

무순 유래 체지방 감소 유효성분 설폰라핀 함량 증진을 위한 스마트팜 대량생산 재배법 확립 및 제품개발

2024.07.09.

주관연구기관 / 주식회사 밥스누
공동연구기관 / 농업회사법인 플랜티팜(주)
공동연구기관 / 서울대학교 산학협력단

농림축산식품부
(전문기관)농림식품기술기획평가원

제 출 문

농림축산식품부 장관 귀하

본 보고서를 “무순 유래 체지방 감소 유효성분 설포라핀 함량 증진을 위한 스마트 팜 대량생산 재배법 확립 및 제품개발”(개발기간 : 2021. 04. 01. ~ 2023. 12. 31.) 과제의 최종보고서로 제출합니다.

2024. 07. 09.

주관연구기관명 : 주식회사 밥스누

(대표자) 차 동 석 (인)

공동연구기관명 : 농업회사법인 플랜티팜(주)

(대표자) 강 대 현 (인)

공동연구기관명 : 서울대학교 산학협력단

(대표자) 김 재 영 (인)



주식회사 밥스누

주관연구책임자 : 임 준 선

농업회사법인 플랜티팜(주)

공동연구책임자 : 이 공 인

서울대학교 산학협력단

공동기관책임자 : 이 기 원

국가연구개발사업의 관리 등에 관한 규정 제18조에 따라 보고서 열람에 동의합니다.

< 요약 문 >

사업명	기술사업화지원사업			총괄연구개발 식별 번호 (해당 시 작성)			
내역사업명 (해당 시 작성)	공공기술 사업화 촉진			연구개발과제번호	821027-03		
기술 분류	국가과학기술 표준분류	LA0906 (기능성 식품소 재)	50 %	LB0104 (식량작물 재배/생 산)	30 %	LB1801 (기능성식품)	20%
	농림식품과학기술 분류	CA0106 (식물공장)	50 %	PA0201 (기능성식품 및 소 재)	30 %	AA0103 (식량작물 재배·생 산)	20%
총괄연구개발명 (해당 시 작성)							
연구개발과제명	무순 유래 체지방 감소 유효성분 설포라핀 함량 증진을 위한 스마트팜 대량생산 재배법 확립 및 제품개발						
전체 연구개발기간	2021.04.01. ~ 2023.12.31. (2년 9개월)						
총 연구개발비	총 964,694 천원 (정부지원연구개발비: 806,000천원, 기관부담연구개발비: 9,150천원(현금), 149,544천원(현물))						
연구개발단계	기초[] 응용[] 개발[<input checked="" type="checkbox"/>] 기타(위 3가지에 해당되지 않는 경우)[]			기술성숙도 (해당 시 기재)	착수시점 기준() 종료시점 목표()		
연구개발과제 유형 (해당 시 작성)							
연구개발과제 특성 (해당 시 작성)							
연구개발 목표 및 내 용	최종 목표	<ul style="list-style-type: none"> ○무순 기반의 복합물 소재개발 및 공정 표준화 ○무순의 설포라핀 함량을 증진 시키는 재배기술 개발 ○체지방 감소 기능성 성분 강화작물 재배를 위한 스마트팜 재배방법 개발 및 대량생산 ○체지방 감소 기능성분 강화 소재를 활용한 다이어트 제품 개발 					
	전체 내용	<ul style="list-style-type: none"> ○원료 및 제조공정 표준화 <ul style="list-style-type: none"> - 시간, 비용, 수율을 고려한 작물별 (무순, 당귀, 인삼) 추출 조건 탐색 - 기능성분 및 지표성분 추출수율을 기준으로 한 작물별 (무순, 당귀, 인삼) 최적 추출조건 정립 ○기능성 새싹채소 재배기술 개발 <ul style="list-style-type: none"> - 품목별 적정 재배 환경 구명 - 기능성 물질 증진을 위한 재배기술 개발 ○기능성분 분석조건 확립 및 성분 profiling <ul style="list-style-type: none"> - 체지방 감소 기능성 복합소재 screening - 재배조건별 기능성분 분석 - 미지성분에 대한 구조규명 및 분석 ○기능성 작물 대량생산을 위한 재배 시스템 개발 <ul style="list-style-type: none"> - 품목별 적정 재배 시스템 설계 					

		<ul style="list-style-type: none"> - 기능성물질 원료 표준화 기술 확립 ○소재 기능성, 안전성 및 안정성 평가 <ul style="list-style-type: none"> - 체지방감소 효능 확인 (in vitro) - 소재 안전성 및 안정성 평가 - 복합소재 활용을 위한 부위별 기능성분 분석 - 체지방감소 효능 확인 (in vivo) ○시제품 개발 <ul style="list-style-type: none"> - 기능성분 안정성을 고려한 lab-scale 추출조건 실증 - 소재 추출공정 표준화 - 제품적용을 위한 특성 프로파일링 - 시제품 개발 및 시장조사 ○기능성 작물 대량생산 시스템 구축 및 실증 <ul style="list-style-type: none"> - 기능성 작물 대량생산 시스템 구축 - 원료 생산량 및 표준화 실증 ○제품 효능 확인 <ul style="list-style-type: none"> - 복합물 선정 및 배합비 확립 - 완제품 성능평가 (가공 후 지표성분 변화 등) ○다이어트 제품개발 <ul style="list-style-type: none"> - 체지방 감소 기능성 강화 소재를 활용한 제품 개발 - 상용화를 위한 마케팅 전략 및 유통채널 확인 				
	1단계	<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 30%; text-align: center; vertical-align: middle;">목표</td> <td style="padding: 5px;">설포라핀이 증대된 무순 소재 개발 및 공정 표준화</td> </tr> <tr> <td style="text-align: center; vertical-align: middle;">내용</td> <td style="padding: 5px;"> <ul style="list-style-type: none"> ○원료 및 제조공정 표준화 <ul style="list-style-type: none"> - 시간, 비용, 수율을 고려한 작물별(무순, 당귀, 인삼) 추출 조건 탐색 - 기능성분 및 지표성분 추출수율을 기준으로 한 작물별 최적 추출조건 정립 - 소재 추출공정 표준화 ○기능성 새싹채소 재배기술 개발 <ul style="list-style-type: none"> - 품목별 적정 재배 환경 구명 - 기능성 물질 증진을 위한 재배기술 개발 - 재배조건별 기능성분 분석 ○기능성분 분석조건 확립 및 성분 profiling <ul style="list-style-type: none"> - 체지방 감소 기능성 복합소재 screening - 미지성분에 대한 구조규명 및 분석 - 기능성 물질 원료 표준화 기술 확립 ○기능성 작물 대량생산을 위한 재배 시스템 개발 <ul style="list-style-type: none"> - 품목별 적정 재배 시스템 설계 ○소재 기능성, 안전성 및 안정성 평가 <ul style="list-style-type: none"> - 체지방 감소 효능 확인(in vitro) - 소재 안전성 및 안정성 평가 - 복합소재를 활용한 부위별 기능성분 분석 - 기능성분 안정성을 고려한 lab-scale 추출조건 실증 - 제품적용을 위한 특성 프로파일링 ○시제품 개발 </td> </tr> </table>	목표	설포라핀이 증대된 무순 소재 개발 및 공정 표준화	내용	<ul style="list-style-type: none"> ○원료 및 제조공정 표준화 <ul style="list-style-type: none"> - 시간, 비용, 수율을 고려한 작물별(무순, 당귀, 인삼) 추출 조건 탐색 - 기능성분 및 지표성분 추출수율을 기준으로 한 작물별 최적 추출조건 정립 - 소재 추출공정 표준화 ○기능성 새싹채소 재배기술 개발 <ul style="list-style-type: none"> - 품목별 적정 재배 환경 구명 - 기능성 물질 증진을 위한 재배기술 개발 - 재배조건별 기능성분 분석 ○기능성분 분석조건 확립 및 성분 profiling <ul style="list-style-type: none"> - 체지방 감소 기능성 복합소재 screening - 미지성분에 대한 구조규명 및 분석 - 기능성 물질 원료 표준화 기술 확립 ○기능성 작물 대량생산을 위한 재배 시스템 개발 <ul style="list-style-type: none"> - 품목별 적정 재배 시스템 설계 ○소재 기능성, 안전성 및 안정성 평가 <ul style="list-style-type: none"> - 체지방 감소 효능 확인(in vitro) - 소재 안전성 및 안정성 평가 - 복합소재를 활용한 부위별 기능성분 분석 - 기능성분 안정성을 고려한 lab-scale 추출조건 실증 - 제품적용을 위한 특성 프로파일링 ○시제품 개발
목표	설포라핀이 증대된 무순 소재 개발 및 공정 표준화					
내용	<ul style="list-style-type: none"> ○원료 및 제조공정 표준화 <ul style="list-style-type: none"> - 시간, 비용, 수율을 고려한 작물별(무순, 당귀, 인삼) 추출 조건 탐색 - 기능성분 및 지표성분 추출수율을 기준으로 한 작물별 최적 추출조건 정립 - 소재 추출공정 표준화 ○기능성 새싹채소 재배기술 개발 <ul style="list-style-type: none"> - 품목별 적정 재배 환경 구명 - 기능성 물질 증진을 위한 재배기술 개발 - 재배조건별 기능성분 분석 ○기능성분 분석조건 확립 및 성분 profiling <ul style="list-style-type: none"> - 체지방 감소 기능성 복합소재 screening - 미지성분에 대한 구조규명 및 분석 - 기능성 물질 원료 표준화 기술 확립 ○기능성 작물 대량생산을 위한 재배 시스템 개발 <ul style="list-style-type: none"> - 품목별 적정 재배 시스템 설계 ○소재 기능성, 안전성 및 안정성 평가 <ul style="list-style-type: none"> - 체지방 감소 효능 확인(in vitro) - 소재 안전성 및 안정성 평가 - 복합소재를 활용한 부위별 기능성분 분석 - 기능성분 안정성을 고려한 lab-scale 추출조건 실증 - 제품적용을 위한 특성 프로파일링 ○시제품 개발 					

			- 시제품 개발 및 시장조사
	2단계	목표	대량생산 조건 확립 및 기능성 강화 소재 활용 제품화
내용		<ul style="list-style-type: none"> ○기능성 작물 대량생산 시스템 구축 및 실증 - 기능성 작물 대량생산 시스템 구축 - 원료 생산량 및 표준화 실증 ○제품의 효능 확인 - 복합물 선정 및 배합비 확립 - 가공 후 지표성분 변화 등 완제품 성능평가 ○다이어트 제품개발 - 체지방 감소 기능성 강화 소재를 활용한 제품 개발 - 상용화를 위한 마케팅 전략 및 유통채널 확인 	

연구개발성과	<ul style="list-style-type: none"> ○ 사업화지표 - 특허 출원 2건, 등록 2건 (기능성분 함유 원료의 표준화 및 제조공정 표준화 등) - 제품화 5건 (시제품 1건, 다이어트 제품 포함 4건) - 매출액 344백만원 (총 연구기간 내) ○ 연구기반지표 - 학술성과 6건 (논문 4건, 학술발표 2건) ○ 전략 성과 - 고용창출 6명 (총 연구기간 내) - 인력양성 2명 (총 연구기간 내)
--------	---

연구개발성과 활용계획 및 기대 효과	<p>[기술적 측면]</p> <ul style="list-style-type: none"> - 건강기능식품 원료로서 스마트팜 재배작물의 활용도 증대 - 안전성 및 유효성 평가를 통한 제품 개발 파이프라인 구축 - 고부가가치 천연물 소재 개발 플랫폼 구축 - 무색 소재 및 타 소재 복합물을 활용한 체지방 감소에 도움을 주는 제품 개발 - 소재 맞춤형요소기술 확보를 통한 기능식품 시장에서의 경쟁력 확보 - 체지방 감소 기능식품 시장 성장 및 국민의 삶의 질 향상 <p>[경제적·산업적 측면]</p> <ul style="list-style-type: none"> - 스마트팜 재배기술을 토한 작물재배의 고부가가치화 및 활성화로 농가의 수익 향상 - 다이어트 식품을 통한 국민건강 개선에 기여 - 식품소재 다양화를 통한 국가 기술 경쟁력 향상 - 설폰라핀 강화 무순을 활용한 소재 시장의 고부가가치 창출
---------------------	---

연구개발성과의 비공개여부 및 사유

연구개발성과의 등록·기타 건수	논문	특허	보고서 원문	연구시설·장비	기술 요약 정보	소프트웨어	표준	생명자원		화합물	신품종	
								생명정보	생물자원		정보	실물
	4	2										

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

종합정보시스템 등록 현황								
국문핵심어 (5개 이내)	스마트팜	무순	설폰라핀	체지방 감소	다이어트 제품			
영문핵심어 (5개 이내)	Smart-farm	Radish sprout	Sulforaphene	Reducing body fat	Diet product			

최종보고서				보안등급 일반[✓], 보안[]							
중앙행정기관명	농림축산식품부			사업명		기술사업화지원사업					
전문기관명 (해당 시 작성)	농림식품기술기획평가원			내역사업명 (해당 시 작성)		공공기술 사업화 촉진					
공고번호	제 농축2021-41호			총괄연구개발 식별번호 (해당 시 작성)							
				연구개발과제번호		821027-03					
기술 분류	국가과학기술 표준분류	LA0906 (기능성 식품소재)	50 %	LB0104 (식량작물 재배/생산)	30 %	LB1801 (기능성식품)	20%				
	농림식품과학기술분류	CA0106 (식물공장)	50 %	PA0201 (기능성식품 및 소재)	30 %	AA0103 (식량작물 재배·생산)	20%				
총괄연구개발명 (해당 시 작성)		국문									
		영문									
연구개발과제명		국문	무순 유래 체지방 감소 유효성분 설폰라핀 함량 증진을 위한 스마트팜 대량생산 재배법 확립 및 제품개발								
		영문	Establishing smart farm cultivation system and product development using active ingredient in radish sprout: Sulforaphene								
주관연구개발기관		기관명	주식회사 밥스누		사업자등록번호	135-26-23604					
		주소	(우 06568) 서울시 서초구 동광로 12길 120-6		법인등록번호	135811-0209867					
연구책임자		성명	임춘선		직위	연구소장					
		연락처	직장전화		휴대전화						
			전자우편		국가연구자번호						
연구개발기간	전체		2021. 04. 01 - 2023. 12. 31(2년 9개월)								
	단계 (해당 시 작성)	1단계	2021. 04. 01 - 2022. 12. 31(1년 9개월)								
		2단계	2023. 01. 01 - 2023. 12. 31(1년 0개월)								
연구개발비 (단위: 천원)	정부지원 연구개발비	기관부담 연구개발비	그 외 기관 등의 지원금				합계			연구개발비 외 지원금	
			지방자치 단체	기타()							
	현금	현금	현물	현금	현물	현금	현물	현금	현물	합계	
총계	806,000	9,150	149,544	-	-	-	-	815,150	149,544	964,694	-
1단계	1년차	220,000	4,100	51,734	-	-	-	224,100	51,734	275,834	-
	2년차	293,000	-	52,360	-	-	-	293,000	52,360	345,360	-
2단계	1년차	293,000	5,050	45,450	-	-	-	298,050	45,450	343,500	-
공동연구개발기관 등 (해당 시 작성)		기관명	책임자	직위	휴대전화	전자우편	비고				
공동연구개발기관		농업회사법인 플랜티팜(주)	이공인	연구소장			역할	중견기업			
		서울대학교 산 학협력단	이기원	교수			역할	공동 대학			
연구개발담당자 실무담당자		성명				직위					
		연락처	직장전화		휴대전화						
			전자우편		국가연구자번호						

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

2024 년 2 월 29 일

연구책임자: 차 동 석 (인) (대리인)
주관연구개발기관의 장: 주식회사 밥스누 대표이사 차 동 석 (직인)
공동연구개발기관의 장: 농업회사법인 플랜티팜(주) 대표이사 강 대 현 (직인)
공동연구개발기관의 장: 서울대학교 산학협력단 산학협력단장 김 재 영 (직인)

농림축산식품부장관·농림식품기술기획평가원장 귀하

〈 목 차 〉

1. 연구개발과제의 개요	8
(1) 관련 시장 및 연구 현황	8
(2) 선행연구 및 주관기관 수행역량	9
(3) 연구개발과제의 필요성	14
(4) 설포라핀 관련 국내외 기술수준 동향	15
(5) 연구개발과제의 목표 및 내용	20
2. 연구개발과제의 수행 과정 및 수행내용	21
3. 연구개발과제의 수행 결과 및 목표 달성 정도	26
(1) 연구수행 결과	26
(2) 목표 달성 수준	122
4. 목표 미달 시 원인분석	124
5. 연구개발성과 및 관련 분야에 대한 기여 정도	125
6. 연구개발성과의 관리 및 활용 계획	127

1. 연구개발과제의 개요

(1) 관련 시장 및 연구 현황

1) 다이어트 식품 소비

가. 건강 트렌드에 따른 다이어트 시장 증대

- 국내에서 고도 비만인구가 계속 증가하여 2025년에는 고도비만율이 5.9%에 달할 것이라고, 전망이라고 하였으며, 특히 남자 아동·청소년 비만율은 OECD 평균보다 약간 높으며, 고도비만율이 매년 증가하는 추세임. 보건복지부의 발표에 따르면 만성대사성 질환 환자는 약 900만 명에 이르는데, 그 중 비만은 심혈관 질환을 비롯한 타 대사질환의 유발을 촉진시키기 때문에, 궁극적인 예방 및 치료를 위해서는 비만을 해결하는 것이 중요함.
- 뿐만 아니라 미용적인 측면에서 다이어트에 대한 관심이 증가하면서, 관련 시장도 성장하고 있음. 국내 다이어트 시장의 추정 규모는 2017년 기준 약 7조 6000억원으로, 이 중 다이어트 식품 등 기타 용품이 3조 2000억원으로 전체다이어트 시장의 약 42%를 차지하고 있음.

나. 다이어트 식품소재로서 식물의 활용

- 약용식물은 국내외적으로 오랫동안 복용해오고 있어 안전성에 대한 우려가 적으며, 전통적으로 사용하는 것에서 발전하여 현대과학으로 다시 규명하는 새로운 연구가 이어지고 있음. 약용식물을 활용하여 제품을 개발할 경우, 오랜 임상 경험을 통해 유효성 및 안전성이 입증되어 제품 개발에서의 실패를 줄일 수 있음. 특히 현재 다이어트 식품소재로 가장 원활하게 사용되고 있는 소재가 가르시니아 복합추출물로 식물에서 유래된 소재임. 2023년 7월까지 가장 많이 인정받은 기능성은 체지방감소로 총 116건이며, 총 44건의 개별인정형 원료 중 고시형 원료로 전환된 원료를 제외하면 총 38건에 해당함.

표 1. 국내 약용식물을 이용한 체지방 감소 개별인정원료(2023년 7월, 식품안전나라)

소재	기능성	년도
와사비잎추출물(NCWL01)	체지방 감소	2023
크릴오일(Superba TM Boost)	체지방 감소	
다이크로스타키스 글로메라타 추출물(Dyglomera [®])	체지방 감소	
옥수수수수염·레몬밤추출복합물	체지방 감소	
양춘사추출물	체지방 감소	
Bifidobacterium breve B-3 프로바이오틱스	체지방 감소	2022
산수유추출물등복합물	체지방 감소	
레몬버베나추출물 등 복합물	체지방 감소	
사삼추출물	체지방 감소	2021
모로오렌지추출분말(Morisil [®])	체지방 감소	
발효율피추출분말	체지방 감소	2020
해국추출물	체지방 감소	
수국잎열수추출물(리세린지 [®])	체지방 감소	

2) 스마트팜 활용 현황

가. 소비자의 기능성분 함유 채소 소비 증대

- 최근 생활수준의 향상에 따른 건강한 삶에 대한 소비자의 식품안정성과 고기능성 식품을 적극적으로 요구함에 따라 기능성 물질에 대한 관심도 증가함. 이러한 경향에 따라 유기농산물이 각광받고 있으며, 항산화성이나 항암성 등을 띄는 기능성분이 다량 함유되어 있는 새싹채소에 대한 관심도 및 부가가치도 동시에 향상됨.
- 새싹채소의 경우 동일종의 성숙채소보다 비타민, 무기질, 아미노산, 기능성 물질 등이 풍부하게 함유되어 있다고 알려져 있으며, 선택적 식품 선택 및 섭취로 있어서 좀 더 기능성을 갖춘 식품을 선호함. 우리나라에서 보편적으로 즐기는 새싹채소는 콩나물, 숙주나물 및 무순이 대표적으로 즐겨먹는 채소이며(Song, 2001), 이외에도 메밀, 브로콜리, 알팔파, 배추, 케일 등이

있음.

- 재배과정 중 작물의 생육환경을 조절하여 생물적·비생물적 스트레스를 제공하면, 식물이 이의 방어기작으로 항산화물질을 포함한 다양한 2차대사물을 생합성하기 때문에 기능성물질의 함유량을 증진시킬 수 있음. 이에 따라 생육환경을 직접 제어하여 식물을 재배하는 시스템으로 환경 및 생육의 모니터링을 기초로 고도의 환경 제어 및 생육 예측을 통해 작물의 연중 안정/계획 생산이 가능한 수직농장을 활용한 연구개발들이 많이 진행되고 있음.

나. 기능성분 증대 새싹채소의 연구 및 소비 증대

- 기능성분이 풍부한 식물 중 하나인 싹채소는 종자 발아 후 7~14일내 수확, 섭취하는 채소를 말하며 일반 엽채소에 비해 비타민, 미네랄 등 함량이 3~4배가량 많음. 채소 작물마다 가진 고유의 기능성 물질 함량 또한 성체에 비해 많이 함유하고 있음. 대표적인 새싹채소인 새싹보리의 경우 100g당 339mg의 비타민C가 함유하고 있으며 이는 사과 60배에 달하는 양임.
- 일본의 경우 기능성 채소로서 일반 브로콜리의 20배이상의 설포라판이 함유한 브로콜리 새싹채소와 일반 채소에 포함되어 있지않은 비타민 B12가 다량 함유된 무순 등 특수 기능성 물질을 극대화한 새싹채소를 판매하고 있음.



그림 1. 일본 M 사의 브로콜리 새싹(좌), 멀티 비타민B12 무순(우)

다. 스마트팜 활용

- 스마트팜은 ICT를 접목하여 농산물 생산을 원격으로 조정하며, 자동으로 온·습도 및 환경제어를 통해 균일하고 품질 좋은 농산물을 생산하기 위하여 도입된 기술임. 작물 생육정보와 환경정보 등에 대한 정확한 데이터를 기반으로 언제 어디서나 작물의 생육환경을 점검하고, 적기 처방을 함으로써 노동력·에너지·양분 등을 종전보다 덜 투입하고도 농산물의 생산성과 품질 제고 가능함.
- 제약/바이오 산업에 국한되었던 생물자원 원료가 생명공학 기술의 발달로 최근 식품의 주요 원료로 쓰이면서 독자적이고 고부가가치의 천연물 소재 확보가 시급한 실정임. 스마트팜은 생산관리의 자동화와 더불어 LED, 양액 등의 환경적 요인을 조절함으로써 균일한 생산작물 확보가 가능하고 기능성에 따른 특정 유효성분이 증대된 맞춤형 작물 재배가 가능하다는 점에서 고부가가치 천연물 소재를 확보하는데 중요한 기술임.

(2) 선행연구 및 주관기관 수행역량

1) 내복자(무씨)의 체지방 감소 유효성분 sulforaphene 발굴 및 고부가가치화 기술 기 확보

- 본 연구진은 한반도 전통 식물 자원으로부터 유래한 고기능성 소재를 제품 개발에 용이하도록 소재화하는 연구를 실시해왔으며 이를 천연물 제품 용도에 따라 활용할 수 있는 천연물 유래 소재를 연구하여 이를 건강기능식품, 기능성화장품, 의약품 등에 적용하여 제품화하는 플랫폼을 구축하고 있음. 이러한 역량을 바탕으로 본 연구진은 한반도 자생 식물인 무의 씨앗에 많이 함유되어 있는 유효성분인 설포라판(sulforaphene)의 기능성을 규명하였음. 특히 내복

자를 활용하는 전통 한약재인 태음조위탕은 비만한 태음인에 대해 효능이 있는 것으로 잘 알려져 있으며 이에 착안하여 설포라핀 및 설포라핀이 강화된 내복자 추출물을 활용하여 체지방 감소 효능을 확인한 바 있음.

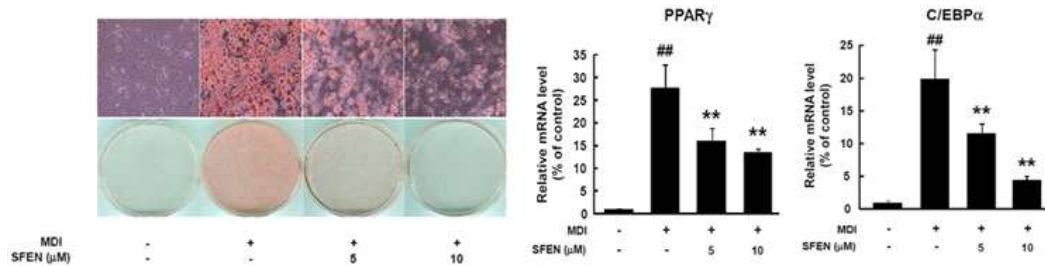


그림 2. 세포주 모델에서 설포라핀의 비만 억제 효능 평가

- 내복자의 설포라핀(Sulforaphene)이 지방전구세포(3T3-L1)의 지방축적 형성에 미치는 영향을 규명함. 설포라핀을 처리한 채 지방분화 배지(MDI)로 지방전구세포를 지방세포로 분화시킨 후, 세포 내 지방구만 선택적으로 빨강계 염색하는 Oil-red O staining을 실시함. 그 결과, 농도 의존적으로 지방세포 축적이 억제됨을 관찰하고 설포라핀이 지방 세포 분화 형성의 주요 조절인자인 PPAR γ 와 C/EBP α 의 mRNA, 단백질 발현을 농도 의존적으로 감소시키는 것을 western blot 기법으로 확인함.
- 본 연구진은 설포라핀 또는 설포라핀 고함유 내복자 추출물의 비만 예방, 당뇨 예방, 지방간 예방 효능을 동물모델에서 규명함.

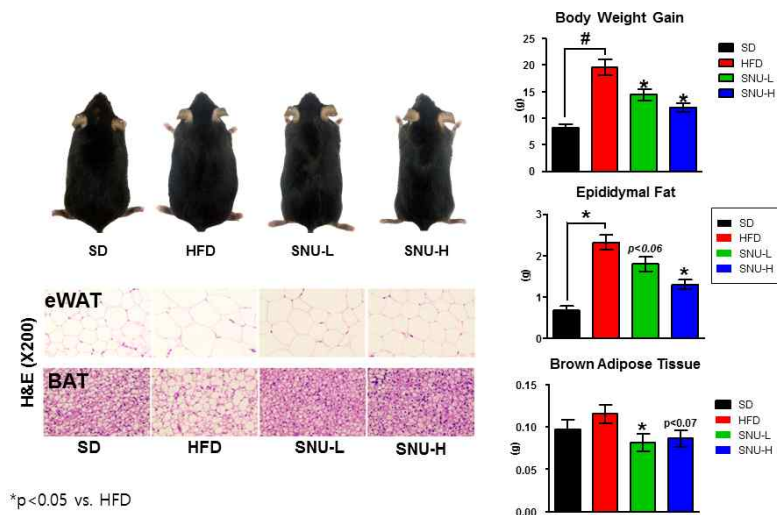


그림 3. 고지방식이를 섭취한 마우스 모델에서 체중 조절 및 지방량 감소 효능 평가

- 내복자 추출물이 동물 모델에서 체중 조절에 미치는 영향을 규명함. 고지방식이 섭취로 비만을 유도한 마우스 모델에서 고농도 (SNU-H), 저농도 (SNU-L)의 무씨추출물을 경구 투여한 결과 체중이 농도 의존적으로 감소하고, body weight gain과 epididymal fat의 양이 감소함. 또한, 부고환 백색 지방 함량이 유의적으로 감소하여 무씨 추출물이 동물 모델에서 체중 감소 효능이 있음을 확인함.

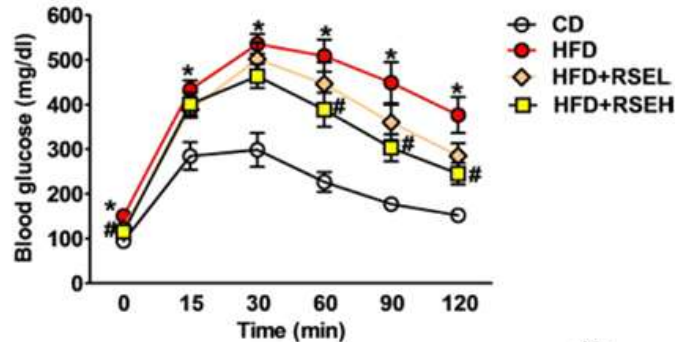


그림 4. 고지방식이를 섭취한 마우스 모델에서 혈당 개선 효능 평가

- 내복자 추출물의 공복혈당, 공복 인슐린, 인슐린 민감도에 미치는 영향을 확인함. 또한, 당부하 시험을 실행하여 14주간 고지방식이와 함께 내복자 추출물을 급여한 쥐는 고지방식이만 급여한 쥐에 비해 혈당의 증가폭도 작았으며, 혈당이 떨어지는 속도가 빠름을 확인함.

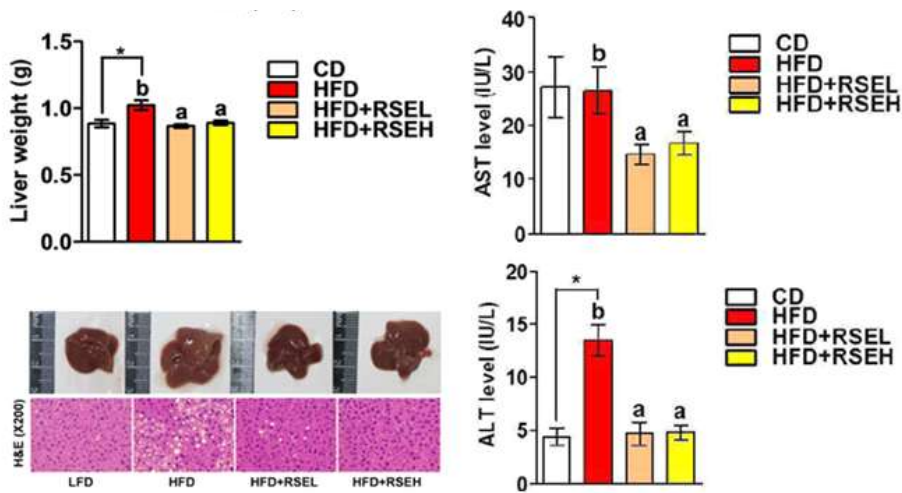


그림 5. 고지방식이를 섭취한 마우스 모델에서 지방간 예방 효능 평가

- 고지방 식이 섭취로 인한 비알콜성 지방간 유도 마우스 모델을 활용하여 지방간 예방 효능을 규명함. 간의 쥐를 적출하여 무게를 측정함. 결과 고지방 식이만을 급여한 쥐보다 내복자 추출물을 함께 급여한 쥐의 간 무게가 유의적으로 낮음을 확인함. 또한, 간 내 지방구 감소 효과를 확인하기 위하여 'H&E(hematoxylin-eosin) staining'을 실시하여 지방구 축적 감소를 관찰함. AST(aspartate aminotransferase)와 ALT(alanine aminotransferase) 수준을 측정함. 결과, 모두 유의적으로 감소하여 간손상을 개선하는 효과를 발휘함. 이 외에도 간 조직의 지질, 총 중성지방, 총 콜레스테롤 양을 측정함. 결과 내복자 추출물이 지방간 예방에 효능을 가짐을 실험을 통해 규명함.
- 본 연구진은 내복자의 체지방 감소에 효능을 가진 유효성분이 설포라핀임을 규명하고, 동물모델에서 설포라핀을 함유하는 내복자 추출물의 체지방 감소, 당뇨 예방, 지방간 예방 효능을 관찰함. 이러한 연구내용을 바탕으로 '4-메틸설포닐-3-부테닐 이소티오시아네이트 또는 4-메틸설포닐-3-부테닐 이소티오시아네이트의 전구체 또는 유도체를 함유하는 비만 예방용 식품 조성물 또는 비만 치료용 약학조성물(10-1213065)'에 대한 특허를 등록했으며, 이를 서울대기술지주회사인 ㈜밥스누에 기술이전하였음.

2) ㈜밥스누(주관기관)의 수행역량

- 가. 대학의 연구기관이 보유한 원천 기술을 실용화, 고도화 전문성 보유
- ㈜밥스누는 서울대학교 기술지주회사로 대학의 원천기술을 이전 받아 실용화한 경험을 다

수 보유하고 있으며, 전문 연구개발진은 대학의 기술을 응용한 원료소재, 제품을 연구하는 역량을 갖고 있음.

- 특히 식품산업에서 서울대학교의 특허 기술이 적용된 소재를 생산하고, 표준화된 소재를 다양한 제품군에 적용하여, 대학의 기술을 실용화하는데 기여하고 있음. 더 나아가 일반식품용 소재 외에도 서울대학교 특허기술이 적용된 건강기능식품 소재를 연구 개발하는 등 다양한 영역에서 소재화 역량을 확보하고 있음.
- 2021년 현재 특허 23건(등록 11건 / 출원 12건), 16건의 산·학연 특허 및 노하우 기술이전 계약체결, 11건의 정부지원 과제를 수행한 경험이 있음.

나. 서울대학교 특허 기술 기반 무찌(내복자) 이용 건강기능식품 원료 개발 (진행 중)

- 서울대학교 연구진은 무찌가 비만, 혈당 조절, 혈행개선, 지방간 등 만성대사성 질환 개선의 가능성을 검증하였고, 무찌에 다량 존재하는 이소시아네이트 계열 설포라핀이 유효성분임을 규명하였음. 또한 연구실 수준에서 설포라핀을 다량 함유하는 소재 생산법을 개발하였음.

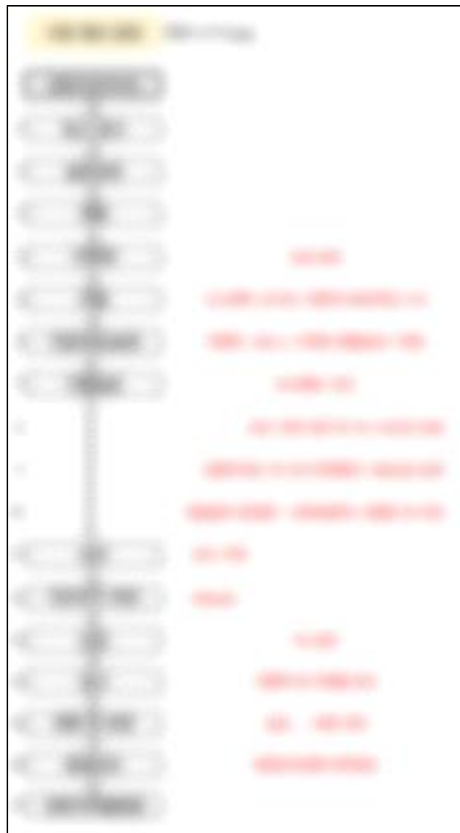


그림 6. 내복자 추출물 생산 공정도

(밥스누 자체 노하우이기 때문에 해당 공정은 미공개 처리)

- ㈜밥스누는 서울대학교 산학협력단으로부터 관련 특허 2건을 기술이전 받았으며(하기 표 참고), 이를 산업 수준에서 소재화 및 궁극적으로 건강기능식품 개별인정형을 취득하는 것을 목표로 ㈜주비스다이어트와 공동사업을 위한 연구계약을 2017년 7월 18일에 체결하였음.

표 2. 설포라핀 관련 기술이전 특허 현황 (서울대학교 → ㈜밥스누)

항목	특허명	등록번호
유효성분 관련	4-메틸설포닐-3-부테닐 이소티오시아네이트 또는 4-메틸설포닐-3-부테닐 이소티오시아네이트의 전구체 또는 유도체를 함유하는 비만 예방용 식품 조성물 또는 비만 치료용 약학조성물	10-1213065
추출물 생산 및 기능성 특허	설포라핀을 다량 함유하는 무찌 추출물의 제조 방법 및 이로부터 추출된 무찌 추출물을 함유하는 체중, 혈당 조절용 및 지방간 예방용 식품 조성물, 약품 조성물, 동물용 의약품	10-1907179

- 무찌를 이용한 소재는 현재 “생산 표준화”가 완료되었으며, 생산된 소재의 기능성 확인을 위해 인체적용시험(CRO) 진행 중에 있음.

다. 서울대학교 특허 기술 기반 유근피 추출액 소재 개발

- (주)밥스누는 서울대학교 산학협력단으로부터 서울대학교 특허 「유근피 추출물을 포함하는, 겹 결합을 통한 세포간정보전달의 억제 및 항상성의 불균형과 관련된 질환의 예방 또는 치료용 조성물」(제10-0567371호)을 기술이전 받았음
- 유근피 추출액(서울대학교 기술)은 대량생산 수준에서 소재 표준화가 완료되었고, 표준화된 소재는 (주)밥스누의 약콩두유 외 대표적인 제품에 적용되었음. 약콩두유는 2015년 출시 당해 동안 500만 팩이 팔리는 등 큰 인기를 끌었음. 대학의 기술력을 산업으로 성공적으로 이관한 사례라 평가할 수 있음. 또한 국내 약콩(쥐눈이콩) 농가소득을 증가시키는데 이바지 하였으며 현재까지도 계약재배를 통한 원물 매입을 계속적으로 유지하고 있음.

기술이전

■ 서울대학교 특허소재 [유근피 추출물]
■ 서울대학교 특허소재 [무설탕 초콜릿]

서울대 공동개발
서울대 특허기술 및
차별화된 SNU Formula 적용

서울대 특허원료
(특허등록번호 제 10-0567371호)

■ 기술이전 받은 소재(유근피)를 활용한 제품화 및 상용화

- 약콩두유 오리지널 의 10개 두유 제품에 적용 및 상용화
- 약콩모(탈모샴푸)에 적용 및 상용화
- 무설탕 초콜릿 제품 개발

**선행 기술이전 2건에 대하여 모두 제품적용 및 상용화에 성공!
상용화 제품들 포함하여 2020년 (주) 밥스누 매출실적 118억 달성!**

(라) 밥스누 특허 보유 현황

- 당사는 끊임없는 개발로 다수의 특허(등록 11건 / 출원 11건)을 보유하고 있음.



그림 7. (주)밥스누 등록 특허증

(3) 연구개발과제의 필요성

1) 유효성분 중심의 소재화 기술 개발

- 국내 생물자원의 생리활성 효능에 대한 연구는 이미 오래전부터 축적되어 왔으나 (천연물 연구 2018년 한 해 총 25,409건, Pubmed) 실제로 산업에서 생산되어 활용되는 소재는 제한적이거나 활용되더라도 대부분 열수 추출 등 단순 가공기술을 적용한 경우가 많고, 지표성분이 아닌 특정 유효성분을 중심으로 소재화된 사례는 찾아보기 어려움. 이는 소재화에 있어 랩스케일과 스케일업 공정 사이 차이로 인해 많은 허들이 존재한다는 것이 주요한 원인으로 손꼽히며, 특정 유효성분 특성을 고려하여 유용한 소재를 생산하는 기술 개발이 미흡하기 때문임. 따라서 유효성분 특성에 따라 맞춤 소재화 기술을 개발하고, 이를 스케일업 생산 공정 최적화, 표준화하는 연구는 국내 생물 자원을 활용한 고부가가치 소재를 확보하는데 있어 필수적이라고 할 수 있음.

2) 무씨(내복자)의 유효성분 고수율 생산 공정 관련 특허 이전의 사업화 필요

- 본 연구진은 설포라핀을 내복자에서 분리 및 추출하는 방법과 동시에 설포라핀을 고수율로 생산하는 공정 조건과 관련된 특허를 등록받았음 (제10-1907179호).
- 설포라핀을 고수율로 생산하는 기술과 관련된 유효특허를 선별함에 있어 설포라핀 및 유사물질인 설포라핀을 포함하였으며 그 결과 유효데이터 건수는 한국 14건, 미국 38건, 일본 11건, 유럽 14건으로 총 77건이 있음.
- 그 중 유사한 특허를 분석한 결과, 기존의 국내 관련 특허의 경우 설포라핀의 선택적인 대량 생산이 아닌 유사물질 설포라핀의 생산방법, 온도조건을 고려하지 않은 단순한 초고압처리라는 점에서 차이가 있음.

조사대상 기술		특허장벽					
설포라핀을 천연물로부터 고수율로 생산하는 기술 (내복자에서 추출한 설포라핀의 대량 생산 기술)		구분	매우 낮음	낮음	보통	높음	매우 높음
		국내	<input checked="" type="checkbox"/>				
		국외	<input checked="" type="checkbox"/>				

국가	특허번호	출원인 (논문저자)	출원일 (등록일)	유사도 (중요도)
국내	KR 0497717	동부한농화학 주식회사	2002-10-29 (2005-06-17)	★☆☆☆☆
	KR 0946727	한국과학기술연구원	2008-03-18 (2010-03-03)	★☆☆☆☆
국외	JP 4448615	Plant Biosciences	1999-04-08 (2010-01-29)	★☆☆☆☆
	JP 3359642	Johns Hopkins School of Medicine	1996-09-13 (2002-10-11)	★☆☆☆☆

그림 8. 설포라핀 고수율 생산 관련 IP장벽도 및 기술경쟁력 분석

- 내복자의 주요 이소시아네이트인 설포라핀은 무씨가 발아하고 자라는 과정에서 무씨 내에 있는 글루코시놀레이트인 글루코라페닌이 변환되어 그 양이 점점 증가한다고 알려져 있음. 설포라핀 고함유 무쌍 소재를 개발하기 위해서는 스마트팜 기반으로 다양한 변인을 적용하여 무씨(내복자)로부터 무쌍을 생산하여 **설포라핀이 가장 풍부하게 존재하는 원료 소재를 발굴하고 대량 생산 조건을 최적화하여 제품을 개발할 필요성이 높다고** 사료됨.

(4) 설포라핀 관련 국내외 기술수준 동향

1) 기술 현황

가. 국내 기술 현황

○ 비만 개선 기능성 연구 현황

- 비만 개선 효능 연구는 국내에서 다양한 방식으로 이루어지고 있으나 그 기능성에 대한 표적 단백질 발굴 및 작용기전 연구는 부족한 실정임.
- 비만 개선 효능에 활용되는 물질이 주로 천연물 유래 성분에 한정되어 있고 해당 성분에 대한 생산 기술이 추가된 국내 자생 천연물 유래 소재를 활용한 연구는 미비한 실정임. 본 연구에서 발굴되는 소재를 기능성 연구에 활용하여 비만 억제 연구의 범위를 넓힐 수 있는 여지가 있음.

○ 체중조절 식품 개발 현황

- 기존 체중조절용 조제식품의 주요성분인 분리대두단백, 텍스트린, 그 외에도 가르시니아 캄보지아 추출물 등 다양한 원료가 현재 수입되고 있으며 수입량이 증가하는 추세임.
- 기존 식품의약품안전처로부터 비만 예방용 소재로 인정받은 건강기능식품소재(히비스커스 복합추출물, 가르시니아 캄보지아 껍질 추출물 등)들은 외국에서 유래한 소재의 비중이 많은 편임.
- 연세대학교 연구팀(황재관 교수)과 (주)뉴트리(NEWTREE)는 기초대사량을 늘려 자연스럽게 지방을 태워내는 원리로 체지방 감소에 도움을 주는 핑거루트 추출물인 판두라틴에 대한 연구 및 제품을 개발함. 핑거루트 성분을 정밀 분석하고 인체적용 시험을 통해 다이어트 성분을 강화하고 한국인의 몸에 맞게 최적화하는 기술을 보유함. 다이어트 효능에 더불어 자외선으로 인한 수분 감소, 탄력감소, 주름 생성과 같은 피부 손상을 복구하는 안티에이징 효능과 피부보습 증진 등 3가지 기능성을 인정받음. 판두라틴 유도체 또는 보에센베르기아 판두라타 추출물의 신규한 용도(KR101135132B1) 특허를 등록함.

○ **설포라핀을 활용한 체중조절 식품 개발 기술 현황**

- 과학기술정보통신부 바이오·의료기술 개발 사업 특허기술동향조사 보고서에 의하면, 설포라핀을 활용한 글로벌 비만 치료용 및 체지방 감소 건강기능식품 기술을 개발함에 있어 십자화과 식물인 내복자 유래 설포라핀의 비만 치료 및 예방 효능 규명 기술은 신규성이 높다고 나타남.
- 설포라핀 및 설포라핀을 활용한 비만 치료용 천연물 의약품 및 건강기능식품 개발 관련 기술은 성장기 단계인 것으로 분석 결과가 도출되었으며, 이는 해당 기술에 대한 시장성이 있으며 신규 진입자의 성공 가능성이 있을 것으로 보고됨.
- 중앙대학교 산학협력단(김종기 교수)에서는 무, 배무채로부터 설포라핀을 분리하는 방법을 개발하여 이로부터 얻은 설포라핀이 위암을 유발하는 헬리코박터 파이롤리 균의 생성 및 성장을 억제한다고 밝힘. 무로부터 설포라핀을 분리하는 방법 및 이의 용도 특허(10-2010-0002795), 배무채로부터 설포라핀을 분리하는 방법 및 이의 용도 특허(10-2010-0002796) 를 등록 완료함.

○ **무쌍 소재를 이용한 소재화 기술**

- 내복자는 전통적으로 ‘태음조위당’이라는 한약의 주원료로 이용되었으며, 현재는 기름과 같은 단순한 1,2차 가공 제품의 원료로 사용되어옴.
- 체중조절, 복부팽만, 항염증 등의 효능이 보고되어지고 있지만 이와 같은 효능을 활용한 제품이 적어 개발이 필요한 상황임.
- 현재 무순, 무청 등 내복자 유래 소재를 이용한 소재화 기술로는 추출 용매에 따른 기능성 성분의 변화 조사 및 식품 개발을 위한 항산화 효능, 장내환경 개선 등의 건강 기능성 연구가 진행되었음.
- 이러한 결과 한국식품연구원에서는 식이섬유가 강화된 무청의 제조방법 및 이를 이용한 식품에 관한 특허(10-0738680) 등록을 완료하였으나 무순, 무청 등의 내복자 유래 소재를 이용하여 제조한 식품으로는 생면, 비빔밥 등으로 단순 1,2차 가공품에 해당됨.
- 항산화 효능, 장내환경 개선 등 내복자 유래 소재의 건강기능성에 대한 연구가 진행되어 왔지만 이를 활용한 식품 개발 사례는 없음.

○ **스마트팜 기반 고부가가치화 소재 생산 기술 현황**

- 맞춤형 기능성 소재 생산을 위해 국내에서는 발효, 생물전환 등 다양한 기술이 활용되고 있음. 그러나 기존 기술과는 달리 최근에는 식물 원료의 재배 단계부터 재배환경 요소를 고려해 맞춤 기능성 소재를 생산할 수 있는 스마트팜 기술이 개발, 활용되기 시작함.

표 6. 국내 스마트팜 기반 고부가가치화 소재 생산 기술 현황

번호	스마트팜 기반 고부가가치화 소재 생산 기술		특징
1	넥스트에이 ‘대사체 생산농업’		작물의 특정 Growth Stage에 어떠한 자극을 통해 식물의 대사체를 강화
2	AGRONICS ‘스마트팜 팩토리’		재배 환경 표준화 통하여 작물로부터 유래된 천연물의 기능성 지표성분을 표준화
3	바이오빌 ‘스마트팜 자극기술’		음파와 미생물 그리고 식물호르몬 등 식물 자극들을 통해 식물의 대사체를 강화

나. 국외 기술 현황

○ 만성대사성 질환 및 비만 개선 기능성 연구 현황

- 비만 개선 효능 연구가 체중조절 및 감량을 위한 식품이나 치료제 개발에 중점을 두고 있음. 치료제의 경우 다수의 부작용이 존재하고 있어 활용되는 물질의 기능 및 작용기전에 대한 연구가 더욱 필요한 실정임.

○ 설포라핀 또는 설포라판을 활용한 제품 기술 동향

- 미국은 현재 영양 기능성 보조제로서 브로콜리새싹에서 설포라핀 유사 설포라판을 선택적으로 추출물 제조하여 캡슐화한 제품이 있으며, 면역강화와 강력한 항산화의 효과를 포함함.
- 유럽의 경우 브로콜리에서 고함량으로 추출물을 제조하여 피부보호, 세포 활성 및 증진 등의 효과를 포함한 샴푸, 로션, 비누 등 다양한 제품화를 위한 기술을 개발함.
- 일본은 브로콜리에서 추출물을 제조하거나, 브로콜리 새싹을 이용한 식품을 개발하여 기능성 식품 보조제로써 활용함.

○ 국외 스마트팜 기술 현황

- 1950년대 유럽에서 시작된 식물공장은 특히 일본, 대만, 중국, 네덜란드, 미국 등지에서 활발하게 연구되고 있음. 실용화 식물공장의 표준화, 산업화 기술을 중심으로 연구되고 있으며 일부 기능성 물질과 의약품 원료 생산 기술, 식물 유래 백신 생산과 같은 GM 작물 생산 등 체계적으로 기술 개발이 진행됨.
- 일본은 과거 고도화 기술에 근거한 식물대량 생산 및 산업화 기술, 작물 기능성 증대 및 식의약품 원료 생산 기술 연구 등에 이어서 현재 실용화 식물공장의 표준화 연구, 식물공장 산업화 기술, GM작물 생산, 기능성 물질 및 식의약품 원료 생산 기술 등에 주력 중임.
- 미국은 과거 시설원에 에너지절감, 수직농장 개념 정립, 옥상온실(도시농업), 식물공장 기술의 우주농업 적용 기술 등에 이어서 현재 기본적인 인공광 식물공장 기술, 식의약품 원료 생산 기술 등에 주력 중임.
- 유럽은 과거 자연광 식물공장의 고수량/고품질, 광원/조명, 작물 광환경, 순환식수경재배 기술 등에 이어서 현재 자연광 식물공장 기술, 인공광 식물공장 고효율 광원 및 조명 기술 등에 주력 중임.
- 현재 식물공장에서 재배된 작물은 대부분 엽채류로 식용으로 이용되지만 향후 환경조절 기술의 발달로 인해 허브류, 약용작물 등의 고부가가치 작물의 대량 생산이 시도되고 있음.
- 국외 스마트팜 활용 소재는 식용 소재의 생산이 주를 이루며, 스마트팜 활용 고부가가치 소재 개발은 대부분 일본에서 이루어짐.
- 현재 식물공장에서 재배된 작물은 대부분 엽채류로 식용으로 이용되지만 향후 환경조절 기술의 발달로 인해 허브류, 약용작물 등의 고부가가치 작물의 대량 생산이 시도되고 있음.
- 국외 스마트팜 활용 소재는 식용 소재의 생산이 주를 이루며, 스마트팜 활용 고부가가치 소재 개발은 대부분 일본에서 이루어짐.

표 7. 국외 스마트팜 기반 고부가가치화 소재 생산 기술 현황

번호	스마트팜 기반 고부가가치화 소재 생산 기술		특징
1	칸사이철강공업 '인공광형 식물공장'		인공광형 식물공장 재배 아이스플랜트 유래 피니톨 (pinitol, 혈당치 제어)함유 임산부대상 엽산 공급 기능성 제품 개발
2	어드밴스드어그 리 '조명기술 활용 식물공장'		스트레스 재배기술을 통한 식물 체내 글라시톨 (glacitol, 당조절기능) 성분이 집적된 아이스플랜트 제품화

2) 지식재산권, 표준화 및 인증기준 현황

가. 국내 기술 현황

○ 체지방 감소 관련 지식재산권 현황

- 설포라핀을 유효성분으로 하는 소재 특허 현황

표 8. 설포라핀 관련 특허 현황

번호	특허명	특허범위	출원인	등록 /출원번호
1	설포라핀을 다량 함유하는 무 씨 추출물의 제조방법 및 이 로부터 추출된 무씨 추출물을 함유하는 체중, 혈당조절용 및 지방간 예방용 식품 조성 물, 약품 조성물, 동물용 의약 품	본 발명은 설포라핀이 다량 함유 된 무씨 추출물의 제조방법, 이로 부터 수득된 무씨 추출물 및 무 씨 추출물을 함유하는 비만, 당 뇨, 지방간 개선, 예방 또는 치료 용 조성물에 관한 것	서울대학 교산학협 력단 경북대학 교 산학 협력단	등 록 / 10190717 90000

- 체지방 감소 조성물 특허 현황

표 9. 체지방 감소 특허 현황

번호	특허명	특허범위	출원인	등록 /출원번호
1	MeJA 처리된 메밀새싹을 함유 하는 항비만 또 는 체지방감소용 조성물	자스모닉산 또는 메틸자스모네이트로 처리되 어 재배된 메밀새싹, 이의 건조물, 분쇄물 또 는 추출물을 유효성분으로 포함한다. 본 발명 의 조성물은 항비만 또는 체지방감소를 위한 의약품 또는 기능성 식품으로 유용하게 사용 될 수 있음.	한국식품 연구원	등 록 /10-201 1-00757 38

번호	특허명	특허범위	출원인	등록 /출원번호
2	항비만 또는 체지방감소를 위한 조성물	루페온, 모노아실글리세롤, 3-O-[α-D-갈락토피라노실-(1"→6')-O-β-D-갈락토파이라노실]디글리세롤 또는 이들의 혼합물을 유효성분으로 포함한다. 본 발명의 조성물은 항비만 또는 체지방감소를 위한 의약품 또는 기능성식품으로 유용하게 사용될 수 있음.	(주)동일팜텍	등록 /10-2010-0024551
3	체지방감소용 조성물	본 발명은 체지방감소용 조성물에 대한 것으로, 특히 공액리놀레산(conjugated linoleic acid; CLA)에 감마 오리자놀(γ-oryzanol)이나 상기 감마 오리자놀이 함유된 추출물을 포함하는 것을 특징으로 함.	(주)에이치케이바이오텍	등록 /10-2007-0088453
4	장미꽃잎 추출물 포함 체지방 분해 및 감소용 조성물 및 이를 포함하는 건강기능식품	본 발명은 장미꽃잎 추출물을 포함하는 체지방 분해 및 감소용 조성물, 그 제조방법 및 상기 조성물을 포함하는 건강기능식품에 관한 것.	대한켄텍주식회사	등록 /10-2020-0013753

- 무순 원료 표준화 현황

·‘표준 생약’은 식품의약품안전처의 이화학적 규격 기준을 따라 제조됨. 감별, 정제, 분석시험을 통해 기원 등이 명확하며, 실험실에서 원료생약 및 제제의 분석을 위한 비교 대상이 될 수 있음.

·무순의 경우 표준생약 분양목록에 등록되어 있지 않았으며, 무씨인 내복자의 경우 표준분양목록에 등록 되어 표준생약을 분양하고 있음.

표 10. 무순 및 내복자 원료 표준화 현황

생약명	종류	학명/성분명	관리번호 (로트번호)	포장단위
무순	-	<i>Raphanus sativus</i> Linné	없음	없음
내복자	표준생약	<i>Raphanus sativus</i> Linné	내복자RASA2008	3g/vial
내복자	지표성분	없음	-	-

[출처 : 표준생약 분양목록, 2020, 식품의약품안전처].

- 무에서 주로 관찰되는 기능성분인 설포라핀은 신규 물질로 항산화 효능, 장내 환경 개선 등의 기능성에 대한 연구가 진행되어 왔지만, 대사질환 기능성 및 내복자(무씨) 유래의 소재에서의 함량 분석에 대한 선행 연구 사례는 많지 않았음. 또한, 특허기술동향조사 보고서에 의하면, 설포라핀을 활용한 글로벌 비만 치료용 및 체지방 감소 건강기능식품 기술을 개발함에 있어 내복자 유래 설포라핀의 비만 치료 및 예방 효능 규명 기술은 신규성이 높다고 분석되었고, 설포라핀을 활용한 비만 치료용 천연물 의약품 및 건강기능식품 개발 관련 기술은 성장기 단계인 것으로 분석되었음. 서울대학교 연구팀은 내복자를 활용한 다수 연구를 통해 설포라핀을 유효성분으로 하는 소재 기술 개발과 관련된 특허를 보유하고 항비만 효능을 규명한 바 있음. 연구진은 선행연구를 수행하여 내복자 내 기능성분(설포라핀) 함량 분석법을 확립한 바 있으며, 본 과제 수행 전까지 무 품종별 설포라핀

함량에 대한 연구 결과는 보고된 바가 없었음. 연구진은 설포라핀 함량을 증대시키고자, 확립한 분석 조건 및 방법을 적용하여 6가지 무 품종(홍빛무, 적무, 아시아적무, 가이와레, 아시아, 적양무) 내 설포라핀 함량을 분석한 결과, 설포라핀 함량이 3.07~5.77mg/g DW로 분석되었고, 5일간 재배하여 수확한 후 무순 내 설포라핀 함량을 관찰하였을 때, 0.96~5.26mg/g DW로 분석되었음. 다른 십자화과식물과 관련된 선행연구에 따르면, 기능성분의 함량은 품종, 재배기간, 재배방법 등 다양한 조건에 영향을 받기 때문에 연구진은 본 과제를 통해서 무순 내 설포라핀 함량 변화를 관찰하고 증대시키는 것을 목표로 함. 따라서, 본 연구진은 과제 계획을 수립할 때, 선행연구 결과와 경제성 등을 고려하여, 무 씨앗의 6품종에서 기능성분(설포라핀)의 평균 함량(약 4mg/g DW)을 기존의 2배인 8mg/g DW로 증가시키는 것을 목표로 설정하였음.

(5) 연구개발과제의 목표 및 내용

1) 연구개발과제의 최종 목표

- 무순 기반의 복합물 소재개발 및 공정 표준화
- 무순의 설포라핀 함량을 증진 시키는 재배기술 개발
- 체지방 감소 기능성 성분 강화작물 재배를 위한 스마트팜 재배방법 개발 및 대량생산
- 체지방 감소 기능성분 강화 소재를 활용한 다이어트 제품개발

2) 연구개발과제의 단계별 목표

연차	목 표	가중치
1차년도 (2021)	1) 기능성분 분석조건 확립 및 성분 profiling	30%
	2) 기능성 새싹채소 재배기술 개발	40%
	3) 원료 및 제조공정 표준화	30%
2차년도 (2022)	1) 소재 기능성, 안전성 및 안정성 평가	40%
	2) 기능성 작물 대량생산을 위한 재배 시스템 개발	30%
	3) 시제품 개발	30%
3차년도 (2023)	1) 제품 효능 확인	30%
	2) 기능성 작물 대량생산 시스템 구축 및 실증	30%
	3) 다이어트 제품개발	40%

2. 연구개발과제의 수행 과정 및 수행 내용

연구범위	연구수행방법 (이론적·실험적 접근방법)	구체적인 내용
1차년도		
<p>[(주)밤스누] 시간, 비용, 수율을 고려한 작물별 추출조건 탐색</p>	<p>기본추출조건 : 70% 주정, 20배수, 60℃, 6시간, 1차 추출</p>	<ul style="list-style-type: none"> - 각 원물들(무순, 당귀, 도라지)에 대하여 동결건조 및 파쇄 진행 - 70% EtOH를 이용하여 각시료에 대하여 추출진행 - 각 추출물을 필터링 후 감압농축 및 동결 건조 진행 - 건조물 무게 측정 및 수율 확인
	<p>위 조건을 기본으로 하여 조건 변화에 따른 결과 확인</p>	<ul style="list-style-type: none"> - 15가지 추출조건 선정 (100% D.I.W_상온, 100% D.I.W_31.5℃, 100% D.I.W_50℃, 30% EtOH_상온, 30% EtOH_31.5℃, 30% EtOH_50℃, 50% EtOH_상온, 50% EtOH_31.5℃, 50% EtOH_50℃, 70% EtOH_상온, 70% EtOH_31.5℃, 70% EtOH_50℃, 90% EtOH_상온, 90% EtOH_31.5℃, 90% EtOH_50℃) - 각 조건별 추출진행 - 각 추출물들을 필터링 후 감압농축 및 동결 건조 진행 - 건조물 무게 측정 및 수율 확인
<p>[(주)밤스누] 기능성분 및 지표성분 추출수율을 기준으로 한 작물별 최적 추출조건 정립</p>	<p>추출조건 선발 기준: 추출수율, 기능(지표)성분의 함량, 분석 조건하에서 검출되는 기타성분의 함량, 추출용매설정, 추출온도 설정, 추출시간 설정, 농축 및 건조방법 정립</p>	<ul style="list-style-type: none"> - 각 작물별 지표성분 설정 무순: sulforaphene 당귀: nodakenin, decursinol, 3,7-dimethyl suberosin, decursin, decursin angelate 도라지: playcodin E, playcodin D3, playcodin D, polygalacin D - 감압농축 및 동결건조 진행 - 15가지 추출조건에 대한 지표성분 함량 확인
	<p>기능성분을 기준으로 하여 가장 효율적인 최적 조건 설정</p>	<ul style="list-style-type: none"> - LC-MS/MS를 이용한 각 지표성분들에 대한 정량분석 진행 - 각 작물별 지표성분에 대하여 수율이 가장 높은 추출조건 선정
<p>[(주)플랜티팜] 품목별 적정 재배 환경 구명</p>	<p>수직농장 내 단계별 재배기간 설정 및 적정 환경 구명</p>	<ul style="list-style-type: none"> - 무순 실험 : 인공광 이용 다단재배 시스템 활용 - 무쌍 실험 : 드림식 새싹 생산시스템 활용
	<p>소형 재배시설 구축 및 생산량 실증</p>	<ul style="list-style-type: none"> - 재배 면적 당 최대생산량 분석 - 재배장치 별 생산량 및 기능성 물질 함량 분석

<p>[(주)플랜티팜] 기능성 물질 증진을 위한 재배기술 개발</p>	<p>기능성 물질 증진을 위한 재배기술 개발</p>	<ul style="list-style-type: none"> - 수직농장 내 최적 재배기술 및 기능성 물질 증진기술 구명 - 제어 환경요소 : 광량, 광질, 온도, 양 액 농도 등 - 기능물질(설포라핀) 증진 가능성 검토
	<p>새싹 재배 요인시험장치 설계 및 제작</p>	<ul style="list-style-type: none"> - 켈형 새싹재배 요인시험장치 설계 및 제작 (드럼식 재배기+uv 조사 방식)
<p>[서울대학교] 체지방 감소 기능성 복합소재 screening</p>	<p>체지방 감소 기능성을 나타내는 기능성분 및 작물 조사</p>	<ul style="list-style-type: none"> - 항비만 효능이 알려진 기능성분에 대한 선행 논문 조사 및 검토 - 해당 기능성분을 다량 함유하고 있는 작물에 대한 선행 논문 조사 및 검토
	<p>시너지 효과를 나타낼 수 있을 것으로 예상되는 기능성분 및 작물 조사</p>	<ul style="list-style-type: none"> - 무순의 유효성분인 설포라핀의 체지방 감소 작용기전에 대한 선행 연구 조사 - 다양한 기능성분의 체지방 감소 작용기전에 대한 선행 연구 조사 - 선행 연구 결과를 기반으로 무순 및 복합 소재에 대한 검토 및 선별
	<p>복합 소재를 위한 각 기능성분의 체지방 감소 유효성 평가</p>	<ul style="list-style-type: none"> - 지방전구세포(3T3-L1)를 활용하여 후보 기능 성분들의 세포 독성 평가를 통한 유효농도 설정 - 지방전구세포(3T3-L1)를 활용하여 후보 기능 성분들의 체지방 감소 유효성 평가 - 연구 결과를 바탕으로 무순과 함께 체지방 감소에 시너지 효과를 나타낼 수 있을 것으로 예상되는 후보 작물 선별
<p>[서울대학교] 미지성분에 대한 구조 규명 및 분석</p>	<p>무순 추출물 분석 시 발견되는 미지성분 (특이 peak)에 대한 구조 규명 및 분석</p>	<ul style="list-style-type: none"> - 다양한 용매를 적용한 무순 추출물 분석시 발견된 지표성분(설포라핀) 의 함량이 높은 성분 확인
	<p>prep HPLC를 이용한 특이 peak 성분 분리</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Dichloromethane/water를 이용한 용매통분획 및 Dichloromethane 분획물에 대한 정제 진행
	<p>NMR, LC-MS를 이용한 구조규명 및 분석</p>	<ul style="list-style-type: none"> - 무순 원물 및 최적 추출조건을 적용한 무순 추출물을 GC-MS를 이용하여 구조 규명 및 분석
<p>[서울대학교] 체지방 감소 효능 확인 (in vitro)</p>	<p>지방전구세포(3T3-L1)에 대한 독성평가</p>	<ul style="list-style-type: none"> - 지방전구세포(3T3-L1)를 활용하여 무순 추출물의 세포 독성 평가를 통한 유효농도 설정
	<p>최적 재배 및 추출조건을 적용한 무순 추출물의 체지방 감소 유효성 평가</p>	<ul style="list-style-type: none"> - 지방전구세포(3T3-L1)를 활용하여 무순 추출물의 체지방 감소 유효성 평가 - 지방전구세포(3T3-L1)를 분화시키고 Oil-red O Staining을 통한 세포 내 지방 저장량 측정

	지방세포 내 지방 축적 시 발현되는 전사인자들의 단백질 저해 효과 확인	<ul style="list-style-type: none"> - 체지방 감소 예상 작용기전 관련 바이오 마커 검토 및 선정 (지방소화/흡수 억제, 체지방 합성 억제, 체지방 분해 촉진 등) - 지방 대사 기전에 관련된 유전자의 발현 변화 평가 (Real-Time PCR(qPCR)) - 대표 지방 분화 및 합성 관련 전사인자들의 단백질 발현 변화 평가 (Western Blot)
2차년도		
[(주)밥스누] 기능성분 안정성을 고려한 lab-scale 추출조건 실증	기능성 소재의 극성에 따른 고효율 추출기술 확립	- 1차년도 결과 기반 추출 진행 및 분석 실시
[(주)밥스누] 소재 추출공정 표준화	사용 소재의 정확한 분류 및 식물학적 특성 정리	- 무 특성 및 주요 지표성분 및 유효성분 특성 분석
	원재료와 유사한 식물 종 조사 및 식물학적 특성 정리	- 십자화과 식물의 주요 지표성분 및 유효성분 특성 분석
	원재료의 관능평가 기준서 작성	- 무순 추출물의 제품 적용을 위한 소비자 의견 반영용 기준서 작성
	원재료의 건조감량, 추출수율, 기능(지표)물질 함량, 기타 성분 함량 분석	- 공정 설계 및 scale-up 실험 진행 - 내복자 공정 참고를 통한 조건 설정 - 반복 생산을 통한 추출 효율 제고
	건조감량 측정	- 최종 추출액에 대한 건조감량 측정
[(주)밥스누] 제품적용을 위한 특성 프로파일링	무순 소재 특성 연구	- 선행연구 기반 기능성 및 인식 조사
	유효성분 설폴라핀 특성 연구	- 설폴라핀 구조 및 이화학적 특성 분석 - 향미, 안정성 분석
[(주)밥스누] 시제품 개발 및 시장 조사	무순 추출물 함유 시제품 개발	<ul style="list-style-type: none"> - 제품 적용을 위한 무순 추출 분말 제조 - 무순 추출물 함유 체중 조절 두유 음료 시제품 개발 - 무순 추출물 함유 다이어트 소비자 지향 초콜릿 시제품 개발 - 무순 추출물 함유 식물성 음료 개발을 위한 컨셉보드 작성
	무순 추출물 함유 제품 타겟 시장 조사	<ul style="list-style-type: none"> - 기능성표시식품 시장 현황 분석 - 다이어트, 당노 지향 초콜릿 시장 분석 - 식물성 음료 시장 분석
[(주)플랜티팜] 기능성 작물 대량생산을 위한 재배 시스템 개발	품목별 적정 재배 시스템 설계	<ul style="list-style-type: none"> - 양산 테스트용 무쌍 및 무순 재배 시설 설계 - 소형 재배시설 구축 및 생산량 실증
	기능성 물질 원료 표준 기술 확립	- 생산 원물의 경시적 성분 변화 검증
	재배 품목 다양화	- 재배시스템별 생산 가능 기능성 작물 선별
[서울대학교] 소재 안전성 및 안정성	기존 일반식품 및 건강기능식품 개발 사례를 통한 안전성 검증자료 분석	- 식품의약품안전처 가이드라인에 따른 안전성 검증자료 분석

평가	및 평가 (독성, 위해성, 일일 섭취 허용량 등)	
	시간, 온도 등 환경요인에 따른 기능성분의 안정성 분석 (유통기한 설정 시 고려)	- 시간, 온도 등 환경요인에 따른 기능성분의 안정성 분석 (유통기한 설정실험)
[서울대학교] 복합소재 선정을 위한 부위별 기능성분 분석	복합소재 선정을 위해 무씨앗과 무순의 부위별 유효성분 설폴라핀 함량 분석	- 무순을 뿌리, 줄기, 잎으로 나누어 각 부위별 원물 특성 및 설폴라핀 함량 분석
	무순 부위별 추출물의 체지방 감소 효능 평가	- 무순 부위별 추출물 제조 후 체지방 감소 효능 비교
3차년도		
[(주)밥스누] 체지방 감소 기능성 강화 소재를 활용한 제품 개발	설폴라핀 함량이 증진된 무순 소재를 사용한 제품 개발	- 제품 적용을 위한 무순 추출 분말 제조 (성상 고려하여 배합비 변경) - 제품 컨셉보드 개발, 배합비 설정, 제조 공정 개발 - 무순 추출 분말 함유 다이어트 소비자 겨냥 초콜릿 제품 개발 - 무순 추출 분말 함유 건강 지향 유산균 및 건강기능식품 개발
	테스트 생산 제품의 유통기한 중 안정성 확인	- 본생산 전 시제품 성상 및 관능특성 확인
[(주)밥스누] 상용화를 위한 마케팅 전략 및 유통채널 확인	온라인 채널 유통망 확보	- 오픈몰, 소셜몰, 종합몰, 전문몰 및 편집몰 등 B2B 마케팅 및 제품 판매 촉진 - 복지몰, 공동구매, 인플루언서 활용을 통한 B2C 마케팅 및 제품 판매 촉진
	오프라인 유통망 확보	- 리드팜, 메디팜 및 온누리약국과 같은 약국체인 물품공급 계약을 통한 제품 인식개선과 프리미엄화 및 판매
	자사몰 개편 및 판매	- 자사몰 상세페이지 추가 - 바이럴 마케팅용 이미지 컷 제작
	판매전략 구축 및 진행	- 정보형/체험단형 SNS를 통한 제품 홍보 - 블로그 및 카페 마케팅을 통한 제품 홍보
[(주)플랜티팜] 기능성 작물 대량생산 시스템 구축	기능성 작물 대량생산 시스템 성능 평가	- 1일 5kg 이상 생산 가능 시설 구축 - 생산성 및 품질 기준 90% 이상 목표 달성
[(주)플랜티팜] 원료 생산량 및 표준화 실증	원료 생산량 및 표준화 현장 실증	- 대량 생산 시스템 기반 생산량 및 기능성분(설폴라핀) 함량 증진
[서울대학교] 체지방감소 효능 확인 (in vivo)	동물 모델을 활용한 소재의 체지방 감소 효능 평가 (표현형 변화)	- 고지방식이 비만 유도 모델 확립 - 고지방식이 비만 유도 모델을 활용한 무순추출물의 농도 설정 - 체지방 감소 유효성 지표인 체중, 체지방량/률, 체지방량 등 변화 관찰 - 조직학적 염색을 통한 소재의 효능 관찰: 백색지방, 갈색지방, 간, 근육
	동물 모델을 활용한 소재의 체지방 감소 작용기전 규명	- 체지방 감소 작용기전별 관련된 유전자의 발현 변화 평가(Real-Time

		PCR(qPCR)) - 심화 메커니즘 규명을 위한 체지방 감소 관련 인자들의 단백질 발현 평가(Western Blot)
	동물 모델을 활용한 소재의 대사질환 관련 효능 평가	- 고지방식이 비만 유도 모델을 활용하여 소재의 대사질환 관련 기능성 효능 평가: 비만 유도 비알코올성 지방간 개선 및 비만 유도 근감소 완화 - 소재의 대사질환 관련 기전별 유전자의 발현 변화 평가(Real-Time PCR(qPCR))
[서울대학교] 소재 안전성 평가	시간, 온도 등 환경요인에 따른 기능성분의 안정성 분석	- 시간, 온도 등 환경요인에 따른 기능성분의 안정성 분석 : 시간 (0~12주), 온도 (5~45도) 조건에서 무순 추출물 내 유효성분(셀포라핀) 함량 변화 관찰
[서울대학교] 복합 소재 선정 및 배합비 확립	복합 소재 배합비에 따른 효능 평가	- 선정된 복합소재 내 기능성분 함량 및 효능을 고려한 배합비 확립: 지방전구 세포(3T3-L1)를 활용하여 무순과 복합소재의 체지방 감소 유효성 평가 - 지방전구세포(3T3-L1)를 분화시키고 Oil-red O staining을 통한 세포 내 지방 저장량 측정
	복합 소재의 심화 기능성 평가	- 지방전구세포(3T3-L1)를 활용하여 대표 지방 분화 및 합성 관련 전사인자들의 단백질 발현 변화 평가(Western Blot)
[서울대학교] 완제품 성능평가	가공 후 지표성분 변화 등 완제품 성능평가	- 가 공정 후 완제품 내 지표성분 분석을 통한 공정 중 성분 변화 확인 : 추출, 여과, 원심분리, 농축, 동결건조 등 공정 중 소재 내 함량 분석

3. 연구개발과제의 수행 결과 및 목표 달성 정도

(1) 연구수행 결과

가. 정성적 연구개발성과

(주관) 소재 추출공정 표준화 및 시제품 개발

■ 1차년도 연구 수행 내용 및 결과

1. 시간, 비용, 수율을 고려한 작물별 추출조건 탐색

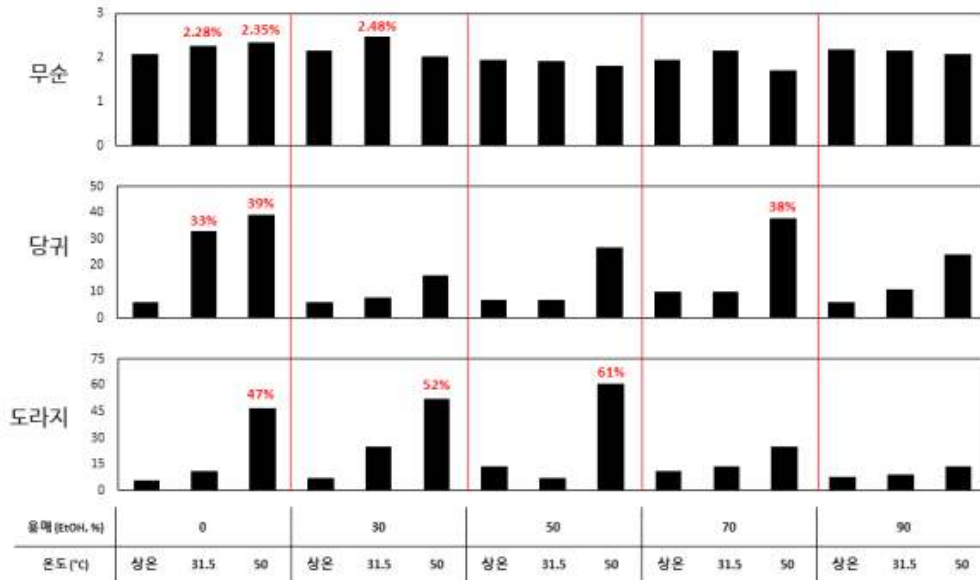


그림 9. 무순, 당귀, 도라지 추출 결과

- 무순 : 30% EtOH_ 31.5°C 조건에서 가장 높은 추출 수율 확인.
- 당귀 : 100% D.I.W_ 50°C 조건에서 가장 높은 추출 수율 확인.
- 도라지 : 50% EtOH_ 50°C 조건에서 가장 높은 추출 수율 확인.

2. 기능성분 및 지표성분 추출수율을 기준으로 한 작물별 최적 추출조건 정립

○ 무순

1) 지표성분: sulforaphene

2) 분석조건

2-1) LC-MS/MS

- Instrument: Agilent Technologies 6410 Triple Quad (LC-MS/MS)
- Column: Kromasil C18 (3.0 mm × 150 mm, 3.0 μm)
- Solvent: A; 0.1% Formic acid in Water, B; 0.1% Formic acid in Acetonitrile
- Flow rate: 0.4 mL/min
- Injection vol.: 5 uL
- Gradient:

	time(min.)	B%
1	0	10
2	6	15
3	20	25
4	30	50
5	35	100

- MS condition:

Ionization Mode	- ESI, scan mode
Gas temp.	350 °C
Capillary volt.	4000 V
Nebulizer	40 psig
Fragmentor	135 V

3) chromatogram

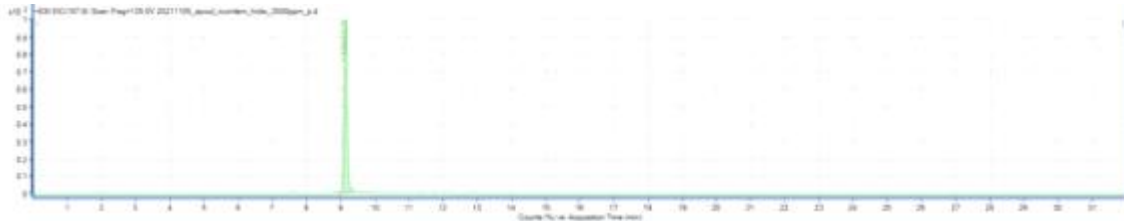


그림 10. 무순 지표성분 분석 결과

4) sulforaphene 표준품 검량곡선

농도 (ppm)	검출농도	면적(area)	검량선
0.5	0.36	850,321	
1	0.86	1,467,422	
5	5.53	7,242,237	
10	9.76	12,464,817	
기울기	1,235,654.5628		
Y편	409,124.1783		
R ²	0.9935		

그림 11. Sulforaphene 검량곡선

5) 추출 조건별 sulforaphene 함량

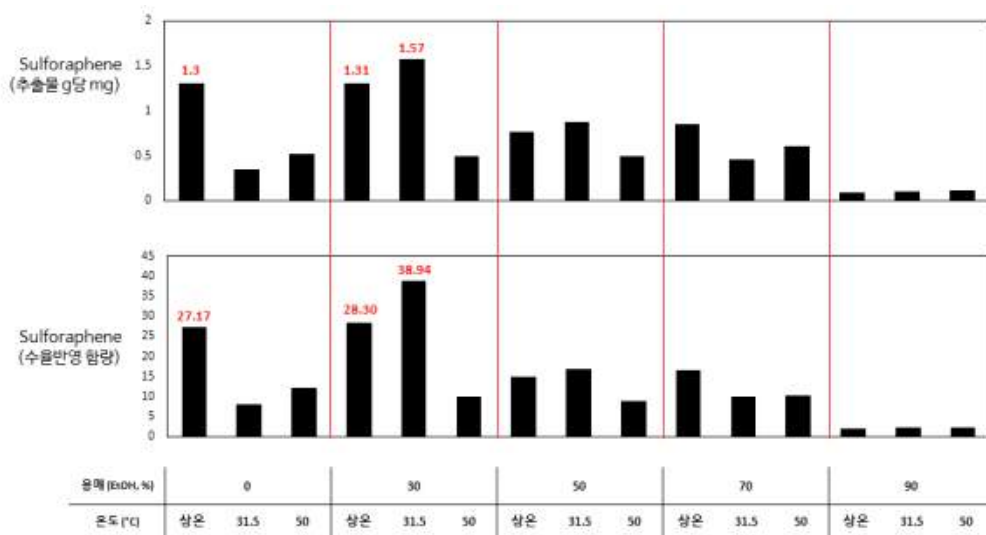


그림 12. 추출 조건에 따른 sulforaphene 함량

- 무순의 지표성분인 sulforaphene의 최적 추출조건을 확인하기 위하여 다양한 조건으로 추출 진행
- 30% EtOH 31.5°C 조건에서 sulforaphene의 함량이 가장 높았음.

○ 당귀

1) 지표성분: nodakenin, decursinol, 3,7-dimethyl suberosin, decursin, decursin angelate

2) 분석조건

2-1) LC-MS/MS

- Instrument: Agilent Technologies 6410 Triple Quad (LC-MS/MS)
- Column: Kromasil C18 (3.0 mm × 150 mm, 3.0 μm)
- Solvent: A; 0.1% Formic acid in Water, B; 0.1% Formic acid in Acetonitrile
- Flow rate: 0.4 mL/min
- Injection vol.: 5 uL
- Gradient:

	time(min.)	B%
1	0	10
2	6	15
3	20	25
4	30	50
5	35	100

- MS condition:

Ionization Mode	- ESI, scan mode
Gas temp.	350 °C
Capillary volt.	4000 V
Nebulizer	40 psig
Fragmentor	135 V

3) chromatogram

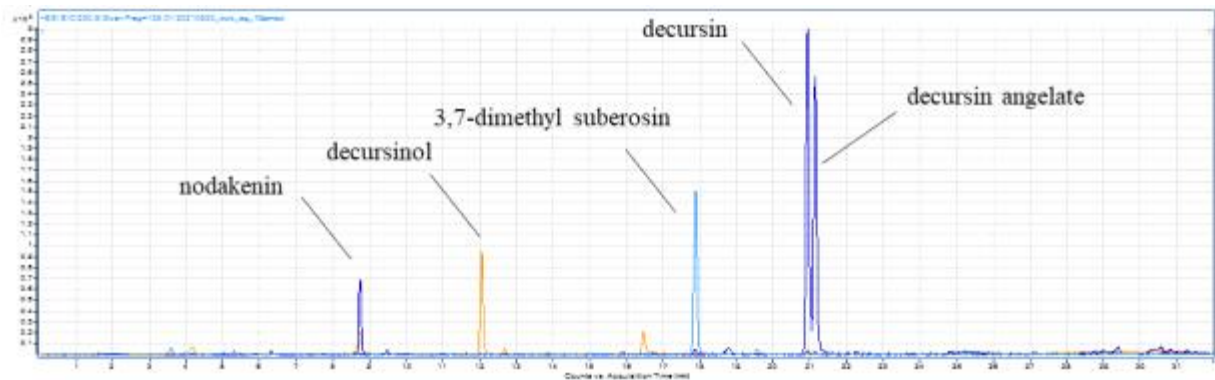
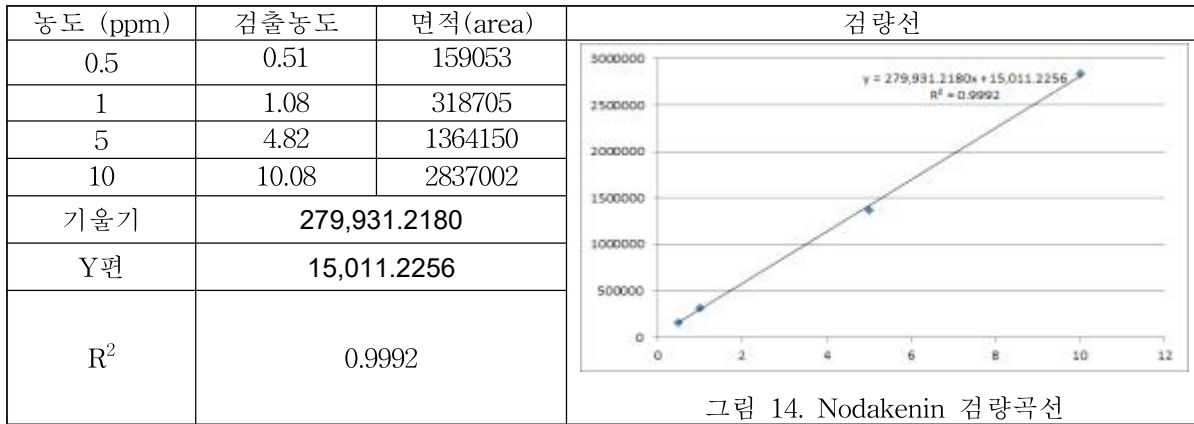
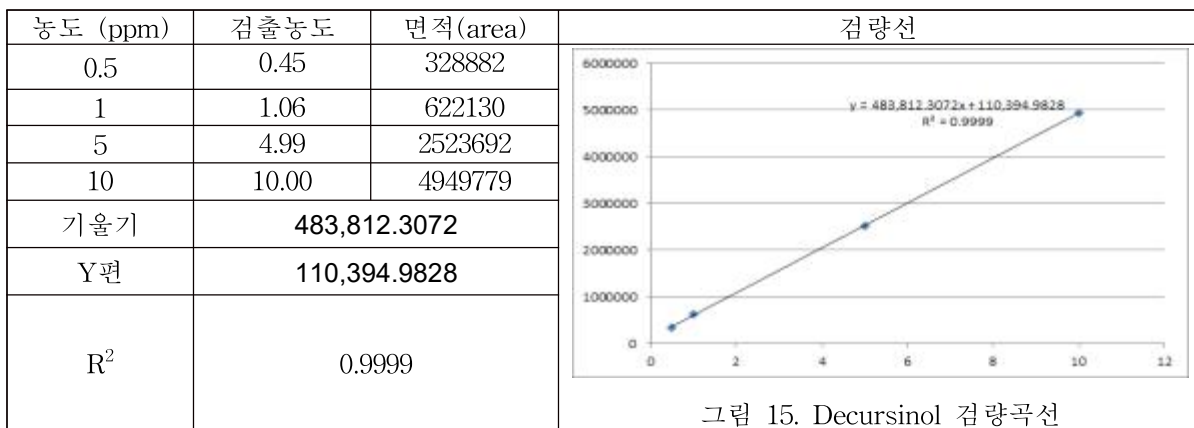


그림 13. 당귀 지표성분 분석 결과

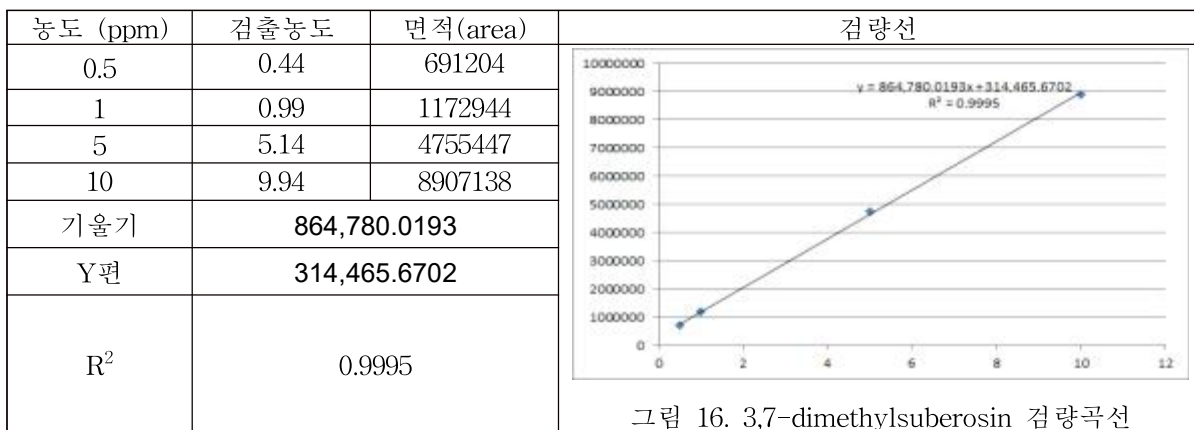
4-1) nodakenin 표준품 검량곡선



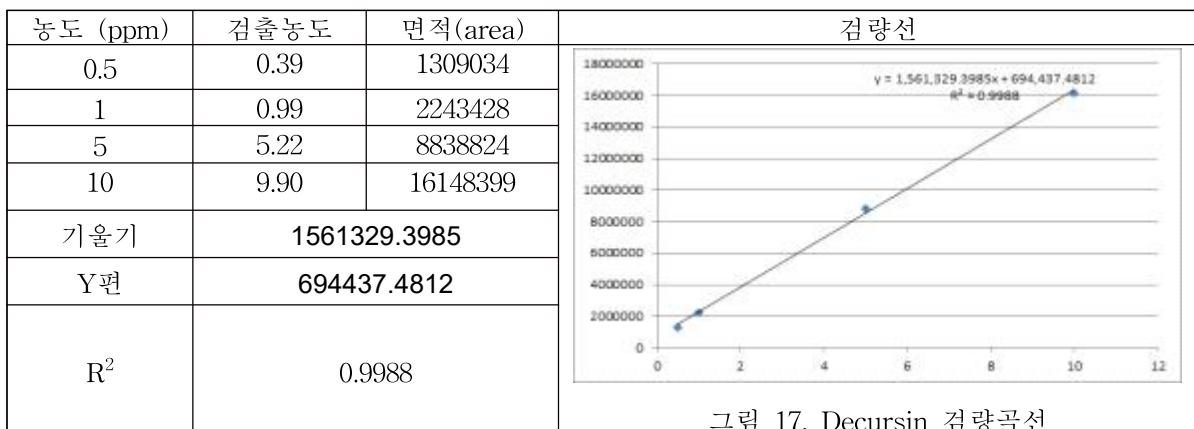
4-2) decursinol 표준품 검량곡선



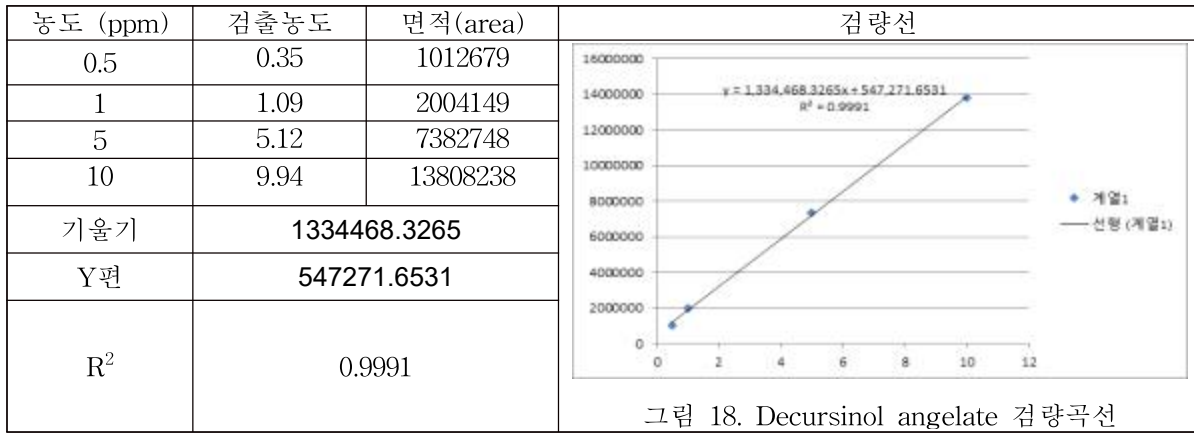
4-3) 3,7-dimethylsuberosin 표준품 검량곡선



4-4) decursin 표준품 검량곡선



4-5) decursin angelate 표준품 검량곡선



5) 추출 조건별 nodakenin, decursinol, 3,7-dimethyl suberosin, decursin, decursin angelate 함량

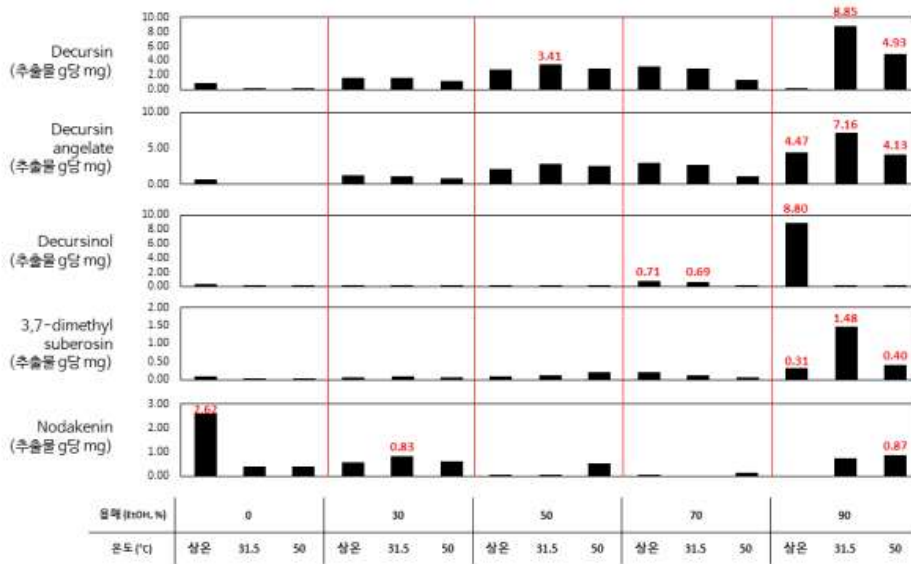


그림 19. 추출 조건별 지표성분 함량 (추출물 g 당 mg)

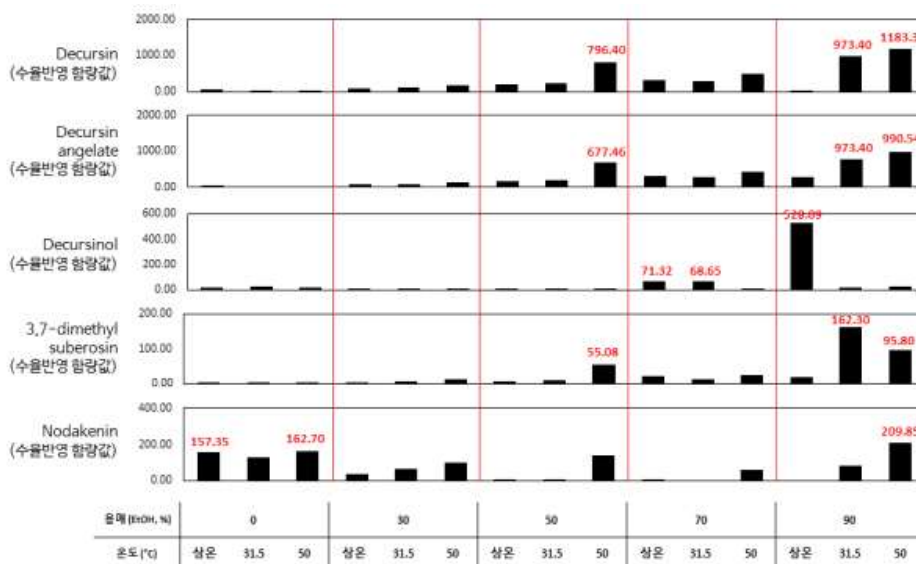


그림 20. 추출 조건별 지표성분 함량 (수율 반영 값)

- 당귀의 지표성분인 nodakenin, decursinol, 3,7-dimethyl suberosin, decursin, decursin angelate의 최적 추출조건을 확인 하기 위하여 다양한 조건으로 추출 진행
- 100% D.I.W._ 50℃ 조건에서 nodakenin의 함량이 가장 높았음.
- 90% EtOH_ 상온 조건에서 decursinol의 함량이 가장 높았음.
- 90% EtOH_ 31.5℃ 조건에서 3,7-dimethyl suberosin의 함량이 가장 높았음.
- 90% EtOH_ 31.5℃ 조건에서 decursin의 함량이 가장 높았음.
- 90% EtOH_ 50℃ 조건에서 decursin angelate의 함량이 가장 높았음.
- 대부분 지표성분이 90% ETOH에서 높은 수율을 보였음.

○ 도라지

1)지표성분: platycodin E, platycodin D3, platycodin D, polygalacin D 함량

2)분석조건

2-1) LC-MS/MS

- Instrument: Agilent Technologies 6410 Triple Quad (LC-MS/MS)
- Column: Kromasil C18 (3.0 mm × 150 mm, 3.0 μm)
- Solvent: A; 0.1% Formic acid in Water, B; 0.1% Formic acid in Acetonitrile
- Flow rate: 0.4 mL/min
- Injection vol.: 5 μL
- Gradient:

	time(min.)	B%
1	0	10
2	6	15
3	20	25
4	30	50
5	35	100

- MS condition:

Ionization Mode	- ESI, scan mode
Gas temp.	350 °C
Capillary volt.	4000 V
Nebulizer	40 psig
Fragmentor	135 V

3) chromatogram

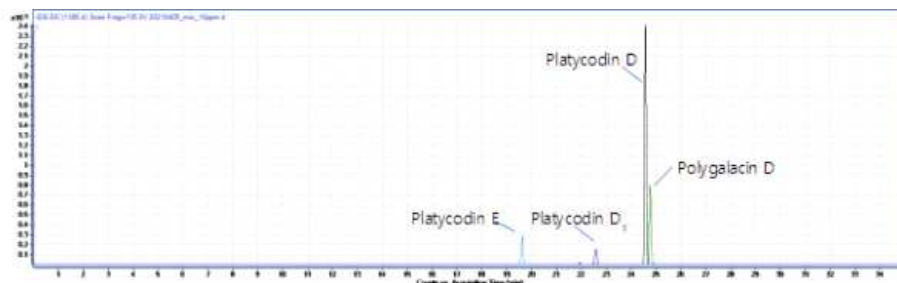
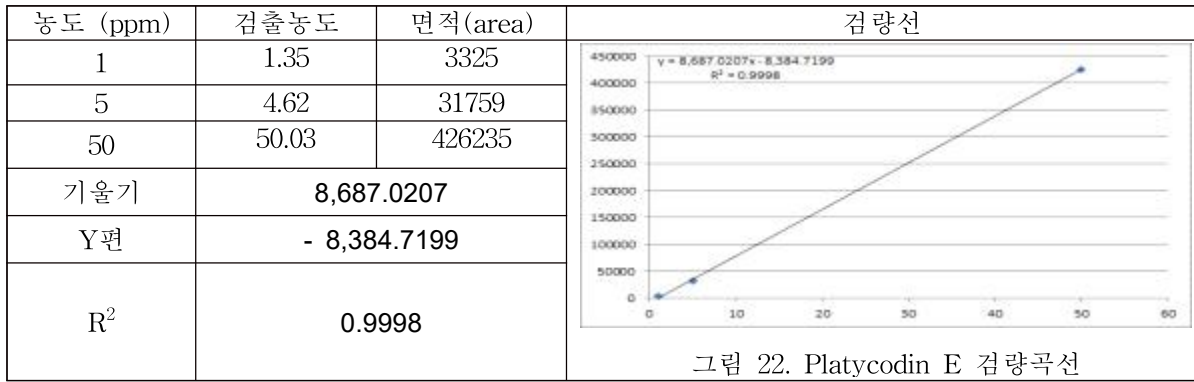
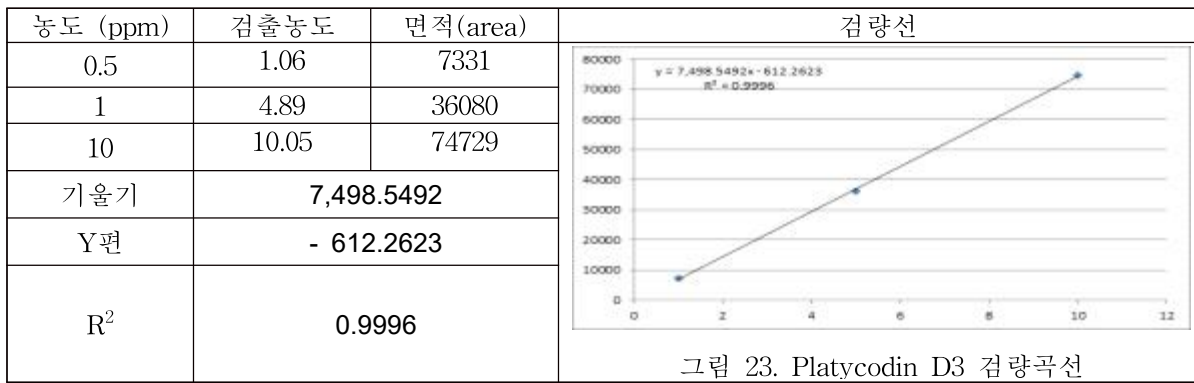


그림 21. 도라지 지표성분 분석 결과

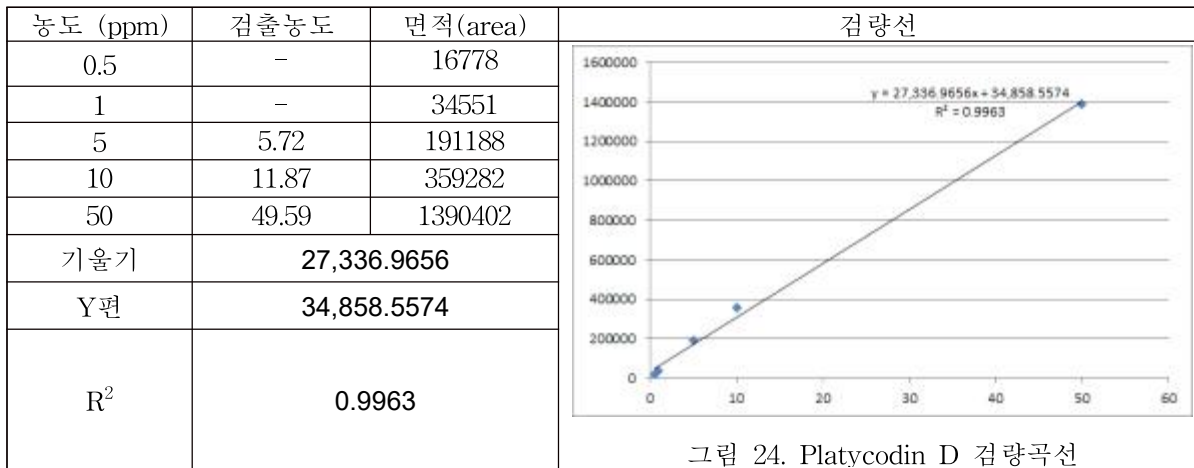
4-1) platycodin E 표준품 검량곡선



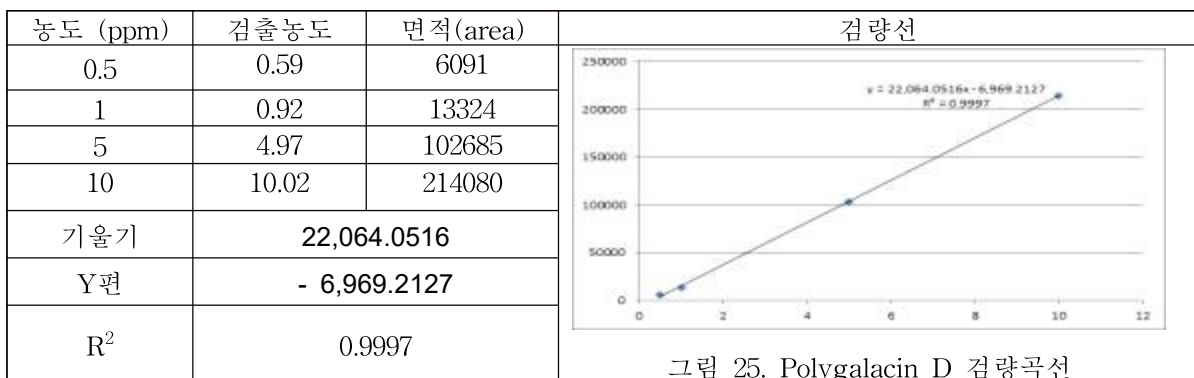
4-2) platycodin D3 표준품 검량곡선



4-3) platycodin D 표준품 검량곡선



4-4) polygalacin D 표준품 검량곡선



5) 추출 조건별 platycodin E, platycodin D3, platycodin D, polygalacin D 함량

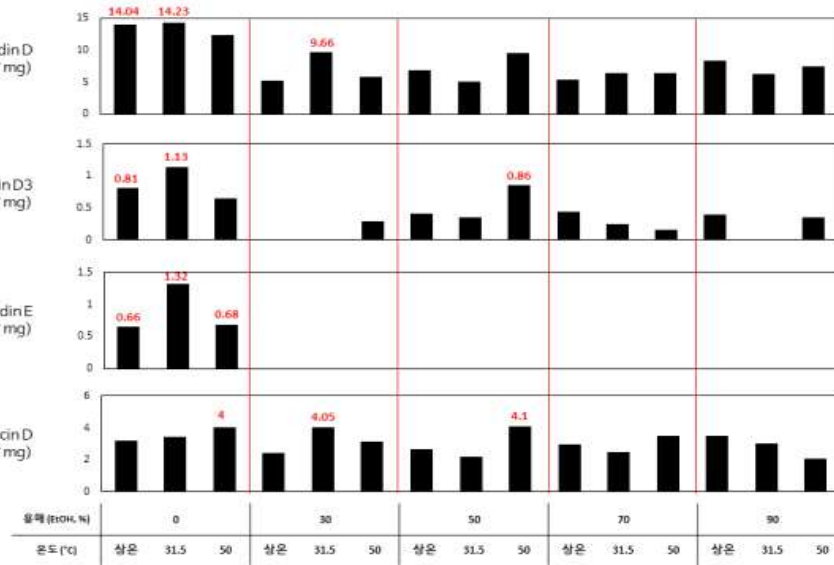


그림 26. 추출 조건별 지표성분 함량 (추출물 g 당 mg)

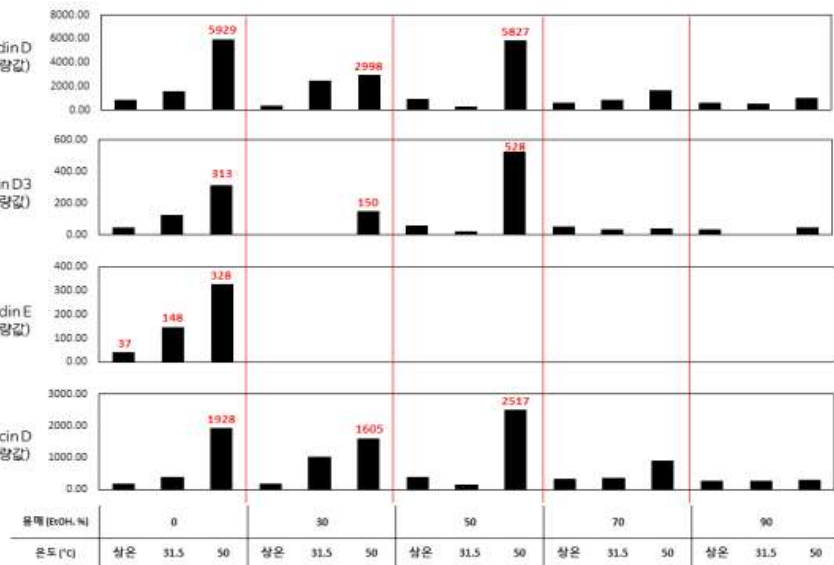


그림 27. 추출 조건별 지표성분 함량 (수율 반영 값)

- 도라지의 지표성분인 platycodin E, platycodin D3, platycodin D, polygalacin D의 최적 추출 조건을 확인 하기 위하여 다양한 조건으로 추출 진행
- 100% D.I.W._ 50°C 조건에서 platycodin E의 함량이 가장 높았음.
- 50% EtOH_ 50°C 조건에서 platycodin D3의 함량이 가장 높았음.
- 100% D.I.W._ 50°C 조건에서 platycodin D의 함량이 가장 높았음.
- 50% EtOH_ 50°C 조건에서 polygalacin D의 함량이 가장 높았음.

■ 2차년도 연구 수행 내용 및 결과

1. 기능성분 안정성을 고려한 lab-scale 추출조건 실증

○ 1차년도 결과 기반 추출 진행 후 분석 실험 완료

- 전처리 조건

: 시료 - MeOH/D.W. 혼합용매를 이용하여 2,000ppm 조제

: syringe filter unit(nylon 0.25 μ m, 0.45 μ m)을 이용하여 각 검체를 filtering 진행 후 분석 진행

: 표준품 sulforaphene은 MeOH로 희석하여 농도범위 0.5~100ppm으로 조제

- LC-MS/MS 조건

: Instrument - Agilent Technologies 6410 Triple Quad

: Column - Kromasil C18 (3.0mm x 150mm, 30 μ m)

: Solvent - A; 0.1% Formic acid in Water,

B; 0.1% Formic acid in Acetonitrile

: Flow rate - 0.4mL/min

: Injection volume - 5 μ L

- MS Condition

: Ionization Mode (- ESI, scan mode)

: Gas Temperature (350 $^{\circ}$ C)

: Capillary Volt (4000V)

: Nebulizer (40psig)

: Fragmentor (135V)

- 재배 조건 및 품종에 따른 차이 확인(Chromatography)

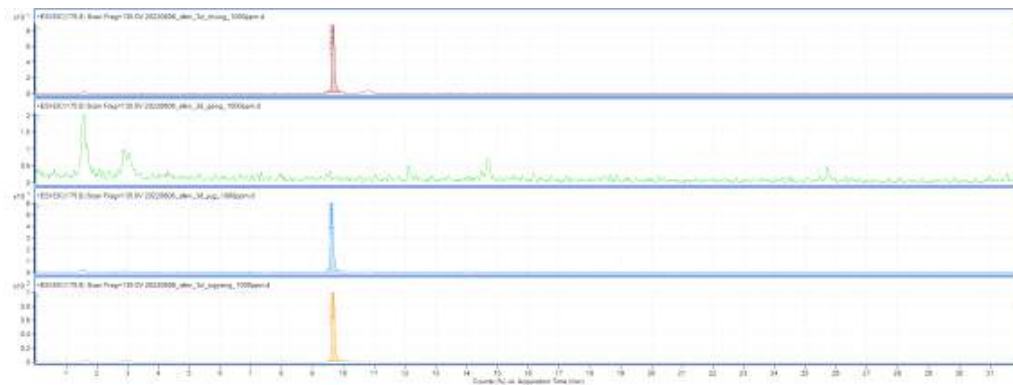


그림 28. 3일 수돗물 재배 후 분석 결과 (청무, 강화순무, 적무, 적양무)

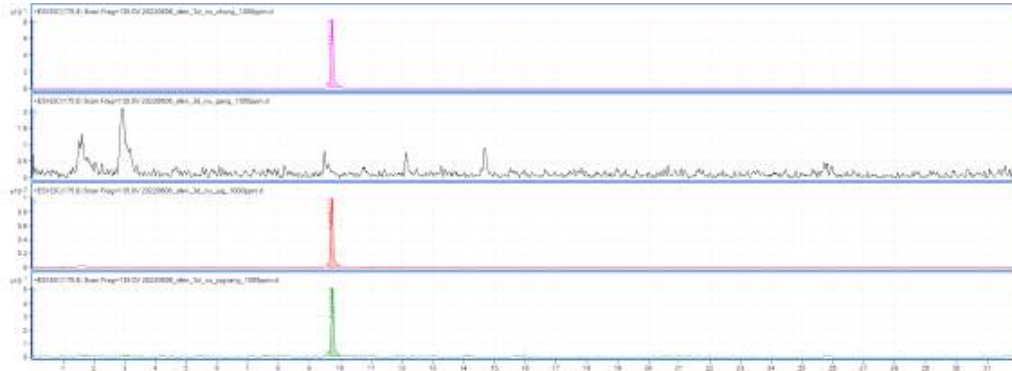


그림 29. 3일 양액 재배 후 분석 결과 (청무, 강화순무, 적무, 적양무)

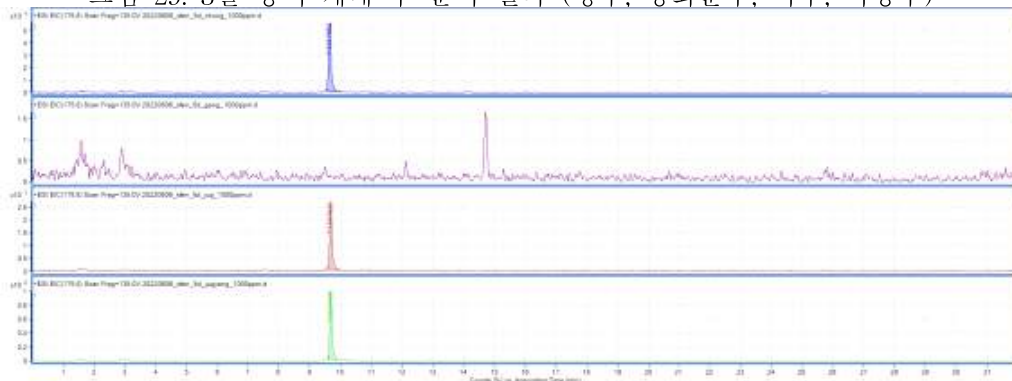


그림 30. 5일 수돗물 재배 후 분석 결과 (청무, 강화순무, 적무, 적양무)

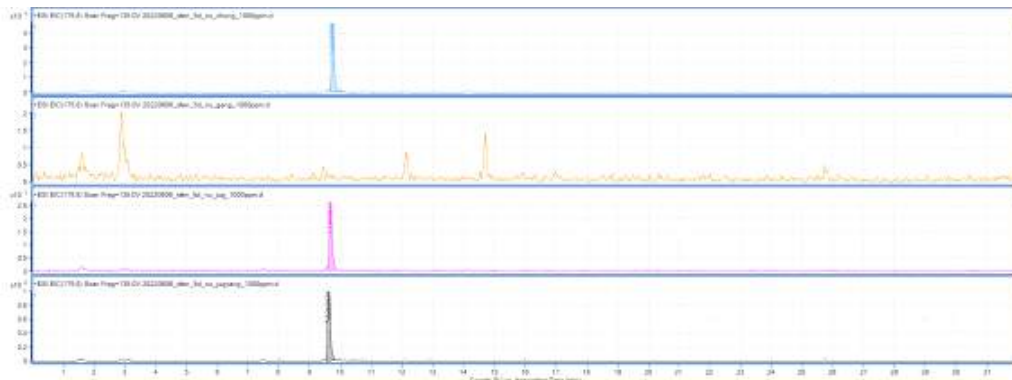


그림 31. 5일 양액 재배 후 분석 결과 (청무, 강화순무, 적무, 적양무)

- sulforaphene 표준품 검량곡선

농도 (ppm)	검출농도	면적(area)	검량선
1	1.18	2,948,691	
10	9.78	11,050,582	
50	50.04	48,967,360	
기울기	941,818.4517		
Y편	1,838,569.1480		
R ²	0.9999		

그림 32. Sulforaphene 검량곡선

- 분석 결과

: lab-scale 최적 조건 확립 완료 및 적양무 3일 수돗물 재배 시 최적화 확인

표 3. 최적화된 생산 조건에 따른 조건별 설폴라핀 함량 확인

검체	sulforaphene	
	area	추출물 g당 함량 (mg)
청무_3일_수돗물	7,256,465	5.75
강화순무_3일_수돗물	N.D.	-
적무_3일_수돗물	5,129,063	3.49
적양무_3일_수돗물	8,432,444	7.00
청무_3일_양액	3,744,478	2.02
강화순무_3일_양액	N.D.	-
적무_3일_양액	4,505,407	2.83
적양무_3일_양액	2,311,591	0.50
청무_5일_수돗물	3,317,860	1.57
강화순무_5일_수돗물	N.D.	-
적무_5일_수돗물	1,597,825	LOQ>
적양무_5일_수돗물	5,853,408	4.26
청무_5일_양액	2,790,098	1.01
강화순무_5일_양액	N.D.	-
적무_5일_양액	1,619,917	LOQ>
적양무_5일_양액	6,242,474	4.68

*N.D. : Not detected

2. 소재 추출공정 표준화

○ 무 특성 및 주요 지표성분 및 유효성분 특징

: 선행연구를 기반으로 십자화과인 무와 핵심 유효성분인 sulforaphene의 특징을 주로 연구함.

○ 십자화과 식물에 주로 포함된 성분 특징 조사 결과

: Glucosinolates From Cruciferous Vegetables and Thier Potential Role in Chronic Disease: Investigating the Preclinical and Clinical Evidence, Frontiers in Pharmacology, 2021)

: Glucosinolate류, Isothiocyanate류가 다량 분포함을 확인함

: Glucosinolate, Isothiocyanate 모두 생리활성에 대한 다양한 보고가 되어 있으며, Glucosinolate가 Isothiocyanate로 변화하며 기능성이 강화되는 경우가 있음.

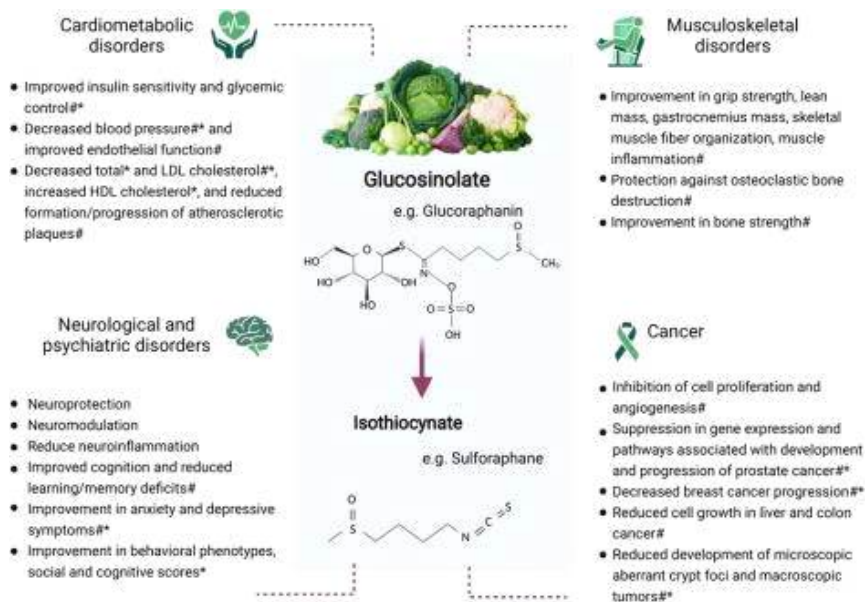


그림 33. Glucosinolate와 Isothiocyanate의 다양한 생리활성

○ 관능평가 기준서 작성

: lab-scale에서 제작된 샘플을 바탕으로 소비자 관능 평가를 진행하고자 다음과 같은 표를 작성하였음. 본 표에 따른 결과에 따라 sulforaphene 특유의 향을 최소화할 수 있는 방향의 소재화, 제품화 전략 설계가 필요함을 인지하였음. 특히, 추출액의 경우 거슬리는 향의 정도가 강하여, 추출 분말의 형태로 최종 소재를 개발하기로 결정함.

표 4. 무순 추출물 관능평가 기준서

평가 점수		추출액 (#1)	추출분말 (#2)
1	색깔		
2	거슬리는 향		
3	인공적인 느낌		
4	단맛		
5	쓴맛		
6	매운맛		
7	식후 1시간 이내 속쓰림		
8	전반적인 느낌		

○ 소재 추출 공정 수립 및 생산 진행

표 5. 소재 추출 공정 요약문

		생산 조건
1	투입 및 교반	원물 10kg, 20배수, 증류수
2	추출	상온(25°C), 3시간
3	데칸타	-
4	원심분리	4°C, 2000rpm, 30min
5	여과	카트리지 1마이크론
6	농축	40°C 이하, 4시간
7	냉동	-18°C
8	동결건조	-70°C 이하, 72시간

○ 추출 수율 및 함량 분석

: 원물 10kg(수분 제거 시 약 2kg 내외 예상)으로부터 최종 200g의 추출 분말을 최종 획득 함

: sulforaphene 함량 분석 진행 중

: 추후 함량 분석 이후 공정 개선 등을 통한 sulforaphene 추출 최적화 방안 확정 예정

: 최종 추출액 기준 건조감량 97.5% (공정 개선 시 변동 가능)

3. 제품적용을 위한 특성 프로파일링

○ 무순 소재 특성 연구

: 학술 연구 조사

- 2021년 Biomedicine & Pharmacotherapy 저널에 게재된 연구에 의하면, 무순이 DSS에 의해 유도되는 장염을 예방하는 효능이 있음.

- 2019년 Journal of Food Science에 게재된 연구에 의하면 적무순이 Carbon Tetrachloride에 의해 유도되는 간 손상을 예방하는데 도움을 주는 것으로 알려짐.

- 이외에도 브로콜리와 함께 다양한 기능성을 갖는 유효성분을 포함하는 성분으로 알려져 있음.

: 소비자 인식 조사

- 무순을 활용하여 기능성 원료를 개발하거나 건강 지향 식품에 활용하는 사례는 거의 없음.

- 그럼에도 불구하고 무순에 풍부한 isothiocyanate의 피부 미용, 혈액 순환 및 심혈관 질환 예방, 두뇌 발달에 도움, 면역 증진 등에 대한 소비자들의 인식이 형성되어 있음.

○ 설포라핀 특성 연구

: 2022년 Separation & Purification Reviews에 게재된 논문에 의하면 수용성 배지, 고온, 염기성 환경 및 다양한 용매 하에서 다소 불안정성을 갖는 것으로 알려져 있음.

: 이를 통제하기 위해 pH를 2.0 이하로 설정하거나, 금속 이온을 첨가하는 방법, 수분 최소화, 산화 반응 방지를 위한 항산화제 추가를 통한 보관 등이 제시되고 있으며 향후 이 내용을 참고하여 소재 개발 후 보관, 제품 개발 등에 활용할 예정임.

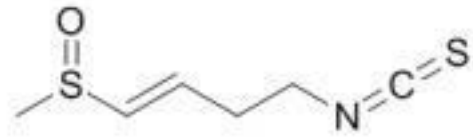


그림 34. Sulforaphene 구조

4. 시제품 개발 및 시장 조사

○ 제품 적용을 위한 무순 추출 분말 제조

： 품목신고 완료 및 1회 생산 완료



그림 35. 무순 추출 공정별 시료

○ 시제품 개발 및 기획

1) 다이어트 두유 기획 및 시제품 개발

- 컨셉보드

Key Concept	다이어트 기능성 두유		
	체지방 감소 기능성 표시 일반식품	특허 원료 : 무순/내복자 추출물	저당/저지방
개발 배경	<ul style="list-style-type: none"> 그린커피빈주정추출물이 식약처 허가를 받음(체지방 감소 기능성 표시 가능) 기존 다이어트 음료와 기능성으로 차별화 가능 (살이 찌지 않는 음료 X, 살이 빠지는 음료 O) 서울대의 기술력이 높아있는 무순, 내복자에 대한 소재화, 제품화 필요 두유는 그 자체로도 다이어트 시에 많이 섭취하는 음료군이므로 컨셉의 일관성이 있음 		
제품 특징	<ul style="list-style-type: none"> 기능성 표시 : 본 제품에는 체지방 감소에 도움을 줄 수 있다고 알려진 그린커피빈주정추출물이 들어 있습니다. 약콩분말 대신 약콩유산균발효물을 사용하여 부드러운 목 넘김 재현 무순/내복자의 실포라핀에 대한 서울대 특허 표기 가능 		
제품 상세	<ul style="list-style-type: none"> 식품유형: 두유 용량 및 가격: 190ml/本, 미정 포장형태 : 멸균팩 타겟 : 20~30대 여성 	<ul style="list-style-type: none"> 예상 원료 원액두유(대두), 약콩유산균발효물, 분리대두단백, 그린커피빈주정추출물, 정제소금, 해조분말, 유근피 추출액, 내복자추출물분말, 무순추출분말, 치커리 추출물 예상 원재료비 : 190~220 원/팩 	

그림 36. 다이어트 음료 컨셉보드

- 시제품 개발 계획



그림 37. 다이어트 음료 배합

- > 그린커피빈주정추출물을 적용하여 기능성표시식품(체지방 감소에 도움을 줄 수 있다고 알려진)으로 개발하고자 함.
- > 2회의 서로 다른 배합을 통해 테스트를 진행하였음. 최종 배합으로 차년도 중 시제품 개발 및 최종 제품을 개발하고자 함.
- **배합은 완료되었으나 시생산 업체 일정이 6개월 이상 예상되어 차년도에 시생산 진행 예정임.**

2) 다이어트 초콜릿 기획 및 시제품 개발

- 컨셉보드

Key Concept	맛있는 다크초콜릿, 당 0%로 즐기자 카카오 함량 72% 혈당 걱정없어 식이섬유 강화 날개 포장으로 섭취량 가능
제안 배경	<ul style="list-style-type: none"> ▪ 혈당 걱정하는 분을 위한 다크 초콜릿 ▪ 건강하다고 알려진 카카오 고함량 다크초콜릿을 더욱 건강하게 ▪ 기존 설탕함유 초콜릿은 섭취 후 설탕의 끈적임으로 뒷맛이 좋지 않음
제품 상세	<ul style="list-style-type: none"> ▪ 식품유형 : 초콜릿 ▪ 제조사 : 로알제과 ▪ 용량 : 90 g (5g x 18ea) ▪ 판매가 : 8,900 ~ 11,000원 ▪ 타겟 : 유지어터를 지향하는 20~30대 여성, 혈당 걱정하는 60~70대 남녀 ▪ 예상원료 : 무설탕 다크커피버취72%(코코아매스(싱가폴산), D-말티톨, 코코아버터(싱가폴산), 대두레시틴, 코코아분말(싱가폴산), 유근피추출분말), 무순추출분말, 아카시아식이섬유
제품 특징	<ul style="list-style-type: none"> ▪ 대체당인 말티톨 사용으로 당함량 0% ▪ 리얼초콜릿으로 카카오 고함량 제품 ▪ 카카오 자체의 식이섬유 외에 식이섬유를 추가하여 장건강에도 도움을 줄 수 있는 초콜릿 기획 ▪ 5g 날개 포장으로 식이조절 가능 > 식단 계획에 용이

그림 38. 초콜릿 제품 컨셉보드

- > 당류가 전혀 포함되지 않았으며, 무순 추출 분말을 컨셉 원료로 사용하여 다이어트 및 당 관리를 중요시하는 현대인들을 타겟으로 한 초콜릿을 개발함.
- > 디자인 작업을 진행 중이며, 연내 최종 제품 컨셉을 확정하고 차년도 상반기 중 제품 생산 및 판매가 가능하도록 기획 중임. **최종 배합을 확정하여 금년 중 시생산을 진행하고, 배합 확정 이후 표시사항 등을 반영한 최종 디자인 안을 확정할 예정임.**
- > 3차년도 중으로 체지방 감소와 연관된 당류가 전혀 포함되지 않은 제품을 최종 출시할 예정임. 이 때 원료로 무순 추출 분말을 활용함으로써 무가당의 건강함과 무순의 체지방 감소 컨셉을 바탕으로 초콜릿에 의해 체중이 증가하는 것을 우려하는 소비자를 공략할 예정임. 개발된 제품은 (주)밥스누 자사몰(www.bobsnu.com)을 비롯하여 온라인 쇼핑몰 채널을 활용하

여 매출을 증진할 예정이다.



그림 39. 초콜릿 패키지 디자인 1안

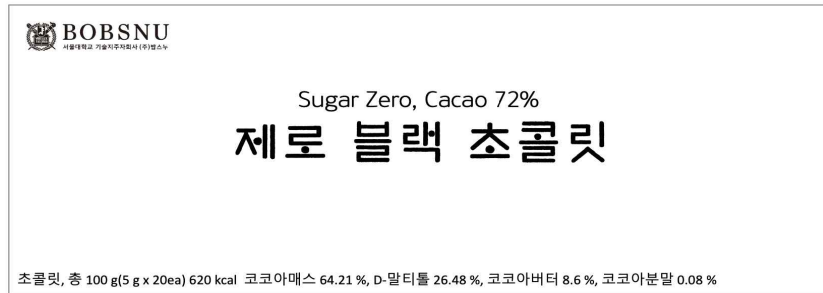


그림 40. 초콜릿 패키지 디자인 2안

3) 식물성 음료 기획

- 컨셉보드

Key Concept	P-프로틴(Phyto-Protein)		
	밥스누 formula 식물성혼합액	귀리 권장섭취량 10% 충족	20가지 이상의 식물성원료
제안 배경	<ul style="list-style-type: none"> 건강과 환경, 다이어트 니즈 증가 친환경라이프스타일로 고단백 식물성음료 선호 우유대체제 필요 : 고단백, 고칼슘 식물성음료 <ul style="list-style-type: none"> 우유 영양정보(190ml 기준) 단백질 : 5.85g 칼슘 : 215mg 프리미엄 단백질 공급원 원두콩 관심 증가 		
제품 상세	<ul style="list-style-type: none"> 식품유형 : 가공두유, 멸균제품 용량 : 190ml 타겟 : 다이어터, 건강지향고객, 남녀노소 예상 원료 : 식물성혼합액(약콩추출액,귀리페이스트,코코넛밀크분말,원액두유), 정제수, 원두단백, 아몬드페이스트, 볶은귀리분말, 19곡 혼합추출농축액, 무순추출분말, 백설탕, 정제소금, 대두레시틴, 유근피추출액, 해조칼슘, 당공향 등 		
제품 특징	영양설계	배합설계	맛방향
		<ul style="list-style-type: none"> 밥스누 S.N.U formula 식물성혼합액 한국인 소화흡수에 용이한 친숙한 원료 사용 <ul style="list-style-type: none"> 곡류(귀리,대두,약콩 등) 귀리 권장섭취량 10% 충족 (권장량17g) 식물성단백질로 7g 고단백 충족(125kcal 이하) 칼슘 권장섭취량 32% 충족(226mg) 원두40알에 해당하는 단백질 함유 : 0.6336g 	<ul style="list-style-type: none"> 고소한 곡물맛(곡류혼합) 부드러운 마스킹 문온한 단맛 → 맛타켓제품: 매일두유 식이성유

그림 41. 식물성음료 컨셉보드

> 무순추출분말이 함유된 식물성 음료로, 최근 확대되고 있는 식물성 음료 시장에서 건강, 다이어트를 지향하는 소비자를 타겟으로 하는 제품을 개발하고자 기획함. **본 제품은 추가 기획을 바탕으로 차년도 중 시제품 개발 및 테스트를 진행할 예정이다.**

> 식물성음료 시장은 최근 MZ세대의 건강, 다이어트 등에 대한 관심, 비건 등 사회, 환경 문제에 대한 관심 등으로 꾸준히 성장하고 있음. (주)밥스누는 명확한 타겟 설정을 바탕으로 타겟을 효과적으로 공략할 수 있는 제품 기획을 진행하고 있음. 이를 통해 체지방 감소에 관심을 갖는 소비자가 많은 식물성음료 시장에서의 경쟁력을 확보하고 매출을 증진하고자 함. 이 과정을 통해 개발되는 제품은 (주)밥스누 자사몰 및 온라인 쇼핑몰 등에 입점하여 제품 판매를 진행할 예정이며, 특히 건강 지향 소비자들이 주로 이용하는 채널을 탐색하여 판매처로써 활용할 예정이다.

■ 3차년도 연구 수행 내용 및 결과

1. 체지방 감소 기능성 강화 소재를 활용한 제품개발

○ 제품 적용을 위한 무순 추출 분말 추가 제조

: 배합비율 변경에 따른 품목제조보고 수정 및 원료 재생산 완료

변경사항	변경 전	변경 후	변경사유
원재료 또는 성분 명 및 배합비율	무순(100%)	무순(50%)(수정), 엑스트라(50%)(신규)	
소비기한 설정사유	해당없음		

그림 42. 배합비율 변경 후 품목제조보고서

○ 체지방 감소 기능성분이 강화된 소재를 이용한 제품개발

: 신제품 3종 품목제조보고·신고 및 출시 완료 (발주량에 따라 계속해서 생산 진행)
온가족 멀티 유산균, 쇼코아틀리에 비건 다크초콜릿, 알부민 골드 플러스



그림 43. 체지방 감소 기능성 소재를 활용한 개발 제품

> 무순의 설포라핀 함량이 증진된 소재 사용.

> 체지방 감소 기능성분의 함량이 증진된 당귀, 인삼을 활용한 복합소재 사용.

1) 온가족 멀티 유산균

밥스누 특허 유산균인 L.plantarum CLP0611을 비롯한 17종의 생유산균을 배합하여 건강한 장 내 환경조성에 도움을 줄 수 있는 건강기능식품.

- 제품 컨셉보드

Concept board		건강기능식품 / 1종
CAT/SKU		에스랩 신바이오틱스 유산균
제품명		공동구매
STP	Major Market	건강기능식품 > 하드캡슐
	Seg	20대 이상
	Target	장건강을 위한 제품
	Positioning	프리바이오틱스 (17종), 아연, 비타민D, 셀렌
기능성 물질		MOQ : 포장1 5,000세트, 포장2 1,667세트 (300,030 캡슐) 포장1 : 6캡슐 X 5 PTP / 포장2 : 6캡슐 X 5 PTP X 3 박스 생산 및 출시일 : 23년 10월 초 출시 목표 (생산 9월 까지 완료)
제품 상세		밥스누(서울대 마크 포함)
Brand		유산균 : 유산균 600억 투여, 유산균 100억 보장, UAS LABS 유산균 사용, 상온 보관 유산균
강점		5 가지 무점가 (합성향료, 카제인나트륨, 착색료, 결정셀룰로스, 보존료) 2 식이섬유 (아카시아식이섬유, 치커리식이섬유) / 장에 좋은 2 신바이오틱스 (프로바이오틱스 + 프리바이오틱스)
차별점		1. 서울대 마크 2. 100억 유산균 최대로 투입 3. 600억 유산균을 넣어 안정성 높은 제품
제품 구성 및 패키지		6캡슐 X 5 PTP (최소 판매단위)
타겟 제품		오은영 락티브 프로바이오틱스
타겟 소비자가 (VAT 포함)		공동구매 : 24,900원(1개월), 78,300원 [3개월 +1개월, 18,450원(1개월)] 온라인 : (정상가) 49,000 (할인가 26,000원)
타겟 원가 (VAT 포함)		8,800 (1개월), 초기 협상가

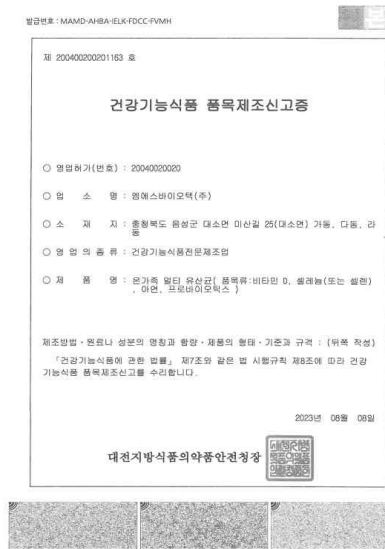
그림 44. 유산균 제품 컨셉보드

> 한 캡슐에 600억의 프로바이오틱스 투입을 통해 100억 CPU 보장하며, 무순추출분말을 컨

섭 원료로 사용하여 장 건강과 함께 체지방 관리에 도움을 줄 수 있도록 한 ‘온가족 멀티 유산균’을 개발함.

- > (주)밥스누 자사몰(www.bobsnu.com)을 비롯한 온라인 쇼핑몰 채널을 활용하여 판매를 진행 중이며, 2023년 12월까지 총 매출액 4,703,023원 (기여율 60% 적용)을 달성함.
- > 과제 종료 후에도 지속적인 효율적인 마케팅 방안 및 유통채널 모색을 통해 매출을 계속해서 증진할 예정임.

- 제품 사진 및 품목제조신고서



2) 쇼코아틀리에 비건 다크초콜릿

제로 슈거(zero sugar)와 비건(vegan)을 컨셉으로 카카오 함량 약 56%의 벨기에산 리얼 초콜릿을 사용하여 풍부한 맛을 지니는 다크 초콜릿.

- 제품 컨셉보드

Concept board		비건 초콜릿 / 1종	
CAT/SKU		비건 초콜릿 / 1종	
제품명		쇼코아틀리에 비건 다크 초콜릿	
Major Market		오아시스 마켓 / 온라인(자사몰)	
Seg		과자/베이커리 > 초콜릿	
STP	Target	2030 여성	
	Positioning	초콜릿 선물 / 간편한 간식	
TPO	Time	1. 공부할 때 간단한 간식이 필요한 1020 학생 및 수험생 (서울대학교 제품으로 마케팅 소구) 2. 건강하고, 다이어트에 도움이 되는 간식이 필요한 2030 여성 (무순추출분말 소구) 3. 지구의 환경 및 건강에 관심이 많은	
	Place		
	Occasion		
제품 상세		제조사 : 씨엔미 MOQ : 4,000 set 포장 : 슬리브 단가 : 협의 중 생산 및 출시일 : 10월 초 예상	
Brand		밥스누_쇼코아틀리에	
Product Design	강점	1. 비건도 맛있게 즐길 수 있는 초콜릿 2. 날개 포장으로 간편하게 즐길 수 있는 초콜릿 3. 노 슈가 타입으로 건강하게 즐길 수 있는 초콜릿	
	차별점	1. 밥스누 특허 물질 무순추출분말 함유(체지방 감소에 도움을 줌)	
개발요청사항		1. 필수 함유 원료 : 무순추출분말 2. 날개 중량 5g 타입 3. 카카오 함량 56% 타입	
제품 구성 및 패키지		5g x 27ea / 135g	
타겟 소비자가		16,500원	
타겟 원가		5,200원 (예상)	

그림 45. 초콜릿 제품 컨셉보드

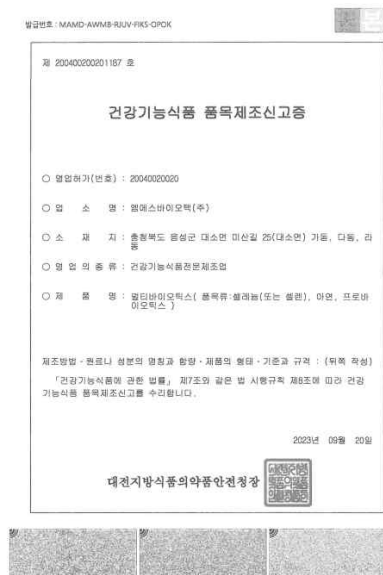
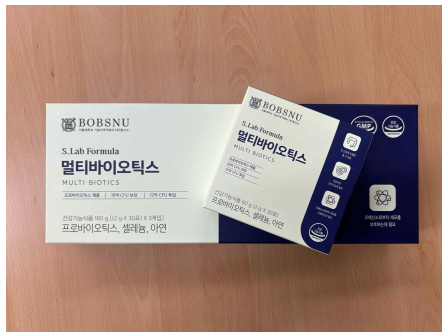
> 설탕 대신 대체당인 말티톨을 사용하여 ‘당’ 관리에 신경 쓰는 소비자들을 겨냥한 무설탕 비건 다크 초콜릿으로, 체지방 감소에 도움을 줄 수 있는 무순추출분말을 컨셉 원료로 사용

4) 멀티바이오틱스

생균 72억(10억 CFU 보장) 유산균을 비롯, 셀레늄 및 아연을 함께 배합하여 장 건강 포함 3 가지 복합 기능성을 가짐으로써 건강 유지에 도움을 줄 수 있는 건강기능식품.

- > 유산균 72억 CFU를 투입하여 프로바이오틱스 10억 CFU를 보장하는 차별점을 가진 유산균으로, 기능성 원료로써 유산균, 셀레늄과 아연을 사용함과 동시에 체지방 감소에 도움을 줄 수 있는 무순추출분말을 컨셉 원료로 사용하여 차별점을 가진 ‘멀티바이오틱스’를 개발함.
- > 1세대 프리바이오틱스부터 3세대인 신바이오틱스까지 더 좋은 원재료를 활용한 프리미엄 제품에 대한 수요가 증가하고 있는 트렌드에 대비하여 특히 유산균을 활용한 신제품을 개발함.
- > 판매처인 에이치엔에이치를 비롯한 옥션, G마켓 등 온라인 쇼핑몰 채널을 활용하여 판매를 진행 중이며, 2023년 12월까지 총 매출액 원 (기여율 60% 적용)을 달성함.

- 제품 사진 및 품목제조신고서



5) 식물성 단백질 음료 (가칭: 파이토테이 그린프로틴)

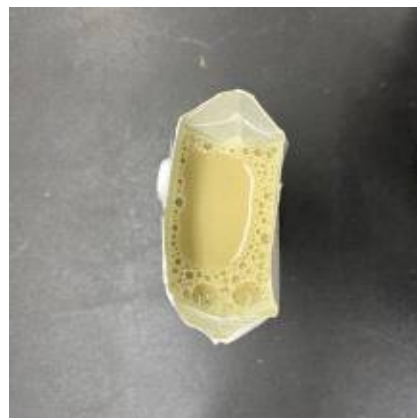


그림 46. 식물성 단백질 음료 시생산품

- > 최종 디자인이 나오기 전 시생산을 시행하여 기존의 순진한 약콩두유 패키지에 포장되어 나옴

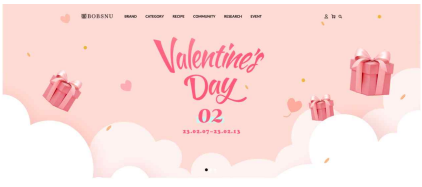
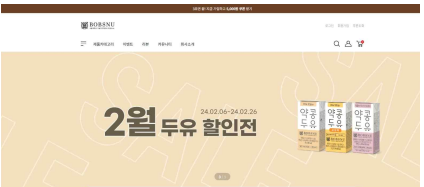


- > 2023년 7월경까지 여러 번의 서로 다른 배합으로 테스트를 진행하였으며, 시생산 이후 확정된 최종 배합으로 2023년 하반기 중 제품 개발 및 출시하고자 하였음.
 - 배합 및 시생산까지 완료되었으나 기능성 원료인 그린커피빈추출물의 단가를 적용하였을 때 완제품의 판매 단가가 상승하여 타겟 시장 재정의 및 타겟층 변경 등 전반적인 판매 전략의 수정이 필요하다고 판단함. 따라서 시장조사부터 타겟 선정 등 제품의 재기획을 통해 보완책 마련 후 추후 생산 진행 예정임
- > 그린커피빈추출물과 특허 물질인 무순추출분말을 적용하여 기능성포시식품(체지방 감소에 도움을 줄 수 있다고 알려진)으로 개발하고자 함.
- > 체지방 감소를 기능성으로 소구한 식물성 프로틴 음료로, 유기농 새싹보리를 사용하여 산뜻한 맛을 지님. 다이어트 등 건강에 관심이 많은 2030 여성을 주타겟으로 즐겁게 건강관리 할 수 있다는 점을 어필.
- > 오아시스, 쿠팡,마켓컬리 등의 온라인 커머스에서 판매하는 것을 목표로 함.

- 디자인



그림 47. 식물성 단백질 음료 패키지 디자인 1안

2. 상용화를 위한 마케팅 전략 및 유통채널 확인

<p>온라인 유통망 탐색</p>	<ul style="list-style-type: none"> - B2B 마케팅 및 제품 판매 <ul style="list-style-type: none"> > 오픈몰(쿠팡 등)의 경우 판매자와 소비자 간의 거래에 관여하지 않으며 진입장벽이 낮고 판매비용이 비교적 저렴하다는 점을 활용하여 제품을 판매하는 전략 > 소셜몰은 소셜 미디어 앱에 접속해 있는 동안 게시글, 동영상 등을 통해 제품을 발견하고 관심 있는 제품에 관해 더 알아볼 수 있도록 링크 등을 제시하여 구매할 수 있도록 하는 방법. 네이버스마트스토어 등 비즈니스 규모와 상관없이 플랫폼에 있는 도구를 사용하여 홍보가 가능하다는 점을 활용하여 제품을 판매하는 전략 > 종합몰(롯데ON, GS샵 등)은 전문 MD를 통해 허가를 받은 후 철저한 관리 감독 하에 상품을 판매하는 채널으로 충성고객을 확보할 수 있다는 장점이 있지만 입점이 힘들다는 단점이 있음 → 바이어 발굴 - B2C 마케팅 및 제품 판매 <ul style="list-style-type: none"> > 단골 구매 및 판매 활성화를 위해 자사몰을 활용하여 세트 판매 할인 등의 프로모션을 활용하여 제품을 판매하는 전략 > SNS에서 수십만 명의 구독자(팔로워)를 보유한 인플루언서를 통해 게시글 작성, 라이브방송, 공동구매 등의 행위를 하여 제품을 판매하는 전략
<p>오프라인 유통망 탐색</p>	<p>다양한 오프라인 채널을 활용하여 도달 범위, 참여 및 판매 전환을 극대화할 수 있도록 함. 또한, 적극적인 홍보 활동을 통해 브랜드 인지도를 구축하고 고객 충성도를 높일 수 있도록 함.</p> <ul style="list-style-type: none"> - 기존 협력 매장에서의 판매 <ul style="list-style-type: none"> > 이마트, 홈플러스와 같은 대형마트와의 네트워킹 강화 > (주)온누리스토어와 같은 약국체인 물품공급 계약을 통해 제품의 인식을 개선하고 프리미엄화 하는 방안을 통해 판매를 촉진하는 전략. - 매장 내 경험 강화 <ul style="list-style-type: none"> > 고객 참여 유도: 브랜드 홍보 스탠드 혹은 부스를 설치하여 시연 및 샘플링 등의 활동을 통해 고객과 직접 소통하는 방법 활용 > 독점 매장 내 프로모션: 더 높은 거래를 장려하기 위해 버들 제품 할인, 매장 구매 전용 특별 할인 프로모션 등을 통해 구매 유도 - 커뮤니티 참여 <p>식품 박람회 등의 커뮤니티 참여를 통해 브랜드 인지도를 높이고 고객과 소통하여 친밀도를 높임</p> - 피드백 분석 및 시장조사 <p>설문 조사, 소비자 행동 연구 등을 통해 고객 의견 및 제안을 수집하고 고객의 요구 사항을 이해하여 향후 마케팅 전략 및 제품 개발에 대한 통찰력 얻기</p>
<p>자사몰 개편 및 제품 판매</p>	<ul style="list-style-type: none"> - 자사몰 최적화 및 리뉴얼 <div style="display: flex; justify-content: space-around;">   </div> <div style="display: flex; justify-content: space-around; margin-top: 10px;">   </div> <p style="text-align: center; margin-top: 20px;">그림 48. 자사몰 홈페이지 리뉴얼 전(왼쪽), 후(오른쪽)</p>

- > 고객 흐름과 제품의 가시성 개선을 위한 레이아웃 재구성
- > 바이럴 마케팅용 이미지 컷 제작
- > 유산균 등 업데이트된 제품군(신제품) 추가
- > 자사몰 내 리뉴얼 이벤트를 통해 고객 유입 및 구매 유도



그림 49. 리뉴얼 이벤트 배너 이미지

판매전략 구축 및
진행

- 정보형 SNS 계정 개설을 통한 적극적인 제품 홍보



그림 50. 인스타그램(SNS) 공식 계정 프로필 이미지

(공동1) 스마트팜을 이용한 설포라핀 고함량 무순 대량생산 시스템 개발

■ 1차년도 연구 수행 결과

1. 품목별 적정 재배 환경 구명

○ 수직농장 내 단계별 재배기간 설정 및 적정 환경 구명

- 광량에 따른 무순 품종별 생육 특성

: 실험 개요

㉠ 공시품종 : 청무, 적무

㉡ 과중량 : 5g

㉢ 광질 : Cool White

㉣ 광조사 시간 : 수확 전 96h

㉤ 온도 : 주간 21℃/야간 19℃

㉥ 습도 : 90±5%

㉦ 재배일수 : 7일

㉧ 표본 추출법 : 정식 개체 중 무작위로 5주 샘플링

㉨ 조사 항목 : 경장, 생체중

: 광량 처리 : 50, 100, 200, 300 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$

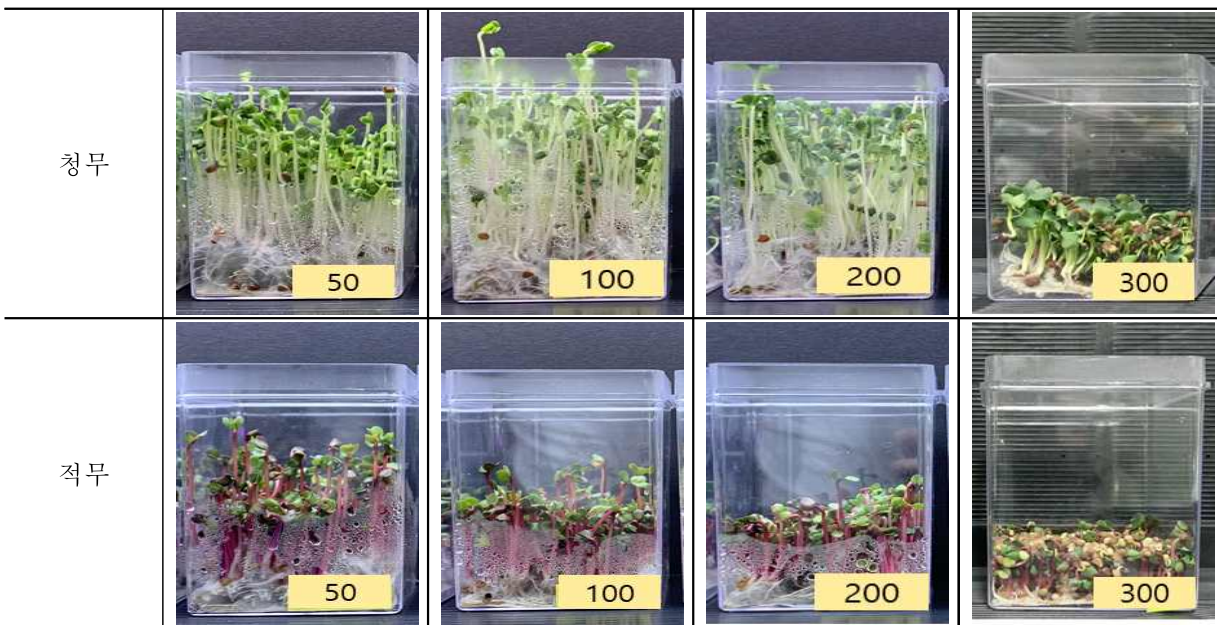


그림 51. 광량에 따른 품종별 생육 상태

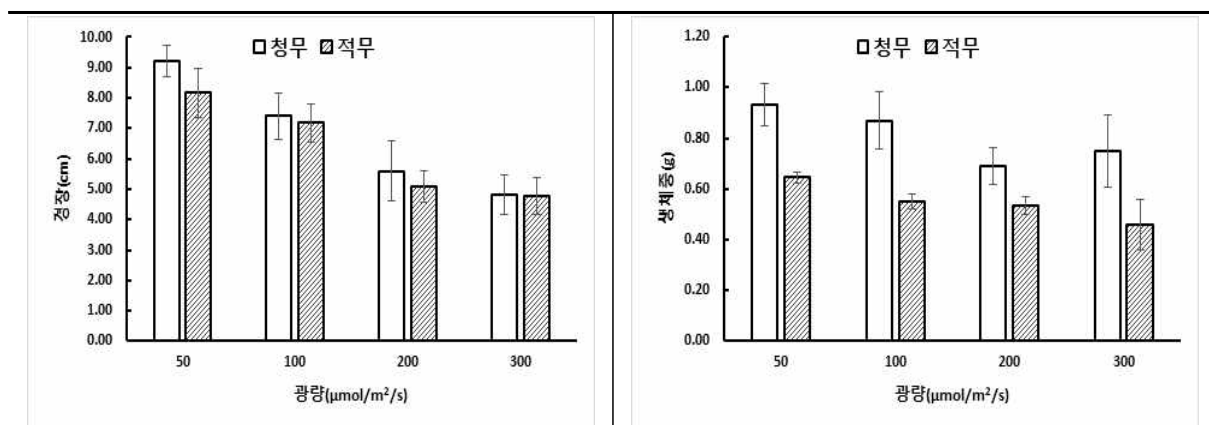


그림 52. 광량에 따른 품종별 경장 및 생체중

- > 청무 및 적무의 생육은 광량이 $50\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$, $100\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ 일 때 증가하는 경향을 보인 반면, $200\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ 이상에서는 2품종 모두 감소하는 것으로 나타나, 무순재배는 저광량 환경이 유리하다고 판단되었음.
- > 품종에 따른 생육은 청무에서 경장과 생체중 모두 우위를 보였으나, 기능 성분 함량에 대한 비교 분석을 통한 품종 선정이 필요할 것으로 사료됨.

- 저광량 환경에서의 무순 품종별 생육 특성 및 기능 성분 함량

: 실험 개요

- ㉠ 공시품종 : 청무, 적무
- ㉡ 파종량 : 25g
- ㉢ 광질 : Cool White
- ㉣ 광조사 시간 : 수확 전 96h
- ㉤ 온도 : 주간 21°C /야간 19°C
- ㉥ 습도 : $90\pm 5\%$
- ㉦ 재배일수 : 7일
- ㉧ 표본 추출법 : 정식 개체 중 무작위로 5주 샘플링
- ㉨ 조사 항목 : 경장, 생체중, 설포라핀 함량

: 광량 처리 : $50, 100, 150\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$

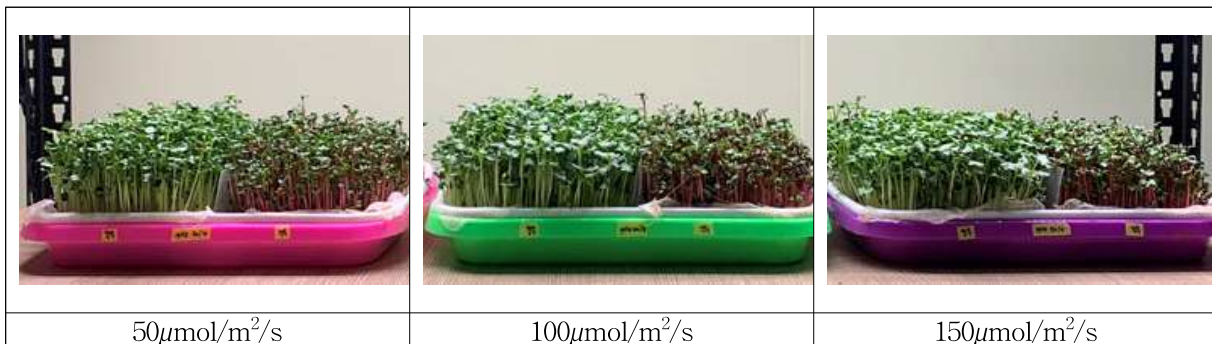


그림 53. 광량에 따른 품종별 생육 상태

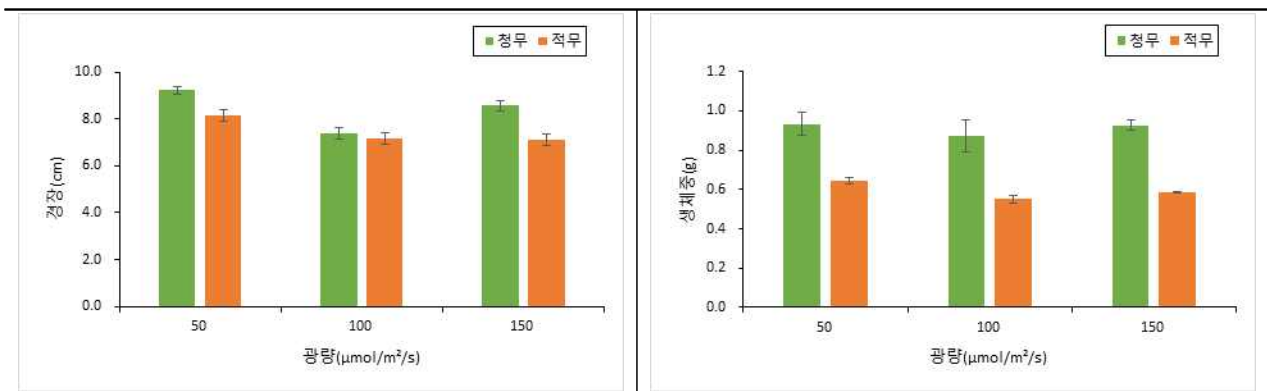


그림 54. 광량에 따른 품종별 경장 및 생체중

- > 청무의 생육은 $50\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ 처리에서 경장 및 생체중이 각각 9.22cm, 0.932g으로 양호한 반면, $100\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ 처리에서는 생육이 저조한 것으로 나타났음.

> 적무에 있어서도 $50\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ 처리에서 경장 및 생체중이 각각 8.16cm, 0.645g으로 높게 나타났으나, 광량이 증가할수록 청무와 동일한 생육 특성을 보였음.

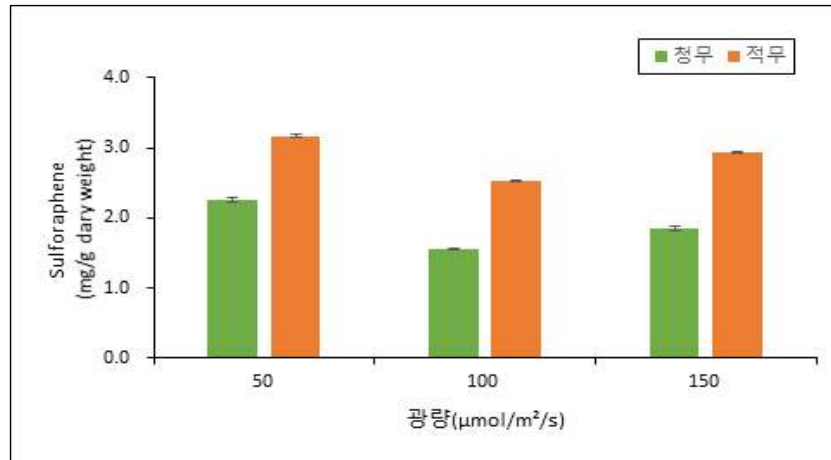


그림 55. 광량에 따른 품종별 설폴라핀 함량

> 설폴라핀 함량은 광량이 $50\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ 일 때, 청무와 적무에서 각각 $2.256\text{mg}/\text{g}$, $3.174\text{mg}/\text{g}$ 로 높게 나타났으나, $100\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ 처리에서는 낮은 경향을 보였음.

> 품종별 설폴라핀 함량에 있어서는 적무에서 청무 대비 1.53배 정도 높은 것으로 나타났음.

- 드럼식 새싹 생산시스템 활용 무싹 실험

: 실험 개요

- ㉠ 공시품종 : 적무, 적양무
- ㉡ 광질 : Cool White
- ㉢ 광량: $50\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$
- ㉣ 광조사 시간 : 수확 전 24h
- ㉤ 온도 : 주간 21°C /야간 19°C
- ㉥ 습도 : $90\pm 5\%$
- ㉦ 재배일수 : 3, 6일
- ㉧ 표본 추출법 : 정식 개체 중 무작위로 5주 샘플링
- ㉨ 조사 항목 : 경장, 생체중

: 재배시스템 조건 : 두상관수, 드럼식

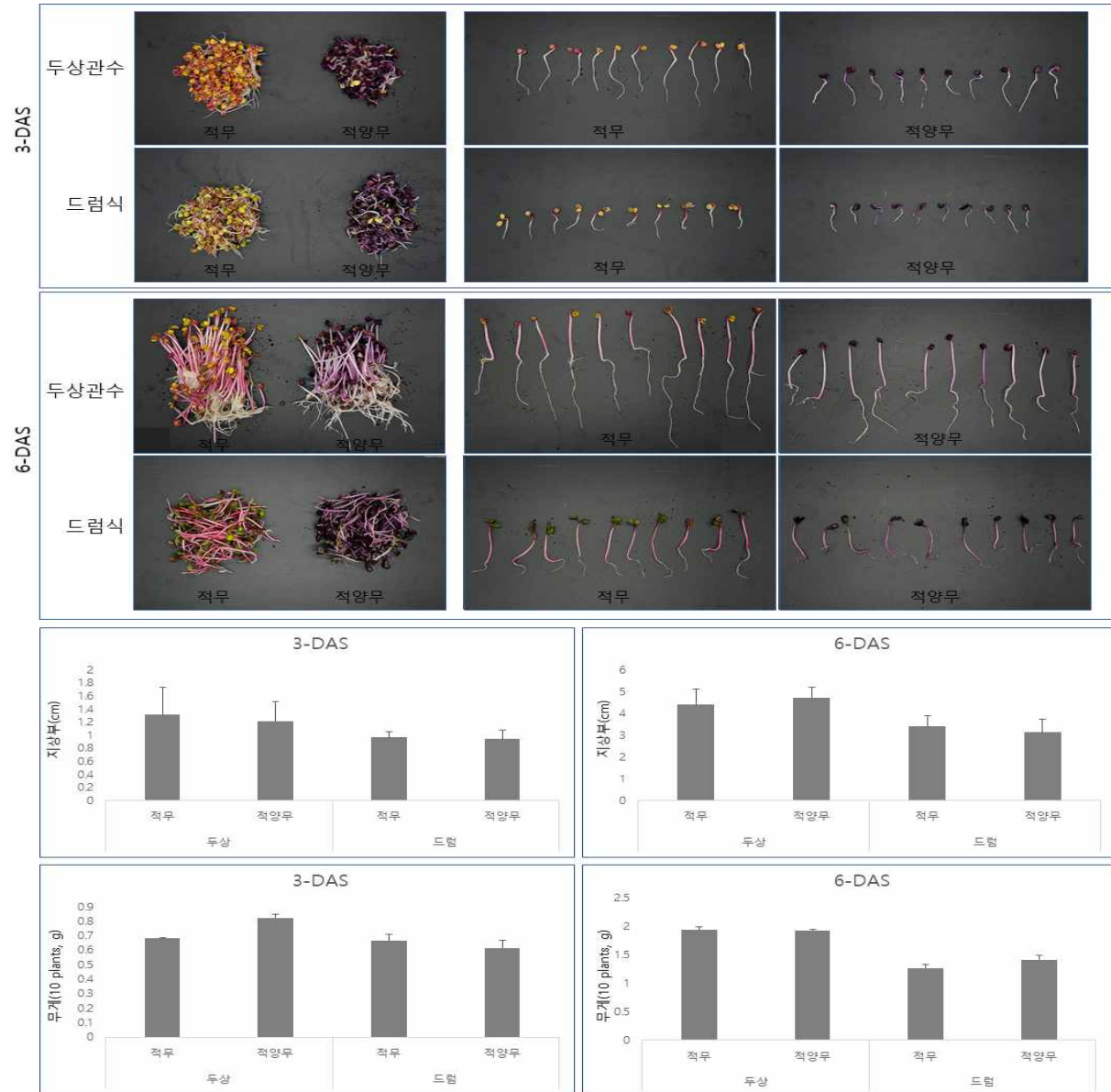


그림 56. 재배시스템별 생육지표

> 드럼식 새싹 재배의 경우 두상관수에 재배에 비해 뿌리 발달이 더딘 것으로 나타났고, 지상부의 길이 및 생체량의 경우 두상관수 재배에서 생육이 양호한 것으로 확인되었음.

○ 기능성 물질 증진을 위한 재배기술 개발

- 광조사 시간에 따른 무순 품종별 생육 및 기능 성분 함량

: 실험 개요

㉠ 공시품종 : 청무, 적무

㉡ 과중량 : 25g

- ㉔ 관수방식 : 담액경
- ㉕ 광량 : $50\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$
- ㉖ 광질 : Cool White
- ㉗ 온도 : 주간 21°C /야간 19°C
- ㉘ 습도 : $90\pm 5\%$
- ㉙ 재배일수 : 7일
- ㉚ 표본 추출법 : 정식 개체 중 무작위로 5주 샘플링
- ㉛ 조사 항목 : 경장, 생체중, 설포라핀 함량

: 광조사 시간은 수확 전 24, 48, 72, 96h

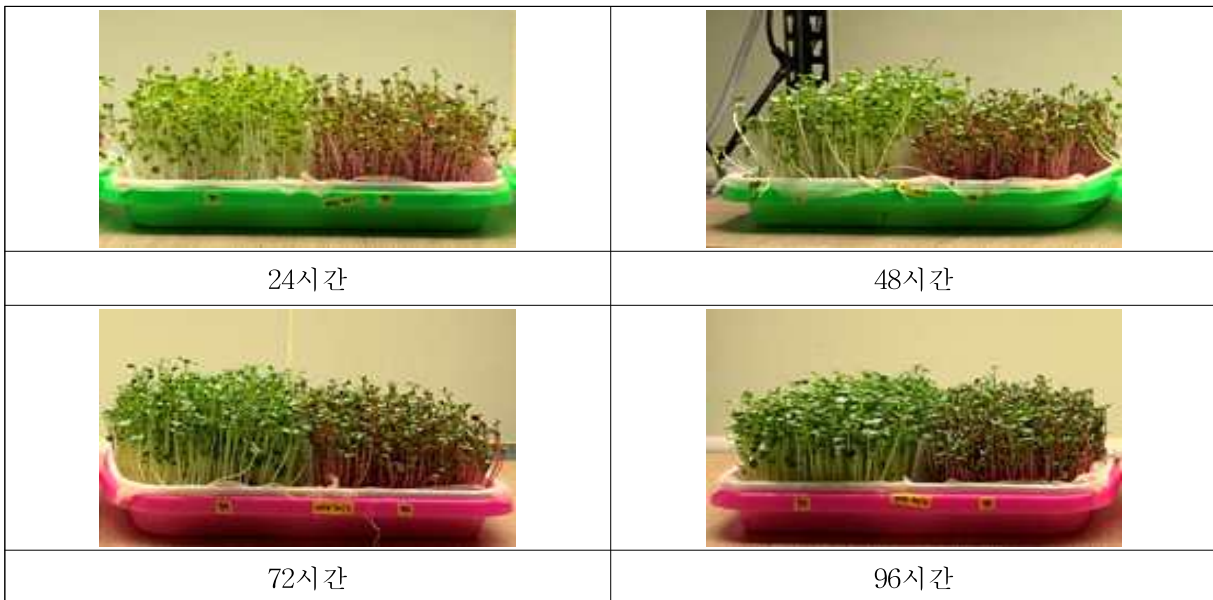


그림 57. 광조사 시간에 따른 청무 및 적무의 생육 상태

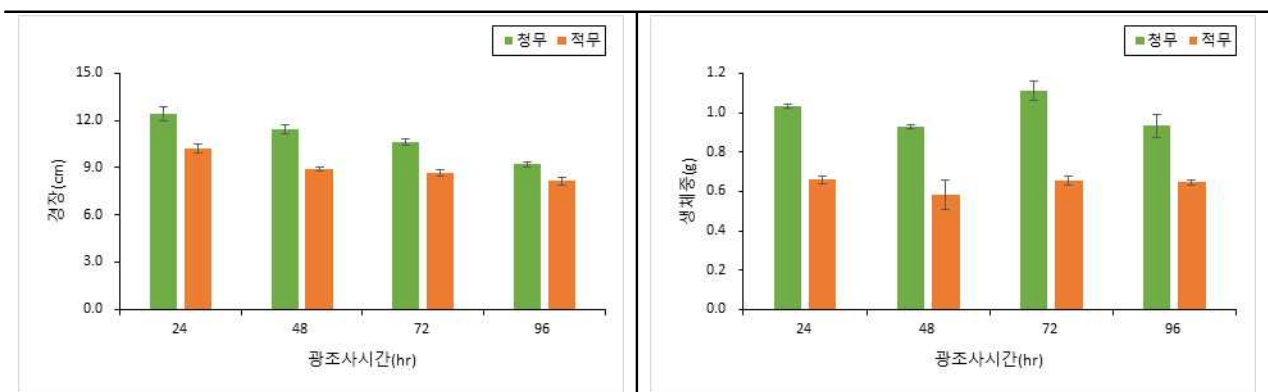


그림 58. 광조사 시간에 따른 품종별 경장 및 생체중

- > 경장은 청무와 적무 모두 광조사 시간이 증가할수록 감소하는 경향을 보였음.
- > 생체중의 경우 청무는 72시간 처리에서 1.1g, 적무는 24시간 처리에서 0.66g으로 가장 높게 나타났음.

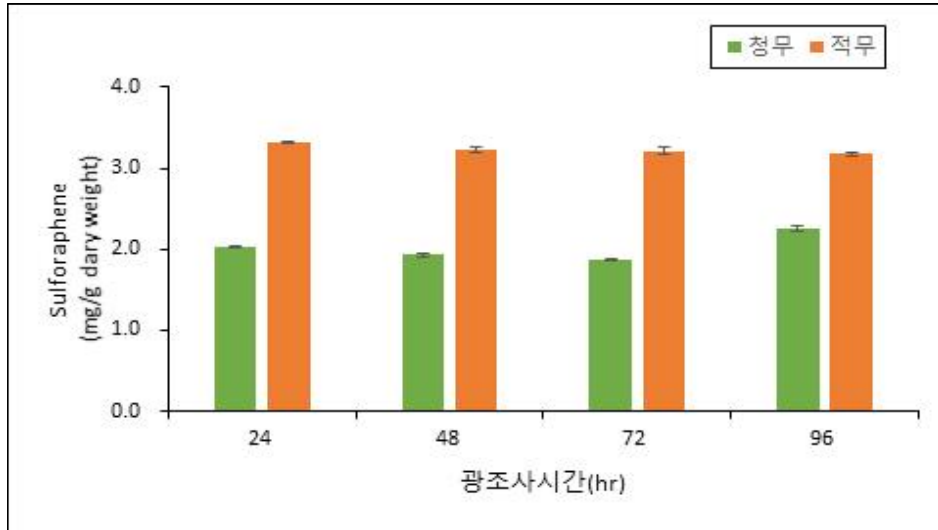


그림 59. 광조사 시간에 따른 청무 및 적무의 설폴라핀 함량

- > 설폴라핀 함량은 청무에서는 96시간 광조사 시 2.036mg/g으로 가장 높은 반면, 적무에서는 24시간 처리 시 3.316mg/g으로 가장 양호하게 나타나, 전혀 상이한 경향을 보였음. 따라서 설폴라핀 함량을 증진하기 위한 광조사 시간으로 청무는 길게, 적무는 짧게 유지하는 것이 바람직하다고 판단되었음.
- > 품종별 설폴라핀 함량을 조사한 결과, 적무는 청무 대비 평균 1.6배 높은 것으로 확인되었음.

- 광량 및 광조사 시간에 따른 무순 품종별 생육 특성

: 실험 개요

- ㉠ 공시품종 : 청무, 적무
- ㉡ 관수방식 : 담액경
- ㉢ 광질 : Cool White
- ㉣ 온도 : 주간 21℃/야간 19℃
- ㉤ 습도 : 90±5%
- ㉥ 재배일수 : 7일
- ㉦ 표본 추출법 : 정식 개체 중 무작위로 5주 샘플링
- ㉧ 조사 항목 : 경장, 생체중, 설폴라핀 함량

: 광량 및 광조사 시간 처리

- ㉠ 광량 : 50, 100, 150μmol/m²/s
- ㉡ 광조사 시간 : 24, 48, 72, 96h

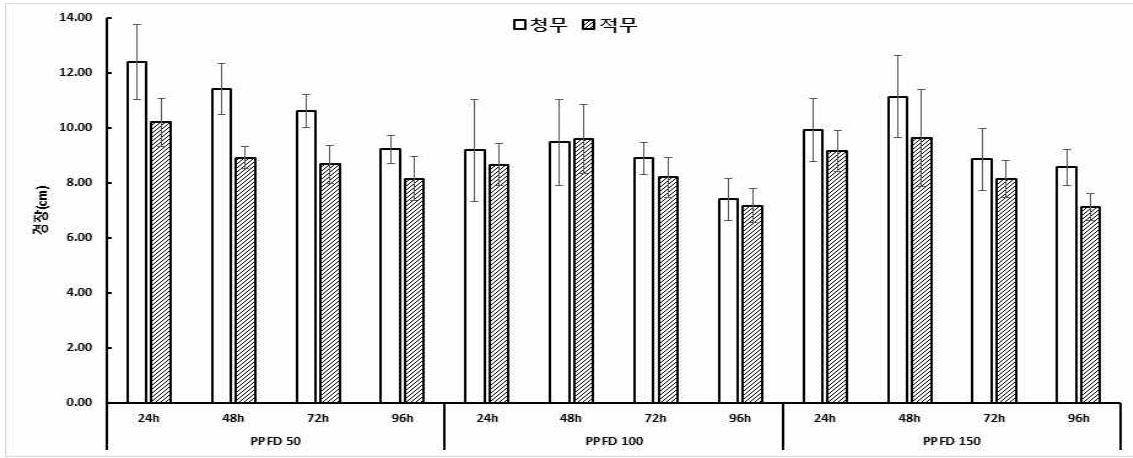


그림 60. 광량 및 광조사 시간에 따른 청무 및 적무의 경장

> 청무와 적무에 있어서 경장은 광량이 낮고, 광조사 시간이 짧을 때, 가장 양호한 생육 양상을 보이는 것으로 나타났다.

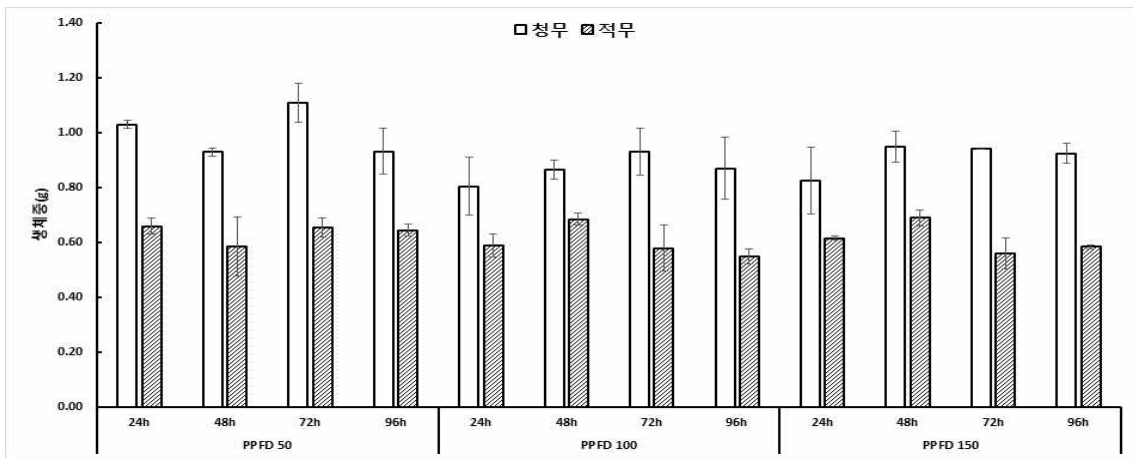


그림 61. 광량 및 광조사 시간에 따른 청무 및 적무의 생체중

> 적무는 광량 및 광조사 시간에 따른 생체중의 변화가 적은 반면, 청무의 경우 광량 50 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ 에서 72시간 조사하였을 때 생체중이 가장 양호하였음.

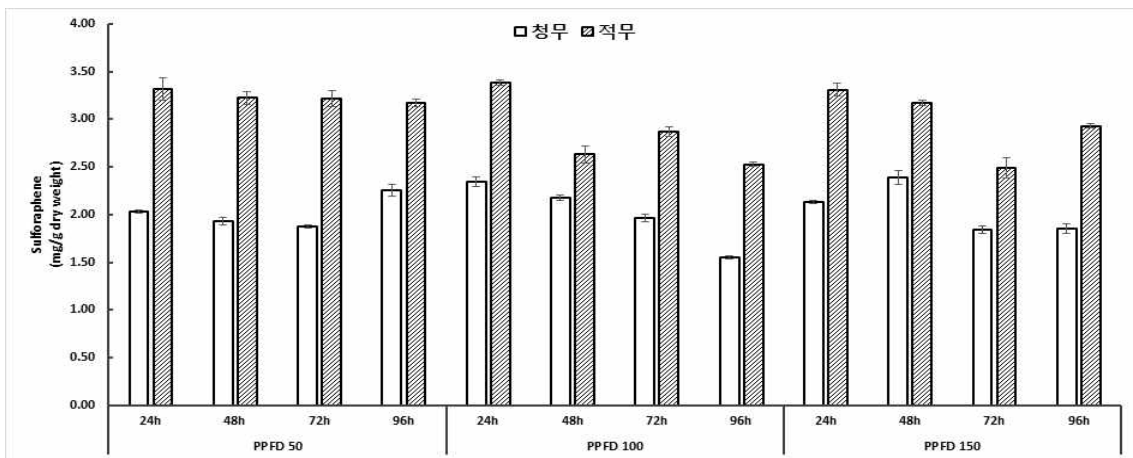


그림 62. 광량 및 광조사 시간에 따른 청무 및 적무의 설폴라핀 함량

> 설폴라핀 함량의 경우 청무와 적무 모두에서 광량 100 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ 에서 24시간 조사하였을 때

함량이 가장 증진되는 것으로 나타났음.

- 광질에 따른 적무의 생육 특성

: 실험 개요

- ㉠ 공시품종 : 적무
- ㉡ 과중량 : 50g
- ㉢ 광량 : 50 μ mol/m²/s
- ㉣ 광조사 시간 : 96h
- ㉤ 온도 : 주간 21 $^{\circ}$ C/야간 19 $^{\circ}$ C
- ㉥ 습도 : 90 \pm 5%
- ㉦ 재배일수 : 7일
- ㉧ 표본 추출법 : 정식 개체 중 무작위로 5주 샘플링
- ㉨ 조사 항목 : 경장, 생체중

: 광질 처리는 Cool White, Cool White+UV-A, Cool White+IR, Cool White+UV-A+IR

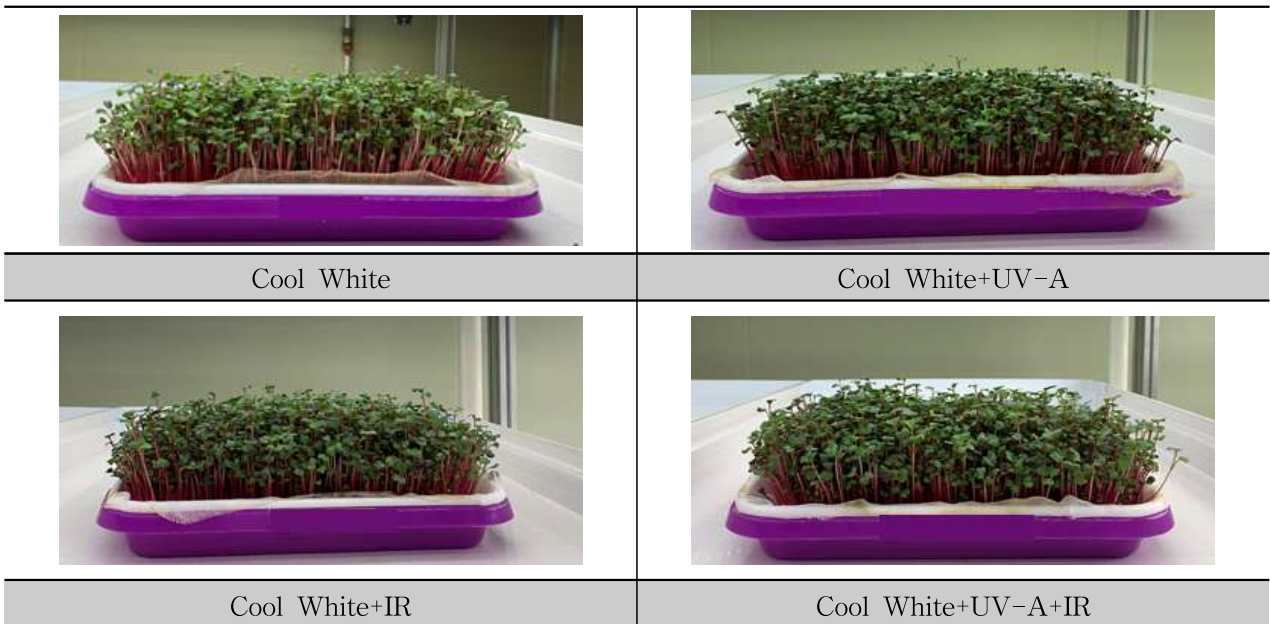


그림 63. 광질에 따른 적무의 생육 상태

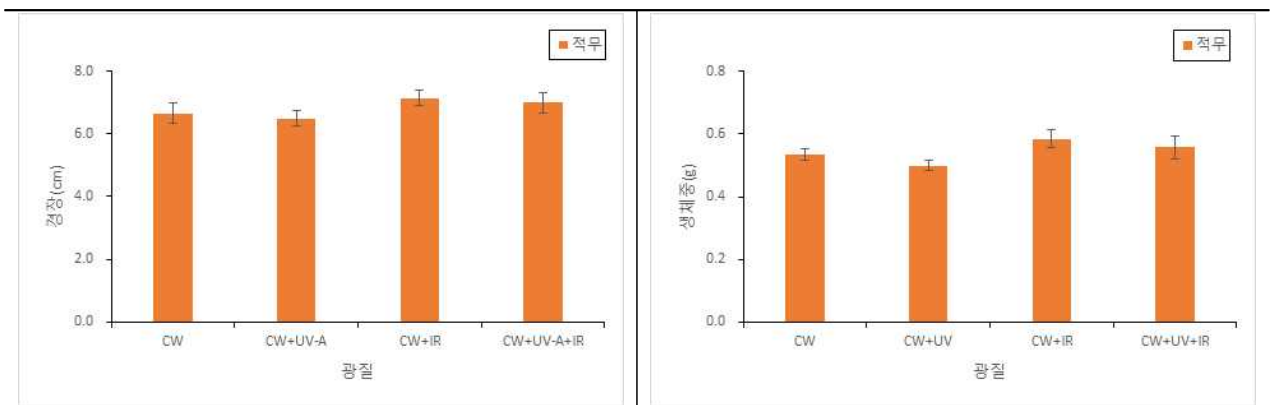


그림 64. 광질에 따른 적무의 경장 및 생체중

> 초장 및 생체중은 Cool White+IR 처리구에서 기타 시험구 대비 양호한 경향을 보였으나,

유의미한 차이는 없었음.

- 양액 농도에 따른 무순의 생육특성

: 실험 개요

- ㉠ 공시품종 : 적무
- ㉡ 광질 : Cool White
- ㉢ 광량 : $50\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$
- ㉣ 광조사 시간 : 96h
- ㉤ 온도 : 주간 21°C /야간 19°C
- ㉥ 습도 : $90\pm 5\%$
- ㉦ 재배일수 : 7일
- ㉧ 표본 추출법 : 정식 개체 중 무작위로 5주 샘플링
- ㉨ 조사 항목 : 경장, 생체중, 설포라핀 함량

: 양액 농도 처리는 1.5, 1.8, 2.1, 2.4dS/m

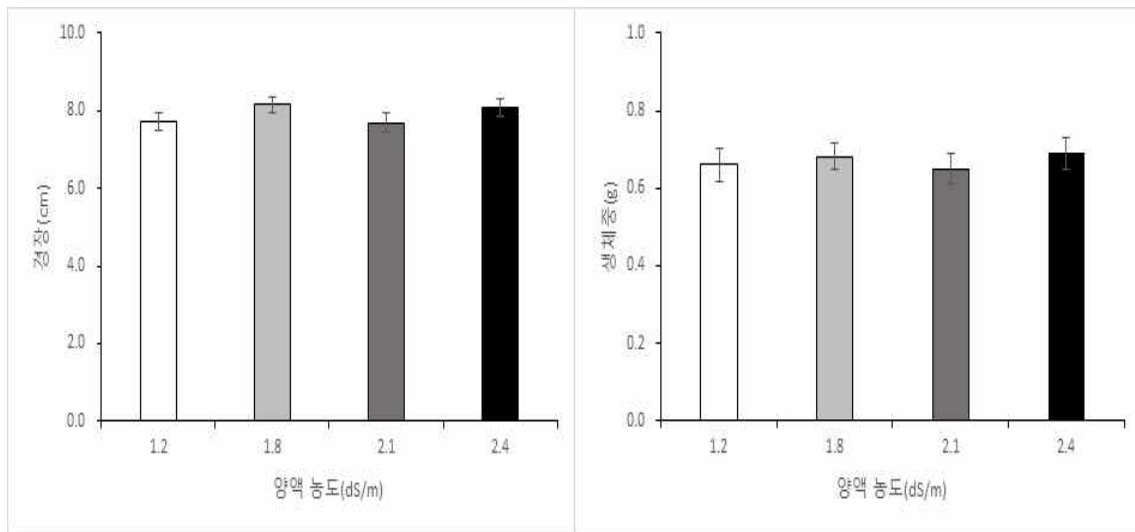


그림 65. 양액 농도에 따른 적무의 경장 및 생체중

> 양액 농도에 따른 무순의 생육 특성을 조사한 결과, 초장은 1.8dS/m에서 8.2cm로 다른 처리구에 비해 양호한 것을 확인할 수 있었고, 생체중 역시 0.68g으로 양호한 생육 양상을 보였다.

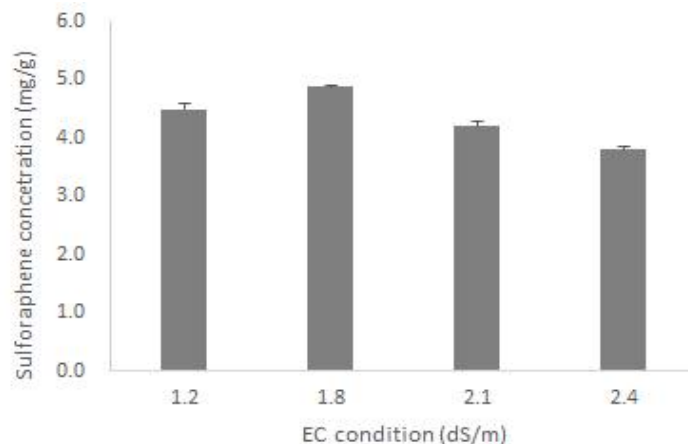


그림 66. 양액 농도에 따른 적무의 설포라핀 함량

> 양액 농도에 따른 적무의 설포라핀 함량은 1.8ds/m의 양액을 사용하였을 때 4.97mg/g dry weight으로 가장 높은 함량을 나타냈고, 양액 농도 2.4ds/m 대비 설포라핀 함량이 1.2mg 높은 경향을 보였음.

- 양액 내 황산염 처리에 따른 무순의 생육특성

: 실험 개요

- ㉠ 공시품종 : 적무
- ㉡ 광질 : Cool White
- ㉢ 광량 : 50 μ mol/m²/s(수확 12시간 전 조사)
- ㉣ 양액 : 배추과 양액
- ㉤ 양액 농도 : 1.2dS/m
- ㉥ 온도 : 주간 21 $^{\circ}$ C/야간 19 $^{\circ}$ C
- ㉦ 습도 : 90 \pm 5%
- ㉧ 재배일수 : 7일
- ㉨ 표본 추출법 : 정식 개체 중 무작위로 5주 샘플링
- ㉩ 조사 항목 : 경장, 생체중, 설포라핀 함량

: 황산염 처리는 1, 2, 3배

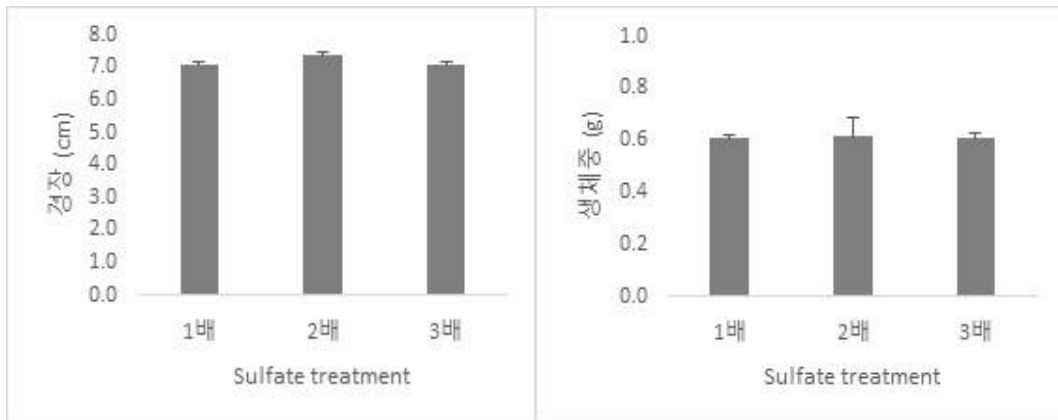


그림 67. 황산염 처리에 따른 적무의 경장 및 생체중

> 황산염 처리에 따른 적무의 생육은 양액에 황산염을 2배 처리하였을 때, 다른 처리구에 비해 양호하였으나, 유의미한 차이는 보이지 않았음.

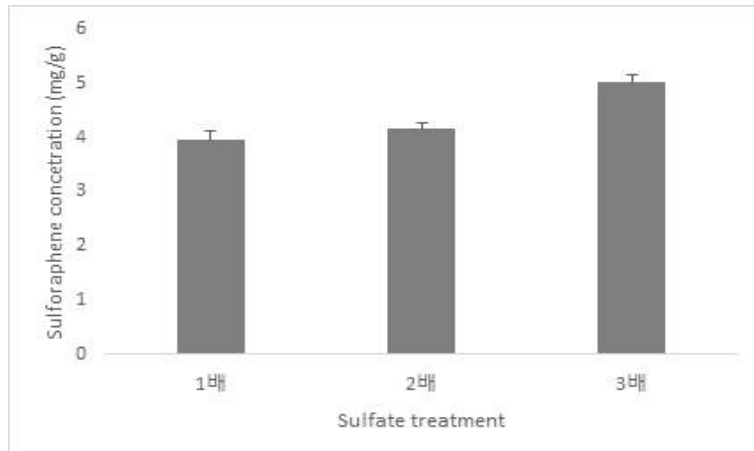


그림 68. 황산염 처리에 따른 적무의 설포라핀 함량

> 양액 내 황산염 처리에 따른 적무 내 설폴라핀 함량은 황산염의 농도가 높을수록 함량이 증가되는 것으로 나타났으며, 대조구 대비 3배의 황산염을 처리하였을 때 1, 2배 처리구에 비해 약 1mg 이상 함량이 증가됨을 확인하였음.

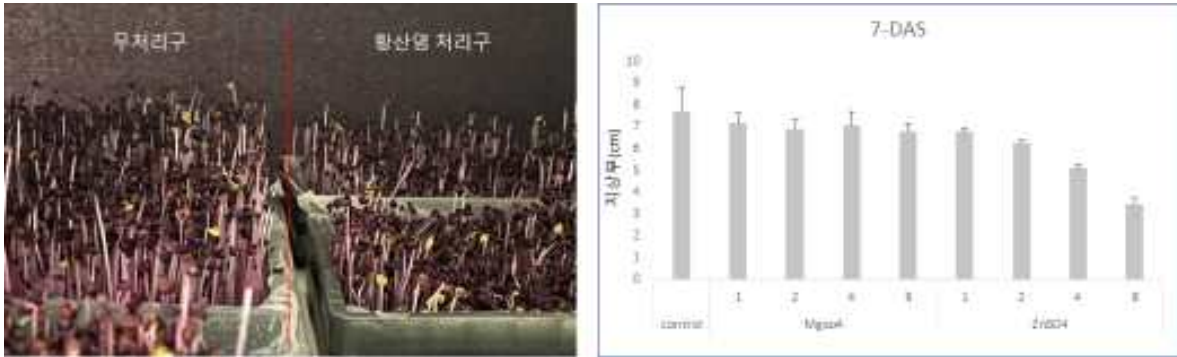


그림 69. 황산염 처리에 따른 적무의 생육 양상

- > 선행 연구의 황산염 처리에 따른 isothiocyanates 계열인 sulforaphane 및 sulforaphene의 함량이 증가한다는 문헌을 참고하여 육묘판에서 저면관수로 재배한 무순에 황산염(MgSO₄, ZnSO₄)를 농도별로 1일 1회 약 20ml씩 스프레이 처리한 후 생육변화를 확인함.
- > 재배 7일 후 MgSO₄ 처리구는 황산염 농도에 따른 생육 변화가 관찰되지 않았으나, ZnSO₄ 처리구에서는 처리 농도가 높아질수록 지상부의 생육이 저해되는 현상이 나타났음.

○ 새싹재배 요인시험장치 설계 제작

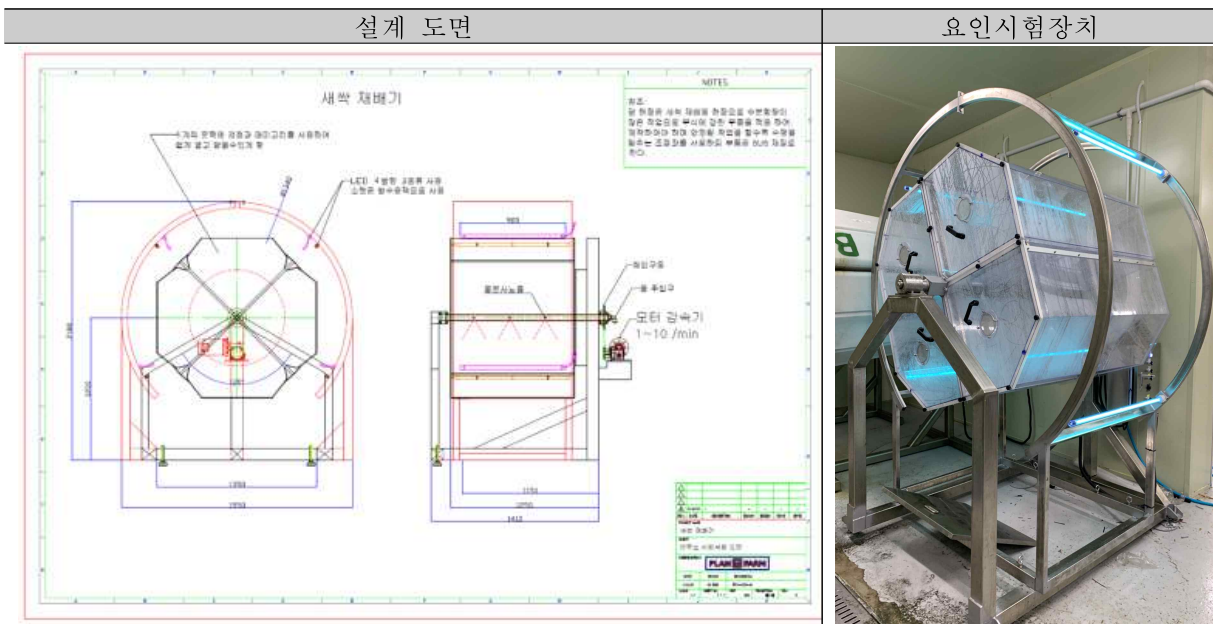


그림 70. 쉘형 새싹재배 요인시험장치 도면 및 구축 상태

> 직립형 다단재배시스템과의 비교실험을 위해 드럼식 재배기, UV 램프(외부), 모터, 컨트롤러 등으로 구성된 쉘형 새싹재배 요인시험장치를 설계 제작하였음.

■ 2차년도 연구 수행 내용 및 결과

1. 품목별 적정 재배시스템 설계 및 구축

○ 양산 테스트용 무순 재배 시설 설계

: 대량생산을 위해 두상관수 방식으로 새싹재배에 적합한 다단 재배시스템을 설계 제작함.

구분	내용
크기	L2400×W1000×H1800mm, 5단
LED	LED lamp는 각 단에 12개씩 총 60개로 구성(PPFD 0~300)
관수 방식	두상관수: 미니 스프링클러를 각 단에 3개씩 총 15개 설치
육묘관	1단에 12개씩 총 60개 배치
비고	재배랙에 약 1~2°경사를 주어 관수된 물이 배출되는 구조

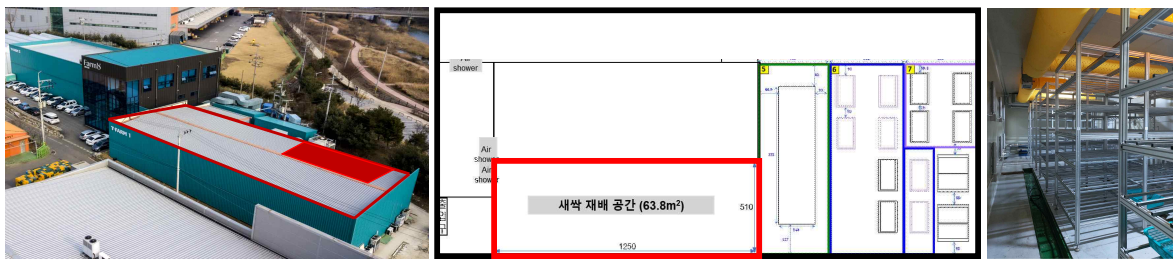


그림 71. 다단 재배시스템 구축 시설 및 레이아웃

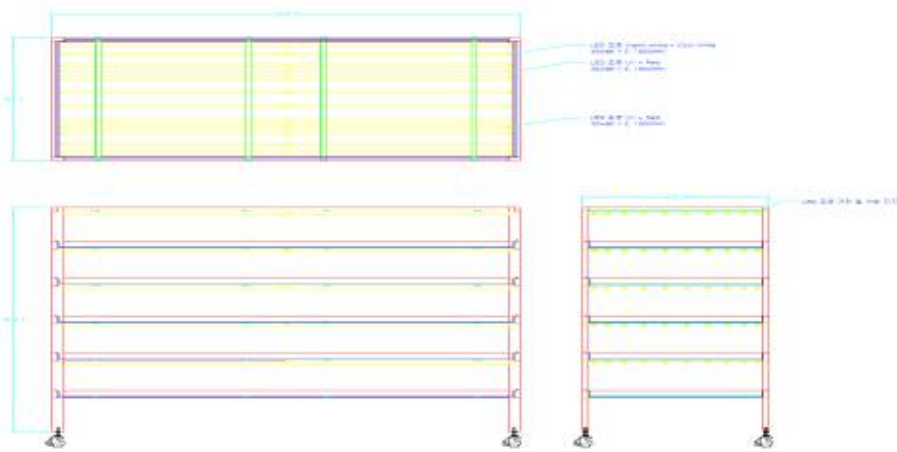


그림 72. 다단 재배시스템 재배랙 도면

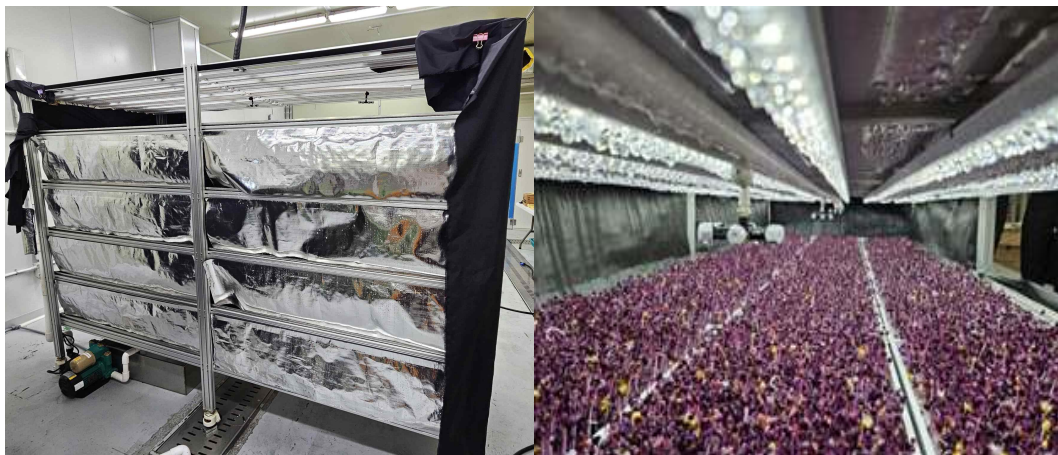


그림 73. 다단 재배시스템 구축

- 다단 재배시스템 활용 무순 생육 비교

: 재배환경

- ㉠ 공시품종 : 적양무
- ㉡ 재배기간 : 4일
- ㉢ 과중량 : 250g
- ㉣ 관수방법 : 분무경 2min/6h
- ㉤ 온도 : 주간 21℃/야간 19℃
- ㉥ 습도 : 90±5%
- ㉦ CO₂ : 450±20ppm
- ㉧ 광 : 암처리
- ㉨ 표본(샘플) 추출법 : 정식개체 중 무작위로 5주 선정
- ㉩ 조사 항목 : 경장, 생체중, 설포라핀 함량

: 재배기간은 4, 7일



그림 74. 다단 재배시스템의 무순 생육 상태(4일차)



그림 75. 다단 재배시스템의 무순 생육 상태(7일차)

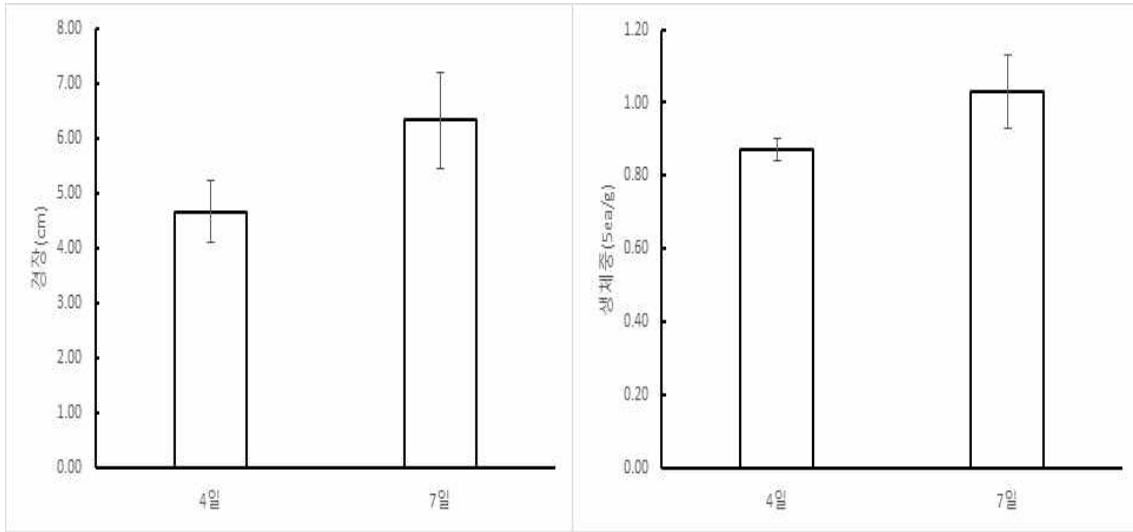


그림 76. 재배일수에 따른 다단 재배시스템의 생육 비교

- > 재배 7일의 경장은 4일 대비 약 1.6cm 정도 생육이 촉진되었고, 생체중 역시 0.23g 증가하는 경향을 보였음.
- > 경장과 생체중 모두 7일 재배에서 우수한 생육을 보인 반면, 뿌리 무름 증상으로 인해 지상부에서 곰팡이가 관찰되었음.

- 다단 재배시스템 과중량 실험

: 재배환경

- ㉠ 공시품종 : 적양무
- ㉡ 재배기간 : 4일
- ㉢ 관수방법 : 분무경 2min/6h
- ㉣ 온도 : 주간 21℃/야간 19℃
- ㉤ 습도 : 90±5%
- ㉥ CO₂ : 450±20ppm
- ㉦ 광 : 암처리
- ㉧ 표본(샘플) 추출법 : 정식개체 중 무작위로 5주 선정
- ㉨ 조사 항목 : 경장, 생체중, 설포라핀 함량, 생산 배수 (과중량 대비 수확량 배수)

: 과중량은 150, 200, 250, 300g

표 6. 다단 재배시스템 과중량 실험 결과

과중량(g)	경장(cm)	생체중(5ea, g)	수확량(kg)	생산 배수
150	4.42 ± 0.70	0.82 ± 0.02	1.43 ± 0.06	9.53 ± 0.26
200	4.67 ± 0.56	0.87 ± 0.03	1.80 ± 0.10	9.01 ± 0.37
250	4.27 ± 0.72	0.92 ± 0.02	2.32 ± 0.11	9.28 ± 0.49
300	4.01 ± 0.69	0.85 ± 0.10	2.33 ± 0.09	7.78 ± 0.28

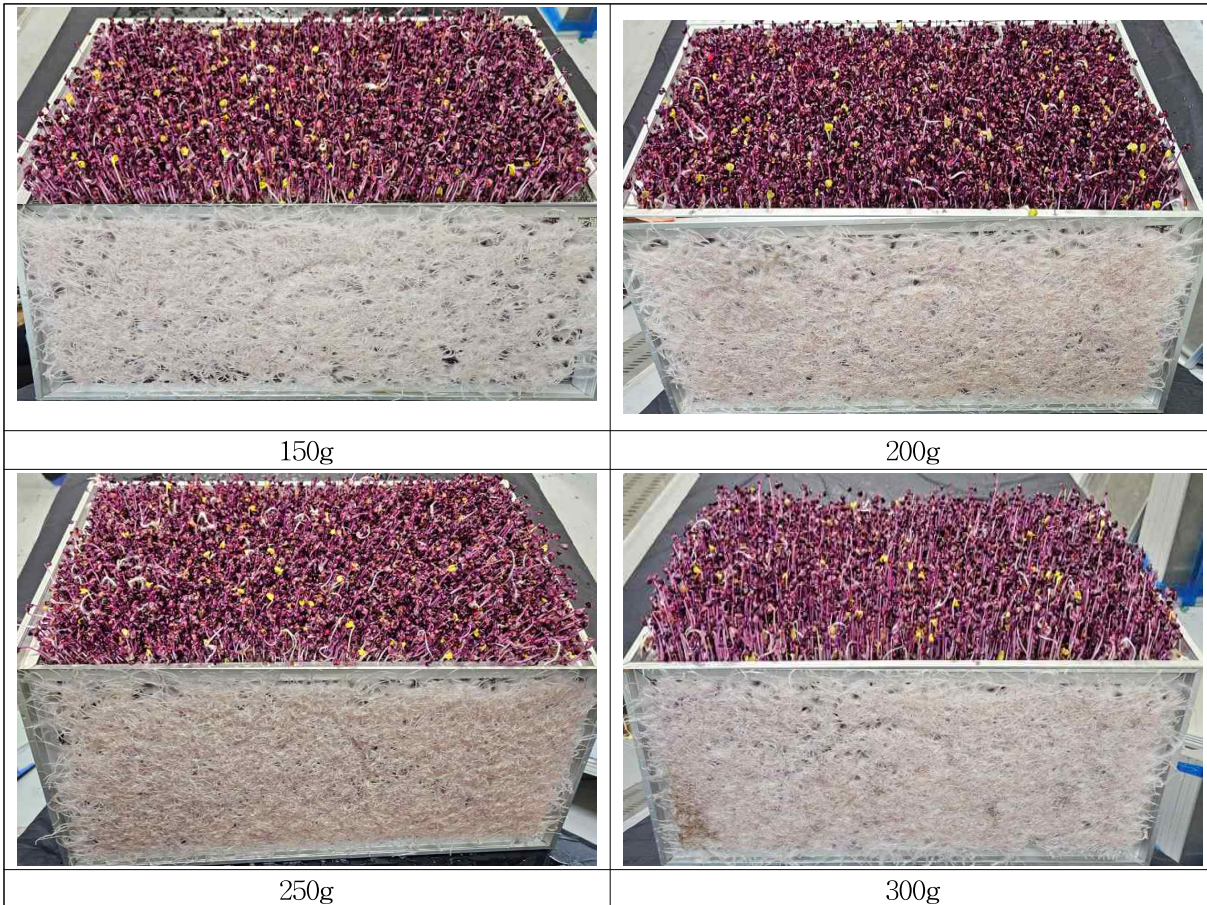


그림 77. 과종량에 따른 다단 재배시스템의 지상부 및 지하부 생육 양상

- > 과종량에 따른 경장 및 생체중은 거의 동일한 생육 양상을 보였으나, 300g 과종에서는 뿌리 무름 현상이 발생하였음.
- > 과종량 250g 처리구의 경우 생체중, 수확량 모두 가장 많이 확보할 수 있는 것으로 조사되었음.

- 켈형 재배시스템 과종량 실험

: 재배환경

㉠ 공시품종 : 적양무

㉡ 광 : 암처리

㉢ 재배기간 : 5일

㉣ 온도 : 주간 21℃/야간 19℃

㉤ 습도 : 90±5%

㉥ 표본(샘플) 추출법 : 정식개체 중 무작위로 5주 선정

㉦ 조사 항목 : 경장, 생체중, 수확량, 생산 배수 (과종량 대비 수확량 배수)

: 과종량은 6, 8, 10, 12kg

표 7. 켈형 재배시스템 과종량 실험 결과

과종량(kg)	경장(cm)	생체중(5ea, g)	수확량(kg)	생산 배수
6	3.62 ± 0.40	0.64 ± 0.08	45.10 ± 3.21	7.52 ± 0.53
8	3.87 ± 0.47	0.66 ± 0.06	60.35 ± 2.20	7.54 ± 0.27
10	3.99 ± 0.45	0.68 ± 0.10	76.62 ± 2.56	7.66 ± 0.26
12	3.86 ± 0.53	0.68 ± 0.07	87.15 ± 4.96	7.26 ± 0.41



그림 78. 과종량에 따른 켈형 재배시스템의 생육 상태

- > 종자 6, 8, 10, 12kg 과종 시 비슷한 생육 양상과 배수 증가를 보였으나, 12kg 과종 시에는 원물의 일부가 썩는 현상이 발생하였음.
- > 다단 및 켈형 재배시스템을 활용하여 무순 재배의 생육 상태를 비교한 결과, 경장, 생체중, 수확량, 증가 배수 모두 다단식 재배시스템이 우수한 것으로 확인되었음.

- 소형 재배기 구축 및 생산량 실증

: 재배환경

- ㉠ 공시품종 : 적양무
- ㉡ 재배기간 : 4일
- ㉢ 과종량 : 250g
- ㉣ 관수방법 : 분무경 2min/6h
- ㉤ 온도 : 주간 21℃/야간 19℃

- ⓑ 습도 : 90±5%
- ⓒ CO₂ : 450±20ppm
- ⓓ 광 : 암처리
- ⓔ 표본(샘플) 추출법 : 정식개체 중 무작위로 5주 선정
- ⓕ 조사 항목 : 경장, 생체중, 설포라핀 함량



그림 79. 소형 재배기 구축

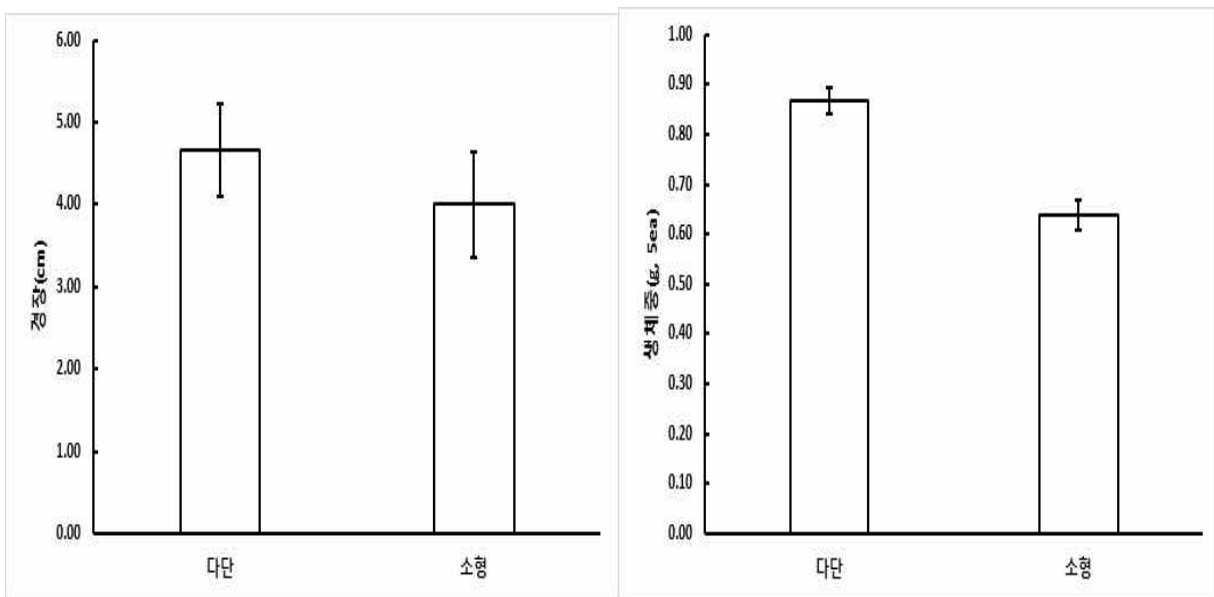


그림 80. 재배시스템에 따른 무순 생육 비교

- > 다단 재배시스템에서 재배된 무순의 경장은 평균 4.46cm로 소형 재배기 대비 0.46cm 높게 나타났으며, 생체중 또한 경장과 마찬가지로 0.23g 증가하였음.
- > 추후 재배 시 층마다 소형팬을 설치하여 온/습도를 균일하게 유지하고 병 발생 예방 및 생육 안정성을 더 확보할 예정임.

2. 기능성물질 원료 표준 기술 확립

○ 온도에 따른 무순의 생육특성

- 재배환경

- ⓐ 공시품종 : 적양무
- ⓑ 재배기간 : 4일
- ⓒ 관수방법 : 분무경 2min/6h

- ㉠ 광 : 암처리
- ㉡ 습도 : $90 \pm 5\%$
- ㉢ CO_2 : $450 \pm 20\text{ppm}$
- ㉣ 표본(샘플) 추출법 : 정식개체 중 무작위로 5주 선정
- ㉤ 조사 항목 : 경장, 생체중, 설포라핀 함량

- 재배온도 조건은 15, 18, 21, 23, 25°C

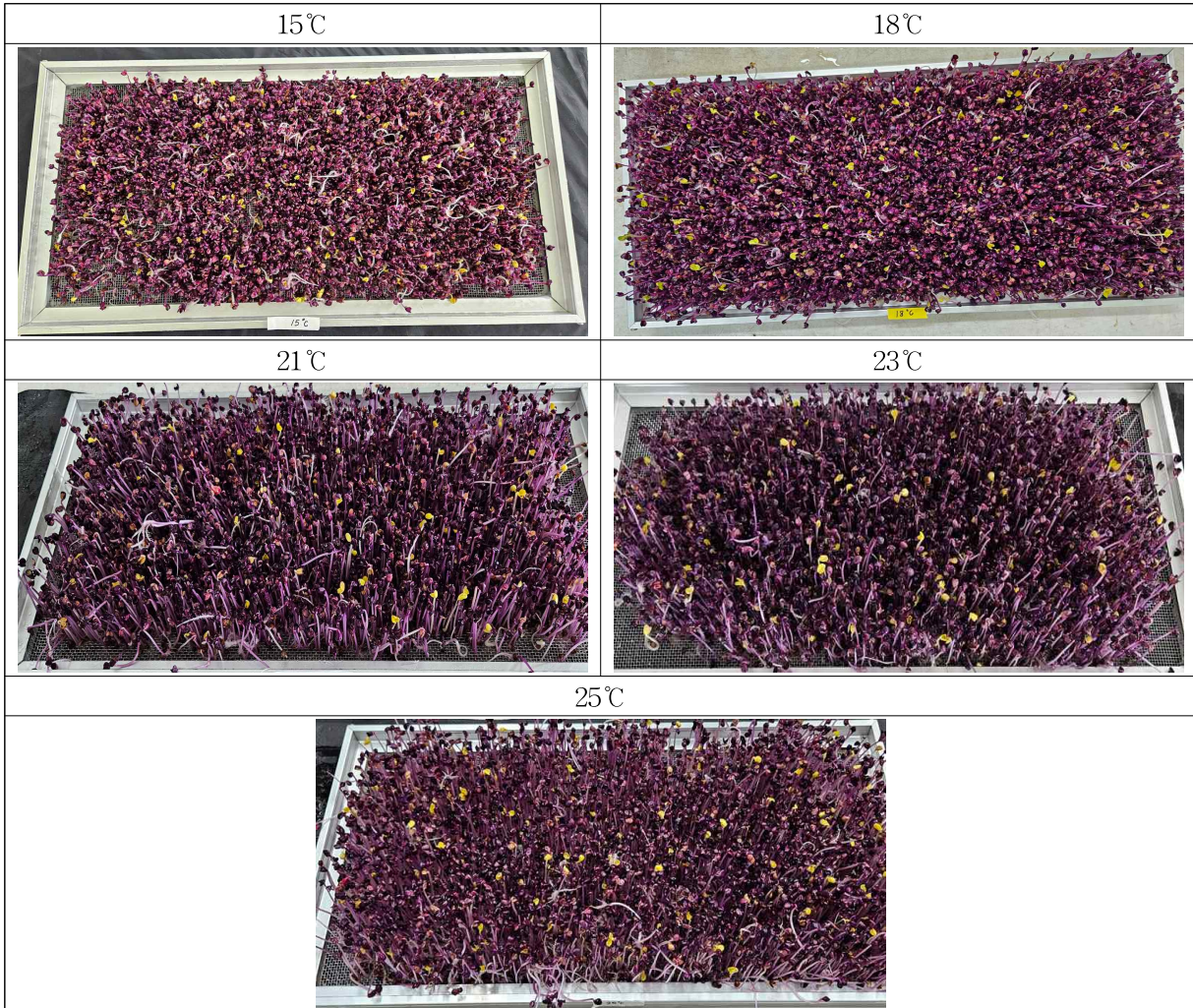


그림 81. 재배 온도에 따른 무순 생육 상태

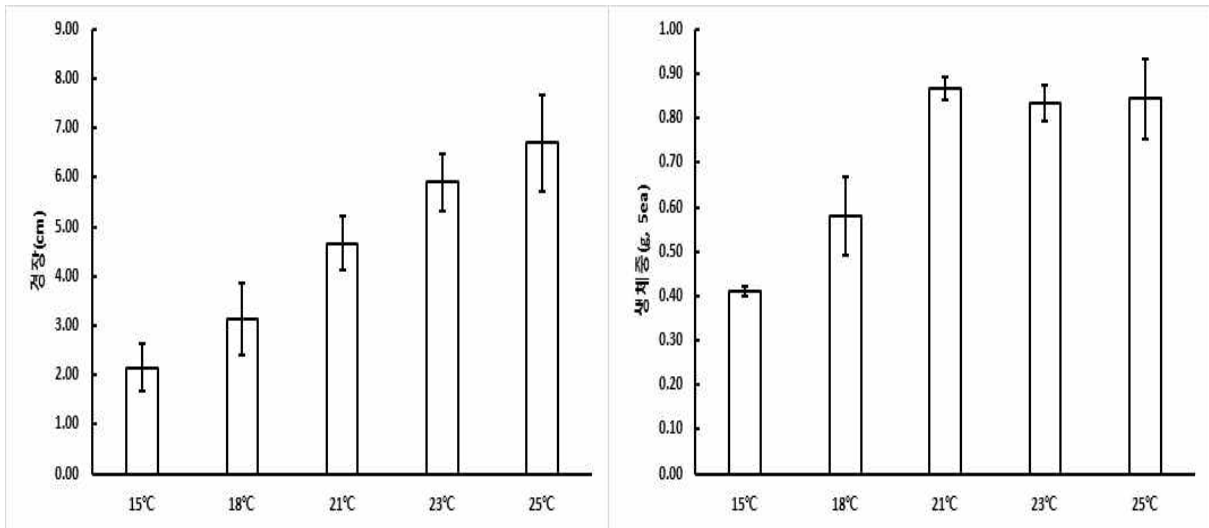


그림 82. 재배 온도에 따른 무순의 경장 및 생체중

> 경장은 재배온도가 높을수록 증가하는 경향을 보였으나, 생체중은 21℃에서 가장 양호하였음.

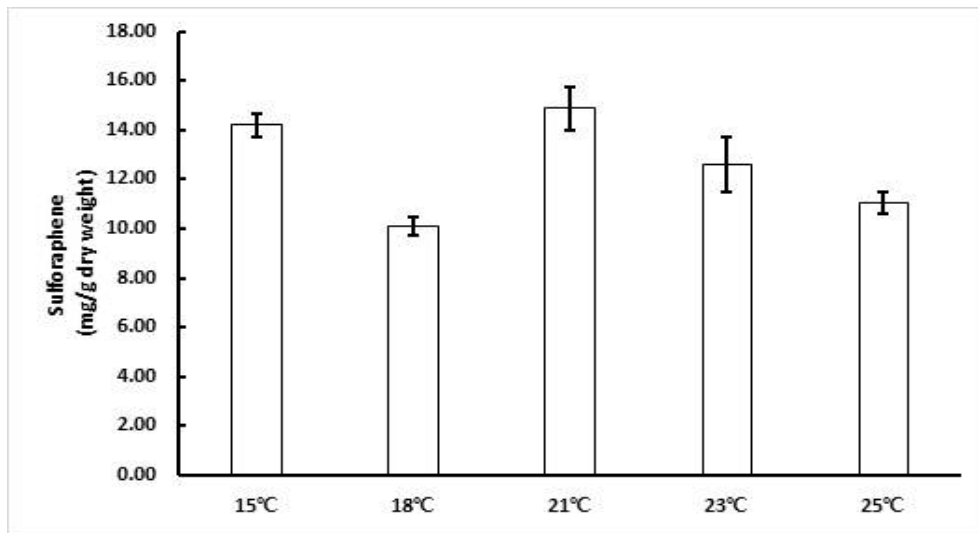


그림 83. 재배 온도에 따른 무순 설포라핀 함량

> 설포라핀 함량은 경장, 생체중과는 다른 양상을 보여, 21℃에서 14.95mg/g dry weight로 가장 높게 발현되었으나, 18℃에서는 10.1mg/g dry weight로 가장 낮은 함량이 확인되었음.
 > 생산량과 설포라핀 함량을 최대로 확보하기 위해서는 21℃가 가장 최적의 조건이라 판단되었음.

○ 생산 원물의 경시적 성분 변화 검증

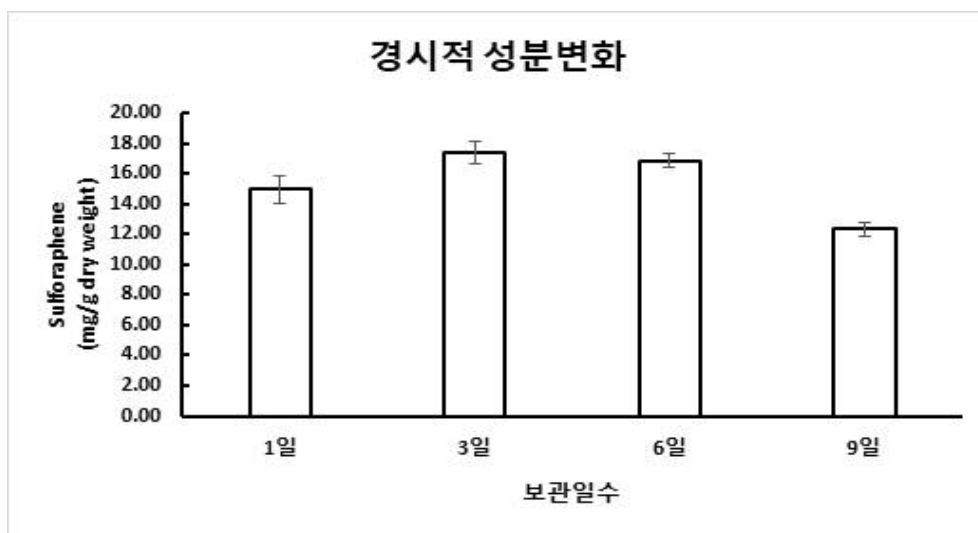


그림 84. 경시적 처리 후 설포라핀 함량

> 경시적 성분 변화를 확인하기 위해 수확 후 1, 3, 6, 9일간 냉장 보관 후 설포라핀 함량을 비교한 결과, 수확 후 3일간 냉장 보관 시 14.9mg/g dry weight으로 최대 함량을 확보할 수 있었으나, 9일간 냉장 보관 시에는 12.3mg/g dry weight로 최저 함량을 보였음.

3. 재배시스템 활용 재배 품목 다양화

재배방법 작물	다단 재배 장치	컬형 재배 장치
다채		
배추		
브로콜리		
알팔파		
유채		
콜라비		

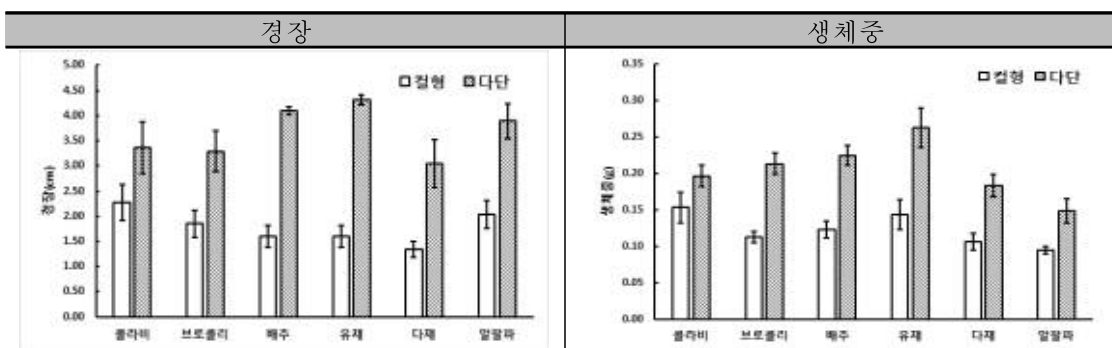


그림 85. 재배시스템 활용 재배 품목 다양화

- > 재배 품목 다양화를 위해 콜라비, 브로콜리, 배추, 유채, 다채, 알파과 등 총 6종을 다단 및 컬형 재배시스템을 활용하여 재배 실험을 진행한 결과, 다단 재배시스템에서 테스트한 작물 6종의 생육상태가 컬형 재배시스템보다 우수하였으며, 특히 알팔파, 유채, 배추의 경우 수확 및 관리 작업이 용이하여 품목 다양화를 통해 다단 재배시스템의 범용화를 도모할 수 있는 것으로 판단되었음.
- > 따라서 모든 지표를 고려한다면 다단 재배시스템을 이용해 작물을 재배하는 것이 생산성 및 경제성 측면에서 효율적임을 확인하였음.

■ 3차년도 연구 수행 내용 및 결과

1. 기능성 작물 대량생산 시스템 구축

○ 대량 생산시스템 설계 및 구축

: 무순 대량생산을 위해 두상관수 방식으로 새싹재배에 적합한 다단 재배시스템을 설계 제작하였음.

구분	내용
크기 (단수)	L2784×W1440×H2470mm, 4단, L2784×W1440×H2470mm, 5단
LED	LED lamp는 각 단에 5개씩 총 20개로 구성(PPFD 0~200)
관수 방법	두상관수: 미니 스프링클러를 각 단에 4개씩 적용
재배 베드	1단에 4베드, 총 36개 베드로 구성
비고	재배베드 앞, 뒤 간 약 1~2° 경사를 주어 관수 된 물이 배출되도록 함

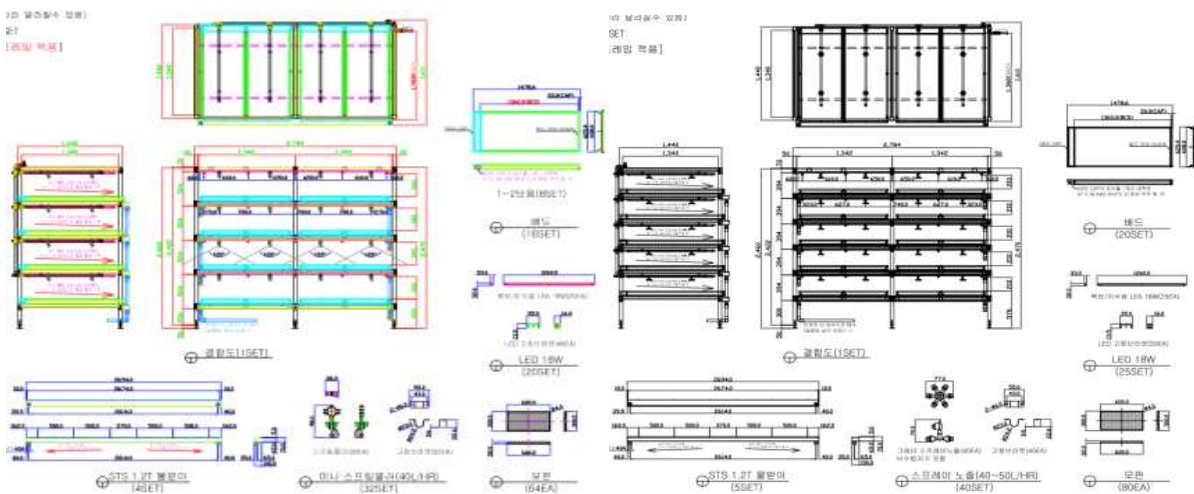


그림 86. 다단식 대량 생산시스템 제작 도면



그림 87. 다단식 대량 생산시스템 구축

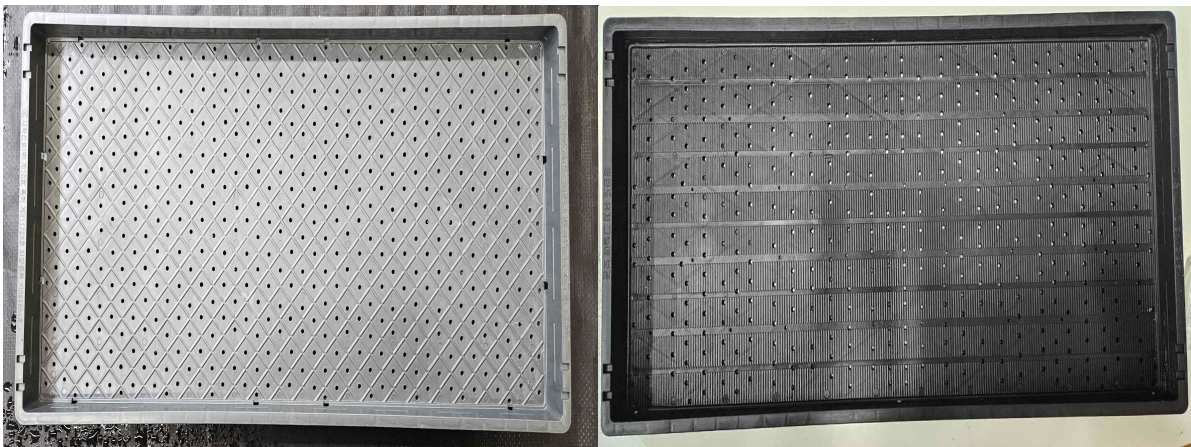


그림 88. 무순 재배용 육묘판 제작

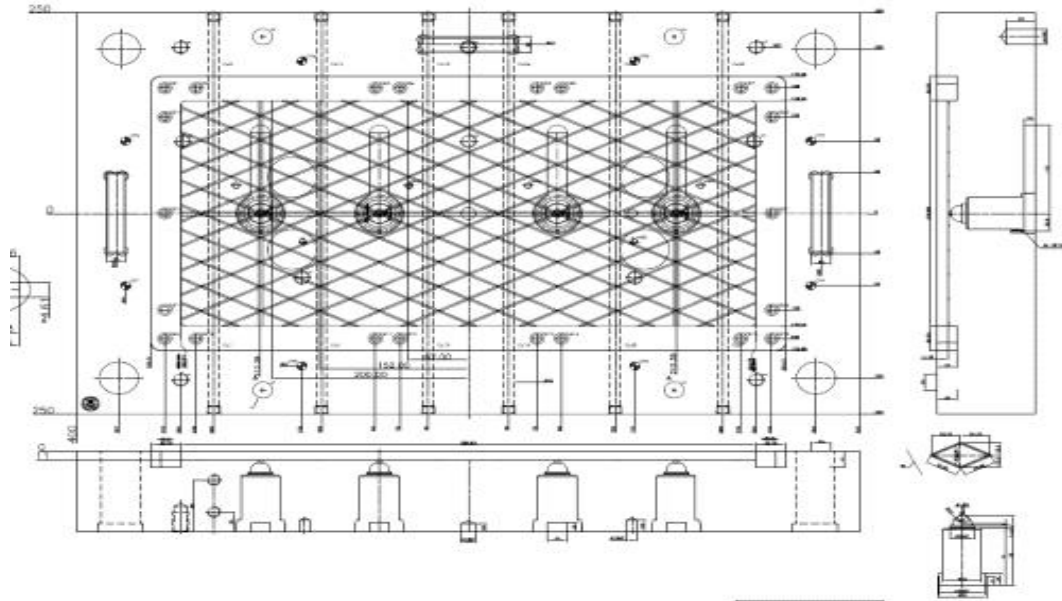


그림 89. 육묘판 금형 제작 도면

> 관행 육묘판을 사용하여 무순 재배 시 근권부의 공기 순환이 원활하지 않아 뿌리 무름과 곰팡이 발생하여, 이러한 문제점을 개선하기 위해 육묘판을 개량 보완하였음.

- 생육 증진을 위한 육묘판 비교

: 재배환경

- ㉠ 공시품종 : 적양무
- ㉡ 재배기간 : 4일
- ㉢ 과중량 : 250g
- ㉣ 관수방법 : 분무경 2min/6h
- ㉤ 온도 : 주간 21℃/야간 19℃
- ㉥ 습도 : 90±5%
- ㉦ CO₂ : 450±20ppm
- ㉧ 광 : 암처리
- ㉨ 표본(샘플) 추출법 : 정식개체 중 무작위로 5주 선정
- ㉩ 조사 항목 : 경장, 생체중

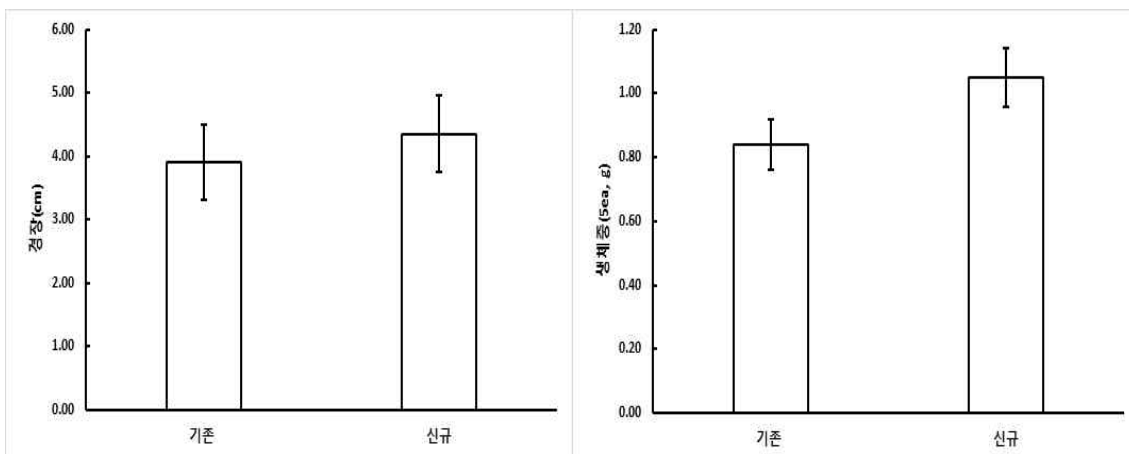


그림 90. 육묘판에 따른 생육 효과

- > 신규 제작한 육묘판의 경장은 4.35cm로 기존 대비 약 0.4cm 높게 나타났고, 생체중의 경우에도 1.05g으로 약 0.2g 증가하는 경향을 보였음.
- > 따라서 무순 재배 시 신규로 제작한 육묘판이 관행 육묘판 보다 생육은 물론 생체중 증가도 기대할 수 있을 것으로 판단됨.

2. 기능 성분 증대를 위한 스트레스 처리

- 물리적 스트레스 처리(UV)

; 재배환경

- ㉠ 공시품종 : 적양무
- ㉡ 재배기간 : 4일
- ㉢ 파종량 : 250g
- ㉣ 관수방법 : 분무경 2min/6h
- ㉤ 온도 : 주간 21℃/야간 19℃
- ㉥ 습도 : 90±5%
- ㉦ CO₂ : 450±20ppm
- ㉧ 광 : 암처리
- ㉨ 표본(샘플) 추출법 : 정식개체 중 무작위로 5주 선정
- ㉩ 조사 항목 : 경장, 생체중, 설포라핀 함량

: UV 조건은 수확 전 6, 12, 18, 24h

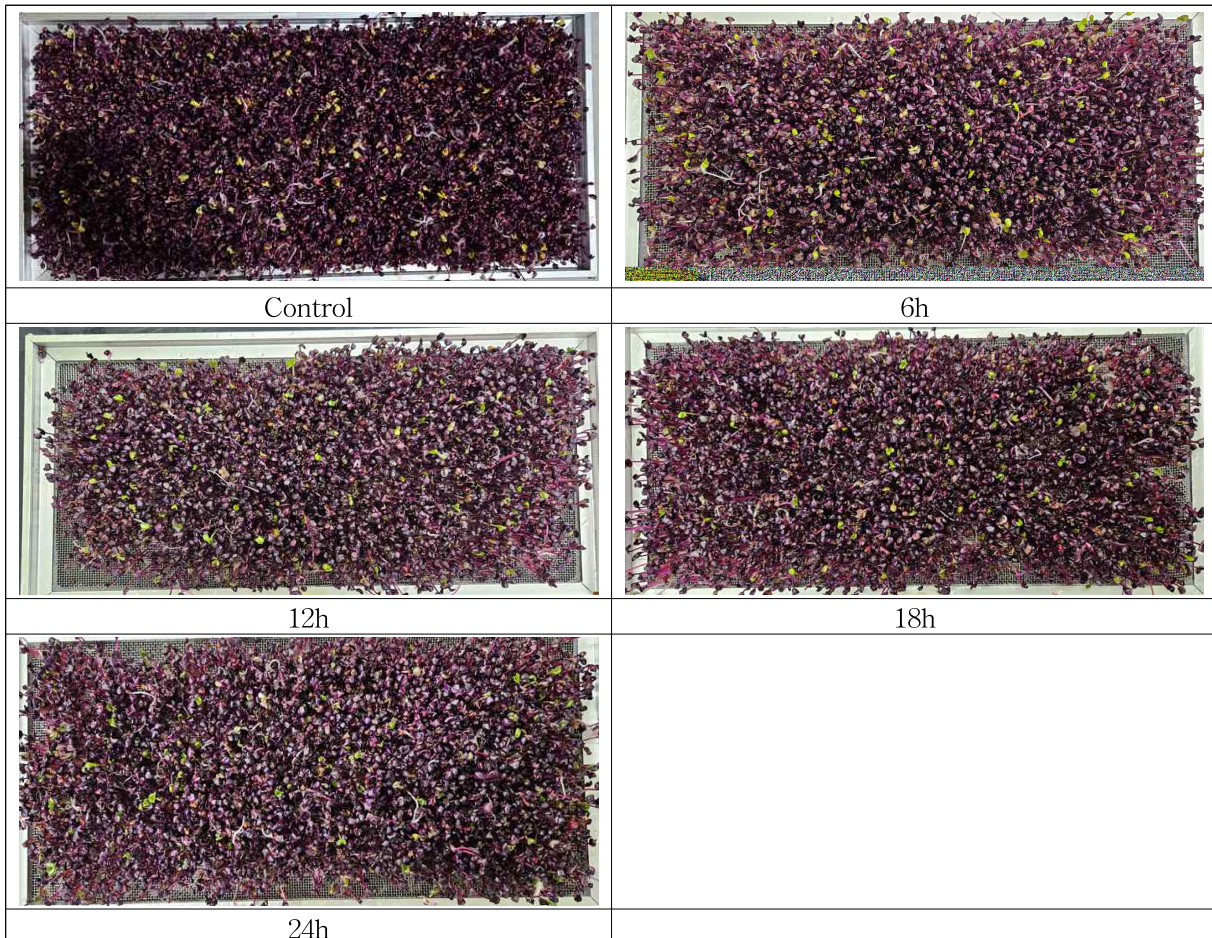


그림 91. UV-A 처리에 따른 무순 생육 상태

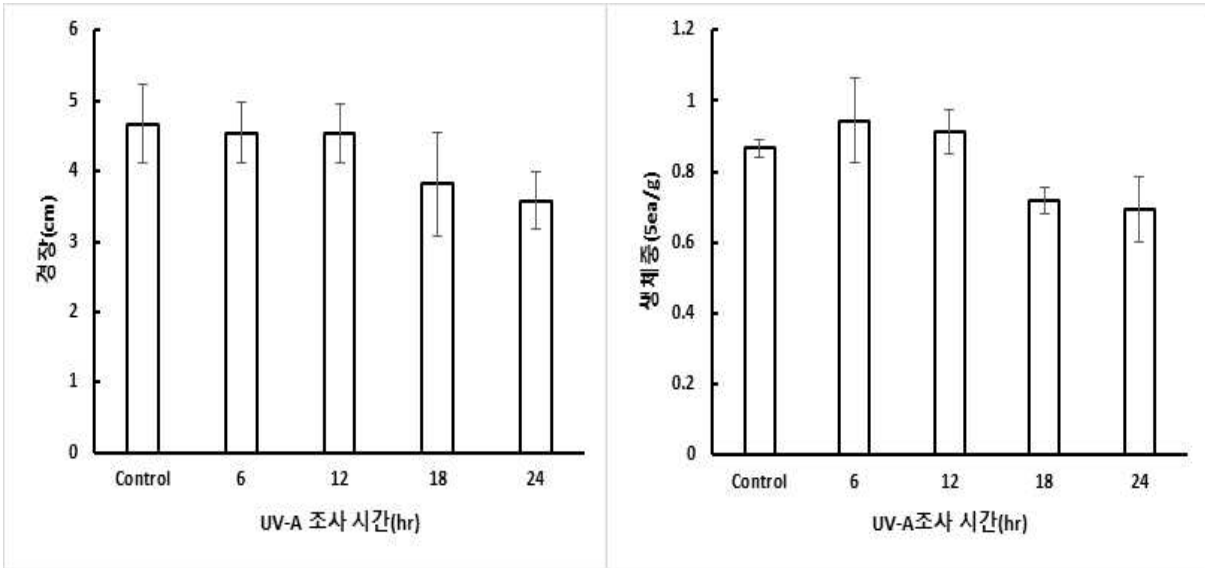


그림 92. UV-A 처리에 따른 무순의 경장 및 생체중

- > UV-A 처리 후 무순의 초장은 대조구에서 4.67cm로 가장 높았으며, 조사시간이 증가할수록 감소하는 경향을 보였음.
- > 생체중의 경우 6시간 조사 시 0.94g으로 가장 높은 중량을 보였고, 초장과 마찬가지로 UV-A 조사시간이 증가할수록 감소하는 것으로 나타났음.

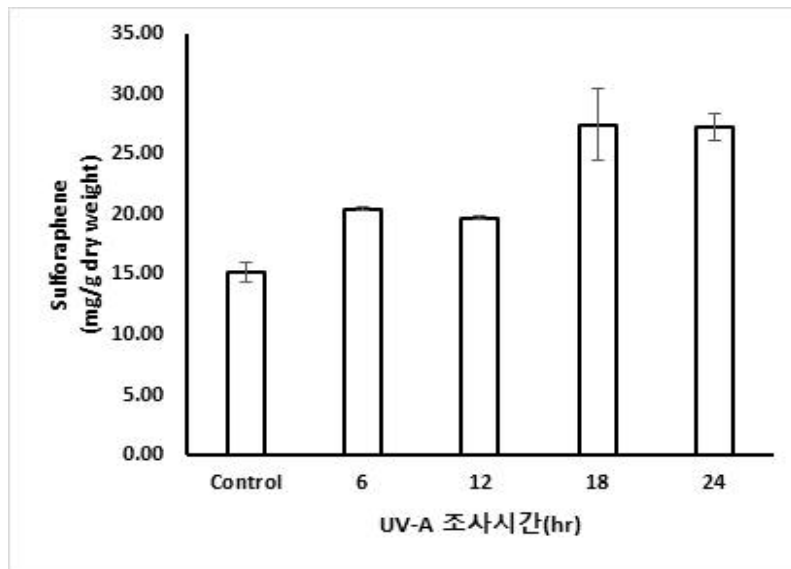


그림 93. UV-A 처리에 따른 설포라핀 함량

- > UV-A 처리에 따른 무순의 설포라핀 함량은 초장과 생체중과는 상이하게 조사시간이 길어질수록 설포라핀 함량이 증가하였음.
- > 수확 전 18시간 UV-A를 처리하였을 경우, 설포라핀 함량은 평균 27.49mg/g dry weight으로 가장 높은 결과를 보였음.

- 화학적 스트레스 처리(황산아연)

: 재배환경

Ⓜ 공시품종 : 적양무

Ⓜ 재배기간 : 4일

- ㉔ 과중량 : 250g
- ㉕ 관수방법 : 분무경 2min/6h
- ㉖ 온도 : 주간 21℃/야간 19℃
- ㉗ 습도 : 90±5%
- ㉘ CO₂ : 450±20ppm
- ㉙ 광 : 암처리
- ㉚ 표본(샘플) 추출법 : 정식개체 중 무작위로 5주 선정
- ㉛ 조사 항목 : 경장, 생체중, 설포라핀 함량

: 황산아연 조건은 1, 2, 4mM

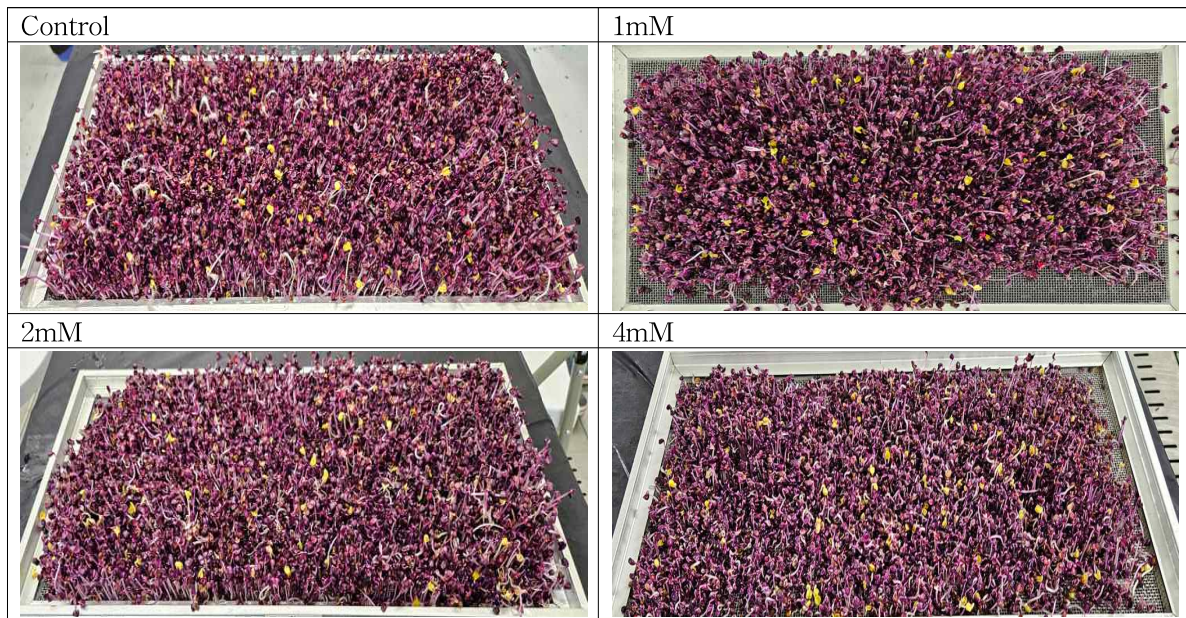


그림 94. 황산아연 처리에 따른 무순 생육 상태

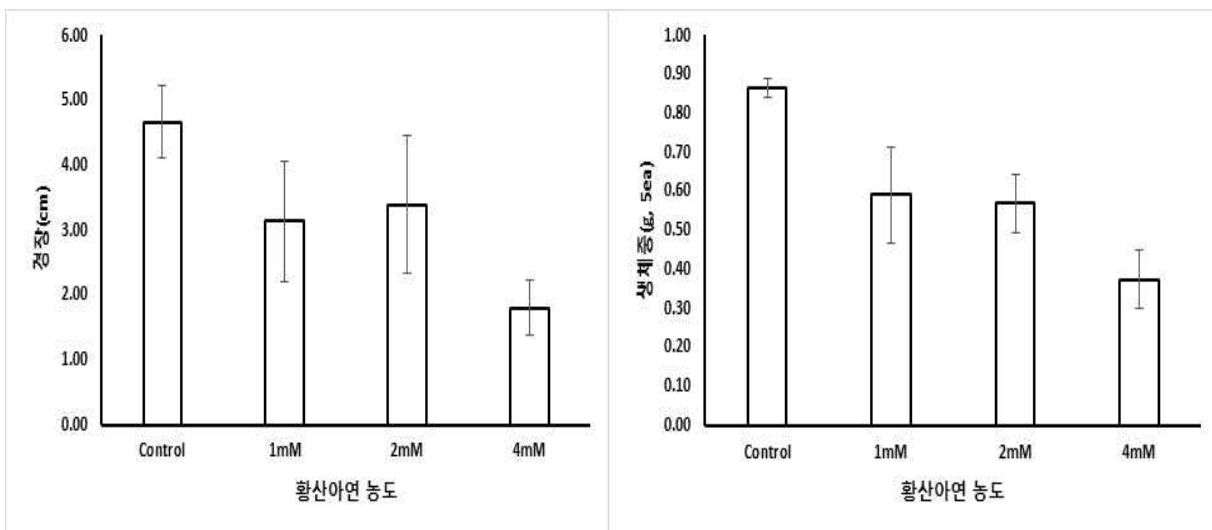


그림 95. 황산아연 처리에 따른 경장 및 생체중

> 황산아연 처리에 따른 무순의 경장은 대조구, 4mM 처리수에서 각각 4.67cm, 1.81cm로 나타났으며, 생체중 역시 경장과 동일하게 대조구, 4mM 처리구에서 각각 0.87g, 0.38g의 결과를 보였음.

> 경장 및 생체중은 황산아연 농도가 높을수록 감소하는 경향을 보였음.

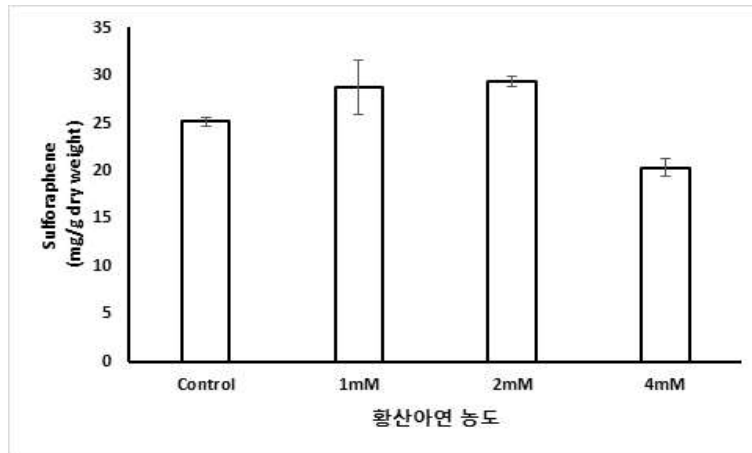


그림 96. 황산아연 처리에 따른 설포라핀 함량

> 경장, 생체중과는 달리 황산아연을 처리할 경우, 대조구 보다 설포라핀 함량이 증가하였고, 2mM 농도처리에서 29.3mg/g dry weight으로 가장 높게 나타났음.

- 생물학적 스트레스 처리(미생물)

; 재배환경

- ㉠ 공시품종 : 적양무
- ㉡ 재배기간 : 4일
- ㉢ 과중량 : 250g
- ㉣ 관수방법 : 분무경 2min/6h
- ㉤ 온도 : 주간 21℃/야간 19℃
- ㉥ 습도 : 90±5%
- ㉦ CO₂ : 450±20ppm
- ㉧ 광 : 암처리
- ㉨ 표본(샘플) 추출법 : 정식개체 중 무작위로 5주 선정
- ㉩ 조사 항목 : 경장, 생체중, 설포라핀 함량

; EM(*Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus casei*) 조건은 1, 2, 3, 4h(과중 전 침종)

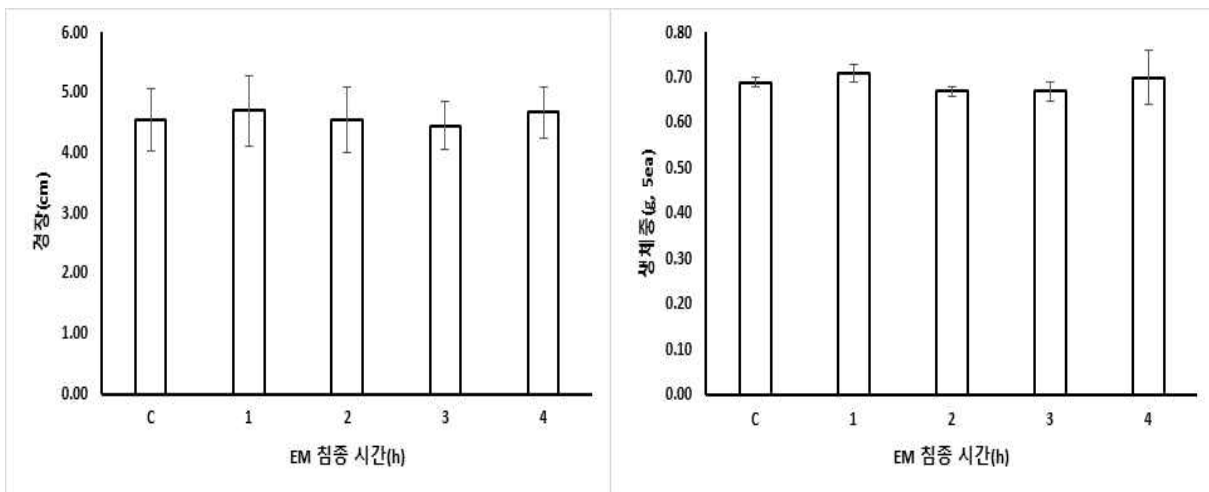


그림 97. EM 침종시간에 따른 경장과 생체중

> 경장과 생체중 모두 EM 침종을 1시간 하였을 때 다른 처리구에 비해 양호하였고, 경장과 생체중에서도 유사한 경향을 확인할 수 있었음.

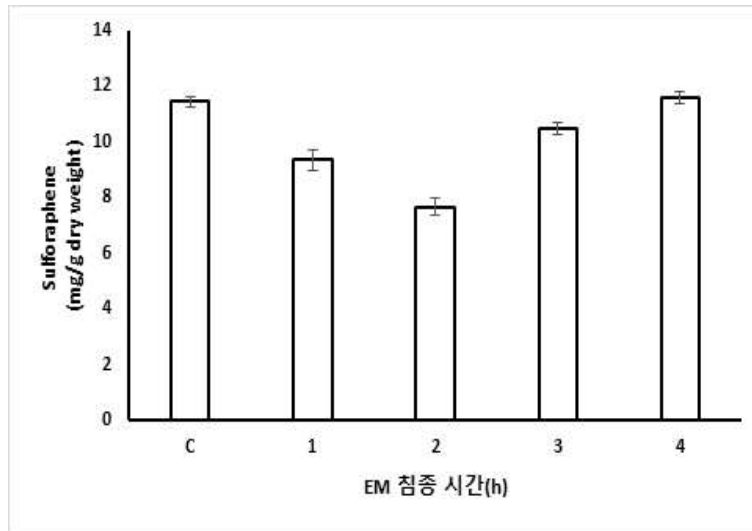


그림 98. EM 침종시간에 따른 설포라핀 함량

> 무순의 EM 처리에 따른 설포라핀 함량은 경장, 생체중과는 다르게 침종시간에 따라 설포라핀 함량의 편차가 확인되었으며, 4시간 EM 침종 시 11.6mg/g dry weight로 가장 높게 나타났고, 2시간 침종 시에는 7.67mg/g dry weight로 가장 낮은 경향을 보였음.

3. 원료 생산량 및 표준화 실증

- 재배환경

- ㉠ 공시품종 : 적양무
- ㉡ 재배기간 : 4일
- ㉢ 관수방법 : 분무경 2min/6h
- ㉣ 과중량 : 250g
- ㉤ 온도 : 주간 21℃/야간 19℃
- ㉥ 습도 : 90±5%
- ㉦ CO₂ : 450±20ppm
- ㉧ 광 : 암처리
- ㉨ 표본(샘플) 추출법 : 정식개체 중 무작위로 5주 선정
- ㉩ 조사 항목 : 경장, 생체중, 설포라핀 함량



구분	내용
크기 (단수)	L2784×W1440×H2470mm, 4단, L2784×W1440×H2470mm, 5단
관수 방법	두상관수: 미니 스프링클러를 각 단에 4개씩 적용
관수 시간	2min/6h
재배 베드	1단 4베드, 총 36개 베드로 구성
육묘판	1단 5개 육묘판, 총 180판 사용
과중량	1판 250g

그림 99. 무순 대량 생산시스템 구축 및 실증

- > 구축된 대량 생산시스템 및 재배실에서 종자 45kg, 180개의 육묘판을 공시하여 4일간 재배를 통해 417kg의 무순 수확이 가능한 것을 실증하였음.
- > 대량 생산시스템에서 재배된 무순의 설포라핀 함량을 제시하기 위해 국제공인인증시험기관에 함량 분석을 의뢰한 결과, 설포라핀 함량은 10.481mg/g dry weight으로 목표 8mg/g dry weight 대비 31% 높게 나타났음.


연구 보고서

무순 내 Sulforaphene 함량분석

의뢰기관: 플랜티팜

보고일자: 2024년 2월 7일

연구기관: 국제공인시험기관 한국고분자시험연구원(주)



Koptri

www.koptri.com

본 연구보고서는 의뢰자가 제공한 시료를 이용한 측정결과입니다.
본 연구보고서는 열의 없이 견인, 발송 및 광고, 무단소용으로 사용할 수 없으며, 복사되어 사용되는 것을 금합니다.
본 연구보고서는 KS Q ISO/IEC 17025 및 KOLAS 인증과 관련이 있습니다.

표 2. Sulforaphene 함량 분석 결과

시료명	Area	Conc. (mg/L)	희석배수	최종농도 (mg/kg)	최종농도 (%)
Koptri-23-07-11735-1	7 760.877 44	524.066 5	20.00	10 481.33	1.048

Note) a) Contents ; y = 14.706 9 x + 53.483 7 (R² = 0.999 9)
(Y = Area of Sulforaphene, X = Concentration of Sulforaphene)
(Contents = Concentration of Sulforaphene X Dilution factor)
b) 1 % = 10 000 mg/kg = 10 000 ppm

끝.

그림 100. 설포라핀 시험성적서

(공동2) 소재 기능성, 안전성 및 안정성 평가

1. 체지방 감소 기능성 복합소재 screening

- 체지방 감소 기능성 복합소재 screening을 위한 선행 연구 조사 및 검토

체지방 감소 시너지 효과를 나타낼 수 있을 것으로 예상되는 기능성분 및 작물 조사

- 당귀의 유효성분으로 알려진 Decursin은 고지방식이로 비만을 유도한 마우스모델에서 지방 축적 억제, 아디포카인 분비 감소, 포도당 내성 개선에 효능이 있다고 밝힘. 지방전구세포(3T3-L1)를 활용하여 20ug/ml 농도에서 지방축적 억제 효능이 관찰되었으며, 지방 분화 후기 단계에 발현되는 단백질 중 하나인 FAS의 발현을 감소시킨다는 연구결과가 있음.(Hwang, Jin Taek, et al. "Decursin, an active compound isolated from Angelica gigas, inhibits fat accumulation, reduces adipocytokine secretion and improves glucose tolerance in mice fed a high fat diet." *Phytotherapy Research* 26.5 (2012): 633-638.)
- 당귀의 뿌리에 함유되어 있는 쿠마린 글리코사이드인 Nodakenin은 항비만 효능과 비만으로 인한 염증 완화 효능이 있음. 지방전구세포(3T3-L1)모델을 활용하여 Nodakenin을 25~100uM 처리시, PPAR γ , SREBP-1, P-AMPK 등 지방합성과 관련된 비만 전사조절인자들의 단백질 발현이 감소하고, 고지방 식이로 비만을 유도한 모델에서 Nodakenin의 체중 감소, 혈중 지질 농도 감소, 지방간 개선에 대한 효과가 관찰됨.(Jin, Bo Ram, Minho Lee, and Hyo Jin An. "Nodakenin represses obesity and its complications via the inhibition of the VLDLR signalling pathway in vivo and in vitro." *Cell Proliferation* 54.8 (2021): e13083.)
- 도라지 뿌리에 존재하는 사포닌 글리코사이드에 속하는 Platycodin은 항염증, 항지혈, 항고콜레스테롤 및 항종양 등 다양한 약리적인 기능이 있다고 알려짐. 지방전구세포(3T3-L1)를 활용하여 adipogenesis 억제에 관여하는 조절인자들의 mRNA 발현변화를 관찰함으로써 Platycodin D의 항비만 효능을 규명함.(Lee, Hae-Yong, et al. "Effects of Platycodin D on Gene Expressions of Pro-adipogenic and Anti-adipogenic Regulators in 3T3-L1 Cells." *Journal of Life Science* 19.12 (2009): 1802-1807.)
- 지방전구세포(3T3-L1)를 활용하여 홍삼 추출물 10ug/ml, total ginsenosides 10ug/ml과 개별 ginsenosides(Rb1, Rb2, Rc, Rd, Rf, Rg1, Rg2, Rg3) 10uM 처리한 결과, 지방세포 분화 조절인자들의 mRNA 발현이 감소함. 지방세포가 분화하는 과정 중 세포의 크기가 커지고 개수가 증가하면서 그에 따른 ECM(세포외 기질)의 종류와 양에도 변화가 발생하는데, 이에 관여하는 MMP2와 MMP9의 발현이 ginsenosides에 의해 감소하고 그 결과 adipogenesis를 억제한다는 작용기전을 규명함.(Oh, Jaeho, et al. "Ginseng and its active components ginsenosides inhibit adipogenesis in 3T3-L1 cells by regulating MMP-2 and MMP-9." *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine* 2012 (2012).)
- 땅콩 새싹 추출물이 고지방식이로 비만을 유도한 랫드 모델에서 체중 감소, 체내 지방 조직의 무게 감소, 지방 조직내 총 지질 및 총 콜레스테롤 양 감소시키는 것을 관찰함. 또한, 땅콩새싹 추출물 투여군에서 지방세포의 분화와 관련된 전사조절인자들의 단백질 발현과 렙틴의 발현이 감소하는 것을 밝힘으로써 항비만 효능을 규명함.(Kang, Nam E., et al. "Peanut sprouts extract (*Arachis hypogaea* L.) has anti-obesity effects by controlling the protein expressions of PPAR γ and adiponectin of adipose tissue in rats fed high-fat diet." *Nutrition Research and Practice* 8.2 (2014): 158-164.) 땅콩새싹 추출물은 p-coumaric acid를 다량함유하고 있으며, 이 성분은 지방 분화를 억제하며 관련된 작용기전으로는 갈색지방의 열발생으로 인하여 체중이 감소한다고 밝힘.(Seo, Seok Hee, et al. "Peanut sprout rich in p-coumaric acid ameliorates obesity and lipopolysaccharide-induced inflammation and the inhibition of browning in adipocytes via mitochondrial activation." *Food & Function* (2021).)

무순의 유효성분인 설포라핀의 체지방 감소 작용기전에 대한 선행 연구 조사

- 십자화과 식물에 주로 함유되어 있다고 알려진 Isothiocyanate에는 Sulforaphene(SFEN), Sulforaphane(SFN), Iberin(IBR), Erucin(ERC), Allyl isothiocyanate(AITC), Benzyl isothiocyanate(BITC), Phenethyl isothiocyanate(PEITC)와 같은 것들이 있음. 지방전구세포(3T3-L1)를 활용하여 각 유효성분들의 지방분화 억제 효능을 관찰하고 비교함. 그 중에서도 무에 존재하는 Sulforaphene(SFEN)의 지방축적 억제능이 가장 우수하였으며, 특히 지방세포분화 초기단계에 분화 관련 주요 마커인 C/EBP β 의 발현을 저해하는 것을 규명함.(Yang, Hee, et al. "Sulforaphene suppresses adipocyte differentiation via induction of post-translational degradation of CCAAT/Enhancer binding protein beta (C/EBP β)." *Nutrients* 12.3 (2020): 758.)
- 십자화과 식물에 자연적으로 존재하는 Isothiocyanate인 Sulforaphane은 고지방식이로 비만을 유도한 마우스 모델에서 항산화 및 대사증후군 완화 효능을 가짐. Sulforaphane을 투여한 군에서 체내 지방량 감소, 인슐린 민감성 증가, 당대사능 개선 및 백색지방의 갈색지방화를 촉진시키는 것을 관찰함.(Liu, Yaoli, et al. "The Protective Effects of Sulforaphane on High-Fat Diet-Induced Obesity in Mice Through Browning of White Fat." *Frontiers in pharmacology* 12 (2021): 994.)
- 지방전구세포(3T3-L1)을 활용하여 Sulforaphene과 Sulforaphane의 지방 축적 억제능을 평가하고 지방 분화와 관련된 주요 조절인자인 PPAR γ 와 C/EBP α 의 발현을 관찰함. Sulforaphane이 Smo와Gli의 발현을 복구함으로써 hedgehog 신호전달의 활성화를 통해 항비만 효능을 갖는 것을 규명함.(Chen, Jing et al. "Sulforaphane Inhibition of Adipogenesis via Hedgehog Signaling in 3T3-L1 Adipocytes." *Journal of agricultural and food chemistry* vol. 66,45 (2018): 11926-11934. doi:10.1021/acs.jafc.8b04330)

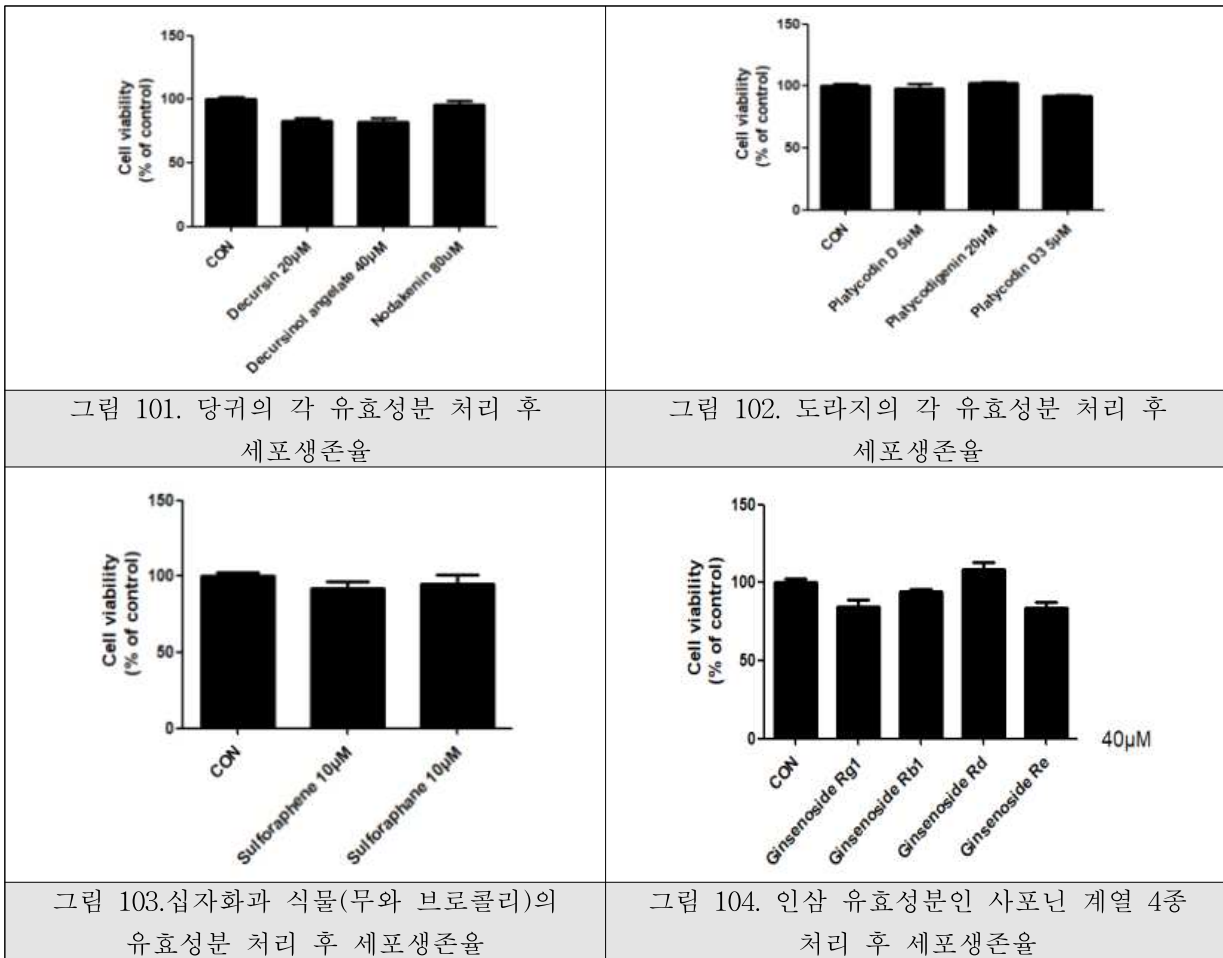
선행 연구 조사를 기반으로 복합 소재에 대한 검토 및 선별

- 당귀, 그 중에서도 한국의 당귀인 참당귀의 주성분은 지용성 물질인 Coumarin과 수용성 물질인 Polysaccharide이며, coumarin에는 Decursin, Decursinol angelate, Umbelliferone, Nodakenin, Peucedanone, Marmesin 등이 포함되는데 그 중 주요 활성 성분은 Decursin과 Decursinol angelate로 알려져 있음. 대한민국약전에는 참당귀의 주요 기능성분으로는 Decursin, Decursinol angelate, Nodakenin 이 명시되어 있어, 세가지 성분을 주요 기능성분으로 선별하였음.(Kim, Sun, et al. "A review of pharmacological effects of *Angelica gigas*, *Angelica sinensis*, *Angelica acutiloba* and their bioactive compounds." *The Journal of Korean Medicine* 32.4 (2011): 1-24.)
- 도라지의 뿌리에 존재하는 사포닌인 Platycosides은 다양한 건강기능성이 있다고 이미 밝혀진 바 있으며, 30개 이상의 사포닌 중에서 주요 사포닌은 Platycodin D3, Platycodin D, Platycoside E 등이 있음. 이 중에서 가장 많이 알려진 Platycodin D3와 Platycodin D, 와 Platycodin D의 산분해로 만들어지는 Platycodigenin을 기능성분으로 선별함.(Nyakudya, Elijah, et al. "Platycosides from the roots of *Platycodon grandiflorum* and their health benefits." *Preventive Nutrition and Food Science* 19.2 (2014): 59.)
- 진세노사이드는 인삼 속에 속하는 식물들에서 많이 발견되며, 약 50여 가지의 종류가 있음. 본 연구진은 새싹인삼을 활용하여 아토피 개선 효능을 확인한 바 있으며, 우수한 효능을 보인 기능성분으로는 Ginsenoside Rg1, Rb1, Rd, Re 이고, 이 성분들은 체지방 감소에도 효능을 보일 것으로 예상되어 후보 기능성분으로 선별하였음.

○ 복합 소재 선정을 위한 각 기능성분의 체지방 감소 유효성 평가

소재별 대표 기능성분의 세포생존을 관찰 및 유효농도 설정

- 지방전구세포(3T3-L1)에 대하여 후보 기능성분들의 세포 독성 존재 여부를 검사하기 위해 MTT 실험법을 사용하여 평가하였음.
- 지방전구세포(3T3-L1)를 배양용기(48 well plate)에 5×10^4 cells/ml 농도로 깔고, 100% confluent 한 상태가 될 때까지 5일간 배양하였음. 5일 후에 효능을 탐색하고자 하는 기능성분들을 배양 배지에 특정 농도로 처리하여 72시간을 추가로 배양하였음. 추가 배양 후 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide (MTT, Sigma M5655, USA) 용액을 기존 배지 용액 양의 10% 첨가하여 1시간동안 추가 배양하였음. 보라색 결정인 formazan이 생성된 것을 확인한 후에 배지를 버리고 DMSO를 넣어 formazan을 녹인 후 570nm에서 흡광도를 측정하였음.



- 당귀의 유효성분으로 알려진 Decursin은 20uM, Decursinol angelate는 40uM, Nodakenin은 80uM에서 지방전구세포(3T3-L1)에 대해 세포 독성이 없으며 생존율에 유의적인 영향을 보이지 않은 것을 관찰함. Decursin은 40uM 처리할 경우 세포생존율이 56%인 것을 확인하여, 이보다 더 낮은 농도인 20uM에서 추가 실험을 수행하였음.
- 도라지의 유효성분으로 알려진 Platycodin D, Platycodin D3, Platycodigenin 모두 5uM 처리 시 세포생존율이 90%이상인 것을 관찰하였음. Platycodin D와 Platycodin D3는 10uM에서 세포 생존율에 유의적인 영향을 보이는 반면, Platycodigenin의 경우에는 20uM 처리 시에도 세포생존율이 90% 이상인 것을 관찰하였음.
- 대표 십자화가 식물인 무와 브로콜리의 유효성분은 각각 Sulforaphene과 Sulforaphane으로 10uM 처리 시 세포생존율이 90% 이상인 것을 관찰하였으며, 20uM의 농도에는 세포에 독성

이 있는 것을 확인하였음.

- 인삼의 사포닌인 Ginsenoside 중에서도 Rg1, Rb1, Rd, Re를 유효성분으로 선별하였으며, 각 유효성분을 20uM 과 40uM 처리하였을 때 세포생존율이 모두 80% 이상인 것을 관찰하였음. 따라서 Ginsenoside 4종은 모두 40uM 농도에서 추가 실험을 수행하였음.
- 체지방 감소 복합 소재 후보로 선별한 당귀, 도라지, 브로콜리, 인삼의 유효성분의 세포 독성을 관찰하였으며, 세포 생존율이 80% 이상인 농도를 유효농도로 설정하였음.
- 당귀의 유효성분인 Decursin, Decursinol angelate, Nodakenin은 각 20, 40, 80uM을 유효농도로 설정하였으며, 도라지의 유효성분인 Platycodin D, Platycodin D3, Platycodigenin은 모두 5uM을 유효농도로 설정하였음. 무순의 유효성분인 Sulforaphene과 브로콜리의 유효성분인 Sulforaphene은 10uM으로, 인삼의 유효성분인 Ginsenoside는 모두 40uM을 유효농도로 설정하였음.

시너지 효과를 나타낼 수 있을 것으로 예상되는 기능성분의 체지방 감소 유효성 평가

- 후보 기능성분들의 지방 축적 형성에 대한 영향을 관찰하고자 지방전구세포(3T3-L1)를 지방 세포로의 분화를 유도하면서 각 기능성분을 함께 처리하여 체지방 감소 효능을 탐색하였음.
- 세포를 배양용기에 깔고, 100% confluent한 상태에 도달할 때까지 배양하였음. 그 후 지방전구세포를 지방세포로 분화시키기 위하여 isobutymethylzanthine (IBMX), insulin, dexamethasone이 각각 0.5mM, 5ug/ml, 1uM로 혼합된 배지를 처리하고 48시간 배양한 후 insulin이 5ug/ml로 혼합된 배지를 처리하고 추가로 48시간 배양 후 분화가 완료될 때까지 10% FBS DMEM 배지로 배양하였음. 지방세포 분화과정동안 효능을 탐색하고자하는 기능성분을 각 분화 배지와 같이 처리하였음. 분화가 끝난 후 지방 세포 내 중성지방을 선택적으로 염색하는 Oil-Red O Staining 실험법을 통하여 지방구 감소 효능을 정량적으로 평가하였음.

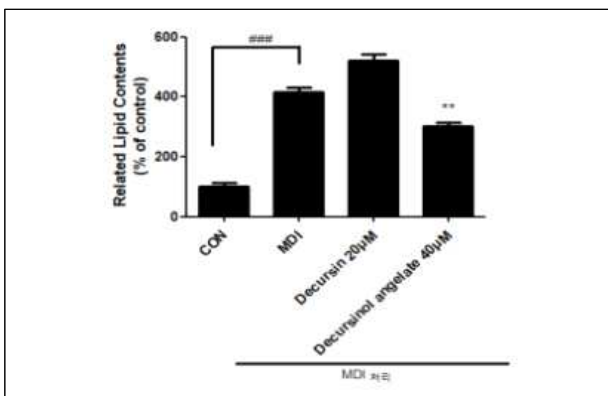


그림 105. 당귀의 각 유효성분의 지방 축적 억제 효능

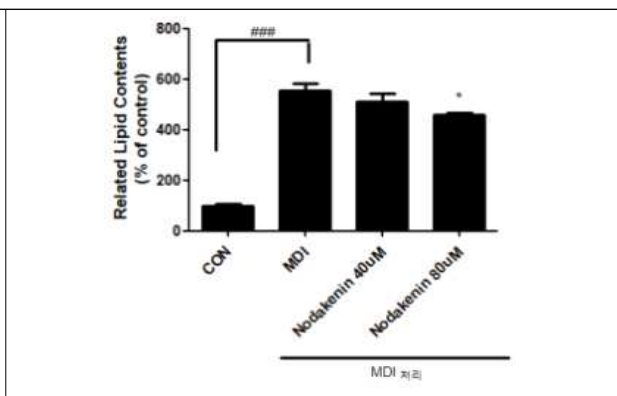


그림 106. 당귀 유효성분 중 Nodakenin의 농도별 지방축적 억제 효능

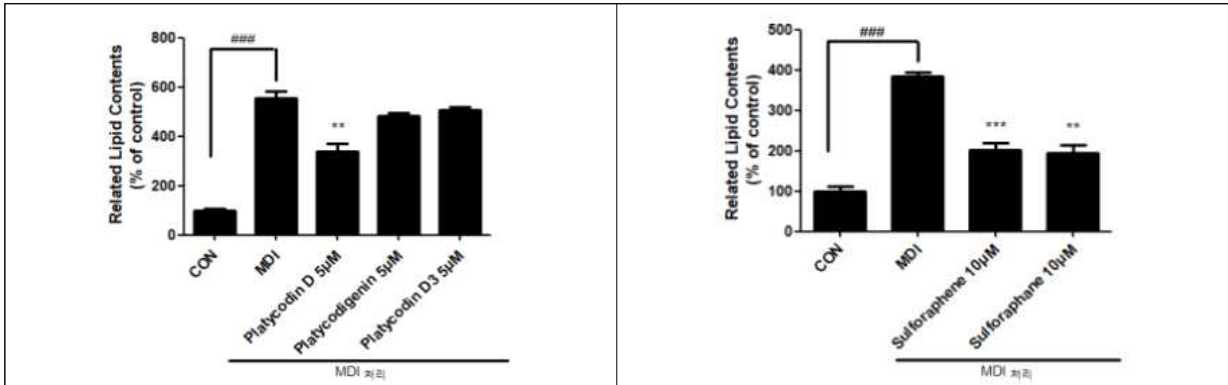


그림 107. 도라지의 각 유효성분의 지방 축적 억제 효능

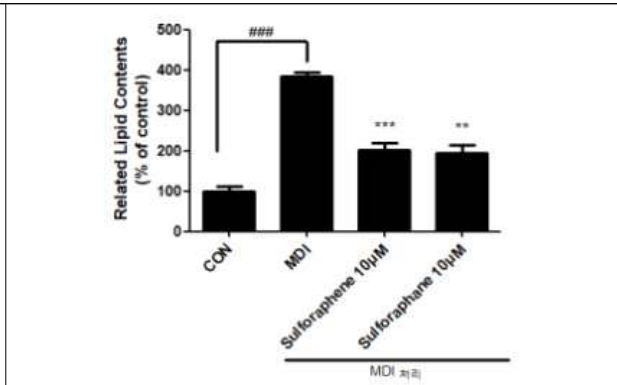


그림 108. 무와 브로콜리 유효성분의 지방축적 억제 효능

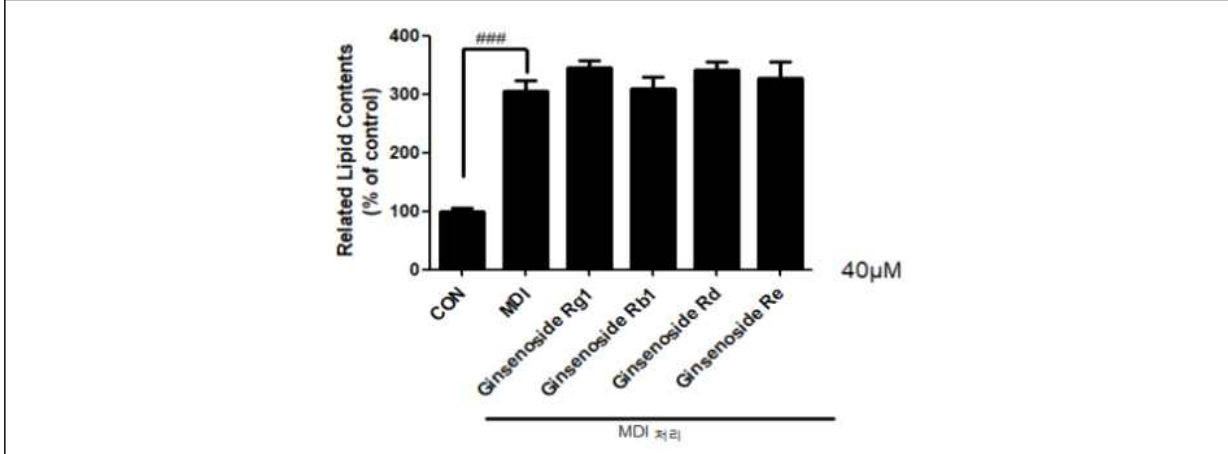


그림 109. 인삼 유효성분 Ginsenoside 계열의 지방축적 억제 효능

- 당귀 유효성분인 Decursin은 20uM 처리 시 지방 축적 억제 효능이 나타나지 않았으며, Decursinol angelate는 유의적으로 지방 축적이 감소하는 것을 관찰하였음. 당귀 내 타 유효성분과 달리 유효농도를 80uM으로 높게 설정하였던 Nodakenin의 경우에는 농도 의존적으로 지방 분화를 억제하는 것을 관찰하였음.
- 도라지의 유효성분인 Platycodin D, Platycodin D3, Platycodigenin 모두 5uM 처리 시 Platycodin D를 처리한 군에서만 지방구 축적이 유의적으로 감소한 것을 관찰하였음. Platycodigenin의 경우에는 20uM 농도에서도 세포 독성이 없는 것을 확인한 바가 있어, 유효농도를 더 높게 설정하여 세포에 처리한다면 지방 축적 억제 효능을 관찰할 수 있을 것으로 기대됨.
- 본 연구진의 선행연구결과인 내복자의 유효성분인 Sulforaphane과 구조가 유사한 브로콜리의 Sulforaphane은 10uM에서 지방 축적 억제 효능이 다른 소재의 기능성분보다 뛰어난 것을 관찰하였음.
- 인삼 사포닌 계열의 지방축적 억제 효능 평가를 실시한 결과, Ginsenoside Rg1, Rb1, Rd 그리고 Re는 40uM 농도에서 지방구 축적 억제 효능이 없는 것으로 나타났음. Ginsenoside 계열의 경우 40uM 보다 더 높은 농도에서 지방 축적 억제 효능 관찰이 필요한 것으로 보임.
- 지방전구세포(3T3-L1)를 활용하여 다양한 기능성분의 항비만 효능을 탐색해본 결과, 당귀의 Decursin angelate 와 Nodakenin, 도라지의 Platycodin D가 타 유효성분들에 비해 지방 축적 억제 효능이 뛰어난 것을 관찰하였음.
- 선행 논문들에서 당귀와 도라지의 항비만 효능이 이미 밝혀진 바 있으며, 본연구진은 당귀와

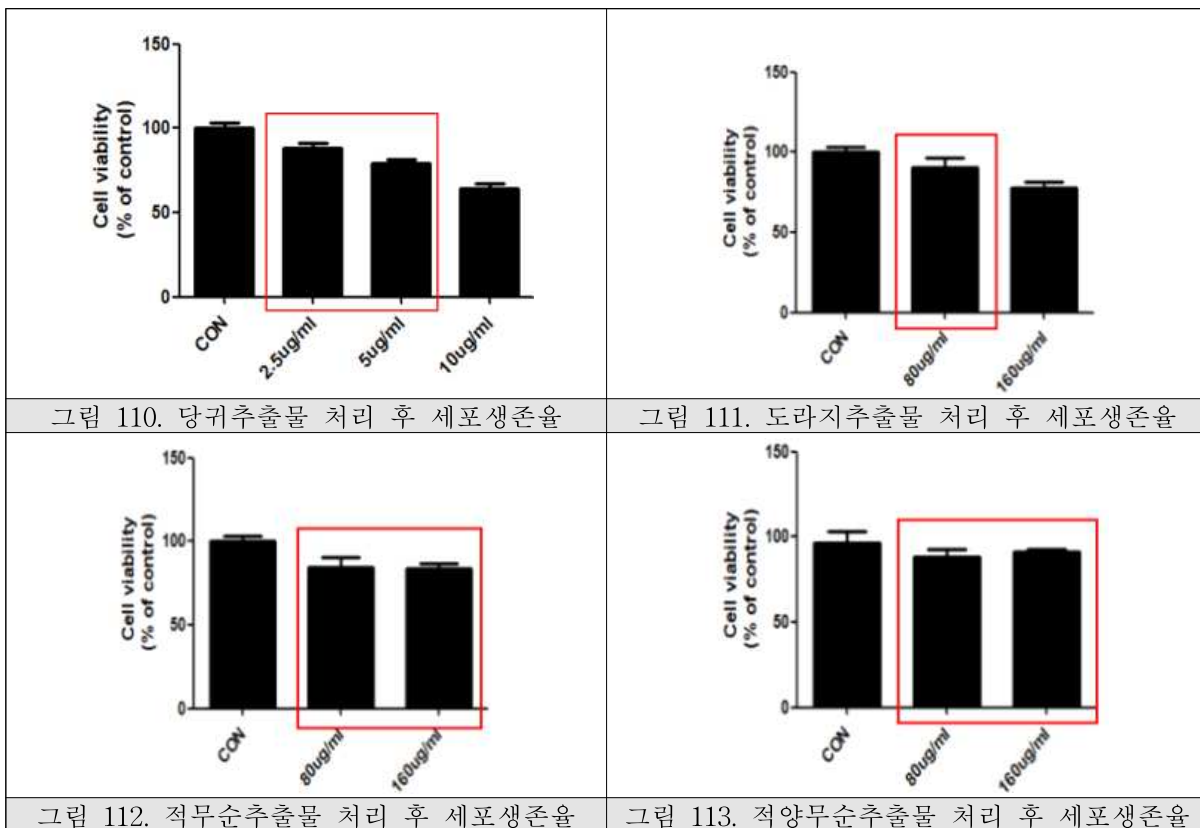
도라지의 각 유효성분들 중에 어떠한 성분이 체지방 감소 효과에 기여하는지에 대한 검증 연구를 수행하였음. 이러한 연구결과를 바탕으로, 당귀와 도라지는 설포라핀을 다량 함유하는 무순과 함께 체지방 감소 시너지 효과를 나타낼 수도 있을 것으로 기대됨.

○ 복합 소재 선정을 위한 원료별 추출물의 체지방 감소 유효성 평가

표 8. 복합소재 선정을 위한 원료 정보 및 유효성분 함량

원료 명	세부사항	유효성분
무순	적무순 추출물	SFEN 7.5mg/g dry extracts
	적양무순 추출물	SFEN 26.2mg/g dry extracts
당귀	-	Decursin 168.8mg/g extracts
도라지	-	Decursinol angelate 147.2mg/g extracts
복합물 (적양무순+당귀+도라지)	1:1:1 혼합	-

복합 소재 후보 원료별 추출물의 세포생존을 관찰 및 유효농도 설정



- 본 연구진은 선행 논문들의 결과와 동일하게 당귀와 도라지의 각 유효성분들에 대한 체지방 감소 효과를 관찰한 바가 있음. 따라서 복합소재 선정을 위하여 해당 유효성분을 포함하는 당귀, 도라지 추출물, 무순 추출물 2종 (적무순, 적양무순)을 제조하여 각 유효성분의 함량을 분석하였음.
- 당귀 추출물은 5ug/ml, 도라지 추출물을 80ug/ml. 무순 추출물 2종은 160ug/ml, 복합물(적양무순+당귀+도라지 1:1:1) 20ug/ml 농도에서 지방전구세포(3T3-L1)의 세포 생존율이 80% 이상임을 관찰하여 유효농도로 설정하였음.

복합 소재 후보 원료 및 복합물 (1:1:1)의 체지방 감소 유효성 평가

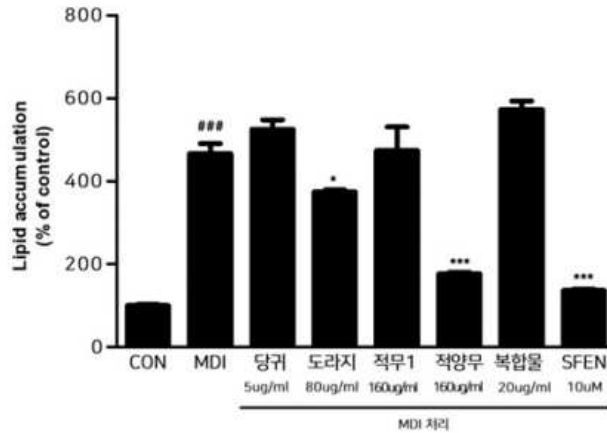


그림 114. 각 추출물 및 복합물의 지방축적 억제 효능

- 당귀추출물은 5ug/ml 농도에서 지방축적 억제효능이 관찰되지 않았고, 도라지추출물은 80ug/ml 농도에서 체지방 감소 효능이 관찰되었음. 무순 중에서도 설포라핀 함량이 7.5mg/g dry extracts 인 적무순은 지방축적 억제 효능이 관찰되지 않았으며, 설포라핀 함량이 26.2mg/g dry extracts 로 관찰된 적양무순의 경우 160ug/ml 농도에서 체지방 감소 효능이 우수한 것으로 관찰되었음. 적양무순의 경우 유효성분인 설포라핀 10uM과 비슷한 수준으로 지방 축적을 억제하는 것을 관찰하였음. 따라서 무순은 적양무순으로 선별하였으며, 적양무순:도라지:당귀를 각 1:1:1로 혼합하여 지방축적 억제 효능을 관찰한 결과 기대했던 것과 달리 지방 축적 억제효능이 관찰되지 않았음.
- 본 연구진은 체지방 감소 효능이 우수한 소재를 발굴하는 것이 최종 목표였음. 다른 소재와의 시너지 효과는 관찰되지 않았기 때문에 설포라핀 함량이 증대된 무순 추출물을 단독 활용하여 소재를 발굴하였음. 추후 동일한 유효성분인 설포라핀을 함유하고 있는 내복자 또는 동일한 이소티오시아네이트류를 유효성분으로 하고 있는 등 무순과 시너지 효과를 나타낼 수 있을 것으로 예상되는 다른 소재를 후보 복합소재로의 가능성을 열어두고 있음.

2. 미지성분에 대한 구조 규명 및 분석

○ 무순 추출물 내 미지성분에 대한 분석 및 분리

- 다양한 주정 비율을 적용하여 무순 추출물 내 미지성분에 대한 분석을 위해 LC-MS 분석을 진행하였으며, 분석 조건은 아래의 표와 같음.

표 9. 무순추출물 내 설포라핀 및 미지성분 LC-MS 분석 정보

HPLC condition			
Instrument	Agilent Technologies 6410 Triple Quad		
Column	Kromasil C18 (3.0mm×150 mm, 3.0µm)		
Mobile phase	A: 0.1% Formic acid in Water B: 0.1% Formic acid in Aceetonitrile		
Gradient table	Time	A	B
	0	90	10
	6	85	15
	20	75	25
	30	50	50
35	0	100	
Flow rate	0.4 mL/min		
MS condition			
Ionizatiion mode	ESI, negative scan mode		
Gas temperature	350 °C		
Capillary volt.	4 kV		
Nebulizer	40 psig		
Fragmentor	135 V		

- 에탄올 비율 및 온도에 따른 무순 추출물에 대해 LC-MS로 분석한 결과, 지표성분인 설포라핀보다 함량이 높은 peak가 확인되어, 해당 피크에 대한 분리 및 분석을 수행하였음.

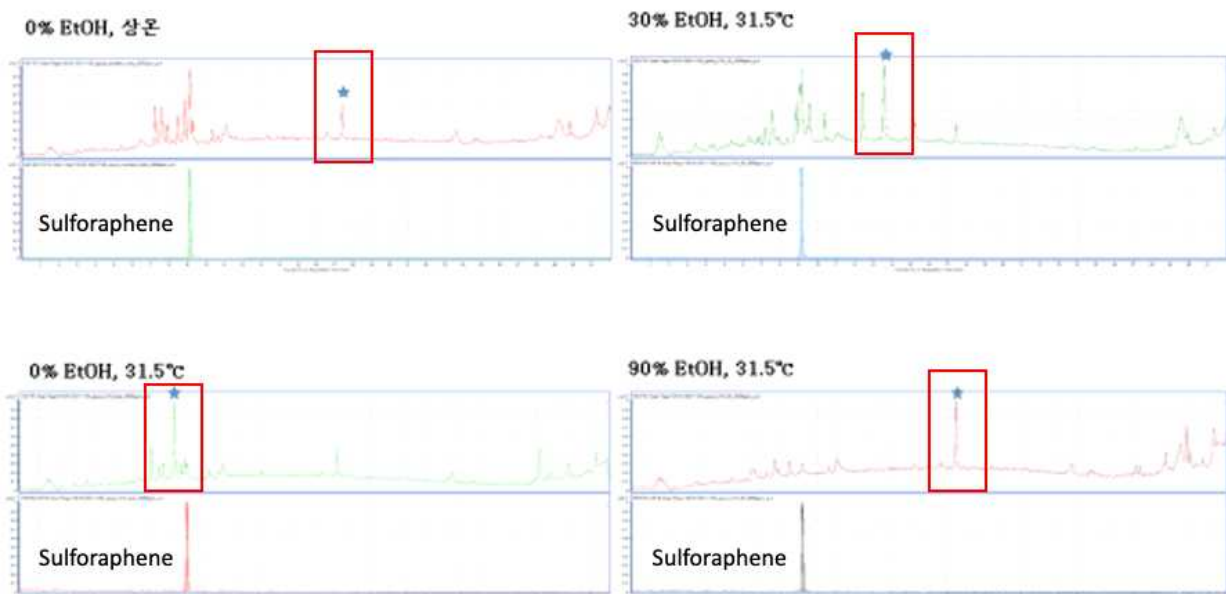


그림 115. 무순 추출물의 LC 분석 spectrum 및 선택된 미지성분 피크

- 선정된 피크의 화합물을 분리 및 정제하기 위하여 dichloromethane/water를 이용하여 용매계 통분획을 진행하였고, dichloromethane fraction에 대해 정제를 진행함. 정제는 preparative-LC를 활용하여 진행하였으며, 분리조건은 아래의 표와 같음.

표 10. 무순추출물 내 설포라핀 및 미지성분 분리를 위한 preparative-LC 조건

Preparative-LC condition			
Flow rate	20 mL/min		
Injection vol.	2 mL		
Column temperature	30°C		
Mobile phase	A: Water B: Acetonitrile		
Gradient table	Time	A	B
	0	95	5
	10	70	30
	15	70	30
	40	0	100
Detector	UV: 254, 285, 320 nm		

- Preparative-LC를 통해 2개의 주요 화합물들을 분리하였으나, 본 연구에서 사용되는 무순 물 추출물에는 본 화합물이 검출되지 않는 것으로 확인되었음. 십자화과 식물의 주요 유효화합물인 Isothiocyanate는 휘발성 화합물인 것을 감안하여, LC-MS가 아닌 GC-MS를 이용한 무순 추출물 내 화합물을 재분석하였음.

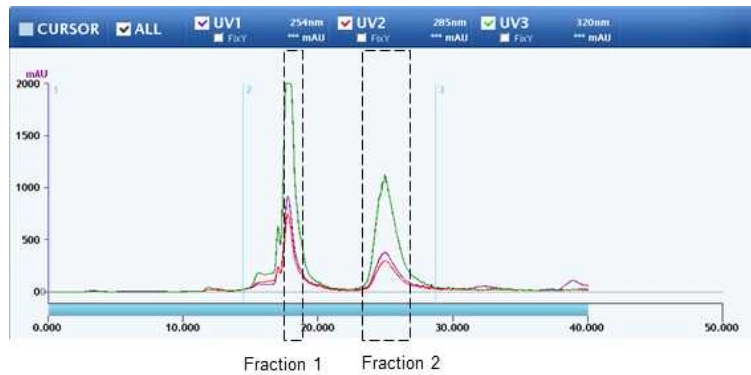


그림 116. prep-LC를 통해 분리된 주요 화합물 chromatogram

○ CG-MS를 이용한 구조 규명 및 분석

무순 원물 내 다양한 성분 분석 및 구조 규명

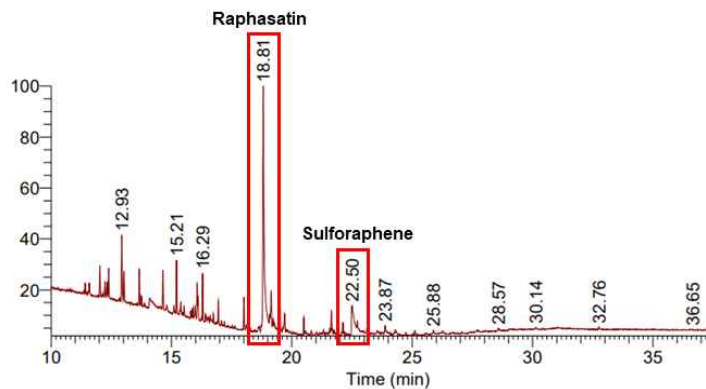


그림 117. 무순 원물 GC-MS chromatogram

- 무순 원물 내 미지성분에 대한 분석을 위해 GC-MS 분석기법을 활용하여 실험을 진행하였음. 그 결과, 무에 많다고 알려진 raphasatin 이 발견되었고, 무 씨앗에 많다고 알려진 sulforaphene 이 발견되었음.

최적 추출조건을 적용한 무순 추출물의 성분 분석

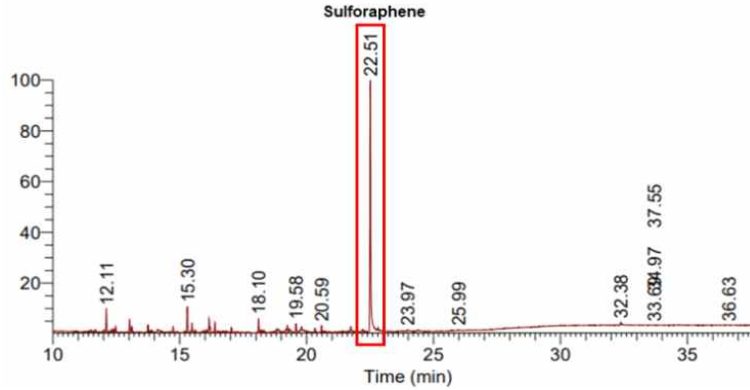


그림 118. 무순 추출물 GC-MS chromatogram

- 무순추출물의 미지성분을 규명하기 위하여 GC-MS 분석기법을 활용하여 실험을 진행하였음. 무순을 동결건조 및 분쇄 후 물에서 상온 추출하여 샘플을 활용하였음.
- 무순추출물이 sulforaphene을 타겟으로 한 최적조건 추출물이므로, sulforaphene의 함량이 가장 높은 것을 확인할 수 있으며, 피크면적이 1,000만을 넘으면서 탄화수소가 아닌 화합물에 대한 GC-MS 분석 결과는 표 X에 정리하였음. 해당 분석 결과를 통해 설포라핀을 제외한 6 가지 미지성분에 대한 분석을 완료하였음.
- 미지성분 중 피크의 probability가 50 이상인 RT 15.48의 화합물 Benzoid acid, 2-hydroxy-, methyl ester (methyl salicylate)는 무의 앞에서 발견되는 O-glycosidically-bound volatile compound로 보고된 바 있음.(I.Blažević and J.Mastelić (2009) Glucosinolate degradation products and other bound and free volatiles in the leaves and roots of radish (*Raphanus sativus* L.), Food Chemistry, 113(1) 96-102)

표 11. 무순추출물 내 설포라핀 및 미지성분 GC-MS 분석 결과 compound table

RT	Peak Area	Probability	Compound name	Molecular formula
14.13	42217813.94	22.77	2-Methyl-2-(methylthio)propionaldehyoxime	C5H11NOS
15.48	62482655.41	67.9	Methyl salicylate	C8H8O3
16.15	73638284.39	12.62	2-(3',3'-Dimethyl-1'-butyn-1'-yl)-1-cyclohexenecarbaldehyde	C13H18O
18.82	46230238.53	19.21	2,2,7-Trimethyl-2,3-dihydrobenzofuran	C11H14O
19.58	233755973.3	20.05	2-tert-Butyl-4-isopropyl-5-methylphenol	C14H22O
20.33	13482539.31	25.68	9-HYDROXY-1-METHYL-1,2,3,4-TETRAHYDRO-8H-PYRIDO(1,2-A)PYRAZIN-8-ONE	C9H12N2O 2
22.51	1331983256	56.06	1-Butene, 4-isothiocyanato-1-(methylthio)-	C6H9NS2

- 검출된 성분들은 체지방 감소에 대한 연구결과가 전무하므로 무순 추출물의 유효성분은 무씨앗과 동일하게 설포라핀으로 설정하고자 함.

3. 최적 무순 추출물의 체지방 감소 효능 확인 (in vitro)

○ 유효성분 함량 증대를 위해 최적 재배 조건을 적용한 무순 원물 내 기능성분 함량 분석

최적 재배 조건을 적용한 무순 원물 내 글루코라페닌과 설포라핀 함량 분석

- 최적 재배 조건을 적용한 무순을 플랜티팜으로부터 공급받아 유효성분 함량을 분석하였음. 이 소티오시아네이트류인 설포라핀은 십자화과 식물에서는 전구체인 글루코라페닌으로 대부분 존재하여 무순 원물에서 글루코라페닌과 설포라핀 함량을 모두 분석하였음. 그 결과 무순 원물 내 글루코라페닌은 38.25 mg/g dry weight, 설포라핀은 14.04 mg/g dry weight 로 관찰됨. 또한, 최적 재배 조건을 적용한 무순의 경우 수분 함량은 약 75.68%로 관찰되었음.

최적 추출 조건을 적용한 무순 추출물 내 설포라핀 함량 분석

- 추출건조 수율과 설포라핀 함량을 최대로 하는 조건을 적용하여 무순 추출물을 제조한 후 설포라핀 함량을 분석하였음. 그 결과, 추출건조 수율은 27.2%로 관찰되었으며 무순 추출물 내 설포라핀은 45.93mg/g dry extracts 로 관찰되었음. 이는 본 연구진이 설포라핀이 가장 많다고 알려진 무씨앗이 함유하고 있는 설포라핀과 유사한 양임을 확인하였음.

○ 최적 조건을 적용한 무순 추출물의 체지방 감소 유효성 평가 (in vitro)

최적 재배 및 추출 조건 적용 무순 추출물의 독성평가(세포생존을 관찰) 및 유효농도 설정

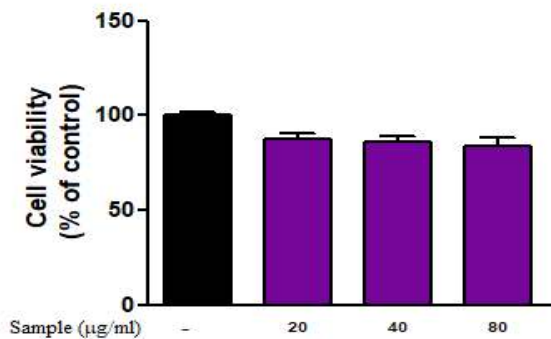


그림 119. 최적 재배 및 추출조건 적용 적양무순 추출물의 세포생존율 평가

- 설포라핀 함량이 약 45mg/g dry extracts 인 적양무순 추출물은 80ug/ml 농도에서 지방전구 세포(3T3-L1)의 세포 생존율이 80% 이상임을 관찰하였고, 예비실험과 달리 160ug/ml 에서는 세포생존율이 80% 미만인 것을 관찰하였음. 이는 추출물 내 유효성분인 설포라핀 함량이 크게 증대되었기 때문이라고 사료됨. 따라서 설포라핀 함량이 증대된 무순 추출물은 80ug/ml을 유효농도로 설정하여 세포 효능 평가를 진행하였음.

최적 재배 조건과 추출 조건을 적용한 무순 추출물의 체지방 감소 유효성 평가

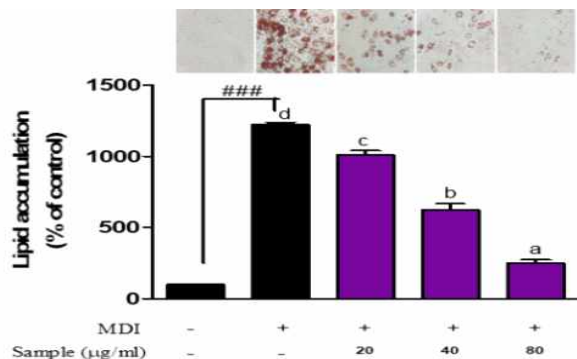


그림 120. 최적 재배 및 추출조건 적용 무순의 지방 축적 억제 효능

- 지방전구세포를 분화시켜 세포 내 중성지방 축적 감소 효능을 평가한 결과, 무순추출물을 80ug/ml 로 처리한 군은 MDI로 지방 분화를 유도한 군과 비교하여 지방 분화 억제 효능이 약 79.6%인 것으로 매우 우수한 효능을 나타냄.

○ 지방세포 내 지방 축적시 발현되는 전사인자들의 단백질 저해 효과 확인

체지방 감소 예상 작용기전 관련 바이오 마커 검토 및 선정

- 식품의약품안전처 가이드라인에 따르면 체지방 감소에는 크게 4가지 기전이 있으며 지방소화·흡수 억제, 체지방 합성 억제, 체지방 분해 촉진, 열 생성 기전이 있음. 지방소화·흡수 억제 기전은 소장에서 식이로부터 섭취되는 지방의 소화와 흡수를 억제함으로써 체내 지방 축적을 억제하는 기전임. 체지방 합성 억제 기전은 지방전구세포에서 지방세포로의 분화 과정 중 지방세포 분화와 합성을 억제하는 것임. 지방 세포로의 분화를 촉진하는 대표 전사인들은 PPARγ (peroxisome proliferator activated receptor gamma), C/EBPα(CCAAT/enhancer binding protein alpha)가 있음. 체지방 분해 촉진 기전은 체내 축적된 체지방의 분해를 촉진하거나 베타 산화과정을 촉진함으로써 지방 축적을 억제하는 기전임. 열 생성 기전은 세포 내 미토콘드리아에서 지방산의 산화적 인산화과정을 uncoupling 하면서 ATP 생성을 감소시키고 열을 발생시켜 체지방을 감소시킴.
- 체지방 조절에 관여하는 다른 인자는 지방세포에서 주로 생성되는 렙틴 호르몬이 있으며, 이는 대표적인 비만유전자로 알려져 있고, 지방조직에 중성지방이 축적되면 렙틴 합성이 촉진됨. 아디포넥틴은 지방조직에서 분비되는 호르몬으로 식욕 억제 효과를 갖는 것으로 알려져 있음.

지방대사와 관련된 다양한 유전자의 mRNA 발현 변화 관찰 (Real-Time PCR(qPCR))

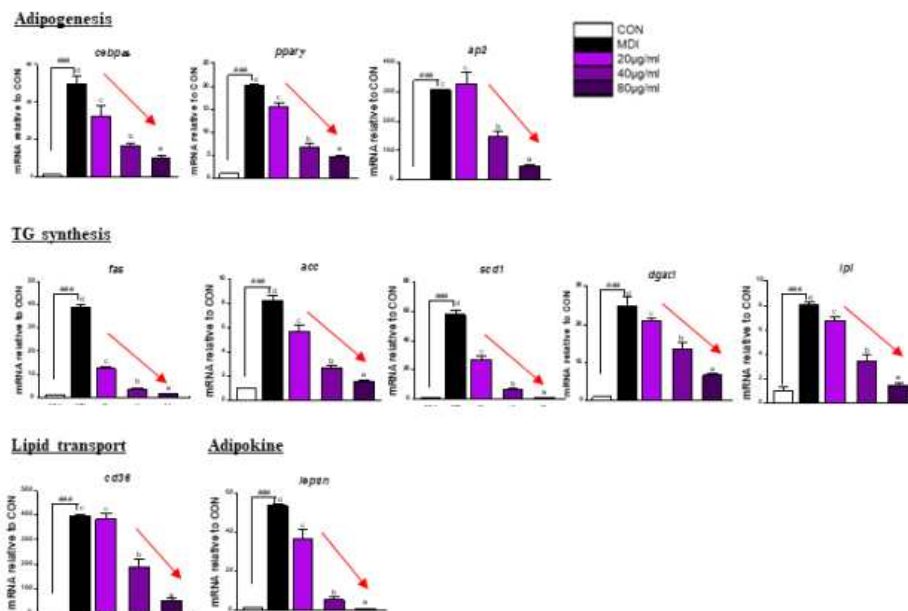


그림 121. 지방 대사 관련 다양한 유전자의 mRNA 발현 변화

- 지방전구세포를 지방세포로 분화시키기 위해 6일 동안 분화배지와 무순추출물을 동시에 처리한 후 mRNA 발현의 변화를 관찰하였음. mRNA 발현관찰을 위해 샘플 처리가 완료된 세포에 Trizol reagent를 이용하여 RNA를 추출한 후 nanodrop을 통해 정량하였음. 그 후 RNA를 가지고 cDNA를 합성하여 SYBR Green PCR Master Mix, cDNA, primers, RNase free water를 넣은 후 pcr을 증폭시켜 application data를 분석함. Relative mRNA expression level은 mathematical formulas ($2^{-\Delta\Delta Ct}$)를 사용하여 수치화하였음.

- 지방 분화의 대표 전사인자들인 PPAR γ 와 C/EBP α 가 농도 의존적으로 유의적으로 감소하였음. 또한 지방세포에서 주로 발현되는 ap2의 발현이 감소하였음. 지방 합성에 관여하는 fatty acid synthase(FAS), Acetyl CoA carboxylase(ACC), Stearoyl-CoA desaturase-1(SCD1), Diacylglycerol acyltransferase(DGAT)의 유전자 발현이 모두 유의적으로 감소하였음. 이 외에도 지방 이동과 관련된 유전자와 에너지 대사 조절인자로서 지방세포에서 분비되는 호르몬인 렙틴의 유전자 발현도 감소하였음.
- 이와 같이 지방 분화, 지방 합성, 지방세포 특이적인 호르몬 등 지방이 생성되기 위해 관여하는 다양한 유전자들의 발현이 무순추출물을 처리한 군에서 농도 의존적으로 감소하는 것을 관찰하였음.

지방 분화 및 합성 관련 단백질의 발현 변화 관찰 (Western Blot)

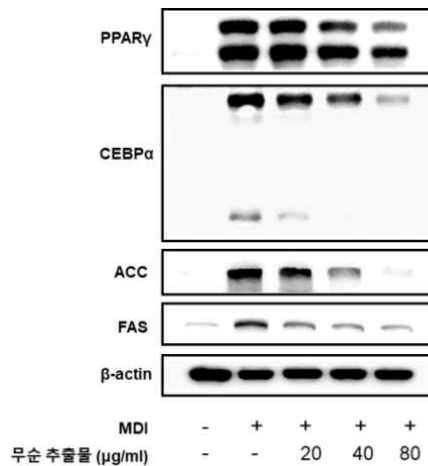


그림 122. 지방 분화와 합성 관련 주요 전사인자들의 단백질 발현 변화

- 지방세포 분화에 관여하는 주요 전사인자들의 단백질 발현 변화를 관찰한 결과, 지방이 분화하면서 크게 발현하는 PPAR γ 와 C/EBP α 의 발현이 무순 추출물을 처리한 군에서 농도 의존적으로 유의적으로 감소하였음. 이는 앞서 지방축적 억제 효능 평가를 진행한 결과와 동일한 경향으로 관찰되었으며 무순 추출물은 지방세포의 분화를 억제하고 지방의 축적을 감소시키는 것을 나타냄. 지방 합성에 주로 관여하는 주요 전사인자인 FAS와 ACC도 농도 의존적으로 감소하였으며, 무순 추출물 80 μ g/ml 처리한 군에서는 con 군과 비슷한 수준으로까지 발현이 감소하였음.
- 이와 같이 무순 추출물은 지방 분화, 합성 등 지방 대사와 관련된 다양한 유전자들의 mRNA 수준과 단백질 수준에서 모두 발현을 감소시키는 우수한 체지방 감소 효능을 가진 소재임.

4. 소재 안전성 및 안정성 평가

1) 소재 안전성 및 안정성 평가

○ 식품의약품안전처 가이드라인에 따른 무순 소재의 안전성 검증자료 분석 및 평가

- 식품의약품안전처에서 공고한 건강기능식품 원료의 안전성 평가를 위한 의사결정도에 따르면, ①건강기능식품에 사용할 수 없는 원료 등에 관한 규정에 해당되는 원료인지 확인, ②섭취경험이 있는 동·식물, 조류, 미생물 등의 원료 자체를 추출, 발효 등의 가공과정 없이 건조, 단순 분쇄 등의 물리적 변화를 통해 제조한 원료인지 확인, ③원료 자체에 독성 또는 부작용이 있거나 인체에 위해를 주는 물질이 함유되어 있다는 자료가 있는지 데이터베이스 등에서 검색하여 확인, ④원재료를 식품으로 사용하던 경우에는 제안된 원료의 섭취량이 일상적으로 섭취하는 원재료의 평균섭취량의 3배 또는 극단량(95 백분위수)보다 많은지 확인, 원재료를 약용으로 섭취하던

경우에는 제안된 원료의 섭취량이 원재료의 평균섭취량보다 많은지 확인, ⑤섭취경험이 있는 동·식물, 조류, 미생물 등의 원료를 추출, 발효, 분리, 분해 등의 가공 공정을 통하여 제조한 원료인지 확인 등의 과정을 거쳐 안전성 평가를 진행하였음.

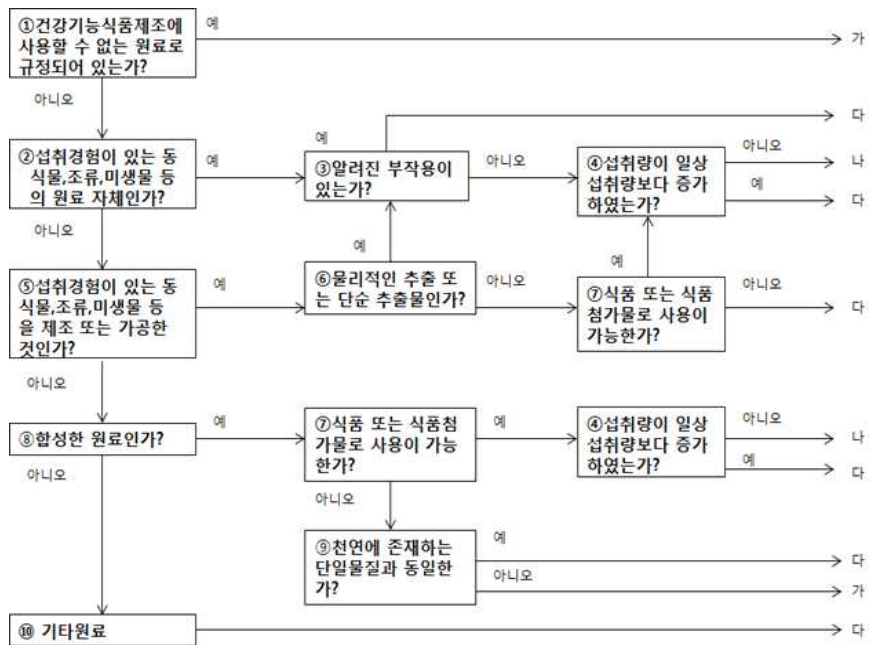


그림 123. 건강기능식품 기능성 원료의 안전성 평가를 위한 의사결정도 (출처: 식품의약품안전처)

- 건강기능식품 기준 및 규격 고시의 ‘건강기능식품 제조에 사용할 수 없는 원료에 내복자, 무순, 무는 포함되어 있지 않음. 또한, 「식품의 기준 및 규격」(제2019-81호)에 따르면 식품에 사용할 수 있는 원료의 목록 중 ‘무우, 수박무, 글리코시드과일무, Radish, Watermelon radish’, 학명 *Raphanus sativus* L.로 사용부위는 뿌리, 잎, 씨앗(내복자)가 명시되어 있음.
- 식품에 사용할 수 있는 원료 목록에 포함되어 있으나, 소재 생산에 추출 등의 가공 공정이 들어가 있음. 하지만, 물, 주정 및 이산화탄소를 활용하여 제조한 경우에는 식품 원료 제한의 기준에 속하지 않으므로 물을 용매로 제조하는 무순 추출물은 식품 원료로 사용이 가능함.
- 무순의 식품 안전성을 평가한 선행 연구에 따르면 3가지 종류의 무 품종의 싹을 활용하여 미생물학적 검가, 생체 아민 조사, 독성 평가를 수행함. 무순에서 putrescine, cadaverine, histamine, tyramine, spermidine, spermine이 검출되었지만, 해당 성분들은 100g 당 5mg 미만으로 허가 범위 내에 속함. 또한, 무순은 세포 증식 및 생존에 독성이 없는 것으로 평가하였고, 안전한 식품 원료로 사용이 가능한 것을 입증함. (Martínez-Villaluenga, Cristina, et al. "Food safety evaluation of broccoli and radish sprouts." Food and chemical Toxicology 46.5 (2008): 1635-1644.)
- 무순 원료는 국내 식품을 취급하는 다양한 유통채널에서 이미 판매가 이루어지고 있는 원료임. 국립농산물품질관리원의 가공품 원산지 표시대장 품목의 즉석식품류 내용 중에 신선편의식품으로 무순이 포함되어 있음.
- 이와 같이 무순추출물의 원료로 사용되는 무순은 이미 식품원료에 등재된 소재이며 이미 섭취 및 판매가 이루어지고 있는 식품임. 또한 추출물을 제조하는 공정 중에 사용되는 용매는 물로 허용된 용매이며 무순 원료의 부작용에 대해선 이미 선행논문을 통해 독성이 없는 소재로 입증됨. 본 연구진은 식품의약품안전처에서 제시하고 있는 가이드라인을 참고하여 무순 추출물의 안전성 검증 자료 확보를 완료함.

○ 시간, 온도 등 환경요인에 따른 기능성분의 안정성 분석

- 식품의약품안전처에서 제시하고 있는 식품의 유통기한 설정 실험 가이드라인에 따르면 가속실험이란 실제 보관 또는 유통 조건보다 가혹한 조건에서 실험하여 단기간에 제품의 유통기한을 예측하는 것을 칭함. 즉, 온도가 물질의 화학적, 생화학적, 물리학적 반응과 부패 속도에 미치는 영향을 이용하여 실제 보관 또는 유통온도와 최소 2개 이상의 남용 온도에 저장하면서 선정한 품질 지표가 품질한계에 이를 때까지 일정 간격으로 실험을 진행하여 얻은 결과를 아레니우스 방정식(Arrhenius equation)을 사용하여 실제 보관 및 유통 온도와 외삽한 후 유통기한을 예측하여 설정하는 것을 말함.
- 설포라핀을 유효성분으로 하는 내복자 추출분말의 유통기한 설정을 위해, 일반세균수, 대장균군, 설포라핀 함량을 품질지표로 하여, 5℃, 15℃, 25℃, 35℃, 45℃에서 12주간 보관하며 품질지표의 변화를 측정하였음.
- 품질 지표 중 가장 높은 결정계수 값을 보였으며, 향후 원료의 지표성분으로 관리된 설포라핀(SFEN, mg/g)의 1차 반응식으로, 아레니우스 방정식을 이용하여 반응속도 상수와 활성화에너지를 산출하고 계산한 결과, 실온(1~35℃) 유통시의 유통기한은 약 249일로 측정되었음. 유통/보관 중에 실험에서 반영하지 못한 여러 가지 변수들을 고려했을 때 안전계수 0.75를 반영하여 약 186일의 유통기한을 설정하는 것이 바람직하다고 판단됨.

■ STEP1. 저장 온도별 저장기간에 따른 각 품질지표의 함량 변화 분석

- 저장 온도별 저장 기간 중 품질 지표 함량의 변화 분석

구분	일반세균(CFU/g)	대장균군	SFEN(mg/g)
생산당일	0	음성	6.17
온도(℃)	일반세균(CFU/g)	대장균군	SFEN(mg/g)
1주차			
5	-	-	5.88
15	-	-	5.76
25	-	-	6.17
35	-	-	5.62
45	-	-	4.66
2주차			
5	-	-	5.92
15	-	-	5.85
25	-	-	5.14
35	-	-	5.73
45	-	-	4.11
4주차			
5	-	-	5.82
15	-	-	5.51
25	-	-	5.49
35	-	-	5.68
45	-	-	3.04
6주차			
5	-	-	5.28
15	-	-	5.11
25	-	-	5.09
35	-	-	5.09
45	-	-	2.66
8주차			
5	-	-	5.45
15	-	-	5.63
25	-	-	4.71
35	-	-	4.88
45	-	-	2.07
10주차			
5	-	-	5.06
15	-	-	5.37
25	-	-	5.02
35	-	-	5.32
45	-	-	2.32
12주차			
5	0	음성	5.77
15	0	음성	4.97
25	0	음성	5.30
35	0	음성	5.08
45	0	음성	1.69

■ STEP 2. 저장 온도별 품질 지표의 회귀방정식 확인

- 저장 온도별 품질지표의 회귀방정식 확인

품질지표	반응차수	온도	회귀방정식 기울기(a)	회귀방정식 절편(b)	결정계수(R ²)
SFEN(mg/g)	0	5	-0.007	5.880	0.310
		15	-0.009	5.828	0.574
		25	-0.009	5.663	0.315
		35	-0.009	5.723	0.554
		45	-0.036	4.469	0.885
	1	5	-0.001	1.772	0.304
		15	-0.002	1.764	0.569
		25	-0.002	1.730	0.306
		35	-0.002	1.745	0.543
		45	-0.012	1.545	0.925

■ STEP 3. 온도에 따른 품질지표의 활성화 에너지 산출

- 설포라핀 함량의 회귀방정식

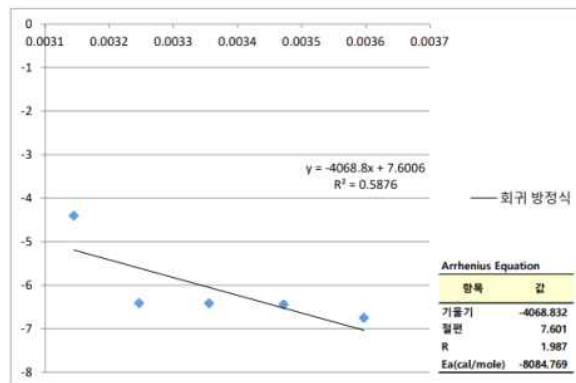
품질지표	반응차수	온도(°C)	기울기(a)	절편(b)	결정계수(R ²)
SFEN(mg/g)	1	5	-0.001	1.772	0.304
		15	-0.002	1.764	0.569
		25	-0.002	1.730	0.306
		35	-0.002	1.745	0.543
		45	-0.012	1.545	0.925

- 설포라핀의 품질한계: 표시량(한계규격)의 80%

품질지표	초기값	한계규격	품질한계
SFEN(mg/g)	5.00	4.00	3.20

- 온도별 반응속도상수(K) 및 활성화에너지(Ea) 산출

온도(°C)	온도(T)	1/T	K	LnK
5	278	0.003597	0.001173	-6.747998
15	288	0.003472	0.001595	-6.441016
25	298	0.003356	0.001635	-6.416118
35	308	0.003247	0.001644	-6.410608
45	318	0.003145	0.012221	-4.404629



- 실은유통제품의 연간예상 반응속도상수 산출

온도(°C)	온도(T)	1/T	LnK	K	예상유통 일수 (일)	연간 예상반응속도상수(K')
10	283	0.003534	-6.776905	0.001140	152	0.173249
15	288	0.003472	-6.527296	0.001463	30	0.043889
20	293	0.003413	-6.286205	0.001862	61	0.113571
25	298	0.003356	-6.053205	0.002350	60	0.141019
30	303	0.003300	-5.827895	0.002944	62	0.182545
합계(연간변화반응속도 상수)						0.654272

■ STEP 4. 유통기한 산출

-실온(1~35℃)에서 유통 시 유통기한 산출

최초규격	품질규격	차이	연간변화	예상	안전계수	예상 안전
Ln(A0)	Ln(At)	-Ln(At/A0)	반응속도상수(K')	유통기한(일)		유통기한(일)
1.609438	1.163151	0.446287	0.654272	248.97	0.75	186.73

그림 124. 유통기한 설정실험 결과

- 반응 차수 별 회귀방정식 $Y = aX + b$

0차 반응: X=저장기간, Y=저장기간 X 중의 시험 항목의 결과 값

1차 반응: X=저장기간, Y=Ln A, b=Ln A0

(A=저장기간 X중의 시험 항목의 자연 로그 값, A0=저장 전의 자연 로그 값)

- 각 품질 지표의 회귀방정식을 통해서, 단일 결정계수(R2)가 가장 높은 값은 SFEN(mg/g)의 1차반응 45도인 0.925이며, 해당 지표의 1차반응의 결정계수의 합은 2.648로 다른 품질 지표의 결정계수의 합들 중에서도 높은 값이었음.

- 또한, 상기의 회귀방정식 결정계수에 의한 선택뿐 아니라, 해당 원료는 식품 원료로 허가예정 이므로 해당 원료의 지표성분인 SFEN의 함량으로 그 지표를 설정하는 것이 타당함. 동일한 분석 디자인으로 45.17mg/g dry extracts 로 설포라핀 함량이 증대된 내복자추출분말의 유통기한 설정실험을 진행하였을 때 실온에서 666일, 냉장에서 20517일로 예상 안전유통기한이 설정됨.

- 본 연구진은 동일한 유효성분을 지표성분으로 하는 내복자추출분말을 활용하여 시간과 온도 조건을 적용하여 환경요인에 따른 기능성분의 안정성을 분석하여 유통기한을 설정하였음. 해당 예비 실험 결과를 토대로 본 연구에서 최종적으로 생산되는 무순추출물에서도 설포라핀 함량을 품질지표로 하여 유통기한 설정실험을 수행할 계획임.

- 식품의약품안전처에서 제시한 유통기한 설정 실험의 주요 변인은 온도와 시간임. (식품의약품안전처.2015.식품 및 축산물의 유통기한 설정실험 가이드라인). 구체적인 실험 조건으로는 온도 (5℃, 15℃, 25℃, 35℃, 45℃)에서 시간 (0~12주)동안 무순 추출물 내 설포라핀 함량을 관찰 할고 대조군 (실험 0주차) 대비 함량 변화를 분석할 것임. 도출된 연구결과는 무순추출물의 식품원료로서 보관 및 유통을 위한 유통기한 설정 데이터로 활용될 것임.

5. 복합소재 선정을 위한 부위별 기능성분 분석

1) 부위별 기능성분 분석 및 체지방 감소 유효성 평가

○ 무순의 부위별 기능성분 함량 분석

표 12. 무순 부위별 원물 및 추출물 내 설포라핀 함량 분석

	뿌리	줄기	잎
Sulforaphene (mg/g dry weight)	3.24	3.94	14.90
Sulforaphene (mg/g dry extracts)	5.68	4.30	34.24

- 무순을 뿌리, 줄기, 잎 3부위로 나누어 원물 내 설포라핀 함량을 분석함. 그 결과 뿌리는 3.24mg, 줄기에는 3.94mg, 잎에는 14.90mg 으로 다른 부위에 비해 특히 잎에 설포라핀 함량이 많은 것으로 관찰되었음. 각 부위를 상온에서 물로 추출하여 추출물로 제조하고 설포라핀 함량을 분석한 결과 뿌리는 5.68, 줄기는 4.30, 잎에는 34.24 mg/g의 설포라핀 함량이 관찰됨. 원물 내 설포라핀 함량 분석결과와 동일한 경향으로 무순 잎 추출물에서 설포라핀 함량이 가장 높은 것으로 관찰되었음.

○ 무순 부위별 추출물의 체지방 감소 유효성 평가

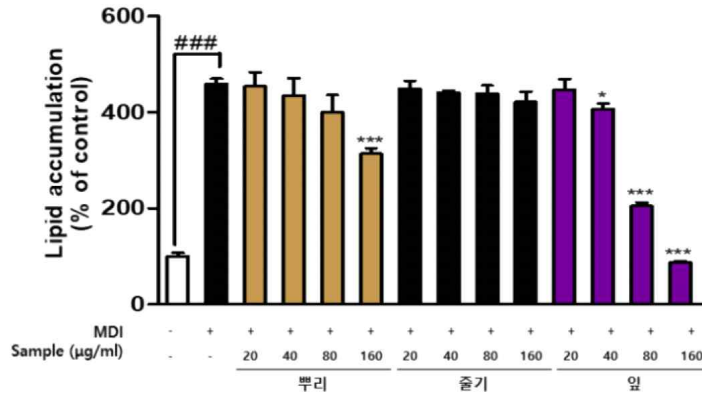


그림 125. 무순 부위별 추출물 체지방 감소 효능 평가

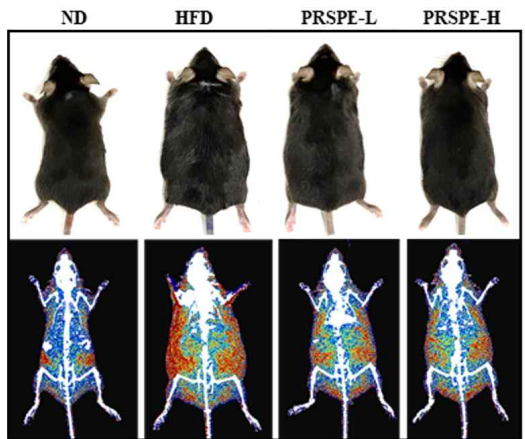
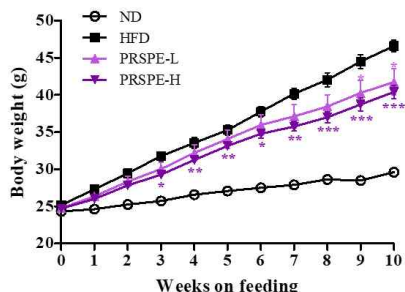
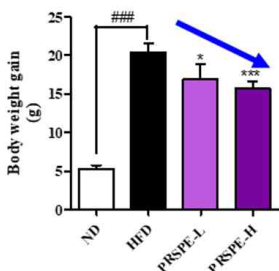
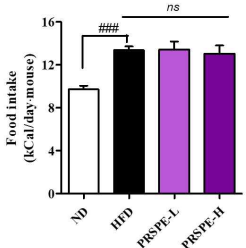
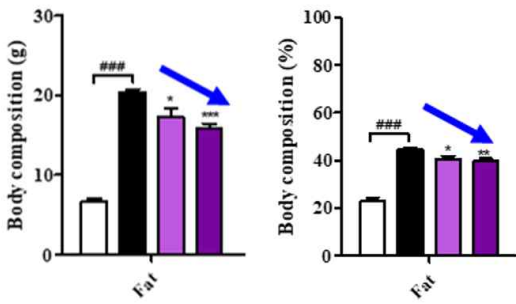
- 무순 뿌리, 줄기, 잎 추출물은 모두 세포 독성이 관찰되지 않은 160 ug/ml 농도를 최고 유효 농도로 설정하여 다양한 농도에서 체지방 감소 효능 평가를 진행하였음. 그 결과, 설포라핀 함량이 5.68 mg/g dry extracts 로 관찰된 뿌리 추출물은 160 ug/ml 농도에서 유의적으로 지방 축적을 억제하였음. 설포라핀 함량이 4.3 mg/g dry extracts 로 관찰된 줄기추출물은 체지방 감소 효능이 관찰되지 않았음. 설포라핀 함량이 34.24 mg/g dry extracts 로 가장 높게 관찰된 잎 추출물은 농도 의존적으로 지방축적 억제능이 관찰되었으며 체지방 감소 효능이 우수한 것으로 보임. 뿌리추출물은 잎추출물과 설포라핀 함량이 유사한 수준에서 관찰된 반면 체지방 감소 효능이 유의적인 수준에서 관찰되었는데, 이는 뿌리 부위의 설포라핀뿐만 아니라 다른 유효 성분에 의한 효과가 나타난 것으로 예상됨.
- 해당 연구결과를 바탕으로 시중에 납품되는 뿌리가 컷팅된 무순의 형태보다 뿌리부위까지 포함하고 있는 소재를 사용하여 무순 추출물 소재를 개발할 경우 체지방 감소 효능이 더욱 우수할 것으로 기대됨.

1. 체지방 감소 효능 확인 (in vivo)

○ 동물 모델을 활용한 소재의 체지방 감소 효능 평가 (표현형 변화)

최적 재배 및 추출 조건을 적용한 무순 추출물의 체지방 감소 효능 평가

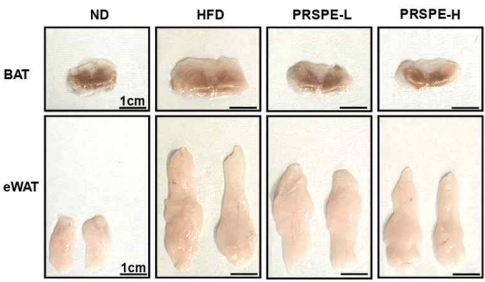
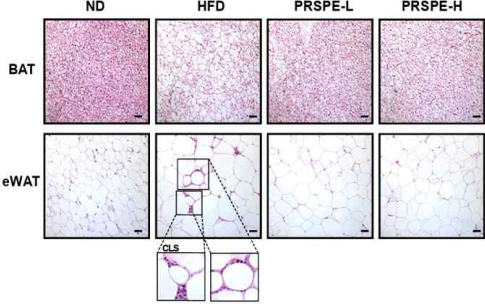
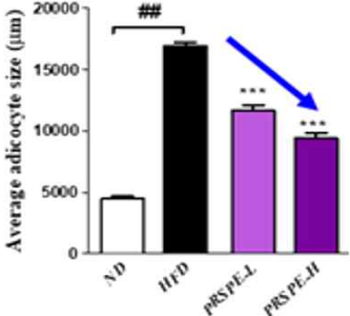
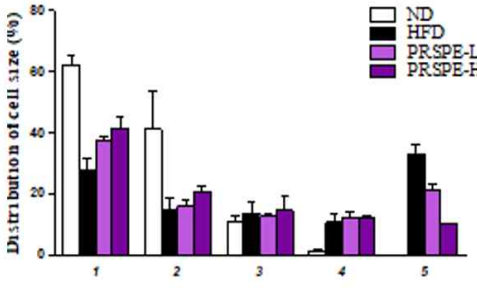
- 동물실험을 수행하기 위하여 서울대학교 동물실험윤리위원회에서 승인 (SNU-230103-2) 받았으며, 모든 동물실험 과정은 동물실험에 관한 윤리 과정을 준수하여 연구를 진행하였음. 실험동물은 평균 23g 무게의 수컷 C57BL/6J 마우스를 사용하였고, 온도 23도, 습도 55+10%, 12시간 간격의 명암 주기 환경에서 일주일 동안 적응시킨 후 실험을 시작하였음. 실험군은 다음과 같이 구성됨: 그룹1) 일반식이(ND, 10% kcal fat), 그룹2) 고지방식이(HFD, 60% kcal fat), 그룹3) 고지방식이+무순추출물 저농도 섭취군 (PRSPE-L, 60% kcal fat + 무순추출물 0.5% (w/w)), 그룹4) 고지방식이+무순추출물 고농도 섭취군 (PRSPE-H, 60% kcal fat + 무순추출물1.5%(w/w))으로 4개 그룹으로 나누었음. 각 그룹은 9-11마리씩 무작위로 분류되어 총 9주 동안 해당 식이를 섭취하였음.

<p>그림 126. 마우스 대표 사진</p> 	<p>그림 127. 마우스 체중 및 체중 증가 변화 평가</p>  
<p>그림 128. 마우스 그룹 간 사료 섭취량 변화 평가</p> 	<p>그림 129. 마우스 체지방량/률 평가</p> 

- 실험 기간동안 체중과 식이섭취량은 매주 1회 측정하였고, 실험 종료 당일에는 Analyzer (Medikors)를 사용하여 체지방량/률을 측정하였음. 일반 식이군 대비 고지방식이군은 체중

이 57.4% 증가하여 비만 유도가 제대로 이루어졌음을 확인하였음.

- 실험 9주차 종료시점에, 고지방식이군 대비 무순추출물군은 체중이 통계적으로 유의미하게 감소하였으며, 고지방식이군 대비 저농도군은 10.4%, 고농도군은 13.3% 체중이 감소하였음. 총 9주간의 body weight gain에 있어서도 고지방식이군 대비 무순추출물군은 농도 의존적으로 유의미하게 감소하였음. 무순추출물 고농도군은 실험 진행 3주차에서부터 고지방식이군 대비 유의적인 체중 차이가 관찰되었고, 무순추출물은 실험 초기부터 체중감소에 우수한 효능을 보였음.
- 체중감소가 사료섭취량의 변화로 인한 것인지 확인하기 위해 매주 사료 섭취량을 평가한 결과, 사료 내에 고지방식을 포함된 고지방식이군과 무순추출물군은 섭취한 kCal에는 유의적인 차이가 없었음. 이는 무순추출물군에서의 체중 감소 효과가 식이섭취량의 변화로 인한 것이 아니라 무순추출물의 효과인 것을 의미함.
- 또한, 식품의약품안전처 체지방감소 가이드라인에 명시되어 있는 다양한 바이오마커 중 대표 유효성 지표인 체지방량/물 변화를 관찰한 결과, 체중과 마찬가지로 체지방량/물도 고지방식이군 대비 무순추출물군에서 농도의존적으로 유의미하게 감소하는 것을 관찰하였음.

<p>그림 130. 마우스 갈색지방 및 백색지방 대표사진</p> 	<p>그림 131. 갈색지방 및 백색지방 조직학적 평가</p> 
<p>그림 132. 마우스 백색지방조직 내 지방세포 사이즈 평가</p> 	<p>그림 133. 지방세포 사이즈별 분포 변화 평가</p> 

- 마우스의 지방은 크게 백색지방과 갈색지방으로 구분되는데, 백색지방은 주로 에너지를 저장하는 역할을 하며 갈색지방은 열을 발생시켜 체온을 유지하고 에너지를 소모시키는 역할을 함. 실험 종료일에 지방조직들을 적출하여 조직의 색깔, 크기 등의 변화를 관찰한 결과, 고지방식이군의 갈색지방은 일반식이군에 비해 희미한 갈색을 띄었으며, 전반적인 갈색지방 조직의 크기는 증가한 것으로 확인되었음. 고지방식이군의 백색지방 조직의 크기는 일반식이군보다 크기가 증가한 것이 관찰되었으며, 무순추출물군에서는 고지방식이군에 비해 조직의 크기가 감소하였음. 실험 종료 후 동물 모델의 조직을 분리한 뒤 10% 포르말린에 넣어 고정하고 파라핀으로 임베딩(embedding)을 진행하였음. 제조된 파라핀 블록을 4µm 두께로 절편하여 슬라이드를 만들고 헤마톡실린-에오신 (hematoxylin and eosin, H&E) 염색을 진행하였음. H&E 염색을 통해 조직학적 변화를 관찰한 결과, 고지방식이군의 갈색지방은 백색지방과 유사한 양상으로 지방세포의 크기가 커진 것이 관찰되었으며, 무순추출물군에서는 일반식이군과 비슷한 크기를 보이는 것으로 나타났음. 백색지방에서는 고지방식이군은 일반

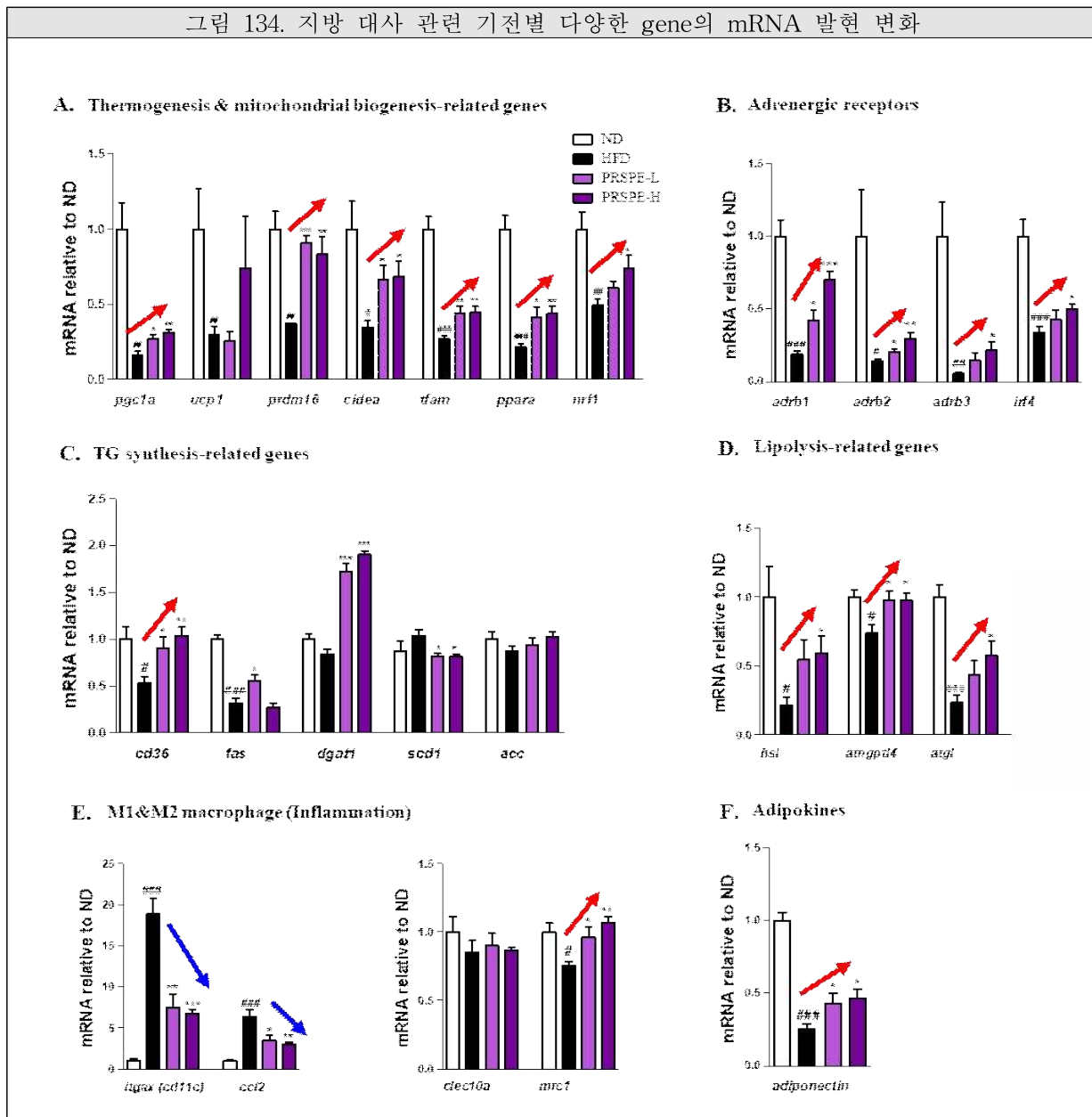
식이군과 비교하여 지방세포의 크기가 커지고, 무순추출물군에서는 지방세포의 크기가 줄어드는 것을 확인하였음. 백색지방 내 지방세포의 크기를 imageJ를 통해 정량화한 결과, 고지방식이군의 지방세포 크기는 일반식이군에 비해 약 378% 증가하였으며, 무순추출물 고농도군은 고지방식이군 대비 약 45% 감소한 것으로 확인되었음. 또한, 5000um² 단위를 기준으로 범위를 나누어 지방세포의 사이즈별 분포를 관찰한 결과, 일반식이군과 무순추출물군은 지방조직 내 크기가 작은 지방세포가 다수 차지하였고, 고지방식이군은 크기가 큰 지방세포가 다수 차지하는 경향이 관찰되었음.

- 비만인 지방조직에서는 지방세포 사멸이 증가함에 따라 죽은 지방세포 주변에 단핵구와 대식세포가 유입되어 잔해물을 청소하고, 그로 인해 crown-like structure (CLS) 를 형성함. 고지방식이군의 백색지방조직에서는 CLS가 발견되었으나, 무순추출물군에서는 CLS가 더 적거나 관찰되지 않았음. 따라서 무순추출물은 체중과 체지방량/률 감소에 효능이 있는 것으로 확인되었으며, 특히 갈색지방과 백색지방이 조직학적인 변화가 지방조직의 기능을 개선하는 데에 도움이 될 수 있음을 시사함. 더불어, CLS의 감소는 무순추출물이 지방세포의 사멸을 줄이고, 지방조직의 염증을 완화하는 데에 도움이 될 수 있다는 가능성을 제시하고 있음.

2. 동물 모델을 활용한 소재의 체지방감소 작용기전 규명

○ 다양한 gene의 mRNA 변화 관찰을 통한 기전별 심화 작용기전 규명 (real-time PCR)

그림 134. 지방 대사 관련 기전별 다양한 gene의 mRNA 발현 변화



- 무순추출물의 체중 및 체지방량 감소 효능에 대한 심화 작용기전을 규명하기 위해 백색지방조직 내 지방산화·흡수 억제, 체지방 합성 억제, 체지방 분해 촉진, 열생성 등 다양한 기전과 관련된 유전자들의 발현을 평가하였음.
- (A) 미토콘드리아 생합성 관련인자들과 열발생과 관련된 인자로서 peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR)- γ coactivator (pgc1a), uncoupling protein 1 (ucp1), PR domain containing 16 (prdm16), cell death inducing DFFA like effector A (cida), transcription factor A, mitochondrial (tfam), ppara, nuclear respiratory factor 1 (nrf1)의 발현을 평가하였음. 일반식이군 대비 고지방식이군에서는 모두 유의미하게 발현이 감소하였고, 무순추출물 섭취군은 고지방식이군 대비 발현이 증가하는 것이 관찰되었음. 이 중 ucp1만 제외하고는 통계적으로 모두 유의미한 증가가 관찰되었으며, 무순추출물은 열발생 관련 인자들의 발현을 증가시켰고, 이는 체지방감소에 기여했을 것으로 예상됨.
- (B) b-arenergic receptor는 주로 지방조직에 위치하여 지방분해 및 열발생 조절에 관여하는 것으로 알려져 있음. 본 연구진은 선행연구 결과에 따라서 무순추출물의 열발생 관련 인자들의 발현 증가가 b-adrenergic receptor와 관련이 있을 것으로 가설을 설정하였으며, 발현 변화를 평가한 결과, 무순추출물은 adrb 1,2,3 모두 농도의존적으로 유의미하게 증가시켰음.
- (C) 지방 합성 기전과 관련된 유전자들의 발현을 평가한 결과 지방전구세포인 3T3-L1에서 관찰한 결과와 일치하지는 않았음. 이는 지방조직은 지방세포 외에도 다양한 세포들의 집합체로 구성되어 있으며 지방세포들의 성장 및 분화의 시기도 각기 다르기 때문으로 추정됨. 이러한 차이로 인해 무순추출물의 세포주모델과 동물모델에서의 지방 합성 기전에 대한 효능 차이를 이해하기 위해서는 추가적인 후속 연구가 필요함. 또한, 동물모델에서의 체중 및 체지방량 감소 효과는 체지방합성 억제보다는 다른 작용기전에 기인한 것으로 예상됨.
- (D) 지방분해와 관련된 대표 유전자로는 hormone-sensitive lipase (hsl), angiopoietin-like 4(angptl4), adipose triglyceride lipase (atgl) 등이 있음. 일반식이군 대비 고지방식이군에서는 지방분해 관련 유전자들의 발현이 유의적으로 감소한 반면, 무순추출물 섭취군에서는 고지방식이군 대비 농도의존적으로 유의미하게 발현이 증가한 것을 관찰하였음. 이는 무순추출물이 백색지방조직에서 지방 분해를 촉진하여 지방 축적 억제에 기여했을 것으로 예상됨.
- (E) 비만은 물질대사 조절 문제를 동반한 2차적인 합병증을 주로 야기하는, 만성적으로 낮은 수준의 염증 상태를 지속적으로 보이는 것으로 알려져 있음. 지방조직은 지방세포, 지방전구세포, 내피세포, 마크로파지와 림프구 등 다양한 면역세포들로 구성되어 있으며, 이 중 마크로파지에 대해서도 많은 종류들의 마크로파지가 존재함. 그 중 대표 마크로파지는 M1 마크로파지 (전-염증성)과 M2 마크로파지 (항-염증성)이 있음. M1 마크로파지에서는 염증성 사이토카인의 발현이 증가되며 그 중 일부인 itgax, ccl2가 있음. 반면, M2 마크로파지는 건강하고 마른 지방조직에서 발견되며 조직의 항상성을 유지하는 역할을 하고, clec10a, mrc1 등을 포함한 유전자들의 발현이 증가함. 비만인 지방조직에서는 전-염증성 물질들이 생성되어 이는 염증을 유발하고, 이로 인해 인슐린 저항성이 발생할 수 있기 때문에 지방조직에서의 염증을 억제하는 것이 중요함. 무순추출물로 인한 M1마크로파지와 M2 마크로파지 내 염증 관련 유전자들의 변화를 평가한 결과, M1 마크로파지의 대표 인자인 itgax와 ccl2가 유의적으로 감소하였으며, M2 마크로파지의 대표인자인 mrc1은 유의적으로 증가하였음. 백색지방조직을 염색한 결과에서 CLS가 감소하고 M1 마크로파지 관련 인자들의 발현이 감소함으로써, 무순추출물의 염증 완화 효능이 관찰되었음. 그러나, M1마크로파지와 M2 마크로파지는 다양한 인자들을 보유하고 있으므로 마크로파지의 분극화에 대한 작용기전을 규명하기 위해서는 더 많은 대표 인자들의 변화를 평가하기 위한 후속 연구가 필요함.

- (F) 지방조직에서 분비되는 호르몬인 adiponectin은 식욕 억제 효과를 갖는 것으로 알려져 있고, AMPK 활성화와 PPARα의 활성화에 영향을 주어 지방대사를 조절하는 것으로 알려져 있음. adiponectin의 발현은 일반식이군 대비 고지방식이군에서 감소하였다가 무순추출물 섭취를 통해 증가한 것으로 관찰되었음.
- 기전별로 다양한 바이오마커의 발현을 평가한 결과, 무순추출물은 열발생과 미토콘드리아 생합성 관련 유전자의 발현 증가, 그와 관련된 b-adrenergic receptors의 발현 증가, 그리고 지방분해 관련 유전자의 발현 증가에 있어서 관련 바이오마커들의 일관된 변화 양상을 보였으며, 이 기전들이 무순추출물의 체중감소 효과에 기여했을 것으로 예상된다.

○ 갈색지방 조직 내 열발생 관련 gene의 mRNA 발현 변화 평가를 통한 심화 작용기전 규명 (real-time PCR)

- 갈색지방은 열생성을 통해 체온을 조절하며, 이는 주로 UCP1 유전자에 의해서 조절됨. UCP1의 발현은 b-adrenergic receptor를 통해 증가하는 것으로 알려져 있으며, b-adrenergic receptor를 활성화시키면 지방 내 지방산 분해가 가속화됨. 선행연구 결과에 따르면, 갈색지방의 활성화는 체내 중성지방의 감소와 밀접한 관련이 보고되어 있음. 따라서, 백색지방조직에서 열발생과 관련된 유전자들의 발현 증가와 함께, 갈색지방조직 내 열발생 관련 유전자들의 발현 변화를 평가하였음.

그림 135. 갈색지방조직 내 지방 대사 관련 다양한 gene의 mRNA 발현 변화

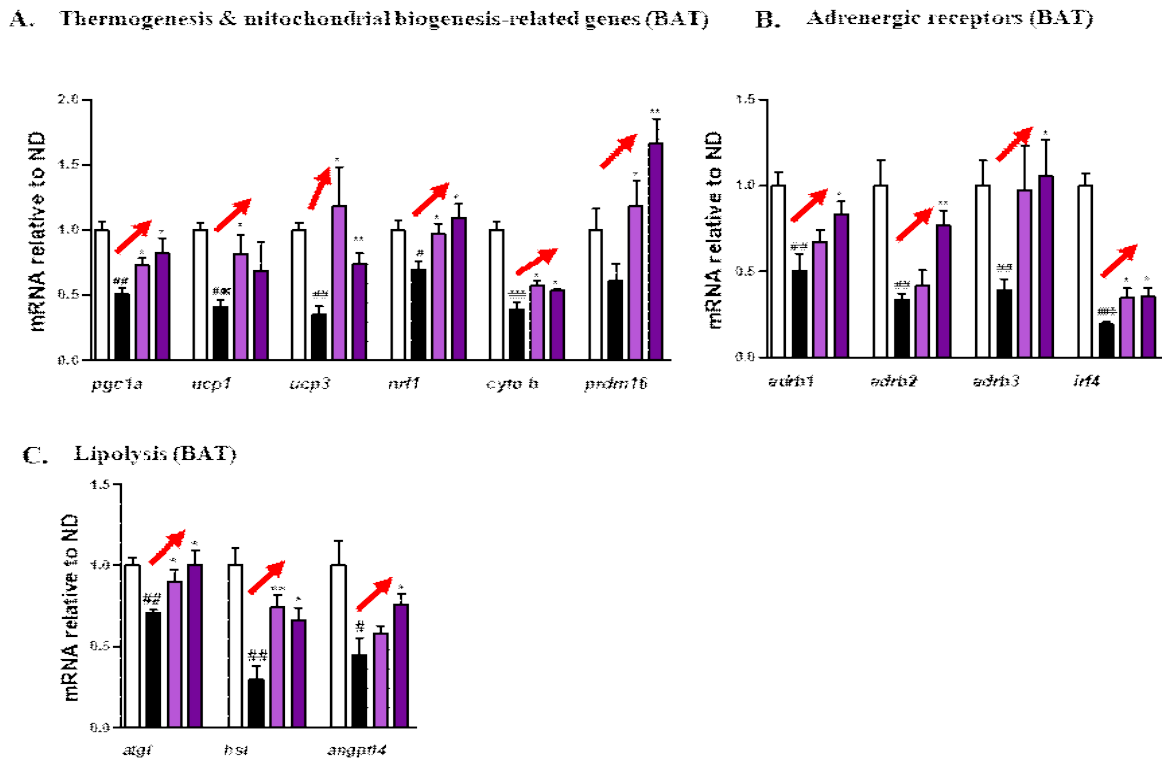
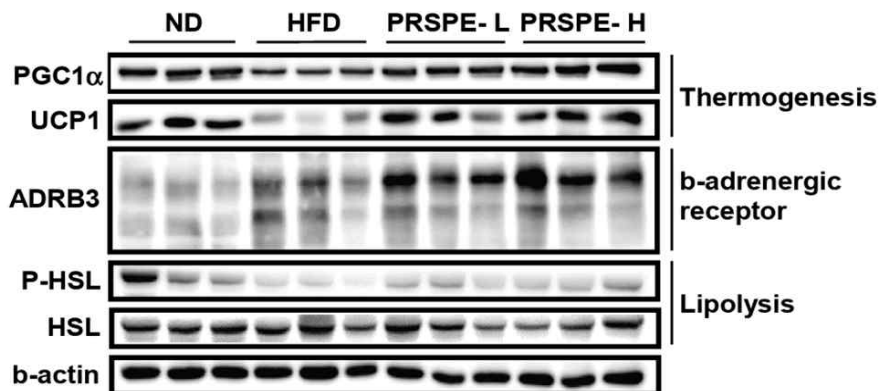


그림 136. 갈색지방 조직 내 열발생 및 지방 분해 관련 단백질 발현 변화



- 갈색지방 조직에서 미토콘드리아 생합성 관련인자들과 열발생 관련 인자들의 발현 평가한 결과, pgc1a, ucpl, ucp3, nrfl, cyto, prdm16 모두 무순추출물군에서 고지방식이군대비 유의적으로 증가하는 것이 관찰되었음. 뿐만 아니라, 열발생 관련 인자들을 활성화시키는 b-adrenergic receptors의 발현 변화를 관찰한 결과, adrb1,2,3 모두 고지방식이군 대비 무순추출물군에서 유의적으로 증가하였으며, lipolysis 관련 유전자들도 무순추출물 섭취군에서 모두 발현이 증가하였음.
- 이에 더하여, 갈색지방 조직에서 열발생 관련 인자들과 b-adrenergic receptors 중에서도 갈색지방에서 주로 작용한다고 알려진 adrb3의 단백질 발현을 평가하였음. 결과적으로, 열발생 관련 인자인 PGC1a와 UCP1의 단백질 발현은 일반식이군 대비 고지방식이군에서 감소하였으나, 무순추출물 섭취에 의해 증가한 것으로 나타났음. ADRB3의 단백질 발현은 고지방식이군 대비 무순추출물 섭취군에서 유의적으로 증가하였으며, lipolysis 관련 유전자 hsl의 phosphorylation 정도 또한 이와 일치하여, 일반식이군 대비 고지방식이군에서 감소하였고, 무순추출물군에서 증가한 것으로 관찰되었음. 따라서, 무순추출물은 갈색지방 조직 내에서 열발생과 지방분해와 관련된 인자들의 mRNA와 단백질 발현 모두 증가시켰고, 이로 인해 체중 감소가 관찰되었을 것으로 예상함.

그림 137. 산소 소모량 평가

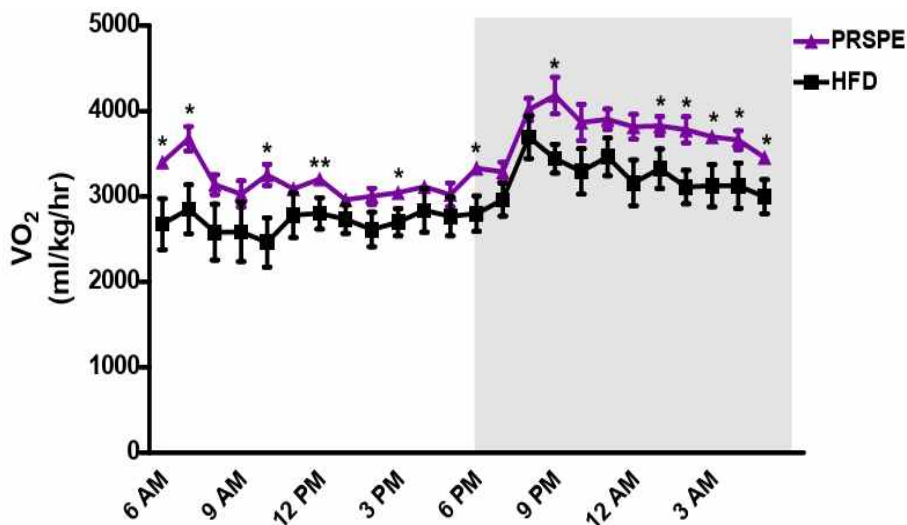


그림 138. 에너지 소모량 평가

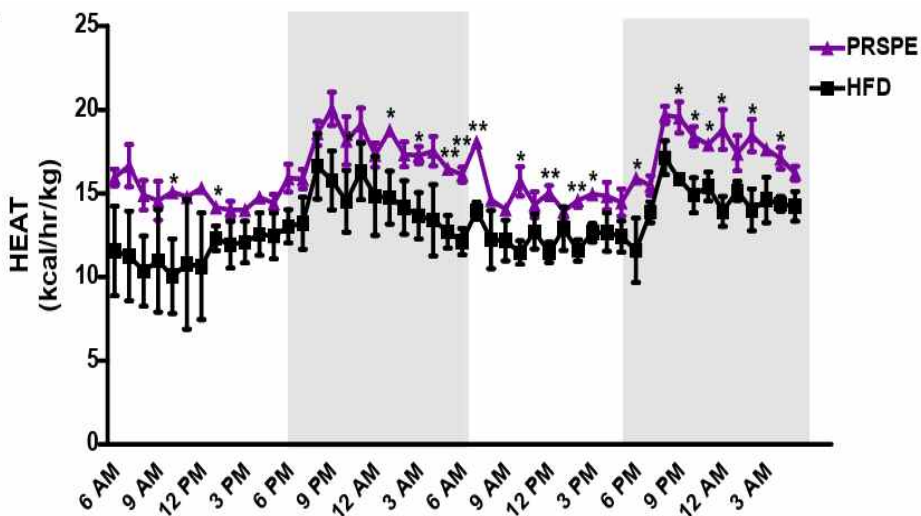


그림 139. 신체활동량 평가

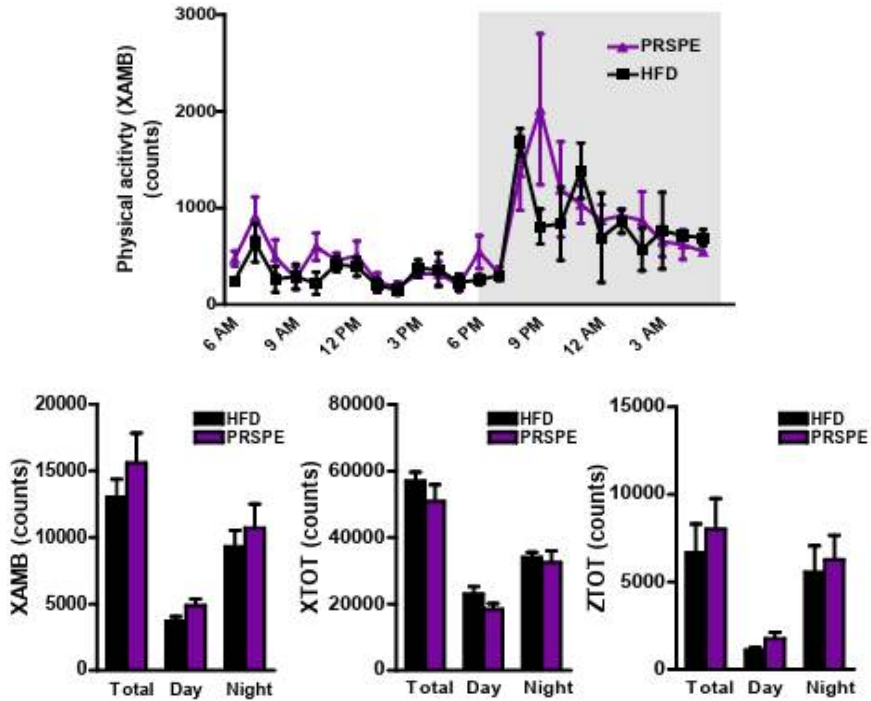
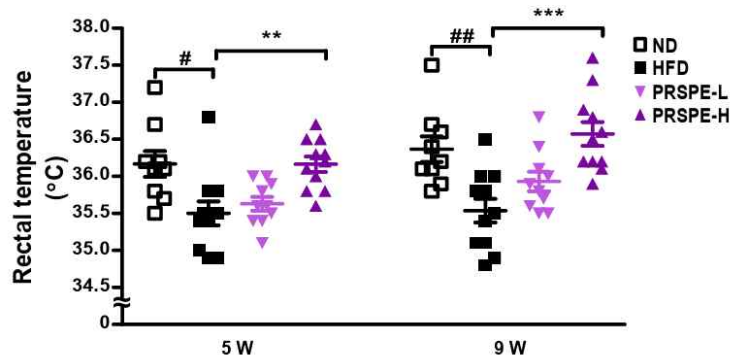


그림 140. 직장 온도 측정 비교 평가



○ 무순추출물의 에너지대사 조절 효능 평가

- 무순추출물의 에너지대사 조절 효능을 평가하기 위해 마우스를 대상으로 Comprehensive Laboratory Animal Monitoring System (CLAMS)를 사용하여 산소모량, 에너지 소모량, 신체활동량을 측정하였음. 산소소모량과 에너지 소모량은 고지방식이군에 비해 무순추출물군에서 모두 유의적으로 높은 수준을 보였으며, 특히 활동 시기인 야간에 더 큰 폭으로 증가하였음. XAMB, XTOT 및 ZTOT를 포함한 신체 활동 측정치에는 유의미한 차이가 관찰되지 않았음. 이는 CLAMS 실험에서 사용된 케이지 수의 제한때문에 실험이 작은 규모로 수행된 것이 영향을 주었을 것으로 생각됨. 따라서, 무순추출물의 신체활동량에 대한 정확한 효과를 관찰하기 위해서는 후속 연구가 필요함.
- 백색지방조직과 갈색지방 조직에서 열발생과 관련된 유전자들의 발현이 유의적으로 증가하였고, 무순추출물 섭취군에서 산소소모량과 에너지 소모량이 유의적으로 증가하여 마우스에 열발생이 유도된 것으로 예상되었음. 따라서, 마우스의 직장 온도를 측정된 결과 실험 5주 및 9주에서 고지방식이군 대비 무순추출물 군은 직장온도가 유의미하게 높았음 (5주차 일반식이군: 36.17 ± 0.52 °C, 고지방식이군: 35.50 ± 0.53 °C, 무순추출물 저농도군: 35.63 ± 0.29 °C, 무순추출물 고농도군: 36.16 ± 0.34 °C), (9주차 일반식이군: 36.37 ± 0.52 °C, 고지방식이군:

35.54±0.53℃, 무순추출물 저농도군: 35.93±0.42℃, 무순추출물 고농도군: 36.57±0.53℃). 이러한 결과들을 종합하여 평가하였을 때, 무순추출물은 에너지 대사를 증가시키고 열발생을 증가시켜 결과적으로 체중감소에 효과를 보였을 것으로 예상됨.

- 본 연구진은 고지방식이 비만 유도 마우스 모델을 활용하여 무순추출물의 체지방감소 효능을 평가하였음. 설포라핀이 증대된 무순추출물은 에너지 대사 증가를 통해 열생성을 유도하고, 그로 인해 지방량이 감소하는 것을 확인하였음. 백색지방조직과 갈색지방 조직에서의 열발생 인자들의 발현 변화 평가 결과를 종합적으로 검토한 결과, 무순추출물은 b-adrenergic receptor의 발현 증가를 통해 갈색지방에서는 열생성을 촉진하고, 백색지방에서는 지방 갈색화를 유도하여 산소소모량, 에너지 소비, 그리고 직장 온도를 증가시켰음. 무순추출물의 백색지방과 갈색지방 간의 상호작용에 대한 정확한 작용기전을 밝히기 위해서는 후속 연구가 필요함. 아직 완전히 밝혀지지 않은 부분이 있으나, 본 연구 결과에 따르면 무순추출물은 특히 갈색지방조직에서 열생성을 유도하여 항비만 효능을 가진 우수한 천연물로서, 다이어트 제품 또는 체지방 감소 건강기능식품의 원료로서 활용될 수 있을 것으로 기대됨.

○ 동물 모델을 활용한 소재의 비만으로 인한 타 대사질환 관련 효능 평가

고지방식이 비만으로 인한 비알코올성 지방간 개선 효능 평가

- 비알코올성 지방간은 간의 대사증후군으로, 알코올 섭취 없이 간에 중성지방이 과도하게 축적되는 것을 특징으로 함. 간 세포 내 지방이 축적되면서 간 세포 내 지방 대사 및 합성의 불균형이 발생하며, 이는 제2형 당뇨병, 비만 및 대사증후군과 높은 관련성이 있다고 알려져 있음. 비알코올성 지방간은 단순성 지방간, 지방성 간염, 지방간 섬유화 및 간경변으로까지도 이어져 간세포 암종을 유발하기 때문에 초기에 예방하는 것이 중요함.
- 따라서, 본 연구를 통해 고지방식이 섭취로 인한 비알코올성 지방간 유도 마우스 모델을 활용하여 무순추출물의 지방간 개선 효능을 관찰함. 쥐의 간을 적출하여 무게를 측정된 결과, 고지방식은 쥐의 간 무게를 증가시켰으며, 고지방식이만을 급여한 군보다 무순추출물을 함께 급여한 군의 간 무게가 유의적으로 낮았음. 또한, 간 조직학적 변화 관찰을 위하여 H&E 염색을 실시한 결과, 고지방식이군은 일반식이군 대비 간 조직 내 지방구가 다수 관찰되었으며, 무순추출물군은 간 내 지방구 축적이 감소한 것이 관찰되었으며 일반식이군과 비슷한 조직의 형태가 관찰되었음.
- 간의 이상에 민감하게 반응하는 주요 효소 GOT (Glutamic oxaloacetic transaminase)와 GPT(glutamate-pyruvate transaminase)는 간질환의 검사에서 중요한 지표로 활용되며, 간 세포가 파괴되면 이 성분이 혈액 속으로 유입되어 검출됨으로써 간세포 괴사를 민감하게 반영하는 지표임. GOT와 GPT 수준을 측정된 결과, GPT의 경우 고지방식이군은 일반식이군 대비 유의적인 수준으로 증가가 관찰되었으며, GOT와 GPT 모두 고지방식이군 대비 무순추출물군에서 유의적으로 감소하여 간손상을 개선하는 효과가 있음을 관찰하였음.

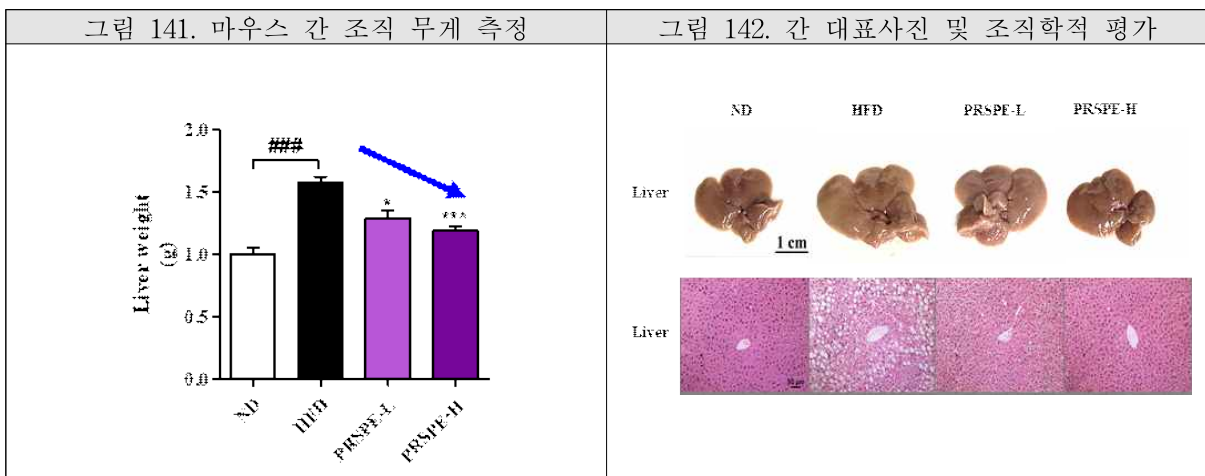


그림 143. 혈중 간독성 지표 평가

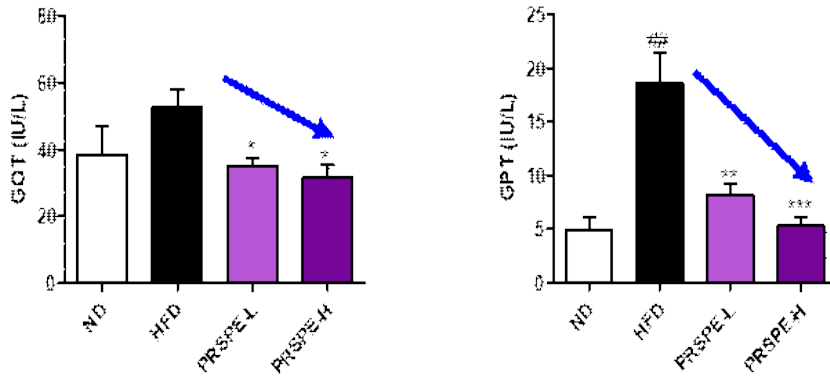
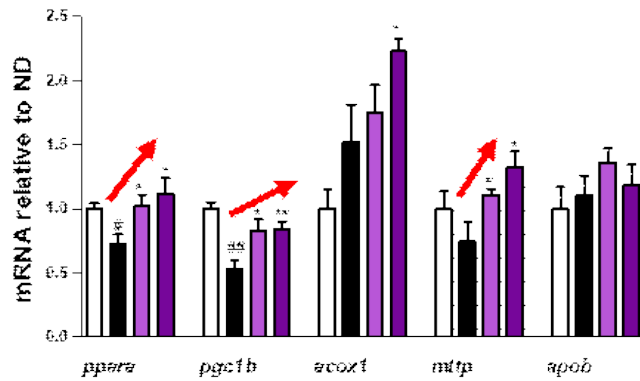


그림 144. 간 조직 내 gene의 mRNA 발현 평가



- 무순추출물의 고지방식이로 유도된 지방간 개선 효과의 기초 작용기전 규명을 위하여 간에서 주로 일어나는 fatty acid oxidation에 관여하는 ppara, pgc1b, acox1와 lipoprotein synthesis에 관여하는 mtpt, apob의 mRNA 발현 변화를 관찰하였음. 결과적으로, ppara와 pgc1b의 발현이 고지방식이군에서 유의적으로 감소하고, 무순추출물군에서 농도의존적으로 유의적으로 증가하는 것이 관찰되었음.
- 간 조직학적 평가, 간 독성 지표의 변화, 그리고 간 내 유전자의 발현 결과를 평가하였을 때, 무순추출물은 간 조직 내 지방축적을 억제하는 효과가 있으며, fatty acid oxidation에 관여하는 유전자를 활성화하여 지방축적을 억제하는 것으로 관찰되었음. 무순추출물의 비알코올성 지방간 개선 효과에 대한 심화 작용기전 규명을 위해서는 후속 연구가 필요하며, 비알코올성 지방간 외 간건강에 대한 무순추출물의 영향을 규명을 위해서는 고지방식이 유도모델 외 다른 유도 모델을 활용한 효능 평가가 필요함.

○ 고지방식이 비만으로 인한 근감소 개선 효능 평가

- 골격근은 인체에서 가장 큰 부분을 차지하는 기관으로 총 몸무게의 약 50%를 차지하며 에너지 항성성 및 열 생성 등을 비롯한 체내 여러 대사 기능에서도 중요한 역할을 함. 근육량과 근력은 30세 경에 최대가 되고, 40세부터 감소하기 시작하여 70세 이후가 되면 2배씩 빠른 속도로 감소하여 80세가 되면 약 50% 정도가 감소함. 또한, 노년기의 근육 감소는 전반적인 신체기능을 가장 중요한 원인으로 인식되고 있음. 이에 더불어 노화가 진행되면 과체중 또는 비만 이환율이 급격하게 증가하는 것으로 보고되어 있고, 비만에 해당하는 노인은 정상체중인 노인보다 거동이 불편할 뿐 아니라 사망률 또한 급격하게 증가함. 노화로 인한 신체구성성분의 변화와 노인층에서의 비만 유병률 증가는 비만과 근감소증의 복합적인 형태를 갖는 근감소성비만이라는 새로운 개념이 도입되고 있음. 근감소의 다양한 원인 중 하나는 노년기 비만으로, 노화와 비만이 상호작용하여 근육 감소를 가속화하는 것으로 알려져 있음. 비만은 인슐린 저항성을 촉진하고 이는 근육 조직 내에서 인슐린의 효과를 감소시킴. 인슐린은 근육 세포에서 포함된 포도당을 활용하여 에너지를 생성하며, 인슐린 저항성은 근육세포에서의 당류 대사에 영향을 미치면서 근 손실을 유발할 수 있음. 비만은 근육 내에

지방이 쌓이게 하여 근육량의 감소를 유발하며, 지방 침착으로 인해 근육 조직 내 염증 유발을 증가시킴 이러한 염증 반응은 근육의 손상을 초래하고, 지방 세포에서 분비되는 염증성 물질은 근육세포의 기능을 저하시키며 근육 미토콘드리아의 기능 저하로 인해 근육량 감소가 더욱 초래됨. 이 외에도 근감소증은 관절염, 골다공증, 인슐린 저항성 등과 같은 노인성 만성질환과도 관계가 있는 것으로 알려져 있어 근감소증의 예방 또는 개선을 통해 노화로 인한 신체활동력의 감소를 완화시킬 수 있을 것으로 기대됨.

- 따라서, 본 연구진은 고지방식이로 비만을 유도한 모델을 활용하여 무순추출물의 비만으로 인한 근감소 완화 효능을 평가하였음.

<p>그림 145. 체지방률 평가</p> <table border="1"> <caption>Body composition (%)</caption> <thead> <tr> <th>Group</th> <th>Fat (%)</th> <th>Lean (%)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>ND</td> <td>~22</td> <td>~78</td> </tr> <tr> <td>HFD</td> <td>~45</td> <td>~55</td> </tr> <tr> <td>PRSPE-L</td> <td>~40</td> <td>~60</td> </tr> <tr> <td>PRSPE-H</td> <td>~38</td> <td>~60</td> </tr> </tbody> </table>	Group	Fat (%)	Lean (%)	ND	~22	~78	HFD	~45	~55	PRSPE-L	~40	~60	PRSPE-H	~38	~60	<p>그림 146. 근육 단면적 대표 사진 및 단면적 정량 비교 평가</p> <table border="1"> <caption>Muscle fiber CSA (µm²)</caption> <thead> <tr> <th>Group</th> <th>Muscle fiber CSA (µm²)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>ND</td> <td>~28000</td> </tr> <tr> <td>HFD</td> <td>~15000</td> </tr> <tr> <td>PRSPE-L</td> <td>~22000</td> </tr> <tr> <td>PRSPE-H</td> <td>~26000</td> </tr> </tbody> </table>	Group	Muscle fiber CSA (µm²)	ND	~28000	HFD	~15000	PRSPE-L	~22000	PRSPE-H	~26000										
Group	Fat (%)	Lean (%)																																		
ND	~22	~78																																		
HFD	~45	~55																																		
PRSPE-L	~40	~60																																		
PRSPE-H	~38	~60																																		
Group	Muscle fiber CSA (µm²)																																			
ND	~28000																																			
HFD	~15000																																			
PRSPE-L	~22000																																			
PRSPE-H	~26000																																			
<p>그림 147. 근육 내 근감소 관련 gene의 mRNA 발현 평가</p> <table border="1"> <caption>mRNA relative to ND</caption> <thead> <tr> <th>Gene</th> <th>ND</th> <th>HFD</th> <th>PRSPE-L</th> <th>PRSPE-H</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td><i>murf1</i></td> <td>1.0</td> <td>~2.4</td> <td>~0.8</td> <td>~0.8</td> </tr> <tr> <td><i>myostatin</i></td> <td>1.0</td> <td>~1.8</td> <td>~1.0</td> <td>~1.0</td> </tr> </tbody> </table>	Gene	ND	HFD	PRSPE-L	PRSPE-H	<i>murf1</i>	1.0	~2.4	~0.8	~0.8	<i>myostatin</i>	1.0	~1.8	~1.0	~1.0	<p>그림 148. 근육 내 세포호흡 관련 gene의 mRNA 발현 증가</p> <table border="1"> <caption>mRNA relative to ND</caption> <thead> <tr> <th>Gene</th> <th>ND</th> <th>HFD</th> <th>PRSPE-L</th> <th>PRSPE-H</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td><i>pgc1a</i></td> <td>1.0</td> <td>~0.7</td> <td>~1.1</td> <td>~1.0</td> </tr> <tr> <td><i>fndc5</i></td> <td>1.0</td> <td>~0.5</td> <td>~1.1</td> <td>~1.5</td> </tr> <tr> <td><i>ucp3</i></td> <td>1.0</td> <td>~0.3</td> <td>~0.6</td> <td>~0.7</td> </tr> </tbody> </table> <p><i>p</i>-value = 0.06</p>	Gene	ND	HFD	PRSPE-L	PRSPE-H	<i>pgc1a</i>	1.0	~0.7	~1.1	~1.0	<i>fndc5</i>	1.0	~0.5	~1.1	~1.5	<i>ucp3</i>	1.0	~0.3	~0.6	~0.7
Gene	ND	HFD	PRSPE-L	PRSPE-H																																
<i>murf1</i>	1.0	~2.4	~0.8	~0.8																																
<i>myostatin</i>	1.0	~1.8	~1.0	~1.0																																
Gene	ND	HFD	PRSPE-L	PRSPE-H																																
<i>pgc1a</i>	1.0	~0.7	~1.1	~1.0																																
<i>fndc5</i>	1.0	~0.5	~1.1	~1.5																																
<i>ucp3</i>	1.0	~0.3	~0.6	~0.7																																

- 비만으로 인한 근감소 유도 모델에서 무순추출물을 섭취한 후 체지방율을 측정하였음. 고지방식이군은 일반식이군에 비해 체지방률이 유의적으로 감소한 반면, 무순추출물을 섭취한 군은 농도의존적으로 체지방률이 증가하였음.

- 조직학적 변화를 평가하고자 근감소 동물모델의 비복근 조직을 H&E 염색하였고, 염색된 조직은 슬라이드 당 40x 배율로 촬영한 후 Image J 프로그램을 이용하여 근섬유의 단면적 (cross-sectional area, CSA)을 측정하였음. 고지방식이군은 일반식이군에 비해 근육 단면적이 감소한 결과, 무순추출물을 섭취한 군은 근육 단면적이 유의적으로 증가하였음.

- 근육 수축과 근육 내 에너지 생성과 관련된 유전자들의 발현을 Real time PCR로 확인하였음. HFD군은 근수축 유발 유전자로 알려져 있는 E3 ubiquitin ligases muscle RING-finger 1 (MuRF1)와 근육의 성장을 저해하는 myostatin 의 발현을 증가시켰음. 근육 기능 증진과 관련해서는 근육 성장과 근육 비대가 일어날 때 관찰되는 pgc1a, fndc5, ucp3의 변화를 분석하였음. ND군 대비 HFD군에서 muRF1, myostatin 모두 유의적으로 증가하였고, 반면 pgc1a, fndc5 및 ucp3 는 모두 유의적으로 감소하였음. 그 반면, 무순추출물 섭취군은 HFD군 대비 근감소 관련 gene인 murf1과 myostatin의 mRNA 발현은 감소하였고, pgc1a, fndc5, ucp3의 mRNA 발현이 통계적으로 유의미하게 증가하였음.

- 따라서, 본 연구진은 유효성분인 설포라핀 함량이 증대된 무순추출물은 비만으로 인한 근감소 억제 효과 가지는 것을 확인하였음. 무순추출물은 체지방감소 뿐만 아니라 비알코올성 지방간 개선, 근감소를 완화할 수 있는 멀티기능성 소재로 활용될 수 있을 것으로 기대됨. 무순추출물이 백색지방, 갈색지방, 간, 근육 등 다양한 조직에 갖는 효능들이 어떠한 작용기전에 의해 연결될 수 있는 지에 대해서는 각 조직에 특화된 후속 연구가 필요함.

3. 소재 안정성 평가

○ 시간, 온도 등 환경 요인에 따른 기능 성분의 안정성 분석

시간, 온도 등 환경요인에 따른 기능성분의 안정성 분석

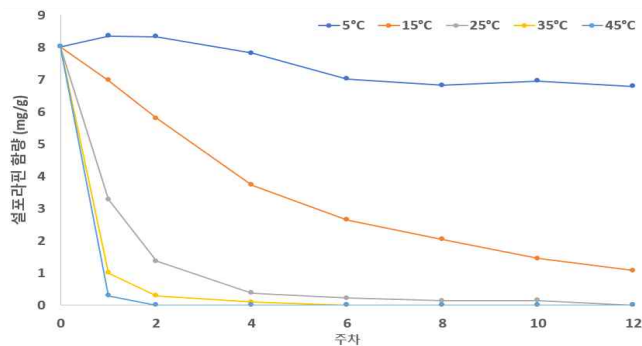
- 본 연구진은 동일한 유효성분을 지표성분으로 하는 내복자추출분말을 활용하여 시간과 온도 조건을 적용하여 환경 요인에 따른 기능성분의 안정성을 분석하였음. 해당 예비실험 결과를 토대로 무순추출물에서도 온도와 시간 변인을 적용하여 유효성분인 설포라핀의 저장에 따른 함량 변화를 관찰하였음. 구체적인 실험 조건으로 온도 (5°C, 15°C, 25°C, 35°C, 45°C)에서 시간 (0~12주)동안 무순추출물 내 설포라핀 함량을 관찰하고 대조군 (실험 0주차) 대비 함량 변화를 분석하였음.

■ STEP1. 저장 온도별 저장기간에 따른 설포라핀 함량 변화 분석

- 저장 온도 (5°C, 15°C, 25°C, 35°C, 45°C), 저장기간 (0~12주)

평균값 (단위: mg/g dry extracts) (주)

	0	1	2	4	6	8	10	12
5°C	8.02	8.35	8.33	7.83	7.02	6.83	6.96	6.79
15°C	8.02	6.98	5.80	3.74	2.65	2.05	1.45	1.07
25°C	8.02	3.29	1.37	0.38	0.22	0.14	0.16	0.00
35°C	8.02	1.00	0.30	0.10	0.00	0.00	0.00	0.00
45°C	8.02	0.30	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00



■ STEP 2. 저장 온도별 품질 지표의 회귀방정식 확인

- 저장 온도별 품질지표의 회귀방정식 확인

자연로그(Ln) 변환

(일)

	0	7	14	28	42	56	70	84
5°C	2.08	2.12	2.12	2.06	1.95	1.92	1.94	1.92
15°C	2.08	1.94	1.76	1.32	0.97	0.72	0.37	0.07
25°C	2.08	1.19	0.32	-0.96	-1.50	-2.00	-1.86	
35°C	2.08	0.00	-1.20	-2.30				
45°C	2.08	-1.20						

■ STEP 3. 온도에 따른 품질지표의 활성화 에너지 산출

- 설포라핀 함량의 회귀방정식

1차 반응식

품질지표	반응차수	온도	기울기(a)	절편(b)	결정계수(R2)
Sulforaphene	1	5	-0.002704	2.12	0.83
		15	-0.024284	2.07	1.00
		25	-0.057209	1.38	0.87
		35	-0.148976	1.47	0.90
		45	-0.469382	2.08	1.00

※ 반응 속도 상수(K): 기울기(a)의 절댓값

- 설포라핀의 품질한계: 표시량(한계규격)의 80%

● 품질한계 설정

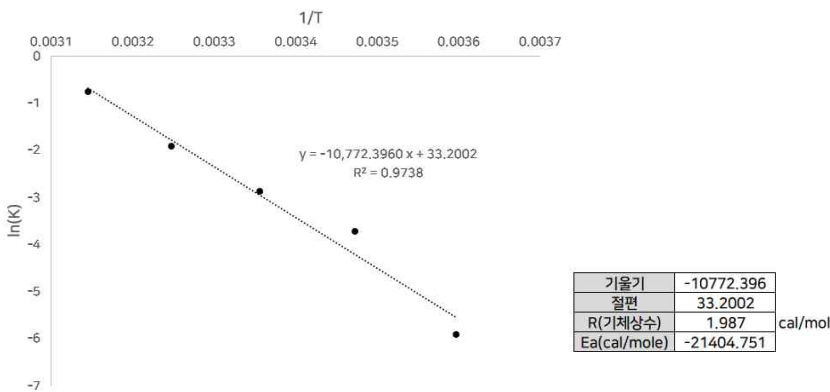
품질지표	초기값	한계규격	품질한계
Sulforaphene	8.02	6.41	5.13

※ 설포라핀 품질한계: 표시량(한계규격)의 80%

- 온도별 반응속도상수(K) 및 활성화에너지(Ea) 산출

● Ln(K)-1/T 방정식

온도(°C)	온도(T)	1/T	K	Ln(K)
5	278	0.00359712	0.002704	-5.9130231
15	288	0.00347222	0.024284	-3.7179376
25	298	0.0033557	0.057209	-2.8610441
35	308	0.00324675	0.148976	-1.9039701
45	318	0.00314465	0.469382	-0.7563383



- 연간예상 반응속도상수 산출

● 연간변화반응속도 상수 산출

온도(°C)	온도(T)	1/T	LnK	K	예상 유통 일수 (일)	연간 예상 반응속도상수 (K')
10	283	0.00353	-4.86	0.0077	152.00	1.17
15	288	0.00347	-4.20	0.0149	30.00	0.45
20	293	0.00341	-3.57	0.0283	62.00	1.75
25	298	0.00336	-2.95	0.0524	60.00	3.14
30	303	0.00330	-2.35	0.0952	62.00	5.90
합계(연간변화반응속도 상수)						12.42

■ STEP 4. 유통기한 산출

-냉장(5℃)에서 유통 시 유통기한 산출

●5℃에서 유통 시 유통기한 산출

최초규격 Ln(A0)	품질규격 Ln(At)	차이 -Ln(At/A0)	K	예상 유통기한(일)	안전계수	예상 안전 유통기한(일)
2.08	1.64	0.45	0.003890	114.74	0.75	86.05

그림 149. 시간 및 온도 조건에 따른 무순추출물 내 설포라핀 함량 변화

- 온도와 시간 조건을 적용하여 무순추출분말 내 설포라핀 함량 변화를 관찰한 결과, 온도가 높아짐에 따라, 저장기간이 길어짐에 따라 설포라핀 함량이 감소하는 것이 관찰되었음. 설포라핀 함량이 증대된 내복자추출분말을 활용한 안정성 실험과 동일한 분석 디자인을 적용하였을 때, 무순추출물은 냉장에서 예상 유통기한은 114.74일이며 안전계수 0.75를 적용하였을 때 86.05일로 산출되었음.
- 무순추출물의 시간 및 온도에 따른 설포라핀의 함량 변화 폭이 선행연구 결과인 내복자추출분말보다 큰 점에 대한 원인을 규명하기 위해 2가지의 추가실험을 진행하였음.
- (추가실험1) 무순추출물의 스케일업 생산 #2와 랩스케일 최적추출물을 활용하여 동일한 온도조건에서 0,1,2주차에서의 설포라핀 함량 변화 비율을 비교평가 하였음. 그 결과, 랩스케일 최적추출물은 25℃ 조건에서 1, 2주차에 각각 설포라핀이 25.81, 29.32% 파괴된 반면, 스케일업 생산 #2는 44.68, 71.64% 파괴되었음.
- (추가실험2) 설포라핀은 수분에 불안정한 특성을 갖기 때문에, 수용액 상태에서 스케일업 생산 추출물과 랩스케일 최적추출물의 설포라핀 파괴 비율을 비교평가 하였음. 그 결과, 랩스케일 최적추출물은 25℃ 조건에서 2주차에 설포라핀이 19.28% 파괴된 반면, 스케일업 생산 #2는 52.24% 파괴되었음. 스케일업 생산된 무순추출물과 그 수용액에서 설포라핀 함량의 변화가 약 2배 이상인 것으로 나타났음.
- 이는 스케일업 생산 공정 중에서 농축공정이나 분말화 공정 등 수분이 포함된 변수로 인한 것으로 예상되는 데, 설포라핀의 안정성을 증대시키고 유통기한을 늘리기 위해서는 생산 공정 수정을 통한 후속 연구가 필요함. 후속 연구를 통하여 설포라핀을 안정적으로 유지할 수 있는 무순추출물을 확보한 후 시간 및 온도 조건을 적용한 유통기한 설정 실험을 재수행해야 할 필요가 있음.

4. 복합소재 선정 및 배합비 확립

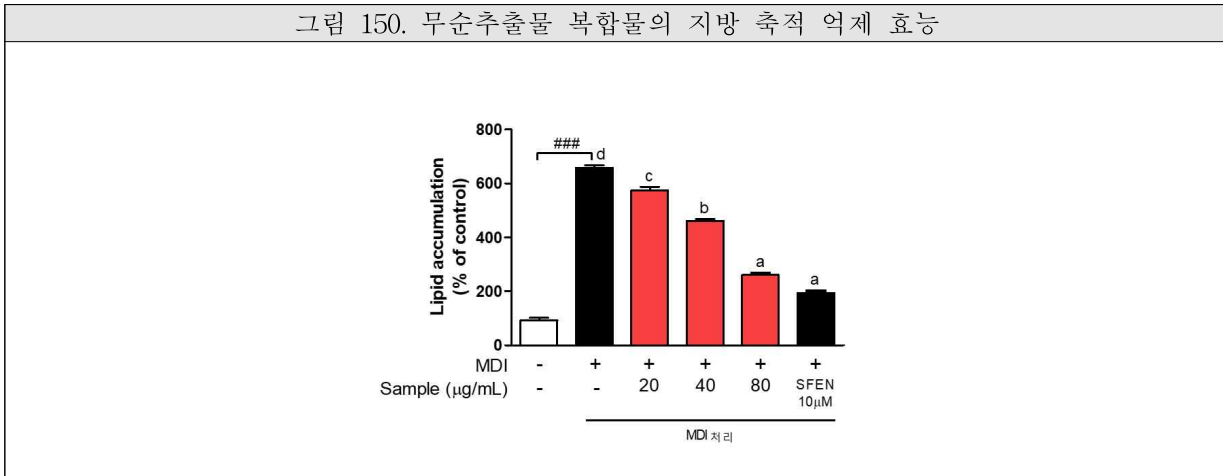
- 복합 소재 기능성 평가 (선정된 복합소재 내 기능성분 함량 및 독성을 고려한 배합비 확립)

후보 복합소재(내복자추출물) 내 기능성분 함량 및 독성을 고려한 배합비 확립

- 2차년도 연구 내용으로 체지방 감소 기능성 복합소재 (당귀, 도라지, 십자화과 식물, 인삼 등)의 유효성분의 효능을 관찰하였으나, 무순과 당귀, 도라지 복합물에서는 체지방 감소 효능이 관찰되지 않았음. 이에 동일한 유효성분인 설포라핀을 함유하고 있는 내복자추출물을 복합소재 후보로 선정하였고, 내복자와 무순에 각 최적 추출조건을 적용하여 설포라핀의 함량을 분석하였음. 본 연구진은 내복자추출물을 활용한 선행연구 결과를 기반으로 내복자와 무순에 각 최적추출 조건을 적용하여 내복자추출물(설포라핀 함량: 45mg/g dry extract)과 적양무순추출물(설포라핀 함량: 45mg/g dry extracts) 소재를 확보하였음. 유효성분 함량의 동등성과 경제적인 측면을 고려하여 내복자추출물과 적양무순추출물의 배합비를 1:1로 선정하였고, 지방전

구세포 (3T3-L1)를 활용하여 지방축적 억제능을 평가하였음.

그림 150. 무순추출물 복합물의 지방 축적 억제 효능

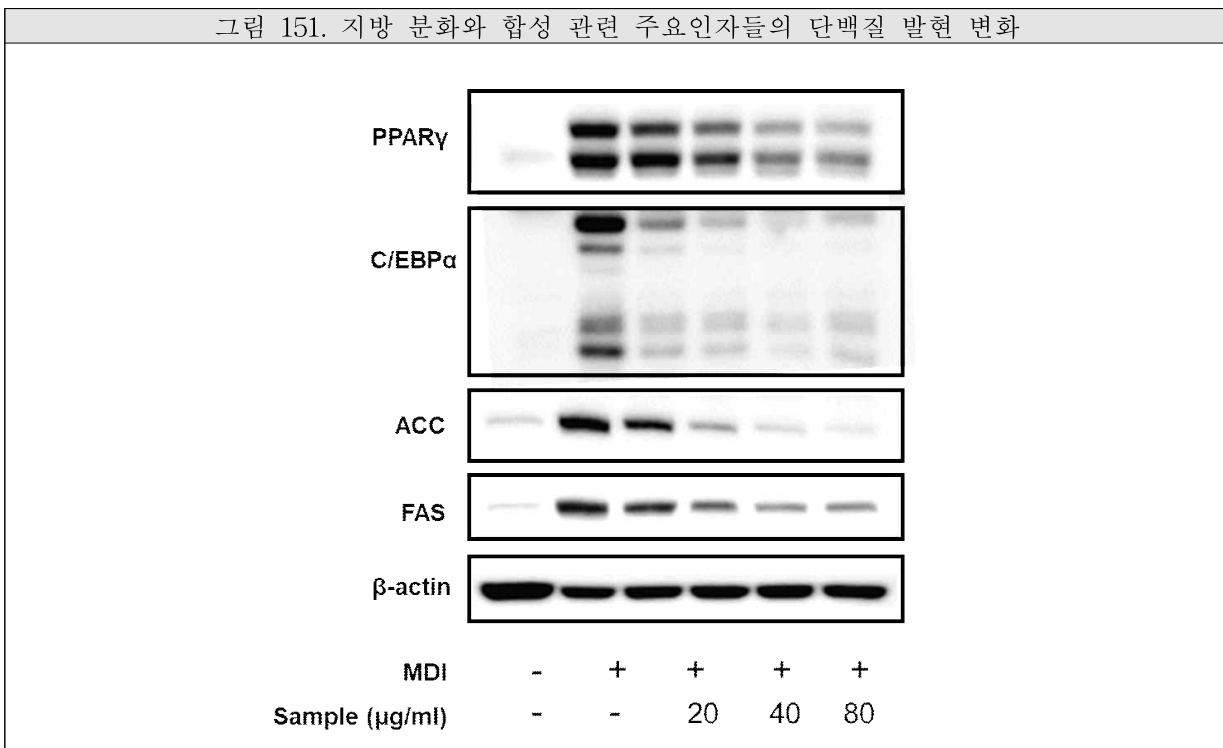


- 세포 생존율에 영향을 주지 않는 유효농도인 80ug/mL로 지방전구세포 (3T3-L1)를 활용하여 지방 축적 억제능을 관찰한 결과, 농도의존적인 효능을 관찰하였으며 최고 농도에서는 긍정대조군인 설포라핀 10uM 과 유의적인 차이가 관찰되지 않을 정도로 우수한 효능을 보였음. 더 나아가, 내복자와 무순추출물을 1:3, 1:1, 3:1로 배합하여 지방축적 억제능을 평가한 결과에서도 배합비 사이에서 유의적인 차이를 보이지 않고 모두 우수한 항비만 효능을 보여, 본 연구진은 복합물에 대한 배합비를 1:1로 선정하여 심화 기능성 평가를 수행하였음.

○ 복합 소재의 체지방 감소 심화 기능성 평가

지방 분화 및 합성 관련 단백질의 발현 변화 관찰 (Western blot)

그림 151. 지방 분화와 합성 관련 주요인자들의 단백질 발현 변화



- 지방세포 분화에 관여하는 주요 전사인자들의 단백질 발현 변화를 관찰한 결과, 지방이 분화하면서 크게 발현하는 PPAR γ 와 C/EBP α 의 발현이 무순추출물 복합물을 처리한 군에서 농도의존적으로 유의적으로 감소하였음. 이는 앞서 지방축적 억제 효능 평가를 진행한 결과와 동일한 경향으로 관찰되었으며, 무순추출물 복합물은 지방세포의 분화를 억제하고 지방의 축적을 감소시키는 것을 나타냄. 지방 합성에 주로 관여하는 주요 전사인자인 FAS와 ACC의 단백질 발현도

농도 의존적으로 감소시키는 것을 관찰하였음.

- 이와 같이 무순추출물 복합물은 지방축적억제능과 함께 지방 분화와 합성 관련 단백질의 발현을 감소시키는 우수한 효능을 보였음. 결론적으로 무순추출물 단독과 무순과 내복자 복합물 모두 우수한 항비만 소재로 활용이 가능하며, 제품의 컨셉 및 경제성 등을 고려하여 다양한 분야에 활용될 수 있을 것으로 전망됨.

5. 완제품 성능 평가

○ 가공 공정에 따른 유효성분/지표성분 함량 변화 관찰

- 가 공정 후 완제품 내 지표성분 분석을 통한 공정 중 성분 변화 확인: 추출, 여과, 원심분리, 농축 등 공정 중 소재 내 성분 함량을 확인함. 공정 중 유효성분인 설포라핀의 함량을 분석하여 설포라핀의 유실률을 최소화하기 위해 공정을 수정하여 재분석함. 본 연구진은 설포라핀 함량과 생산수율 최대화하기 위해 반응표면분석법으로 도출한 최적 추출조건을 스케일업 생산에 적용하였으며, 상온에서 추출을 진행하였음. (Hur, Gi Hyun, et al. "Optimization of cultivar, germination time, and extraction for radish sprout extract with high sulforaphene content." Journal of the Science of Food and Agriculture (2024).)

No.	공정명	단위	생산 #1	생산 #2
1	추출	mg/L	2.92 (랩스케일: 65.5)	88.81
2	여과		(후) 7.578	(전) 93.459 (후) 210.76
3	원심분리		(후) 8.274	(전) 69.792 (후) 197.06
4	농축		147.66 2.6 brix 고형분 함량: 23.7 g/L	386.87 5.0 brix 고형분 함량: 37.4 g/L
5	동결건조	mg/g	1.47 (랩스케일: 3.54)	7.661 (랩스케일: 10.56)

그림 152. 무순추출물의 공정별 설포라핀 함량 비교 (생산 1과 생산2)

- 생산 #1에서는 추출공정에서부터 설포라핀의 함량이 낮게 나왔으며, 이는 분쇄 과정의 유무에 따른 차이로 예상되었고, 분쇄공정을 적용한 결과 생산 #2에서는 설포라핀 함량이 2.92mg/L에서 88.81mg/L로 증가하였음.
- 원심분리 전/후 공정인 여과-원심분리-농축으로 각 단계를 넘어가는 동안 설포라핀 함량의 변화가 관찰되는데, 정확한 원인 분석을 위해서는 후속 연구가 필요함. 본 연구진의 선행연구 결과에 따르면 강한 원심분리 조건에 의해 설포라핀의 손실이 관찰되었고, 무순추출물에서도 원심분리 조건이 비슷한 영향을 미쳤을 것으로 예상됨. 또는, 설포라핀은 수용액 상태와 고온에서는 불안정한 특성을 보여 각 공정 단계에서 설포라핀 함량은 최대로 유지하지만 시간을 최소화하고 최적 온도를 설정하는 등의 공정 수정이 필요함.
- 여과 또는 원심분리 공정의 수정을 통하여 설포라핀 함량이 증대된 무순추출물을 확보하여 각 공정에서의 설포라핀 함량 변화를 다시 분석할 필요가 있음.
- 유효성분 함량 증대 스케일업 추출물의 확보함으로써, 일반 다이어트 제품뿐만 아니라 체지방 감소 건강기능식품 원료 허가 및 제품 개발이 가능할 것으로 예상됨. 특히, 랩스케일에서 확립

한 최적 추출조건을 대규모 생산에 적용하고 안정화함으로써, 무순추출물을 또는 무순을 포함한 복합물은 체지방 감소 개별인정형 원료로서 활용 될 수 있을 것으로 기대됨.

나. 정량적 연구개발성과

1) 성과지표 및 목표치

(단위 : 건)

성과지표명		연도	1단계 (2021~2022)	2단계 (2023)	계	가중치 (%)
연구개발과제 특성 반영 지표	기능성분 profiling	목표(단계별)	1	-	1	10
		실적(누적)	1	-	1	
	기능성 새싹채소 재배기술 개발	목표(단계별)	1	-	1	20
		실적(누적)	1	-	1	
	원료 및 제조공정 표준화	목표(단계별)	1	-	1	20
		실적(누적)	1	-	1	
	대량 재배 시스템 개발 및 실증	목표(단계별)	개발 1건	실증 1건	2	10
		실적(누적)	개발 1건	실증 1건	2	
	시제품 개발	목표(단계별)	-	1	1	10
		실적(누적)	-	1	1	
	제품 개발 (다이어트 제품을 포함한 제품개발)	목표(단계별)	-	2	2	30
		실적(누적)	-	4	4	
계	목표(단계별)	5	4	8		
	실적(누적)	5	6	10		

2) 성능지표

평가 항목 (주요성능)	단위	전체 항목에서 차지하는 비중(%)	세계 최고수준 보유국/ 보유기관	연구개발 전 국내 성능수준	연구개발 목표치 (달성치)		목표설정 근거
			성능수준	성능수준	1단계 (2021~ 2022)	2단계 (2023)	
1 기능성분 함량	mg	20	N/A	N/A	-	8mg 설포라핀/g dry weight (10.4mg/g dry weight)	무순 내 기능성분(설포 라핀) 함량
2 재배기술 개발	kg	40	N/A	N/A	-	재배조건 1건 생산규모: 40kg/day (59.5kg/day)	관행의 재배방법보다 기능성분 함량 증진
3 제품 개발 (다이어트 제품을 포함한 제품개발)	개	40	N/A	N/A	-	2건 (4건)	개발 기술 활용 제품화

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

[과학적 성과]

논문(국내외 전문 학술지) 게재

번호	논문명	학술지명	주저자명	호	국명	발행기관	SCIE 여부 (SCIE/비SCIE)	게재일	등록번호 (ISSN)	기여율
1	Sulforaphene Attenuates Cutibacterium acnes-Induced Inflammation	Journal of Microbiology and Biotechnology	Hwan Ju Hwang	32 (11)	대한민국	한국미생물·생명공학회	SCIE	22.11.28	1017-7825	25%
2	Micro-grinding-based production for sulforaphene-enriched radish seeds extract via facilitating glucosinolates-myrosinase reaction, and evaluation of its anti-adipogenic effects	Food Chemistry	Tae Kyung Lee	429	England	Elsevier Science B.V., Amsterdam.	SCIE	23.07.10	0308-8146	50%
3	Sulforaphane Mitigates High-Fat Diet-Induced Obesity by Enhancing Mitochondrial Biogenesis in Skeletal Muscle via the HDAC8-PGC1 α Axis	Molecular Nutrition & Food Research	Hee Yang	67 (23)	대한민국	Wiley	SCIE	23.09.29	1613-4125	33%
4	Optimization of cultivar, germination time, and extraction for radish sprout extract with high sulforaphene content	Journal of the Science of Food and Agriculture	Gi Hyun Hur	-	England	Wiley	SCIE	24.02.05	0022-5142	50%

국내 및 국제 학술회의 발표

번호	회의 명칭	발표자	발표 일시	장소	국명
1	한국약용작물학회 추계 학술발표회	허지현	22.10.06~22.10.07	BEXCO 부산 제 1전시장	대한민국
2	한국약용작물학회 추계 학술발표회	이지윤	22.10.06~22.10.07	BEXCO 부산 제 1전시장	대한민국

기술 요약 정보

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

보고서 원문

연도	보고서 구분	발간일	등록 번호

생명자원(생물자원, 생명정보)/화합물

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

[기술적 성과]

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

번호	지식재산권 등 명칭 (건별 각각 기재)	국명	출원			등록			기여율	활용여부
			출원인	출원일	출원번호	등록인	등록일	등록번호		
1	이소티오시아네이트가 증대된 무순 추출물을 포함하는 조성물 및 이의 제조방법	대한민국	서울대학교 산학협력단, 밥스누	22.02.07	10-2022-0015803	서울대학교 산학협력단, 밥스누	22.11.11	10-2467837	100%	활용
2	새싹당귀 추출물을 포함하는 면역 증진용 조성물	대한민국	서울대학교 산학협력단, 밥스누	23.02.23	10-2023-0024455	서울대학교 산학협력단, 밥스누	23.11.15	10-2604905	100%	미활용
3	설포라핀 또는 설포라핀이 증대된 무순추출물 유효성분으로 함유하는 근감소 개선 예방 또는 치료용 조성물	대한민국	서울대학교 산학협력단, (주)밥스누	23.12.29	10-2023-0197675				100%	활용

○ 지식재산권 활용 유형

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

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

저작권(소프트웨어, 서적 등)

번호	저작권명	창작일	저작자명	등록일	등록번호	저작권자명	기여율

신기술 지정

번호	명칭	출원일	고시일	보호기간	지정번호

기술 및 제품 인증

번호	인증분야	인증기관	인증내용		인증획득일	국가명
			인증명	인증번호		

표준화

○ 국내표준

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

○ 국제표준

번호	표준화단계 구분 ¹⁾	표준명	표준기구명 ²⁾	표준분과명	의장단 활동여부	표준특허 추진여부	표준개발 방식 ³⁾	제안자	표준화번호	제안일자

[경제적 성과]

시제품 제작

번호	시제품명	출시/제작일	제작업체명	설치장소	이용분야	사업화 소요기간	인증기관 (해당시)	인증일 (해당시)

기술 실시(이전)

번호	기술이전 유형	기술 실시 계약명	기술 실시 대상 기관	기술 실시 발생일	기술료 (해당연도 발생액)	누적 징수 현황

사업화 투자실적

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

사업화 현황

번호	사업화 방식 ¹⁾	사업화 형태 ²⁾	지역 ³⁾	사업화명	내용	업체명	매출액		매출 발생 연도	기술수명
							국내 (천원)	국외 (천원)		
1	자기실시	신제품 개발	국내	무순추출분말을 활용한 에스랩포플러 온가족 멀티유산균 개발	건강한 장내 환경 조성에 도움을 줄 수 있는 건강기능식품 '온가족 멀티유산균' 개발	(주)밥스누	4,703	-	2023	
2	자기실시	신제품 개발	국내	무순추출분말을 활용한 비건 다크초콜릿 개발	무설탕(제로슈가) 및 비건 초콜릿 '쇼코아틀리에 비건 다크초콜릿' 개발	(주)밥스누	19,823	1,660	2023	
3	자기실시	신제품 개발	국내	무순추출분말을 활용한 알부민 골드플러스 개발	알부민과 무순추출분말을 함유한 간 건강 및 피로 회복 음료 '알부민 골드플러스' 개발	(주)밥스누	287,481	-	2023	

4	자기실시	신제품 개발	국내	멀티바이오틱스	건강한 장 내 환경 조성에 도움을 줄 수 있는 건강기능식품 '멀티바이오틱스' 개발	(주)밥스누	18,332	-	2023
---	------	--------	----	---------	---	--------	--------	---	------

□ 매출 실적(누적)

사업화명	발생 연도	매출액		합계(원)	산정 방법
		국내(천원)	국외(천원)		
무순추출분말을 활용한 에스랩포플러 온가족 멀티유산균 개발	2023	4,703	-	4,703,023	기여율 60%
무순추출분말을 활용한 비건 다크초콜릿 개발	2023	19,823	1,660	21,483,730	기여율 100%
무순추출분말을 활용한 알부민 골드 플러스 개발	2023	287,481	-	287,481,600	기여율 60%
무순추출분말을 활용한 멀티바이오틱스 개발	2023	18,332	-	30,554,100	기여율 60%
합계		330,339	1,660	344,222,453	

□ 사업화 계획 및 무역 수지 개선 효과

성과						
사업화 계획	사업화 소요기간(년)					
	소요예산(천원)					
	예상 매출규모(천원)	현재까지	3년 후	5년 후		
		시장 점유율	단위(%)	현재까지	3년 후	5년 후
				국내		
	국외					
향후 관련기술, 제품을 응용한 타 모델, 제품 개발계획						
무역 수지 개선 효과(천원)	수입대체(내수)	현재	3년 후	5년 후		
	수출					

□ 고용 창출

순번	사업화명	사업화 업체	고용창출 인원(명)			합계
			2021년	2022년	2023년	
1	설포라핀 함량 증량 무순 추출물 개발 및 제품화	(주)밥스누	3	1	1	5
2	설포라핀 함량 증량 무순 대량생산 및 시스템 구축	플랜티팜(주)	-	-	1	1
합계			3	1	2	6

고용 효과

구분			고용 효과(명)
고용 효과	개발 전	연구인력	1
		생산인력	-
	개발 후	연구인력	4
		생산인력	-

비용 절감(누적)

순번	사업화명	발생연도	산정 방법	비용 절감액(천원)
합계				

경제적 파급 효과

(단위: 천원/년)

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

산업 지원(기술지도)

순번	내용	기간	참석 대상	장소	인원

기술 무역

(단위: 천원)

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

[사회적 성과]

법령 반영

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

정책활용 내용

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

설계 기준/설명서(시방서)/지침/안내서에 반영

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

전문 연구 인력 양성

번호	분류	기준 연도	현황											
			학위별				성별		지역별					
			박사	석사	학사	기타	남	여	수도권	충청권	영남권	호남권	기타	
1	바이오 모듈레 이션	2022	1				1		1					
2	바이오 모듈레 이션	2024	1					1	1					

산업 기술 인력 양성

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

다른 국가연구개발사업에의 활용

번호	중앙행정기관명	사업명	연구개발과제명	연구책임자	연구개발비

국제화 협력성과

번호	구분 (유치/파견)	기간	국가	학위	전공	내용

홍보 실적

번호	홍보 유형	매체명	제목	홍보일

포상 및 수상 실적

번호	종류	포상명	포상 내용	포상 대상	포상일	포상 기관

[인프라 성과]

연구시설·장비

구축기관	연구시설/ 연구장비명	규격 (모델명)	개발 여부 (○/×)	연구시설· 장비 종합정보시 스템* 등록여부	연구시설· 장비 종합정보시 스템* 등록번호	구축일자 (YY.MM. DD)	구축비 용 (천원)	비고 (설치 장소)

[그 밖의 성과]

해당사항 없음.

(2) 목표 달성 수준

추진 목표	달성 내용	달성도(%)
(주)밥스누		
○ 시간, 비용, 수율을 고려한 작물별 (무순, 당귀, 인삼) 추출조건 탐색	○ 작물별 15가지 추출조건 기반 실험 진행	○100%
○ 기능성분 및 지표성분 추출 수율을 기준으로 한 작물별 (무순, 당귀, 인삼) 최적 추출조건 정립	○ 작물별 지표성분 설정 및 추출조건별 지표성분 확인을 통한 함량 확인 및 최종 조건 선정	○100%
○ 기능성분 안정성을 고려한 lab-scale 추출조건 실증	○ 최종 조건 기반 lab-scale 추출 실험 진행	○100%
○ 소재 추출공정 표준화	○ 소재 추출 공정 확립 및 생산 진행	○100%
○ 제품적용을 위한 특성 프로파일링	○ 무순 및 유효성분 설폴라핀 특성 조사 기반 사업화 방향성 설정	○100%
○ 시제품 개발 및 시장 조사	○ 시제품 개발 1건 및 관련 시장 조사 완료	○100%
○ 체지방 감소 기능성 강화 소재를 활용한 제품 개발	○ 컨셉보드 개발, 배합비 설정, 제조 공정 개발을 통한 제품 개발 및 품목제조보고/신고 4건 완료	○100%
○ 상용화를 위한 마케팅 전략 및 유통채널 확인	○ 온/오프라인 유통 채널에 따른 마케팅 전략 탐색 및 제품 판매에 따른 매출 달성	○100%
플랜티팜(주)		
○ 품목별 적정 재배 환경 규명	○ 수직농장 내 단계별 재배기간 설정 및 적정 환경 규명	○100%
○ 기능성 물질 증진을 위한 재배기술 개발	○ 적정환경 조건 설정 기준: 수확물 내 기능성 물질 함량	○100%
○ 품목별 적정 재배 시스템 설계 및 구축	○ 양산 테스트용 무작 및 무순 재배 시설 설계: 설계서를 바탕으로 테스트용 소규모 재배시설 구축	○100%
○ 기능성 물질 원료 표준 기술 확립	○ 생산 원물의 경시적 성분 변화 검증	○100%
○ 재배 품목 다양화	○ 재배 시스템별 생산 가능 기능성 작물 선별: 드럼식 싹채소 재배기, 인공광 이용 다단재배 시스템	○100%
○ 기능성 작물 대량생산 시스템 구축	○ 기능성분(설폴라핀) 함량 8mg/g dry weight 이상 재배 기술 개발 1건 달성 (기능성분 함량 10.4mg/g dry weight)	○100%
○ 원료 생산량 및 표준화 실증	○ 생산규모 40kg/day 이상의 표준화 실증 1건 달성 (일일 생산량 59.5kg)	○100%
서울대학교		
○ 기능성분 분석조건 확립 및	○ 체지방 감소 기능성 복합소재 screening을 통	○100%

<p>성분 profiling</p>	<p>한 미지성분에 대한 구조 규명 및 분석</p>	
<p>○ 소재 기능성, 안전성 및 안정성 평가</p>	<p>○ 체지방 감소 효능 확인 (in vivo)</p>	<p>○100%</p>
	<p>○ 체지방 감소 심화 작용기전 규명 및 타 기능성 효능 확인 (in vivo)</p>	<p>○100%</p>
	<p>○ 부위별 기능성분 분석에 따른 소재 안정성 및 안전성 평가</p>	<p>○100%</p>
<p>○ 복합물 선정 및 배합비 확립</p>	<p>○ 무순추출물 복합물의 효능 비교 평가를 통한 배합비 확립</p>	<p>○100%</p>
	<p>○ 무순추출물 복합물의 체지방 감소 효능 평가 (in vitro)</p>	<p>○100%</p>
<p>○ 완제품 성능평가</p>	<p>○ 공정 후 지표성분 함량 변화 분석</p>	<p>○100%</p>
	<p>○ Food Chemistry 게재 완료: Tae Kyung Lee, Gihyun Hur, Jong Hun Kim, Jung Han Yoon Park, Hee Yang, and Ki Won Lee (2023), Micro-grinding-based production for sulforaphene-enriched radish seeds extract via facilitating glucosinolates-myrosinase reaction, and evaluation of its anti-adipogenic effects. Food Chemistry, 429, 136864.</p> <p>○ Journal of the Science of Food and Agriculture ,게재 완료: Gihyun Hur, Tae Kyung Lee, Yeon-Jin Cho, Jong Hun Kim, Jung Han Yoon Park, Hee Yang, and Ki Won Lee (2024), Optimization of cultivar, germination time, and extraction for radish sprout extract with high sulforaphene content, Journal of the Science of Food and Agriculture.</p>	<p>○200%</p>
<p>○인력양성</p>	<p>○ 서울대학교 박사과정 연구원 1인 2023년 2월 졸업</p> <p>○ 서울대학교 석박통합과정 연구원 2인 2024년 2월 졸업</p>	<p>○150%</p>

4. 목표 미달 시 원인분석

1) 목표 미달 원인(사유) 자체분석 내용

해당사항 없음.

2) 자체 보완활동

해당사항 없음.

3) 연구개발 과정의 성실성

해당사항 없음.

5. 연구개발성과의 관련 분야에 대한 기여 정도

[㈜밥스누]

- 무순 소재는 기존 소비자들에게 심혈관 건강, 대사질환, 두뇌 건강 등에 효능이 있는 것으로 알려져 있었으나 건강 지향 제품 등에 활용할 수 있는 식의약 소재는 전무했음. 실제 품목이 보고된 사례를 살펴보면 기존 무순은 즉석조리식품, 절임식품 및 신선편의식품 등에 적용되어 왔으나, 본 단계에서 생산된 설포라핀 고함유 추출물 형태의 식품으로 개발된 사례는 없음.
- 본 과제에서 생산한 설포라핀 고함유 무순추출분말은 현재 건강기능식품을 비롯한 초콜릿, 식물성음료 등의 일반식품, 기능성표시식품 시장을 타겟으로 제품 개발을 진행하여 총 4건(시제품 포함)의 성과를 달성하였음. 추후 다양한 건강 지향 식품 및 체지방 감소의 기능성을 갖는 제품에 적용할 수 있을 것으로 예상됨.

[플랜티팜㈜]

- 설포라핀은 그 생리활성이 다양하게 연구된 바 있으며, 무에 풍부하다는 점도 잘 알려져 있었음. 그러나 설포라핀을 고함유하는 무 관련 식품 소재를 생산하기 위한 연구는 거의 없었으며, 이를 대량생산하기 위한 연구도 진행된 바가 없음.
- 본 과제에서의 연구를 통해 무순이 고부가가치 소재로서 개발될 수 있는 기반이 마련되었으며, 향후 식물공장 분야에서 이와 유사한 연구를 통해 기존의 친숙한 소재의 고부가가치화가 이루어질 것으로 예상됨. 또한, 연관된 산업의 추가적인 부가가치를 창출하는데 역시 기여할 것으로 전망됨.

[서울대학교]

무순추출물의 체지방 감소 및 대사질환 개선 효능 규명을 통한 다양한 질환 맞춤형 제품 개발

- 국내 건강기능식품 시장이 2020년 4조 9천억을 돌파하며 연평균 성장률이 5% 이상을 기록하고 있는데, 그 중 체지방 감소 기능성 식품의 경우 소비가 많은 건강기능식품 중 하나임. 하지만 체지방 감소의 기능성을 가지는 대표 원료인 가르시니아캄보지아 추출물의 경우 해외에서 수입하는 소재로, 국내 자생 식물을 활용한 체지방 감소 원료의 개발이 저조한 실정임.
- 본 연구진은 설포라핀 강화 무순추출물을 활용하여 세포주모델에서 지방축적 억제 효능을 밝혔으며, 식약처 가이드라인에 따른 작용기전별 바이오마커의 변화 관찰을 통하여 체지방 감소 효능을 평가하였음. 더 나아가, 동물모델에서도 작용기전별 바이오마커 평가를 통하여 무순추출물의 체지방 감소 심화 작용기전에 대해서 규명하였으며, 비만으로 인한 대사질환(지방간, 근감소) 등에 대한 개선 효능도 평가하였음. 이를 바탕으로 무순추출물은 다양한 질환 맞춤형 건강기능식품의 원료로서 활용이 가능하고, 타겟 맞춤형 제품 개발이 가능한 소재임. 본 연구진은 세포주모델에서 무순추출물이 기존 고시형 원료(가르시니아캄보지아 추출물)의 효능을 비교한 바 있으며, 동일 농도 대비 무순추출물의 지방축적억제능이 유의적으로 우수한 것으로 관찰하였음. 후속 연구를 통해 전임상수준에서 기존 고시형 원료 대비 무순추출물의 체지방 감소 효능을 비교평가할 예정임. 더 나아가, 체지방감소 개별인정형 원료 허가 신청을 위해 임상 수준에서의 항비만 효능 평가를 위한 준비를 진행할 예정임.
- 이에 설포라핀 강화 무순 소재를 활용한 체지방 감소 효능의 과학적 근거를 마련함으로써 이를 바탕으로 향후 건강기능식품을 개발하여 소비자 니즈를 충족시키는 고부가가치 제품을 제공할 수 있으며, 국내 자생 식물을 활용함으로써 국산 농산물의 가치를 향상시킬 수 있음.

무순 소재 및 타 소재 복합물을 활용한 체지방 감소에 도움을 주는 제품 개발

- 전통적인 식의약 소재인 내복자는 건강기능성에 대한 과학적 근거가 부족하였으며, 제한된 식품 가공으로 소비자들에게 널리 보급되지 못하였음. 본 연구를 통해 무순 소재의 체지방

감소 효능에 대해 과학적 근거를 마련하고, 더 나아가 항비만 효과에 시너지를 가질 것으로 예상되는 소재를 함께 활용하여 더욱 효능이 우수한 제품을 개발하고자 함. 이를 활용한 제품을 개발함으로써 글로벌 천연물 시장 선도가 가능할 것으로 보이며, 항비만 효과에 대한 작용기전을 규명함으로써 소비자에게 신뢰를 줄 수 있는 제품으로 제공될 것으로 기대됨.

체지방 감소 기능식품 시장 성장 및 국민의 삶의 질 향상

- 현재 전 세계 인구의 급속한 고령화에 따라 비만, 대사질환의 유병률이 증가하면서 심각한 문제가 제기되고 있으며 이에 매년 비만 환자를 위한 제품의 수요가 매년 빠른 속도로 증가하고 있음. 셀포라핀 강화 무순 소재를 활용한 체지방 감소 효능의 과학적 근거를 마련함으로써 이를 바탕으로 향후 건강기능식품을 개발하여 소비자의 수요를 충족시키는 고부가가치 제품을 제공할 수 있음.
 - 개별 인정형 기능성 원료 인증 신청을 통해 기존 고시형 원료들과 경쟁할 수 있는 기회가 되며 해당 소재를 활용한 제품 출시를 통한 시장 성장을 기대할 수 있음. 이는 기업 간 공격적 경쟁을 통한 소비자 만족도에 기여할 수 있으며 소비를 촉진함으로써 내수 경제 활성화에 기여하고 국민들의 건강한 삶에 기여할 수 있을 것으로 기대됨.
-

6. 연구개발성과의 관리 및 활용 계획

○ 연구개발성과 관리 추진체계

- 연구개발성과를 설포라핀 고함유 무순 재배 및 이를 기반으로 한 무순추출분말 제조공정 확립에 활용할 예정임. 또한, 무순추출분말을 활용하여 다이어트 지향 일반식품, 기능성표시식품의 개발 및 복합 소재의 적용을 통한 고부가가치 제품 개발을 통해 국내 식품 산업 및 소재 산업, 농가 소득 증진에 기여하는 것을 목표로 함.
- 성과지표의 경우 연도별로 신제품 개발 및 사업화, 매출, 수출 및 신규 고용에 관한 정량적 목표를 수립하여 관리하였음.

○ 연구개발성과 활용 방안

- 스마트팜 기반 고부가가치 작물 소재화 원천 기술 확보

스마트팜 고부가가치 창출을 위해서는 식용 작물의 대량 생산을 뛰어 넘어 기존 농산물과의 차별화를 추진해야함. 항비만 약용 소재로 활용되는 내복자에 스마트팜 생산 기술을 접목하여 유효성분을 강화시킨 신규 소재를 개발하고 이를 통해 스마트팜 소재의 고부가가치화를 달성할 것임. 또한, 연구실에만 머무른 환경변화에 따른 최적 재배 조건 기술이 아닌 실증화를 통한 대량생산, 표준화, 유효성 평가 및 제품개발 연구를 통해 스마트팜 고기능성 소재를 고부가가치화 시킬 수 있는 원천 기술 확보가 가능할 것임. 지속가능한 고부가가치 스마트팜 소재화 원천 기술이 본 연구에서는 무순에 적용되었으나, 향후 본 플랫폼을 통해 다른 작물과 만성 대사질환 뿐만 아니라 다양한 질환 개선에 도움을 주는 다양한 천연물 식의약품 원료에 적용 가능할 것이라 사료됨.

- 기능성분 함유 작물의 대량재배 기술 확보

본 연구를 통해 개발된 기술은 선정된 작물 외 기능성분 함유 작물의 대량재배 가능성을 확인할 수 있음. 이를 통해 생산성 및 기능성을 증대시킨 다양한 약용작물을 확보함으로써 식품을 비롯한 화장품, 의약품 등 다양한 산업에 진출할 수 있는 기회를 마련함.

- 고부가가치 천연물 신소재 발굴 및 개발 역량 확보

본 과제를 통해 확보한 역량을 바탕으로 추후 한반도 자생 천연물 소재를 활용하여 천연물 시장에서 경쟁할 수 있는 우수한 소재 및 제품을 지속적으로 개발할 수 있음.

매년 여름철에 대비하여 다이어트를 시작하는 소비자를 타겟팅한 제품 출시가 활발함. 또한, 최근에는 체중 증가의 원인인 혈당부터 근본적으로 케어해 체질 변화를 돕고자 하는 관심이 높아짐. 다이어트 핵심 키워드로 ‘혈당 관리’가 떠오르며 CJ웰케어의 ‘팻다운 슬리밍 샷 5일’, 뉴오리진의 ‘코어리셋 혈당컷 다이어트’ 등 체지방 감소는 물론 혈당 상승 억제까지 한 번에 잡는 제품이 떠오르고 있음. 따라서 본 연구를 통해 확보된 무순 소재를 다양한 형태의 식품 및 건강기능식품에 적용하여 변화하는 소비 트렌드에 대비하고자 함. 먼저 소재에 대한 소비자 인지도 향상을 위해 해당 소재를 함유한 일반 식품을 우선적으로 개발 및 판매할 계획임. 신규 제형 및 부원료 등을 사용하여 차별화 전략을 수행하고, 현 시장에서 판매되고 있는 기존 제품과의 구분을 통해 보다 효과적인 제품 포지셔닝을 시행할 예정임. 예를 들어, 타겟 소비자 특성을 파악한 섭취가 간편하고 휴대성이 좋은 신규 제형의 제품을 개발함으로써 소비자 친화형 커뮤니케이션 전략을 적극 반영하고, 보다 효과적인 유통/판매가 될 수 있도록 프로모션 정책을 수립할 예정임.

자사 홈페이지 및 쇼핑몰에서 뿐만 아니라 오픈몰, 소셜몰 등의 B2B 마케팅 및 인플루언서와의 협업, 공동구매 추진 등을 통한 B2C 마케팅을 활용하여 판매를 촉진할 계획임. 또한, 국제 식품 및 원료·소재 박람회(FOODEX, HL, IFIA 등) 참가로 신규 바이어를 발

굴하고 네트워킹 기회를 도모하며, 각 분야 협력업체와의 파트너십 구축을 통해 식품뿐만 아니라 건기식, 화장품 등 다양한 분야에서의 글로벌 경쟁력을 강화하고자 함.

추가 연구를 통해 체지방 감소뿐만 아니라 근감소 및 근력 개선, 간 건강 개선 등 다양한 대사 질환의 개선용 소재로 활용할 수 있도록 함. 공정 개선 및 추가 안정성 테스트를 통해 보완된 시료로 개별인정형 원료 승인에 도전하고자 함. 추후에는 이를 활용한 건기식 외에도 마시는 영양식 및 양갱, 단백질바 등의 영양 간식과 같이 다양한 질환 맞춤형 제품의 연구·개발 적극적으로 추진할 예정임.

- 식약처 인정 건강기능식품 원료로의 기반 마련

기존 개별인정형 소재 중 위의 기능성(체지방 감소, 근감소 및 근력 개선, 간 건강 개선)을 동시에 확보한 기능성 원료는 아직까지 부재하므로 해당 연구를 통해 헬스케어에 관심이 있는 소비자들에게 효율적인 해결책을 제시할 수 있음. 또한, 신규 기능성 소재 발굴로 기능성식품 원료의 폭을 넓히고, 과학적인 효능 및 작용기능 규명과 추가 임상 연구를 통해 신규 원료의 효과를 소비자에게 명확히 전달하여 기능성식품 효능에 대한 높은 신뢰감을 형성할 수 있음. 이는 궁극적으로 기능성식품의 시장을 확대하고 지속적인 성장 및 발전을 도모하는데 기여할 수 있음.

주 의

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