

117018-2

공개(○), 비공개()발간등록번호(11-1543000-002594-01)

농식품 창업·벤처지원 R&D 바우처 사업 제2차 연도 최종보고서

발간등록번호

11-1543000-002594-01

**프리바이오틱스를 이용한 발효 산양삼 함유
유산균 마이크로캡슐 제조 및 분무건조 공정 개선
최종보고서**

2019.03.29

주관연구기관 / 서울대학교 산학협력단
협동연구기관 / 농업회사법인(주)우리두

프리바이오틱스를 이용한 발효 산양삼 함유
유산균 마이크로캡슐 제조 및 분무건조

공정 개선

최종보고서

2019
소전
관문
부기
처관
명명

**농림축산식품부
(전문기관)농림식품기술기획평가원**

<제출문>

제 출 문

농림축산식품부 장관 귀하

본 보고서를 “프리바이오틱스를 이용한 발효 산양삼 함유 유산균 마이크로캡슐 제조 및 분무건조 공정 개선”(개발기간 : 2017.04.21 ~ 2018.12.31)과제의 최종보고서로 제출합니다.

2019. 03. 29.

주관연구기관명 : 서울대학교 산학협력단 (대표자) 윤의준 (인)
참여기관명 : 농업회사법인(주)우리두 (대표자) 조재영 (인)



주관연구책임자 : 김무중
참여기관책임자 : 조재영



국가연구개발사업의 관리 등에 관한 규정 제18조에 따라 보고서 열람에 동의합니다.

<보고서 요약서>

보고서 요약서

과제고유번호	117018-2	해 당 단 계 연 구 기 간	2017.04.01. ~ 2018.12.31	단 계 구 분	(2단계)/ (2단계)
연구사업명	단 위 사 업	농식품기술개발사업			
	사 업 명	농식품 창업·벤처지원 R&D 바우처사업			
연구과제명	대 과 제 명	(해당 없음)			
	세부 과제명	프리바이오틱스를 이용한 발효 산양삼 함유 유산균 마이크로캡슐 제조 및 분무건조 공정 개선			
연구책임자	김무중	해당단계 참여연구원 수	총: 3명 내부: 2명 외부: 1명	해당단계 연구개발비	정부:168,000천원 민간: 42,000천원 계:210,000천원
		총 연구기간 참여연구원 수	총: 3명 내부: 2명 외부: 1명	총 연구개발비	정부:168,000천원 민간: 42,000천원 계:210,000천원
연구기관명 및 소속부서명	서울대학교 산학협력단 그리바이오회과학기술연구원(식품산업화연구소)			참여기업명	농업회사법인(주)우리두
국제공동연구	상대국명:			상대국 연구기관명:	
위탁연구	연구기관명:			연구책임자:	

※ 국내외의 기술개발 현황은 연구개발계획서에 기재한 내용으로 같음

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

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

국가과학기술종합정보시스템에 등록된 연구시설·장비 현황

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

요약(연구개발성적을 중심으로 개조식으로 작성하되, 500자 이내로 작성합니다) | 보고서 면수

<요약문>

<p>연구의 목적 및 내용</p>	<p>프리바이오틱스를 이용한 발효 산양삼 함유 유산균 분말제품 개발 및 산업화</p>
<p>연구개발성과</p>	<p>■ 바이오폴리머 혼합 유산균 발효 조성물의 유변학적 특성분석</p> <ul style="list-style-type: none"> ○ 유산균 발효물 제조 및 유변학적 특성분석 <ul style="list-style-type: none"> - 발효 공정변수(온도, pH, 시간) 조건 확립 및 점성, pH, 생균수 분석 ○ 바이오폴리머를 이용한 분무건조 조성물의 특성분석 <ul style="list-style-type: none"> - 바이오폴리머 혼합물의 특성분석 - 프리바이오틱스로 탈지분유 (skim milk powder; SMP) 첨가를 통한 총 고형분 함량(TS=10%, 30%)과 pH(3.9, 5.2, 6.6)를 조절 및 제조 - 분무건조 조성물의 유체특성, 입자크기, electrophoretic mobility 평가 <p>■ 바이오폴리머를 유산균 마이크로 캡슐화 및 분말 제조공정도 확립</p> <ul style="list-style-type: none"> ○ 바이오폴리머 혼합, 분무건조 조건 확립 및 분무건조 특성분석 <ul style="list-style-type: none"> - 바이오폴리머 혼합(분무건조 조성물)비율 및 분무건조 조건 확립 - 분무건조 조성물에 따른 분무건조 분말의 입자크기 및 분포, 흡습특성, 분산성, 흐름성, 응집성, 수분함량) 간의 상호 관계 구명 - SEM (scanning electron microscope)을 이용한 프로바이오틱스 입자의 미세구조 관찰 - 제조한 분말의 점착특성과 유변학적 특성분석 - 수분함량과 유리전이온도 (Tg) 및 viscometer를 이용하여 측정한 토크 값과의 상관관계 구명(sticky-zone graph 작성) - 분말특성에 따른 저장 안정성 평가 - 등온흡습곡선(moisture sorption isotherm) 확보 <p>■ 발효 콜로이드 산양삼 원료 표준화 가공기술 개발 및 품질평가</p> <ul style="list-style-type: none"> ○ 발효 콜로이드 산양삼 제조공정도 확립 <ul style="list-style-type: none"> - 발효 콜로이드 산양삼 제조공정도 확립 및 유산균 4종(<i>Lactobacillus plantarum</i>, <i>Lactobacillus paracasei</i>, <i>Lactobacillus fermentum</i>) 확보 - 지표물질 확보 : 총 조사포닌 (ginsenosides 13 종) ○ 발효 콜로이드 산양삼 품질특성 분석 <ul style="list-style-type: none"> - 입자크기 및 분포, zeta-potential 분석 <p>■ 발효 콜로이드 산양삼 함유 유산균 분말제품 특성분석</p> <ul style="list-style-type: none"> ○ 발효 콜로이드 함유 유산균 분말제품 제조 및 품질특성 평가 <ul style="list-style-type: none"> - 유동층 건조기를 이용하여 발효 콜로이드 산양삼 함유 과립제품 제조 - 결합제 결정 : 발효 콜로이드 산양삼 - 저장 안정성 평가 (저장 기간=60일) - 시장에 유통되고 있는 제품과 품질 비교 (총 6개의 시중 제품의 입자크기, 수분함량, 수분활성도, 동적 접촉각(dynamic contact angle), 흐름성, 응집성, 분산성, 생균수 분석)
<p>연구개발성과의 활용계획</p>	<p>○ 본 연구에서 확보한 콜로이드 및 분말 가공기술은 품질개선 및 신제품개발 연구에 적용할 수 있는데, 분말, 주류, 엑기스(추출물) 등의 형태로 제한적으로 가</p>

(기대효과)	<p>공되고 산양삼을 이용한 다양한 고차가공제품 개발로 확대 응용이 가능함.</p> <p>○ 고차가공기술을 이용한 산양삼 가공제품은 지역 연계사업으로 확장할 수 있는 특징이 있는데, 친환경 재배로 생산한 산양삼은 “평창 산양삼 특구”의 대표 가공 산양삼 제품으로 개발할 수 있는 성장 동력이 될 수 있다. 또한, 산양삼 재배농가에게는 안정적인 소득 공급원으로 자리매김할 수 있으므로 지역특화 산업의 성공적 모델로 구축할 수 있다. 또한, 자연에서 재배하는 임산물의 한계성인 저장, 유통의 문제를 효과적으로 해결함으로써 연간 안정적인 소득원이 될 수 있는 기틀을 확립할 수 있다.</p> <p>○ 사업종료 후 1년차에는 제품의 친환경, 건강기능성, 웰빙식품을 주요 키워드로 하여 적극적으로 제품홍보를 진행할 예정이며, 연구과제에서 확보한 과학적 실험결과를 이용하여 국내외 인증획득 및 박람회 등에 참가하여 매출 증대에 활용하고자 한다.</p>				
국문핵심어 (5개 이내)	산양삼	유산균	발효	콜로이드	캡슐화
영문핵심어 (5개 이내)	wild cultivated ginseng	lactic acid bacteria	fermentation	colloid	encapsulation

※ 국문으로 작성(영문 핵심어 제외)

< 목 차 >

1. 연구개발과제의 개요	7
2. 연구수행 내용 및 결과	24
3. 목표 달성도 및 관련 분야 기여도	94
4. 연구결과의 활용 계획 등	96
붙임. 참고 문헌	97

<별첨> 주관연구기관의 자체평가의견서

1. 연구개발과제의 개요

1-1. 연구개발 목적

본 연구에서는 가공식품에 제한적으로 사용되는 산양삼의 활용도를 높이기 위하여 진행하였다. 유산균 분말제품은 가공과정 중에 건조 수율이 낮은 문제점과 저장 중에 품질이 낮아지는 등의 다양한 문제점이 발생하는 문제점을 해결하고, 산양삼을 유산균 분말제품에 효과적으로 적용할 수 있는 기술을 개발하기 위하여 발효 콜로이드 산양삼 제조공정과 분말 가공기술개발을 통한 산양삼 함유 유산균 분말제품의 품질개선 및 신제품을 개발하고자 한다.

“웰빙식품”으로서 프로바이오틱스

- 식품소재로서 다양한 제품에 적용가능
- 프로바이오틱스 제품의 꾸준한 성장
- 건강 기능성
- 다양한 소비 연령층

“친환경 평창 산양삼”의 사업성

- 친환경 재배농법으로 재배
 - 무농약 농법
- 평창 산양삼 특구 지정 (2014)
- 평창 산양삼 지리적 표시제 등록 (2017)



• 시장규모 (국내 : 1조 3천억 원 / 국외 : 12억 9천만 달러)

산양삼 함유 프로바이오틱스 제품은 웰빙식품으로써 소비자 호응이 매우 높음
산양삼을 포함한 건강기능식품시장의 규모는 매년 증가



“산양삼 함유 프로바이오틱스” 제품의 성능개선 필요성

- 산양삼 원료의 품질 표준화 필요
- 제품의 경쟁력 확보를 위한 품질 및 안정성 개선 필요

바이오폴리머를 이용한 분말 프로바이오틱스 제품의 성능개선
(메쉬드 포테이토, 감자 전분, 탈지분유 등)

산양삼 원료 표준화

제조공정 개선

관능개선

저장 안정성 개선

- 발효 콜로이드 산양삼 원료 표준화
- 진세노사이드 함량 등에 관한 품질 규격 확립

- 분말화 수율 증대 공정 개선
- 바이오폴리머를 이용한 미세 캡슐화

- 분말 특성 개선을 통한 관능조절

- 저장 중 유산균 생존율 개선
- 분말 안정성 개선



연구의 최종목표

바이오폴리머를 이용한 발효 콜로이드 산양삼 함유 유산균 마이크로 캡슐화, 제조공정 및 품질 개선






1-2. 연구개발의 필요성

가. 식품소재로써 산양삼의 우수성

- 산양삼을 포함하는 고려인삼(高麗人蔘)은 전통적으로 널리 애용되고 있는 약용식물로서 치매 예방, 항노화, 성 기능 개선, 갱년기 여성, 항암, 면역기능 증진, 항당뇨, 항피로 등의 다양한 건강 기능성이 있는 것으로 알려져 있으며, 이러한 생리활성 기능을 나타내는 주요물질은 인삼 사포닌으로 알려진 진세노사이드(ginsenoside)인 잘 알려져 있다.
- 현대 소비자 수준의 향상과 급속한 고령사회로의 진입으로 인하여 농식품, 임산물, 유제품 위주의 유기농/웰빙식품 등과 같은 건강과 관련이 있는 식품에 관한 관심이 고조되고 있는데, 특히 탁월한 건강 기능성이 잘 알려진 산양삼을 포함하는 인삼 제품은 청소년, 중장년층, 고령층, 무슬림(할랄식품)을 위한 맞춤형 건강기능식품으로 이용할 가치가 매우 높은 식품이다.
- 최근 식품시장의 키워드는 유기농, Non-GMO, 지역 특산물인데, 가장 널리 소비되고 있는 재배 인삼은 매우 우수한 생리활성이 입증되었음에도 잔류농약이 검출되는 문제가 지속해서 발생하고 있어서 잎줄기를 제거한 수삼이나 표피를 제거한 백삼으로 제한적으로 가공되고 있다. 특히, 친환경 농산물을 선호하는 국내외의 식품 관련 지식이 높은 웰빙 소비자들에 대한 신뢰도가 낮아질 수 있다.

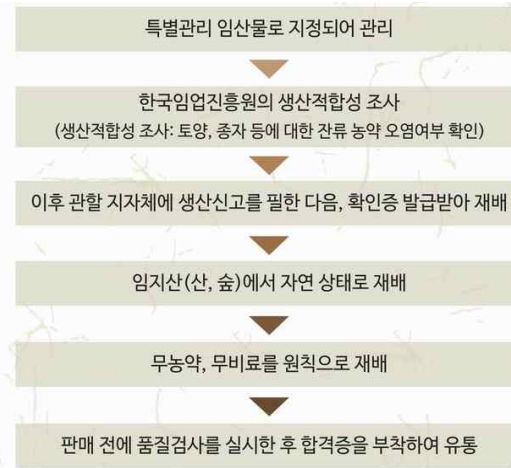
표 1-1. 생육환경에 따른 고려인삼 구분

구분	특징
재배삼 (Cultivated ginseng) 	<ul style="list-style-type: none"> ○ 인삼밭에서 인공적으로 기른 삼으로 지근의 수는 토질·이식방법·비료·수분 등에 의해서 차이가 있음. ○ 뿌리의 형태는 나이에 따라 차이가 있고 수확은 4~6년근을 대상으로 함.
산양삼 (Wild cultivated ginseng) 	<ul style="list-style-type: none"> ○ 산삼의 씨를 자연상태의 산림에서 차광막 등 인공시설을 설치하지 않고 생산하는 삼.
산삼 (Wild ginseng) 	<ul style="list-style-type: none"> ○ 산삼은 깊은 산골 자연상태에서 자생한 삼

*자료출처 : 금산인삼관 (<http://www.geumsan.go.kr/html/insam/>)

- 산양삼은 한국임업진흥원에서 재배, 인증 및 사후관리를 하는 임산물로써, 농약을 전혀 사용하지 않고 자연환경 조건에서 재배를 해야 하는 까다로운 재배 조건을 충족하여야 하므로 유기농 임산물로서 우수한 가치가 있다. 또한, 식품 영양학적으로 우수한 가치가 있는 꽃, 열매, 잎, 줄기, 뿌리의 표피까지 식품 가공 소재로써 이용이 가능한 장점이 있다.

(가)



(나)



그림 1-1. (가) 산양삼 재배방법 및 인증절차, (나) 산양삼 재배이력 관리 및 조회

*자료출처 : 한국임업진흥원 (<https://sam.kofpi.or.kr/>)

나. 유산균 제품시장의 성장 가능성

- 프로바이오틱스인 유산균은 인류가 가장 오랫동안 광범위하게 활용하고 있는 미생물 중 하나로서, 내의 세균총을 조절하여 장내 이상발효 억제, 장 기능 개선, 변비 개선, 유해균의 생육 억제, 항암, 항염증, 혈압강하, 혈중 콜레스테롤 함량 저하 등과 같은 다양한 생리활성이 있는 것으로 알려져서 유가공 제품인 발효유, 치즈, 기능성 식품, 의약품용 정장제, 동물용 사료 및 의약품, 화장품 등의 다양한 산업 분야에서 활용되고 있다.
- 유산균은 웰빙식품, 고령친화식품에 대한 소비자 인식이 높아서 유아, 청소년, 중장년층 및 고령층과 같은 모든 연령층에서 소비가 꾸준히 증가하고 있으며 면역강화, 항산화, 항암 등과 같은 건강 기능성이 강화된 제품에 대한 선호도가 증가하고 있다.
- 최근 건강 기능성 식품시장에서 유산균은 건강 기능성을 개선하기 위하여 빵, 과자, 초콜릿, 소스, 음료 등에 활발히 적용하고 있다. 또한, 유산균 제품의 형태는 일반적으로 액상으로 제조되고 있으나, 소비자의 편의성(섭취 또는 음용하기 쉬운 형태), 장기보존, 다양한 식품에 적용이 쉬운 형태인 분말 상으로 제조하기 위한 연구가 급격히 증가하고

있다.

- 2017년 국내 프로바이오틱스 시장은 1,903억 원으로, 전년보다 20.5% 증가했다. 지난해 발효유 총 매출은 1조7천788억 원 규모로 집계됐다. 여기에 프로바이오틱스, 과자나 젤리 등에 사용되는 유산균까지 합하면 국내 유산균 시장은 2조 원이 넘는 매우 큰 시장으로 성장하고 있다(연합뉴스, 2017.10.16.).

다. 강원도 특화산업으로서 산양삼 산업의 성장 가능성

- 산양삼은 「산지관리법」(제2조 제1호)에 의하면 산지에서 차광막 등 인공시설을 설치하지 않고 생산하는 삼으로 자연성, 청정성이 보장되도록 육성관리 되는 임산물로 정의하고 있다. 따라서, 친환경, 유기농, 웰빙 임산물로 인식되고 있어서 고가임에도 불구하고 소비자층은 꾸준히 증가하고 있다.
- 강원도에서는 산양삼 재배가 매우 중요한 임업 산업으로 성장하여 전국에서 가장 많은 재배 농가(800호)가 1,277 ha (전국면적의 29%)에서 산양삼을 재배하고 있으며, 주요 제품은 신선산양삼, 건조산양삼, 주류 등임(통계청, 2016).

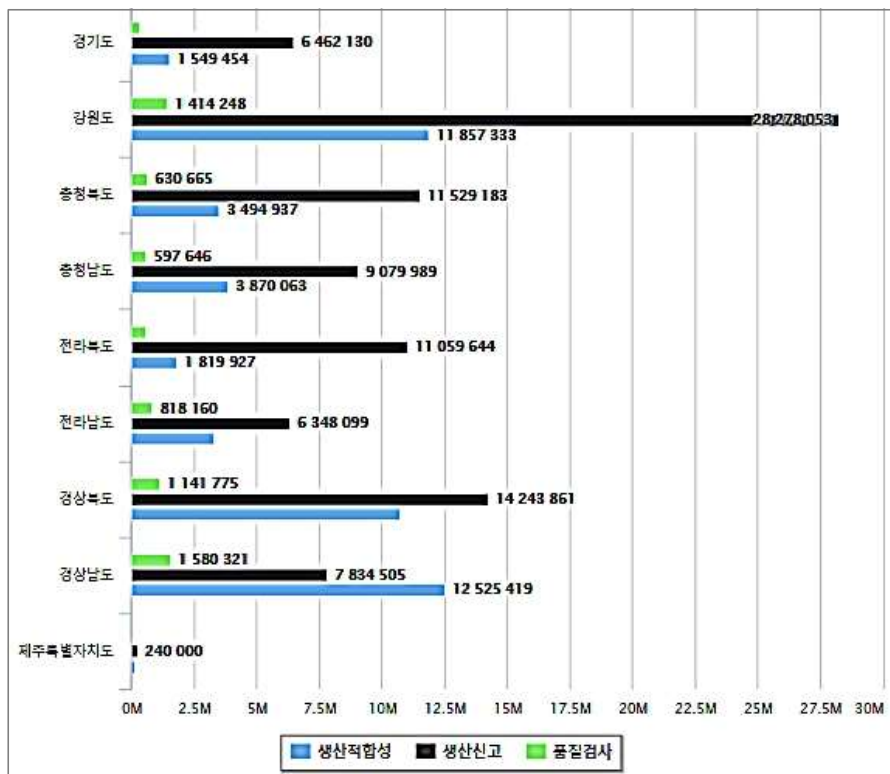


그림 1-2 전국 산양삼 재배면적 현황 (조회 기간 : 2011.01-2017.05)

*자료출처 : 한국임업진흥원 (<https://sam.kofpi.or.kr/>)

- 평창군은 73 농가 (326 ha)에서 강원도 최대의 재배면적을 보유하고 있으며, 2014년도에는 중소기업청으로부터 국내 최초로 “평창 산양삼 특구”로 지정받았으며, “평창 산양삼 특구 조성사업”을 통하여 산양삼 가공산업, 친환경 및 웰빙식품 산업과 6차 산업을 연계 발전시키기 위하여 산-학-연-관이 협력하고 하고 있는데, 2019년까지 국비와 도비, 민

자를 포함하여 201억여 원을 투자하여 산양삼 재배 농가 육성, 신규재배지 조성, 생산자 단체 법인 설립과 운영, 가공시설지원과 연구개발, 산양삼 클러스터 사업단 운영 등과 같은 사업을 추진하고 있다(강원도민일보, 2014.09.29.). 또한, 2017년도에는 '평창 산양삼 지리적 표시제' 등록이 완료되었기 때문에 향후 평창 산양삼은 국내의 산양삼 메카로 성장할 기틀을 마련하게 되었다(산림청 공고 : 제2017-112호, 2017.04.06.).

강원도민일보

뉴스 지역 평창

평창 산양삼특구 지정 명품화 '시동'

2019년까지 210억 투입

재배농가공산업 육성

신현태 2014년 09월 29일 월요일

평창 산양삼특구가 지난 25일 지역특화발전 특구위원회를 통과해 최종 지정됨에 따라 평창 산양삼 명품화를 통한 지역 성장동력 창출을 위한 사업이 본격화 되게 됐다.

평창군에서 지난해 5월 특구계획을 수립하고 특구지정을 위한 공고 및 주민공청회와 군의회 의 건청취 등 관련 절차를 이행한 후 올해 초 한국임업진흥원, 서울대 그린바이오단지 웰니스사업지원센터와 MOU를 체결하는 등 산양삼 산업의 발전 기반을 구축, 지난 6월 말 중소기업청에 특구 지정신청서를 제출해 최종 지정됐다.

*자료출처 : 강원도민일보, 2014.09.29.
(<http://www.kado.net/news/articleView.html?idxno=699941>)

산림청 공고 제2017-112호

"농수산물 품질관리법" 제32조 제4항·제5항 및 같은 법 시행령 제14조 제4항에 따라 '평창산양삼'의 지리적표시 등록신청 공고결정을 하고, 그 결정내용을 다음과 같이 공고합니다.
2017. 4. 6.

산림청장

지리적표시 등록신청 공고

1. 지리적표시 등록신청 주요내용

가. 지리적표시 등록 신청인의 성명, 주소 및 전화번호

- 성명 : 평창군 산양삼특구영농조합법인(대표 이○○)
- 주소 : 강원도 평창군 봉평면 흥정계곡길 9
- 전화번호 : 033-333-3389
- 구성원 및 구성원별 재배계획

구성원	재배면적	생산계획량 (지리적표시품)
73명	326ha	267,000주, 560kg (267,000주)

나. 지리적표시 등록대상 품목 및 등록명칭

- 등록대상 품목 : 산양삼(Wild-cultivated Ginseng)
- 등록명칭 : 산양삼
- 한글명 : 평창산양삼
- 영문명 : PyeongChang Wild-cultivated Ginseng

*자료출처 : 산림청 공고(제2017-112호), 2017.04.06

- 연구 신청기관인 농업회사법인(주)우리두는 6만 평(평창군 소재) 규모의 산양삼 재배농장에서 연간 1톤 이상의 산양삼 생산능력을 확보하고 있는데, 2016년에는 산양삼 함유 유산균 분말제품(제품명 : 패밀락, 출시 : 2016년 8월)을 판매하고 있으며 약 5천만 원의 매출을 달성하였다. 또한, 국내외 시장에서 매출을 증대를 위하여서는 가격 경쟁보다는 품질개선을 통한 시장에 정착하는 것이 중요할 것으로 판단된다.

<상표등록>

상표출원공고 40-2016-0122985

	(190) 대한민국특허청(KR)	(260) 출원공고번호	40-2016-0122985
	출원공고상표공보	(442) 출원공고일자	2016년11월22일
(511) 분류	29(10판)		
(210) 출원번호	40-2016-0068065		
(220) 출원일자	2016년07월22일		
(731) 출원인	주식회사 우리두 강원도 평창군 대화면 평창대로 1447, 104동313호		
(740) 대리인	오종필		

담당실사관 : 박경수

(511) 지정상품(서비스업)/지정업무

제 20 류

유산균분말, 유산균음료, 유산균, 유산균 유유, 유(乳)가공식품, 건조된 유정(乳漿), 과일을 구성분으로 한 요거트, 요구르트, 요구르트 음료, 유산균발효치즈, 유정(乳漿), 유제품, 유제품 스프레드, 유제품 음료.

<유산균 분말제품>



라. 산양삼 및 유산균 제품의 식품 가공학적 한계점

(1) 산양삼 가공의 문제점

- 농업회사법인(주)우리두에서 생산하는 산양삼 원료는 동결건조 분말 상으로 제조하여 식품에 첨가하고 있으나, 위생학적 측면에서 미생물을 완전히 제거하기 어려운 문제점과 지표물질 설정을 통한 원료 규격화, 입자크기와 용해도 등과 같은 물리적 품질규격을 확립하기 위한 기술적으로 어려운 문제점이 있어서 제품 공정의 표준화가 필요하다.

(2) 유산균 분말제품 가공의 문제점

- 현재 출시하고 있는 제품(제품명 : 패밀락)은 산양삼을 함유한 유산균 분말제품으로써 동결건조 산양삼 분말과 유산균 분말을 혼합하여 제조하였는데, 동결건조를 진행할 때는 제조단가가 높은 문제점이 있음.
- 또한, 유산균 분말제품의 특성인 습윤성, 분산성, 점성, 점착성은 관능적 특성인 입마름 현상에 영향을 미치게 되며 이러한 입마름 현상은 소비자 기호도에 직접 나쁜 영향을 미치게 되는데, 이러한 관능적 특성을 개선함으로써 프리미엄 제품으로 개발할 필요가 있다.

마. 세계화를 대비한 프리미엄 제품개발의 필요성

(1) 발효기술을 이용한 프리미엄 콜로이드 산양삼 원료개발의 필요성

- 산양삼 가공에서 가장 문제가 되는 미생물 저감은 식품의 위생학적 및 저장학적 안정성을 확보함으로써 프리미엄 원료를 소비자에게 제공할 수 있을 뿐만 아니라 소비자에게 신뢰를 줄 수 있고 가격 경쟁력을 확보할 수 있는 중요한 요소이다.
- 따라서 (1) 위생학적 안정성 확보, (2) 원료의 품질 규격화를 위한 지표물질을 설정을 위하여 열처리와 발효공정에 따른 총 진세노사이드 함량 변화를 추적 분석하고 분말상의 발효 콜로이드 산양삼의 입자크기, 용해도 등의 분말특성을 분석함으로써 원료의 특징을 구명하고, (3) 원료의 가격 경쟁력 확보를 위하여 산양삼의 잎, 줄기, 뿌리를 전부 활용 가능한 수단을 취하여 원료가공에 적용함으로써 가격 경쟁력을 확보할 필요가 있다.

(2) 분무건조를 이용한 분말제조공정 개선의 필요성

- 유산균은 보통 액상으로 이용되고 있으나, 편의상 또는 장기보존을 위해 분말로 제조하고 있는데, 일반적으로 유산균 분말제조는 동결 건조법 또는 분무 건조법을 이용하고 있다.
- 동결 건조법은 유산균 생존율이 높은 장점이 있으나 건조시간이 오래 걸리며 제조단가가 높은 단점이 있고, 분무건조는 가장 저렴한 건조방법으로써 짧은 시간에 건조할 수 있

으며 제조단가가 상대적으로 낮은 장점이 있다. 분무건조 중에 발생하는 분말 입자 상호간의 응집(aggregation), 싸이클론 내부에 점착되는 현상(stickiness)으로 인하여 분말 회수율이 낮으며 분무건조 중에 열풍에 의한 유산균의 사멸이나 불안정화를 막을 수 없는 문제점이 있다. 분무건조 수율을 높이기 위하여 덱스트린을 사용하는 것은 가장 일반적인 방법이나, 혈당을 급속히 상승시키거나 비만을 유발할 수 있으므로 소재 대체가 시급한 문제로 대두되고 있다.

표 1-2. 분무건조와 동결건조에 소비되는 비용 비교

구분	동결건조기	분무건조기	비고
(재)부산테크노파크	504,000원	85,250원	
(재)강릉과학산업진흥원	430,000원	56,000원	
소비시간	24 h	1 h	
기준무게	100 kg	100 kg	

※ 분말제조에 소비되는 비용은 기준무게 대비 건조에 소비되는 시간으로 산출하였음.

자료출처 : (재)부산테크노파크, (재)강릉과학산업진흥원

- 일반적인 유산균 분말화를 위한 전처리 공정은 균체의 배양, 분리·회수, 건조, 분말화 공정으로 제조하고 있으며 MRS (de Man, Rogosa & Sharpe) 또는 탈지분유 배지를 사용하여 균체를 배양한 후 원심분리하여 균체를 회수하고 이를 탈지분유 등에 재분산한 후 건조하여 분말화를 진행하고 있으나 유산균을 회수하는 과정에서 가공 부산물이 발생하는 문제점과 제조공정이 다소 복잡하여 제조비용이 상승하는 문제점이 있으므로 이러한 문제점을 해결하는 것은 제품의 제조단가를 낮출 수 있는 중요한 공정이 된다.

(3) 바이오폴리머를 이용한 유산균 마이크로 캡슐 제조기술의 필요성

- 유산균 안정화를 위한 기술로써는 분말상의 유산균에 바이오폴리머를 도포하여 캡슐화하는 방법(matrix type, core-shell type)이 일반적인 방법으로 알려져 있으나, 본 연구에서 시도하고자 하는 분무건조 중에 발생하는 문제점(싸이클론 내부에 점착, 낮은 회수율 및 생존율)을 직접 해결함으로써 분무건조 수율 및 유산균 생존율을 개선하고 마이크로 캡슐구조로 제조하여 유산균의 생존력을 높일 수 있는 기술개발이 필요하다.
- 또한, 강원도에서 생산되고 있는 농축산물인 우유에서 분리한 탈지분유, 메쉬드 포테이토, 감자전분 등은 우수한 프리바이오틱스로 사용할 수 있으며, 분무건조 중에 유산균 캡슐 제조를 위한 매트릭스 물질로 사용이 가능한 기술적 장점이 있다. 또한, 우수한 가격 경쟁력이 있어서 제품 제조 가격을 줄일 수 있다.
- 유산균 분말제품은 수용액에서 쉽게 용해되지 않고 구강에 점착되는 현상인 입마름 현상이 발생하기 때문에 소비자가 분말제품을 꺼리는 이유가 되기도 하는데, 이러한 문제

점을 해결하기 위하여서는 입자의 특성 조절을 통한 품질개선이 필요하다.

바. 연구개발 대상의 국내·외 현황

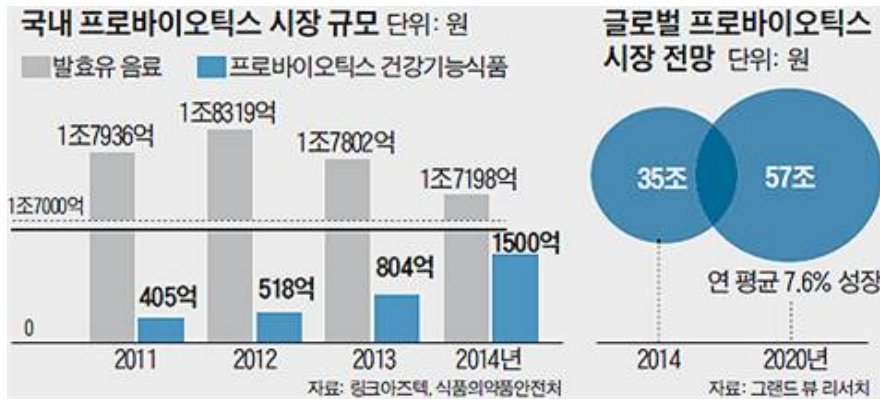
(1) 국내 기술 수준 및 시장현황

(가) 기술현황

- 유산균 제품은 제품 성상에 따라서 음료, 분말 및 타블렛형으로 제조되고 있으며 유산균 타블렛의 경우 휴대와 섭취가 간편하고, 하나의 타블렛으로 일일에 필요한 유효성분을 효과적으로 섭취할 수 있으며, 분말형은 체내에서 영양분 흡수율이 높아 상대적으로 빠른 효능을 볼 수 있다는 효과가 있다. 또한, 음료 형은 다양한 첨가물을 가함으로써 색과 맛을 조절할 수 있어서 영유아나 고령층이 이용하기에 적합하다.
- 유산균 분말은 식품에 적용하기가 쉽고, 장기보관이 가능한 특징이 있으며, 분말, 과립, 정제, 캡슐 등의 형태로 제조할 수 있다. 분말 및 타블렛 형태로 제조하기 위하여 가장 일반적으로 사용되는 기술은 분무건조와 동결건조 기술이 사용되고 있음. 그러나 저온 및 고온의 처리과정 중에 유산균의 생존율이 떨어지게 된다. 따라서, 유산균의 생존율을 높이기 위하여 바이오폐리머를 이용하여 캡슐구조로 제조하는 연구가 활발히 진행되고 있다.
- 동결건조 유산균 분말화 기술은 유산균 용액에 동결보호제인 글리세롤을 첨가하고 젤라틴, 전분, 텍스트란 등을 첨가한 후 알긴산 나트륨에 수용액과 혼합하여 알긴산-칼슘 매크로 캡슐을 제조하여 동결건조 캡슐 분말을 제조하는 기술(특허번호 : 10-2002-0050577; 생리적 특성이 증진된 유산균 분말 및 이의 제조방법)과 열에 의한 유산균 생존율을 증진하기 위한 분무동결건조 기술이 보고되고 있다(특허번호 : 10-2011-0033254; 유산균 분말의 제조방법).

(나) 유산균 제품시장

- 유산균은 음료, 발효유(요거트 등), 건강보조식품, 식품첨가물, 의약품용 정장제 등과 다양한 분야에 이용되고 있으며, 2014년 기준 국내 유산균 건강기능식품 시장은 1,500억 원의 규모를 형성하였으며 꾸준한 성장을 하고 있다. 최근에는 유산균 분말 형태의 건강보조식품의 시장 점유율이 증가하고 있는데 과자, 음료, 초콜릿 등과 다양한 형태의 제품에 적용되고 있다.



* 자료출처 : 조선비즈

(http://biz.chosun.com/site/data/html_dir/2015/09/14/2015091400010.html; 2015.09.14)

(나) 산양삼 및 건강기능식품의 국내외 시장규모 및 잠재적 성장 가능성

- 국내외 시장에서 잠재적 소비층과 시장규모를 분석한 결과, 건강기능식품에서 인삼(산양삼 포함) 및 인삼 가공제품에 대한 시장규모가 가장 크게 형성되어 있으며 잠재적 소비층은 중장년층, 고령층(고령친화식품), 무슬림(할랄식품), 중화권 등의 다양한 소비층이 대상이 될 것으로 판단된다. 그러므로 친환경 또는 무농약 농법으로 재배한 산양삼과 콩의 생리활성 기능을 융합한 제품의 시장진입 장벽은 높지 않은 것으로 판단된다.
- 인삼(산양삼 포함)을 이용한 제품의 국내 시장규모는 1조 3천억 원 이상이며 전 세계 222개국으로 수출되고 있는 매우 큰 시장을 형성하고 있으므로 국외 시장 진입장벽은 높지 않으리라고 예상한다.

표 1-3. 국내외 건강기능식품, 잠재적 소비층 및 시장규모 현황

구분	소비 규모	시장규모	특징	참고자료	
국내	건강기능식품	-	4조 원(2013년)	인삼:52% 점유	한국일보, 2015.05.02
	고령친화식품	5.54백만 명	2.1조 원(2020년)	-	한국보건산업진흥원, 2011
	할랄식품	13.5만 명	100억 원(2020년)	-	한국해양수산개발원, 2015
	고려인삼	중장년/고령층	1조 3천억 원	홍삼 농축액:58.9% 점유	농촌경제연구원, 2014
	산양삼	중장년/고령층	310억원(94톤, 2014)	생 산양삼, 건조 산양삼	한국임업진흥원, 2015
	콩 제품	전 연령층	4,625억 원(2012년)	정식품, 삼육식품:64% 점유	한국농수산물유통공사, 2013
국외	건강기능식품	-	3,793억 달러(2014년)	-	Nutrition Business Report, 2010
	고령친화식품(일본)	25.0백만 명	4.1조 원(2014년)	-	한국보건산업진흥원, 2011
	할랄식품	22억 명(2030년)	1,500조 원(2015)	전 세계 시판시장:20%	삼성 KPMG 경제연구소, 2015
	고려인삼	222 개국	12억 9.5천만 달러(2009년)	-	한국농수산물유통공사, 2014

(라) 경쟁기업 및 시장 동향 조사

① 경쟁기업 파악

- 경쟁기업으로는 한국야쿠르트, 남양유업, 서울우유, 매일유업, 롯데햄우유 등의 대기업은 주로 발효유와 낙농발효제품을 생산 및 판매하고 있으며, 이에 반해 쉐바이오텍, 비피도, 파마넥스, 바이오솔루션, 선플러스 등의 중소기업은 유산균 중심의 생균제를 판매하고 있다.
- (주)쉐바이오텍은 북유럽 시장을 겨냥한 '듀오락'이라는 독자 브랜드로 덴마크에 10여종의 프로바이오틱스 제품을 출시하고 있고, 2014년부터는 핀란드에 여드름균을 제거하는 기능성 화장품을 수출하고 있다. 또한, 당뇨병 환자의 혈당 조절을 돕는 쉐바이오텍의 '듀오락 혈당 컨트롤'은 젓갈과 가자미식해 등에서 분리한 *Streptococcus thermophilus*를 함유한 제품을 출시하였다.
- (주)CJ제일제당은 김치에 들어 있는 유산균주 3,500여개를 전수 조사해 피부 아토피 증상을 완화하는 효과가 있는 '유산균 CJLP133'을 분리하는 데 성공했으며 물이나 우유에 타서 먹는 가루 제품으로 만들어 2014년 기준으로 150억원의 매출을 달성하였다. (주)프로바이오틱스는 2004년도에 전통식품인 김치에서 면역조절 효과가 있는 '*Lactobacillus sakei* probio 65'를 분리하여 제품을 출시하고 있다.
- 국내 업체들은 토종 유산균을 바탕으로 해외시장을 공략할 수 있는 제품개발에 집중하고 있는 특징이 있는 것으로 파악되고 있다. 유산균 분말제품의 가격은 32,000원에서 120,000원으로 형성되어 있으며. 농업회사법인(주)우리두에서 출시하고 있는 제품은 39,000원으로서 가격경쟁력은 높은 것으로 판단된다.



듀오락 혈당컨트롤(쉐바이오텍)
32,000원
(<http://www.duolac.co.kr/mall/main/home.do>)



듀오락-이중코팅 유산균 제품(쉐바이오텍)
120,000원
(<http://www.duolac.co.kr/mall/main/home.do>)



유산균 CJLP133-유산균 분말제품(씨제이)
35,900원
(<http://item2.gmarket.co.kr/Item/DetailView/Item.aspx?goodscode=515069364>)



락포피-김치유산균(프로바이오틱)
49,000원
(<http://www.probiotic.com/pro01.php>)

- 산양삼을 포함하는 인삼가공제품은 젤리, 음료, 환, 주류 등의 단순가공제품이 주로 생산되

고 있으며 산양삼을 함유한 유산균 건강기능식품은 신청기관인 농업회사법인(주)우리두가 국내에서 유일한 제품이다(제품명 : 패밀락).



패밀락-산양삼 함유
분말제품(농업회사법인(주)우리두) / 39,000원
(<http://www.woorido.com/>)

② 시장 동향 조사

- 농업회사법인(주)우리두에서는 국내외 전시회, 박람회 등에 참가하여 제조한 제품의 가격, 품질특성, 소비자 기호도 등에 대하여 조사하였다. 조사 기간은 2017~2018년이었으며, 대상 국가는 국내뿐만 아니라 중국, 홍콩, 대만, 싱가포르, 베트남, 일본, 러시아, 두바이 등에서 19회를 실시하였다.
- 홍콩시장은 특성상 글로벌 제품들이 판매되고 있었으며, 유산균 제품의 경우 대부분 캡슐, 타블렛 형태로 주로 유통되고 있었다. 소비자들은 한국의 고려인삼에 대한 소비자 인식이 높아져 산양삼이 함유된 유산균 제품에 대한 호응이 매우 좋았으며, 맛은 타 제품에 비하여 좋으나 섭취 시 목에 막히는 듯한 느낌은 개선될 필요가 있는 것으로 확인되었다.
- 중국, 대만, 홍콩에서의 유산균 제품시장은 진입단계이며, 소비자들은 유산균 제품에 대하여 인지를 못 하고 있었다. 분말 유산균 제품보다는 액상 제품에 대하여 선호를 하는 경향이 있었다. 또한, 분말제품이 영유아의 목 넘김에 문제가 발생하지 않는지에 대하여 매우 높은 우려하고 있었는데, 이러한 이유는 분말제품보다는 캡슐, 타블렛 제품이 시장에서 인지도가 높은 것이 주요 요인인 것으로 파악된다.
- 베트남은 프로바이오틱스 시장이 전혀 형성되지 않았는데, 유산균 제품의 건강 기능성과 장내 역할 등의 다양한 효과에 대하여 인지하지 못하고 있는 것으로 파악되었다. 현재 프로바이오틱스 제품은 다국적 기업의 몇몇 제품이 특성 소비층을 중심으로 시장이 형성되어 있으나, 시장규모는 확인할 수 없었다. 시장진입 장벽을 낮추기 위하여서는 베트남에 식문화에 적합한 제품을 개발하는 것이 적합할 것으로 파악된다.

(2) 국외 기술 수준 및 시장현황

(가) 기술현황

- 일본은 오랫동안 유산균 음료, 발효유, 의약품용 정장제, 생균제의 개발에 관한 연구가 추진됐으며, 유산균·비피더스균의 생균제와 생체 내 유용균의 증식인자인 올리고당, 식이섬유 등의 prebiotics 소재연구는 세계 최고 수준인 것으로 보고되고 있다(유산균 제제 제조기술, 한국과학기술정보원, 2004).
- 종래에는 장내의 유용균, 유해균이 미치는 장내 세균총과 건강유지, 식이 섭취의 상관관계들이 연구의 중심이었지만 최근에는 면역 부활 작용기전, 소화기관의 질병 예방 효과, genome·DNA 수준의 균주 해석이 중요과제가 되고 있다(유산균 제제 제조기술, 한국과학기술정보원, 2004).
- 일본에서는 생균제(probiotics)와 prebiotics를 혼합하여 유용한 효과를 동시에 얻을 수 있는 기능성 음료가 이미 개발, 시판되고 있으며 그 수요는 계속 증가할 것으로 전망된다(유산균 제제 제조기술, 한국과학기술정보원, 2004).

(나) 시장현황

- Danone, Nestle, Child-Hansen 등은 특정 균주와 개인 건강을 연계한 제품을 출시하였고, Stony Field Farm은 다양한 유산균을 혼합한 Nutrica를 출시하여 소화 증진, 유당불내증 완화, 칼슘 흡수능 개선, 면역향상, 암 예방 등을 시도하여 인기를 얻고 있음(유산균 제제 제조기술, 한국과학기술정보원, 2004).
- 미국에서는 청장년 대상의 맞춤 식품이 부상하고 있는데, 맞춤 식품은 식이섬유, 기능성 물질(비타민·무기질·호르몬), 저열량 감미료 및 면역강화나 병원성 억제용 유산균 음료가 주류를 이루고 있다(유산균 제제 제조기술, 한국과학기술정보원, 2004).
- Transparency Market Research (2011)의 보고에 의하면 세계 유산균 함유 식음료 시장은 2018년까지 연평균 6.8%로 성장할 것으로 전망하였는데, 이는 44,950.5백만 달러 규모로 성장할 것으로 예상된다.

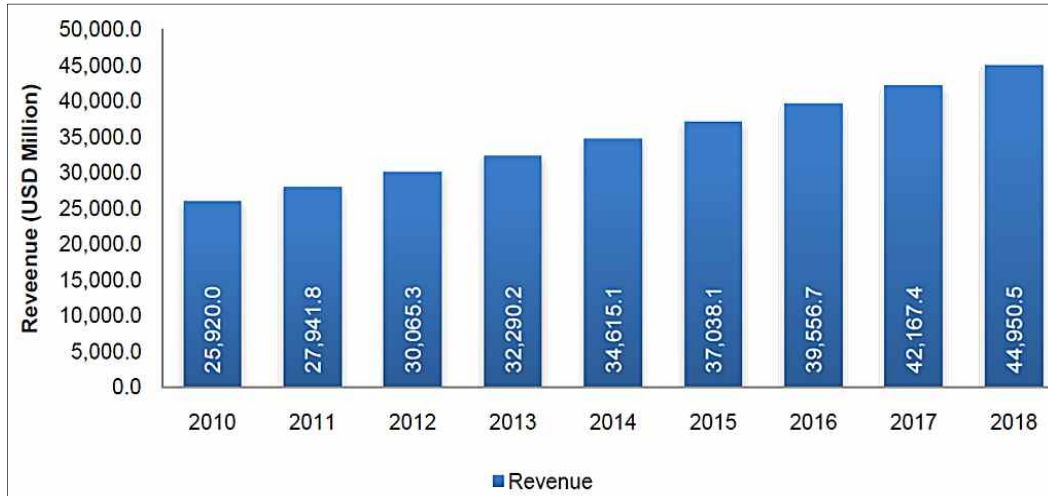


그림 1-3. 글로벌 프로바이오틱스 시장규모
*자료출처 : Transparency Market Research, 2011

- 글로벌 유산균 함유 식품주요회사는 Danone, Yakult Honsha, Nestle 등이 있으며 시장 점유율은 각각 17.9%, 8.2%, 7.2%이며, 이 중에서 식품주요 시장이 차지하는 비중은 84.5%에 달한다.

표 1-4. 글로벌 유산균 제품시장 현황

Parameter	2012	2018
Global Revenues (MUSD)	◦ 30,065	◦ 44,950
Geographic Share (% revenues basis)	◦ North America : 10.9%	◦ North America : 10.8%
	◦ Europe : 33.8%	◦ Europe : 33.5%
	◦ Asia Pacific : 41.2%	◦ Asia Pacific : 41.5%
	◦ Others : 14.1%	◦ Others : 14.2%
Key Application Share (% revenues basis)	◦ Food and Beverage : 83.8%	◦ Food and Beverage : 84.5%
	◦ Dietary Supplement : 8.5%	◦ Dietary Supplement : 8.7%
	◦ Animal Feed : 6.7%	◦ Animal Feed : 6.8%
Key Participant Share (%)	◦ Danone : 17.90%	
	◦ Yakult Honsha : 8.2%	
	◦ Nestle : 7.2%	
Compound Annual Growth Rate (%)	Revenues : 6.83% (2013 -2018)	

*자료출처 : Transparency Market Research, 2011

- 2014년 기준 중국이 수입한 유산균 제품 시장규모는 약 9억 8,061만 달러였으며 전년 대비 8.45%로 증가하였으며, 주요 수입국으로는 미국, 네덜란드, 독일, 태국, 대만 등이 있었다. 중국의 최대 수입국은 미국으로서 2014년 기준으로 2억 4,314만 달러를 수입하였으며 한국에서는 3천 9백만 달러 규모로 8번째로 많은 양을 수입하였다. 이는 전년 대비 22.38% 증가한 수치이다.

표 1-5. 중국의 유산균 제품 주요 수입국 및 규모

(단위 : 달러, %)

국가	2012	2013	2014	2014/2013 증감률
글로벌	709,712,218	904,235,024	980,613,369	8.45
1 미국	174,818,189	261,779,491	243,140,406	- 7.12
2 네덜란드	99,754,422	110,984,107	101,893,098	- 8.19
3 독일	47,555,149	56,133,339	81,318,233	44.87
4 태국	25,189,329	68,420,383	80,558,445	17.74
5 대만	42,845,564	55,641,866	67,830,400	21.91
8 한국	19,027,914	32,145,574	39,339,460	22.38

*자료출처 : 중국 프로바이오틱스 시장조사, 한국농수산물유통공사, 2015

(다) 경쟁기업 현황

- 경쟁기업으로는 유제품을 주로 생산하는 다국적 기업인 Danone, Yakult Honsha, Nestle, Chr. Hansen 등이 있다. 특히, 네덜란드 낙농 연합에 의해 설립된 식품연구소인 NIZO food research는 유산균 분무건조에 관한 오랜 연구 경험을 보유하고 있다.



요거트(Danone)
(www.danone.com)



유산균(Nestle)
(http://www.duolac.co.kr/mall/main/home.do)



유산균 분말(Chr. Hansen)
(www.chr-hansen.com)

사. 연구개발의 중요성

(1) 기술적 측면

- 일반적으로 유산균 분말화 공정은 균체의 배양, 분리·회수, 건조, 분말화 공정으로 제조하고 있으며 MRS (de Man, Rogosa & Sharpe) 또는 탈지분유 배지를 사용하여 균체를

배양한 후 원심분리하여 균체를 회수하고 이를 탈지분유 등에 재분산한 후 건조하여 분말화를 진행하고 있으나 유산균을 회수하는 과정에서 가공 부산물이 발생하는 문제점과 제조공정이 다소 복잡하여 제조비용이 상승하는 문제점이 있으므로 이러한 문제점을 해결하는 것은 제품의 가격 경쟁력을 확보할 수 있다.

- 분무건조는 가장 저렴한 건조방법으로써 회수한 유산균에 탈지분유, 텍스트린 등과 같은 바이오폴리머를 첨가하여 분무건조를 하게 되는데, 분무건조 중 분말 입자 상호간의 응집(aggregation), 싸이클론 내부에 점착되는 현상(stickiness)에 의한 낮은 회수율과 높은 열처리에 따른 유산균의 사멸이나 불안정화를 막을 수 없는 문제점이 있는데, 이러한 문제점을 해결하기 위한 많은 연구는 초기 단계에 있다.
- 유산균 안정화를 위한 기술로써는 분말 상의 유산균에 바이오 폴리머를 도포하여 캡슐화하는 방법(matrix type, core-shell type)이 일반적인 방법이나 본 연구에서 제시한 기술은 분무건조 중에 발생하는 문제점(싸이클론 내부에 점착, 낮은 회수율 및 생존율)을 직접 해결함과 동시에 마이크로캡슐을 제조함으로써 열과 저장 안정성을 확보하고자 한다.
- 따라서, 본 연구에서는 탈지분유를 유산균 발효 배양액 직접 사용함으로써 생산비용 저감과 분리·회수 공정을 개선하고, 유산균 발효물에 프리바이오틱스인 메쉬드 포테이토, 감자전분, 탈지분유를 첨가하여 분무건조를 위한 발효 조성물을 제조하고, 유산균 마이크로캡슐구조로 제조하여 열에 의한 불안정화를 최소화하고, 분무건조 수율을 증대를 위한 제조공정을 개선하고자 함. 더불어 분말제품의 구강 점착 및 입마름 현상을 개선함으로써 소비자 만족도를 높이기 위한 기술개발을 하고자 함.

(2) 경제 산업적 측면

- 인삼(산양삼 포함) 가공제품의 국내 시장규모는 1조 3천억 원 이상이며 전 세계 22개국으로 수출되고 있는 매우 큰 시장을 형성하고 있다. 중국을 포함하는 동남아시아에서는 한국에서 생산되는 고려인삼을 최고의 품질로 인식하고 있으므로 시장 진입장벽은 높지 않다고 판단된다.
- 2014년 기준 중국이 수입한 유산균 제품 시장규모는 약 9억 8,061만 달러였으며 대중국 수출은 3천 9백만 달러 규모로써 연평균 약 22%씩 증가(중국 프로바이오틱스 시장조사, 한국농수산물유통공사, 2015)하고 있어서 산양삼을 함유한 유산균 제품의 대중국 수출뿐만 아니라 강원도에 방문하는 외국인 관광객을 대상으로 하는 대표 제품으로 자리매김할 수 있다.

(3) 사회문화적 측면

- 평창군은 2014년도에 국내 최초로 '평창 산양삼 특구'로 지정되었으며 산양삼 가공산업, 친환경 웰빙식품 산업과 6차 산업을 연계 발전시키기 위한 사업을 추진하고 있다. 더불어, 2017년도에는 '평창 산양삼 지리적 표시제'가 등록되었기 때문에 평창 산양삼을 이용한 고부가 제품개발이 매우 필요한 시점이다.

- 강원도 평창은 2018 평창 동계올림픽 개최로 중국 및 동남아시아 관광객에게는 동계 스포츠 관광 메카로 급부상하고 있으므로 강원도를 대표할 수 있는 제품개발이 절실히 필요하다.

1-3. 연구개발 범위 및 방법

가. 연차별 연구개발 내용 및 범위

연차	개발목표	연구내용 및 범위
1 차 년도	○ 바이오폴리머 혼합 유산균 발효 조성물의 유변학적 특성분석	(1) 유산균 발효물 제조 및 특성분석 - 발효 공정변수인 온도, pH, 시간 조건에 따른 요거트의 pH 변화, 적정 산도(titratable acidity) 변화, probiotics 생성변화, 유변학적(점도) 특징변화에 미치는 공정변수를 확립함 (2) 바이오폴리머 혼합비율 설정 및 이화학적 및 유변학적 특성분석 - 바이오폴리머 : 메쉬드 포테이토, 감자전분, 탈지분유 - 바이오폴리머 첨가에 따른 발효 조성물의 pH, 적정 산도, glass transition temperature 변화분석. - 유체특성, 점성, stickiness, modulus (storage modulus, loss modulus) 특성분석.
	○ 분무건조 기술을 이용한 프리바이오틱스-유산균 마이크로 캡슐화 및 분말 제조공정 확립	(1) 바이오폴리머 혼합비율과 분무건조 조건(온도, 풍속, 유량)에 따른 분무건조 수율, 유산균 생존을 분석. (2) 표면반응 분석법 분석을 이용한 분무건조 최적 작동조건(혼합비율, 분무건조 온도, 풍속, 유량) 확립. (3) 바이오폴리머 함량비에 따른 구강에서의 입마름 현상을 분말특성인 습윤성(wettability), 분산성(dispersability), 점성(viscosity), 점착성(stickiness) 분석 (5) SEM (scanning electron microscope)을 이용한 유산균 마이크로 캡슐의 미세구조 분석.
2 차 년도	○ 발효 콜로이드 산양삼 원료 표준화 가공기술 개발 및 품질평가	(1) 발효 콜로이드 산양삼 제조공정도 확립 - 발효 공정변수인 온도, pH, 시간 조건에 따른 pH 변화, 적정 산도(titratable acidity) 변화, probiotics 생성변화, 유변학적(점도) 특징변화 등에 미치는 공정변수를 확립함. (2) 발효 콜로이드 산양삼의 품질 특성분석 - 입자크기, 입자분포, 진세노사이드 함량 등에 관한 원료 품질 규격 확립.

<p>○ 발효 콜로이드 산양삼 함유 유산균 분말제품 특성분석</p>	<p>(1) 1차년도에 확립한 바이오폴리머 혼합비율조건을 이용하여 유산균 발효 조성물을 제조함.</p> <p>(2) 1차년도에 확립한 분무건조 조건을 이용하여 발효 콜로이드 산양삼 함유 유산균 분말 제조.</p> <ul style="list-style-type: none"> - 유산균 분말제품의 특징인 수분함량, 입도 크기, 입도 분포, pH, 적정 산도 분석. - SEM (scanning electron microscopic)을 이용한 유산균 캡슐구조 분석 - 분말특성인 습윤성(wettability), 분산성(dispersibility), 점성(viscosity), 구강내 점착성 (입마름 현상)을 분석함 <p>(3) 발효 콜로이드 산양삼 함유 유산균 분말제품의 관능평가</p>
<p>○ 콜로이드 산양삼 함유 유산균 분말제품의 저장 안정성 및 관능평가</p>	<p>(1) 유산균 분말제품의 저장 기간중 이화학적 특징변화 분석</p> <ul style="list-style-type: none"> - 저장기간 (30 일), 저장온도 (4℃, 25℃) - 혐기적 조건에서 저장 기간 중 수분함량, 수분활성도에 따른 입도크기, caking 변화와 유산균 생존률 분석 <p>(2) 발효 콜로이드 산양삼 첨가에 따른 유산균 생존율 및 유통기한에 미치는 영향 분석</p>

2. 연구수행 내용 및 결과

2-1. 연구개발의 추진전략 및 방법

가. 연구개발 추진전략

- 참여기관인 농업회사법인(주)우리두는 주관기관에서 개발한 연구내용을 활용하여 원료 생산, 시제품 생산에 집중할 예정이다. 또한, 개발한 제품을 이용하여 지역연계 마케팅, 유통망 확보에 중점을 두어 참여할 예정이다.
- 주관연구기관인 서울대학교는 산양삼 뿌리이외에 잎과 줄기를 사용함으로써 총 사포닌의 손실을 줄이고 산양삼 가공에 소모되는 비용을 최소화함으로써 원료생산에 소모되는 비용을 최소화할 수 있는 원료제조공정을 개발하고자 함.
- 발효 콜로이드 산양삼을 함유하는 유산균 분말제조공정도 확립을 위하여 바이오폴리머 혼합조건(온도, pH, 혼합비율, 이온강도), 분무건조 조건(분무건조기 작동조건 : 풍속의 온도 및 풍속, 샘플 공급 유량; 바이오폴리머의 농도 및 pH)에 따른 sol-gel transformation 특성 변화, 단백질-다당 콤플렉스 구멍, 유산균 생존율 및 저장 안정성 평가에 집중하여 연구를 진행하고자함.
- 유산균 분말제품의 이화학적 특성인 습윤성, 분산성, 점성, 점착성 등을 평가함으로써 관능적 요소인 입마름 현성을 개선하고자 함.
- 주요 성능개선 제품은 발효 콜로이드(colloid) 산양삼 원료와 발효 산양삼을 함유하는 유산균 마이크로캡슐 분말제품이며 발효 콜로이드 산양삼 원료 표준화 가공기술개발, 유산균 마이크로캡슐 분말제품 제조공정 확립, 제품의 품질평가, 관능평가, 저장 안정성 확립을 위한 세부연구를 진행하고자 함.
- 또한, 제품의 성능개선을 통하여 지역연계 제품으로 개발하여 기업-농민-지자체 상호간의 상생협력을 위한 6차 산업화 모델로 개발하고자 함.

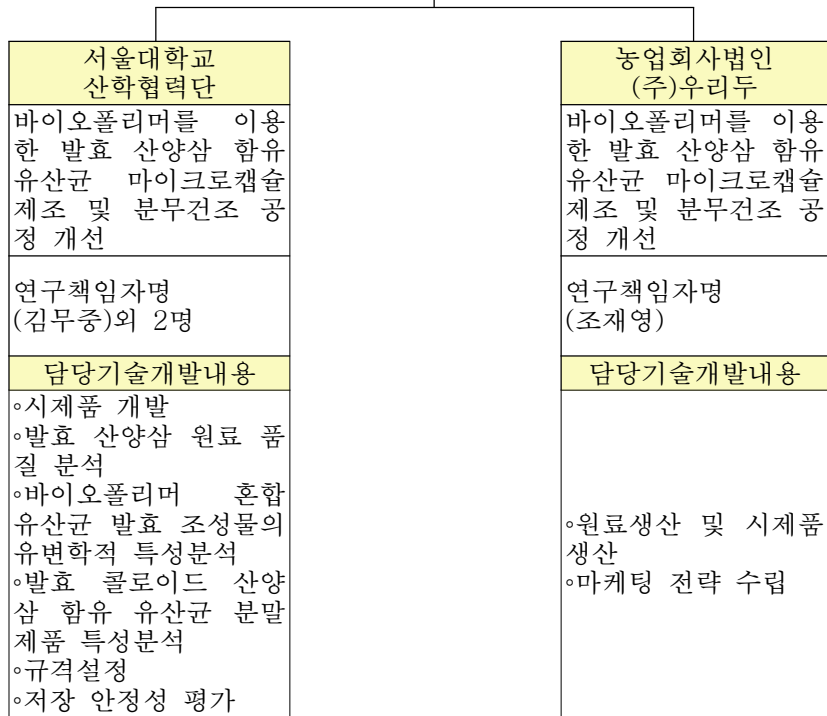
나. 연구개발 추진방법



다. 연구개발 추진체계

연구개발과제		총 참여 연구원
과제명	프리바이오틱스를 이용한 발효 산양삼 함유 유산균 마이크로캡슐 제조 및 분무 건조 공정 개선	주관연구책임자 (김무중)외 총 3명

기관 별 참여 현황		
구 분	연구기관수	참여연구원수
대 기 업	-	-
중견기업	-	-
중소기업	1	1
대 학	1	3
국공립(연)	-	-
출 연 (연)	-	-
기 타	-	-



라. 연구개발 추진일정

1차년도													
일련 번호	연구내용	월별 추진 일정											
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1	유산균 발효물 제조 및 특성분석	■	■	■	■	■							
2	바이오폴리머 혼합비율 설정 및 이 화학적 및 유변학적 특성분석		■	■	■	■	■						
3	발효 콜로이드 산양삼 원료 표준화 가공기술 개발 및 품질평가						■	■	■	■			
2차년도													
5	콜로이드 산양삼 함유 유산균 분말 제품 특성분석	■	■	■	■	■							
6	관능평가					■	■	■	■	■			
7	콜로이드 산양삼 함유 유산균 분말 제품의 저장 안정성 분석								■	■	■	■	■

2-2. 연구내용

가. 실험재료 및 방법

(1) 사용 균주

본 연구에서는 유산균 프로바이오틱스인 *Lactobacillus rhamnosus* GG (LGG, ATCC 53103)를 사용하였다.

(2) *Lactobacillus rhamnosus* GG (LGG) 발효

LGG는 MRS 배지 (de Man, Rogosa and Sharpe) (Difco, Detroit, MI, USA)를 이용하여 37 °C에서 24 시간 동안 2 회 계대 배양하였으며, LGG 배양액 5 % (w/w)를 재구성 탈지유 (reconstituted skim milk; RSM)에 접종하였다. RSM은 2% (w/w) 포도당 (Ducksan, Ansan, Korea), 1% (w/w) 효모 추출물 (Thermo Fisher Scientific, Erembodegem, Belgium)을 10% (w/w) RSM에 혼합하여 제조하였으며, 살균처리는 90 °C에서 30분간 진행하였다. LGG 성장조건 확립을 위하여 10% RSM 배양액, 10% RSM에 2% (w/w) glucose와 1% (w/w) yeast extract를 첨가한 배양액, 2% (w/w) glucose와 1% (w/w) yeast extract만 첨가한 배양액을 각각 제조하여 42 °C에서 24시간 동안 배양하면서 흡광도, 생균수, pH 변화를 각각 관찰하였다.

(3) 흡광도, pH 및 생균수 측정

LGG 성장특성 확인을 위하여 spectrophotometer (DU 730, Beckman Coulter, Brea, CA, USA)를 이용하여 600 nm에서 흡광도 (Optical density)를 측정하였다. LGG 발효물은 10 배 희석하여 측정하였으며, MRS 배양액을 대조군으로 사용하였다. 발효 중 배양액의 pH 변화는 pH 측정기(S220-K, Mettler Toledo International Inc., Schwerzenbach, Switzerland)를 사용하여 측정하였다. 발효 중 배양액의 생균수 (viable cell count) 변화는 시간별 취한 배양액 샘플(20 ul) 을 MRS-agarose 고체배지에 도말 하였다. 배양은 37 °C의 혐기적인 조건에서 24시간 동안 배양한 후 형성된 콜로니를 계수하여 CFU/ml로 나타내었다.

(4) 분무건조

분무건조에 사용한 분무건조 용액은 figure 2-1과 같은 방법으로 조성물을 제조하여 진행하였다. (1) 총 고형분 함량이 30% (w/w)로 조정된 RSM, (2) LGG를 배양한 RSM으로 LGG 회수 (rRSM', rRSM; RSM containing LGG by cell recovery step), 여기서 LGG 회수는 200 g의 MRS broth 배양액을 원심분리 ($\times 4000$ g, 10 min) 한 후에 상층액과 분리한 후, 1 M phosphate buffer solution을 이용하여 위와 같은 방법으로 2회 이상 진행한

후에 펠렛 형태의 LGG를 확보하였다. 총 고형분 함량을 10% (w/w) (rRSM')와 30% (w/w) (rRSM)로 각각 조절하였다. (3) 10% (w/w) RSM에 5%의 LGG를 접종하여 fRSM과 20%의 SMP (skimmed milk powder)를 첨가하여 총 고형분 함량이 30%로 조정된 fRSM-SMP, (4) 발효 RSM의 pH를 5.2와 6.6으로 조정한 fRSM-pH 5.2와 fRSM-pH 6.6으로 각각 조정하여 제조하였다. 모든 분무건조를 위하여 제조한 샘플은 분무건조 전에 30분 이상 충분히 균질화한 후 분무건조에 사용하였다.

분무건조 분무건조기(SD1000, Eyela, Tokyo, Japan)를 사용하였으며 이때 사용한 노즐의 직경은 710 μm 이었다. 분무건조 조건인 샘플 주입 유속, 열풍 속도는 각각 800 mL/h, 0.65 m^3/min 이었다. 사이클로 내부의 온도인 주입구 온도와 출구 온도는 각각 150-160 $^{\circ}\text{C}$, 80 $^{\circ}\text{C}$ 이었다. 제조한 분말은 건조 직후에 갈색 유리병에 넣었으며, 수분과 온도에 의한 영향을 최소화하기 위하여 질소를 충전 (0% RH)하고 상온 (25 $^{\circ}\text{C}$)에서 보관하였다.

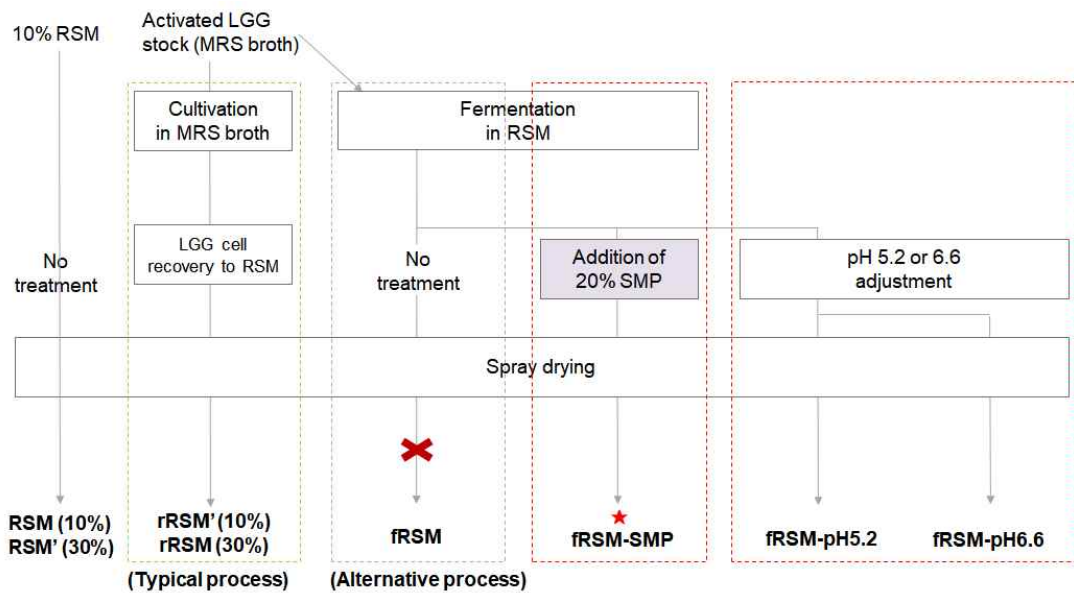


그림 2-1. 분무건조 분말제조를 위한 실험설계도

(5) 분무건조 용액 조성물의 이화학적 특징 분석

① 유체특성 분석

유체특성인 shear stress-shear rate relationship 측정은 rotational shear rheometer (DHR-3, TA Instruments, New Castle, DE, USA)사용 하였으며, 사용한 geometry는 peltier concentric cylinder (recessed/standard), 측정된 shear rate 범위는 0.01-250.1/s이었다.

샘플의 유체특성은 Herschel-Bulkley 식 (1)을 이용하여 k (consistency index) 값을 비교하였다.

$$\tau = \tau_0 + k(\dot{\gamma})^n \quad (1)$$

여기서, τ 는 shear stress, τ_0 는 yield stress, k 는 consistency index, $\dot{\gamma}$ 는 shear

stress, n 은 flow behavior index를 각각 나타낸다. 모든 실험은 상온 (25 °C)에서 진행하였다.

② Electrophoretic mobility 측정

Electrophoretic mobility 측정은 Zetasizer nano ZS (Malvern Instruments Ltd., Worcestershire, UK)를 이용하여 Henry equation (식 2)에 적용하여 electrophoretic mobility (μ , $10^{-5} \cdot \text{m}^2/\text{V} \cdot \text{s}$)로 계산하였다.

$$\mu = \frac{2\epsilon z f(ka)}{3\eta} \quad (2)$$

여기서, μ 는 electrophoretic mobility, ϵ 은 dielectric constant, z 는 zeta potential, $f(ka)$ 는 Henrys fuction, η 는 viscosity를 나타낸다. 모든 실험은 상온 (25 °C)에서 진행하였다.

③ 입자크기 및 입자분포

분조건조를 위한 조성물 용액의 입도크기 및 입자분포는 Zetasizer nano ZS (Malvern Instruments Ltd., Worcestershire, UK)를 이용하여 dynamic light scattering으로 측정하였으며, 입자크기는 식(3)를 이용하여 부피-평균 입자크기 ($d_{4,3}$, μm)로 계산하였다.

$$d_{4,3} = \frac{\sum d_i^4 n_i}{\sum d_i^3 n_i} \times 100 \quad (3)$$

여기서 n_i 는 입자수, d_i 는 입자의 지름을 각각 나타낸다. 모든 실험은 상온 (25 °C)에서 진행하였다.

④ 미세구조 관찰

분무건조 용액 조성물의 미세구조는 공초점주사현미경(confocal laser scanning microscope; CLSM) (K550; Emi-tech Ltd., Kent, UK)을 이용하여 관찰하였다.

(6) 분무건조 분말의 특성분석

① LGG 생존율 측정

분무 건조한 분말 0.1 g을 멸균 생리식염수 0.9 g에 분산하여 10배 희석한 후 MRS-agarose 고체배지에 도말하여 37 °C, 혐기적 조건에서 24 h 배양한 후 형성된 콜로니를 계수하여 생존수를 CFU/g (건중량 기준)으로 나타내었다. 분무건조 후의 생존율(survival ratio, %)은 다음과 같은 식(4)을 이용하여 계산하였다.

$$\text{Survival ratio (\%)} = \frac{N}{N_0} \times 100 \quad (4)$$

여기서 N_0 =분무건조 전 분산액 조성물의 LGG 생존수(CFU/g, 건중량 기준), N =분무건조 후 분말의 LGG 생존수(CFU/g, 건중량 기준)를 나타낸다.

② 분무건조 수율 측정

분무건조의 수율(drying yield, %)은 건중량을 기준으로 계산하였으며, 다음과 같은 식(5)를 사용하여 계산하였다.

$$\text{Drying yield (\%)} = \frac{W - W_s}{W_s} \times 100 \quad (5)$$

여기서 W=분무건조 전 분산액 조성물의 무게, W_s=분무건조 후 분말의 무게를 나타낸다.

③ 수분함량 측정

분말의 수분함량(습중량 기준, %)은 수분함량 측정기(MX-50, A&D Co. Ltd., Tokyo, Japan)를 사용하여 측정함. 알루미늄 접시에 약 1 g의 분말을 취한 후 105 °C에서 가열하여 변화하는 샘플의 무게가 항량에 도달하였을 때의 무게를 측정하여 수분함량을 계산하였다. 이와 같은 방법으로 3회 반복 측정하여 평균값으로 나타내었다(AOAC 2005).

$$X(\%, \text{dry basis}) = \frac{W - W_s}{W_s} \times 100 \quad (6)$$

여기서, W는 총 무게, W_s는 고형분 무게를 각각 나타낸다.

④ 입자크기 및 입자분포

분무건조 분말의 입자크기 및 입자분포는 입자크기 분석기 (1190LD, CILAS, Orleans, France)을 이용하여 Fraunhofer theory에 따라서 측정하였다.

⑤ 미세구조 관찰

분말 표면의 미세구조 특성은 전자현미경 (scanning electron microscope;SEM) (S-4700 Field Emission Scanning; Hitachi High-Technologies, Tokyo, Japan)을 이용하여 관찰하였다.

⑥ 수분 활성화도 측정

수분 활성화도는 (MX-50, A&D Co. Ltd., Tokyo, Japan)를 이용하여 25 °C에서 측정하였다.

(7) 저장 조건에 따른 품질특성 변화

① 등온흡습 (moisture sorption isotherm) 측정

등온흡습 측정은 분무건조 분말의 수분함량이 평형(XE)에 도달하였을 때 측정하였다.

알루미늄 접시에 2 g의 분무건조 분말을 넣고 상대습도(%RH)가 table 2-1과 같은 조건에서 충분히 평형에 도달하도록 6일 동안 방치하였다. 등온흡습곡선은 GAB

(Guggenheim-Anderson-de Boor) 모델(식7)을 이용하여 작성하였다.

$$\frac{X_e}{X_M} = \frac{Cka_w}{(1 - ka_w)(1 - ka_w + Cka_w)} \times 100 \quad (7)$$

여기서, X_e 는 평형 수분함량 (kg water/kg solid), X_M 은 단분자층의 수분함량 (kg water/kg solid), a_w 는 수분 활성도, C 는 Guggenheim constant, k 는 correction factor를 각각 나타낸다.

표 2-1. 등온흡습 측정을 위한 평형 상대습도 표.

Saturated salts in the solution	RH (%)
Phosphorus pentoxide	0
Lithium chloride	11
Potassium acetate	23
Magnesium chloride	33
Potassium chloride	43
Magnesium nitrate	53
Potassium iodide	69
Ammonium sulfate	81
Potassium nitrate	93

② 평형 수분함량 측정

분무건조 분말의 평형 수분함량은 표 1과 같이 상대습도를 0, 11, 23, 33, 43, 53, 69, 81, 93%로 조절하여 측정하였다. 샘플을 상대습도가 조절된 데시게이터에 넣고 평형수분에 도달하기 위하여 6일 동안 방치하였다. 수분함량(% , dry basis)은 수분함량 측정기(MX-50, A&D Co. Ltd., Tokyo, Japan)를 이용하여 25 °C에서 측정하였다.

③ 유리전이 온도 (Tg) 측정

분무건조 분말의 유리전이 온도는 differential scanning calorimeter (DSC; Q2000, TA Instruments, New Castle, DE, USA)를 이용하여 측정하였다. 표 1의 조건에서 평형수분 함량에 도달한 샘플을 알루미늄 접시 (TA Instruments, New Castle, DE, USA)에 넣고 밀봉하였다. 가열과 냉각 온도는 10 °C/min 속도로 2에서 100 °C 범위에서 측정하였다. Heat flow (W/g·°C) 분석은 TA Universal Analysis 2000 software version 4.5A (1998-2007 TA Instruments-Waters LLC)을 이용하였다.

④ Sticky point temperature (SPT) 측정

Sticky point temperatures (SPT) 측정은 viscometer (LVDV III, Brookfield Engineering Laboratories Inc., Middleboro, MA, USA)를 이용하여 토크 값 (mN/m)을

측정하였다. 이 방법은 0.3 rpm으로 회전하는 스펀들에 의해 분말에 가해지는 힘에 대한 값으로서 토크 값 (mN / m)을 측정하고, 토크 값이 급격하게 증가하는 지점을 SPT로 간주하였다. SPT 측정에 사용된 스펀들은 figure 2-2에 나타낸것과 같은 L-shape로 제작하였으며, 온도는 20 °C에서 80 °C로 승온 하면서 10 °C 간격으로 토크 값을 측정하였다. 각 온도 조건에 대해 얻어진 40 개의 토크 값 중 후자의 20개의 값을 평균하였다. SPT는 T-Tg 계산식을 이용하여 계산하였다.

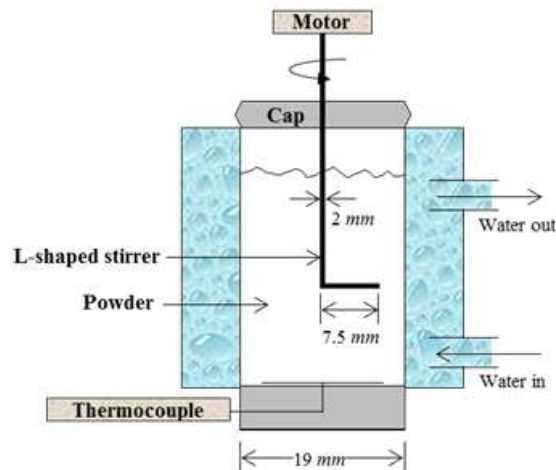


그림 2-2. Sticky point temperature (SPT) 측정을 위한 L-shape 스펀들과 샘플 홀더 (holder) 실험 디자인 모습.

(7) 발효 콜로이드 산양삼 제조 및 특성분석

① 발효 산양삼 제조방법

1.25g의 산양삼 분말을 50 ml의 유리병에 넣고 105 °C에서 30분간 고온고압 처리하였다. 멸균한 산양삼 분말에 4 ml의 멸균증류수를 혼합하고 1 ml의 유산균을 첨가하여 고체발효를 진행하였다. 첨가 후 37 °C에서 31시간, 48시간, 72시간 동안 배양하였다. 산양삼 발효에 사용한 균주는 평창지역의 농가에서 생산하는 전통 발효 식품인 김치, 된장 등에서 분리 하였으며, 총 7개 균주를 확보하였다. 산양삼 발효에 산양한 균주는 *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus paracasei*, *Lactobacillus fermentum* 균주를 사용하였다. 배양 후 50 ml의 멸균 증류수를 첨가하고 85 °C에서 12시간, 18시간 동안 각각 추출을 진행하였다(그림 2-3).



그림 2-3. 발효 콜로이드 산양삼 분말 및 물 추출물 원료 제조공정도.

② 산양삼 물 추출액 제조

산양삼 물 추출물 제조는 추출온도에 의한 추출 효율을 확인하기 위하여 그림 2-4와 같은 조건으로 진행하였다. (1) 방법 1은 산양삼과 물을 1:20 비율로 혼합하고 75 °C에서 18 h 동안 추출, (2) 방법 2는 방법 1과 같이 혼합하고 85 °C에서 18 h 동안 추출을 진행한 후에 여과지로 여과하여 물 추출물 원료를 확보하였다.

확보한 산양삼 추출물 진세노사이드를 분리하기 위하여 원심분리(12,000 rpm, 6 min)하여 상등액과 침전물을 분리하고, 메탄올과 혼합(1:1, v/v)한 후 여과(0.22 μm)와 동결건조를 순차적으로 진행하여 분말상의 추출물을 확보하였다.

HPLC-MS를 이용하여 진세노사이드 함량을 분석하였다. 분말상의 추출물은 순수 메탄올(99.9%)에 20 mg/ml의 농도로 희석하였다. 완전히 용해하기 위하여 진탕 배양기(30 °C, 200 rpm)의 조건으로 1 h 동안 처리한 후 여과(0.22 μm)하여 샘플을 제조하였다.

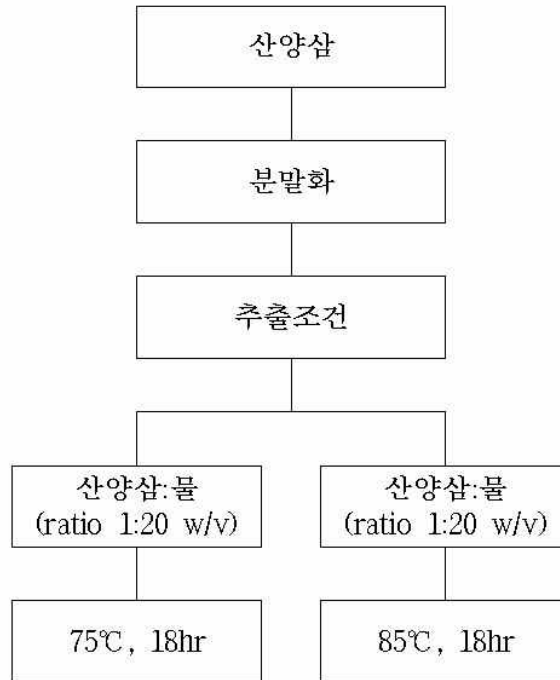


그림 2-4. 산양삼 물 추출물 제조공정도.

③ Ginsenoside 함량분석

샘플과 동량의 부탄올을 처리하고 잘 섞어준 뒤 원심분리(12,000rpm, 10분)하여 상등액을 건조시키고 메탄올을 처리하여 시료로 사용하였다. 필요에 따라 메탄올을 이용하여 샘플을 희석하고 정량하였다. 0.20um PTFE membrane filter를 이용하여 여과 후에 LC 분석에 사용하였다. ginsenoside 함량분석은 high-performance liquid chromatography-mass spectrophotometry를 이용하였으며, 이때 사용한 용매는 water와 acetonitrile을 gradient mode로 흘려주었다(표 2-2). 진세노사이드 함량분석은 표 2-3의 조건으로 진행하였으며, 칼럼은 Waters BEH C18 Column (1.7 μ m, 2.1 x 100 mm), 검출은 QDa detector를 이용하여 UV 파장 범위인 203 nm에서 진행하였으며, 총 13 종의 진세노사이드(Compound K, Rh2, Rh1, Rg2, Rg3, Rf, Rg1, Rd, Re, Rb2, Rb3, Rc, Rb1)와 총 사포닌, 조사포닌 함량을 각각 분석하였다.

표 2-2. 용매 gradient mode 조건.

Time(min)	Acetonitrile(%)	Water(%)
0	5	95
0.2	5	95
2	30	70
9	33	67
13	58	42
15	100	0
16	100	0
16.1	5	95
20	5	95

표 2-3. High performance liquid chromatography mass spectrophotometry 분석조건.

	Conditions
System	Waters H-Class
Detector	QDa detector
UV wavelength	203 nm
Column	Waters BEH C18 Column (1.7 μ m, 2.1 x 100 mm)
Flow rate	0.3 ml/min
Solvent	A: Acetonitrile with 0.1% formic acid B: Triply distilled water with 0.1% formic acid
MS condition	ESI +: 1.5 kV capillary voltage ESI -: 0.8 kV capillary voltage

④ TLC pattern 분석

추출물과 동량의 부탄올을 첨가하여 원심분리(12,000rpm, 10분) 후 분리된 부탄올 층을 건조하고 메탄올 첨가 후 TLC 분석에 이용하였다. 진세노사이드 TLC 분석은 silica gel TLC 판에 점적하여 클로로포름/메탄올/물(70:30:5)로 전개한 다음 5% 황산 용액에 침지한 후에 오븐(110℃, 1분)에서 가열한 후에 발색을 확인하였다. TLC pattern은 표준품과 시료의 진세노사이드 패턴을 비교함으로써 확인하였다.

⑤ 발효 산양삼의 입자특성 분석

발효 산양삼의 입자특성은 electrophoretic mobility를 측정하여 입자의 표면 전하(zeta-potential), 입자크기 및 분포를 측정함으로써 확인하였다. Electrophoretic mobility 측정은 zetasizer nano ZS (Malvern Instruments Ltd., Worcestershire, UK)를 이용하여 Henry equation (식 2)에 적용하여 electrophoretic mobility (μ , $10^{-5} \cdot \text{m}^2/\text{V} \cdot \text{s}$)로 계산하였다. 입자크기 및 분포는 Zetasizer nano ZS (Malvern Instruments Ltd., Worcestershire, UK)를 이용하여 dynamic light scattering 방법으로 측정하였으며, 입자크기는 부피-평균 입자크기 ($d_{4,3}$, μm)로 나타내었다.

(8) 유동층 건조를 이용한 입자특성 조절

① 유동층 건조를 이용한 입자특성 조절

발효 콜로이드 산양삼을 이용한 입자특성은 유동층 건조기(BD-600S, Ireatech, Daejeon, Korea)를 과립을 제조하여 조절하였다. 유동층 과립제조에 사용한 노즐은 이중 노즐이었으며 결합제(binder) 토출 노즐의 지름은 800 μm 이었다. 사용한 결합제는 증류수, 1%, 2% 진세노사이드 추출물, 1% PVP (polyvinylpyrrolidone)을 각각 사용하였다. 기기 작동조건인 작동온도, 주입구 유속, 압력, 결합제 주입 속도는 각각 55 $^{\circ}\text{C}$, 200 L/min, 20 kPa, 1.5 ml/min이었다. 결합제는 20분 동안 주입하였으며, 결합제를 주입한 이후에는 5분 동안 건조를 진행하였다.



그림 2-5. 입자특성 조절을 위한 유동층 건조기 (BD-600S).

(9) 입자특성 분석

① 분말의 부피밀도, 탭 밀도 및 공극률 측정

분말의 부피밀도(bulk density) 측정은 메스실린더에 50 g의 분말의 넣고 부피를 측정하였다. 탭 밀도(tapped density)는 메스실린더에 50 g의 분말의 넣고 바닥에 약 100 회 동안 두들긴 후에 더 이상의 부피 변화가 없을 때의 부피를 측정하였다.

분말의 공극률(porosity)은 측정한 부피밀도와 탭 밀도를 이용하여 다음과 같은 식(8)을 이용하여 계산하여 확인하였다.

$$\varepsilon = \frac{(\rho_{bulk} - \rho_{tapped})}{\rho_{app}} \times 100 \quad (8)$$

여기서, ρ_{bulk} 는 부피밀도, ρ_{tapped} 는 탭 밀도를 각각 나타낸다.

② 분말의 흐름성 및 응집성 측정

분말의 흐름성(flowability)와 응집성(cohesiveness)은 측정한 부피밀도와 탭 밀도를 이용하여 표 2-6과 2-7의 Carr index (CI)와 Hausner ratio (HR)를 각각 이용하여 확인하였다.

표 2-6. Carr index (CI)에 따른 분말의 흐름성 구분

CI (%)	Flowability
<15	Very good
15-20	Good
20-35	Fair
35-45	Bad
>45	Very bad

표 2-7. Hausner ratio (HR)에 따른 분말의 응집성 구분

HR	Cohesiveness
<1.2	Low
1.2-1.4	Intermediate
>1.4	High

③ 분말의 습윤성 측정

분말의 습윤성(wettability)은 모세관 흐름(capillary flow)와 동적 접촉각(dynamic contact angle)을 측정하여 확인하였다. Capillary flow는 Washburn method를 응용하여 그림 2-6과 같은 방법으로 측정하였다. 지름과 높이가 각각 10 mm와 100 mm의 유리관에 액체와 접촉면의 유리관에는 필터 페이퍼를 이용하여 막고, 약 1 g의 분말을 채웠다. 분말을 채운 유리관은 부피 변화가 없을 때까지 바닥에 가볍게 두들긴 후 조심스럽게 액체 표면에 접촉을 시켰다. 액체와 접촉 시간은 10분이었으며, 액체와 접촉하기 전과 후의 무게 변화를 측정하였다.

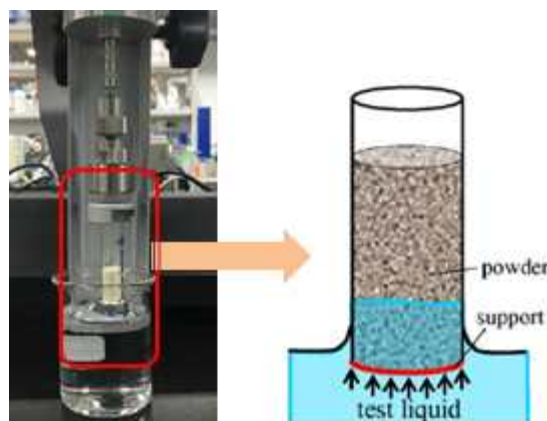


그림 2-6. Washburn method를 이용한 capillary flow 측정 모식도.

Dynamic contact angle은 그림 2-7과 같은 방법으로 측정하였다. 슬라이드 글라스에 양면 테이프를 붙이고, 일정한 부피의 분말을 도포 하였다. 접촉각 측정기 (Phoenix-150, SEO Co. Ltd. Gyeonggi, Korea)를 이용하여 미세하게 한 방울의 증류수를 적하하였다. 장착된 디지털 카메라를 이용하여 1초 간격으로 사진을 촬영하여 접촉각을 계산하였다.

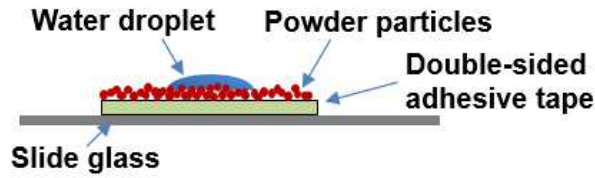


그림 2-7. 접촉각 측정을 통한 dynamic contact angle 측정 모식도.

④ 분산성 측정

분말의 분산성(dispersibility)은 증류수 10 ml을 넣은 50 ml의 비이커에 1 g의 분말을 넣고, 스푼으로 분말이 충분히 분산되도록 격렬하게 앞뒤로 15초 동안 휘저었다. 충분히 교반된 분말 용액은 212 μm 의 거름망에 여과한 후에 거름망의 무게를 측정하였다. 분말의 분산성은 식(9)를 이용하여 계산하였다.

$$\%dispersibility = \frac{(10 + a) \times \%TS}{a \times \frac{100 - b}{100}} \quad (9)$$

여기서, a는 분말의 무게, b는 분말의 수분함량, %TS는 거름망을 여과한 후 남은 분말의 총 고형분 함량을 각각 나타낸다.

(9) 저장 안정성 평가

유동층 과립의 저장 안정성은 저장 기간중에 생균수를 측정함으로써 평가하였다. 가스 차단이 완벽히 되는 바이얼에 10 g의 분말을 넣고 질소가스를 충전하였다. 상대습도는 RH 0%이었으며, 저장온도는 25 $^{\circ}\text{C}$ 이었다. 샘플링은 15일 간격으로 총 60일 동안 진행하였다.

(10) 유산균 제품의 입자특성 분석

제조한 유동층 과립의 입자특성을 비교 분석하기 위하여 시장에서 가장 판매가 높은 분말 프로바이오틱스 제품을 구입하였다. 또한, 연령에 따른 제품의 기호도를 평가하기 위하여 성인용 제품과 유아용 제품을 구입하여 비교 분석을 진행하였다.

시장에서 구입한 분말 프로바이오틱스 제품은 총 6종이었으며, 농업회사법인(주)우리두 (제품명 : 패밀락)의 제품은 1종 이었다(그림 2-8). 입자특성을 비교 분석하기 위하여 입자크기, 수분함량(% db), 접촉각 (contact angle, $^{\circ}$), 흐름성 (flowability, CI), 응집성 (cohesiveness, HR), 분산성 (dispersibility, %), 생균수 (viability)를 각각 분석하였다.



제품명 : Duoloc gold



제품명 : Duoloc baby



제품명 : Kolon



제품명 : ProLB



제품명 : FreeLacto



제품명 : Hilac



제품명 : Familac

그림 2-8. 시중에 유통되고 있는 프로바이오틱스 제품.

(11) 관능평가

관능평가는 7점 평점법을 이용하여 20명을 대상으로 진행하였다. 실험에 참여한 평가자는 총 20명이었으며 10명의 남자와 여자로 구성되었다. 평균 연령대는 21-42세 이었다. 실험에 사용한 샘플은 1% 진세노사이드를 결합제로 사용한 유산균 분말, 시중에서 3종의 유산균 제품을 구입하여 사용하였다. 대조군은 농업회사법인(주)우리두의 제품을 사용하였다. 관능평가는 냄새 (smell), 풍미 (flavor), 점착성 (stickiness), 목 넘김성 (swallowness), 전반적인 품질특성 (overall eating quality)으로 구분하였으며, 이러한 항목에 대한 평가방법에 대하여 평가자에게는 사전에 충분히 교육한 후에 진행하였다.

나. 실험결과

(1) 유산균 발효물 제조 및 특성분석

LGG의 최적 배양조건을 확립하기 위하여 10% 재구성 탈지유(RSM), 10% RSM에 2% (w/w) glucose와 1% (w/w) yeast extract를 첨가한 배양액, 2% (w/w) glucose와 1% (w/w) yeast extract만 첨가한 배양액을 각각 제조하여 배양하면서 성장을 관찰하였다. Figure 1(A)에서는 MRS broth에서의 LGG의 성장 곡선을 나타내고 있다. Figure 1(B)에서는 배양액 조성물을 각기 달리한 경우의 LGG 성장 곡선을 나타내고 있다. MRS에서는 10시간 동안 배양하였을 때 9.43 log CFU/ml로 성장하였으며, 배양액 조성물을 조정한 경우에는 10% RSM에 2% (w/w) glucose와 1% (w/w) yeast extract를 첨가한 배양액에서 8시간 동안 배양한 경우에 9.18 log CFU/ml로 성장하였다(Figure 2-9).

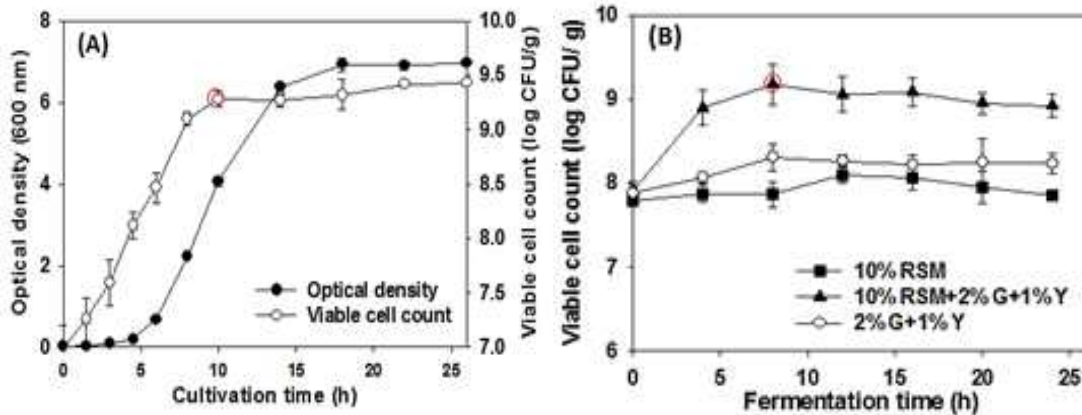


Figure 2-9. Optimization of growth conditions of LGG in (A) MRS broth at 37 oC according to optical density at 600 nm and viable cell count (log CFU/g.), (B) viable cell count (log CFU/g) of LGG during fermentation in 10% (w/w) reconstituted skim milk (RSM), 10% (w/w) RSM+ 2% (w/w) G+1% (w/w) Y, and 2% (w/w) G+ 1% (w/w) Y.

(2) 분무건조 조성물의 이화학적 및 유변학적 특성분석

① 바이오폴리머에 의한 분무건조 조성물 특성변화 분석

Table 2-8에서는 분무건조를 위하여 제조한 분무건조 용액의 RSM', fRSM, fRSM-SMP, rRSM'의 유체특성을 분석한 결과를 나타내고 있다. Flow behavior index (n)를 비교한 결과, 모든 샘플은 shear thinning behavior의 유체특성을 나타내었다. LGG를 RSM에서 발효한 샘플인 fRSM의 입자크기가 7.13 μm 로서 발효 후에 증가하는 것을 확인하였다.

Table 2-8. Total solid, pH, volume average mean particle size by dynamic light scattering, and electrophoretic mobility (μ), shear stress-shear rate relationship of feeding suspensions.

Feeding suspensions	SMP* (%)	pH	Particle size(μm)	μ ($10^{-5} \cdot \text{m}^2/\text{V} \cdot \text{s}$)	Shear stress-shear rate relationship		
					k ($\text{Pa} \cdot \text{s}^n$)**	n ***	R^2
RSM' ^a	30	6.6	0.24 ± 0.00	-1.42	0.0155	0.9768	0.9999
fRSM ^b	10	3.9	7.13 ± 0.51	0.52	0.0066	0.8616	0.9920
fRSM-SMP ^c	30	5.2	0.30 ± 0.11	-0.20	0.0583	0.7746	0.9995
rRSM' ^d	30	6.6	0.24 ± 0.00	-1.37	0.0090	0.9750	0.9999

* Skim milk powder; ** Consistency index; *** Flow behavior index

^a 30% (w/w) reconstituted skim milk

^b Fermented 10% (w/w) RSM by *Lactobacillus rhamnosus* GG (LGG) at 42 oC for 9 h.

^c fRSM-SMP: fRSM with additional reconstitution of 20% (w/w) SMP.

^d 30% (w/w) RSM with LGG pellet from the MRS culture.

Figure 2-10에서는 분무건조를 위하여 제조한 분무건조 용액의 RSM', fRSM, fRSM-SMP, rRSM'의 shear rate에 따른 shear stress 변화를 나타내고 있다. 모든 유체는 비뉴턴유체인 pseudoplastic 유체인 것을 확인하였다. LGG 발효 직후의 fRSM은 shear rate 증가에 따른 shear stress가 가장 낮았으나, fRSM-SMP에서는 가장 높은 shear stress를 나타내었다.

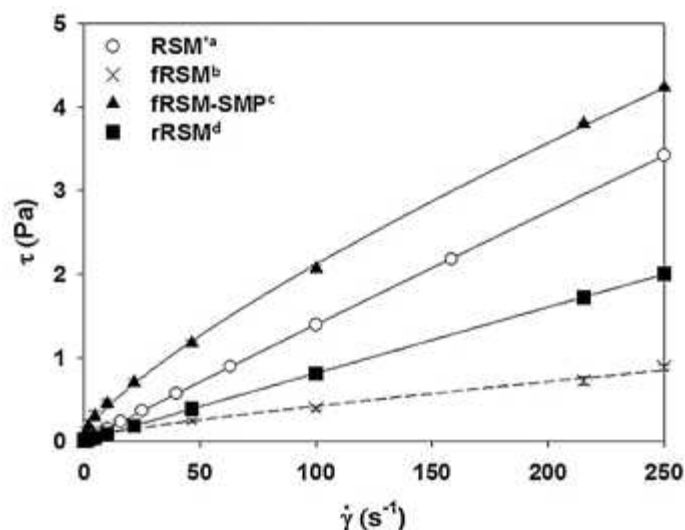


Figure 2-10. Shear stress (τ , Pa) for spray drying feeds as a function of shear rate ($\dot{\gamma}$, s⁻¹) at 25 °C.

② pH가 분무건조 조성물의 특성에 미치는 영향 분석

pH가 분무건조 조성물의 유체특성에 미치는 영향을 확인하기 위하여 pH를 3.9에서 6.6 범위로 조절하여 확인하였다. Table 2-9에서는 유체의 pH와 유체특성을 분석한 결과를 나타내고 있다. pH가 3.9에서 6.6으로 증가함에 따라서 consistency index가 0.0066 Pa·s에서 0.0237 Pa·s로 증가하였다. Table 2-9와 figure 2-11 결과로부터, fRSM, fSM-pH 5.2, fRSM-pH 6.6은 shear thinning이 유체특성을 나타내었으며, RSM과 rRSM은 shear thickening의 유체 특성을 확인하였다.

Table 2-9. Total solid, pH, particle size by dynamic light scattering, and electrophoretic mobility (μ), shear stress-shear rate relationship of feeding suspensions.

Feeding suspensions	SMP* (%)	pH	Particle size (μm)	μ ($10^{-5} \cdot \text{m}^2/\text{V} \cdot \text{s}$)	Shear stress-shear rate relationship		
					k ($\text{Pa} \cdot \text{s}^n$)**	n ***	R^2
RSM ^a	10	6.6	0.21 ± 0.00	-1.61	0.0015	1.0480	0.9979
fRSM ^b	10	3.9	7.13 ± 0.51	0.52	0.0066	0.8616	0.9920
fRSM-pH 5.2 ^c	10	5.2	3.43 ± 2.93	0.16	0.0087	0.8680	0.9937
fRSM-pH 6.6 ^d	10	6.6	0.35 ± 0.11	-0.85	0.0237	0.6916	0.9776
rRSM ^e	10	6.6	0.21 ± 0.00	0.01	0.0019	1.1450	0.9987

* Skim milk powder; ** Consistency index; *** Flow behavior index

^a 10% (w/w) reconstituted skim milk

^b Fermented 10% (w/w) RSM by *Lactobacillus rhamnosus* GG (LGG) at 42 oC for 9 h.

^c fRSM after pH adjustment from 3.9 to 5.2.

^d fRSM after pH adjustment from 3.9 to 6.6.

^e 10% (w/w) RSM with LGG pellet from the MRS culture.

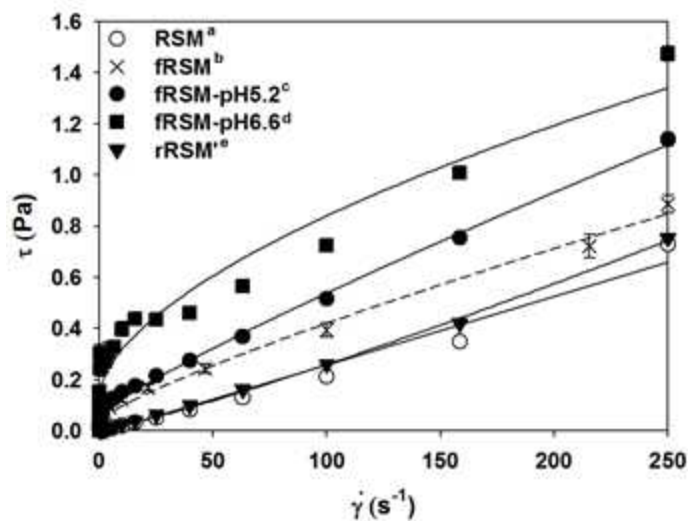


Figure 2-11. Shear stress (τ) for feeding suspensions as a function of shear rate ($\dot{\gamma}$) at 25 °C.

^a 10% (w/w) reconstituted skim milk

^b Fermented 10% (w/w) RSM by *Lactobacillus rhamnosus* GG (LGG) at 42 oC for 9 h.

^c fRSM after pH adjustment from 3.9 to 5.2.

^d fRSM after pH adjustment from 3.9 to 6.6.

^e 10% (w/w) RSM with LGG pellet from the MRS culture.

(3) 분무건조 분말의 이화학적 및 유변학적 특성분석

① 바이오폴리머가 분무건조 분말에 미치는 영향 분석

Table 2-10에서는 분무건조 수율과 분말의 특성인 수분함량과 입자크기를 측정한 결과를 나타내고 있다. fRSM은 기기 점착 현상이 심하게 발생하여 분말을 회수할 수 없었다. 실험

에 사용한 모든 분무건조 조성물 용액의 분무건조 수율은 0%에서 68%로 증가하였다.

그리고, 발효를 진행하지 않은 샘플인 RSM에서 가장 높은 분무건조 수율(68%)를 나타내었으며, 발효를 진행한 fRSM', fRSM-SMP, rRSM'에서 낮은 분무건조 수율을 나타내었다. SMP를 분무건조 보조제로 사용한 경우에는 fRSM에 비하여 분무건조 수율이 증가하는 것을 확인하였다.

Table 2-10. Drying yield, moisture content (X), and volume mean diameter ($d_{4,3}$) of LGG powders.

LGG powders	Drying yield (%)	X (% d.b.)	$d_{4,3}$ (μm)
RSM ^a	67.95 \pm 1.94	9.19 \pm 0.05	8.80 \pm 0.41
fRSM ^b	Not measurable	13.18 \pm 0.47	Not measurable
fRSM-SMP ^c	36.1 \pm 1.05	7.87 \pm 0.12	13.05 \pm 0.36
rRSM ^d	35.77 \pm 1.09	4.69 \pm 0.20	12.66 \pm 0.49

a LGG powder obtained by spray drying of 30% (w/w) reconstituted skim milk

b LGG powder obtained by spray drying of fermented 10% (w/w) RSM with *Lactobacillus rhamnosus* GG (LGG) at 42 °C for 9 h.

c LGG powder obtained by spray drying of the fRSM with additional reconstitution of 20% (w/w) SMP.

d LGG powder obtained by spray drying of RSM' with LGG pellet from the MRS culture.

Table 2-10과 figure 2-12에서는 분무건조 분말의 입자크기와 분포 및 수분함량을 나타내고 있다. fRSM-SMP와 rRSM'의 입자크기는 각각 13.05 μm , 12.66 μm 으로서 비슷한 값을 나타내었다. 또한, fRSM-SMP와 rRSM'의 입자분포도도 비슷한 경향을 보였다. fRSM'의 수분함량은 13.18%로서 가장 높았으며, 바이오폴리머인 SMP를 첨가한 경우에는 4-8% 범위로 감소하였다.

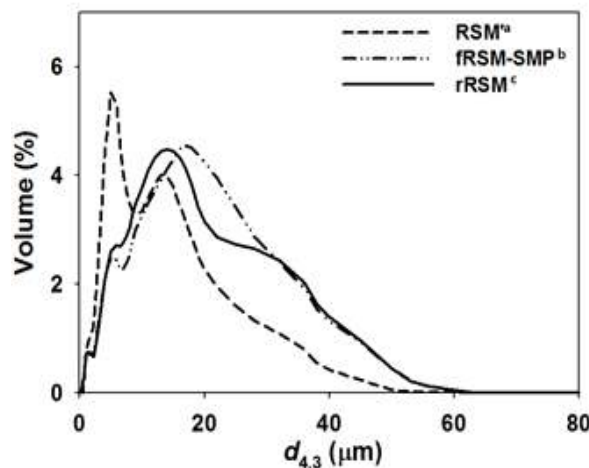


Figure 2-12. Particle size distributions of LGG powders as a function of volume mean diameter ($d_{4,3}$).

^a LGG powder obtained by spray drying of 10% (w/w) reconstituted skim milk

^b LGG powder obtained by spray drying of the fRSM with additional reconstitution of 20% (w/w) SMP.

^c LGG powder obtained by spray drying of RSM¹ with LGG pellet from the MRS culture.

② pH가 분무건조 분말에 미치는 영향 분석

pH가 분무건조 수율과 분말특성에 미치는 영향을 확인하기 위하여 pH를 3.9에서 6.6 범위로 조절하여 실험을 진행하였다. fRSM의 pH를 5.2에서 6.6으로 조절한 경우의 분무건조 수율은 21.95%에서 28.74%로 증가하였다. 그러나, rRSM (36.74%)과 비교하여 낮은 분무건조 수율을 나타내었다(table 2-11).

Table 2-11. Drying yield, moisture content (X) and volume mean diameter (d_{4,3}) of LGG powders.

LGG powders	Drying yield (%)	X (% , d.b.)	d _{4,3} (μm)
RSM ^a	67.95 ± 1.94	9.19 ± 0.05	8.80 ± 0.41
fRSM ^b	Not measurable	13.18 ± 0.47	Not measurable
fRSM-pH 5.2 ^c	21.95 ± 3.46	14.85 ± 0.52	186.45 ± 8.35
fRSM-pH 6.6 ^d	28.74 ± 2.22	16.65 ± 0.79	12.24 ± 0.13
rRSM ^e	36.74 ± 1.64	12.01 ± 0.00	9.40 ± 0.51

^a *Lactobacillus rhamnosus* GG (LGG) powder obtained from spray drying of 10% (w/w) reconstituted skim milk (RSM)

^b LGG powder obtained from spray drying of fermented 10% (w/w) RSM by LGG.

^c LGG powder obtained from spray drying of fRSM after pH adjustment from 3.9 to 5.2.

^d LGG powder obtained from spray drying of fRSM after pH adjustment from 3.9 to 6.6.

^e LGG powder obtained from spray drying of 10% (w/w) RSM with LGG pellet from the MRS culture.

Table 2-11과 figure 2-13에서는 분무건조 분말의 입자크기와 분포 및 수분함량을 나타내고 있다. 분무건조 입자의 크기는 8-186 μm 범위였다. fRSM-SMP의 총 고형분 함량을 10%에서 30%로 조절한 경우의 분무건조 입자의 크기는 각각 13.05 μm와 186.45 μm로서 분무건조 보조제로 사용한 SMP를 첨가함에 따라서 입자크기가 작아졌다. 또한, fRSM-SMP의 pH를 5.2에서 6.6으로 높인 경우에는 186.45 μm에서 12.24 μm로 입자크기가 작아졌다.

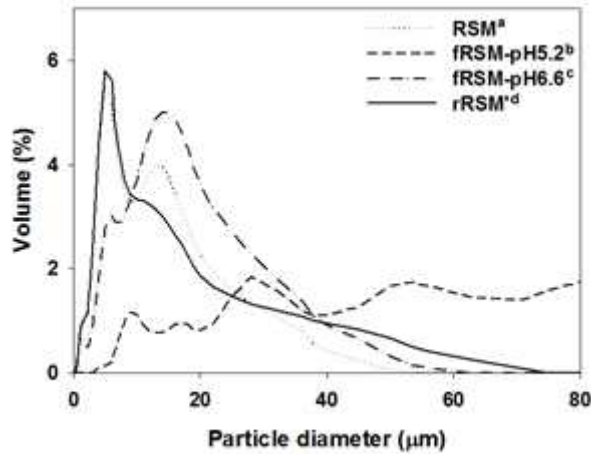


Figure 2-13. Particle size distributions of LGG powders as a function of volume mean diameter ($d_{4,3}$).

^a *Lactobacillus rhamnosus* GG (LGG) powder obtained from spray drying of 10% (w/w) reconstituted skim milk (RSM)

^b LGG powder obtained from spray drying of fRSM after pH adjustment from 3.9 to 5.2.

^c LGG powder obtained from spray drying of fRSM after pH adjustment from 3.9 to 6.6.

^d LGG powder obtained from spray drying of 10% (w/w) RSM with LGG pellet from the MRS culture.

(4) 분무건조 조성물 용액 및 분무건조 분말의 미세구조 특성분석

① 바이오폴리머에 의한 분무건조 조성물 및 분무건조 분말의 미세구조 변화분석

Figure 2-14(a, b, c, d)는 분무건조 조성물의 미세구조, figure 6(e, f, g, h)는 상대습도를 0%로 조절하여 수분을 충분히 제거한 분무건조 분말의 미세구조, figure 6(i, j, k, l)은 상대습도를 69%로 조절한 후 수분에 의한 미세구조 변화를 관찰한 결과이다.

Figure 2-14(a, b, c, d)의 10% RSM에서 분무건조 조성물이 균일하게 분산되어 있으며, fRSM에서는 유단백질 입자들이 응집되어 있었으며, fRSM-SMP에서는 SMP를 첨가함에 따라서 응집되어 있던 유단백질 입자들이 풀어지는 것을 확인하였다.

Figure 2-14(e, f, g, h)에서, 발효 후 분말로 제조한 샘플인 fRSM에서는 입자간의 결합이 형성되었는데 SMP를 첨가한 후에는 형성된 결합이 적어진 것을 알 수 있다 (fRSM-SMP). 그리고, 발효를 진행하지 않은 분말(RSM)과 LGG pellet을 RSM에 분산하여 제조한 분말(rRSM)에서는 입자간의 결합을 확인할 수 없었다(rRSM).

Figure 2-14(i, j, k, l)에서는 수분이 분말 입자 결정 형성에 미치는 영향을 확인하기 위하여 상대습도를 69%로 조절한 후 미세구조를 관찰하였다. 발효 후 분말로 제조한 샘플인 fRSM과 fRSM-SMP에서는 입자 결정을 확인할 수 있었다. 발효하지 않은 분말(RSM)과 LGG pellet을 RSM에 분산하여 제조한 분말(rRSM)에서는 입자 결정은 확인되지 않았다. 그러나 입자간의 결합이 형성된 것을 확인하였다.

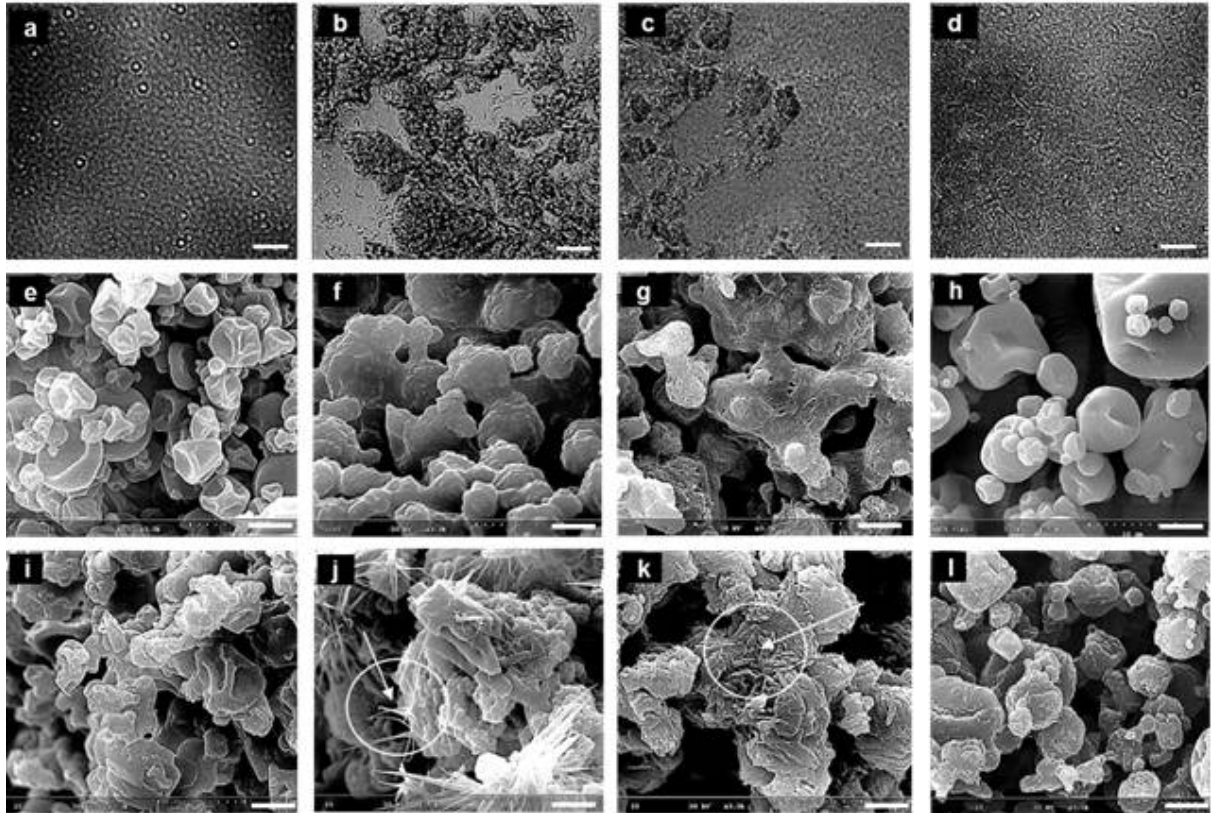


Figure 2-14. The microstructure of feeding suspensions and LGG powders (Scale bar presents 20 μm for a, b, c, d and 5 μm for the others).

a=RSM, 10% reconstituted skim milk; b=fRSM, fermented RSM by *Lactobacillus rhamnosus* GG (LGG); c=fRSM-SMP, fRSM with additional reconstitution of 20% (w/w) skim milk powder (SMP); d=rRSM', 30% (w/w) RSM with LGG pellet; e=RSM conditioned at 0% relative humidity (RH) for 6 days; f=LGG powder obtained from spray dried fRSM conditioned at 0% RH for 6 days; g=fRSM-SMP conditioned at 0% RH for 6 days; h=rRSM conditioned at 0% RH for 6 days; I=RSM conditioned at 69% RH for 6 days; j=fRSM conditioned at 69% RH for 6 days, k=fRSM-SMP conditioned at 69% RH for 6 days; l=rRSM conditioned at 69% RH for 6 days.

② pH가 분무건조 조성물의 특성에 미치는 영향 분석

Figure 2-15(a, b, c, d, e)는 분무건조 조성물의 미세구조, figure 2-15(f, g, h, i, j)는 상대습도를 0%로 조절하여 수분을 충분히 제거한 분무건조 분말의 미세구조, figure 7(k, l, m, n, o)은 pH를 5.2와 5.6으로 조절하여 제조한 분말을 상대습도를 69%로 조절한 후 수분에 의한 미세구조 변화를 관찰한 결과이다.

Figure 2-15(a, b, c, d, e)의 10% RSM과 rRSM'의 분무건조 조성물은 균일하게 분산되어 있으며, fRSM, fRSM-pH 5.2, fRSM-pH 6.6에서는 입자간의 응집이 형성되었다.

Figure 7(f, g, h, i, j)에서, fRSM, fRSM-pH 5.2에서는 입자간에 형성된 결합을 확인할 수 있었으나, pH를 5.2에서 6.6으로 높인 경우(fRSM-pH 6.6)에는 입자간의 결합이 확인되지 않았다.

Figure 2-15(k, l, m, n, o)에서, fRSM에서는 입자 결정이 관찰되었으며, fRSM-pH 5.2, fRSM-pH 6.6에서는 입자간의 결합이 RSM과 rRSM'과 비교하여 입자간에 결합이 많이 형

성된 것을 확인하였다.

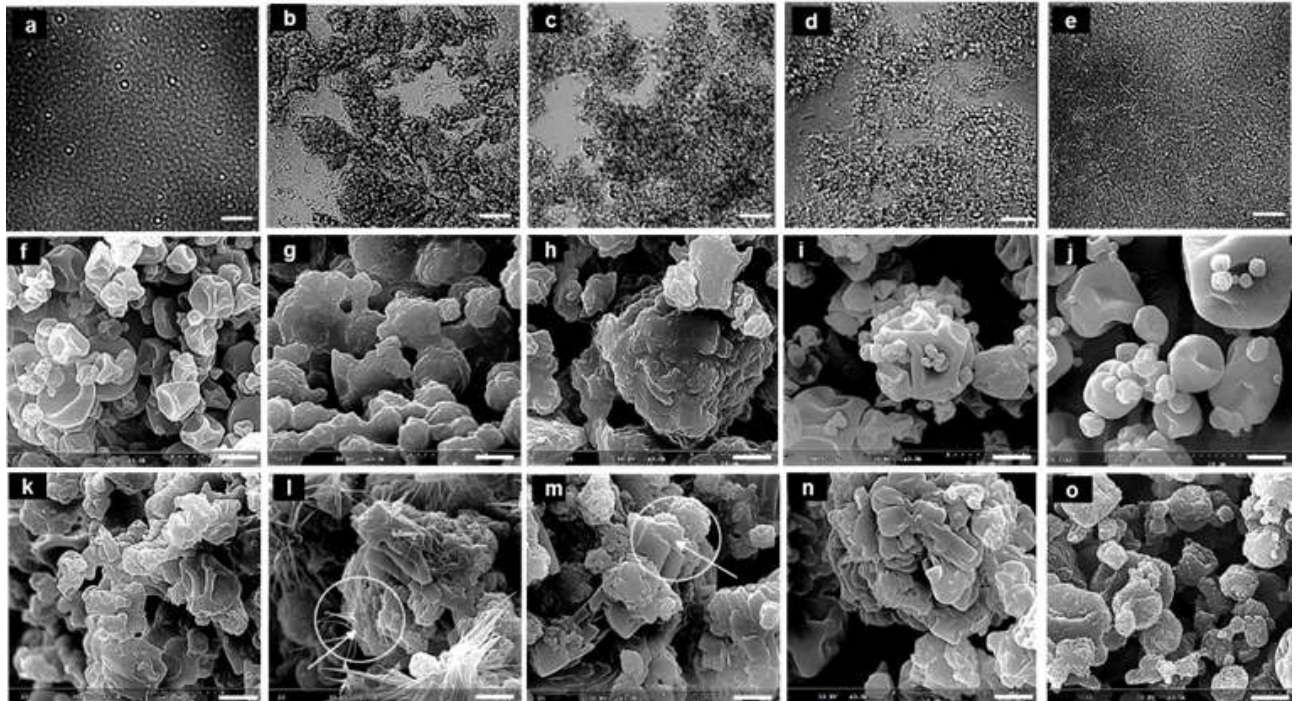


Figure 2-15. The microstructure of feeding suspensions and LGG p-powders (Scale bar presents 20 μm for a, b, c, d, e and 5 μm for the others).

a=RSM, 10% reconstituted skim milk; b=fRSM, fermented RSM by *Lactobacillus rhamnosus* GG (LGG); c=fRSM-pH 5.2, pH adjusted form 3.9 to 5.2; d=fRSM-pH 6.6, pH adjusted form 3.9 to 6.6; e=rRSM', 30% RSM with LGG pellet; f=RSM conditioned at 0% RH for 6 days; g=fRSM conditioned at 0% RH for 6 days; h=fRSM-pH 5.2 conditioned at 0% RH for 6 days; i=fRSM-pH 6.6 conditioned at 0% RH for 6 days; j=rRSM' conditioned at 0% RH for 6 days; k=RSM conditioned at 69% RH for 6 days; l=fRSM conditioned at 69% RH for 6 days; m=fRSM-pH 5.2 conditioned at 69% RH for 6 days; n=fRSM-pH 6.6 conditioned at 69% RH for 6 days; o=rRSM' conditioned at 69% RH for 6 days.

(5) 분무건조 분말의 특성분석

① 흡습특성 분석

Figure 2-16에서는 LGG 발효와 SMP 첨가를 조절하여 제조한 분말 입자의 등온흡습곡선 (moisture sorption isotherm)을 작성한 결과를 나타내고 있다. 흡습특성은 상대습도를 0에서 93%까지 조절하여 측정하였다. 발효하지 않은 RSM과 rRSM은 비슷한 등온흡습특성을 나타내었으며 발효를 한 fRSM은 가장 높은 흡습특성을 나타내었다.

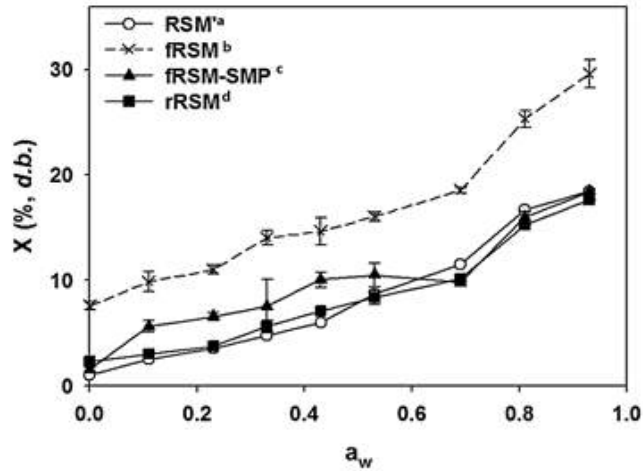


Figure 2-16. Moisture sorption isotherm, the moisture content (X) of the LGG powders after storing at 25 °C for 6 days in the desiccators having various relative humidity (0, 11, 23, 33, 43, 53, 69, 81, and 93%) as a function of water activity (a_w).

^a LGG powder obtained by spray drying of 30% (w/w) reconstituted skim milk.

^b LGG powder obtained by spray drying of fermented 10% (w/w) RSM with *Lactobacillus rhamnosus* GG (LGG) at 42 °C for 9 h.

^c LGG powder obtained by spray drying of the fRSM with additional reconstitution of 20% (w/w) SMP.

^d LGG powder obtained by spray drying of RSM^a with LGG pellet from the MRS culture.

Figure 2-17에서는 분무건조 조성물의 pH를 3.9에서 pH 5.5와 6.6으로 조절하여 제조한 분무건조 분말의 수분 흡습특성 결과를 나타내고 있다. 모든 분무건조 조성물의 총 고형분 함량으로 10%로 조절하였으며, 총 고형분 함량이 30% (figure 8)인 경우와 비교하여 흡습률이 급격히 증가하였다. 또한, fRSM-pH 6.6은 높은 수분활성도에서 흡습율이 높았으나, 그 이외의 분말에서는 비슷한 경향으로 수분을 흡습하였다.

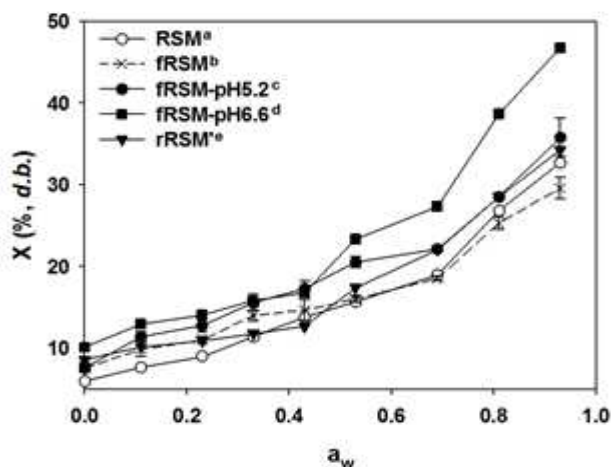


Figure 2-17. Moisture sorption isotherm, the moisture content (X) of the LGG powders after storing at 25 °C for 6 days in the desiccators having various relative

humidity (0, 11, 23, 33, 43, 53, 69, 81, and 93%) as a function of water activity (aw).

^a *Lactobacillus rhamnosus* GG (LGG) powder obtained from spray drying of 10% (w/w) reconstituted skim milk (RSM).

^b LGG powder obtained from spray drying of fermented 10% (w/w) RSM by LGG.

^c LGG powder obtained from spray drying of fRSM after pH adjustment from 3.9 to 5.2.

^d LGG powder obtained from spray drying of fRSM after pH adjustment from 3.9 to 6.6.

^e LGG powder obtained from spray drying of 10% (w/w) RSM with LGG pellet from the MRS culture.

② 분말특성에 따른 습윤특성 분석

분무건조 분말의 특성을 분석하기 위하여 입자크기, 수분함량, 수분활성도, 흐름성, 응집성, 분산성, 모세관 흐름, 생균수를 각각 분석하였다. 탈지분유(SMP)는 대조구로 사용되었다. SMP의 입자크기는 51.73 μm 이었으나 분무건조 조성물인 재구성 탈지유(RSM), rRSM, fRSM+ SMP 분말 입자의 크기는 9.58-9.98 μm 범위로 상대적으로 작은 입자로 제조되었다. 모든 분말의 수분함량은 5.75-8.27% (db)였으며, 수분활성도는 0.2-0.35 범위이었다. SMP의 흐름성은 19.4로서 매우 좋았으나, 그 이외의 모든 샘플의 흐름성 값은 24.49-33.65 범위로서 매우 좋지 않았다. SMP의 응집성은 1.19로서 응집성이 매우 낮았으나, 그 이외의 샘플의 응집성은 1.24-1.34 범위로서 쉽게 응집이 발생하는 것을 확인하였다(table 2-12).

Table 2-12. Characterization of spray dried powders.

Parameters	SMP ^a	RSM ^b	rRSM ^c	fRSM+ SMP ^d
Particle size (D _{4,3} , μm)	51.73±1.28	9.98±0.08	9.58±0.20	9.96±0.18
Moisture content (% db)	5.75±0.34	6.33±0.38	6.86±0.32	8.27±0.71
Water activity	0.35±0.02	0.20±0.00	0.24±0.05	0.30±0.02
Flowability (CI)	19.40±2.48	33.65±0.44	33.57±0.33	24.49±2.89
Cohesiveness (HR)	1.19±0.02	1.34±0.00	1.34±0.00	1.24±0.03
Dispersibility (%)	59.05±0.55	29.97±1.24	55.50±0.36	24.41±0.04
Capillary flow (%)	1.47±0.08	0.97±0.06	0.93±0.04	1.17±0.02
Viability (log CFU/g)	-	-	8.62±0.33	9.60±0.01

^a SMP : skim milk powder.

^b LGG powder obtained by spray drying of 30% (w/w) reconstituted skim milk.

^c LGG powder obtained by spray drying of RSM' with LGG pellet from the MRS culture.

^d LGG powder obtained by spray drying of the fRSM with additional reconstitution of 20% (w/w) SMP.

Figure 2-18에서는 분무건조 분말을 나타내고 있으며, SMP 분말은 응집되어 있지 않으나, RSM, rRSM, fRSM+ SMP 분말은 입자가 응집된 것을 확인할 수 있다.

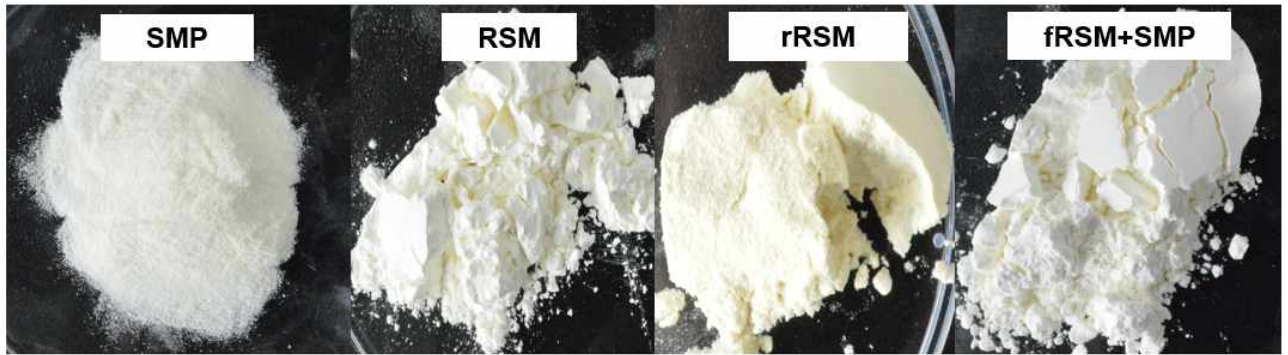


Figure 2-18. Images of spray dried powders.

Figure 2-19에서는 입자 분포도를 보여주고 있다. SMP 분말은 가장 큰 입자 분포도를 나타내고 있으며, 그다음으로 RSM 입자 분포도가 높은 것을 알 수 있다.

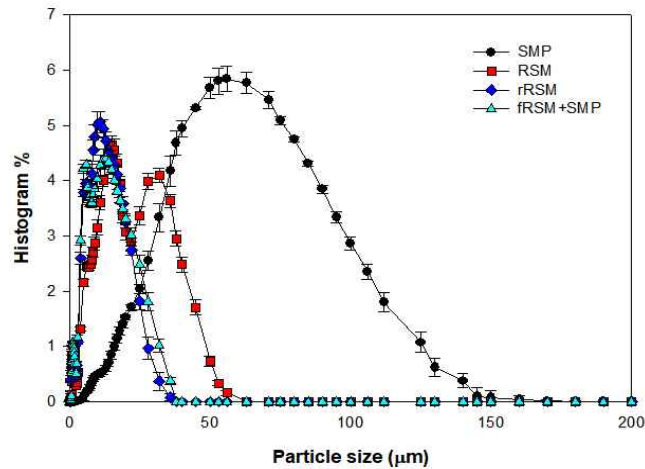


Figure 2-19. Particle size distribution of spray dried particles.

^a SMP : skim milk powder.

^b LGG powder obtained by spray drying of 30% (w/w) reconstituted skim milk.

^c LGG powder obtained by spray drying of RSM^b with LGG pellet from the MRS culture.

^d LGG powder obtained by spray drying of the fRSM with additional reconstitution of 20% (w/w) SMP.

Figure 2-20과 2-21에서는 dynamic contact angle을 측정한 결과를 나타내고 있다. Dynamic contact angle 측정은 슬라이드 글라스에 양면 테이프를 붙이고 일정한 부피의 분말을 도포 한 후 한 방울의 증류수를 미세하게 적하하여 접촉각 측정기를 이용하여 측정하였다.

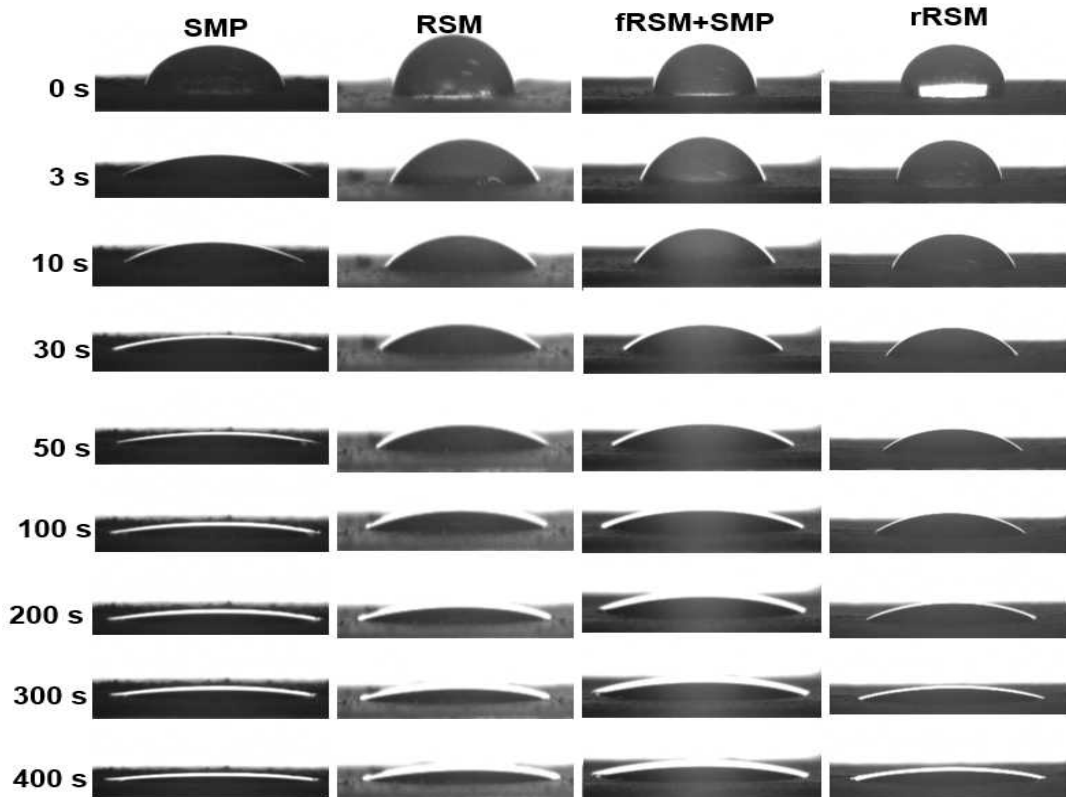


Figure 2-20. Measurement of dynamic contact angle of skim milk powder (SMP) RSM, fRSM+ SMP, rRSM for 400 s at 20 °C. Relative humidity was 30% using a humidity controller.

^a SMP : skim milk powder.

^b LGG powder obtained by spray drying of 30% (w/w) reconstituted skim milk.

^c LGG powder obtained by spray drying of RSM^b with LGG pellet from the MRS culture.

^d LGG powder obtained by spray drying of the fRSM with additional reconstitution of 20% (w/w) SMP.

SMP 분말의 수분흡수율이 가장 높았으며, RSM과 rRSM은 비슷한 경향을 보였다. 발효한 SMP를 첨가하여 제조한 분말인 fRSM+ SMP의 수분 흡습도가 가장 낮은 것을 확인하였다 (figure 2-21).

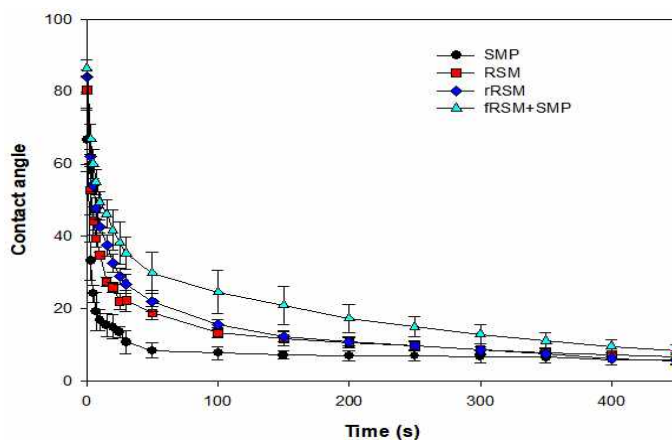


Figure 2-21. Measurement of dynamic contact angle of spray dried particles.

^a SMP : skim milk powder.

^b LGG powder obtained by spray drying of 30% (w/w) reconstituted skim milk.

^c LGG powder obtained by spray drying of RSM¹ with LGG pellet from the MRS culture.

^d LGG powder obtained by spray drying of the fRSM with additional reconstitution of 20% (w/w) SMP.

③ 점착특성 분석

분무건조 분말의 점착특성은 상대습도 조절한 분말의 유리전이온도를 측정함으로써 확인하였다. 모든 샘플은 수분활성도가 증가함에 따라서 감소하는 경향을 나타내었다. 발효를 진행한 fRSM의 경우에는 다른 샘플과 비교하여 수분활성도에 따라서 낮은 유리전이온도를 나타내었다(figure 2-22).

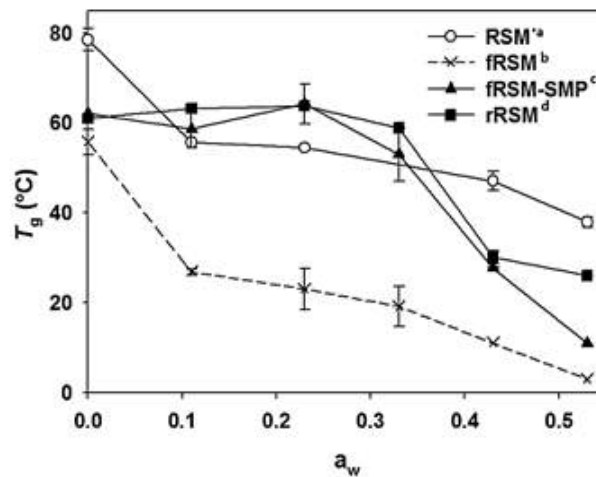


Figure 2-22. Glass transition temperature (T_g) of the LGG powders stored at 25 °C for 6 days in the desiccators with various relative humidities (0, 11, 23, 33, 43, and 53%) as a function of water activity (a_w).

^a LGG powder obtained by spray drying of 30% (w/w) reconstituted skim milk

^b LGG powder obtained by spray drying of fermented 10% (w/w) RSM with *Lactobacillus rhamnosus* GG (LGG) at 42 °C for 9 h.

^c LGG powder obtained by spray drying of the fRSM with additional reconstitution of 20% (w/w) SMP.

^d LGG powder obtained by spray drying of RSM¹ with LGG pellet from the MRS culture.

Table 2-13에서는 0% RH에서의 유리전이온도(T_g)를 나타내고 있다. 발효를 진행하지 않은 RSM의 유리전이온도는 78.5°C로서 가장 큰 값을 나타내었으나, 발효를 진행한 fRSM의 경우에는 55.8 °C로 감소하였다.

Table 2-13. Glass transition temperature (T_g) of the LGG powders stored at 25 °C for 6 days in the desiccator with relative humidity (RH) of 0%.

LGG powders	T_g (°C), (RH=0%)
RSM ^a	78.5 ± 2.5
fRSM ^b	55.8 ± 2.7
fRSM-SMP ^c	62.1 ± 0.2
rRSM ^d	61.0 ± 0.3

^a LGG powder obtained by spray drying of 30% (w/w) reconstituted skim milk

^b LGG powder obtained by spray drying of fermented 10% (w/w) RSM with *Lactobacillus rhamnosus* GG (LGG) at 42 °C for 9 h.

^c LGG powder obtained by spray drying of the fRSM with additional reconstitution of 20% (w/w) SMP.

^d LGG powder obtained by spray drying of RSM^a with LGG pellet from the MRS culture.

Figure 2-23에서는 총 고형분 함량을 10%로 조절하고 분무건조 조성물의 pH를 3.9에서 5.5와 6.6으로 조절하여 제조한 분무건조 분말의 수분활성도 조절에 따른 유리전이온도 변화를 측정된 결과를 나타내고 있다. 모든 샘플은 수분활성도가 증가함에 따라서 감소하는 경향을 나타내었다. RSM은 총 고형분 함량을 30%에서 10%로 줄임에 따라서 유리전이온도가 78.5°C에서 62.0°C로 감소하였다. 또한, 발효를 진행한 fRSM의 경우에는 다른 샘플과 비교하여 수분활성도에 따라서 낮은 유리전이온도를 나타내었다.

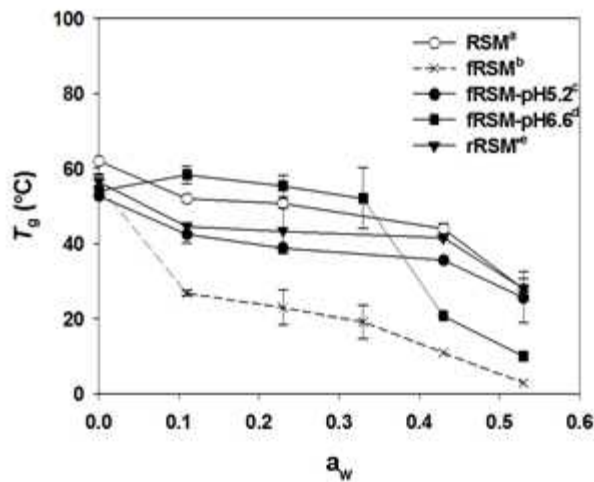


Figure 2-23. Glass transition temperature (T_g) of the LGG powders stored at 25 °C for 6 days in the desiccators with various relative humidities (0, 11, 23, 33, 43, and 53%) as a function of water activity (a_w).

^a *Lactobacillus rhamnosus* GG (LGG) powder obtained from spray drying of 10% (w/w) reconstituted skim milk (RSM).

^b LGG powder obtained from spray drying of fermented 10% (w/w) RSM by LGG.

^c LGG powder obtained from spray drying of fRSM after pH adjustment from 3.9 to 5.2.

^d LGG powder obtained from spray drying of fRSM after pH adjustment from 3.9 to 6.6.

^e LGG powder obtained from spray drying of 10% (w/w) RSM with LGG pellet from the MRS culture

Table 2-14에서는 0% RH에서의 유리전이온도(Tg)를 나타내고 있다. 발효를 진행하지 않은 RSM의 유리전이온도는 62.5 °C로서 가장 큰 값을 나타내었으나, 발효를 진행한 fRSM의 경우에는 55.8 °C로 감소하였다. pH를 3.6에서 5.5, 6.6으로 조절함에 따라서 유리전이온도는 50.8 °C와 55.0 °C로 각각 감소하였다.

Table 2-14. Glass transition temperature (Tg) of the LGG powders stored at 25 °C for 6 days in the desiccator with relative humidity (RH) of 0%.

LGG powders	Tg (°C), (RH=0)
RSM ^a	62.0 ± 0.4
fRSM ^b	55.8 ± 2.7
fRSM-pH 5.2 ^c	50.8 ± 0.4
fRSM-pH 6.6 ^d	55.0 ± 1.3
rRSM ^e	56.0 ± 1.6

^a Lactobacillus rhamnosus GG (LGG) powder obtained from spray drying of 10% (w/w) reconstituted skim milk (RSM)

^b LGG powder obtained from spray drying of fermented 10% (w/w) RSM by LGG.

^c LGG powder obtained from spray drying of fRSM after pH adjustment from 3.9 to 5.2.

^d LGG powder obtained from spray drying of fRSM after pH adjustment from 3.9 to 6.6.

^e LGG powder obtained from spray drying of 10% (w/w) RSM with LGG pellet from the MRS culture.

④ Sticky point temperature (SPT) 분석

Sticky point temperature (SPT)측정은 T-Tg 계산식을 이용하여 계산하였다. SPT 값이 음수인 경우에는 물리적으로 유리전이가 발생해도 점착 현상을 나타내고, 양수인 경우에는 유리전이가 발생하기 전에 점착 현상이 사라지는 것을 의미하게 된다. Figure 2-24에서는 상대습도를 조절한 분말의 유리전이온도와 토크 값을 측정하여 작성한 sticky zone graph 이다.

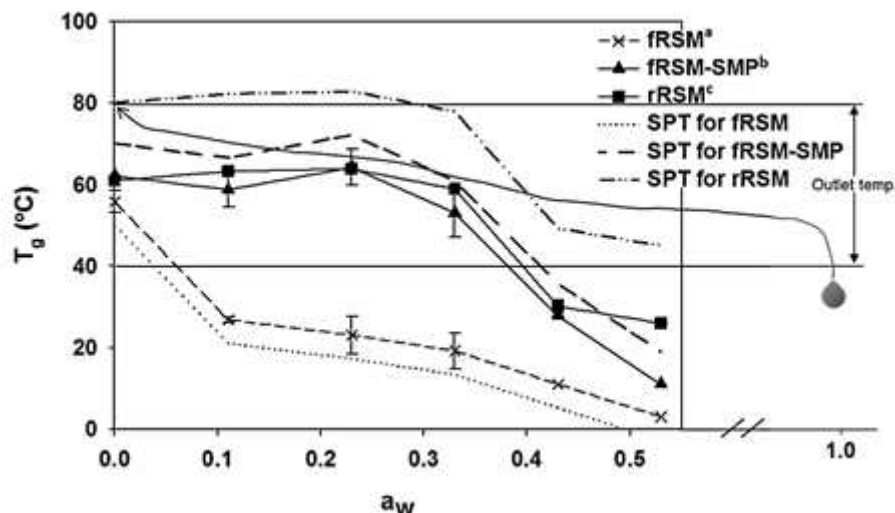


Figure 2-24. Glass transition temperature (Tg) and sticky point temperature (SPT) for LGG powders as a function of water activity (aw).

^a LGG powder obtained by spray drying of fermented 10% (w/w) RSM with *Lactobacillus rhamnosus* GG (LGG) at 42 °C for 9 h.

^b LGG powder obtained by spray drying of the fRSM with additional reconstitution of 20% (w/w) SMP.

^c LGG powder obtained by spray drying of RSM^c with LGG pellet from the MRS culture.

(5) 유산균 선별 결과

산양삼 발효를 위하여 강원도 평창지역의 농가에서 구입한 김치, 된장 및 상용 미생물을 대상으로 균주를 분리 동정하였으며, MRS BCP 평판 배지를 이용한 1차 선별을 진행하였다 (figure 25).

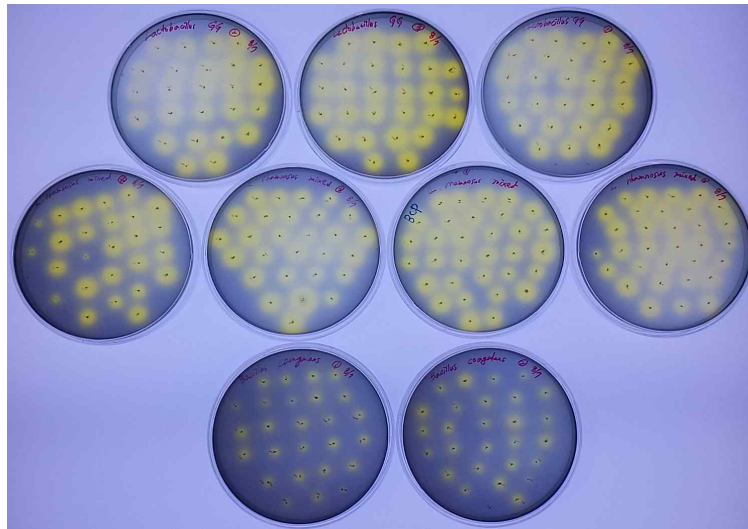


Figure 2-25. Isolation of lactic acid bacteria using BCP agar.

산양삼 발효능력을 확인하기 위하여 산양삼 추출액을 첨가한 MRS 배지에서 생존을 잘하는 균주를 2차 선별하였다. 산양삼 추출액에 접종하여 24시간 발효 후에 10^8 cfu/ml 이상 자라는 균주를 재선별하여 후보 균주를 결정하였다. 확보한 균주는 16S rRNA 동정한 후 BLAST와 비교하여 상동성이 99%인 7종의 유산균을 확보하였다.

Lactobacillus plantrum (F2), *Lactobacillus paracasei* (F5), *Lactobacillus plantrum* (F6), *Lactobacillus fermentum* (F7)을 산양삼 발효에 사용하였다.

Table 2-15. Isolated lactic acid bacteria.

No.	Accession	Matching (%)	Isolated lactic acid bacteria
F1	LC064896.1	99	<i>Lactobacillus plantarum</i>
F2	LC064896.1	99	<i>Lactobacillus plantarum</i>
F3	NR_114742.1	99	<i>Enterococcus faecium</i>
F4	NR_113335.1	99	<i>Lactobacillus fermentum</i>
F5	AP012541.1	99	<i>Lactobacillus paracasei</i>
F6	NR_115605.1	99	<i>Lactobacillus plantarum</i>
F7	NR_113335.1	99	<i>Lactobacillus fermentum</i>

(5) 발효 콜로이드 산양삼 제조 및 특성분석

① 발효산양삼 진세노사이드 함량 분석결과

Table 2-16에서는 총 진세노사이드를 분석하기 위하여 사용한 총 13개의 진세노사이드 표준물질의 검량선식과 결정계수를 보여주고 있다(table 2-15).

Table 2-16. Standard ginsenosides compounds and calibration curves.

Standard ginsenosides	Detection range (mg/ml)	Calibration curve	R ²
CK	0.02-2.0	Y=1000000X+ 42987	0.9994
Rg1	0.02-2.0	Y=130000X+ 9280	0.9984
Rg2	0.02-2.0	Y=260285X+ 2194.4	0.9998
Rg3	0.02-2.0	Y=265647X+ 22239	0.9996
Rb1	0.08-2.0	Y=59888X-1456.1	0.9993
Rb2	0.04-2.0	Y=94719X-671.01	0.9991
Rb3	0.1-2.0	Y=61200X-2310	0.9915
Rc	0.02-2.0	Y=135549X-2511.4	0.9991
Rd	0.1-2.0	Y=18500X+ 2330	0.9982
Re	0.02-2.0	Y=137483X-1009.9	0.9993
Rf	0.02-2.0	Y=202872X+ 2725.6	0.9992
Rh1	0.02-2.0	Y=192518X-5017.1	0.9990
Rh2	0.04-2.0	Y=21854X-2091.5	0.9980

y=MS : area of chromatogram, x=concentration of ginsenosides

② 유산균주를 이용한 산양삼 추출물 발효에 따른 ginsenoside 함량 변화

Table 2-17 2-18서는 발효에 의한 ginsenoside 전환 확인을 위하여 유산균주 *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus paracasei*, *Lactobacillus fermentum* 균주를 사용하여 발효 후 물 추출하고 LC 분석을 진행하였다.

12시간 추출물을 이용하여 배양 후 ginsenoside 함량 변화 분석결과를 보면 공통적으로

CK와 Rh2는 모두 불검출되었으며, 발효 전과 비교하였을 때 균주와 상관없이 Rh1, Rg2, Rg3는 발효 후 증가한 것으로 나타났다.

37°C에서 31시간 배양 후 가장 큰 폭으로 증가한 균은 *Lactobacillus plantarum*으로 발효한 산양삼 추출물로 Rh1 57.9ug/ml, Rg2 62.7ug/ml, Rg3 124.8ug/ml로 대조군과 비교하여 각각 126.9%, 457.7%, 188.1% 증가하였다. 48시간 배양 후 ginsenoside 함량의 변화는 *Lactobacillus plantarum*을 이용하여 발효한 산양삼 추출물이 가장 높은 함량(Rh1 57.4ug/ml, Rg2 65.3 ug/ml, Rg3 150.0ug/ml)을 나타냈다. 대조군과 비교하여 각각 218.6%, 135.9%, 593.6% 증가하였다. 72시간 배양 후 ginsenoside 함량의 변화는 *Lactobacillus plantarum*을 이용하여 발효한 추출물이 가장 높은 함량을 보였다. Rh1 60.1ug/ml, Rg2 64.4ug/ml, Rg3 142.9ug/ml로 나타났으며 대조군과 비교하였을 때 각각 234.0%, 138.2%, 568.0% 증가한 것을 확인할 수 있었다. 증가율을 비교해보았을 때 48시간배양 후 12시간 추출하는 것이 최적 조건이라 생각한다. 배양시간과 추출시간과 관계없이 Rh1, Rg2, Rg3를 제외한 진세노사이드 함량은 감소하였으며 그중 가장 많이 감소한 성분은 Re와 Rb1, Rc로 나타났다.

18시간 추출물을 이용하여 배양 후 ginsenoside 함량 변화 분석결과를 보면 공통으로 CK와 Rh2는 모두 불검출되었으며 Rh1, Rg2, Rg3 함량이 증가하였다. 31시간 배양 후에는 *Lactobacillus fermentum*을 이용하여 발효한 산양삼 추출물이 Rh1 48.0ug/ml, Rg2 51.8ug/ml, Rg3 117.8ug/ml로 나타났다. 대조군과 비교하였을 때 각각 61.2%, 31.3%, 138.7% 증가하였다. 48시간 배양 후의 함량은 *Lactobacillus plantarum*이 Rh1 51.9ug/ml, Rg3 152.8ug/ml로 가장 높은 함량을 보였으며 Rg2 함량은 58.0ug/ml로 *Lactobacillus fermentum*이 높은 함량을 나타냈다. 성분별 증가율은 113.7%, 67.5%, 283.7%가 증가하였다. 72시간 배양 후의 Rh1 함량은 *Lactobacillus fermentum* 52.7ug/ml. Rg2 함량은 *Lactobacillus plantarum* 57.3ug/ml, Rg3 함량은 *Lactobacillus paracasei* 143.9ug/ml 함량을 나타내었다. 각 성분의 증가율은 113.9%, 99.3%, 297.7%로 증가하였다. Rh1, Rb2, Rb3를 제외한 진세노사이드 성분은 감소하였으며 감소 폭이 가장 큰 성분으로는 Rg1, Rb1, Re로 나타났다. 증가율을 비교해보았을 때 72시간 배양 후 18시간 추출하는 것이 Rh1, Rg2, Rg3의 함량이 가장 높게 확인되었다.

Table 2-17 Variation of ginsenosides concentration of wild cultivated ginseng according to fermentation time, extraction time (12 h) and different lactic acid bacteria.

														(Unit : ug/ml)
배양시간	종균	CK	Rh2	Rh1	Rg2	Rg3	Rf	Rg1	Rd	Re	Rb2	Rb3	Rc	Rb1
31	Control	-	-	20.1	27.6	22.4	140.1	196.7	150.3	188.6	69.3	19.0	78.3	167.5
	<i>L.platarum</i> (F2)	-	-	55.2	62.2	115.9	72.0	45.6	75.1	34.9	13.9	5.7	19.3	31.9
	<i>L.paracasei</i> (F5)	-	-	53.3	61.4	105.6	82.1	91.0	101.9	66.1	28.0	10.0	33.9	60.5
	<i>L.platarum</i> (F6)	-	-	57.9	62.7	124.8	74.7	49.0	79.2	37.4	16.0	5.5	19.4	37.1
	<i>L.fermentum</i> (F7)	-	-	49.5	57.7	86.5	78.0	88.4	119.6	65.2	29.7	11.7	34.6	55.6
48	Control	-	-	18.0	27.7	21.6	136.1	198.2	178.7	200.3	84.3	21.2	92.2	190.3
	<i>L.platarum</i> (F2)	-	-	57.4	65.3	150.0	68.2	30.1	82.4	22.9	17.5	7.5	14.2	27.1
	<i>L.paracasei</i> (F5)	-	-	54.2	63.2	121.6	69.0	32.8	66.0	29.0	18.7	10.6	16.3	32.5
	<i>L.platarum</i> (F6)	-	-	54.9	63.7	130.1	67.6	35.2	86.5	29.4	19.0	4.0	15.7	32.8
	<i>L.fermentum</i> (F7)	-	-	47.0	56.4	107.8	74.0	72.6	83.4	58.5	30.9	11.1	25.4	56.5
72	Control	-	-	18.0	27.0	21.4	128.7	183.4	153.3	186.4	70.2	23.3	121.7	163.6
	<i>L.platarum</i> (F2)	-	-	60.1	64.4	142.9	66.1	22.5	61.2	20.4	13.4	8.7	11.5	24.0
	<i>L.paracasei</i> (F5)	-	-	52.6	57.5	136.1	61.0	19.9	33.3	18.4	13.5	3.8	12.7	26.0
	<i>L.platarum</i> (F6)	-	-	53.8	58.6	129.7	62.6	19.8	54.9	19.6	23.1	3.0	12.1	24.0
	<i>L.fermentum</i> (F7)	-	-	53.9	61.6	114.5	74.0	68.6	88.8	51.2	17.6	9.2	26.4	50.6

Table 2-18. Variation of ginsenosides concentration wild cultivated ginseng according to fermentation time, extraction time (18 h) and different lactic acid bacteria.

														(Unit : ug/ml)
배양시간	종균	CK	Rh2	Rh1	Rg2	Rg3	Rf	Rg1	Rd	Re	Rb2	Rb3	Rc	Rb1
31	Control	-	-	29.8	39.5	49.4	154.5	197.4	217.5	185.2	71.3	14.5	85.5	175.9
	<i>L.platarum</i> (F2)	-	-	45.6	51.1	111.5	54.4	8.5	50.7	13.5	6.1	3.8	8.9	11.1
	<i>L.paracasei</i> (F5)	-	-	43.1	47.5	103.0	53.8	28.7	73.2	27.0	10.1	6.8	15.2	27.0
	<i>L.platarum</i> (F6)	-	-	36.6	36.5	98.6	44.7	9.8	51.1	11.5	7.6	1.4	7.9	11.1
	<i>L.fermentum</i> (F7)	-	-	48.0	51.8	117.8	60.9	38.4	78.1	34.0	10.7	5.2	17.8	27.4
48	Control	-	-	24.3	34.6	39.8	140.7	184.7	164.3	188.3	74.8	22.1	80.7	167.6
	<i>L.platarum</i> (F2)	-	-	51.9	56.9	152.8	56.6	3.0	36.0	9.5	5.3	2.0	4.7	8.0
	<i>L.paracasei</i> (F5)	-	-	50.3	56.2	140.1	54.2	7.2	32.7	12.1	6.6	1.9	8.0	12.5
	<i>L.platarum</i> (F6)	-	-	50.1	57.3	135.1	55.6	6.9	38.7	11.0	7.2	1.6	7.4	9.7
	<i>L.fermentum</i> (F7)	-	-	50.2	58.0	87.7	62.5	27.1	58.3	23.3	14.0	4.2	13.8	24.7
72	Control	-	-	24.7	28.8	36.2	121.5	196.7	138.2	159.3	61.0	22.4	70.7	138.0
	<i>L.platarum</i> (F2)	-	-	49.9	56.8	141.8	57.0	1.7	16.7	7.1	4.1	3.8	5.3	9.4
	<i>L.paracasei</i> (F5)	-	-	50.4	54.0	143.9	53.6	1.2	17.7	8.4	4.6	1.0	4.4	5.7
	<i>L.platarum</i> (F6)	-	-	49.2	57.3	137.7	53.8	0.8	24.2	7.4	4.8	1.1	4.1	8.8
	<i>L.fermentum</i> (F7)	-	-	52.7	52.5	91.2	62.0	22.6	69.1	21.7	13.7	5.9	13.4	23.1

그러나 추출시간별로 비교했을 경우 48시간 배양 후 12시간 추출한 경우가 대조군과 비교하면 각 성분의 함량이 더 높게 나타났기 때문에 저분자 진세노사이드의 함량을 증가시키기 위해서는 48시간 배양 후 12시간 추출하는 것이 최적의 조건으로 생각된다.

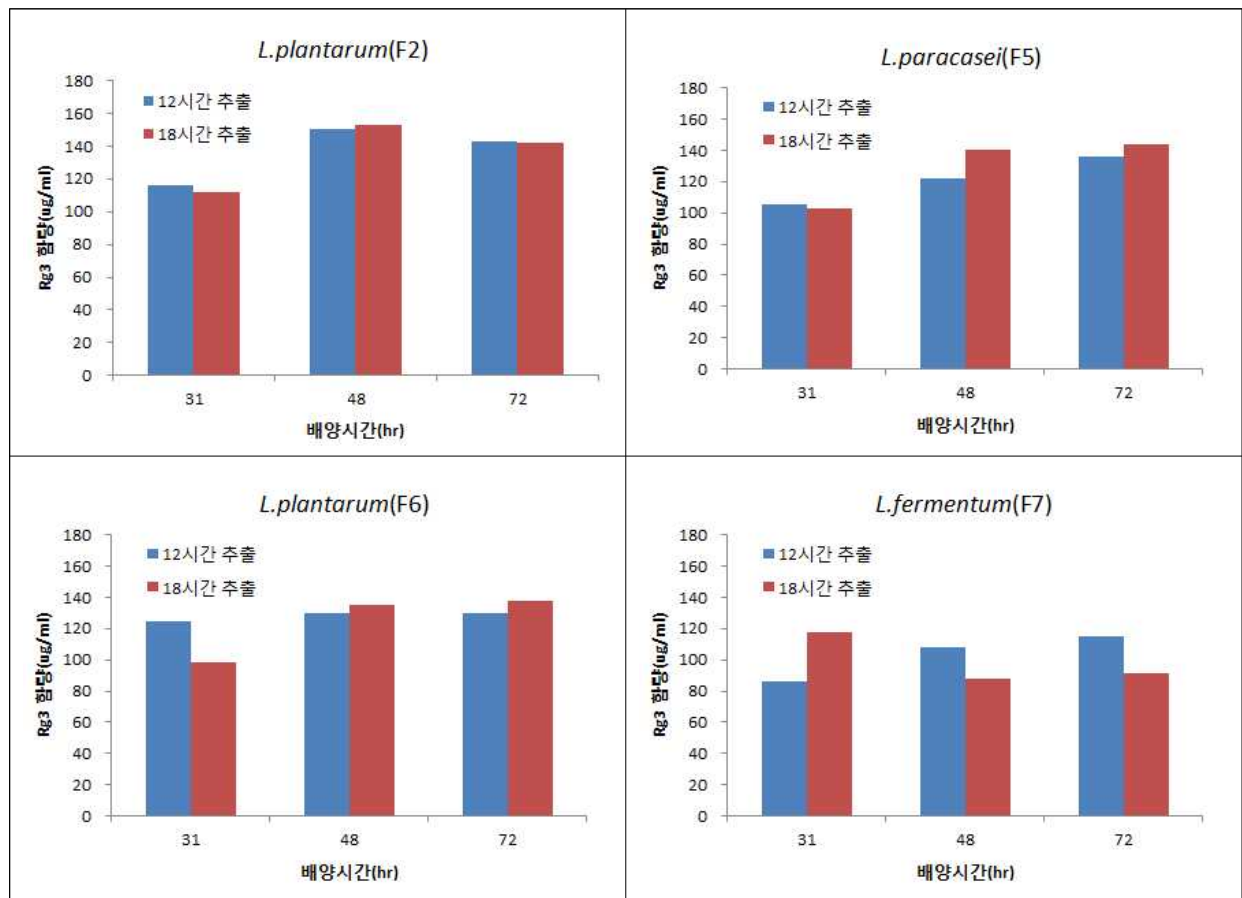


Figure 2-26. Variation of Rg3 concentration according to fermentation and extraction time.

발효를 통해 기존의 산양삼에 존재하는 고분자 진세노사이드가 저분자 진세노사이드로 전환되어 증진되는 것을 비교하기 위해서는 최초의 전구체 진세노사이드가 존재하여야 하므로 저분자 진세노사이드 Rg2, Rg3, Rh1의 전구체를 조사하였다. 기존의 연구결과에 따라 Rg2의 전구체는 Re, Rg3의 전구체는 Rb1, Rc로 확인되었다.

③ 유산균주를 이용한 산양삼 추출물의 발효에 따른 TLC pattern 및 ginsenosides 유도체 함량 변화분석

LC 분석결과 유산균주를 이용하여 48시간 배양 후 12시간 추출한 산양삼 추출물을 부탄올로 추출하여 TLC 패턴을 살펴본 결과는 figure 2-26과 같다. LC 분석을 진행한 결과, *Lactobacillus plantarum*을 이용하여 배양한 산양삼 추출물의 Rh1, Rg2, Rg3가 대조군과 비교하면 증가한 것을 확인하였다. TLC 상에서도 spot의 진하기로 확인할 수 있었으며 Rg2와 Rg3 spot이 대조군에 비해 진하게 나타남을 관찰하였다. Rh1 또한, 대조군과 비교

하면 *Lactobacillus plantarum*을 이용하여 발효한 샘플에서 spot이 진하게 나타남을 관찰하였다(figure 2-27).

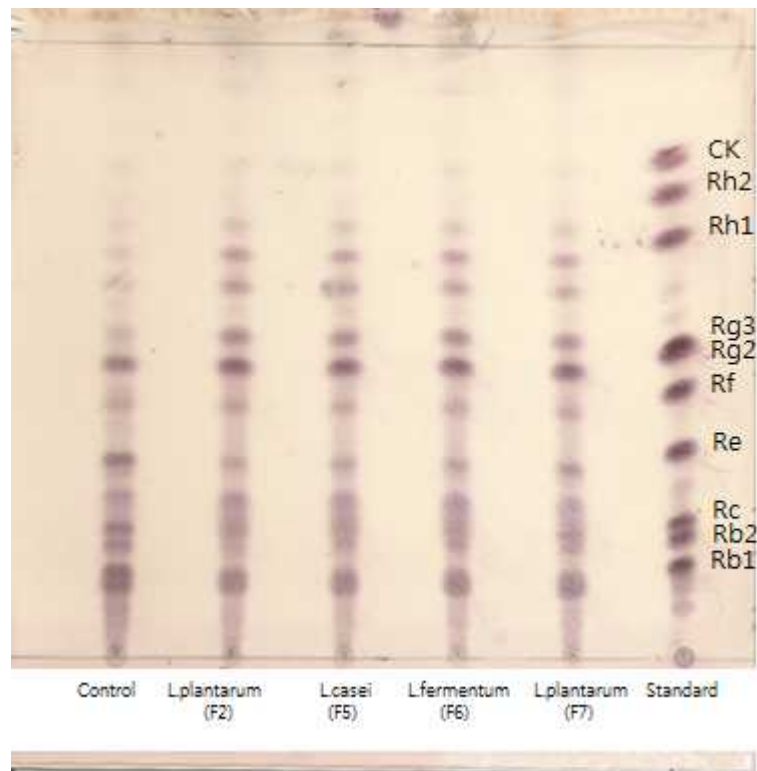


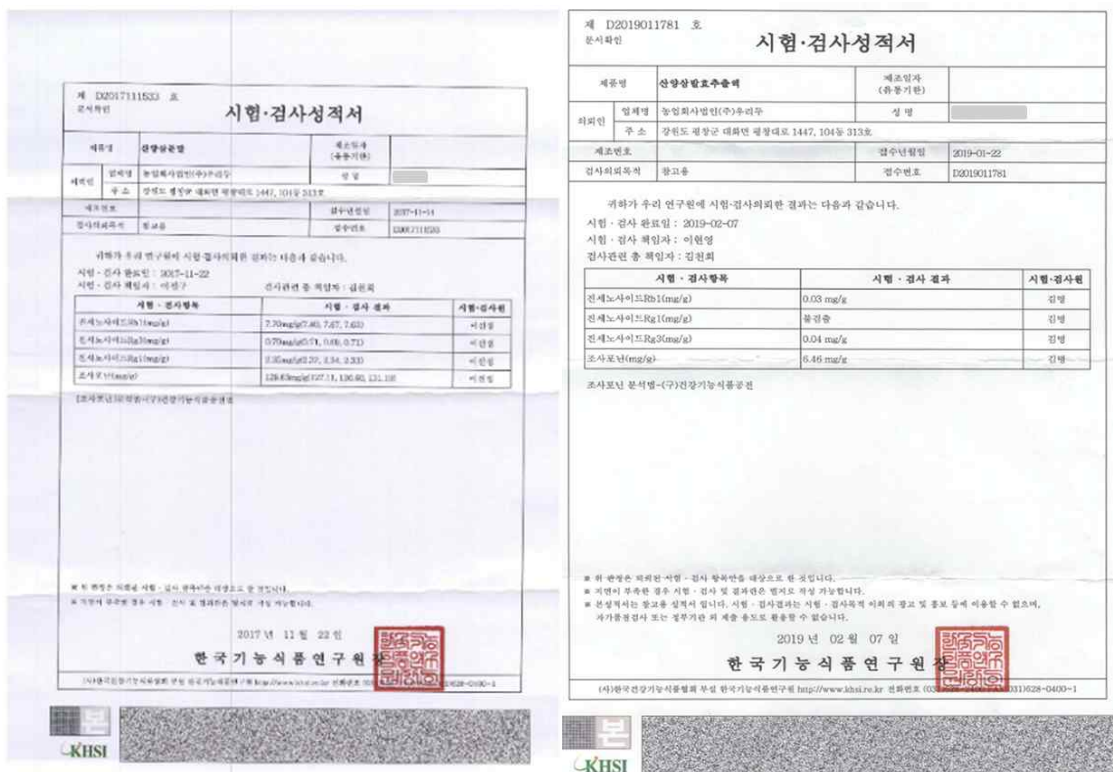
Figure 2-27. TLC pattern analysis of lactic acid bacteria fermented wild cultivated ginseng.

④ 발효조건에 따른 총 진세노사이드 및 조사포닌 함량 분석결과

건조 및 발효 산양삼의 총 사포닌과 조사포닌 분석은 분석결과의 검증을 위하여 자체분석 결과와 공인기관에 분석 의뢰한 결과를 비교·분석하였다. 분석은 Rb1, Rb2, Rc, Rd, Re, Rh1, Rg1, Rg2, Rg3, Rf, Rh2, CK의 총 12개의 사포닌을 분석함으로써 확인하였다. 자체 분석한 결과 건조 산양삼의 총 진세노사이드 함량은 28.43 g ginsenosides/g ginseng (db)이었으며, Rb1+Rg1+Rg3의 함량은 8.35 g ginsenosides/g ginseng (db)이었다. 발효 산양삼(48 h 발효, 12 h 추출)의 총 진세노사이드와 조사포닌 함량은 각각 15.47, 6.55 g ginsenosides/g ginseng (db)이었다. 발효와 추출 조건이 72 h, 18 h인 발효 산양삼의 총 진세노사이드와 조사포닌 함량은 각각 17.39, 7.28 g ginsenosides/g ginseng (db)로서 발효와 추출 시간이 증가함에 따라서 증가하였다.

Table 2-18. Composition of ginsenosides in wild-cultivated ginseng.

Ginsenosides	Ginsenosides 함량 (mg/g)				
	산양삼 건조 분말	산양삼 건조 분말	48 h 발효 (12 h 추출)	48 h 발효 (12 h 추출)	72 h 발효 (18 h 추출)
Rb1	4.13	7.7	0.32	0.03	1.04
Rb2	1.73	-	0.212	-	0.54
Rc	2.38	-	0.188	-	0.508
Rd	1.42	-	1.44	-	1.332
Re	12.27	-	0.38	-	0.736
Rh1	0.04	-	2.706	-	2.104
Rg1	4.16	2.35	0.12	불검출	0.796
Rg2	0.64	-	2.276	-	2.3
Rg3	0.06	0.7	6.112	0.04	5.444
Rf	1.59	-	2.264	-	2.44
Rh2	0	-	-	-	-
CK	0.01	-	-	-	-
Total ginsenosides (mg/g)	28.43	-	15.47	-	17.392
Rb1+Rg1+Rg3 (mg/g)	8.35	10.75	6.55	0.07	7.28
Crude saponins(mg/g)	-	129	-	6.46	-
비 고	자체분석	공인성적서	자체분석	공인성적서	자체분석



<진세노사이드 함량 분석결과>

④ 발효콜로이드 산양삼의 특성분석

발효콜로이드 산양삼의 특성은 입자크기, zeta-potential을 측정함으로써 확인하였다. 모든 샘플은 수용액에서의 응집이 발생하는 것을 확인하기 위하여 초음파 처리 전과 후에 각각 측정하였다. 초음파 처리 전과 후의 zeta-potential 각각 -7.21 과 -7.83 이었다(table 2-19, figure 2-28). 입자크기는 초음파 처리 전에는 $131.07 \mu\text{m}$ 이었으나, 초음파 처리 후에는 $35.22 \mu\text{m}$ 로서 수용액 상에서 응집이 발생하였다(table 2-19). Figure 2-29에서는 발효 콜로이드 산양삼의 입자크기 측정에 초음파 처리가 미치는 영향을 분석한 결과를 나타내고 있는데, 입자간의 상호 응집이 발생하여 초음파 처리를 하지 않았을 경우의 입자크기는 $131.07 \mu\text{m}$ 이었으나, 초음파 처리 이후에는 $35.22 \mu\text{m}$ 로서 응집된 입자가 떨어지는 것을 확인하였다. 또한, table 2-19에서 나타낸 것과 같이 초음파 처리 전의 span 값은 2.58 이었으나 초음파 처리 이후에는 3.41 로서 다양한 크기의 입자가 있는 것을 확인하였다.

Table 2-19. Characterization of fermented wild cultivated ginseng extract.

Samples	Zeta potential (mV)	D[4,3] (μm)	Span
Ultra sonic treatment	-7.83 ± 0.25	35.22 ± 4.19	3.41 ± 0.63
Non-ultra sonic treatment	-7.21 ± 0.61	131.07 ± 2.55	2.58 ± 0.19

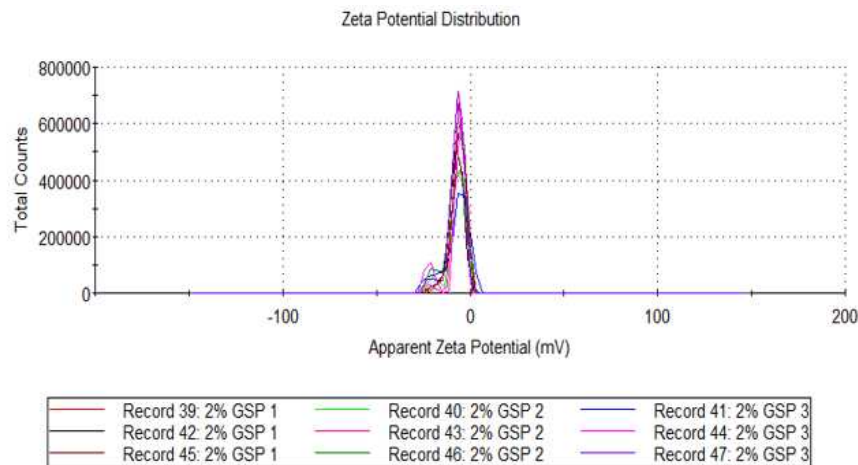


Figure 2-28. Effect of ultrasonic treatment of Z-potential of fermented wild cultivated ginseng extract.

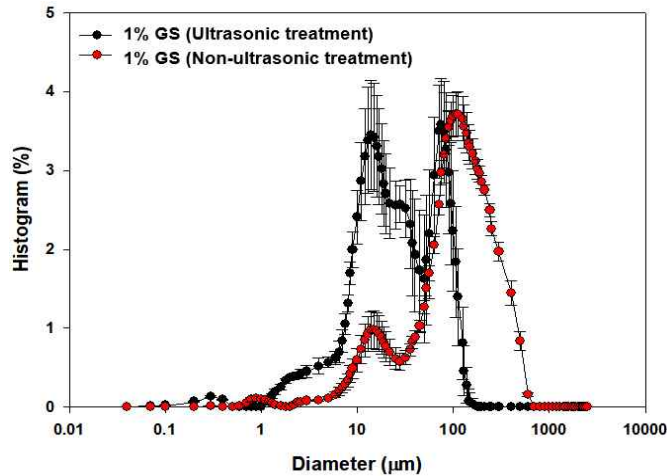


Figure 2-29. Effect of ultrasonic treatment of fermented wild cultivated ginseng extract on the particle size distribution.

(6) 시중 제품과의 입자특성 비교

Table 2-20에서는 프로바이오틱스 시장에 유통되고 총 6종 (Duoloc gold, Duoloc baby, Kolon, ProLB, FreeLacto, Hilac, Familac)의 제품과 농업회사법인(주)우리두 (제품명 : 패밀락)의 제품의 입자특성을 비교·분석한 결과를 나타내고 있다. 분석항목은 입자크기, 수분 함량(% db), 접촉각 (contact angle, °), 흐름성 (flowability, CI), 응집성 (cohesiveness, HR), 분산성 (dispersibility, %), 생존수 (viability)이었다.

입자크기는 44 μm에서 162.9 μm 범위로서 제품에 따라서 다양한 입자크기의 제품을 출시하고 있었다. 수분함량과 수분 활성도는 각각 1.9-2.9% (w/w, db), 0.31-0.46 범위로서 낮은 값을 유지하고 있었다. Duoloc gold, Duoloc baby, Hilac 제품의 접촉각은 2-20 °로서 매우 낮은 값을 나타내었는데, 수분 흡습력이 높은 것으로 확인되었는데, 분산성은 92% 이상으로써 쉽게 수화되는 것을 알 수 있었다. Duoloc gold와 familac 제품의 응집성은 1.4로서 쉽게 응집되는 경향이 있었으나, 그 외 제품의 응집성은 1.2-1.3 범위로서 응집이 잘 형성되지 않는 특성을 보였다. 프로바이오틱스 분말의 흐름성은 응집성이 낮은 Duoloc baby, Kolon, ProLB, FreeLacto, Hilac 제품이 높았다. 또한, 모든 프로바이오틱스 제품의 생존수는 8 log CFU/g 이상이였다.

Table 2-20. Characterization of commercial probiotics powders.

Parameters	Duoloc gold	Duoloc baby	Kolon	ProLB	FreeLacto	Hilac	Familac
Particle size (D _{4,3} μm)	62.7±0.8	164.2±8.6	129.2±3.8	44.2±2.4	44.0±0.9	128.9±5.1	162.9±3.7
Moisture content (% db)	1.9±0.025	2.6±0.4	2.9±0.1	2.0±0.0	2.8±0.0	3.7±0.0	2.7±0.0
Water activity (a _w)	0.42±0.02	0.39±0.02	0.46±0.01	0.39±0.02	0.31±0.01	0.33±0.04	0.35±0.02
Contact angle (°)	12.0±1.4	20.0±0.4	78.0±8.2	74.0±8.4	56.5±26.1	2.0±0.0	72.3±10.6
Flowability (CI)	26.4	16.7	21.4	18.2	21.8	25.8	27.5
Cohesiveness (HR)	1.4	1.2	1.3	1.2	1.3	1.3	1.4
Dispersibility (%)	92.3±1.5	92.7±2.8	72.9±1.9	86.2±4.1	86.9±1.5	86.1±4.5	74.8±1.4
Viability (log CFU/g)	9.0±1.1	9.2±2.3	7.9±1.5	8.4±1.0	9.5±1.6	8.6±0.9	9.5±1.2

(6) 유동층 건조를 이용한 입자특성 조절

① 유동층 건조를 이용한 입자특성 조절

유산균 분말의 입자특성을 조절하기 위하여 유동층 건조기를 이용하여 유동층 과립을 제조하였다. 유동층 과립제조에 사용한 결합제는 증류수, 진세노사이드 추출물(1%, 2%), 1% PVP (polyvinylpyrrolidone)을 이용하였으며, 프로바이오틱스 제품은 농업회사법인(주)우리두의 제품을 사용하였다(figure 2-30).

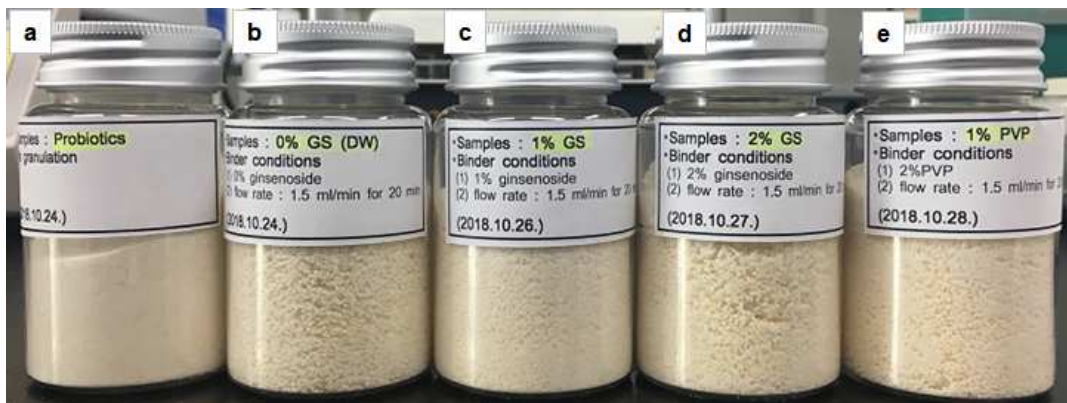


Figure 2-30. Granule particles prepared by fluidized bed dryer.

Binders were used 0%, 1%, 2% ginsenosides extract and 1% PVP for a, b, c, d, e.

유동층 과립으로 제조하지 않은 프로바이오틱스인 유산균 분말의 d(50.0%)와 부피-평균 입자크기는 각각 112.07 μm, 143.96 μm 이었는데, 유동층 건조 결합제로서 증류수, 진세노사이드 추출물(1%, 2%), 1% PVP를 사용하여 제조한 유동층 과립의 부피-평균 입자크기

는 222.44에서 233.04 μm 로 증가하였다. 또한, 진세노사이드 농도를 0%에서 2%로 증가시키는 경우의 부피-평균 입자크기는 242.71 μm 에서 246.46 μm 로 증가하였다(table 6). PVP는 제약산업에서 가장 일반적으로 사용되는 결합제로서 유도층 과립 입자크기 형성에는 진세노사이드와 비슷한 결과를 나타내었다. Span은 분말의 입자분포를 나타내는 수치로써 유산균 분말이 2.85인데 반하여 유도층 과립은 1.5-1.6 범위였다(figure 2-31). 증류수, 진세노사이드 추출물, PVP를 사용한 경우의 span 값은 1.5에서 1.6의 범위로서 균일한 크기의 과립이 형성되었다.

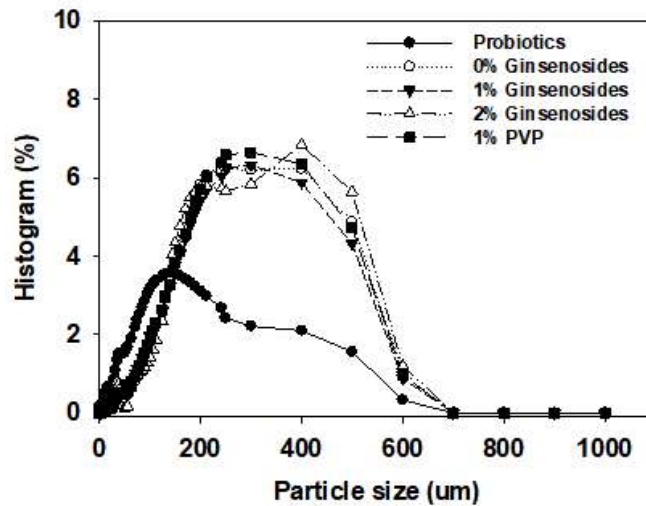


Figure 2-31. Particle size distribution of granule particles prepared by fluidized bed dryer.

Table 2-21. Particle size analysis of granule particles prepared by fluidized bed dryer.

Samples	d(10.0%)	d(50.0%)	d(90.0%)	D[4,3] (μm)	Span
Probiotics	15.84±0.52	112.07±2.01	334.70±8.31	143.96±1.75	2.85±0.05
0% Ginsenosides	75.51±1.88	229.19±0.38	429.85±0.95	242.71±0.66	1.55±0.01
1% Ginsenosides	62.88±1.49	222.44±5.22	419.11±3.00	233.81±3.25	1.60±0.03
2% Ginsenosides	69.23±12.17	233.04±6.51	438.58±7.27	246.46±4.29	1.59±0.09
1% PVP	79.33±2.96	231.18±4.45	425.69±2.98	242.78±3.51	1.50±0.03

Table 2-22에서는 농업회사법인(주)우리두의 프로바이오틱스 제품인 familac과 결합제(증류수, 진세노사이드, PVP)를 이용하여 제조한 유도층 과립의 입자특성을 분석한 결과를 나타내고 있다. 모든 유도층 과립의 수분함량과 수분 활성도는 2.7-3.3% (db), 0.32-0.37 범위이었다. 유산균 분말의 접촉각은 72.3 °로서 가장 높았으나 유도층 과립의 접촉각은 진세노사이드 함량을 증가시킴에 따라서 급격히 낮아졌다. 또한, 증류수와 PVP의 접촉각은 각각 58.8과 49.04 °로서 비슷한 값을 보였다. 유도층 과립으로 제조함으로써 흐름성은 월등히 향상되었으며, 응집성은 매우 낮아졌다. 유산균 분말의 분산성은 74.8%로서 쉽게 용해되지 않은 특성을 보였으나, 진세노사이드 함량을 0%에서 2%로 증가시킴에 따라서 81.1%에서

93.4%로 개선되는 것을 확인하였다.

Table 2-22. Particle size analysis of granule particles prepared by fluidized bed dryer.

Parameters	Probiotics*	0% Ginsenosides	1% Ginsenosides	2% Ginsenosides	1% PVP
Particle size (D4,3 μ m)	162.9 \pm 3.7	242.71 \pm 0.66	242.71 \pm 0.66	246.46 \pm 4.29	242.78 \pm 3.51
Moisture content (% db)	2.7 \pm 0.0	3.1 \pm 0.2	3.3 \pm 0.0	2.9 \pm 0.4	3.2 \pm 0.2
Water activity (aw)	0.35 \pm 0.02	0.38 \pm 0.02	0.37 \pm 0.02	0.36 \pm 0.03	0.32 \pm 0.02
Contact angle ($^{\circ}$)	72.3 \pm 10.6	58.8 \pm 2.4	24.1 \pm 3.7	19.7 \pm 5.1	49.04 \pm 6.4
Flowability (CI)	27.5	17.3	15.7	16.7	15.9
Cohesiveness (HR)	1.4	1.2	1.1	1.1	1.2
Dispersibility (%)	74.8 \pm 1.4	81.1 \pm 3.7	91.2 \pm 2.1	93.4 \pm 2.7	88.1 \pm 2.1
Viability (log CFU/g)	9.5 \pm 1.2	9.1 \pm 1.8	8.8 \pm 2.0	8.7 \pm 1.4	8.5 \pm 1.9

Probiotics* : familac (농업회사법인(주)우리두 제품)

② 미세구조 관찰 결과

Figure 2-31에서는 다양한 결합제를 제조한 과립의 미세구조를 보여주고 있다. Figure 2-31(a)에서는 유산균 분말 입자이며, 분산된 형태를 보인다. Figure xx(b, c, d, e)는 결합제로 증류수, 1%, 2% 진세노사이드, 1% PVP를 각각 사용하여 제조한 과립 입자이다. 모든 분말 입자는 과립을 형성하고 있으며, 진세노사이드와 PVP를 결합제로 사용한 경우에 다공성의 과립이 형성된 것을 알 수 있다.

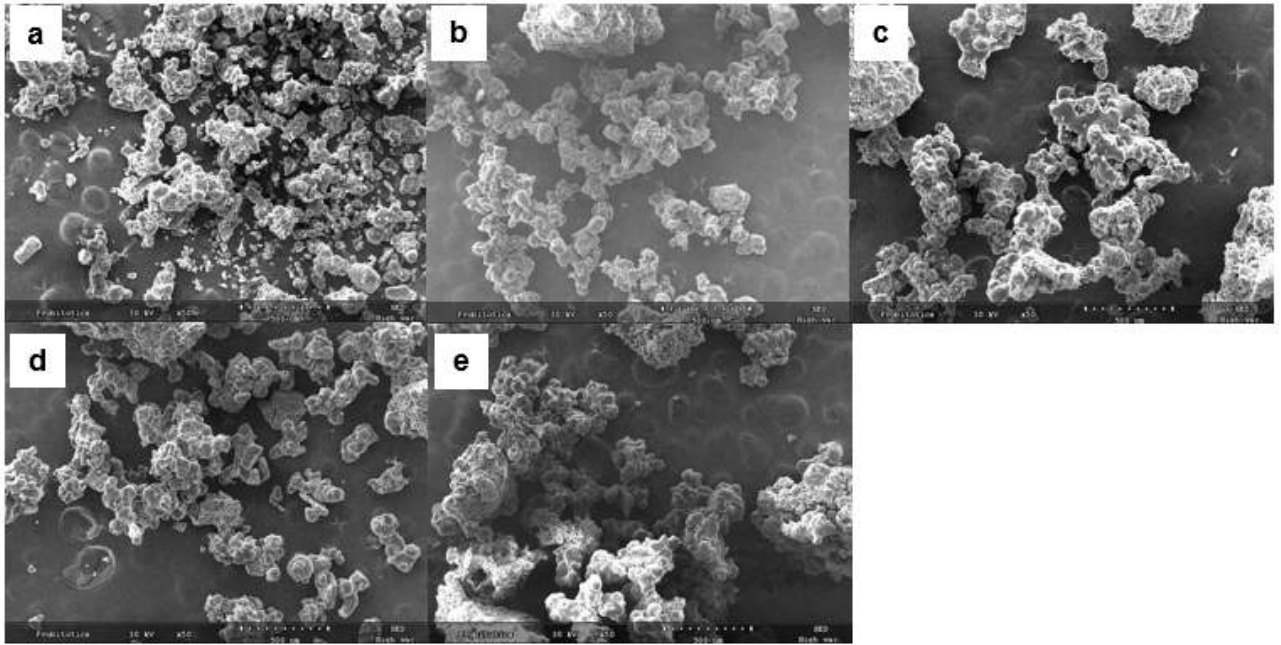


Figure 2-32. The microstructure of granule particle prepared by fluidized bed dryer. (Scale bar presents 50 μm). Binders were used 0%, 1%, 2% ginsenosides extract and 1% PVP for a, b, c, d, e.

③ 저장 안정성 평가

저장 조건과 결합제가 유산균 저장 안정성에 미치는 영향은 RH 0%, 25에서 60일 동안 저장하면서 확인하였다. 초기 유산균의 생균수는 9.1 log CFU/g이었으며, 결합제로 증류수, 진세노사이드 추출물(1%, 2%), 1% PVP를 사용한 경우에는 8.5-9.08 log CFU/g로 약간 감소하였다. 저장 기간에 결합제는 유산균 분말의 저장성에 영향을 미치는 않는 것을 확인하였다.

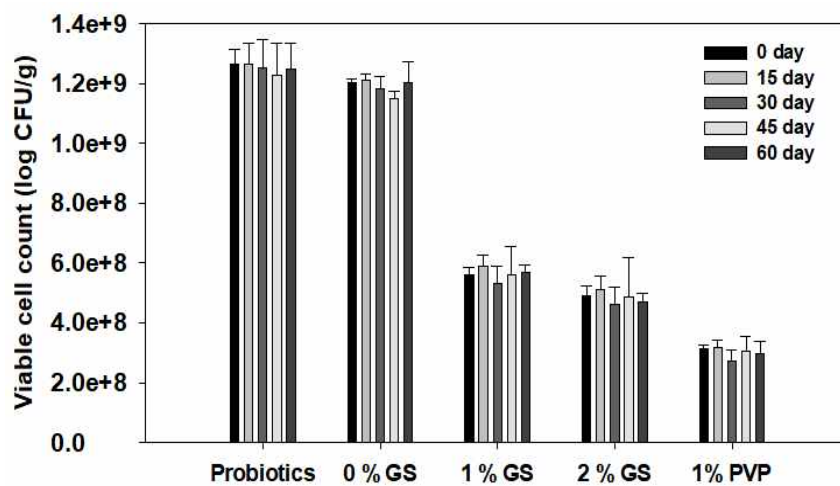


Figure 2-33. Storage stability of lactic acid bacteria granule particles prepared by fluidized bed dryer for 60 days.

(7) 유동층 건조를 이용한 입자특성 조절이 관능에 미치는 영향 평가

Figure 2-34에서는 관능평가 결과를 보여주고 있다. 관능평가에 사용한 샘플은 Table 2-20에서 선정된 3종의 샘플 (제품명 표기하지 않음)과 1% 진세노사이드를 결합제로 사용하여 유동층 건조를 이용하여 제조한 과립제품을 대상으로 하였다. 대조군은 농업회사법인 (주)우리두의 제품으로서 유동층 과립으로 제조하지 않은 샘플을 사용하였다. 관능평가는 7점 평점법을 이용하여 20명을 대상으로 진행하였으며, 평가 항목은 냄새 (smell), 풍미 (flavor), 점착성 (stickiness), 목 넘김성 (swallowness), 전반적인 품질특성 (overall eating quality)이었다. 농업회사법인(주)우리두 제품은 구강에서 점착성이 높고 목 넘김성이 떨어지는 품질특성을 보였으나, 과립으로 제조한 경우에는 품질이 개선되는 것으로 확인되었다. 또한, 유동층 과립으로 제조한 제품은 타 3사의 제품과 비교하여 품질특성이 비슷하거나 월등히 개선되었다.

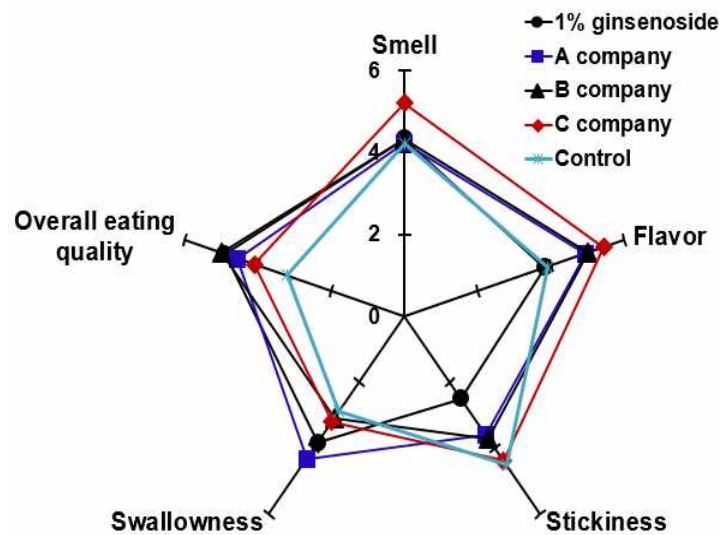


Figure 2-34. Sensory evaluation of prepared by fluidized bed drying granules and commercial products.

다. 연구개발 성과

(1) 지식재산권 : 총 1건

번호	종류	명칭	출원일	등록일	국명	출원번호	발생차수
1	특허출원	식물성 정유의 회수방법, 동 방법에 의한 정유 및 이를 포함하는 화장료조성물	2018.05.30	-	대한민국	10-2018-0061540	2차년도

-증빙자료-

출원번호통지서

출원일자 2018.05.30

특기사항 심사청구(유) 공개신청(무) 참조번호(1)

출원번호 10-2018-0061540 (접수번호 1-1-2018-0529854-06)

출원인명칭 농업회사법인 주식회사 우리두(1-2016-044334-6) 외 1명

대리인성명 [REDACTED]

발명자성명 [REDACTED]

발명의명칭 식물성 정유의 회수방법, 동 방법에 의한 정유 및 이를 포함하는 화장료조성물

【이 발명을 지원한 국가연구개발사업】

【과제고유번호】 117018-2

【부처명】 농림축산식품부

【연구관리 전문기관】 농림식품기술기획평가원

【연구사업명】 농식품 창업·벤처지원 R&D 바우처사업

【연구과제명】 프리바이오틱스를 이용한 발효 산양삼 함유 유산균 마이크로캡슐 제조 및 분무건조 공정 개선

(2) 논문 게재/발표 실적 : 총 2건

번호	구분 (논문게재/학회발표)	논문명	저자명	저널명	일시	구분(국내/국외)	SCI등재여부	발생차수
1	학회발표	Encapsulation of <i>Lactobacillus rhamnosus</i> GG by direct spray drying of fermented reconstituted skim milk	※※ Kim, ※※ Kim, ※※ Lim, ※※ Han, ※※ Chung	Korea Society of Food Science and Technology	2017.06.21 ~ 2017.06.23	국외	-	1차년도
2	학회발표	Flowability and wetting behavior of skim milk-based spray dried probiotics powder	※※ Lim, ※※ Kim, ※※ Yu, ※※ Han, ※※ Cung	한국산업식품공학회 추계 학술대회	2018.11.30	국내	-	2차년도

-증빙자료-



The role of food scientists & food industry for food security

June 21(Wed) ~ 23(Fri), 2017
ICC JEJU, Jeju, Korea

P14 -012

Encapsulation of *Lactobacillus rhamnosus* GG by direct spray drying of fermented reconstituted skim milk

¹Graduate School of International Agricultural Technology, Seoul National University, Korea, ²Institutes of Green Bio Science and Technology, Seoul National University, Korea, ³Brain Korea 21 Center for Bio-Resource Development, Division of Animal, Horticultural, and Food Sciences, Chungbuk National University, Korea

A common probiotic encapsulation process consists of three consecutive steps: fermentation, cell recovery, and spray drying. Reconstituted skim milk (RSM) is often used as a fermentation medium. The direct spray drying of fermented RSM without cell recovery step could be economic and eco-friendly; however, it has been rarely adopted due to the high stickiness which reduces the drying yield and the probiotic survivability. In this study, *Lactobacillus rhamnosus* GG (LGG) was fermented with RSM at 42°C and 100 rpm for 9 h, and skim milk powder (SMP) was added to the fermented RSM at a concentration of 20% (w/v), followed by direct spray drying. With the addition of SMP, the pH and consistency index (K) of fermented RSM increased from 3.9 to 5.2 and from 0.0189 to 0.0716 (Pa·s⁻¹), respectively. The encapsulated powder obtained after the addition of SMP showed much higher glass transition temperature. The drying yield and the LGG survival ratio also increased from 30.4 to 36.1% and from 0.3 to 13.6%, respectively. Simple addition of SMP significantly improved the spray drying efficiency and thus enabled the direct spray drying of fermented RSM as a promising LGG encapsulation method.

2018년 추계 학술대회 및 심포지엄

K-Food 세계화를 위한 기회와 기술적 과제

- HMR 기술 · 시장 동향 및 김치생산 자동화

▶ 일시 : 2018. 11. 30(금) 09:00~17:30
▶ 장소 : CJ Blossom Park Conference Hall
▶ 주최 : (사)한국산업식품공학회
▶ 공동주최 : 세계김치연구소
▶ 후원 : CJ CHEILJEDANG, 농촌진흥청, (사)한국농식품생명과학협회,
KGC인삼공사, 농업회사법인 하늘빛(주), 엠엘사이언스

P-64

Flowability and wetting behavior of skim milk-based spray dried probiotics powder

*Graduate School of International Agricultural Technology, Seoul National University
Institute of Food Industrialization, Institute of Green Bio Science and Technology, Seoul National University
Brain Korea 21 Center for Bio-Resource Development, Division of Animal, Horticultural, and Food Sciences,
Changbuk National University*

Skim milk is an economic protective carrier material for probiotics encapsulation. In this study, the characteristics (size, moisture content, and water activity), wetting behavior (wetting angle, capillary rise, and dispersibility) and flowability of *Lactobacillus (rumosus) GG (LGG)* encapsulated skim milk-based powder produced by two spray drying processes were investigated. The two spray drying processes are: (1) spray drying of reconstituted skim milk, dispersed with the LGG cells recovered from a fermented medium (rSSM) and (2) spray drying of LGG-fermented enriched (2% glucose and 1% yeast extract) reconstituted skim milk, in which skim milk powder was further added before spray drying (rSSM-SMP). The total acid content of the two cell suspensions were adjusted to 30% (w/w) for spray drying. The two spray dried probiotics powders had similar particle size ($\sim 4.75 \mu\text{m}$), but the powder of rSSM-SMP showed higher moisture content (8.27%) and water activity (0.30) than the powder of rSSM (5.87% and 0.24, respectively). The powder of rSSM-SMP exhibited higher wetting angle (87.0°) but lower capillary flow (water uptake = 2%) and dispersibility (47.8%) than the powder of rSSM (72.0° , 4.0%, and 62.1%, respectively). The powder of rSSM-SMP showed better flowability (Carr index = 42.86) but lower cohesiveness (Hausner ratio = 1.75) than the powder of rSSM (45.06 and 1.82, respectively). The results demonstrated that the addition of skim milk powder improved the flowability of spray dried probiotics powder but gave an adverse effect on the wetting behavior.

(3) 사업화 실적 (매출, 고용창출, 신제품 개발)

(단위 : 천원)

성과	1차년도		2차년도		합계		
	목표	실적	목표	실적	목표	실적	
매출	국내매출	10,000	13,254	20,000	27,016	30,000	40,270
	수출	-	12,889	-	-	-	12,889
	계	10,000	26,143	20,000	27,016	30,000	53,159
고용	연구직	-	-	-	-	-	-
	생산직	-	-	-	1	-	1
	계	-	-	-	1	-	1
신제품 개발	-	1	1	3	1	4	

-증빙자료 : 매출실적-

1차년도 수출 증빙자료 (6,649,999원)

USD 1,083.8
KRW 1

수출신고필증(적재전, 감지) ※ 처리기간 : 즉시

① 신고자 원스탈관세법인 원주 에이안	② 신고번호 43321-11-102523X	③ 세관.과 100-10	④ 신고일자 2017-11-28	⑤ 신고구분 H 일반PA-신고	⑥ C/S구분 S
⑦ 수출대상자 동업회사법인 주식회사 우리투 (통관고유번호) 우리투**1-16-1-01-6 수출자구분 A 수출 회사 동업회사법인 주식회사 우리투 (통관고유번호) 우리투**1-16-1-01-6 (주소) [redacted] (소재지) 25354	⑧ 거래구분 11 일반일대	⑨ 품목 A 일반수출	⑩ 결제방법 TT	⑪ 품명 WILD-SIMULATED GINSENG	⑫ 품명 GINSENG
⑬ 제 조 자 동업회사법인 주식회사 우리투 (통관고유번호) 우리투**1-16-1-01-6 제조장소 25354 산입단지번호 999	⑭ 운송형태 40 ETC	⑮ 운송장번호 25354	⑯ 표시회일 2017/11/28	⑰ 품명 WILD-SIMULATED GINSENG	⑱ 품명 GINSENG
⑰ 구 매 자 MAI VAN THANG (구매자번호) VM/M/VAN/0002A	⑲ L/C번호	⑳ 사관입사계정통보여부 N	㉑ 환급신청인 2 (1-수출대행자/수출허주, 2-제조사) 자동차이탈영역금 NO	㉒ 품명 WILD-SIMULATED GINSENG	㉓ 품명 GINSENG
⑳ 품명 OTHER FERMENTED OR ACIDIFIED MILK AND CREAM	㉔ 품명 FAMILAC	㉕ 품명 FAMILAC	㉖ 품명 FAMILAC	㉗ 품명 FAMILAC	㉘ 품명 FAMILAC
㉙ 품명 FAMILAC	㉚ 품명 FAMILAC	㉛ 품명 FAMILAC	㉜ 품명 FAMILAC	㉝ 품명 FAMILAC	㉞ 품명 FAMILAC
㉟ 품명 FAMILAC	㊱ 품명 FAMILAC	㊲ 품명 FAMILAC	㊳ 품명 FAMILAC	㊴ 품명 FAMILAC	㊵ 품명 FAMILAC
㊶ 품명 FAMILAC	㊷ 품명 FAMILAC	㊸ 품명 FAMILAC	㊹ 품명 FAMILAC	㊺ 품명 FAMILAC	㊻ 품명 FAMILAC
㊼ 품명 FAMILAC	㊽ 품명 FAMILAC	㊾ 품명 FAMILAC	㊿ 품명 FAMILAC	㊿ 품명 FAMILAC	㊿ 품명 FAMILAC

발행번호 : 2017622825171(2017.11.28) Page: 1/2

1차년도 수출 증빙자료 (6,239,264원)

USD 1,083.8
KRW 1

수출신고필증(적재전, 음지) ※ 처리기간 : 즉시

① 신고자 원스탈관세법인 원주 에이안	② 신고번호 43321-11-102523X	③ 세관.과 100-10	④ 신고일자 2017-11-28	⑤ 신고구분 H 일반PA-신고	⑥ C/S구분 S
⑦ 품명·규격 (관번호/총관수 : 002/002)	⑧ 품명 WILD-SIMULATED GINSENG	⑨ 품명 GINSENG	⑩ 품명 WILD-SIMULATED GINSENG	⑪ 품명 GINSENG	⑫ 품명 GINSENG
⑬ 품명 WILD-SIMULATED GINSENG	⑭ 품명 GINSENG	⑮ 품명 WILD-SIMULATED GINSENG	⑯ 품명 GINSENG	⑰ 품명 WILD-SIMULATED GINSENG	⑱ 품명 GINSENG
⑲ 품명 WILD-SIMULATED GINSENG	⑳ 품명 GINSENG	㉑ 품명 WILD-SIMULATED GINSENG	㉒ 품명 GINSENG	㉓ 품명 WILD-SIMULATED GINSENG	㉔ 품명 GINSENG
㉕ 품명 WILD-SIMULATED GINSENG	㉖ 품명 GINSENG	㉗ 품명 WILD-SIMULATED GINSENG	㉘ 품명 GINSENG	㉙ 품명 WILD-SIMULATED GINSENG	㉚ 품명 GINSENG
㉛ 품명 WILD-SIMULATED GINSENG	㉜ 품명 GINSENG	㉝ 품명 WILD-SIMULATED GINSENG	㉞ 품명 GINSENG	㉟ 품명 WILD-SIMULATED GINSENG	㊱ 품명 GINSENG
㊲ 품명 WILD-SIMULATED GINSENG	㊳ 품명 GINSENG	㊴ 품명 WILD-SIMULATED GINSENG	㊵ 품명 GINSENG	㊶ 품명 WILD-SIMULATED GINSENG	㊷ 품명 GINSENG
㊸ 품명 WILD-SIMULATED GINSENG	㊹ 품명 GINSENG	㊺ 품명 WILD-SIMULATED GINSENG	㊻ 품명 GINSENG	㊼ 품명 WILD-SIMULATED GINSENG	㊽ 품명 GINSENG
㊾ 품명 WILD-SIMULATED GINSENG	㊿ 품명 GINSENG	㊿ 품명 WILD-SIMULATED GINSENG	㊿ 품명 GINSENG	㊿ 품명 WILD-SIMULATED GINSENG	㊿ 품명 GINSENG

2차년도 매출 증빙자료 (27,016,450원)

2018년도 사업화 매출액 확인서

사업화매출발생기관	기관명 동업회사법인(주)우리투	사업자등록번호 657-87-00243					
사업화관련과제정보	세부사업명	과제번호	주관기관 동업회사법인(주)우리투				
사업화매출액 세부내역	월	제품명	단가(원)	수량(개/건)	제품 매출액(원)	과제 기여율(%)	R&D관련 매출액(원)
	09월	산양삼 초콜렛	12,100	1,210	14,641,000	60	8,784,600
	06월	패밀락	25,000	678	16,950,000	35	5,932,500
	05월	패밀락	25,000	232	5,800,000	35	2,030,000
	04월	패밀락	25,000	623	15,575,000	35	5,451,250
	03월	패밀락	25,000	74	1,850,000	35	647,500
	01월	패밀락	25,000	22	550,000	35	192,500
	06월	패밀락	15,000	360	5,400,000	35	1,890,000
	05월	산양삼두유	20,000	289	5,780,000	100	5,780,000
	12월	산양삼두유	22,000	500	11,000,000	100	11,000,000
	10월	산양삼원물	15,000	126	1,890,000	35	661,500
	09월	산양삼원물	15,000	82	1,230,000	35	430,500
	06월	산양삼원물	15,000	345	5,175,000	35	1,811,250
	03월	산양삼원물	15,000	124	1,860,000	35	651,000
	02월	산양삼원물	15,000	321	4,815,000	35	1,685,250
	11월	산양삼원물	15,000	250	3,750,000	35	1,312,500
	04월	산양삼원물	15,000	823	12,345,000	35	4,320,750

-증빙자료 : 고용창출 (총 1건)-

번호	성명	직종	입사일	발생차수
1	정**	마케팅	2018.05.08	2차년도



출력일시 : 2019.02.11 11:29

4대 사회보험 사업장 가입자 명부						
발급번호	20190211421560	발급일시	2019-02-11 11:29	사업장 관리번호	65787002430	
구분	국민연금	건강보험	산재보험	고용보험		
사업자등록번호						
사업장 명칭	(주) 우리두	(주) 우리두	주식회사 우리두	주식회사우리두		
■ 가입 내역(발급일자 현재기준)						1 / 2
연번	주민(외국인) 등록번호	성명	자격 취득일			
			국민연금	건강보험	산재보험	고용보험
1			2016.03.01	2016.03.01	2016.07.15	2016.07.15
2			2016.03.01	2016.03.01	미가입	미가입
3			2016.08.01	2016.08.01	미가입	미가입
4			2017.04.24	2017.04.24	2017.04.24	2017.04.24
5		정	2018.05.08	2018.05.08	2018.05.08	2018.05.08

-증빙자료 : 제품개발 (총 4 중)-

번호	제품명	내용	발생차수
1	패밀락 (성인용)	◦ 제품 품질개선	2차년도
2	패밀락 (유아용)	◦ 제품 품질개선	2차년도
3	패밀락 (수출용)	◦ 제품 품질개선	2차년도
4	산양삼 차	◦ 입자 가공기술을 이용한 가공제품	2차년도

<성인용 제품>



<유아용 제품>



<수출용 제품>



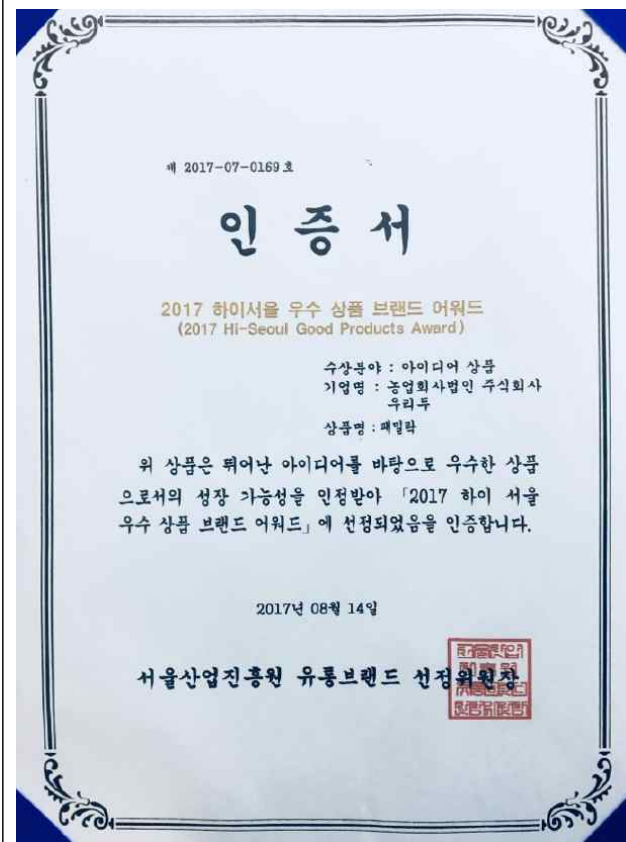
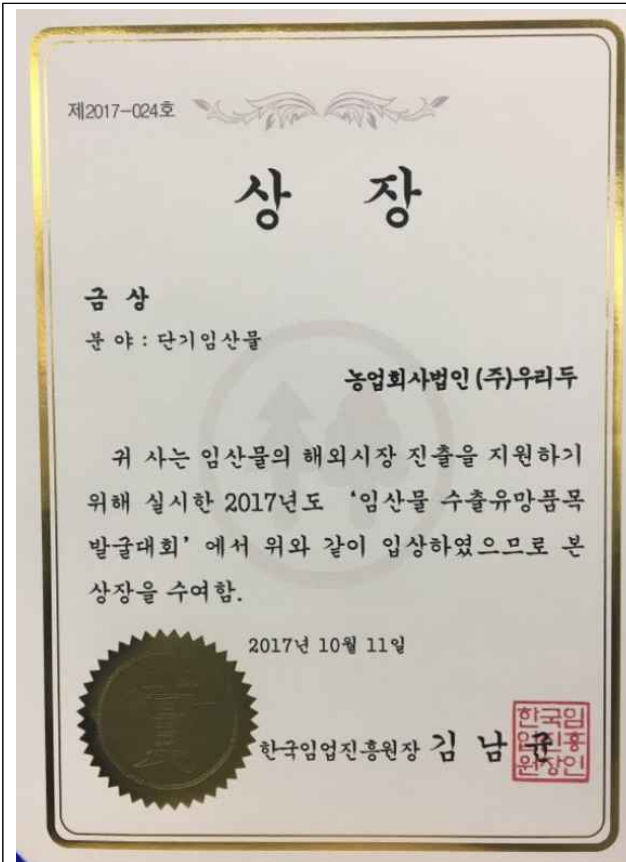
<입자 가공기술을 이용한 산양삼 차>



(4) 인증/포상 실적 등 (국내 및 국외) : 총 9건

번호	구분	명칭	일시	국명	수여기관명	발생차수
1	포상	금상	2017.04.20	대한민국	중소기업진흥공단 (2017년도 HIT500 제품 선정대회)	1차년도
2	포상	선정	2017.08.14	대한민국	서울산업진흥원 (2017년도 하이서울 우수 삼품 브랜 어워드)	1차년도
3	인증	농산물우수 관리인증	2017.09.04	대한민국	(주)유기농업기사 인증평가원장	1차년도
4	포상	선정	2017.10.11	대한민국	한국임업진흥원 (2017년도 임산물 수출 유망품목 발굴대회)	1차년도
5	인증	할랄식품 인증 (certificate No. : 2017-K00001-007)	2017.11.27	Indonesia	Asia Pacific Halal Council Co. Ltd.	1차년도
6	인증	FDA 인증	2017.10.08	USA	FDA	1차년도
7	포상	우수논문발표상	2018.04.27	대한민국	(사)한국산업식품공학회	2차년도
8	포상	우수논문발표상	2018.06.27 ~ 2018.06.29	대한민국	(사)한국식품과학회	2차년도
9	상표등록	패밀락 (홍콩)	2018.04.09	홍콩	China Hong Kong IP Limited	2차년도

-증빙자료-



FDA U.S. Food and Drug Administration
Food Facility Registration

Business Information

Registration Information

Facility Information

Product Categories

Facility Inspection History

Facility Status

HALAL CERTIFICATE
Certificate No.: 2017-KO0001-007

Date of Issue: 27th Nov 2017
Date of Expiry: 26th Nov 2018

This is to certify that;

1. Woorin Foods
2. Woorin Hwa Pak Ginseng

Manufactured by WOODROG CO., LTD. addressed at 94, Namwon-gil, Daejeon-myeon, Jeonang-gyeongju, Gyeongsang-do, 352091 Republic of Korea, manufactured at Woorin East Health Care Co., Ltd. 52-7, Gyeon-ro 87beom-gil, Oye-eup, Sangju-si, Gyeongsang-do, 37790 Republic of Korea fully meets the Asia Pacific Halal Council Co., Ltd. Halal Standards according to Islamic Sharia.

Authorized by
Specialist Syar'ah Board Committee

ASIA PACIFIC HALAL COUNCIL CO., LTD
Headquarter Office: Flat 8M & F Chung Meng Building 72 Chung Shu Wan Rd KL
Korea Office: 104-1, Gyeong Yechon Town, Gyeong 7-dong, Gyeongju, Korea

(사) 한국산업식품공학회
Korean Society for Food Engineering

우수 논문 발표 상

성명: [Redacted]
소속: 서울대학교 국제농업기술대학원¹, 서울대학교 그린바이오 과학기술연구원², 강릉원주대학교 해양식품공학과³

귀하는 2018년도 (사)한국산업식품공학회 총회 학술대회 및 심포지엄에서 '인삼 (*Panax ginseng*) 사포닌이 두유와 저장 안정성에 미치는 영향' 이라는 제목으로 우수한 연구결과를 발표하였기에 본 학회의 이름으로 상장을 드립니다.

2018년 4월 27일

(사)한국산업식품공학회 회장 류기형

제 2018-07 호

KOSFOST
상 장

석사/장리

성명: [Redacted]
소속: Seoul National University
제목: Effects of ginseng (*Panax ginseng*) saponin on storage stability of soymilk

위의 사람은 2018 한국식품과학회 국제학술대회 대학원생 우수논문 선발대회에서 훌륭한 논문을 발표하였으므로 이 상장을 수여합니다.

2018년 6월 28일

한국식품연구소장 협의회
회장 신영섭
회원 한국식품과학회
회장 황재관



商標註冊證明書
《商標條例》(第 559 章)
CERTIFICATE OF REGISTRATION OF TRADE MARK
Trade Marks Ordinance (Chapter 559)

茲證明下列商標之詳情於今日記入註冊紀錄冊。
I hereby certify that the Trade Mark with the following particulars has been entered in the register today:

商標編號: Trade Mark No.:	304367412
商標: Mark:	FAMILAC
商標種類: Mark Type:	Ordinary
商標描述: Mark Description:	N/A
一系列商標: Series Mark:	Ne
擁有人姓名/名稱 - 地址: Owner(s)' Name, Address:	WOORIDO CO., LTD. 101 313, 1447, PYEONGCHANG-DAERO, DAEHWA-MYEON, PYEONGCHANG-GUN, GANGWON-DO, KOREA, REPUBLIC OF
擁有人之送達地址: Owner(s)' Address for Service:	CHINAHONGKONG IP LIMITED 201 L, 30/F, Office Tower, Convention Plaza, 1 Harbour Road, HONG KONG
類別及貨品/服務說明: Class(es) & Specification(s):	Class 5 Lactic fermenting agents for pharmaceutical purposes; Dietetic foods adapted for medical purposes; Dietetic beverages adapted for medical purposes; Dietetic substances adapted for medical use; Mineral food supplements; Nutritional supplements; Medicinal drinks; Enzyme dietary supplements; food substances in the form of powder, liquids, capsules and tablets, all for medical purposes; food supplements in the form of powder, liquids, capsules and tablets, all

(5) 인력양성 실적 : 총 1건

번호	성명	학위구분	소속	학위취득년월 (예정)	발생차수
1	김***	석사	서울대학교	2019.02.26	2차년도

-증빙자료-

[원본대조번호 : 104F-9A13-3274-5940]

제 0023310 호


석사학위수여예정 증명서

성 명 : 김 [REDACTED]
생 년 월 일 : [REDACTED]

대 학 (원) : 국제농업기술대학원(석사과정)
학 과 (부) : 국제농업기술학과
전 공 : 국제농업기술학전공
입 학 년 월 일 : 2016. 9. 1.
수여예정년월일 : 2019. 2. 26.
학 위 종 별 : 농학석사

위의 사실을 증명합니다.

2019 년 1 월 22 일

서울대학교 교무처 

* 본 증명서는 서울대학교에서 발급되었으며 "<http://www.snu.ac.kr/certificate/request>" 에 접속하여 상단의 증명서 "원본대조번호"를 입력하면 증명서 원본대조 및 유효성을 검증할 수 있습니다.

(7) 국내외 홍보 실적 : 총 19건

구분	1차년도		2차년도		합계	
	국내	국외	국내	국외	국내	국외
전시회 참가	3	2	-	5	3	7
언론홍보	5	-	-	1	5	1
홍보자료 제작	-	-	2	1	2	1
합계	8	2	2	7	10	9

-국내외 전시회/박람회 참가 실적 목록-

번호	구분 (국내/국외)	명칭	전시품목	일시	장소	발생차수
1	국내	메가쇼 2017	산양삼, 산양삼 가공제품 등	2017.06.15 ~ 2017.06.19	일산 KINTEX	1차년도
2	국내	메가쇼 2017	산양삼, 산양삼 가공제품 등	2017.06.15 ~ 2017.06.19	일산 KINTEX	1차년도
3	국내	우먼스페어 2017	산양삼, 산양삼 함유 유산균 분말 외 다수	2017.10.20 ~ 2017.10.22	학여울역 세텍 (SETEC)	1차년도
4	국외	2017 홍콩 푸드 엑스포	산양삼 및 산양삼 가공제품	2017.08.16 ~ 2017.08.20	Hong Kong Convention and Exhibition Centre	1차년도
5	국외	산림청 주관 對 베트남(호치민) 산양삼 수출상담회 및 홍보행사	산양삼 분말함유 유산균 분말 외 다수	2017.09.07 ~ 2017.09.10	베트남	1차년도
6	국외	FOODEX JAPAN 2018	산양삼, 산양삼 가공제품 등	2018.03.0~ 2018.03.09	일본	2차년도
7	국외	2018 베이징유아용품 박람회	산양삼, 산양삼 가공제품 등	2018.04.1~ 2018.04.16	중국	2차년도
8	국외	싱가포르 국제식품 박람회 (Food & Hotel Asia 2018)	산양삼, 산양삼 가공제품 등	2018.04.2~ 2018.04.27	싱가포르	2차년도
9	국외	대만 국제 식품 박람회 (Food Taipei 2018)	산양삼, 산양삼 가공제품 등	2018.06.2~ 2018.06.30	대만	2차년도
10	국외	2018 모스크바 국제식품박람회	산양삼, 산양삼 가공제품 등	2018.09.1~ 2018.09.20	모스크바	2차년도

-증빙자료-

○ 메가쇼 2017 (국내)

- 일시 : 2017.06.15.~06.18. / 2017.11.16.~11.19. (2회 참가)
- 장소 : 일산 KINTEX
- 품목 : 산양삼, 산양삼 두유, 산양삼 가공제품 외 다수

<메가쇼 전경>

<산양삼 가공제품>



메가루드스 농업회사법인우리두	
종업원수	5명미만
업력	1년이상 5년미만
주력판매채널	오프라인
사업형태	제조
전년도 매출액	5억미만
희망상당채널	대형마트, 홈쇼핑, 백화점, 오프라인매장
유통현황	스토어당 취급 판매
상당요청내용	1. 최적진생 산양삼-마포/홍소형/백화점/당숙매입업체를 희망함. 동남아 및 북극 바이어 지원 2. 패밀리-프리 바이어 지원 / 홈쇼핑도트로그 스토어 또는 각국채널 입점 희망



○ 우먼스페어 2017 (국내)

- 일시 : 2017.10.20.~10.22.
- 장소 : 학여울역 세텍 (SETEC)
- 품목 : 산양삼, 산양삼 두유, 산양삼 가공제품 외 다수

○ 2017 홍콩 푸드 엑스포 (국외)

- 일시 : 2017.08.16.~08.20.
- 장소 : Hong Kong Convention and Exhibiton Centre (홍콩)
(<http://www.hktdc.com/fair/hkfoodexpo-en/>)
- 품목 : 산양삼, 산양삼 두유, 산양삼 가공제품 외 다수

<제품홍보>



<산양삼 가공제품>



○ 산림청 주관 對 베트남(호치민) 산양삼 수출상담회 및 홍보행사 (국외)

- 일시 : 2017.09.07.~09.10.
- 장소 : 호치민 (베트남)
- 품목 : 산양삼, 산양삼 두유, 산양삼 가공제품 외 다수

<제품홍보>



<산양삼 가공제품>



○ FOOD EX JAPAN 2018 (국외)

- 일시 : 2018.03.06. ~ 2018.03.09.
- 장소 : 동경 (일본)
- 품목 : 산양삼, 산양삼 두유, 산양삼 가공제품 외 다수

<수출상담>



<제품홍보>



○ 2018 베이징 유아용품 박람회

(MICF; Mother Infant Child products fair) 2018) (국외)

- 일시 : 2018.04.14. ~ 2018.04.16.
- 장소 : 베이징 (중국)
- 품목 : 산양삼, 산양삼 두유, 산양삼 가공제품 외 다수

<수출상담>



<제품홍보>



○ 2018 싱가포르 국제식품박람회 (Food & Hotel Asia 2018) (국외)

- 일시 : 2018.04.24. ~ 2018.04.27.
- 장소 : 싱가포르
- 품목 : 산양삼, 산양삼 두유, 산양삼 가공제품 외 다수

<수출상담>



<제품홍보>



○ 2018 대만 국제 식품 박람회 (Food Taipei 2018) (국외)

- 일시 : 2018.06.27. ~ 2018.06.30.
- 장소 : 대만
- 품목 : 산양삼, 산양삼 두유, 산양삼 가공제품 외 다수

<수출상담>



<제품홍보>



○ 2018 모스크바 국제 식품박람회 (World Food Moscow 2018) (국외)

- 일시 : 2018.09.17. ~ 2018.09.20.
- 장소 : 모스크바
- 품목 : 산양삼, 산양삼 함유, 산양삼 가공제품 외 다수

<수출상담>



<제품홍보>



-국내외 언론홍보 실적 목록-

번호	구분 (국내/국외)	일자	언론사	내용	발생차수
1	국내	2017.06.20	이코노믹리뷰	산양삼 홍보 및 지리적 표지제 관련 인터뷰	1차년도
2	국내	2017.06.26	원주신문	산양삼 및 삼양삼 함유 가공제품 홍보	1차년도
3	국내	2017.07.06	위클리공감	산양삼 및 삼양삼 함유 가공제품 홍보	1차년도
4	국내	2017.08.21	강원일보	산양삼 및 가공제품 홍보	1차년도
5	국내	2017.09.11	뉴시스	산림청 주관 對 베트남(호치민) 산양삼 수출상담회 및 홍보행사	1차년도
6	국외	2018.1.26	晴報 Travel (Hong Kong)	산양삼 함유 유산균 제품 (제품명 : 패밀락) 홍보	2차년도

-증빙자료

○ 2017.06.20. (이코노믹리뷰)

- 내용 : 산양삼 홍보 및 지리적 표지제 관련 인터뷰

<인터뷰 내용>

Economic Review

홈 > NEWS > 애그리테크 > Agribusiness

평창산양삼, '지리적 표시제' 인증 해외 수출길 연다

프랑스 와인 보호 위해 도입된 지리적 표시제 한국 농존에도 유용

전영준 농업ICT 전문위원 겸 에디터/공학박사 taisama@econovill.co.kr

기사승인 2017.06.20 09:41:44



▲ 평창산양삼특구조합원들(제공 : 평창산양삼특구조합)

<http://m.econovill.com/news/articleView.html?idxno=317356>

○ 원주신문

- 일시 : 2017.06.26.
- 내용 : 산양삼 및 산양삼 함유 유산균 분말제품 홍보

<인터뷰 내용>

원주신문 정직한 목격자 iwjnews.com

귀산촌... '인생2막' 꿈이 영근다

김은영기자 승인 2017.06.26 06:52 댓글 0

산림청, '산촌에 살어리랏다' 발간
귀산촌 12가지 사례 소개
산촌생활 등 생생한 정보 담겨

■ 서울대학교 평창캠퍼스 산학협력기업인 주식회사 우리두 조재영대표(42)

서울대학교 평창캠퍼스에 연구원으로 일하던 그는 평창 지역의 특산물인 산양삼에 주목했다. 그는 평창산양삼영농조합에 가입하여 재배에서부터 상품화까지 일관된 공정을 목표로 회사 창업(주우리두)했다. 서울대 평창캠퍼스 연구원 창업 1호였다. 그는 6만평의 임야를 임대해 산양삼을 재배하고 있고 산양삼을 가공한 상품도 출시했다. 바로 유산균제품인 '패밀락'과 동결건조 산양삼 제품인 '화락진생'. 그는 산양삼 재배지를 도시민과 학생들을 위한 체험 교육장으로 만들어갈 꿈에 부풀어 있다. 조 대표는 "미래의 임업은 생산, 가공, 유통, 체험과 교육을 통한 관광산업이 하나로 엮여 융합하는 것"이라며 "이를 잘 조직해야 살아남을 수 있고, 여기엔 풍부한 지식을 가진 젊은 사람들이 농림업에 관심을 가져야 한다"고 말했다.

<http://www.iwjnews.com/news/articleView.html?idxno=16478>

○ 2017.07.06. (위클리공감)

- 내용 : 산양삼 및 산양삼 함유 유산균 분말제품 홍보

<평창 산양삼 지리적 표시 서식>

	등록명칭: 평창산양삼 [PyeongChang Wul-eunjaeul Guseong] 상품명: 지리적표시등록 계00호 생산자: 평창산양삼특구영농조합법인 주 소: 강원도 평창군 동평면 동평저곡길 9 전화번호: 033) 888-3889 팩스: 033) 888-0122
	이 상품은 「농수산물 품질관리법」에 따라 지리적표시가 보호되는 제품입니다.

<인터뷰 내용>

산림청·임업진흥원 다양한 정착지원 프로그램 운영, 창업자금도 지원

2017.07.03



· 귀산촌 원 거주지: 광주광역시
· 귀산촌 전 직업: 대학교 연구원
· 귀산촌 연도: 2015년
· 귀산촌 귀산촌 동기: 임산물 부가가치를 높이는 사업에 관심
· 귀산촌 이유: 한국임업진흥원 산양삼 재배 과정 이수, 2016 산촌 미리 알아보기 캠프
· 귀산촌상임 귀정 이수
· 귀산촌 선택 후 직업: (주)우리두 대표

조재영 (우리두 대표)

“젊은이들이 임업에 깊은 관심 가졌으면 해요”

생물화공학을 전공하고 석사과정까지 마친 조재영(42) 씨. 광주광역시의 한 기업에서 10여 년간 근무하다 2015년 강원도 평창에 위치한 서울대학교 평창캠퍼스(현장밀착형 교육연구 시설) 연구원으로 이직했다. 그의 업무는 기능성 식품 소재 개발과 천연식물들이 우리 몸에 어떤 작용을 하는지를 규명하는 일이었다. 평소 창업을 꿈꿔왔던 그는 지역 특산물인 산양삼(산에서 자연 상태로 재배한 인삼)에 주목했다. 인삼 연구를 통해 산양삼의 효능을 익히려고 있던 터라 이를 상품화하면 높은 부가가치를 창출해낼 수 있겠다는 판단이 섰다.

http://gonggam.korea.kr/newsView.do?newsId=01IubSsp4DGJM000§Id=g_g_sec_31&pageIndex=1

○ 2017.08.21. (강원일보)

- 내용 : 국외 제품홍보 및 마케팅

<인터뷰 내용>

뉴스 >> 사회

[평창] 평창산양삼 우수성 전세계가 반했다 2017-08-21

충청 푸드엑스포서 홍보

제품 '완판'·호평 이어져

세계시장 진출 청신호

평창산양삼이 대한민국을 넘어 세계로의 진출에 박차를 가하고 있다.

농업회사법인 (주)우리두(대표:조재영)와 평창산양삼특구영농조합(대표:장석훈)은 지난 16일부터 20일까지 세계

최대 규모를 자랑하는 '2017 충청 푸드엑스포'에 참가해 큰 호응을 얻었다.

(주)우리두와 평창산양삼특구영농조합은 이번 충청 푸드엑스포를 통해 지리적표시 제55호에 등록된 평창산양삼의 우수성을 알렸다.

특히 산양삼을 원료로 유산균을 함유한 '패밀락'과 특허 기술로 제조한 원형유지 건조산양삼, 발효제품 등을 전시해 전 세계 바이어에게 큰 호평을 받았다.

이미 '패밀락'은 국내 크고 작은 박람회·전시회를 통해 이름을 알리고 있으며, 지난 메가쇼에서는 준비한 모든 물량이 완판될 정도로 인기가 높았다. (주)우리두 등은 9월 초 베트남을 시작으로 중국, 미국, 호주 등 글로벌 시장으로 진출할 예정이다.

또 중소기업진흥공단의 지원을 받아 가공제품의 추가 개발에도 박차를 가하며, 산업통상자원부와 농림부의 지원을 받아 서울대 그린바이오과학기술연구원과 6억원 상당의 산양삼 가공품 R&D 사업도 진행 중이다.

조재영 (주)우리두 대표는 "원조 고려인삼의 고귀한 가치를 세계인에게 홍보하고 글로벌 시장에서 인정받는 최고의 산양삼 재배 및 가공품 생산에 더욱 노력하겠다"고 말했다.

평창=김영석기자

<http://m.kwnews.co.kr/nview.asp?s=501&aid=217082000008>

○ 2017.09.11. (뉴스시스)

- 내용 : 국내 산양삼의 영양학적 우수성 및 산양삼, 산양삼 가공제품 홍보

<인터뷰 내용>

산림청, 베트남 호치민서 청정임산물 '수출상담회·홍보행사' 열어

김양수 기자 | kys0505@newsis.com

등록 2017-09-11 11:02:06

등록 2017-09-11 11:02:06



【대전=뉴스시스】김양수 기자 = 지난 9일부터 10일까지 베트남 호치민시의 한 대형마트 앞에서 열린 한국산 감 및 산양삼 홍보행사에 현지민들이 몰려 북새통을 이루고 있다. 2017.09.11(사진=산림청 제공) photo@newsis.com

【대전=뉴스시스】김양수 기자 = 산림청은 청정 임산물의 해외시장 개척을 위해 '대 베트남 감·산양삼 수출상담회 및 홍보행사'를 지난 8일부터 10일까지 베트남 호치민시에서 개최했다고 11일 밝혔다.

http://www.newsis.com/view/?id=NISX20170911_0000091812#

○ 2018.01.26 (晴報 Travel, Hong Kong)

· 내용 : 국내 산양삼 및 산양삼 함유 유산균 제품 홍보

<신문기사 내용>



-홍보자료 제작 실적 목록-

번호	국내/국외	일자	내용	발생차수
1	국문	2018.12	성인을 대상으로 하는 제품 홍보자료	2차년도
2	국문	2018.12	아동을 대상으로 하는 제품 홍보자료	2차년도
3	중문/영문	2018.12	국외 성인을 대상으로 하는 제품 홍보자료	2차년도

-증빙자료-

<국내 홍보자료>

woorido
 사랑하는 가족을 위해
 귀한 산양삼을 넣은 유산균!

산양삼 유산균 패밀리락은 8종 혼합유산균과
 100%국내산 산양삼을 함유하여 만든 제품으로
 장건강은 물론이고 산양삼을 보다 빠르게 흡수 할 수
 있도록 100억마리의 유산균이 투입된
 국내 최초 산양삼 유산균 제품입니다.

FAMILAC KIDS
 산양삼 패밀리락

SAMSUNG 삼성화재
probiocap

woorido
 우리 아이를 위해
 귀한 산양삼을 넣은 유산균!

산양삼 유산균 패밀리락 키즈는 8종 혼합유산균과
 100%국내산 산양삼을 함유하여 만든 제품으로
 장건강은 물론이고 산양삼을 보다 빠르게 흡수 할 수
 있도록 100억마리의 유산균이 투입된
 국내 최초 산양삼 유산균입니다.

FAMILAC KIDS
 산양삼 패밀리락 키즈

SAMSUNG 삼성화재
probiocap

<국외 홍보자료>

FAMILAC KIDS uses 100% wild simulated ginseng in order to raise our children's immunity, an important foundation to children's lifelong health.

The wild simulated ginseng used in FAMILAC KIDS is quality-assured by the Korean government and the county of PyeongChang, going through a strict cultivation and selection process. The wild simulated ginseng is then processed using Woorido's patented technology to create a product for our children.

孩子的免疫力是他们健康一生的基础。为了增强孩子的免疫力，FAMILAC KIDS使用的是100%源自大自然的野山参。野山参产自具有独特环境和丰富自然资源的韩国。精心栽培后，采用“Woorido”的专利技术加工而成，是专为儿童制造的产品。

From the old days, Pyeongchang in Gangwon-do Province was known as a place where a lot of wild simulated ginseng could be found. As a result, people would frequently go there to dig for wild simulated ginseng. Hence, the county erected a stone sign forbidding people from entering the area to protect the main source of ginseng. The stone sign attracts attention as it is the only one of its kind that has been found so far. The stone sign is made from a long slab natural rock with only its front and back smoothed out. On the front are the words, "Gangneungbusan(sanbonggso)" written in large Chinese characters and on the left is the word "jmyeongmalhang" and the on the right is the word "jonesongje" in small letters. According to the "Jyeonye-jeon-gyeumje" records, the stone sign was erected during the third year of King Yeongjo of Joseon as written in the "Shinbosogyobok". (Source: Korea Cultural Heritage Administration)

自古以来，江原道平昌一带就是盛产山参的地方。所以在此地参农人手牌不脱，曾经为了防止山参的产地被破坏，在此地设置禁止人们出入。因此参农在产地的入口处树立了一块石碑，石碑上刻有“江陵平昌”、“江陵平昌”的字样。正原道海老岩大岩的“江陵平昌”的字样，左分刻有“江陵平昌”、“江陵平昌”的字样。从《补授教读集》中“江陵平昌”的记录来看，这块石碑是在朝鲜宣祖三年（1523年）建立的。

KWSG

Made by Woorido!

Woorido Co., Ltd. is a venture company that specializes in the cultivation of ginseng as well as the development and manufacture of effective food products based on fermentation technology. We believe that creating food products for the benefit of people from natural ginseng is the highest duty a company can do for mankind. Woorido is located in the pristine area of PyeongChang in Gangwon-do Province, where the Winter Olympics were held. The company possesses an 18ha sized wild simulated ginseng farm. Currently, it undertakes research and development of food products for anti-aging cosmetic ingredients among other various fields. Woorido Co., Ltd.

Woorido 制造!

Woorido 是创业公司，专门从事人参的栽培、发酵食品的研发和生产。我们相信，为人类创造有益于健康的食品是企业的责任。Woorido 位于韩国江原道平昌，那里是冬奥会的举办地。公司拥有 18 公顷的野山参农场。目前，公司正在开展抗衰老化妆品原料等各个领域食品产品的研发。

Probiotics Product FAMILAC KIDS

1 package a day!
 每天 1 袋

Cocoa flavor / 可可味

FAMILAC KIDS

woorido

Woorido Co., Ltd.
 1447, Pyeongchang-guero, Daehwa-myeon, Pyeongchang-gun, Gangwon-do, Korea
 Phone: 82-33-332-3303 / Fax: 82-2-6455-3893
 Email: wooridocom@gmail.com
 www.woorido.com

3. 목표 달성도 및 관련 분야 기여도

3-1. 목표

본 연구에서는 가공식품에 제한적으로 사용되는 산양삼의 활용도를 높이기 위하여 진행하였다. 유산균 분말제품은 가공과정 중에 건조 수율이 낮은 문제점과 저장 중에 품질이 낮아지는 등의 다양한 문제점이 발생하는 문제점을 해결하고, 산양삼을 유산균 분말제품에 효과적으로 적용할 수 있는 기술을 개발하기 위하여 발효 콜로이드 산양삼 제조공정과 분말 가공기술개발을 통한 산양삼 함유 유산균 분말제품의 품질개선 및 신제품을 개발하고자 한다.

3-2. 목표 달성여부

가. 연구개발 추진실적 및 평가방법

평가항목	단위	비중 (%)	개발목표치	달성	평가방법
1. 시제품 개발	건	20	<ul style="list-style-type: none"> 발효 콜로이드 산양삼 함유 유산균 제품개발 : 1건 열량, 탄수화물, 당류, 단백질, 지방(포화지방, 트랜스지방), 콜레스테롤, 나트륨 	<ul style="list-style-type: none"> 발효 콜로이드 산양삼 함유 유산균 제품개발 : 3건 입자 가공기술을 이용한 산양삼 함유 다(茶)류 개발 : 1건 영양성분 분석 : 각 6건 열량 : 469.96 Kcal/100g 탄수화물 : 74.69% 조단백질 : 1.58% 조지방 : 18.32% 나트륨 : 132.78 mg/100g 당류(과당, 포도당, 자당, 맥아당, 유당) : 316.08 mg/g 	<ul style="list-style-type: none"> 시제품 (특허출원) 품목 제조허가서 확보 영양성분 시험결과서 확보
2. 발효 산양삼 원료 품질 분석	mg/g	10	<ul style="list-style-type: none"> 발효 산양삼 분말/추출 농축액 원료 표준화 유산균주 및 발효조건 확보 지표물질 : 조사포닌 총 조사포닌 : 8mg/g 이상 	<ul style="list-style-type: none"> 발효 산양삼 분말/추출농축액 확보 : 각 1건 유산균 확보 : 4 종 <i>L.platarum</i> <i>L.paracasei</i> <i>L.platarum</i> <i>L.fermentum</i> 발효조건 확보 : 1건 지표물질 : 총 조사포닌 (총 조사포닌 : 8mg/g 이상) 	<ul style="list-style-type: none"> 제조기록서 확보 공인기관 시험평가
3. 프리바이오틱스 혼합 유산균 발효 조성물의 유변학적 특성분석	건	20	<ul style="list-style-type: none"> 점성 : 70 cP 이하 제타전위 : -10 mV 이하 입자크기 : 500 um 이하 산도 : pH 6 이하 	<ul style="list-style-type: none"> 유산균 발효물 특성 평가 : 총 4 건 점성 : 20-30 cP 제타전위 : -20 mV 입자크기: 0.2-7 um pH : 3.9 	<ul style="list-style-type: none"> 공인기관 시험평가
4. 발효 콜로이드 산양삼 함유 유산균 분말제품 특성분석	건	10	<ul style="list-style-type: none"> 습윤성, 분산성, 점성, 점착성 (입마름 현상) 등 각 1건 관능평가 : 대조군 대비 90% 이상 	<ul style="list-style-type: none"> 분말제품 특성분석 : 4 건 관능평가 : 1건 대조군 대비 90% 이상 	<ul style="list-style-type: none"> 외부기관 의뢰 평가 자체평가

5.제품 규격설정	건	20	<ul style="list-style-type: none"> ◦유산균 함량 : 10^7 cfu/g 이상 ◦다당류 함량 : 3% 이상 ◦발효 산양삼 분말 : 0.01% 이상 	<ul style="list-style-type: none"> ◦유산균 함량 : 10^8 cfu/g 이상 ◦발효 산양삼 분말 : 0.01% 이상 	◦공인기관 시험평가
6.저장 안정성 평가	건	20	<ul style="list-style-type: none"> ◦입도크기 측정, 수분함량, 수분활성도 측정 : 각 1건 ◦유산균 생존률 분석 : 대조군 대비 70% 이상 ◦수분함량, 수분활성도, caking 변화 : 각 1건 	<ul style="list-style-type: none"> ◦온도와 수분함량 조절에 저장 중 품질특성 변화(caking, 유리전이온도, 수분함량, 수분활성도, 흡습성, 접촉각) -온도/습도 조절에 따른 유리전이와 sticky zone graph 확보 : 각 1건 ◦유산균 과립(물, 발효 산양삼, PVP) -유산균 함량 : 10^8 cfu/g 이상 ◦입도크기 : 242-246 um ◦수분함량 : 2.7% ◦수분활성도 : 0.35 	◦시험결과서 확보

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

※ 해당사항 없음.

4. 연구결과의 활용 계획 등

- 본 연구에서 확보한 콜로이드 및 분말 가공기술은 품질개선 및 신 제품개발 연구에 적용할 수 있는데, 특히 전국에서 과잉공급되고 있는 우유, 감자 등의 농축산물을 고차가공제품으로 개발할 수 있는 플랫폼 기술로 활용할 수 있다.
- 고차가공기술을 이용한 산양삼 가공제품은 지역 연계사업으로 확장할 수 있는 특징이 있는데, 친환경 재배로 생산한 산양삼은 “평창 산양삼 특구”의 대표 가공 산양삼 제품으로 개발할 수 있는 성장 동력이 될 수 있다. 또한, 산양삼 재배농가에게는 안정적인 소득 공급원으로 자리매김할 수 있으므로 지역특화 산업의 성공적 모델로 구축함으로써 자연에서 재배하는 임산물의 한계성인 저장, 유통의 문제를 해결함으로써 연간 안정적인 소득원이 될 수 있는 기틀로 활용하고자 한다.
- 사업종료 후 1년차에는 제품의 친환경, 건강기능성, 웰빙식품을 주요 키워드로 하여 적극적으로 제품홍보를 진행할 예정이며, 연구과제에서 확보한 과학적 실험결과를 이용하여 국내외 인증획득 및 박람회 참가하여 매출 증대에 활용하고자 한다.

붙임. 참고문헌

1. 연합뉴스. 2017.10.16. (<https://www.yna.co.kr/view/AKR20171014039400030>)
2. 강원도민일보. 2014.09.29. (<http://www.kado.net/news/articleView.html?idxno=699941>)
3. 유산균 제제 제조기술, 한국과학기술정보원. 2004.
4. Transparency Market Research, 2011.
5. 중국 프로바이오틱스 시장조사, 한국농수산물유통공사, 2015.

주 의

1. 이 보고서는 농림축산식품부에서 시행한 농식품 창업·벤처지원 R&D 바우처사업의 연구 보고서입니다.
2. 이 보고서 내용을 발표하는 때에는 반드시 농림축산식품부에서 시행한 농식품 창업·벤처 지원 R&D 바우처사업의 연구 결과임을 밝혀야 합니다.
3. 국가과학기술 기밀유지에 필요한 내용은 대외적으로 발표 또는 공개하여서는 아니됩니다.