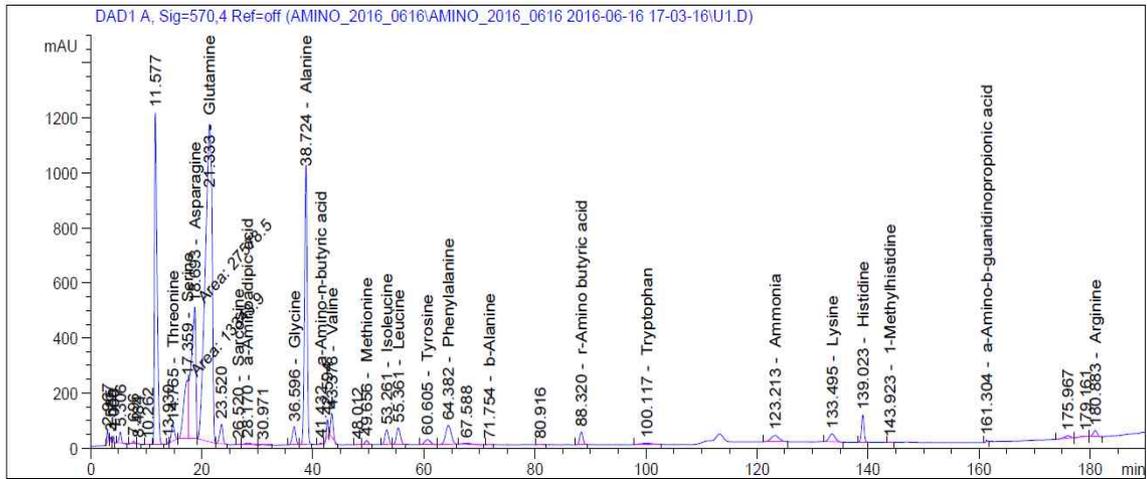
#### 나. 결과

무증자 자색고구마의 GABA정량 분석을 위해 유리아미노산 분석을 검사하였다. 그결과 GABA의 양이 대조구 자색고구마는 4.21 mg/100g으로 조사 되었다, 무증자 발효 분말의 경우 30.19mg/100g으로 약 7배 증가 되는 것으로 조사 되었다. 유산균을 이용한 무증자 발효 후 항스트레스성 물질인 GABA가 증가되는 것으로 조사되어 이를 이용하여 기능성 제품으로의 활용이 가능 할 것을 보인다. 또한 무증자 발효 자색고구마를 이용한 시제품의 경우 23.58mg/100g으로 조사되었다. 시제품의 GABA함량이 다소 낮게 조사된 것은 시제품에 100g 당 함유된 내용물이 발효자색고구마 외에 첨가물이 포함된 중량으로 계산이 되어 다소 낮게 조사된 것으로 보인다. 하지만 무증자 유산균 발효 자색고구마의 GABA함량이 높은 것으로 조사되어 이를 원료를 사용하여 다양한 형태로의 식의약품 소재로의 활용 가능성을 보였다. 또한 체내에서 리파아제는 지방 연소 효과를 보이는 효소로 내장 지방이나 피하지방을 감소시키는 기능을 가지고 있으며 그 기능은 유리 아미노산 인 리신과 프로린 등의 아미노산에 의해 지방분해 촉진을 하는 것으로 보고되고 있다. 무증자 발효 자색고구마는 지방세포 실험에서 지방 분화억제능을 보이는 것으로 조사되었다. 아미노산 분석결과 리신은 자색고구마 대조구 5.30mg/100g, 무증자 발효자 색고구마 13.21mg/100g으로 2배 이상 높은 것으로 조사 되었다. 또한 프로린의 경우 무증자 발효 자색고구마는 12.79mg/100g으로 12배의 높은 함량을 보이는 것으로 조사되었다.

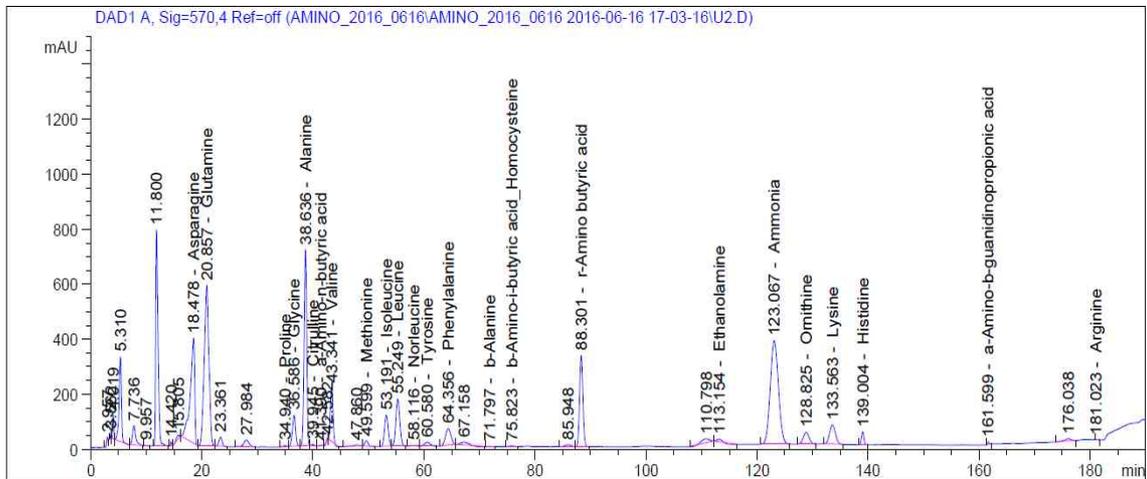
<표> 유리아미노산 분석

[단위 : mg/100g]

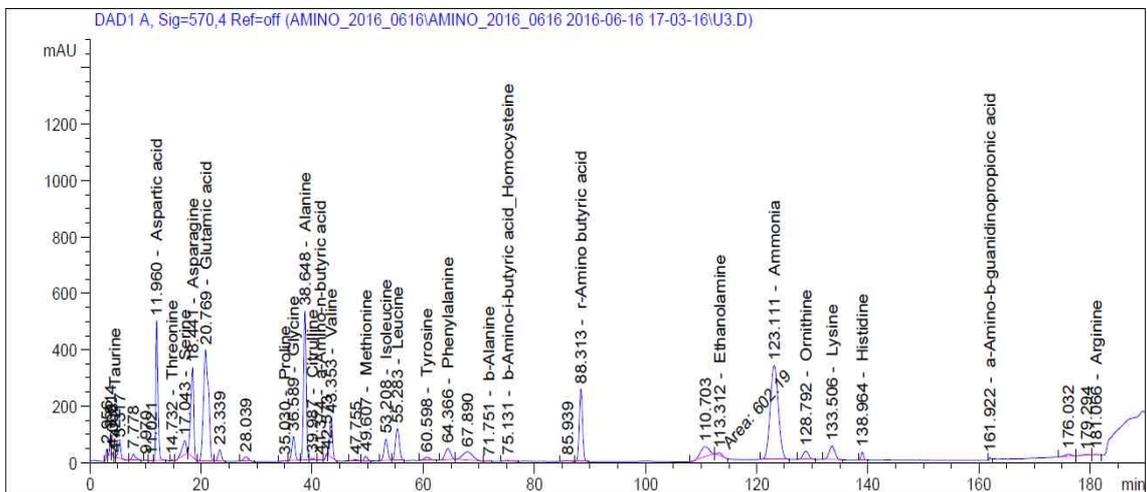
연번	화합물명	분말	분말발효	시제품
		U1	U2	U3
1	Aspartic acid			
2	Threonine	307.62	0.00	9.13
3	Serine	30.82	0.00	6.26
4	Asparagine	76.94	58.82	32.72
5	Glutamic acid 또는 Glutamine	3136.89	1077.48	2525.29
6	Sarcosine	0.41	0.00	0.00
7	$\alpha$ -Aminoadipic acid	2.03	0.00	0.00
8	Proline	0.00	12.79	10.28
9	Glycine	4.47	7.21	5.61
10	Alanine	64.23	44.33	32.73
11	Citrulline	0.00	0.46	0.65
12	Valine	6.40	16.77	11.93
13	Methionine	1.92	2.51	2.05
14	Isoleucine	6.74	14.22	9.62
15	Leucine	8.09	22.93	14.85
16	Tyrosine	5.19	3.96	3.13
17	Phenylalanine	16.26	13.70	9.15
18	$\beta$ -Alanine	0.28	0.25	0.35
19	$\beta$ -Amino- <i>i</i> -butyric acid	0.00	0.37	0.54
<b>20</b>	<b>Gaba</b>	<b>4.21</b>	<b>30.19</b>	<b>23.58</b>
21	Tryptophan	43.16	0.00	0.00
22	Ethanolamine	0.00	0.72	1.20
23	Ammonia	2.67	43.11	38.12
24	Ornithine	0.00	6.72	4.56
25	Lysine	5.30	13.21	8.79
26	Histidine	11.14	4.40	2.73



<그림> 자색고구마 유리아미노산 분석 크로마토그램



<그림> 무증자발효자색고구마 유리아미노산 분석 크로마토그램



<그림> 무증자발효자색고구마 시제품 유리아미노산 분석 크로마토그램

## 제 5절. 시제품 개발

### 1. 시제품개발

#### 가. 발효 자색고구마를 이용한 기능성 물질을 이용한 제형개발

##### (1) 발효자색고구마의 단위 공정 개발

자색고구마를 발효하기 위하여 천연색소연구소에서 구매한 자색고구마를 1차 세척, 2차 세척을 거쳐 경북바이오산업연구원에서 보유하고 있는 절단기를 이용한 절단작업을 수행하였다. 세척기와 절단기, 건조기는 경북바이오산업연구원에 구축되어 있는 산업용 장비를 사용하였다. 일정한 압으로 상수가 분사되는 구근류세척기를 이용하여 1차 세척공정과 2차 세척공정을 거쳐 자색고구마를 깨끗이 세척한 후 절단기를 이용하여 가로 5cm×세로5cm 정도 크기로 절단하였고 이를 이용하여 열풍건조, 냉풍건조, 동결건조를 수행하여 건조성상 및 미생물 검사를 수행하였다. 이중 냉풍건조기는 습기에 의해 건조 중 곰팡이 등의 미생물 오염이 발생하였고 열풍건조기는 내부까지 건조가 되는 시간이 많이 걸리는 단점이 있었다. 따라서 최종 건조는 20kg, 100kg동결건조기를 사용하여 건조를 수행하였으며 이를 이용한 실험을 지속 추진하였다.

구근류세척기에 자색고구마 60kg을 투입하여 상수로 살수 하면서 자동세척을 30min간 2회 반복 하였고 총 600kg의 자색고구마를 처리하였다. 세척된 자색고구마를 사각절단기로 절단하되 그 크기는 5cm×5cm의 크기로 절단하였다. 이는 추후 공정인 발효를 위하여 단면적이 일정하게 유지하는 것이 더 유리할 것으로 판단되어 수행하였다.

냉풍건조기 및 열풍건조기 가동시 자색고구마에서 증발되는 수분에 의하여 GMP내 건조실 전체가 습기로 가득하여 문제가 되었으며 이는 건조온도가 다소 낮은 냉풍건조기(21℃) 가동에 따른 오염의 원인이 되었음.

##### (2) 열풍건조기를 이용한 자색고구마 분말화 작업

1차 열풍건조기로 건조된 자색고구마 10kg을 핀밀에 넣고 분쇄하였다. 이때 핀밀은 약 4500rpm으로 고정하였고 1~2시간동안 분쇄를 진행하였다.

분쇄물의 회수율은 98%로 매우 안정적인 회수율을 보였다. 분쇄시 분말 입자는 80mesh의 타공망으로 분쇄하여 미립자를 얻을 수 있었다.

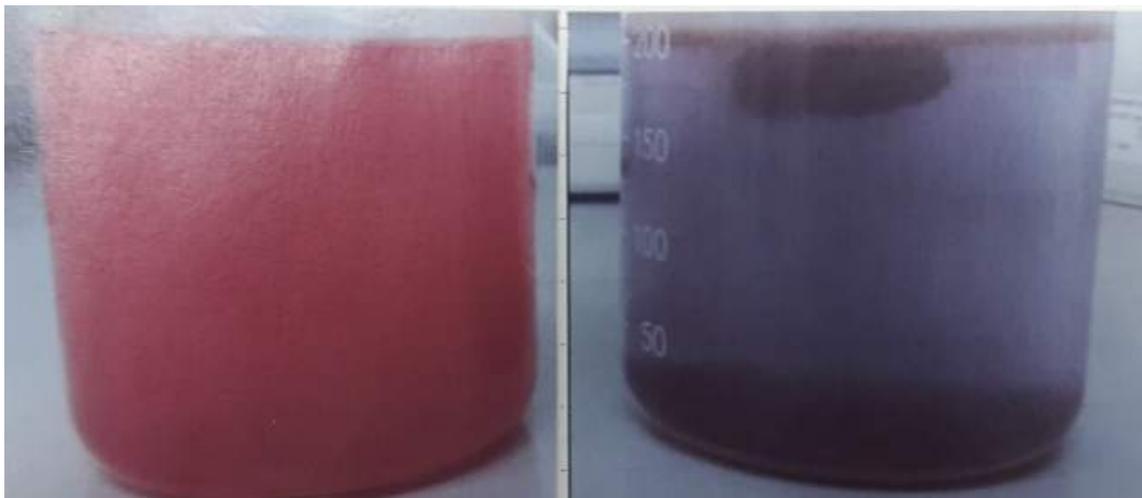


<그림> 열풍건조분말화 작업

(3) 열풍건조기를 이용한 자색고구마 제형화 작업(1)

무증자 자색고구마 건조분말에 다양한 부형제를 혼합하여 최적의 혼합물을 찾고 그 용해도를 테스트하였다.

배합비율
자색고구마50.3%, 자일리톨16%, 유당3%, 올리고당5%, 포도향분말4%, 포도맛분말4%, 비타민C3%



<그림> 용해도 TEST A;부형제 혼합물 자색고구마, B;자색고구마

동일한 조건에서 A와 B를 온도 35도에서 용해하였을 때 A의 경우에는 잘 용해되었으나 B의 경우에는 잘 용해되지 않고 멍침현상이 발생되었고 10분 이상의 시간이 경과하여도 용해가 잘

되지 않는 결과를 보였다. 따라서 이 조건을 이용하여 1차 시제품을 생산하기로 하였다.

(4) 열풍건조기를 이용한 자색고구마 제형화 작업(2)

혼합된 원료를 좌우 앞뒤로 흔들어 고르게 섞는 작업을 10분정도 수행한 후 흐름성을 육안으로 확인하였다. 기존의 무증자 자색고구마의 물질의 성상과 특징등이 차이가 났고 혼합물이 더 흐름성과 용해도, 감미도가 좋았으며 붕해도 실험에서 확인되었다.

따라서 이를 10열 스틱충진작업을 수행하기 위하여 아래와 같이 작업을 진행하였다.



자색고구마 혼합분말의 스틱제품은 건강기능식품GMP 공정에 따라 진행하였다. 먼저 GMP내 공조시스템을 일정시간 선 가동하여 실의 안정화를 수행하고 온도와 습도를 평형화가 진행되고 난 후 작업을 수행하였다. 스틱포장기는 예열을 충분히 하고 가로 실링바와 세로썰링바의 온도를 각700도 이상으로 유지를 시킨다. 상부의 투입구로 원료를 이송하여 흐름을 확인하고 최종 스틱입구로의 흐름성을 최종 확인한다.

제품의 부원료 흐름상태가 단일적으로는 좋지 않았으며 장비의 잠열에 의한 현상으로 분말의 끼임현상이 일어났고 이는 올리고당이나 기타 당성분이 열에 의해 영향을 받는 것이 아닌가

사료된다. 또한 원료의 수분이 높아 영김현상에 의한 흐름성이 떨어진 것이 아닌가 사료되어 이후 실험에서는 수분의 영향을 고려하여 진행하였다.

(5) 흐름성 개선을위한 원료 배합비의 수정시험

<표> 1차 배합비 조정을 통한 흐름성 TEST

원료	함량(%)	비고
자색고구마	30~50	흐름성 개선 및 관능시험
올리고분말	5~15	
자일리톨	10~25	
포도향분말	3~8	
포도맛분말	3~8	
비타민C	1~4	
스테아린산 마그네슘	1	
유당	1~5	
합계	100	

<표> 2차 배합비 조정을 통한 흐름성 TEST

원료	함량(%)	비고
자색고구마	48	원료 칭량 후 10열스틱기 포장 실험 수행
올리고분말	17	
자일리톨	22	
포도향분말	4	
포도맛분말	4	
비타민C	3	
스테아린산 마그네슘	1	
유당	1	
합계	100	

최종 2차 배합비를 통한 10열스틱기 포장실험은 포장중량과 흐름성이 개선되었고 관능성이 떨어져 재 설정이 필요하나 산업적 적용에는 문제가 없었다.

2. 발효자색고구마의 동결건조시험 수행



<장비명 : 동결건조기 100kg, 제작사 : 일신바이오베이스, 내용량 : 100kg>

<b>PROG. 1</b>	SF01	SF02	SF03	SF04	SF05	SF06
TEMP. (°c)	-20.0	-40.0	-40.0	-40.0	-40.0	-40.0
TIME (Min)	60	60	60	120	120	120
<b>PROG. 2</b>	SF01	SF02	SF03	SF04	SF05	SF06
TEMP. (°c)	-50.0	-50.0	-50.0	-50.0	-50.0	-50.0
TIME (Min)	10	60	60	120	120	120
<b>PROG. 3</b>	SF01	SF02	SF03	SF04	SF05	SF06
TEMP. (°c)	-50.0	-50.0	-50.0	-50.0	-50.0	-50.0
TIME (Min)	3	3	20	20	20	150
<b>PROG. 4</b>	SF01	SF02	SF03	SF04	SF05	SF06
TEMP. (°c)	-50.0	-50.0	-50.0	-50.0	-50.0	-50.0
TIME (Min)	3	60	120	120	60	60

<그림> 예비동결 조건

PROG. 1	SD01	SD02	SD03	SD04	SD05	SD06	SD07	SD08	SD09	SD10	SD11	SD12
TEMP. (°c)	-40.0	-30.0	-20.0	-10.0	0.0	10.0	15.0	20.0	30.0	30.0	30.0	30.0
VAC. (mTorr)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
TIME (Min)	100	240	240	400	400	400	300	500	300	300	300	9999
PROG. 2	SD01	SD02	SD03	SD04	SD05	SD06	SD07	SD08	SD09	SD10	SD11	SD12
TEMP. (°c)	-40.0	-35.0	-30.0	-20.0	-10.0	-5.0	0.0	5.0	10.0	15.0	20.0	20.0
VAC. (mTorr)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
TIME (Min)	200	600	600	600	600	600	900	600	600	600	600	9999
PROG. 3	SD01	SD02	SD03	SD04	SD05	SD06	SD07	SD08	SD09	SD10	SD11	SD12
TEMP. (°c)	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
VAC. (mTorr)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
TIME (Min)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
PROG. 4	SD01	SD02	SD03	SD04	SD05	SD06	SD07	SD08	SD09	SD10	SD11	SD12
TEMP. (°c)	-5.0	-5.0	0.0	0.0	0.0	10.0	10.0	20.0	20.0	30.0	30.0	30.0
VAC. (mTorr)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
TIME (Min)	10	30	20	60	120	10	30	10	30	10	30	9999

<그림> 동결건조 프로그램 조건설정

발효자색고구마를 동결건조기 트레이에 약 2kg씩 담아 평평하게 되도록 고른다음 예비동결과 최종 건조시간을 setting하여 진행하였다. 예비동결시간은 -78도에서 총 10hr이상을 유지하여 내부의 수분까지 완전하게 언 상태를 유지하고 최종건조는 10도에서 건조가 이루어져 최종 건조시간 50시간 이상 되었을 때 70%이상이 건조되도록 설정하였고 후반부 30도 이상에서 완전 건조되어 수분함량 약 3%이하가 되도록 설정하여 실험을 진행하였다. 완전건조된 발효자색고구마의 색상은 붉은색을 띄었고 수분함량을 확인하기 위하여 수분측정기로 측정하였다. 최종수분율

```

Method:
01
Switchoff mode      5
Standard drying
Drying temp.       103 °C
Display            0...-100 %MC
Wet weight         4.397 g

0:30 min          -0.25 %MC
1:00 min          -0.57 %MC
1:30 min          -0.80 %MC
2:00 min          -1.00 %MC
2:30 min          -1.16 %MC
3:00 min          -1.30 %MC
3:30 min          -1.43 %MC
4:00 min          -1.52 %MC
4:30 min          -1.59 %MC
5:00 min          -1.68 %MC
5:30 min          -1.75 %MC
6:00 min          -1.82 %MC
6:30 min          -1.86 %MC
7:00 min          -1.91 %MC
7:30 min          -1.98 %MC
8:00 min          -2.02 %MC
8:30 min          -2.07 %MC
9:00 min          -2.12 %MC
9:30 min          -2.16 %MC
10:00 min         -2.18 %MC
10:30 min         -2.23 %MC
11:00 min         -2.25 %MC
11:30 min         -2.27 %MC
12:00 min         -2.30 %MC
12:30 min         -2.34 %MC
13:00 min         -2.34 %MC
13:30 min         -2.37 %MC
14:00 min         -2.39 %MC
14:30 min         -2.41 %MC
15:00 min         -2.41 %MC
15:30 min         -2.43 %MC

Total time        15:48 min
Dry weight        4.298 g
End result        -2.43 %MC

```

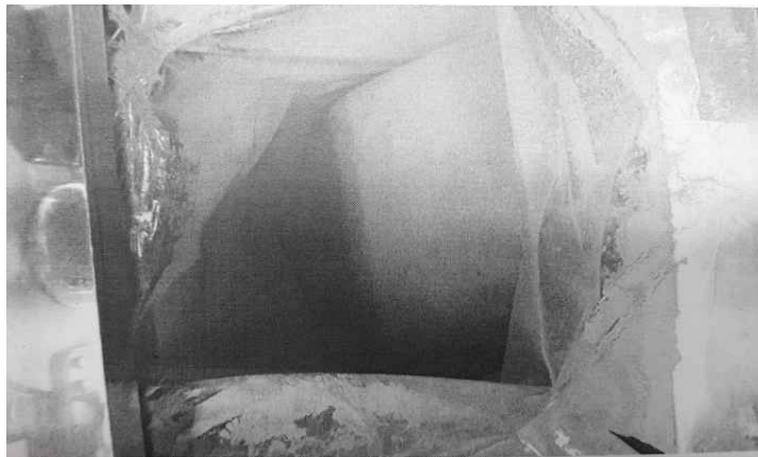
### 3. 동결건조물의 분쇄 작업 수행

발효자색고구마를 동결건조기에서 회수하여 경북바이오산업연구원에서 보유하고 있는 핀밀 (메쉬망 80)을 이용하여 완전분쇄하는 작업을 수행하였다. 핀밀가동시 마찰에 의한 온도변화를 최소화하기 위하여 15도 이하의 냉각수를 투입하여 진행하였으며 미생물의 오염을 제거하기 위하여 작업전 공정기시스템 가동 및 70%에탄올로 세척한 후, 토치로 화염멸균을 통하여 오염의 원인을 사전에 예방하는 노력을 경주하였다.

작업자는 건강기능식품GMP규정에 맞도록 복장과 설비내규를 따라 작업을 수행하고 최종 분쇄물은 혼합실로 이동하여 최종 혼합 및 포장을 수행하였다.

<표> 발효건조물 분쇄 작업공정

핀밀청소상태 확인	80mesh 망 장착확인, 오염 제거 및 화염멸균
↓	
핀밀 rpm 조정	4500rpm
↓	
핀밀 가동	냉각수 가동
↓	
원료 sample 채취	미생물 분석
↓	
밀봉	실링작업 수행



<그림> 발효건조물 분쇄 작업 후

4. 발효자색고구마 최종레시피 확립 시험

가. 1차 레시피 시험 TEST

구분	1-1	1-2	1-3	1-4
자색고구마 발효물	48	58	55	55
올리고분말	17	6	9	13
자일리톨	22	19	23	19
포도맛분말	4	11	6	6
포도향분말	4			
비타민C	3	3	1	1
스테아린산마그네슘	1			
유당	1	3	6	6
혼합유산균				
합계	100	100	100	100

발효자색고구마 스틱제품에 대한 관능평가는 5점 척도법에 의해 평가하였으며, 경북바이오산업연구원 임직원 30명과 안동대 식품영양학과 학생 10명을 대상으로 평가를 진행하였다. 평가항목은 스틱 제품화 전 분말을 이용하여 각 sample에 대한 맛, 향, 목넘김, 전체적인 흐름도, 기호도를 평가하였고 가장 중요한 것은 기호도를 결과로 채택하기로 하였다. 그 결과는 아래와 같다.



그 결과 맛과 향, 색 등은 비슷하였으며 기호도는 최종 3번 레시피가 가장 좋은 것으로 나타났으나 흐름성이 대부분이 좋지 않아 재설정 작업을 수행하였다.

나. 2차 레시피 시험 TEST

	2-1	2-2	2-3	2-4	2-5	2-6	2-7	2-8
자색고구마 발효물	50	50	50	50	49	50	50	50
올리고분말	17	17	15	15	15	10	10	10
자일리톨	20	20	20	20	20	22	22	22
포도맛분말	8	8	6	6	6	8	8	8
포도향분말								
비타민C	1	1	1	1	1	1	1	1
스테아린산마그네슘					1			
유당	4		4	8		9		4.5
혼합유산균		4	4		8		9	4.5
합계	100	100	100	100	100	100	100	100

1차 레시피 작업을 바탕으로 2차 레시피 확립 시험을 수행하였다. 2차도 1차와 같이 5점 척도법에 의해 관능을 평가하였으며, 경북바이오산업연구원 임직원 30명과 안동대 식품영양학과 학생 10명을 대상으로 평가를 진행하였다.



그 결과 최종 2차 1번 레시피가 맛과 향, 색, 목넘김 및 기호도에서 가장 높은 점수를 얻었으며, 흐름성도 다른 TEST 제품에 비해 좋아 이를 이용하되 최종 유산균의 유익한 효과를 얻고 당의 함량을 조금 낮추는 시험을 수행하기 위하여 3차 TEST를 수행한 후 이를 바탕으로 최종 확립된 레시피를 이용하여 혼합작업 및 10열 스틱포장시험을 수행하기로 하였다.

다. 3차 레시피 시험 테스트

	3-1	3-2	1kg	5kg	10kg	50kg	100kg
자색고구마 발효물	50	49	490	2450	4900	24500	49000
올리고분말	17	15	150	750	1500	7500	15000
자일리톨	20	20	200	1000	2000	10000	20000
포도맛분말	8	6	60	300	600	3000	6000
포도향분말							
비타민C	1	1	10	50	100	500	1000
스테아린산마그네슘		1	10	50	100	500	1000
유당							
혼합유산균	4	8	80	400	800	4000	8000
합계	100	100					

2차 관능평가 결과를 바탕으로 발효자색고구마 레시피를 확립하였으며 이를 이용한 10열스틱 포장시험을 수행하기 위하여 분말 10kg을 제조하였다.

경북바이오산업연구원에서 구축하여 운영하고 있는 10열스틱포장기는 그 내용물이 최대 10g 이상으로 소비자가 한번에 먹기에는 양이 많기 때문에 분말의 최적 용량을 알아보고 목넘김에 부담이 없고 충진에 따른 단가 고려를 위하여 최적의 스틱 충진량을 선정하기 위하여 예비 실험을 수행하였다.



<그림> 10열 스틱충진기를 이용한 제품

그 결과 2g을 충진한 스틱제품이 입안과 목넘김에 부담 없이 최적의 충진량으로 사료되어 제품 생산에 적용하였다.

### 5. 발효자색고구마 스틱제품 유통기한 설정실험

최종 제품에 대한 유통기한을 설정하기 위하여 실험을 수행하였다. 2g 스틱제품을 5개씩 무지파우치에 담아 설정온도 25℃, 45℃, 상대습도 95%의 조건으로 가속실험을 수행하였다. 제품의 확인은 한달에 1회, 3반복을 수행하였고 제품의 전반적인 뭉침과 색변화, 향 등을 관찰하였다.



유통기한 산정실험 진행 중 장비의 이상으로 관찰30일에 실험이 중단됨. 따라서 유사제품에 대한 조사를 진행하여 관련 제품의 유통기한을 최종 산정함.

7. 무증자 자색고구마 영양성분 분석결과

가. 기기분석

- (1) 사용기기 : Agilent 1100 Series(Maker : Agilent)
- (2) Column : Cation exchange 8 $\mu$ m, 3 $\times$ 250mm(Maker : Pickering)
- (3) Column Temp.: 40 $^{\circ}$ C
- (4) Reactor : PININACLE PCX (Maker : Pickering)
- (5) Reactor temp.: 130 $^{\circ}$ C
- (6) 분석조건 :
  - (가) Flow rate : 0.3ml/min
  - (나) Mobile phase

	Lithium eluant pH 2.75	Lithium eluant pH 7.50	Lithium column Regenerant	비 고
0	100	0	0	
17	100	0	0	
65	35	65	0	
128	0	100	0	
145	0	100	0	
185	0	94	6	
189	0	90	10	
189.01	100	0	0	
190	100	0	0	
220	100			Post Time

나. 전처리방법

- (1) Pickering 사의 Uriperp과 시료를 1:1 비율로 교반 후 5분간 방치
- (2) 13,000rpm으로 10분간 원심분리
- (3) 0.2 $\mu$ m PVDF syringe filter로 여과
- (4) Lithium diluent(pH 2.36)로 2배 희석 후 분석

※ URIPREP : 제조사(PICKERING), Cat.No(UP100)

다. 표준품 및 반응시약

- (1) Standard : Catalog No. 011006P (maker : Pickering)
  - 45종 mixture
- (2) Reagent : Catalog No. T200 (maker : Pickering)
  - Ninhydrin reagent

라. 분석결과

무증자 자색고구마 시제품 영양성분표			
제공량	100	g	%영양소
열량	390	kcal	
탄수화물	94	g	28%
당류	11	g	
단백질	0.53	g	1%
지방	1.5	g	3%
포화지방	1	g	7%
트랜스지방			
콜레스테롤	0	mg	0%
나트륨	60	mg	3%

최종 발효자색고구마를 이용하여 제품화 공정개발 및 확립을 완료하여 시제품 2건과 공정개선 3건의 결과를 얻었으며 자색고구마의 발효를 통한 기능성 향상이 뚜렷하게 보이지 않으나 지속적인 연구개발이 필요할 것으로 보인다. 또한, 다양한 제형의 연구개발로서 분말스틱제품과 과립 스틱 제품에 대한 가능성을 확인하여 본 결과 보다 관능적으로 우수하여 지속적인 연구개발이 선행되어야함을 알 수 있었다.



<그림> 발효자색고구마 과립제품

## 제6절. 시제품 디자인 개발

### 1. 디자인 초안

자색고구마의 특성과 발효 유산균을 접목한 깨끗한 이미지의 디자인 개발  
가. 1안



### 나. 2안



다. 3안



라. 4안



마. 5안



마. 6안





## 제7절 특허출원

- 유산균을 이용한 무증자 발효 자색고구마 및 그 제조방법(출원번호:1020150104611)

관인생략

### 출원번호통지서

출원일자 2015.07.23  
특기사항 심사청구(무) 공개신청(무)  
출원번호 10-2015-0104611 (접수번호 1-1-2015-0718562-43)  
출원인명칭 (주)내츄럴씨앤에프(1-2011-051477-7) 외 1명  
대리인성명 이덕록(9-1998-000461-7)  
발명자성명 권기석 이중복 이은호 최재홍 김중규 박진희 이수일 신화균 조현제  
발명의명칭 유산균을 이용한 무증자 발효 자색고구마 및 그 제조방법

특 허 청 장



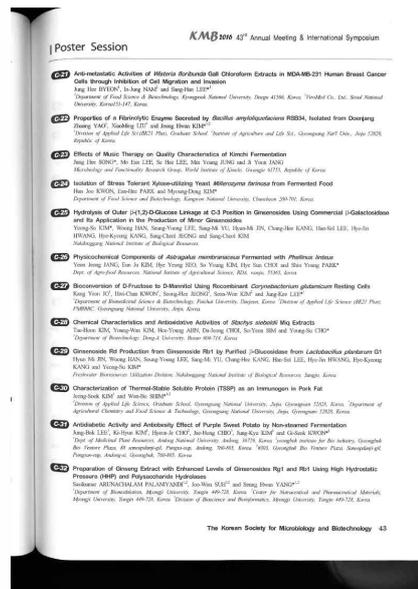
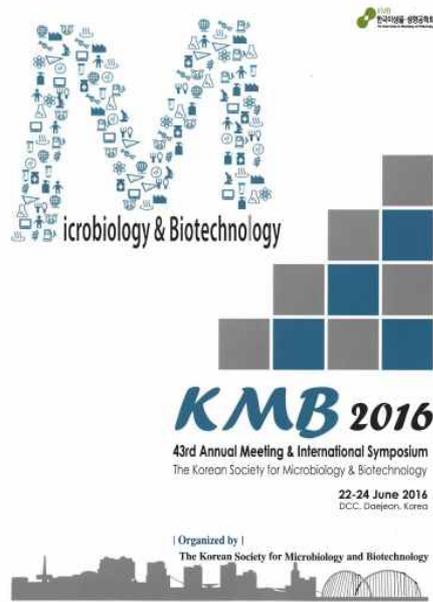
○ Antioxidant and physiological activity of purple sweet potato by non-steamed fermentation



(P 032)  
**Antioxidant and Physiological activity of Purple Sweet Potato by Non-Steamed Fermentation.**  
 Eun-Ho Lee<sup>1</sup>, Jung-Bok Lee<sup>1</sup>, Hyeon-Je Cho<sup>2</sup>, Eun-Jin Lim<sup>1</sup>, Chun-Pyo Jeon<sup>2</sup>,  
 Yun-Ho Kim<sup>3</sup> and Gi-Saek Kwon<sup>1</sup>  
<sup>1</sup>Dept. of Biorecience Science, Andong National University, Andong, 760-742, Korea  
<sup>2</sup>Gyeongbuk Institute for Bio Industry, Gyeongbuk Bio Venture Plaza, 88 sanopdaeri-gil,  
 Pangseon-eup, Andong, 760-825, Korea.  
<sup>3</sup>Dept. of Medicine Quality Analysis, Andong Science College, Andong, 760-702, Korea.  
<sup>4</sup>977 Maspok-ei, Pangsan-eup, Andong-si, Gyeongbuk, 760-825, Korea.  
 Sweet Potato is reported that Carbohydrate source, nutrition and multi-functional effect. The new varieties  
 with improved functionality, such as purple sweet potato has been developed and produced. The present  
 study was performed to investigate antioxidant activity(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) and total polyphenol,  
 total flavonoid. The total phenolic content and DPPH activity of Purple Sweet Potato is 2-3 times higher  
 than other Sweet Potatoes. Total flavonoid content of purple sweet potato is slightly higher. The results of  
 this study, Physiological activity of Purple Sweet Potato is better than the other Sweet Potato. It is  
 thought that the reason is Anthocyanins.  
 [This research was supported by the Bio-Industry Technology Development Program, Ministry for Food,  
 Agriculture, Forestry and Fisheries, Republic of Korea.]  
 Key words : Antioxidant activity, Fermentation, Non-Steamed Fermentation, Purple Sweet Potato.



○ Antidiabetic activity and antiobesity effect of purple sweet potato by non-steamed fermentation



## 제 9절 사업화성과 및 매출실적

### 1. 사업화성과

항목	세부항목			성 과
사업화 성과	매출액	개발제품	개발후 현재까지	0억원
			향후 3년간 매출	25억원
		관련제품	개발후 현재까지	0억원
			향후 3년간 매출	25억원
	시장 점유율	개발제품	개발후 현재까지	국내 : 0% 국외 : 0%
			향후 3년간 매출	국내 : 5% 국외 : 0.001%
		관련제품	개발후 현재까지	국내 : 0% 국외 : 0%
			향후 3년간 매출	국내 : 5% 국외 : 0.001%
	세계시장 경쟁력 순위	현재 제품 세계시장 경쟁력 순위		- 위
		3년 후 제품 세계 시장경쟁력 순위		100위

### 2. 사업화 계획 및 매출 실적

항 목	세부 항목	성 과			
사업화 계획	사업화 소요기간(년)	2014.08.01.~2016.07.31			
	소요예산(백만원)	400			
	예상 매출규모 (억원)	현재까지	3년후	5년후	
		-	25	40	
	시장 점유율	단위(%)	현재까지	3년후	5년후
		국내	-	5	10
		국외	-	0.001	0.002
	향후 관련기술, 제품을 응용한 타 모델, 제품 개발계획	유산균발효 자색고구마 화장품원료 유산균발효 마늘 제품 유산균발효 농산품 제품류			
무역 수지 개선 효과	(단위: 억원)	현재	3년후	5년후	
	수입대체(내수)	-	17	30	
	수 출	-	8	10	

# 제4장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도

## 제1절 목표달성도

### 1. 목표달성도

성과목표	사업화지표								연구기반지표								
	지식 재산권		기술이전	사업화					기술인증	학술성과			교육지도	인력양성	정책 활용		기타 (타 연구 활용 등)
	출원	등록		제품화	기술창업	매출창출	고용창출	투자유치		논문		학술발표			정확 활용	홍보 전 시	
			SCI						비 SCI								
최종목표	2	1	1	2			1		1	1	1	2		1		2	
실적	1차년도	1										1					
	2차년도				1			1				3		1			
달성율(%)	50	0	0	50			100		0	0	0	100		100		0	

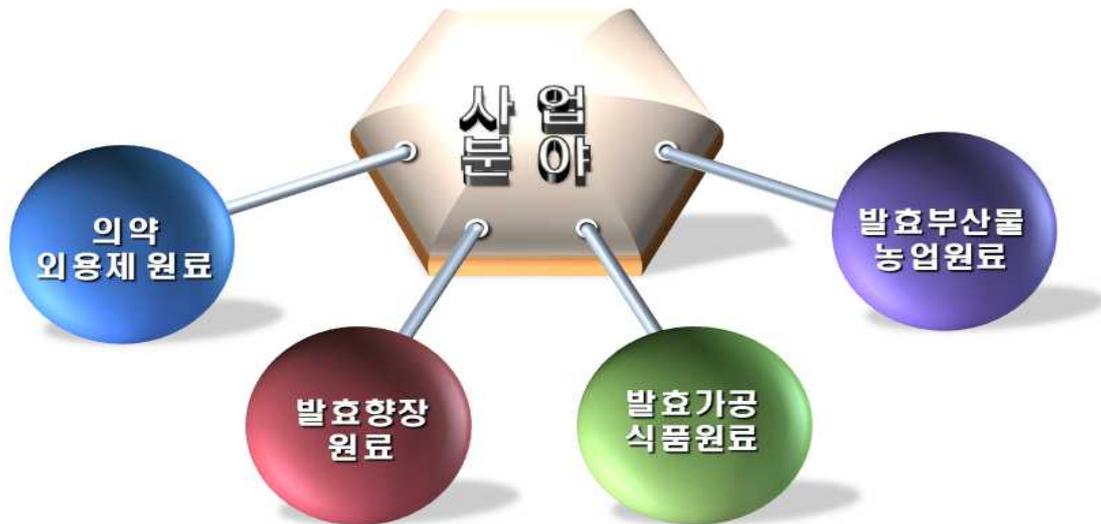
### 2. 관련분야 기여도

- 장기기능개선 무증자고구마 프로바이오틱스를 활용한 산업화 제품 2건 이상 개발
- 무증자고구마 프로바이오틱스의 장기능 개선 및 항비만 검증을 통한 건강기능성 식품소재의 개발을 통해 우리 농산물의 우수성 홍보와 지역 농산물 사용으로 인한 지역 농업경제의 발전
- 전통발효식품으로 부터 우수한 유산균 확보 및 수입 유산균 대체 효과를 통한 국내 유산균 유전자원의 확보
- 산학연 인프라를 통한 기술개발로 인적, 물적자원 활용 및 비용절감 효과
- 자색고구마의 고부가가치화로서 농가 수익 증대
- 제품관련 일자리 창출 및 인적자원 양성
- FTA 시장 개방에 따른 국내 농산물의 활용범위의 다각적인 확대 가능

### 3. 평가의 착안점 및 기준

평가항목 (주요성능 Spec <sup>1)</sup> )	단위	전체항목 에서 차지하는 비중 <sup>2)</sup> (%)	개발목표치		최종실적		평가방법 <sup>3)</sup>
			1차년도	2차년도	1차년도	2차년도	
1. 최적 미생물	균주	20	2	2	2	2	자체평가
2. GABA 함량	mg/kg	20	20	80 이상			공인인증기관 분석의뢰
3. 유산균수	cfu/g	15	1.0 * 10 <sup>□</sup>	1.0 * 10 <sup>□</sup>			공인인증기관 분석의뢰
4. 학술발표 논문기재	건	15	1	1	1	3	학술기재
5. 특허출원	건	15	1	1	1		출원서
6. 시제품 제작	건	15		2		1	시제품

## 제5장 연구결과의 활용 계획 등



### 1. 연구개발 결과의 활용방안

가. 장기능개선 자색고구마 발효 건강식품 제조

나. 발효자색고구마의 기능성 입증

다. 발효자색고구마의 소재 개발

라. 발효 미생물을 이용한 고기능성 지역 발효한방소재의 개발

- 마늘, 산양산삼, 생강, 천년초, 인삼등 농·특산물의 다양한 응용

마. 발효 미생물을 이용한 발효 자색고구마에 대한 특허 출원 및 등록

바. 원천기술 확보/발효기술의 표준화

사. 부산물을 활용한 농업원료 개발

- 동물 사료의 첨가제로 사용하여 기존의 사료첨가물과 다른 차별성을 지역 고유의 명품브랜드 육성
- 발효 부산물을 추출하여 식물 영양제로 활용함으로써 환경오염을 줄이고 유기농산물생산에 패러다임 제시
- 동종업계 발효기술 이전

2. 사업화 계획



<사업화 계획 (5개년도)>

(단위 : 억원)

구 분		사 업 화 년 도				
년 도		2014년	2015년	2016년	2017년	2018년
사업목표		발효공정 표준화	시제품개발	명품브랜드화 (해외수출)	생산라인 증설	글로벌제품
사업화과제		최적미생물 탐색 및 생산공정개발	생산시스템 및 시제품화	4대매체를 활용한 브랜드 육성	수출주력 상품개발 및 해외유통망 확보	개별인증형 건강기능식품 등록
사업화 품 목		발효미생물	발효 건강식품	발효 건강식품	발효건강식품 향장원료	기능성 원료
투 자 계 획	인 건 비	1.2	1.27	2.5	3.3	4.0
	재료비 및 설비투자비	0.75	5.65	8.1	11.8	15
	경상운영비	0.5	0.53	0.7	0.9	1.0
	계	2.45	7.45	11.3	16	20
생 산 계 획		-	10,000kg	14,000kg	19,000kg	25,000kg
판매계획	매 출 (억원)	-	8	10.5	13.5	17
	수 출 (만불)	-	20	35	55	80
	계	-	10	14	19	25

3. 개발제품

**TYPE A**

자색고구마 + 유산균 + 홍국 + 부재료



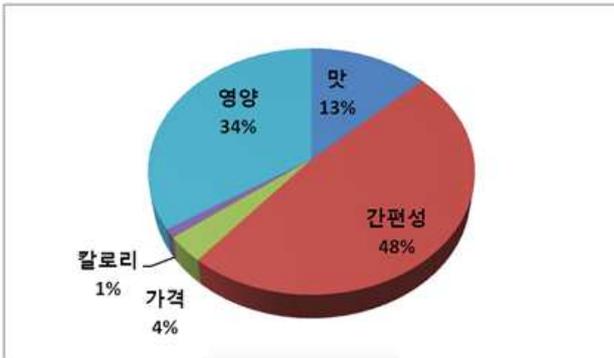
**TYPE B**

자색고구마 + 유산균 + 천연물 + 부재료

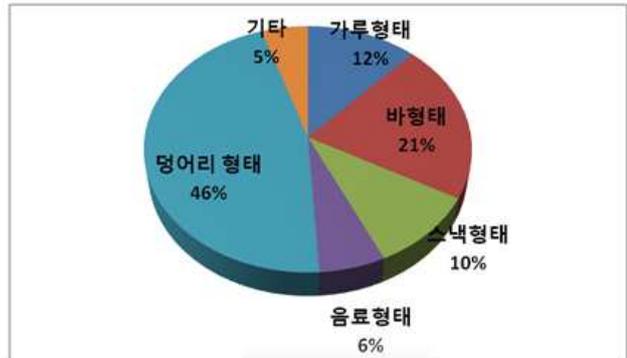


4. 부가상품 - 식사 대용식

• 아침식사대용품에 대한 고려 기준



• 소비자들이 원하는 아침식사대용 식품의 형태



**식사대용식의 핵심 : 간편 + 균형 잡힌 영양 + 맛 + 유산균**

**'유산균을 접목한 선식 개념으로 제품의 차별화 및 다양성'**

5. 시장진입을 위한 단계적 전략

- 자색고구마 시장에서 단순가공 개념이 아닌 소비자 특성에 맞는 part 개념의 새로운 발효 건강식품 시장을 창출한다.



6. 마케팅 계획

가. 산업군 별 제품군의 다양

- (1) 자색고구마 프로바이오틱스 제품으로 GABA 함유로 기존 제품과 차별화를 두어 소비자 요구에 충족시키며 환, 캡슐, 파우치, 엠플등 제품을 다양화하여 나이별 고객층을 공략하고 고품질 저가격 전략으로 초기시장 진입

나. 판로확보

- (1) 자체적으로 발효자색고구마 명품브랜드 개발로 B2C 영업 진행.
- (2) 건강식품 유통업체를 통한 개발제품의 판로확보
- (3) 안동하회마을, 안동 국제 탈춤 페스티벌 등 지역 축제행사에 참여하여 국내·외 관광객에 홍보 기업·지역 이미지 제고
- (4) 국내·외 전시박람회 및 기술 홍보 등을 통하여 바이어 수주.
- (5) 건강 제품 판매 업체와의 MOU 체결로 판매 극대화
- (6) 기 확보된 시장 참여 및 안정적인 매출 확보
- (7) 지속적인 시장중심의 R&D형 마케팅
  - (가) 소비자로 하여금 선택의 폭을 다양화(제품의 다양화)
  - (나) 관련 국내외 학회와의 정보교류로 인한 직·간접적인 마케팅 효과 유발

다. 오프라인 마케팅

- (1) 지역 관광지를 활용한 홍보 및 판매
- (2) 지역 축제때 마다 제품부스를 설치하여 관광객께 시용판매를 통한 적극적 홍보 및 기업·지역 이미지 제고

<표> 경북 북부지역 주요 축제현황

구 분	축 제 명	내 용	관광객수 (년간)
안동하회마을	하회마을	올레길, 고택체험, 탈놀이 연극, 탈만들기	100만명 이상
안동시	국제 탈춤 페스티벌	국내탈춤연행, 국외탈춤, 마당극, 민속축 제, 안동차전놀이, 안동늦다리밟기	110만명 이상
영주시	풍기인삼축제	인삼농장체험, 인삼아가씨 선발대회, 인삼 음식만들기, 인삼 피부마사지	90만명 이상
영주시	선비문화축제	향토음식경연대회, 전통혼례시연, 한복패 션쇼, 조선시대 시장 체험, 소수서원 올레 길	25만명 이상
예천군	곤충바이오 엑스포	3D 영상체험, 곤충 체험학습, 전시관 관람 양궁체험, 별관축체험, 학생 백일장	85만명 이상
봉화군	송이축제	송이따기, 춘양목 솔숲 걷기, 송이가요제, 춘양목공예체험, 고택문화체험, 한옥짓기	32만명 이상

라. 온라인 마케팅

- (1) 중소기업청 등 중소기업 지원기관의 홈페이지와 연계
- (2) 한국 건강기능성 식품 관련학회 및 인삼 관련협회 등 홈페이지와 연계하여  
마케팅 효과 극대화
- (3) SNS 통한 제품 정보제공 및 소비자 건강프로그램 앱 개발
- (4) 제품에 대한 국내외 인증 획득으로 제품의 신뢰성 향상 및 판매 극대화
- (5) 개발 제품의 국내 및 수출 판로 확보

<표> 박람회 현황

박람회명	전 시 내 용	규모
서울국제식품 산업대전	전문전시회 별 전시장 구성, 세계식품트렌드 홍보 관, 요리대회, 신제품 별관구성	38개국 1211개사
부산국제식품 대전	전통 및 일반가공 식품전, 급식전, 카페&베이커리 전, 식품기계 및 포장전, 지자체브랜드 식품전	250개사 450부스
대구국제식품전	가공·기능식품전, 전통·수입주류존, 식품외식창업존, 기능성식기존, 급식·포장기기존, 지자체특산품존	300개사 650부스
동경국제식품 소재 첨가물전 및 건강식품전	기능성 식품 원료 및 건강식품 전시	세계 400개사 750부스
상해식품박람회	식품첨가제, 주류, 당과류, 음료수, 유제품, 식료품, 건강식품 전시 수출/수입 무역과 제조 부스 설치	100개국 1339개 업체참가

제6장 연구과정에서 수집한 해외과학기술정보  
- 해당사항 없음-

## 제7장 연구개발성과의 보안등급

보안등급분류	일반과제
결정사유	「국가연구개발사업의 관리 등에 관한 규정」 제24조의4에 해당하지 않음

## 제8장 국가과학기술종합정보시스템에 등록된 연구시설 · 장비 현황

연구시설 현황	해당사항 없음
연구장비 현황	해당사항 없음

## 제9장 연구개발과제 수행에 따른 연구실 등의 안전조치 이행 실적

구 분	세 부 내 용	비 고
일일안전점검	시약 및 실험폐기물 관리상태 및 정리정돈 상태 점검	매일
안전순찰	연구실 관리 상태 및 일일점검일지 작성 여부 확인	1주일 마다
정기점검	시약보관 상태, 가스용기 관리상태 보호구 착용 및 관리 상태 점검	1개월 마다
정밀안전진단	가스누출여부, 전기과부하, 접지상태 점검, 화학약품 반응위험도 점검	6개월 마다

## 제10장 연구개발과제의 대표적 연구실적

번호	구분 (논문/특허/기타)	논문명/특허명/기타	소속 기관명	역할	논문게재지/ 특허등록국 가	Impact Factor	논문게재일 /특허등록일	사사여부 (단독사사 또는 중복사사)	특기사항 (SCI여부/인 용횟수 등)
1	특허	유산균을 이용한 무증자 발효 자색고 구마 및 그 제조방 법		주관	한국		2015.08.23	단독사사	
2	학회 발표	Antioxidant and physiological activity of purple sweet potato by non-steamed fermentation		주관	한국		2015.02.27	단독사사	우수포스터 상
3	학회 발표	Physicochemical properties and Physiological activity if non-fermented purple sweet potato		주관	한국		2015.06.24	단독사사	
4	학회 발표	The studies on the physicochemical properties and physiology activity of non-steam fermented purple sweet potato to develop functional foods and drug		주관	한국		2015.08.27	단독사사	우수포스터 상
5	학회 발표	Antidiabetic activity and antiobesity effect of purple sweet potato by non-steamed fermentation		주관	한국		2016.06.22	단독사사	

## 제11장 기타사항

구 분	내 용	비 교
인력양성	대학원생 2016년 2월 석사 1명 졸업 대학원생 2017년 2월 박사 1명 졸업예정	
신규채용	마케팅 관련 신규직원 2015년 12월 1명 채용	

## 제12장 참고문헌

- Ademiluyi, A. O. and Oboh G. 2013. Soybean phenolic-rich extracts inhibit key-enzymes linked to type 2 diabetes ( $\alpha$ -amylase and  $\alpha$ -glucosidase) and hypertension (angiotensin I converting enzyme) in vitro. *Experimental and Toxicologic Pathology*, 65; 305 - 309.
- Commane, D., Hughes, R., Shortt, C., and Rowland, I. 2005. The potential mechanisms involved in the anti-carcinogenic action of probiotics. *Mutation Research*, 591; 276-289.
- Endo, A. and Okada, S. 2005. *Lactobacillus satsumensis* sp. nov. isolated from mashes of shochu, a traditional Japanese distilled spirit made from fermented rice and other starchy materials. *Int J Syst Evol Microbiol.* 55; 83-85.
- FAO Statistical Yearbook. 2007. Food Agricultural Organization. Rome, Italy, v.1. 250p.
- Forsyth, C. B., Farhadi, A., Jakate, S. M., Tang, Y., Shaikh, M., and Keshavarzian, A. 2009. *Lactobacillus GG* treatment ameliorates alcohol-induced intestinal oxidative stress, gut leakiness, and liver injury in a rat model of alcoholic steatohepatitis. *Alcohol*, 43; 163-173.
- Gerhardt, P. G., Murray, G. E., Wood, W. A. and Krieg, N. R. 1994. Methods for general and molecular bacteriology, pp. 512-555. American Society for Microbiology, Washington, D.C., USA.
- Ito, M., Ohishi, Y., Yoshida, Y., Okumura, T., Sato, T. and Yokoi, W. 2008. Preventive effect of *Streptococcus thermophilus* YIT 2001 on dextran sulfate sodium induced colitis in mice. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 72; 2543-2547.
- Kobayashi, Y., Toyama, K., and Terashima, T. 1974. Biological Characteristics of *Lactobacillus*. II. Tolerance of a Multiple Antibiotic Resistant Strain, *Lactobacillus Casei* PSR 3002, to Artificial Digestive Fluids. *Nihonsaikingakuzasshi. Japanese journal of bacteriology*, 29; 691-697.
- Lim Y. S., Kim S. Y. and Lee S. K. 2008. Characteristics of lactic acid bacteria isolated from kefir made of goat milk. *Korean J Food Sci Ani Resour* 28; 82-90.

- Lila M. A. 2004. Anthocyanins and Human Health : An *In Vitro* Investigative Approach. *J Biomed Biotechnol.* 2004; 306-313.
- Madden, J. A. and Hunter, J. O. 2002. A review of the role of the gut microflora in irritable bowel syndrome and the effects of probiotics. *Brit J Nutr* 88:S67 - S72
- Matsui, T. 2002. ANti-hyperglycemic effect of dia-cylated anthocyanin derved from ipomoea batatas cultivar Ayamurasaki can be achived through the  $\alpha$ -Glucosidase inhibition action. *J. Agric. Food chem.* 50, 7244-7248
- Miranda JEC. 1995. A cultura da batata-doce. Brasília, DF: Embrapa, 95 p. (Plantar hortaliças; 30). ISBN 8585007605.
- Nomura, M., Kobayashi, M., Ohmomo, S. and Okamoto, T. 2000. Activation of the glutamate decarboxylase gene in *Lactococcus lactis* subsp. *Appl Environ Microbiol.* 66, 2235 - 2237
- Otero, M. C., Ocana., V. S. and Elena Nader-Macías M. 2004. Bacterial surface characteristics applied to selection of probiotic microoganisms. *Methods Mol Biol* 268; 435-440.
- Patricia, R. M., J. Hugenholtz, and P. Zoon. 2002. An overview of the functionality of exopolysaccharides produced by lactic acid bacteria. *Int. Dairy J.* 12: 163-171.
- Philpott, P., Gould. K., Markham, K., Lewthwaite L. and Ferguson L. 2003. Enhanced coloration reveals high antioxidant potential in new sweetpotato cultivars. *J Sci Food Agric* 83; 1076 - 82.
- Reddy, N. N., and Sistrunk, W. A., 1980. Effect of cultivar, size, storage, and cooking method on carbohydrates and some nutrients of sweet potatoes. *J Food Sci* 45; 682-684.
- Saavedra, J. M. and Tschernia, A. 2002. Human Studies With Probiotics and Prebiotics: Clinical Implications, *British Journal of Nutrition, Volume 87, Supplement s2, 1 May 2002, pp. 241-246(6).*

- Schlesier, K., Harwat, M., Böhm, V., and Bitsch, R. 2002. Assessment of Antioxidant Activity by using Different in Vitro Methods. *Free radical research*, 36; 177-187
- Shekhar, S., Mishra, D., Buragohain, A. K., Chakraborty, S., and Chakraborty, N. 2015. Comparative analysis of phytochemicals and nutrient availability in two contrasting cultivars of sweet potato (*Ipomoea batatas* L.). *Food Chemistry*, 173, 957 - 965.
- Shim, J. H., Oh, S. J., Kim, S. K. and Baek, Y. J. Comparative tests on the acid tolerance of some lactic acid bacteria species isolated from lactic fermented products. *Kor. J. Food Sci. Technol.* 27: 101-104, 1995.
- Shimada, K., Fujikawa, K., Yahara, K., and Nakamura, T. 1992. Antioxidative properties of xanthan on the autoxidation of soybean oil in cyclodextrin emulsion. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 40; 945-948.
- Suda, I., Furuta, S., Nishiba, Y., Yamakawa, O., Matsugano, K., Sugita, K., 1997. Reduction of liver injury induced by carbon tetrachloride in rats administered purple sweet potato juice. *J Jpn Soc Food Sci Technol* 44; 315 - 8.
- Terahara, N., Konczak, I., Ono, H., Yoshimoto, M. and Yamakawa, O. 2004. Characterization of acylated anthocyanins in callus induced from storage root of purple-fleshed sweet potato, *Ipomoea batatas* L. *J Biomed Biotechnol*, 5; 279 - 86.
- Teow, C., Truong, V. D., McFeeters, R., Thompson, R., Pacota, K. and Yencho, G. 2007. Antioxidant activities, phenolic and  $\beta$ -carotene contents of sweet potato genotypes with varying flesh colours. *Food Chem* 103; 829 - 38.
- Yoshimoto, M., Okuno, S., Yoshinaga, M., Yamakawa, O., Yamaguchi, M. and Yamada, J. 1999. Antimutagenicity of sweetpotato (*Ipomoea batatas*) roots. *Biosci Biotechnol Biochem* 63; 536 - 41.
- Zhishen, J., Mengcheng, T. and Jianming, W. 1999. The Determination of Flavonoid Contents in Mulberry and their Scavenging Effects on Superoxide Radicals. *Food Chemistry*, 64; 555-559

### 주 의

1. 이 보고서는 농림축산식품부에서 시행한 고부가가치식품기술개발사업의 연구보고서입니다.
2. 이 보고서 내용을 발표하는 때에는 반드시 농림축산식품부에서 시행한 고부가가치식품 기술개발 사업의 연구 결과임을 밝혀야 합니다.
3. 국가과학기술 기밀유지에 필요한 내용은 대외적으로 발표 또는 공개하여서는 아니됩니다.